



ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ В ПЕРСПЕКТИВЕ ЛЕЧЕНИИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Т. В. Жукова¹, Ю. Г. Шанько², М. Е. Хмара³, С. М. Полякова⁴

¹ МИТСО, г. Минск, Республика Беларусь

² Республиканский научно практический центр неврологии и нейрохирургии,
г. Минск, Республика Беларусь

³ Республиканский научно практический центр эпидемиологии и микробиологии,
г. Минск, Республика Беларусь

⁴ БГМУ, г. Минск, Республика Беларусь

РЕЗЮМЕ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучить возможности иммунотерапии в перспективе лечения глиальных опухолей, используя влияние уровня апоптоза опухолевых клеток на противоопухолевую активность Вируса Болезни Нью-касл (ВБН).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Использовали ВБН, вакцинный штам «Н», полученный из института вирусологии им. Д. И. Ивановского в 1984. Опухолевые клетки аденокарциномы Эрлиха прививали мышам подкожно в объеме 0,2 мл (20×10^6 кл./мл). ВБН вводили животным в/брюшинно в объеме 0,5 мл на пятый день от подкожно привитой опухоли, через каждые 3–4 дня в течение 25 дней. Противоопухолевую активность вируса оценивали по весу опухоли в опытных и контрольных группах, а также по выживаемости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. При использовании культурального вируса животные погибли через 17 дней, тогда как в случае вирусосодержащей аллантоисной жидкости животные прожили 300 дней (срок наблюдения). Как инфекционная, так и гемагглютинирующая активность используемого ВБН одинакова. Можно предположить, что в первой группе под влиянием ВБН и эмбриональных протеолитических белков имеет место появление среди опухолевой ткани клеток в состоянии апоптоза, что стимулирует адекватный иммунологический ответ, определивший выживание животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Способность ВБН повышения уровня апоптоза как фактора противостоящего митотической активности при увеличении протеолитических свойств сред культивирования *in vitro* позволяет предположить возможность его применения при терапии злокачественных глиом.

Для цитирования: Жукова Т. В., Шанько Ю. Г., Хмара М. Е., Полякова С. М. Возможности иммунотерапии в перспективе лечения глиальных опухолей. Российский нейрохирургический журнал им. проф. А. Л. Поленова. 2022;14(1-2):50–52

POSSIBILITIES OF IMMUNOTHERAPY IN THE FUTURE TREATMENT OF GLIAL TUMORS

T. V. Zhukova¹, Yu. G. Shan'ko², M. E. Hmara³, S. M. Polakova⁴

¹ MITSO, Minsk, Republic of Belarus

² Republican Scientific and Practical Centre for neurology and neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus

³ Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

⁴ BSMU, Minsk, Republic of Belarus

SUMMARY

AIM OF THE STUDY: study of the possibilities of immunotherapy in the future treatment of glial tumors using effect of the level of apoptosis of tumor cells on the antitumor activity of NDV and its ability to inactivate AMK, which stimulates tumor growth in the experiment.

MATERIALS AND RESEARCH METHODS. Used VBN, vaccine strain «H», obtained from the Institute of Virology. DI. Ivanovsky in 1984. One of the leading causes of death according to the World Health Organization is cancer, which is named the second cause of death in developed countries. Tumor cells of Ehrlich's adenocarcinoma were inoculated into mice subcutaneously in a volume of 0.2 ml (20×10^6 cells/ml). VBN was administered to animals intraperitoneally in a volume of 0.5 ml on the fifth day from the subcutaneously grafted tumor, every 3–4 days for 25 days. The antitumor activity of the virus was assessed by the weight of the tumor in the experimental and control groups, as well as by survival.

RESULTS AND ITS DISCUSSION. When using the culture virus, the animals died after 17 days, while in the case of the virus-containing allantoic fluid, the animals lived for 300 days (observation period). Both infectious and hemagglutinating activity of the used VBN is the same. It can be assumed that in the first group, under the influence of NDV and embryonic proteolytic proteins, cells in the state of apoptosis appear among the tumor tissue, which stimulates an adequate immunological response, which determined the survival of the animals.

CONCLUSION. The ability of NDV to increase the level of apoptosis as a factor opposing mitotic activity with an increase in the proteolytic properties of culture media in vitro suggests the possibility of such an approach in the treatment of malignant gliomas.

