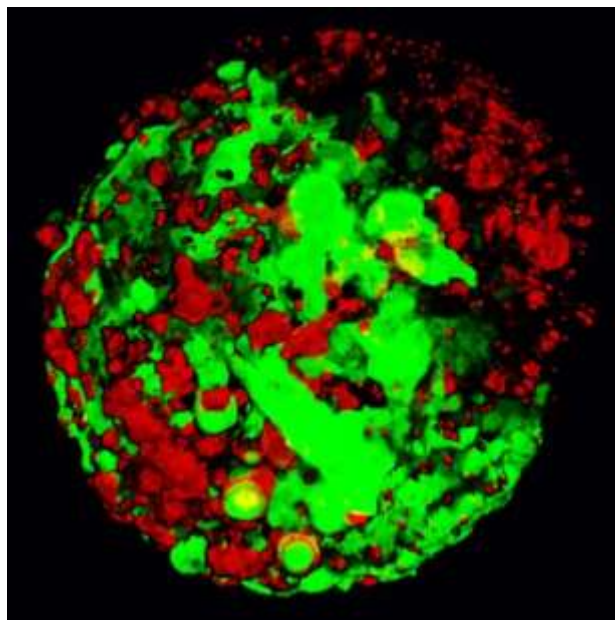


**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОГО
ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ LIVP-GFP В КЛЕТКАХ ЛИМФОСАРКОМЫ
С ФЕНОТИПОМ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
УСТОЙЧИВОСТИ**

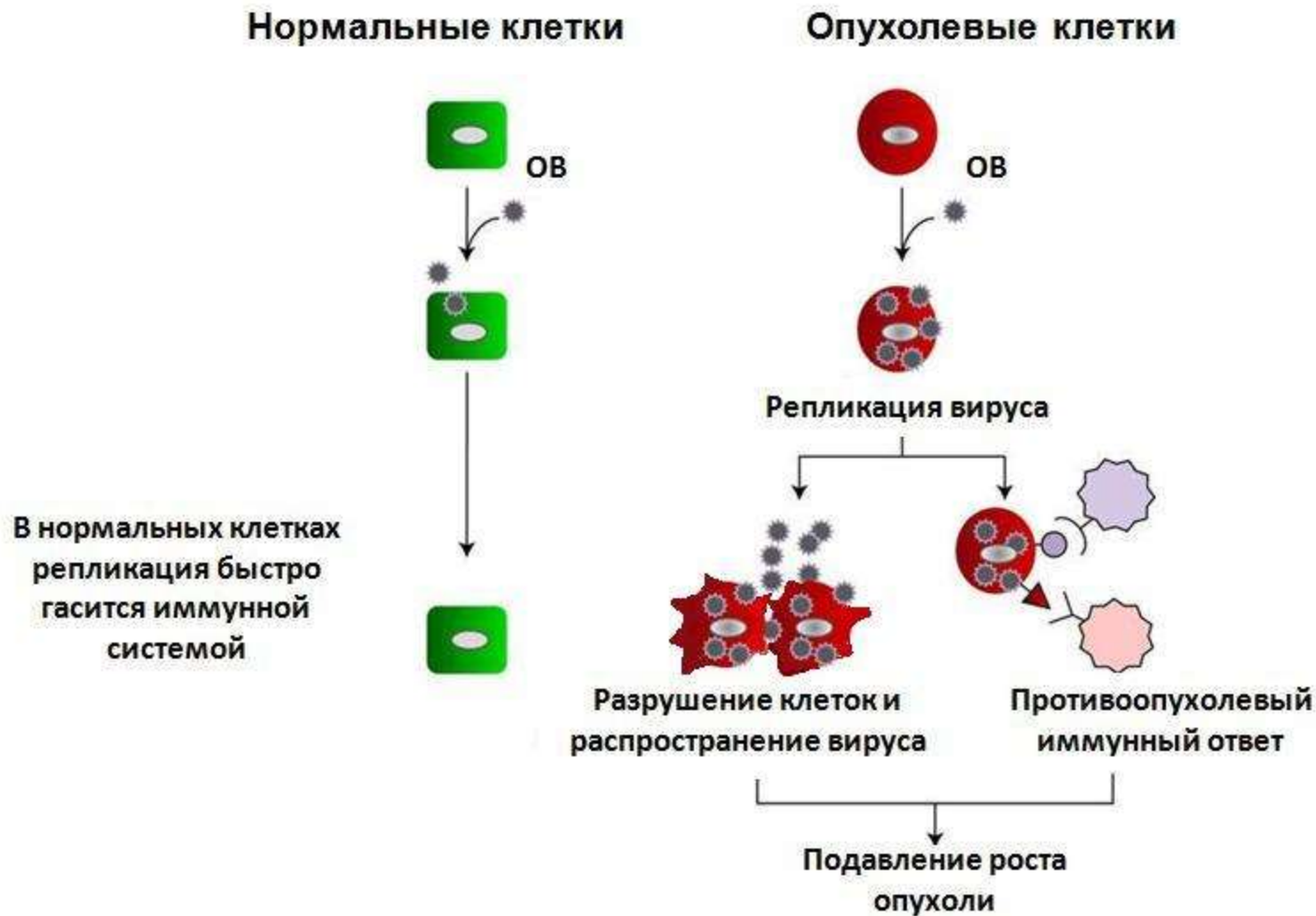


Руженкова Ю.С.

Научный руководитель: к.б.н., с.н.с. Гончарова Е.П.

