

Вирус-индуцированные новообразования человека и роль трансмиссионной электронной микроскопии в их диагностике

М.А. Козлова, Д.А. Арешидзе, Л.М. Михалева

Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Резюме. Одним из важных канцерогенных факторов, и при этом чрезвычайно сложным в плане изучения, являются онкогенные вирусы. В данном обзоре рассмотрены основные исторические этапы изучения вирусной онкопатологии в клинике и эксперименте, приведена краткая классификация онкогенных вирусных инфектов, дана характеристика их участия в канцерогенезе. Описана роль методов электронной микроскопии в диагностике онкологических заболеваний как в практическом здравоохранении, так и в научно-исследовательском аспекте, а также охарактеризованы перспективы развития применения данного метода в изучении ультраструктурных морфологических особенностей вирус-индуцированных опухолей в настоящее время. Морфологическое исследование клетки методами электронной микроскопии позволяет установить характерные ультраструктурные паттерны для каждой патологии и их вариации внутри нозологической единицы. Применение возможностей электронной микроскопии в комплексе с другими современными методами разностороннего мультидисциплинарного исследования характеристик организма пациентов с вирус-индуцированной онкопатологией открывает горизонты для понимания корреляционных связей гомеостатических, адаптационных, патологических процессов, генетических, средовых и, как следствие, морфологических предпосылок развития и особенностей течения тех или иных заболеваний.

Ключевые слова: электронная микроскопия, вирусная онкопатология, канцерогенез, социально значимая патология

Для корреспонденции: Мария Александровна Козлова. E-mail: kma-morph@mail.ru

Для цитирования: Козлова М.А., Арешидзе Д.А., Михалева Л.М. Вирус-индуцированные новообразования человека и роль трансмиссионной электронной микроскопии в их диагностике. Клин. эксп. морфология. 2024;13(4):5–17. DOI: 10.31088/CEM2024.13.4.5-17.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (№ FURG-2024-0027-124021600057-0).

Статья поступила 20.05.2024. Получена после рецензирования 04.06.2024. Принята в печать 24.06.2024.

Virus-induced human cancers and the role of transmission electron microscopy in their diagnosis

M.A. Kozlova, D.A. Areshidze, L.M. Mikhaleva

Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, Russia

Abstract. Oncogenic viruses are one of the important carcinogenic factors being extremely complicated to study. This review gives the main historical stages of clinical and experimental study of viral oncopathology, provides basic classification of oncogenic viral infections, and characterizes their role in carcinogenesis. We describe the role of electron microscopy methods in diagnosing oncological diseases in both practical healthcare and research. The article also discusses future possible uses of electron microscopy in studying ultrastructural morphological features of virus-induced tumors. Morphological examination of cells using electron microscopy methods allows to establish characteristic ultrastructural patterns for each pathology and their variations within the nosological form. The use of electron microscopy in combination with other modern methods for a comprehensive multidisciplinary study of patients with virus-induced oncopathologies opens up new horizons for understanding the correlations of homeostatic, adaptive, and pathological processes as well as genetic, environmental, and, thus, morphological prerequisites for the development and course of various diseases.

Keywords: electron microscopy, viral oncopathology, carcinogenesis, social pathology

Corresponding author: Maria A. Kozlova. E-mail: kma-morph@mail.ru

For citation: Kozlova M.A., Areshidze D.A., Mikhaleva L.M. Virus-induced human cancers and the role of transmission electron microscopy in their diagnosis. *Clin. exp. morphology*. 2024;13(4):5–17 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.4.5-17.

Funding. The work was carried out within the framework of State Assignment to Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery” (No. FURG-2024-0027-124021600057-0).

Received 20.05.2024. **Received in revised form** 04.06.2024. **Accepted** 24.06.2024.

Введение

Проблема этиологии опухолевых процессов волновала врачей и ученых во все времена. Основопологающей для современных представлений об этом процессе можно считать теорию раздражения, сформулированную в 1853 году Рудольфом Вирховом, согласно которой опухолевые клетки образуются из здоровых клеток организма вследствие воздействия повреждающих (раздражающих) внешних факторов [1]. Последующие теории канцерогенеза развивали эту идею, основываясь на открытии того или иного канцерогенного фактора.

К настоящему времени разнообразная и многофакторная этиология опухолевых заболеваний не вызывает сомнений. Для канцерогенеза требуется сочетание множества факторов. Изменение клеточного генома после воздействия канцерогенов может вызвать злокачественную трансформацию, если одновременно происходит подавление апоптоза и нарушение иммунного ответа, приводящее к неспособности распознать и уничтожить злокачественную клетку. Одним из важных канцерогенных факторов и при этом чрезвычайно сложным в плане изучения является инфекционный. И если бактериальные и паразитарные инфекции оказывают косвенное действие на частоту возникновения опухолей в основном за счет развития хронических воспалительных процессов или же повторяющейся интоксикации и травматизации тканей [2], то онкогенные вирусы обладают способностью к непосредственной трансформации клеток. Большинство из них интегрируется в геном клетки-хозяина и способно иммортализировать ее в целях обеспечения собственной беспрепятственной репликации [3].

Целью данного обзора являются представление исторического аспекта изучения вирусной онкопатологии в клинике и эксперименте, краткая классификация онкогенных вирусов, характеристика их роли в канцерогенезе, обобщенное описание роли электронной микроскопии в диагностике онкологических заболеваний (как в практическом здравоохранении, так и в научно-исследовательском аспекте), а также перспективы применения данного метода в изучении ультраструктурных морфологических особенностей вирус-индуцированных опухолей.

История изучения этиологической роли вирусов в канцерогенезе

Первое подтверждение вирусной этиологии опухолей было получено в 1907 году, когда итальянский

врач Джузеппе Чиуффо и соавторы обнаружили, что бородавки человека могут передаваться посредством нанесения на здоровую кожу бесклеточных фильтратов из клеток данного новообразования. Через 70 лет была подтверждена роль папилломавируса в развитии рака у человека. В 1908 году о возможности аналогичной передачи лейкемии у кур доложили В. Эллерман и О. Банг, а в 1911 году П. Раус показал возможность бесклеточного заражения здоровых птиц веретеночной саркомой также при помощи бесклеточных экстрактов опухоли [4]. Эти исследования легли в основу вирусной теории канцерогенеза. В 1966 году Пейтону Раусу была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине [5]. В дальнейшем были проведены исследования на широком спектре различных опухолей животных, подтвердившие наличие неопухолевых агентов, провоцирующих развитие опухолей [6–13].

Поиски онкогенных вирусов человека долго не давали отчетливых воспроизводимых результатов, несмотря на то, что в их процессе было показано, что аденовирусы человека могут провоцировать развитие опухолей у животных [14].

Накопление знаний об онкогенных вирусах, и в особенности о морфологических проявлениях их активности в системе вирус–клетка, является в значительной мере нетривиальной задачей. Онкогенные вирусы могут осуществлять свой вклад на разных этапах онкогенеза, степень их вклада в развитие итогового заболевания варьирует, по разным данным, от 15 до 100% [15]. Необходимо заметить, что ни для одного из онкогенных вирусов запуск опухолевой трансформации не является неотъемлемой частью его жизненного цикла. Все известные онкогенные вирусы могут передаваться и вызывать инфекционные заболевания без инициации развития неоплазий. В нормальных условиях инфицированная клетка реагирует на инфекцию, иницируя остановку клеточного цикла и запуская процесс запрограммированной гибели; при этом с большой долей вероятности элиминируется и злокачественная клетка. Таким образом, вполне вероятно, что вирусные онкогены также служат генами уклонения от иммунного ответа, которые не позволяют клетке-хозяину иницировать эти стереотипные ответы на инфекцию [16, 17]. Вероятность развития неоплазий при инфицировании в значительной мере связана как с наследственной предрасположенностью к тем или иным видам рака, так и с сочетанным действием различных факторов внутренней и внешней среды, усугубляющих эффекты вируса

(хроническое воспаление, гормональные воздействия, лучистая энергия солнца, воздействие химических веществ, рентгеновское излучение, диета с низким содержанием клетчатки, курение, алкоголь и др.) [18–20]. При этом влияние нескольких факторов на риск может иметь характер как аддитивный, так и мультипликативный, то есть может соответствовать сумме рисков данных факторов или же произведению их рисков [21] (рис. 1).