For citation: Zhukova T. V., Shan'ko Yu. G., Hmara M. E., Polakova S. M. Possibilities of immunotherapy in the future treatment of glial tumors. The Russian Neurosurgical Journal named after prof. A. L. Polenov. 2022;14(1-2):50–52

Исследование, посвященное механизмам роста глиальных опухолей позволило раскрыть некоторые механизмы их роста и убедительно доказать стимулирующую роль репликации герпесвирусов I и II типа для регуляции скорости роста данного вида опухолей [1, 2, 3]. Это исследование и примененное в его результате противовирусное лечение позволило увеличить продолжительность жизни пациентов с глиомами в 3 раза, что явилось серьезным прорывом в увеличении сроков безрецидивного периода [4]. Однако такого рода лечение имеет и ряд недостатков, связанных с постепенно развивающейся резистентностью к противогерпетическим препаратам. В то же время проведенное исследование по изучению возможных вариантов по торможению опухолевого роста с использованием вируса болезни Ньюкастл (ВБН) в эксперименте помогло наметить пути использования свойств ВБН для лечения пациентов с глиальными опухолями. [5, 6].

Цель работы: изучение влияния уровня апоптоза опухолевых клеток на противоопухолевую активность ВБН и его способность инактивировать АМК, стимулирующего рост опухоли в эксперименте.

Материалы и методы. Использовали ВБН, вакцинный штам «Н», полученный из института вирусологии им. Д. И. Ивановского в 1984 (по современной международной классификации: ND virus vaccine (MTN-68/H, Anticancet Res.21 (1a), 125–135, 2001), термостабильный антивирусный комплекс (АМК) получали при помощи панкреатической рибонуклеазы и вируса герпеса простого, как описано ранее. Опухолевые клетки аденокарциномы Эрлиха прививали мышам подкожно в объеме 0,2 мл (20×10^6 кл/мл). ВБН вводили животным в/брюшинно в объеме 0,5 мл на пятый день от подкожно привитой опухоли, через каждые 3–4 дня в течение 25 дней. Противоопухолевую активность вируса оценивали по весу опухоли в опытных и контрольных группах. Таким же образом оценивали влияние на рост опухоли АМК, также вводимого мышам внутрибрюшинно. Для изучения уровня апоптоза проводилось иммуногистохимическое исследование уровня синтеза p53 и bcl-2 [8, 9].

Результаты и обсуждение

Влияние вирусосодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ) и культурального вируса на выживаемость мышей с аденокарциномой молочной железы (опухоль Эрлиха) представлено в табл. 1.

Как видно, при использовании культурального вируса животные погибли через 17 дней, тогда как в случае вирусосодержащей аллантоисной жидкости животные прожили 300 дней (срок наблюдения).

В первой группе под влиянием ВБН и эмбриональных протеолитических белков имело место появление среди опухолевой ткани клеток в состоянии апоптоза, что стимулировало адекватный иммунологический ответ, определивший выживание животных.

Таблица 1. Влияние ВАЖ и культурального вируса на выживаемость мышей с опухолью Эрлиха

Группы	Инфекционность и гемагглютинирующая активность	Срок жизни животных (дни)
ВАЖ оп. Эрлиха	7,0Lg ТЦД 50/0,1мл 1:256 ГАЕ	300*
Культуральный вирус + оп. Эрлиха	7,0g ТЦД 50/0,1мл 1:256 ГАЕ	17

Примечание: * — срок наблюдения.

Было также установлено, что ВБН, культивируемый на среде с 20 %-й эмбриональной сывороткой и трипсином, оказывал более выраженный противоопухолевый эффект у мышей с подкожно привитой опухолью Эрлиха через 25 дней, что отображено в таблице 2.

Таблица 2. Противоопухолевый эффект ВБН

Среды	Вес опухоли (контроль)	Вес опухоли (опыт)
Среда РМЕМ + 10 %-я эмбриональная сыворотка + ВБН	10,20±,5	4,7±0,32
Среда РМЕМ + 20 %-я эмбриональная сыворотка + 2 мл трипсина	9,08±0,41	3,25±0,17

В контроле вместо ВБН вводили физиологический раствор внутрибрюшинно.

Таким образом, анализ литературных и собственных данных позволяет сделать вывод о необходимости расширения исследований об онкологических свойствах ВБН при его взаимодействии с раковыми клетками. У этого вируса есть целый ряд положительных свойств по сравнению с другими, особенно ДНК-содержащими патогенами многие из которых, способны трансформировать клетки in vitro, являясь облигатными протоонкогенами. ВБН, как и вся группа парамиксовирусов, такими свойствами не обладает. Кроме того, этот вирус вызывает заболевания только у птиц, тогда как у людей в случае инфицирования имеет место только конъюнктивит и трахеит, проте-

кающие в легкой форме и без осложнений. Проведенные серологические исследования показывают, что около 96 % человеческой популяции серонегативны по отношению к ВБН, чего нельзя сказать о других вирусах как кандидатах использования в онколизе. ВБН как онколитический вирус способен стимулировать иммунологические процессы, активируя синтез интерферона 1-го типа и цитокинов, определяя при этом участие главного комплекса гистосовместимости, адгезию лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток благодаря экспрессии вирусных гликопротеинов на поверхности малигнизированных клеток.