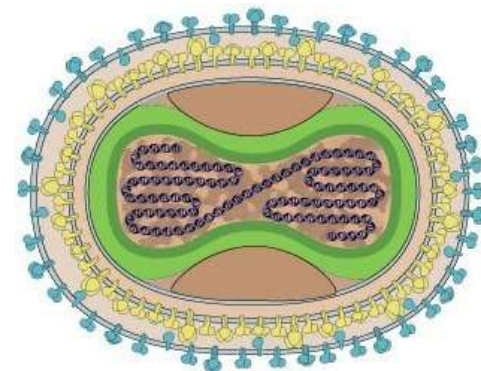
Лаборатория биохимии нуклеиновых кислот, ИХБФМ СО РАН

Противоопухолевая активность вируса LIVP-GFP на модели лимфосаркомы RLS-40 (солидная форма)

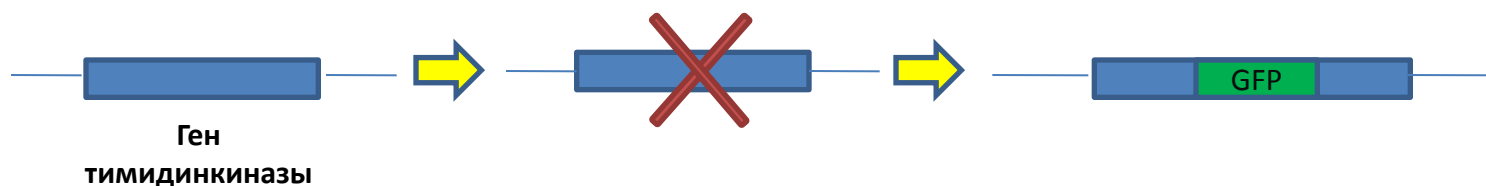


Преимущества вируса осповакцины

- ✓ Реплицируется и лизирует клетки быстрее по сравнению с другими вирусами
- ✓ Инфицирует разные типы опухолевых клеток, т.к. не требует определенных рецепторов на поверхности клетки
- ✓ Жизненный цикл вируса протекает в цитоплазме, поэтому не происходит встраивания ДНК в геном хозяина
- ✓ Образует особую инфекционную форму (EEV), которая способна эффективно распространяться между клетками
- ✓ Размер генома позволяет встраивать терапевтические гены без потери онколитических свойств



✓ Рекомбинантный вирус осповакцины LIVP-GFP



✓ Опухолевые модели с фенотипом МЛУ



Цель – исследовать факторы, влияющие на эффективность онколитического действия рекомбинантного штамма вируса осповакцины LIVP-GFP, в клетках лимфосаркомы, проявляющей выраженный фенотип МЛУ

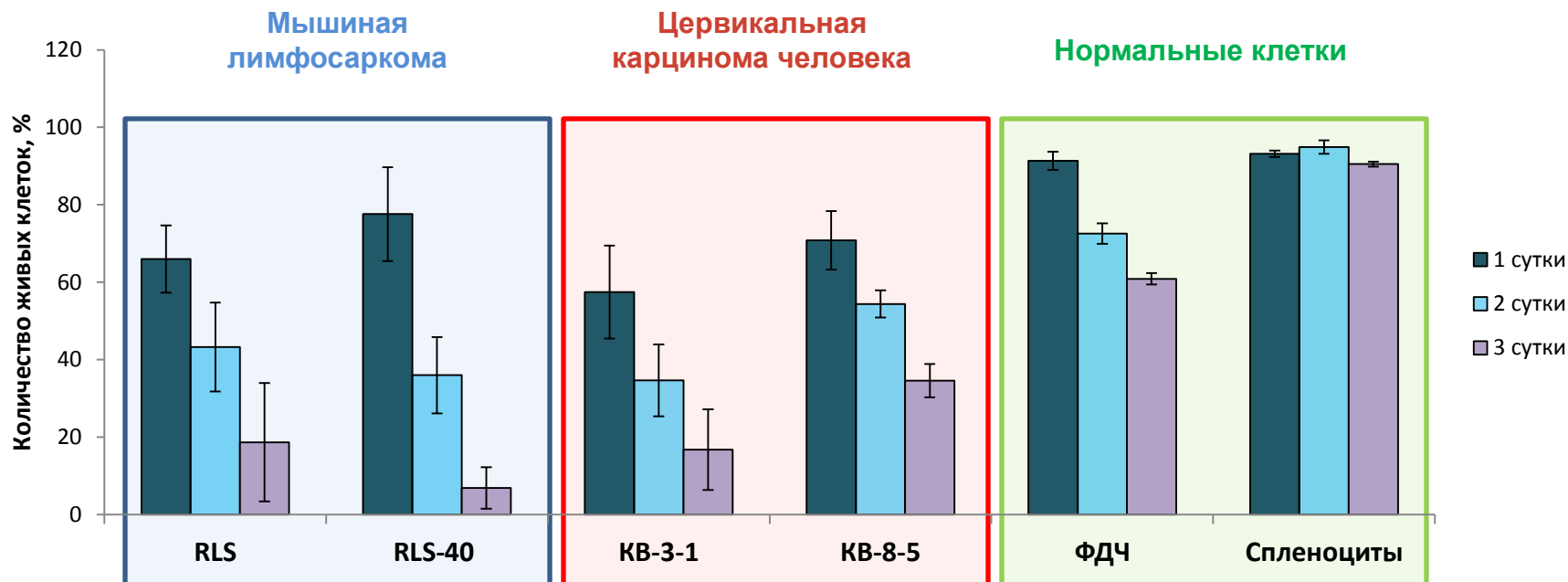
Задачи

определить эффективность онколитического действия вируса LIVP-GFP на опухолевые клетки с различными механизмами формирования МЛУ