Вирусный канцерогенез во многих случаях ассоциирован с непродуктивной инфекцией, находящейся длительное время в латентной форме, при которой зачастую не удастся выделить из опухоли возбудитель заболевания или обнаружить его морфологическими методами [22–25]. В таких случаях подтверждение вирусной природы заболевания является нелегкой задачей. Для решения данной проблемы специалистами в разное время предложены следующие критерии оценки [26].

Эпидемиологические

- Географическая распространенность рассматриваемой вирусной инфекции должна соответствовать таковой для предположительно ассоциированного типа рака, с поправкой на наличие известных сопутствующих факторов.
- Уровень определяемых вирусных маркеров выше у носителей заболевания, чем у представителей методически верно подобранной контрольной группы.

- Наличие вирусных маркеров предшествует развитию опухоли; развитие опухолей происходит чаще у пациентов с вирусными маркерами, чем в их отсутствие.
- Частота возникновения опухолевого заболевания снижается за счет профилактики ассоциированной вирусной инфекции.

Вирусологические

- Вирус способен к опухолевой трансформации целевых клеток *in vitro*.
- Вирусный геном идентифицируется в опухолевых клетках, отсутствуя при этом в нормальных.
- Инфицирование вирусом индуцирует развитие опухолей у животных в опыте.

Статистические

- Сила связи (как часто вирус ассоциирован с опухолью).
- Последовательность (наблюдалась ли взаимосвязь неоднократно).
- Специфичность ассоциации (является ли вирус однозначно ассоциированным с опухолью).
- Временные взаимоотношения (предшествует ли вирусная инфекция канцерогенезу).
- Биологический градиент (существует ли зависимость вероятности развития опухоли от величины вирусной нагрузки).

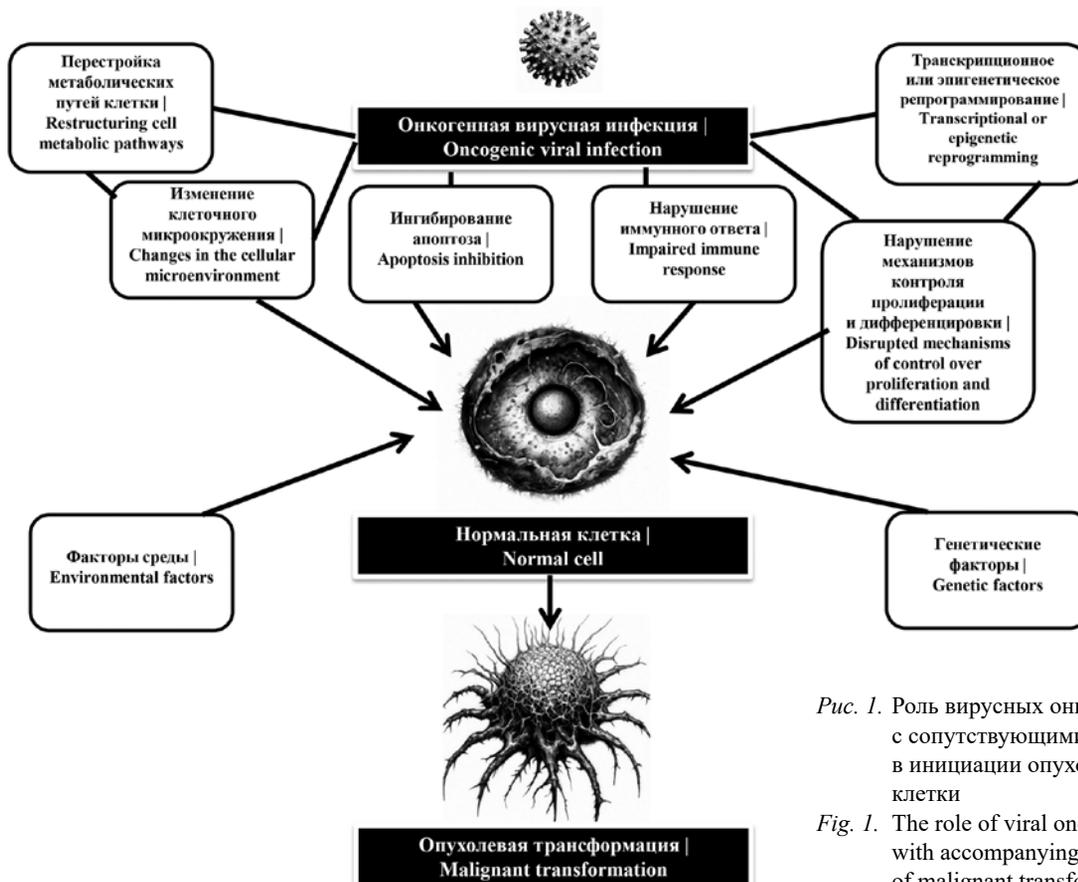


Рис. 1. Роль вирусных онкогенов в сочетании с сопутствующими факторами в инициации опухолевой трансформации клетки

Fig. 1. The role of viral oncogenes in combination with accompanying factors in the initiation of malignant transformation

- Биологическая достоверность (правдоподобна ли с биологической точки зрения вероятность индукции опухолевого роста данным вирусом).
- Согласованность (имеет ли предполагаемая связь смысл с точки зрения известных характеристик опухоли).
- Экспериментальные данные (есть ли лабораторные данные, подтверждающие взаимосвязь) [27, 28].

К настоящему времени онкогенное действие подтверждено для семи вирусов человека, принадлежащих к разным семействам. Среди этого числа присутствуют два семейства РНК-вирусов, к которым относятся вирус гепатита С и Т-лимфотропный вирус человека первого типа (семейства *Flaviviridae* и *Retroviridae*, соответственно), и пять разновидностей ДНК-вирусов: вирус Эпштейна–Барр и герпес-вирус саркомы Капоши (*Herpesviridae*), вирус гепатита В (*Hepadnaviridae*), вирус папилломы человека (*Papillomaviridae*) и полиомавирус клеток Меркеля (*Polyomaviridae*). Этиологическая связь данных инфектов с канцерогенезом у человека подтверждена клинически и экспериментально, они классифицированы экспертами Международного агентства по изучению рака как канцерогенные для человека (группа 1). Помимо достоверно подтвержденных в клинике и опыте этиологических связей данных вирусов с определенными типами рака существуют основания для внесения ряда онкологических патологий в список вероятно ассоциированных с теми же возбудителями и их дальнейшего всестороннего изучения. Важно отметить значительную распространенность и высокую социальную значимость данных патологий, в особенности затрагивающих репродуктивную функцию и передающихся в родах от матери ребенку [29–34] (табл. 1).

Доля опухолей человека вирусного происхождения варьирует в достаточно широком диапазоне, демонстрируя высокие значения (20–25%) в развивающихся странах Юго-Восточной Азии и Африки и относительно низкие (5%) в развитых странах [35, 36].

Как уже было упомянуто, вирусы с подтвержденным онкогенным действием относятся к разным семействам, однако в большинстве своем обладают относительно схожим морфологическим строением.