Заключение.

Считаем необходимым подчеркнуть способность ВБН вызывать апоптоз в опухолевых клетках. Способность ВБН разрушать РНК-индуцированные комплексы, определяющие «умолкание» (silencing) цитолитических свойств онкогенных вирусов как одного из обязательных условий проявления их трансформирующей активности, может быть одним

из существенных противоопухолевых свойств этого патогена. Установленная нами способность повышения уровня апоптоза как фактора противостоящего митотической активности при повышении протеолитических свойств сред культивирования *in vitro* позволяет предположить возможность такого подхода при терапии злокачественных глиом *in vivo* как наиболее терапевтически резистентных опухолей. Такая вирусная терапия может быть противопоставлена активирующим антиапоптозным свойствам вируса простого герпеса.

ORCID авторов/ ORCID of authors:

Жукова Татьяна Владимировна/Zhukova Tatsiana Vladimirovna — ORCID 0000-0003-0263-3453

Шанько Юрий Георгиевич/Shanko Yriy Georgievich — ORCID 0000-0002-4633-0369

Полякова Светлана Михайловна/Poliakova Svetlana Mikhailovna — ORCID 0000-0002-7127-1882

Литература /References

1. Looker K. J. Global and Regional Estimates of Prevalent and Incident Herpes Simplex Virus Type 1 Infections in 2012/ Looker KJ et al.// PLoS One.—2015— Oct.10-P. 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0140765.
2. Жукова, Т. В. Клинико-морфологические особенности роста нейроэпителиальных опухолей / Т. В. Жукова, А. Ф. Смеянович, М. К. Недзведь. — Минск.: Беларуская навука, 2013–191с. [Zhukova, T. V. Clinical and morphological features of the growth of neuroepithelial tumors / T. V. Zhukova, A. F. Smeyanovich, M. K. Nedzved. — Minsk.: Belarusian Science, 2013–191s. (In Russ.)] <http://rep.bsmu.by>
3. Метод лечения нейроэпителиальных опухолей, контаминированных вирусом простого герпеса, противовирусными лекарственными средствами в комбинации с метронидазолом в раннем послеоперационном периоде: инструкции по применению № 134–1013: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь; сост. Т. В. Жукова, А. В. Белецкий, С. Н. Мартынюк, А. Ф. Смеянович, А. Л. Танин, С. Д. Безубик, А. А. Ширинский, А. И. Ахремчук// Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний [Электронный ресурс]: полнотекстовая база данных / М-во здравоохранения Республики Беларусь. — Дополн. изд. — Электрон. Дан. — Минск: ГУ РНМБ, 2013–1эл. опт. диск. [Method of treatment of neuroepithelial tumors, contaminated herpes simplex virus, antiviral drugs in combinations with metronidazole in the early postoperative period: instructions for use No. 134–1013: approved. Ministry of Health Resp. Belarus; comp. T. V. Zhukova, A. V. Beletsky, S. N. Martynyuk, A. F. Smeyanovich, A. L. Tanin, S. D. Bezubik, A. A. Shirinsky, A. I. Akhremchuk // Modern methods of diagnosis, treatment and prevention of diseases [Electronic resource]: full-text database / Ministry of Health of the Republic of Belarus. — Suppl. ed. — Electron. Dan. — Minsk: GU RNMB, 2013–1el. wholesale diskio (In Russ.)]
4. Кишелава В. В. Рак. Реалии и возможности применения вируса болезни Ньюкастл. Виротерапия: обоснование, критерии, показания применения, эффективность / В. В. Кишелава. — Palmarium Academic Publishing/ 2014–131с. [Kishelava V. V. Crayfish. Realities and possibilities of application of the Newcastle disease virus. Virotherapy: justification, criteria, indications for use, effectiveness / V. V. Kishelava. — Palmarium Academic Publishing/ 2014–131с. (In Russ.)] <https://omr.by>
5. Votyakov, M. E. Antiviral and Physico-chemical Properties of Macromolecular Complex Isolated from the Virus — Infected Cell Extract Treated with Ribonuclease/ M. E. Votyakov [at al.] // Contr. Oncol.— 1984. — Vol. 20. — P. 176–184.