оценить противоопухолевую активность вируса LIVP-GFP на модели лимфосаркомы RLS-40 в экспериментах in vivo

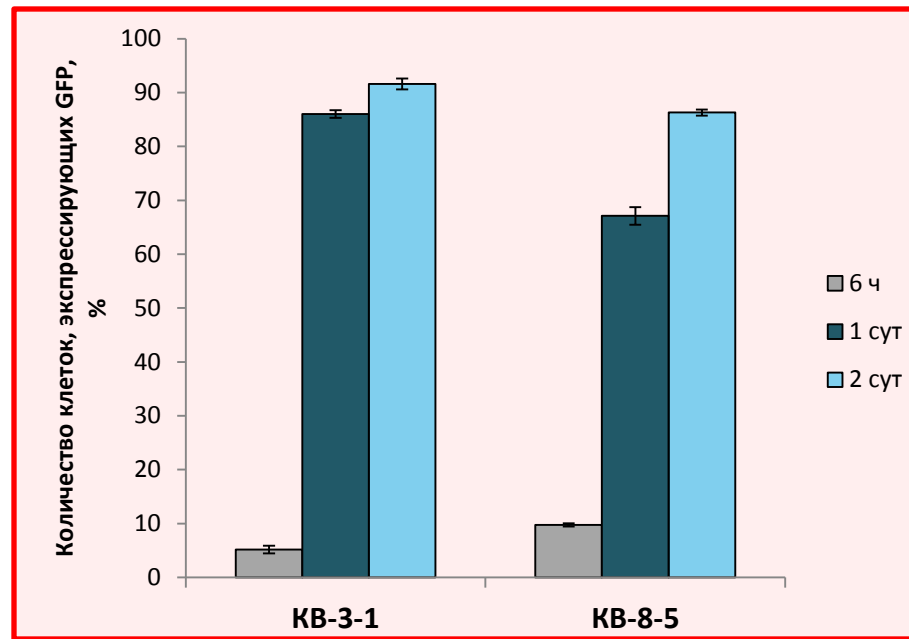
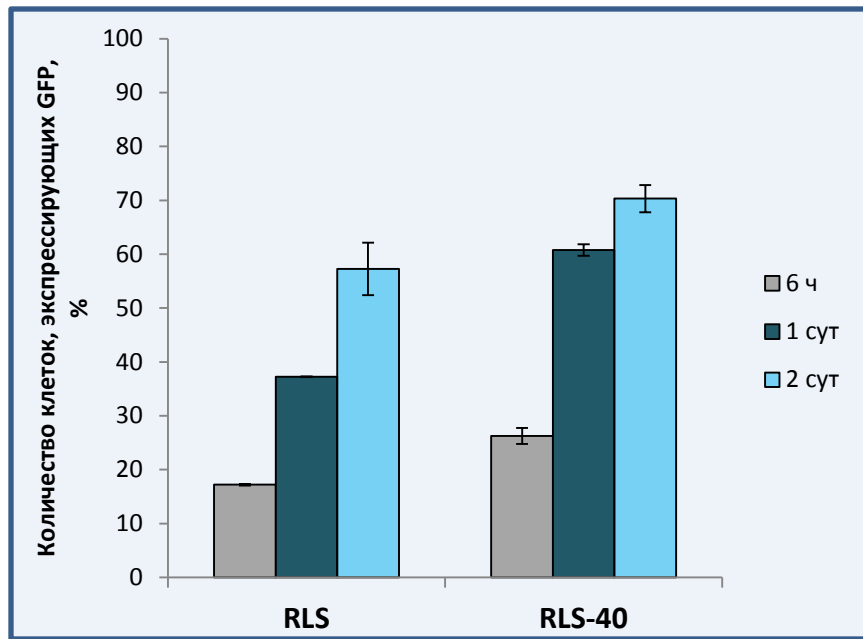
Определить степень активации вирусом LIVP-GFP T-клеточного звена иммунного ответа