Вирус Эпштейна–Барр (EBV) по своему строению является типичным герпесвирусом. Незрелая частица (нуклеокапсид) вируса Эпштейна–Барр представляет собой икосаэдр с шестиугольным профилем, имеет диаметр около 80 нм и либо пуста, либо содержит в своем центре электронноплотный кольцеобразный нуклеоид. Зрелый вирион данного вируса в разрезе демонстрирует дополнительную внешнюю оболочку размером около 120 нм и всегда содержит электронноплотный центрально расположенный нуклеоид диаметром около 45 нм [37, 38] (рис. 2 А).

Вирус гепатита В (HBV) – один из самых маленьких оболочечных вирусов животных. Вирионы размером 30–42 нм, способные инфицировать гепатоциты, называют частицами Дейна. Такой вирион состоит из ико-

саэдрического белкового нуклеокапсида, внешней липидной оболочки и ядра (нуклеоида). Нуклеокапсид содержит вирусную ДНК и ДНК-полимеразу, обладающую активностью обратной транскриптазы. Внешняя оболочка обладает встроенными белками, которые участвуют в связывании вирусов и проникновении в чувствительные клетки. Помимо частиц Дейна в сыворотке крови инфицированных пациентов методами электронной микроскопии обнаруживаются в большом количестве нитевидные, сферические и змеевидные (cobra-shaped) тела без ядра. Эти частицы не являются инфекционными и состоят из белков поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), обильно вырабатываемого в течение жизненного цикла вируса [39, 40] (рис. 2 В).

Диаметр сферических вирионов вируса гепатита С (HCV) составляет от 50 до 80 нм, они состоят из липопротеиновой оболочки и нуклеокапсида, содержащего одноцепочечный РНК-геном, ядро, гликопротеины Е1 и Е2 и трансмембранные белки I типа, которые образуют ковалентные связи с инфицированными гепатоцитами [41, 42] (рис. 2 С).

Вирионы вируса герпеса человека 8-го типа (герпес-вируса саркомы Капоши) состоят из гексагональных по форме нуклеокапсидов диаметром около 110 нм, окруженных белковым тегументом и липопротеиновой оболочкой и содержащих нуклеоиды круглой, многоугольной или столбчатой формы [43, 44] (рис. 2 D).

Вирионы Т-лимфотропного вируса человека первого типа (HTLV-I) преимущественно сферические, неоднородны по размеру и имеют средний диаметр 113 ± 23 нм. Вирионы обладают неупорядоченной полиэдрической структурой капсидного ядра, различной в каждой вирусной частице независимо от ее величины. Размеры нуклеоидов также варьируют, при этом некоторые участки белкового нуклеокапсида повторяют изгиб внутреннего листка липидной оболочки вируса, в то время как другие его части полностью отделены от вирусной мембраны [45, 46] (рис. 2 E).

Под общим названием «вирус папилломы человека» (HPV) объединено, по разным классификациям, порядка 30 вирусов, относящихся к пяти родам. ВПЧ относятся к безоболочечным вирусам, то есть обладают простым икосаэдрическим капсидом диаметром 40–55 нм, содержащим двухцепочечную ДНК в виде замкнутого кольца, включающего в себя около 8000 нуклеотидных пар [47–49] (рис. 2 F).

Вирион полиомавируса клеток Меркеля (MCPyV) представляет собой небольшую неоформленную безоболочечную двуцепочечную ДНК-содержащую (dsDNA) вирусную частицу икосаэдрической формы диаметром 45–50 нм. Структура MCPyV во многом схожа с таковой у других полиомавирусов [50, 51] (рис. 2 G).

Помимо упомянутых вирусов с подтвержденным онкогенным действием пристальное внимание клиницистов и исследователей длительное время направ-

Таблица 1 | Table 1

Онкогенные вирусы человека | Oncogenic human viruses

Наименование Name	Число случаев в мире/год Number of cases in the world/year	Классификация Classification	Клеточный тропизм Cell tropism	Первичное заболевание Primary disease	Подтвержденно ассоциированные типы рака у человека Confirmed associated types of cancer in humans	Предполагаемо ассоциированные типы рака у человека Suspected associated types of cancer in humans
Вирус Эпштейна–Барр Epstein–Barr virus (EBV)	200 тыс. 200,000	<i>Herpesviridae</i>	Эпителиальные клетки ротоглотки, В-клетки Oral epithelial cells, B cells	Асимптоматическое носительство, инфекционный мононуклеоз, X-сцепленный лимфопролиферативный синдром (синдром Дункана) Asymptomatic carrier, infectious mononucleosis, X-linked lymphoproliferative disease (Duncan syndrome)	Лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, ассоциированная с иммуносупрессией, экстранодальная NK/T-клеточная лимфома, аденокарцинома желудка, лейомиосаркомы Burkitt lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, Hodgkin lymphoma, non-Hodgkin lymphoma associated with immunosuppression, extranodal NK/T-cell lymphoma, gastric adenocarcinoma, leiomyosarcomas	Лимфоэпителиома-подобная карцинома Lymphoepithelioma-like carcinoma
Вирус гепатита В Hepatitis B virus (HBV)	420 тыс. 420,000	<i>Heradnaviridae</i>	Гепатоциты, лейкоциты Hepatocytes, leucocytes	Асимптоматическое носительство, острый гепатит, хронический гепатит, цирроз печени Asymptomatic carrier, acute hepatitis, chronic hepatitis, cirrhosis	Гепатоцеллюлярная карцинома Hepatocellular carcinoma	Холангиокарцинома, неходжкинская лимфома Cholangiocarcinoma, non-Hodgkin lymphoma
Т-лимфотропный вирус человека первого типа Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-I)	3 тыс. 3,000	<i>Retroviridae</i>	Т-клетки T cells		Т-клеточная лимфома/лейкемия взрослых Adult T-cell lymphoma/leukemia	
Вирус папилломы человека Human papillomavirus (HPV)	640 тыс. 640,000	<i>Papillomaviridae</i>	Сквамозный эпителий Squamous epithelium		Карцинома шейки матки, вульвы, влагалища, полового члена, анального канала, ротовой полости, ротоглотки и миндалин Carcinomas of the cervix, vulva, vagina, penis, anal canal, oral cavity, oropharynx, and tonsils	Рак гортани, некоторые опухоли головы и шеи Laryngeal cancer, some head and neck tumors

Таблица 1 (окончание) | Table 1 (end)

Наименование Name	Число случаев в мире/год Number of cases in the world/year	Классификация Classification	Клеточный тропизм Cell tropism	Первичное заболевание Primary disease	Подтвержденно ассоциированные типы рака у человека Confirmed associated types of cancer in humans	Предполагаемо ассоциированные типы рака у человека Suspected associated types of cancer in humans
Вирус гепатита С Hepatitis C virus (HCV)	170 тыс. 170,000	<i>Flaviviridae</i>	Гепатоциты Hepatocytes	Асимптоматическое носительство, острый гепатит, цирроз печени Asymptomatic carriage, acute hepatitis, liver cirrhosis	Гепатоцеллюлярная карцинома, неходжкинская лимфома Hepatocellular carcinoma, non-Hodgkin lymphoma	Холангиокарцинома Cholangiocarcinoma
Вирус герпеса человека 8-го типа (герпес-вирус саркомы Капоши) Human Herpesvirus-8 (Kaposi sarcoma Herpesvirus [KSHV])	44 тыс. 44,000	<i>Herpesviridae</i>	В-клетки B cells		Саркома Капоши, первичная выпотная лимфома Kaposi sarcoma, primary effusion lymphoma	Мультицентрическая болезнь Кастлемана Multicentric Castlemann disease
Полиомавирус клеток Меркеля Merkel cell polyomavirus (MCPyV)	10 тыс. 10,000	<i>Polyomaviridae</i>	Клетки Меркеля Merkel cells	Асимптоматическое носительство Asymptomatic carriage	Карцинома Меркеля Merkel cell carcinoma	

лено на ряд ДНК- и РНК-вирусов, свойства которых позволяют также предположить у них потенциальное канцерогенное действие [52–55] (табл. 2).