Влияние вируса LVP-GFP на жизнеспособность клеток



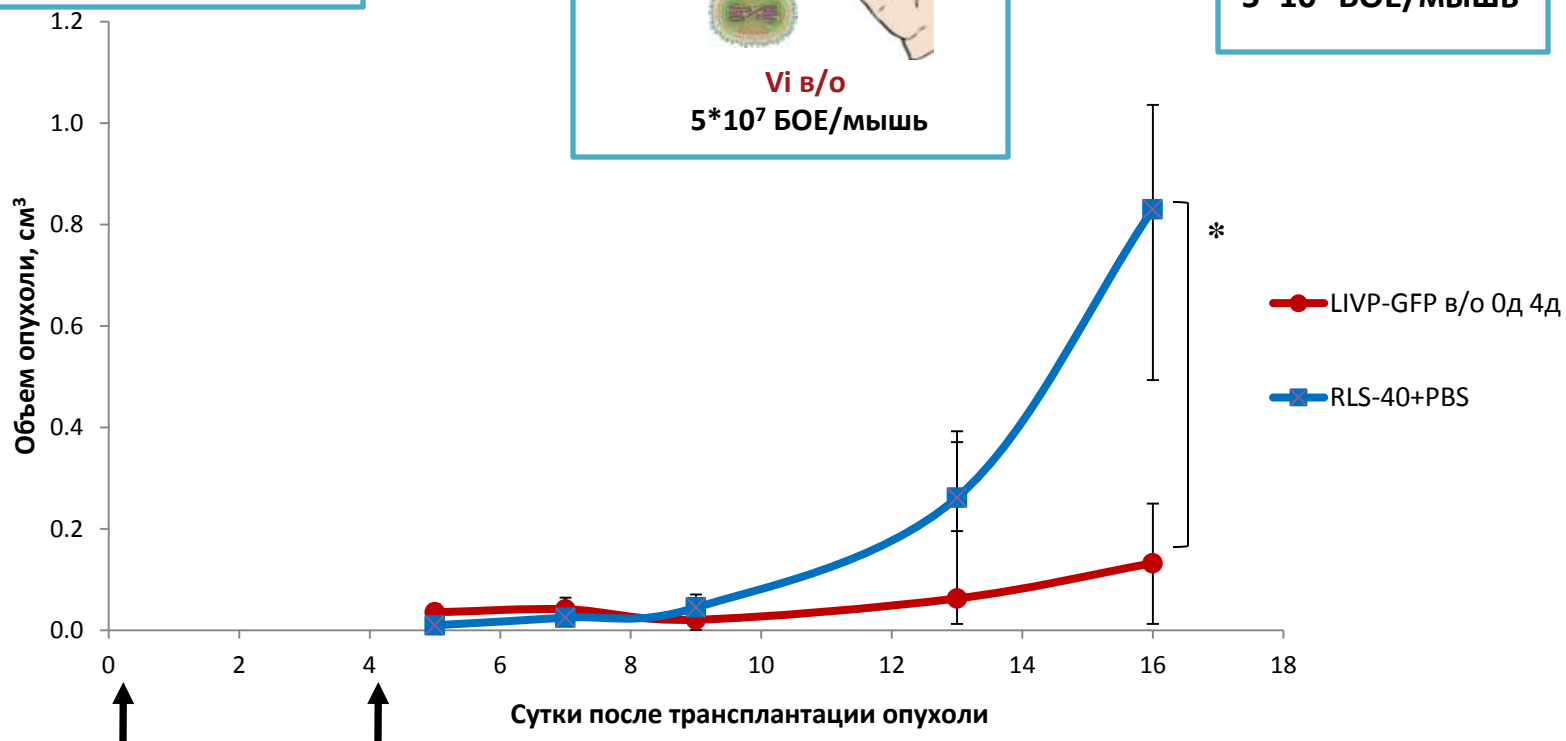
- ✓ На все исследуемые линии **опухолевых клеток** вирус LVP-GFP оказывает **цитопатическое действие**
- ✓ **Нормальные клетки** (спленоциты, фибробласты десны человека – ФДЧ) обладают **низкой чувствительностью** к вирусу

Развитие вирусной инфекции в культурах клеток



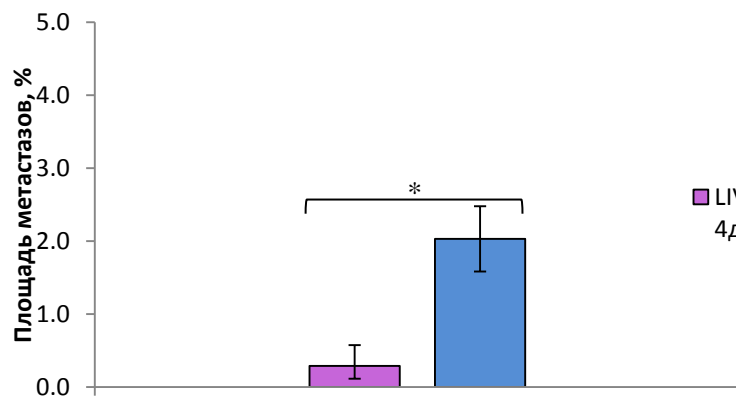
- ✓ Значительная часть опухолевых клеток различных культур экспрессирует белок GFP, что свидетельствует о **развитии вирусной инфекции**

Противоопухолевая активность вируса LIVP-GFP на модели лимфосаркомы RLS-40 (солидная форма)



* отличия с $p < 0,05$

Противоопухолевая активность вируса LIVP-GFP на модели лимфосаркомы RLS-40 (солидная форма)



Средняя площадь метастазов (S):

$$\frac{S \text{ метастазов в печени}}{S \text{ печени}} \times 100\%$$

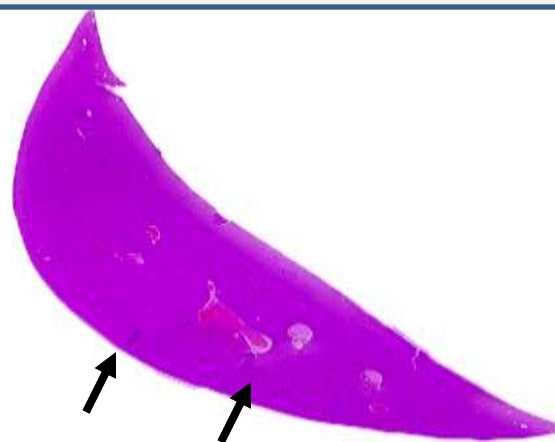
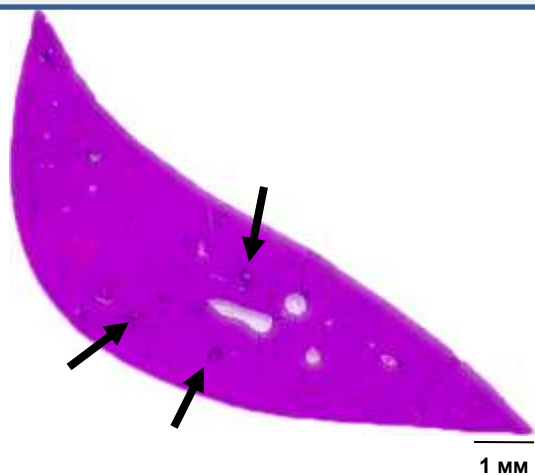
* отличия с $p < 0,05$

Гистологические срезы печени мышей СВА с лимфосаркомой RLS-40

RLS-40+PBS

LIVP-GFP 0д 4д

К-

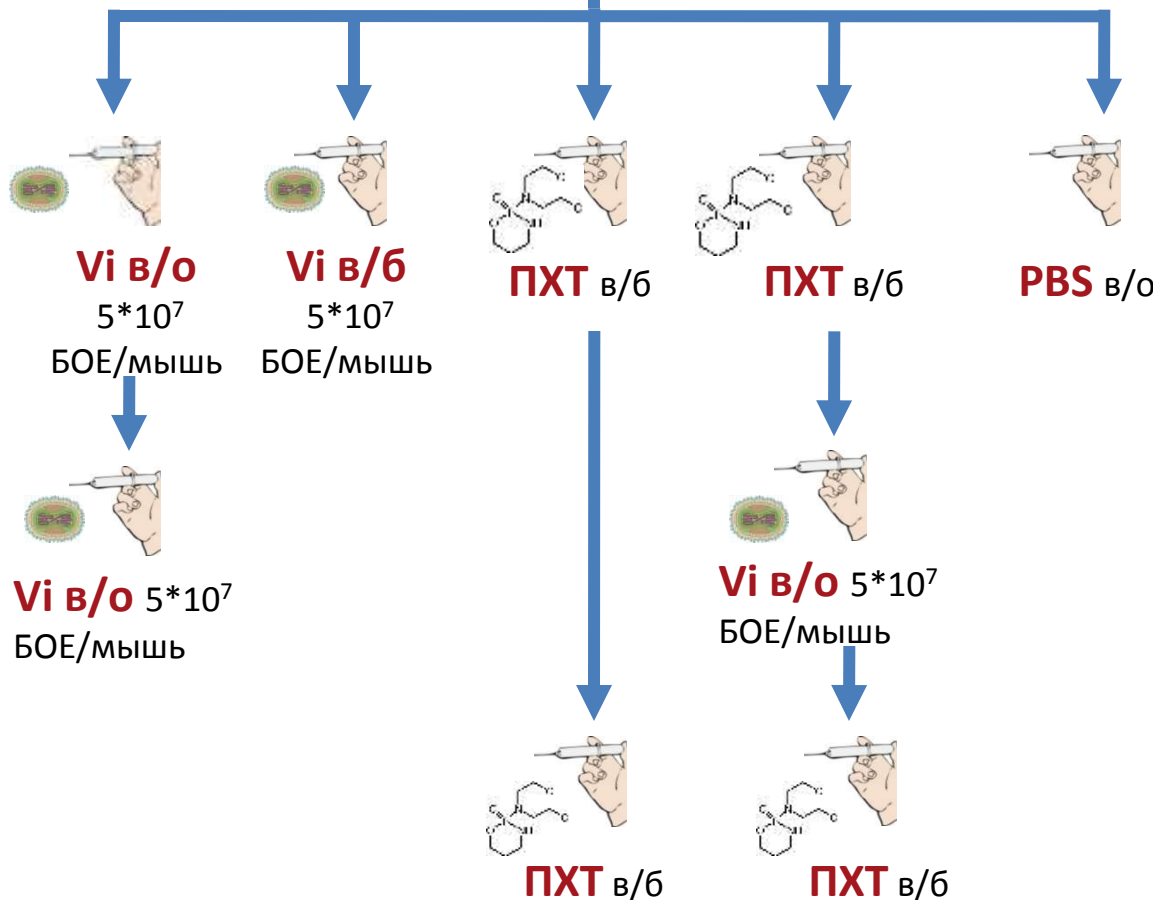


Противоопухолевая активность вируса LVP-GFP при комбинированной терапии

Имплантация **RLS-40**
в правую бедренную
мышцу, 10^6 кл/мышь



Самки мышей линии
СВА, ~ 6 нед.