Особняком в списке вирусов, относящихся к онкогенным, стоит вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Это обусловлено тем, что сам по себе данный вирус

не вызывает опухолевой трансформации клеток. Тем не менее вызываемый им критический иммунодефицит значительно повышает частоту инфицирования онкогенными вирусами; при этом течение данных заболеваний на фоне ВИЧ-инфекции отличается высокой агрессивностью, тенденцией к ускоренному росту

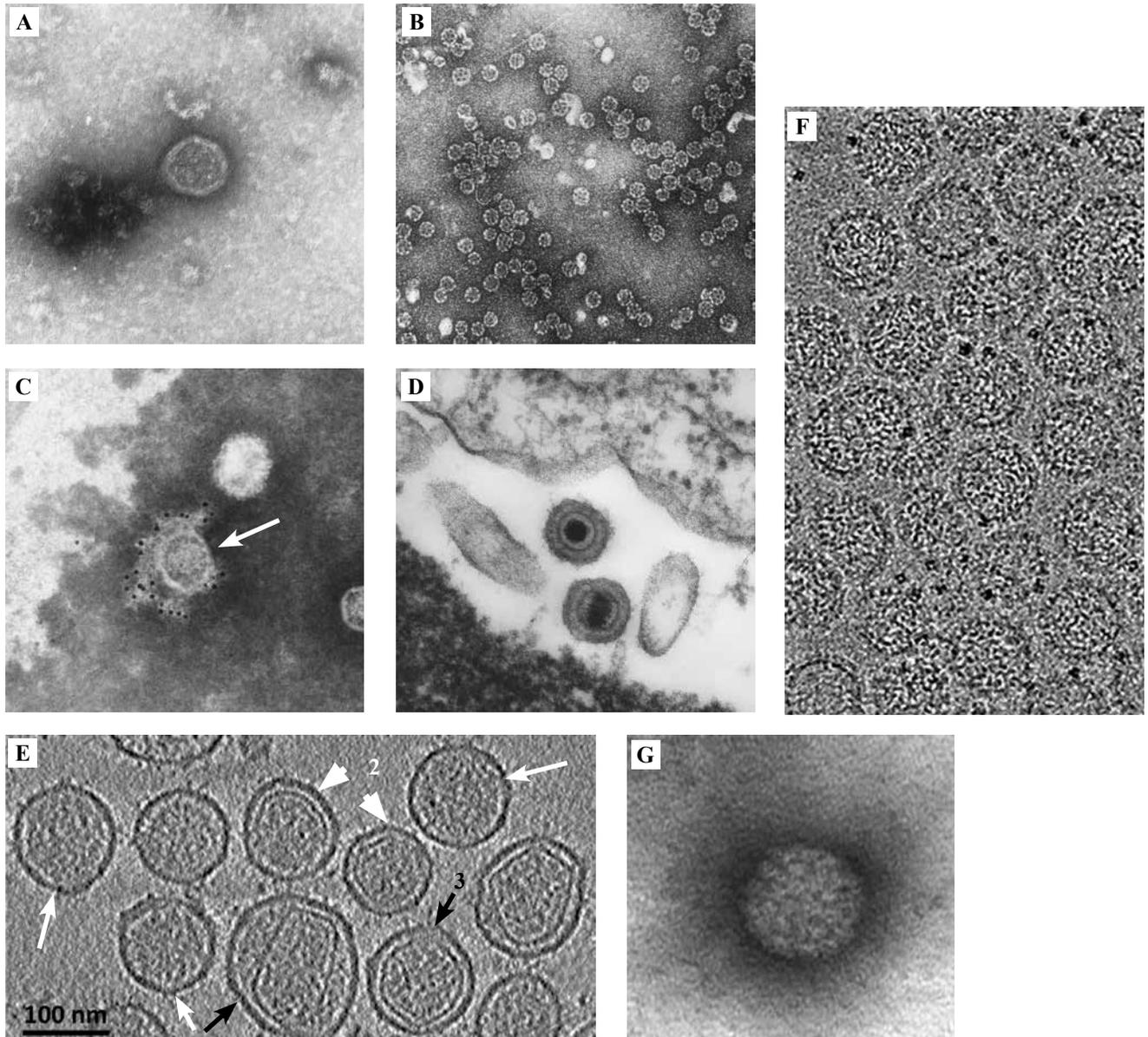


Рис. 2. Изображения онкогенных вирусов, полученные методом трансмиссионной электронной микроскопии.

А – вирус Эпштейна–Барр, В – вирус гепатита В, С – вирус гепатита С (стрелка указывает на нуклеоид вирусной частицы), D – вирус герпеса человека 8-го типа (герпес-вирус саркомы Капоши), E – Т-лимфотропный вирус человека первого типа (белые стрелки указывают на вирионы с равномерно распределенной электронной плотностью, не имеющие выраженных сердцевин; черные стрелки указывают на вирионы со зрелым нуклеоидом; белые головки стрелок указывают на частицы с недостаточно зрелым нуклеоидом; частица 3 имеет сферическое капсидное ядро), F – вирус папилломы человека, G – полиомавирус клеток Меркеля

Fig. 2. Images of oncogenic viruses obtained with transmission electron microscopy.

A – Epstein–Barr virus, B – hepatitis B virus, C – hepatitis C virus (the arrow indicates the nucleoid of the viral particle), D – human herpesvirus-8 (Kaposi sarcoma herpesvirus), E – human T-lymphotropic virus type 1 (white arrows indicate virions with uniformly distributed electron density and no pronounced core; black arrows indicate virions with a mature nucleoid; white arrowheads indicate particles with a partially mature nucleoid; particle 3 has a spherical capsid core), F – human papillomavirus, G – Merkel cell polyomavirus

Вирусы человека с предполагаемым онкогенным действием | Human viruses with putative oncogenic effects

Наименование Name	Классификация Classification	Предполагаемо ассоциированные опухоли Suspected associated tumors
Обезьяний вакуолизирующий вирус SV40 Macaca mulatta polyomavirus 1	<i>Polyomaviridae</i>	Злокачественные новообразования головного мозга, рак кости, мезотелиома Brain cancer, bone cancer, mesothelioma
Полиомавирус человека 1 Human polyomavirus 1 (BK virus)	<i>Polyomaviridae</i>	Рак простаты Prostate cancer
Вирус Джона Каннингема John Cunningham virus (JC virus)	<i>Polyomaviridae</i>	Злокачественные новообразования головного мозга Brain cancer
Эндогенные ретровирусы человека Human endogenous retroviruses (HERV)	<i>Retroviridae</i>	Герминогенные опухоли, рак молочной железы, рак яичников и меланома Germ cell tumors, breast cancer, ovarian cancer and melanoma
Вирус опухоли молочной железы человека Human mammary tumor virus (HMTV)	<i>Retroviridae</i>	Рак молочной железы Breast cancer
Гепатит TTV Torque teno virus (TTV)	<i>Circoviridae</i>	Опухоли желудочно-кишечного тракта, легких, молочной железы, миелома Tumors of the gastrointestinal tract, lungs, and breast, myeloma

и метастазированию, значительно хуже поддаваясь противоопухолевой терапии, чем у лиц, не инфицированных ВИЧ [56–59].

Роль электронной микроскопии в изучении и диагностике вирус-индуцированных опухолевых процессов

Ключевую роль в зарождении современной вирусной цитопатологии в целом и вирусной онкопатологии как ее подраздела сыграли создание и развитие в XX веке метода электронной микроскопии, позволившего значительно расширить познания об ультраструктуре опухолей, онкогенных вирусах и их поведении в клетке.

При изучении вирус-индуцированных опухолей на светооптическом уровне, ограниченном разрешающей способностью светового микроскопа, невозможно было составить отчетливое представление об ультраструктурных преобразованиях органоидов опухолевых клеток, в том числе под действием вирусных инфекций, о структуре онкогенных вирусов человека, их поведении в клетке и других морфологических аспектах данных патологий.

Переломным моментом в развитии онкопатологии стало открытие Майклом Эпштейном и Ивонной Барр вирусных частиц вируса герпеса человека 4-го типа в клетках лимфомы Беркитта с помощью просвечивающей электронной микроскопии [60–62]. За этим открытием последовало широкомасштабное изучение тонкой структуры различных опухолей человека и животных, создавшее фундамент для большинства наших современных представлений об опухолевом росте, а также метаболических и структурных преобразованиях в клетке и ткани, характере опухолевого неопластического, что, несомненно, стало чрезвычайно значимой

ступенью для понимания этиологии и патогенеза не только вирус-индуцированного, но и неинфекционного канцерогенеза [63, 64].

Вирус при внутриклеточном паразитировании выражено нарушает, извращает метаболические процессы в клетке, что проявляется в изменениях ее ультраструктурной организации. Эти изменения распространяются как на отдельные органоиды клетки, так и на системы гомологичных органоидов или же на всю клетку в целом. Характер и последовательность деструктивных изменений зависят от особенностей онтогенеза конкретного вируса, чувствительности клетки к инфекту, выраженности вирусной нагрузки и ряда прочих причин. Таким образом, методами электронной микроскопии можно установить характерные ультраструктурные паттерны для каждой патологии и их вариации внутри нозологической единицы [65].

Длительное время электронная микроскопия служила одним из основных инструментов диагностики опухолевых процессов. До развития и повсеместного внедрения методов молекулярно-генетической диагностики в клинической и экспериментальной онкологии именно ультраструктурное исследование с помощью просвечивающих электронных микроскопов позволяло наиболее точно верифицировать диагноз и обеспечить соответствующую ему терапию [66, 67].

Разумеется, у данного метода имеются свои ограничения, наиболее значимым из которых является, конечно, его длительность. В отличие от гистологических методов, допускающих срочную диагностику на замороженных и заключенных в парафин образцах, классическая пробоподготовка материала для просвечивающей электронной микроскопии занимает до двух недель, которые для пациента в тяжелом состоянии могут оказаться критическими. С учетом этого в настоящее

время электронная микроскопия отчасти уступает свои диагностические позиции более быстрым и удобным в использовании методикам (ПЦР, гистологическим, в том числе иммуногистохимическим методам, и т.д.), однако приобретает дополнительное значение в качестве важного инструмента исследований [68–73]. Тем не менее, существуют доступные для опытного специалиста методы ускоренной проводки биологических образцов, при которых срезы могут быть готовы к просмотру в течение 2,5–3 часов. Для подобной проводки образцы ткани нарезаются очень тонко (порядка 0,5 мкм), продолжительность пребывания в обезживающих растворах уменьшается, а полимеризация блока проводится при более высокой температуре в течение более короткого времени (например, 25 минут при +95°C). Кроме того, появление микроволновой обработки также позволило сократить время, необходимое для окрашивания, обезживания и заливки образцов [74–76].

Для ускоренной идентификации патогенов в диагностической электронномикроскопической вирусологии широко применяется метод негативного контрастирования. Данная техника, внедренная в 1959 году Р. Хорном и С. Бреннером, использует способность солей тяжелых металлов рассеивать электроны для контрастирования вирусов или бактерий, что позволяет детально изучить поверхность объекта. Удобство и простота метода обеспечивают возможность проводить рутинное исследование большого количества образцов. Одним из наиболее часто используемых негативных контрастов в диагностической электронной микроскопии является фосфорно-вольфрамовая кислота, но есть и другие, которые применяются регулярно (например, молибдат аммония, уранилацетат, соли кремневольфрамовой кислоты). Очищенную суспензию вируса в буферном растворе инактивируют, центрифугируют и пропускают через фильтры до достижения необходимой концентрации. Раствор контрастирующего вещества либо смешивают с суспензией вируса перед нанесением на сетку, либо наносят на сетку после того, как образец адсорбировался на опорной пленке [77].

Минус методики негативного контрастирования – возможное искажение формы вирионов вследствие поверхностного натяжения при высушивании образца на сетке. Современным методом, позволяющим избежать подобных повреждений и добиться получения точных изображений тонкой структуры различных объектов, является криоэлектронная микроскопия. Ограничения данного метода включают необходимость в высокоспециализированном дорогостоящем оборудовании и тщательную пробоподготовку. Образцы при использовании данной методики замораживают в жидком азоте, переносят в микроскоп в специальной холодильной камере и рассматривают в замороженном виде в специальном трансмиссионном электронном микроскопе, оснащенном криостативом. Многие цифровые изображения делаются под разными углами наклона и реконструируются компьютером в трехмерное изображение.

Цифровая визуализация также позволяет окрашивать различные компоненты изображения для получения наглядных иллюстраций строения тех или иных биологических объектов [78, 79]. Сочетание возможностей электронной микроскопии с другими современными методами комплексного разностороннего исследования характеристик организма пациента с вирус-индуцированной онкопатологией открывает горизонты для понимания корреляционных связей гомеостатических, адаптационных, патологических процессов, генетических, средовых и, как следствие, морфологических предпосылок развития и особенностей течения тех или иных заболеваний.

Методы электронной микроскопии позволяют

- Визуализировать наличие/отсутствие активных форм вирусов в клетках опухолей и/или при предопухоловом состоянии тканей, а также в культурах клеток в клинике и эксперименте.
- При визуализации активных инфекционных агентов определять области их локализации в клетке и внеклеточном матриксе, устанавливать характер взаимодействия вирусов с органоидами клетки и элементами тканевого микроокружения.
- Устанавливать качественные и количественные ультраструктурные особенности клеток, их органоидов (описательная и/или морфометрическая характеристика органоидов – форма, количество, локализация, признаки повышенной или сниженной функциональной активности клетки, наличие или отсутствие признаков внутриклеточной регенерации).
- Определять дистрофические и дегенеративные изменения в клетке.
- Оценивать характер васкуляризации опухоли.
- Составлять характеристику морфологической картины иммунного ответа.
- Определять типы клеточной гибели (некроз, апоптоз, пироптоз, ферроптоз).
- Определять число физических единиц вируса на одну клетку.
- Осуществлять установку связей между фенотипом опухолевой клетки и генотипом патологического агента.
- Выявлять различия в ультраструктуре клеток опухолей при наличии и отсутствии вирусной этиологии и различном наследственном мутационном статусе генов репарации ДНК.
- При терапии опухолей с применением продукции нанотехнологий осуществлять оценку эффективности лечения, локализации наночастиц в клетке, характера и успешности их действия.
- Одна из причин канцерогенеза – нарушение функционирования митохондрий; соответственно, эти органоиды являются и объектом терапии, а их изучение без применения электронной микроскопии невозможно [80–91].