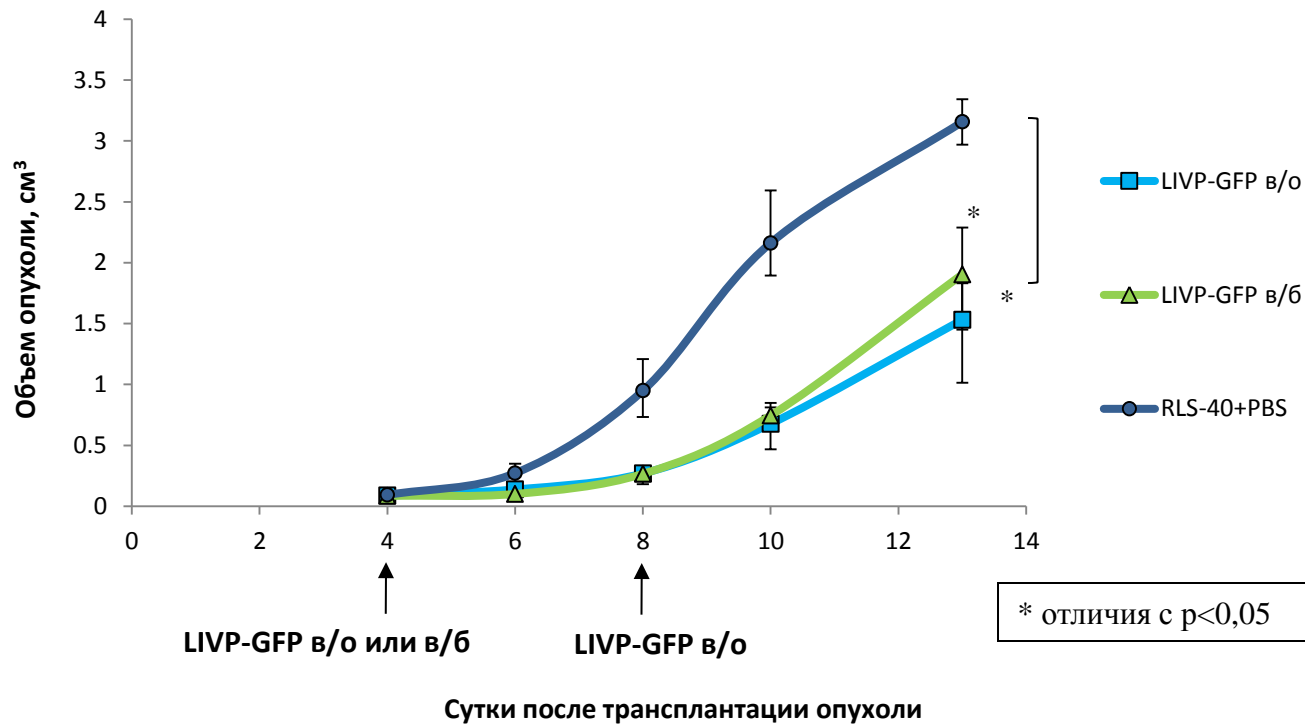


4 сутки роста
опухоли

8 сутки роста
опухоли

9 сутки роста
опухоли

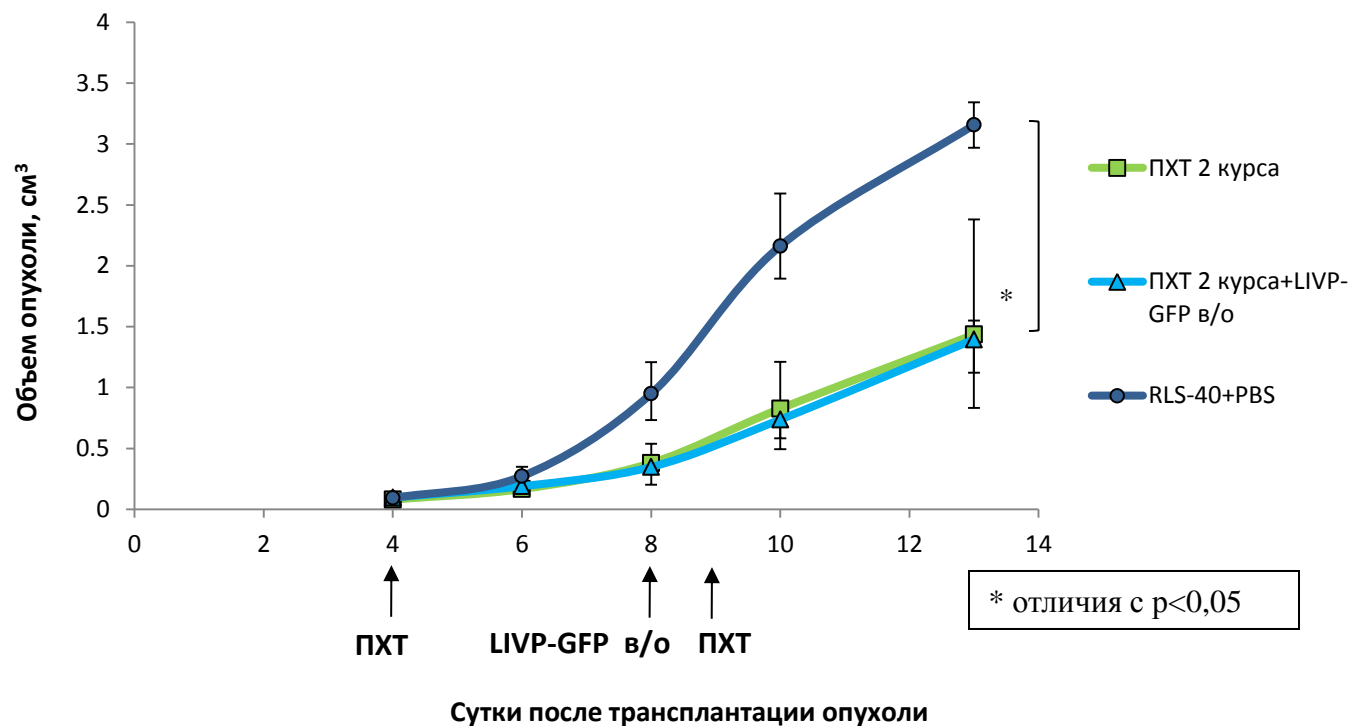
Противоопухолевая активность вируса LIVP-GFP при комбинированной терапии



Влияние вируса LIVP-GFP на рост опухоли при внутрибрюшинном и двукратном внутриопухолевом способе введения.