Заключение

Таким образом, несмотря на развитие современных методов исследований, электронная микроскопия остается необходимым, а в ряде случаев и ведущим методом в практике как для онколога-клинициста, так и для онколога-исследователя, патолога. Следует подчеркнуть, что в настоящее время особенно важен междисциплинарный подход к диагностике, лечению и профилактике онкологических заболеваний органов и тканей, где особую ценность приобретают результаты комплекса различных методов, применяемых в исследовании, включая электронную микроскопию.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Norman RA.* Dr Rudolph Virchow, the Father of Pathology. Cambridge: Cambridge Scholars Publishing, 2022. 175 p.
2. *Duijster JW, Franz E, Neeffes J, Mughini-Gras L.* Bacterial and parasitic pathogens as risk factors for cancers in the gastrointestinal tract: a review of current epidemiological knowledge. *Front Microbiol.* 2021;12:790256. DOI: 10.3389/fmicb.2021.790256.
3. *Westermann D.* Carcinogenic effects of viral infections. *J Carcinog.* 2023;22(1):90–8. DOI: 10.4103/jcar.jcar_22_01_13.
4. *Bergonzini V, Salata C, Calistri A, Parolin C, Palù G.* View and review on viral oncology research. *Infect Agent Cancer.* 2010;5:11. DOI: 10.1186/1750-9378-5-11.
5. *Rous P.* A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cells. *J Exp Med.* 1911;13(4):397–411. DOI: 10.1084/jem.13.4.397.
6. *Rous P, Beard JW.* The progression to carcinoma of virus-induced rabbit papillomas (shope). *J Exp Med.* 1935;62(4):523–48. DOI: 10.1084/jem.62.4.523.
7. *Gross L.* “Spontaneous” leukemia developing in C3H mice following inoculation in infancy, with AK-leukemic extracts, or AK-embryos. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1951;76(1):27–32. PMID: 14816382.
8. *Friend C.* Cell-free transmission in adult Swiss mice of a disease having the character of a leukemia. *J Exp Med.* 1957;105(4):307–18. DOI: 10.1084/jem.105.4.307.
9. *Graffi A.* Chloroleukemia of mice. *Ann N Y Acad Sci.* 1957;68(2):540–58. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1957.tb56107.x.
10. *Moloney JB.* Biological studies on a lymphoid-leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. *J Natl Cancer Inst.* 1960;24:933–51. PMID: 14423465.
11. *Gross L.* A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1953;83(2):414–21. DOI: 10.3181/00379727-83-20376.
12. *Eddy BE, Borman GS, Grubbs GE, Young RD.* Identification of the oncogenic substance in rhesus monkey kidney cell culture as simian virus 40. *Virology.* 1962;17:65–75. DOI: 10.1016/0042-6822(62)90082-x.
13. *Girardi AJ, Sweet BH, Slotnick VB, Hilleman MR.* Development of tumors in hamsters inoculated in the neonatal period with vaccinating virus, SV-40. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1962;109:649–60. DOI: 10.3181/00379727-109-27298.
14. *Trentin JJ, Yabe Y, Taylor G.* The quest for human cancer viruses. *Science.* 1962;137(3533):835–41. DOI: 10.1126/science.137.3533.835.
15. *de Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM.* Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *Lancet Glob Health.* 2020;8(2):e180–e190. DOI: 10.1016/S2214-109X(19)30488-7.
16. *Spurgeon ME.* Small DNA tumor viruses and human cancer: preclinical models of virus infection and disease. *Tumour Virus Res.* 2022;14:200239. DOI: 10.1016/j.tvr.2022.200239.
17. *Arga KY, Kori M.* Chapter 10 – Current status of viral biomarkers for oncogenic viruses. In: M.M. Ennaji (ed.). *Oncogenic Viruses. Vol. 2: Medical Applications of Viral Oncology Research.* Academic Press, 2023. P. 221–252. DOI: 10.1016/B978-0-12-824156-1.00009-1.
18. *Tiwari P, Yadav A, Kaushik M, Dada R.* Cancer risk and male infertility: unravelling predictive biomarkers and prognostic indicators. *Clin Chim Acta.* 2024;558:119670. DOI: 10.1016/j.cca.2024.119670.
19. *Tarin D.* Causes of cancer and mechanisms of carcinogenesis. In: D. Tarin. *Understanding cancer: the molecular mechanisms, biology, pathology and clinical implications of malignant neoplasia.* Cham: Springer International Publishing, 2023. P. 229–279. DOI: 10.1007/978-3-030-97393-3_9.
20. *Mikhaleva LM, Pechnikova VV, Pshikhachev AM, Rogov KA, Gusniev MA, Patsap OI et al.* Bladder cancer: update on risk factors, molecular and ultrastructural patterns. *Curr Med Chem.* 2021;28(41):8517–33. DOI: 10.2174/0929867328666210309111731.
21. *Заридзе Д.Г., Максимович Д.М.* Профилактика злокачественных новообразований. Успехи молекулярной онкологии. 2017;4(2):8–25. DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-2-8-25.
22. *Zaridze DG, Maksimovich DM.* Prevention of malignant neoplasms. *Advances in Molecular Oncology.* 2017;4(2):8–25 (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-2-8-25.
23. *Наумова Л.А., Стародумова В.А.* Современные представления о цервикальном канцерогенезе. Бюллетень сибирской медицины. 2023;22(2):145–155. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-2-145-155.
24. *Naumova LA, Starodumova VA.* Modern concepts in cervical carcinogenesis. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2023;22(2):145–155 (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2023-2-145-155.
25. *Münz C.* Latency and lytic replication in Epstein–Barr virus-associated oncogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(11):691–700. DOI: 10.1038/s41579-019-0249-7.
26. *Gaglia MM, Munger K.* More than just oncogenes: mechanisms of tumorigenesis by human viruses. *Curr Opin Virol.* 2018;32:48–59. DOI: 10.1016/j.coviro.2018.09.003.
27. *Golais F, Mrázová V.* Human alpha and beta herpesviruses and cancer: passengers or foes? *Folia Microbiol (Praha).* 2020;65(3):439–49. DOI: 10.1007/s12223-020-00780-x.
28. *Chen CJ, You SL, Hsu WL, Yang HI, Lee MH, Chen HC et al.* Epidemiology of virus infection and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021;13–45. DOI: 10.1007/978-3-030-57362-1_2.

27. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Observational studies*. 2020;6(2):1–9. DOI: 10.1353/obs.2020.0000.
28. Koterov AN. Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence, and radiation aspect. Report 4, part 3: breadth of the use of criteria in different disciplines and different organizations. *Biology Bulletin*. 2023;50(11):2935–55. DOI: 10.1134/S1062359023110109.
29. Chang Y, Moore PS, Weiss RA. Human oncogenic viruses: nature and discovery. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017;372(1732):20160264. DOI: 10.1098/rstb.2016.0264.
30. Sarid R, Gao SJ. Viruses and human cancer: from detection to causality. *Cancer Lett*. 2011;305(2):218–27. DOI: 10.1016/j.canlet.2010.09.011.
31. Bizuayehu HM, Dadi AF, Hassen TA, Ketema DB, Ahmed KY, Kassa ZY et al. Global burden of 34 cancers among women in 2020 and projections to 2040: population-based data from 185 countries/territories. *Int J Cancer*. 2024;154(8):1377–93. DOI: 10.1002/ijc.34809.
32. Al-Sayegh H, Al-Zadjali S, Al-Moundhri M. Analyzing cancer incidence trends in Oman from 1996 to 2019: a comprehensive study of the National cancer annual reports. *JCO Glob Oncol*. 2024;10:e2300337. DOI: 10.1200/GO.23.00337.
33. Лагурева А.В., Плехова Н.Г., Апанасевич В.И. Оценка роли вирусов папилломы человека и Эпштейна–Барр в развитии эпителиальных опухолей молочной железы. Клиническая и экспериментальная морфология. 2023;12(1):5–14. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.5-14.
Lagureva AV, Plekhova NG, Apanasevich VI. Role of HPV and Epstein–Barr virus in the development of epithelial breast tumors. *Clinical and experimental morphology*. 2023;12(1):5–14 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.5-14.
34. Мидибер К.Ю., Бирюков А.Е., Печникова В.В., Грачева Н.А., Шахпазян Н.К., Гюева З.В. и др. Клинико-морфологическая неоднородность рака желудка диффузного типа. Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(S4):34–41. DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.34-41.
Midiber KY, Biryukov AE, Pechnikova VV, Gracheva NA, Shakhpazyan NK, Goeva ZV et al. Clinical and morphological heterogeneity of diffuse gastric cancer. *Clinical and experimental morphology*. 2021;10(S4):34–41 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.34-41.
35. Saravanan C, Baskar M, Ahmed SSSJ, Veerabathiran R. Chapter 7 – Role of viral human oncogenesis: recent developments in molecular approaches. In: M.M. Ennaji (ed.). *Oncogenic Viruses. Volume 2: Medical Applications of Viral Oncology Research*. Academic Press, 2023. P. 147–72. DOI: 10.1016/B978-0-12-824156-1.00006-6.
36. Krewski D, Al-Zoughool M, Bird M, Birkett N, Billard M, Milton B et al. Analysis of key characteristics of human carcinogens. In: R.A. Baan, B.W. Stewart, K. Straif (eds.). *Tumour site concordance and mechanisms of carcinogenesis*. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2019. P. 257–82.
37. Epstein MA, Achong BG. Morphology of the virus and of virus-induced cytopathologic changes. In: M.A. Epstein, B.G. Achong (eds.). *The Epstein–Barr virus*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1979. P. 23–37. DOI: 10.1007/978-3-642-67236-1_2.
38. Gelardi M, Tomaiuolo M, Cassano M, Besozzi G, Fiorella ML, Calvario A et al. Epstein–Barr virus induced cellular changes in nasal mucosa. *Virology*. 2006;336:6. DOI: 10.1186/1743-422X-3-6.
39. Alberti A, Diana S, Scullard GH, Eddleston WF, Williams R. Full and empty Dane particles in chronic hepatitis B virus infection: relation to hepatitis B e antigen and presence of liver damage. *Gastroenterology*. 1978;75(5):869–74. PMID: 700329.
40. Howard CR, Sundquist B, Allan J, Brown SE, Chen SH, Morein B. Preparation and properties of immune-stimulating complexes containing hepatitis B virus surface antigen. *J Gen Virol*. 1987;68(Pt 9):2281–9. DOI: 10.1099/0022-1317-68-9-2281.
41. Kaito M, Watanabe S, Tsukiyama-Kohara K, Yamaguchi K, Kobayashi Y, Konishi M et al. Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. *J Gen Virol*. 1994;75(Pt 7):1755–60. DOI: 10.1099/0022-1317-75-7-1755.
42. Falcón V, Acosta-Rivero N, González S, Dueñas-Carrera S, Martínez-Donato G et al. Ultrastructural and biochemical basis for hepatitis C virus morphogenesis. *Virus Genes*. 2017;53(2):151–64. DOI: 10.1007/s11262-017-1426-2.
43. Said JW, Chien K, Tasaka T, Koeffler HP. Ultrastructural characterization of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) in Kaposi's sarcoma lesions: electron microscopy permits distinction from cytomegalovirus (CMV). *J Pathol*. 1997;182(3):273–81. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199707)182:3<273::AID-PATH835>3.0.CO;2-P
44. Schulz TF. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus-8). *J Gen Virol*. 1998;79:1573–91. DOI: 10.1099/0022-1317-79-7-1573.
45. Cao S, Maldonado JO, Grigsby IF, Mansky LM, Zhang W. Analysis of human T-cell leukemia virus type 1 particles by using cryo-electron tomography. *J Virol*. 2015;89(4):2430–5. DOI: 10.1128/JVI.02358-14.
46. Maldonado JO, Cao S, Zhang W, Mansky LM. Distinct morphology of human T-cell leukemia virus type 1-like particles. *Viruses*. 2016;8(5):132. DOI: 10.3390/v8050132.
47. Oliveira LH, Frugulhetti IC, Passos MR, Cavalcanti SM, Fonseca ME. Human papillomavirus detection in genital lesions by in situ hybridization and ultrastructural observations. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1994;89(2):195–202. DOI: 10.1590/s0074-02761994000200013.
48. Broich G, Sasaki T. Electron microscopic detection of human papillomavirus particles in oral proliferative lesions. *Bull Tokyo Dent Coll*. 1989;30(4):213–20. PMID: 2561816.
49. He M, Chi X, Zha Z, Li Y, Chen J, Huang Y et al. Structural basis for the shared neutralization mechanism of three classes of human papillomavirus type 58 antibodies with disparate modes of binding. *J Virol*. 2021;95(7):e01587-20. DOI: 10.1128/JVI.01587-20.
50. Juan HY, Khachemoune A. A review of Merkel cell carcinoma. *JAAPA*. 2023;36(11):11–6. DOI: 10.1097/01.JAAP.0000979460.69305.b7.
51. Becker M, Dominguez M, Greune L, Soria-Martinez L, Pfeiderer MM, Schowalter R et al. Infectious entry of Merkel cell polyomavirus. *J Virol*. 2019;93(6):e02004–18. DOI: 10.1128/JVI.02004-18.
52. Zhou X, Zhu C, Li H. BK polyomavirus: latency, reactivation, diseases and tumorigenesis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1263983. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1263983.