- ✓ Торможение роста опухоли при введении **вируса** наблюдается уже **на 8 сутки** после имплантации клеток
- ✓ Замедление роста опухоли наблюдается в течение всего эксперимента и **не зависит от способа введения вируса**

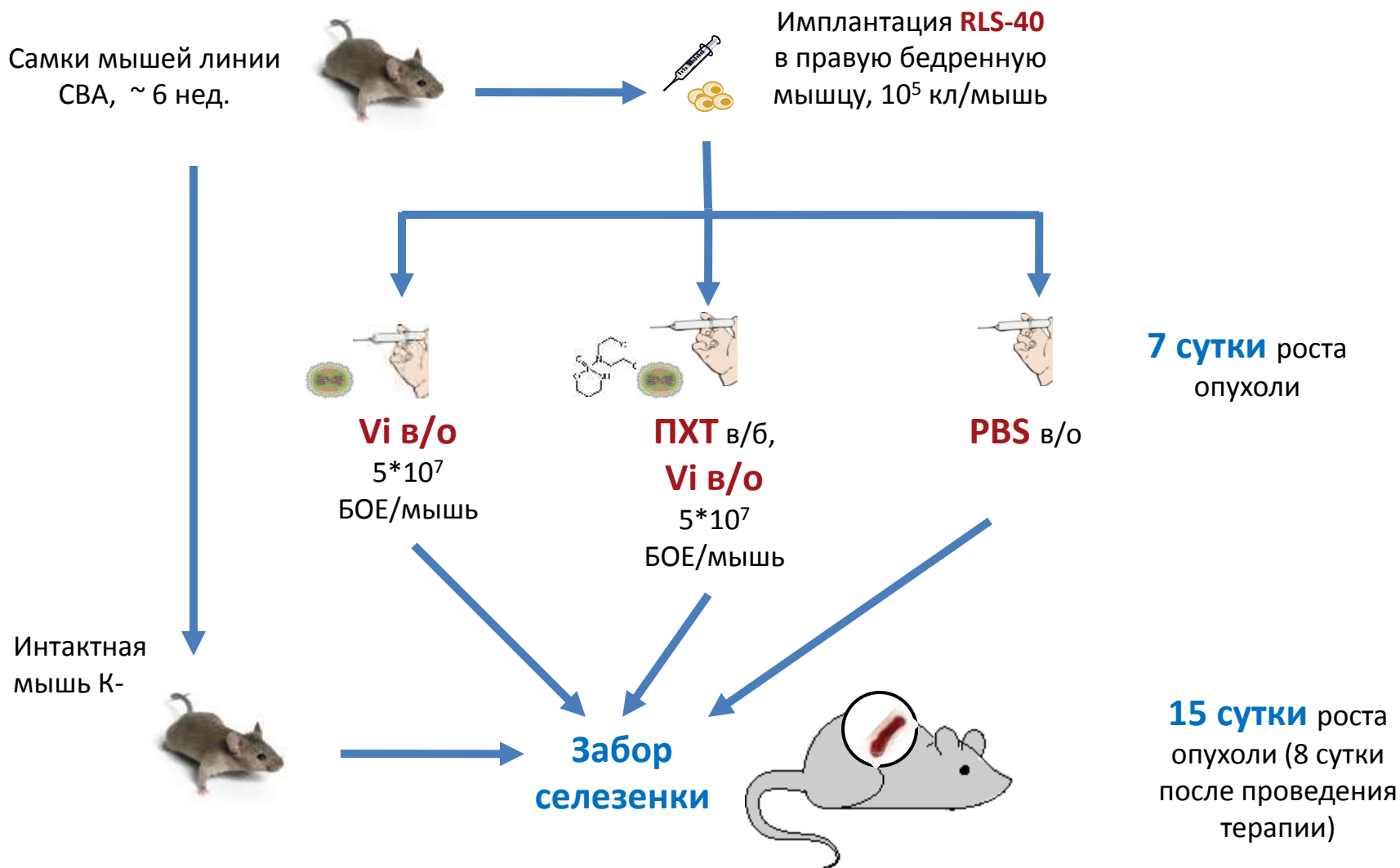
Противоопухолевая активность вируса LIVP-GFP при комбинированной терапии



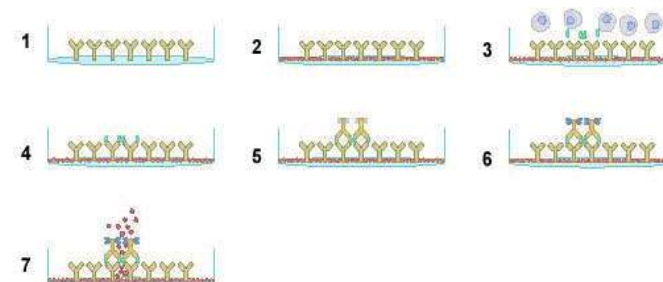
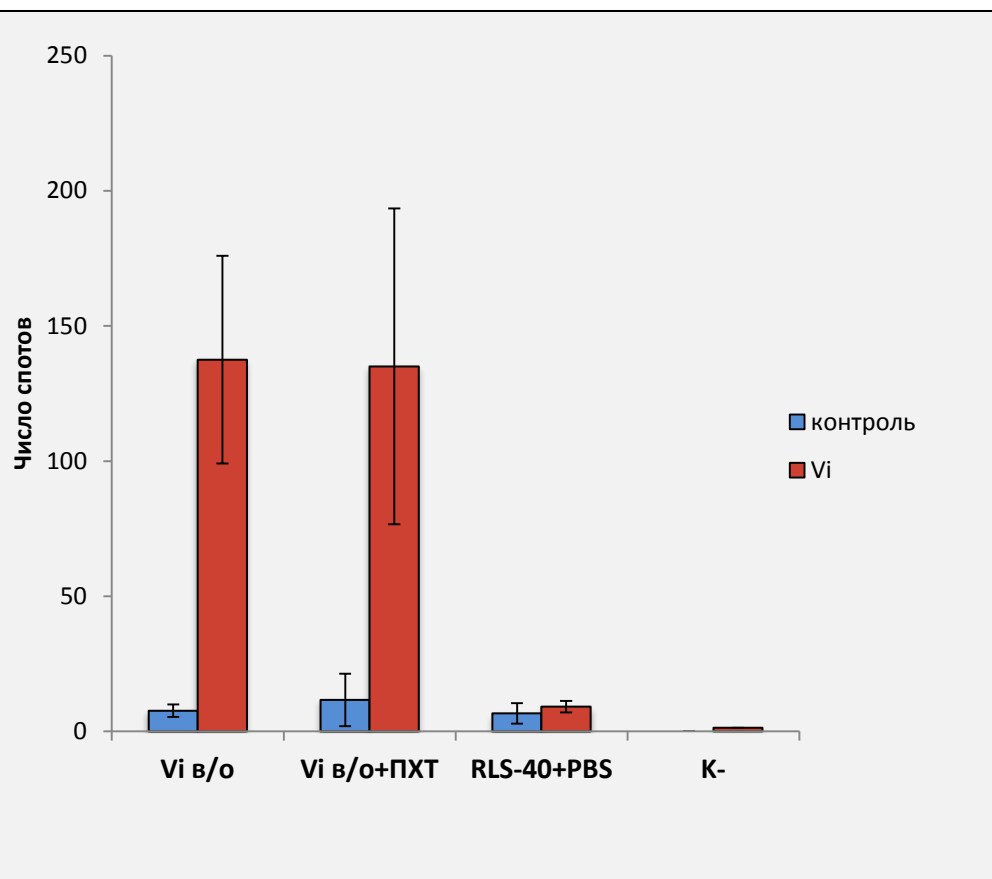
Влияние ПХТ на рост опухоли отдельно и в сочетании с внутриопухолевым способом введения вируса.

- ✓ При проведении монотерапии с помощью **цитостатиков** наблюдается **стабилизация и замедление роста опухоли** по сравнению с контрольной группой
- ✓ Замедление роста опухоли наблюдается в течение всего эксперимента

Оценка активации Т-клеточного звена иммунной системы



Оценка активации Т-клеточного звена иммунной системы методом *ELISpot*

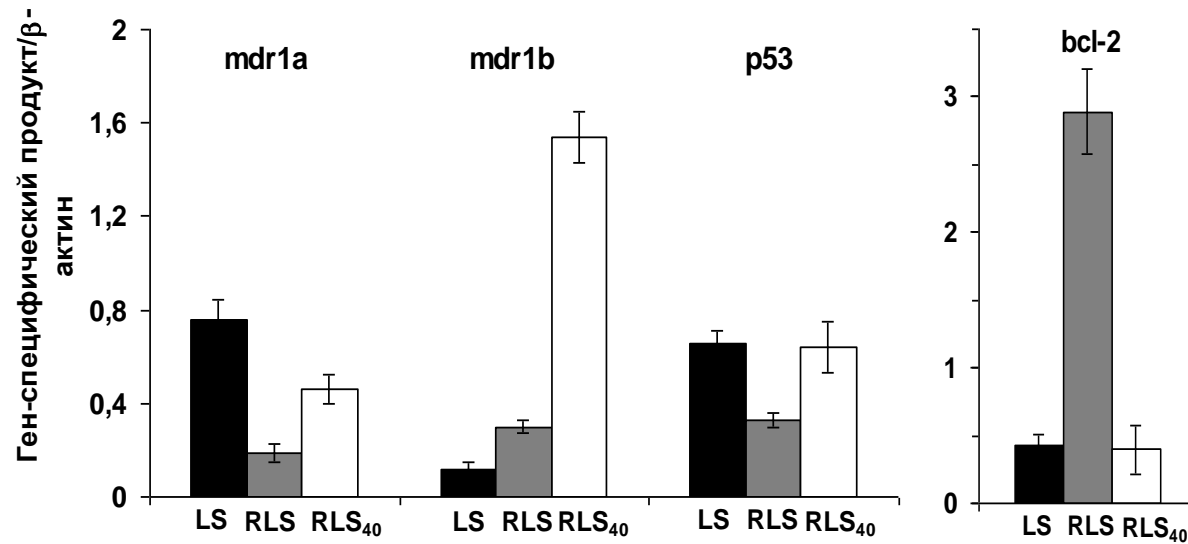


- ✓ Вирус осповакцины увеличивает количество вирус-специфических ИНФ-γ-секретирующих клеток и, таким образом, **стимулирует развитие Т-клеточного иммунного ответа**

Выводы

- ✓ Показано, что в опухолевых клетках с различными механизмами формирования МЛУ наблюдается прогрессирующее цитопатическое действие вируса LIVP-GFP.
- ✓ Нормальные клетки обладают низкой чувствительностью к инфицированию вирусом LIVP-GFP.
- ✓ При проведении виротерапии на ранних этапах опухолевого роста наблюдается значительное ингибирование развития метастатического процесса
- ✓ Противоопухолевая активность вируса LIVP-GFP не зависит от способа введения вируса при проведении терапии мышам с солидной формой лимфосаркомы RLS-40.
- ✓ Исследованная схема проведения комбинированной виротерапии с включением в схему терапии препаратов, используемых в настоящее время для лечения онкологических больных, не привела к усилению торможения роста опухоли.
- ✓ При монотерапии, а также при проведении комбинированной виротерапии вирус осповакцины активирует Т-клеточный иммунный ответ.

Механизмы формирования МЛУ



Сравнение профиля экспрессии генов *mdr1a*, *mdr1b*, *p53* и *bcl-2* в клетках линий LS, RLS и RLS-40 методом ОТ-ПЦР (Шкляева, 2009)