53. Venuti A, Romero-Medina MC, Melita G, Ceraolo MG, Brancaccio RN, Sirand C et al. Lyon IARC polyomavirus displays transforming activities in primary human cells. *J Virol*. 2022;96(14):e0206121. DOI: 10.1128/jvi.02061-21.
54. McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Viruses associated with human cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1782(3):127–50. DOI: 10.1016/j.bbadis.2007.12.005.
55. Ko EJ, Song KS, Ock MS, Choi YH, Kim S, Kim HS et al. Expression profiles of human endogenous retrovirus (HERV)-K and HERV-R Env proteins in various cancers. *BMB Rep*. 2021;54(7):368–73. DOI: 10.5483/BMBRep.2021.54.7.246.
56. McGee-Avila JK, Suneja G, Engels EA, Rositch AF, Horner MJ, Luo Q et al. Cancer treatment disparities in people with HIV in the United States, 2001–2019. *J Clin Oncol*. 2024;42(15):1810–20. DOI: 10.1200/JCO.23.02366.
57. Chowdhary S, Deka R, Panda K, Kumar R, Solomon AD, Das J et al. Recent updates on viral oncogenesis: available preventive and therapeutic entities. *Mol Pharm*. 2023;20(8):3698–740. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.2c01080.
58. Isagulians M, Bayurova E, Avdoshina D, Kondrashova A, Chioldi F, Palefsky JM. Oncogenic effects of HIV-1 proteins, mechanisms behind. *Cancers (Basel)*. 2021;13(2):305. DOI: 10.3390/cancers13020305.
59. Galati L, Chiantore MV, Marinaro M, Di Bonito P. Human oncogenic viruses: characteristics and prevention strategies—lessons learned from human papillomaviruses. *Viruses*. 2024;16(3):416. DOI: 10.3390/v16030416.
60. Shannon-Lowe C, Rickinson AB, Bell AI. Epstein–Barr virus-associated lymphomas. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017;372(1732):20160271. DOI: 10.1098/rstb.2016.0271.
61. Aye R, Ofori MEO, Wright E, Quaye O. Epstein–Barr virus associated lymphomas and epithelia cancers in humans. *J Cancer*. 2020;11(7):1737–50. DOI: 10.7150/jca.37282.
62. Wong Y, Meehan MT, Burrows SR, Doolan DL, Miles JJ. Estimating the global burden of Epstein–Barr virus-related cancers. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2022;148(1):31–46. DOI: 10.1007/s00432-021-03824-y.
63. Schiller JT, Lowy DR. An introduction to virus infections and human cancer. *Recent Results Cancer Res*. 2021;217:1–11. DOI: 10.1007/978-3-030-57362-1_1.
64. Moore PS, Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(12):878–89. DOI: 10.1038/nrc2961.
65. Соловьев В.Д., Хесин Я.Е., Быковский А.Ф. Очерки по вирусной цитопатологии. Москва: Медицина, 1979. 320 с. Solovyov VD, Khesin YaE, Bykovsky AF. Essays on viral cytopathology. Moscow: Meditsina, 1979. 320 p. (In Russ.).
66. Erlandson RA. Application of transmission electron microscopy to human tumor diagnosis: an historical perspective. *Cancer Invest*. 1987;5(5):487–505. DOI: 10.3109/07357908709032906.
67. Erlandson RA. Role of electron microscopy in modern diagnostic surgical pathology. *Modern Surgical Pathology*. 2009:71–84. DOI: 10.1016/B978-1-4160-3966-2.00005-9.
68. Xia F, Youcef-Toumi K. Review: advanced atomic force microscopy modes for biomedical research. *Biosensors (Basel)*. 2022;12(12):1116. DOI: 10.3390/bios12121116.
69. Riesterer JL, López CS, Stempinski ES, Williams M, Loftis K, Stoltz K et al. A workflow for visualizing human cancer biopsies using large-format electron microscopy. *Methods Cell Biol*. 2020;158:163–81. DOI: 10.1016/bs.mcb.2020.01.005.
70. Cohen Hyams T, Mam K, Killingsworth MC. Scanning electron microscopy as a new tool for diagnostic pathology and cell biology. *Micron*. 2020;130:102797. DOI: 10.1016/j.micron.2019.102797.
71. Jung MK, Mun JY. Sample preparation and imaging of exosomes by transmission electron microscopy. *J Vis Exp*. 2018;(131):56482. DOI: 10.3791/56482.
72. Malatesta M. Transmission electron microscopy as a powerful tool to investigate the interaction of nanoparticles with subcellular structures. *Int J Mol Sci*. 2021;22(23):12789. DOI: 10.3390/ijms222312789.
73. Doane FW, Anderson N, Chao J, Noonan A. Two-hour embedding procedure for intracellular detection of viruses by electron microscopy. *Appl Microbiol*. 1974;27(2):407–10. DOI: 10.1128/am.27.2.407-410.1974.
74. Curry A, Appleton H, Dowsett B. Application of transmission electron microscopy to the clinical study of viral and bacterial infections: present and future. *Micron*. 2006;37(2):91–106. DOI: 10.1016/j.micron.2005.10.001.
75. Webster P. Microwave-assisted processing and embedding for transmission electron microscopy. *Methods Mol Biol*. 2007;369:47–65. DOI: 10.1007/978-1-59745-294-6_4.
76. Roingeard P, Raynal PI, Eymieux S, Blanchard E. Virus detection by transmission electron microscopy: still useful for diagnosis and a plus for biosafety. *Rev Med Virol*. 2019;29(1):e2019. DOI: 10.1002/rmv.2019.
77. Goldsmith CS, Miller SE. Modern uses of electron microscopy for detection of viruses. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22(4):552–63. DOI: 10.1128/CMR.00027-09.
78. Кордюкова Л.В., Моисеенко А.В., Тимофеева Т.А., Федякина И.Т. Криоэлектронная микроскопия оболочечных вирусов на базе усовершенствованного просвечивающего электронного микроскопа: вирусы гриппа типа А, В и коронавирус SARS-CoV-2. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2023;78(3S):21–26. DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-3S-4.
- Kordyukova LV, Moiseenko AV, Timofeeva TA, Fedyakina IT. Cryo-electron microscopy of enveloped viruses using upgraded transmission electron microscope: influenza type A, B viruses and SARS-CoV-2. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2023;78(3S):21–26 (In Russ.). DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-3S-4.
79. Chu CH, Tseng WW, Hsu CM, Wei AC. Image analysis of the mitochondrial network morphology with applications in cancer research. *Front Phys*. 2022;10:855775. DOI: 10.3389/fphy.2022.855775.
80. Kawano I, Bazila B, Ježek P, Dlasková A. Mitochondrial dynamics and cristae shape changes during metabolic reprogramming. *Antioxid Redox Signal*. 2023;39(10-12):684–707. DOI: 10.1089/ars.2023.0268.
81. Gomathi AC, Rajarathinam SX, Sadiq AM, Rajeshkumar S. Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-7

- human breast cancer cell line. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020;55:101376. DOI: 10.1016/j.jddst.2019.101376.
82. *Miri A, Darroudi M, Sarani M.* Biosynthesis of cerium oxide nanoparticles and its cytotoxicity survey against colon cancer cell line. *Appl Organometal Chem.* 2020;34(1):e5308. DOI: 10.1002/aoc.5308.
83. *Zadeh FA, Bokov DO, Salahdin OD, Abdelbasset WK, Jawad MA, Kadhim MM et al.* Cytotoxicity evaluation of environmentally friendly synthesis Copper/Zinc bimetallic nanoparticles on MCF-7 cancer cells. *Rend Lincei Sci Fis Nat.* 2022;33(2):441–7. DOI: 10.1007/s12210-022-01064-x.
84. *Gheyntanchi E, Naseri M, Karimi-Busheri F, Atyabi F, Mirsharif ES, Bozorgmehr M et al.* Morphological and molecular characteristics of spheroid formation in HT-29 and Caco-2 colorectal cancer cell lines. *Cancer Cell Int.* 2021;21(1):204. DOI: 10.1186/s12935-021-01898-9.
85. *Петрова И.Д., Зайцев Б.Н., Таранов О.С.* Концентрирование вирусов и электронная микроскопия. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2020;24(3):276–283. DOI: 10.18699/VJ20.620.
Petrova ID, Zaitsev BN, Taranov OS. Concentration of viruses and electron microscopy. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2020;24(3):276–283 (In Russ.). DOI: 10.18699/VJ20.620.
86. *Kloker LD, Berchtold S, Smirnow I, Schaller M, Fehrenbacher B, Krieg A et al.* The oncolytic herpes simplex virus Talimogene laherparepvec shows promising efficacy in neuroendocrine cancer cell lines. *Neuroendocrinology.* 2019;109(4):346–61. DOI: 10.1159/000500159.
87. *He K, Shokuhfar T, Shahbazian-Yassar R.* Imaging of soft materials using in situ liquid-cell transmission electron microscopy. *J Phys Condens Matter.* 2019;31(10):103001. DOI: 10.1088/1361-648X/aaf616.
88. *Grasso D, Zampieri LX, Capelôa T, Van de Velde JA, Sonveaux P.* Mitochondria in cancer. *Cell Stress.* 2020;4(6):114–46. DOI: 10.15698/cst2020.06.221.
89. *Saha T, Dash C, Jayabalan R, Khiste S, Kulkarni A, Kurmi K et al.* Intercellular nanotubes mediate mitochondrial trafficking between cancer and immune cells. *Nat Nanotechnol.* 2022;17(1):98–106. DOI: 10.1038/s41565-021-01000-4.
90. *Atasheva S, Emerson CC, Yao J, Young C, Stewart PL, Shayakhmetov DM.* Systemic cancer therapy with engineered adenovirus that evades innate immunity. *Sci Transl Med.* 2020;12(571):eabc6659. DOI: 10.1126/scitranslmed.abc6659.
91. *Adhikari P, Hasan M, Sridhar V, Roy D, Pradhan P.* Studying nanoscale structural alterations in cancer cells to evaluate ovarian cancer drug treatment, using transmission electron microscopy imaging. *Phys Biol.* 2020;17(3):036005. DOI: 10.1088/1478-3975/ab6abb.

Информация об авторах

Мария Александровна Козлова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии клетки, заведующая группой электронной микроскопии референс-центра инфекционной и вирусной онкопатологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Давид Александрович Арешидзе – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Author information

Maria A. Kozlova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Cell Pathology, Head of the Electron Microscopy Group, Reference Center for Infectious and Viral Oncopathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-6251-2560>

David A. Areshidze – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-3006-6281>

Liudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>