



О. М. ЛІСЯНИЙ

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ

## Герпесвірусна контамінація медулобластом та гліальних пухлин головного мозку

**Мета** — вивчити персистенцію вірусів герпесного типу в медулобластомах та гліальних пухлинах головного мозку.

**Матеріали і методи.** Вивчено 103 зразки пухлин головного мозку, взяті для дослідження відразу після нейрохірургічного їх видалення. Віруси герпесу (1/2, 6, 7, вірус Епштейна—Барр (ВЕБ), цитомегаловірус (ЦМВ)) досліджували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу та з електрофоретичною реєстрацією за допомогою наборів виробництва «Амплісенс» та «ДНК-технологія».

**Результати.** Встановлено, що в злоякісних пухлинах головного мозку методами ПЛР у 45—50% випадках виявляються два віруси герпесної природи — ЦМВ та ВЕБ, тоді як герпеси 1/2, 6 і 7-го типу практично не трапляються. Частота вірусної контамінації ЦМВ пухлин медулобластомної природи в 1,5 разу вища в дорослих порівняно з дітьми, тоді як частота забруднення ВЕБ пухлин була однаковою у дітей і дорослих. Залежно від вірусної контамінації тканини медулобластом та інших пухлин мозку можна розподілити на чотири групи: пухлини без вірусів, пухлини з двома вірусами та пухлини з ЦМВ або ВЕБ.

**Висновки.** Серед пухлин мозку трапляються як пухлини без вірусів, так і пухлини з вірусами. ПЛР дає змогу швидко виявити вірусну контамінацію пухлинного матеріалу.

**Ключові слова:** вірус герпесу 4-го та 5-го типу, вірус Епштейна—Барр, цитомегаловірус, медулобластоми, гліальні пухлини головного мозку.

В останнє десятиріччя нейроонкологи та вірусологи досліджують роль цитомегаловірусу (ЦМВ) у розвитку злоякісних пухлин головного мозку [1—3, 7, 10, 14]. Єдиної думки щодо його впливу як на індукцію, так і на злоякісність пухлин немає, що стало приводом для проведення в 2011 р. у Нью-Йорку спільного симпозіуму нейроонкологів та вірусологів з цієї проблеми, на якому було запропоновано узгоджену точку зору — необхідно проводити дослідження для визначення як умов накопичення вірусу, так і його ролі в розвитку пухлин мозку [12, 14].

**Мета роботи** — вивчити персистенцію вірусів герпесного типу в медулобластомах та гліальних пухлинах головного мозку.

### Матеріали і методи

Вивчено 103 зразки пухлин головного мозку пацієнтів, прооперованих в Інституті нейрохірургії у 2012—2014 рр. Гістологічне та вірусологічне дослідження пухлини, видаленої під час операції, проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Методом ПЛР також досліджено 57 гістологічних зразків медулобластом дітей та дорослих, прооперованих раніше, які зберігалися в патолого-анатомічному архіві. Із пухлинного матеріалу, взятого під час операції та з архівного гістологічного матеріалу, для проведення ПЛР виділено ДНК за допомогою наборів «ДНК сорб А та Б» («Амплісенс», Росія) згідно з рекомендаціями та протоколами до цих наборів. Отриману ДНК досліджували на наявність таких вірусів герпесу, як герпес 1/2, 6 і 7-го типу, ЦМВ та вірус Епштейна—Барр (ВЕБ), за допомогою відповідних вірус-

© О. М. Лісяний, 2015

них наборів для ПЛР (виробництва «Амплісенс» та «ДНК технологія», Росія) з електрофоретичною реєстрацією та у режимі реального часу.

Гістологічну структуру пухлин визначали загальноприйнятим методом згідно із сучасною нейрогістологічною класифікацією [4, 9].

Отримані результати опрацьовували методами математичної статистики з використанням програми Statistica для Microsoft Excel 2007 та визначення t-критерію Стьюдента.

### Результати та обговорення

Ми проаналізували, які з вірусів герпесу найчастіше трапляються у пухлинах. Для дослідження обрано п'ять вірусів: герпес 1/2 типу, ВЕБ (герпес 4-го типу), ЦМВ (герпес 5-го типу) та герпес 7-го і 8-го типу. Досліджено 88 зразків внутрішньомозкових пухлин, 11 зразків менінгіом та 4 зразки мозкової речовини.

Установлено, що віруси герпесної групи з різною частотою траплялися в пухлинах (табл. 1). Найчастіше виявляли ЦМВ та ВЕБ, контамінація пухлин іншими вірусами герпесу була дуже низькою і не перевищувала 6—10%. У позамозкових пухлинах (9 менінгіом та 2 невриноми) практично не виявляли віруси герпесу (1—2 випадки контамінації), у мозковій речовині (4 зразки) лише в одному випадку зафіксовано ВЕБ.

Отримані нами результати збігаються з даними літератури про те, що у внутрішньомозкових пухлинах найчастіше трапляється ЦМВ [5, 11, 13]. У позамозкових пухлинах його виявляють значно рідше, тобто для цього вірусу характерна тропність до внутрішньомозкових пухлин. Привертає увагу факт, що у внутрішньомозкових пухлинах ВЕБ траплявся приблизно з такою самою частотою, як і ЦМВ, а інших вірусів практично не було.

Ми проаналізували можливе вірусне забруднення медулобластом залежно від віку. Досліджено 42 зразки медулобластом дорослих осіб, які зберігалися у вигляді парафінових блоків у відділі патоморфології Інституту нейрохірургії. З них зробили по 2—3 гістологічні зрізи, з яких виділили ДНК і провели ПЛР з електрофорезною реєстрацією реакції. Для порівняння використано 15 гістологічних зразків медулобластом дітей, прооперованих у 2012—2013 рр. (табл. 2).

У пухлинах як дітей, так і дорослих, найчастіше траплялися два віруси — ЦМВ та ВЕБ, решту вірусів виявляли дуже рідко, що може свідчити про випадкове забруднення ними тканини пухлин. Привертає увагу той факт, що ЦМВ у пухлинах дорослих осіб виявляли частіше, ніж у дітей, тоді як ВЕБ практично з однаковою частотою траплявся у дітей та дорослих. Це дає підставу для висновку про те, що в тканині медулобластом незалежно від віку пацієнтів наявні ЦМВ та ВЕБ, причому перший вірус у 1,5 разу частіше визначається у пухлинах дорослих осіб.

У доступній нам науковій літературі ми не знайшли відомостей про виявлення у пухлинах головного мозку, поряд з ЦМВ іншого вірусу, а саме ВЕБ, який пов'язують зі здатністю спричинити появу пухлин верхніх дихальних шляхів та лімфоїдної тканини. Не виключено, що ці віруси, особливо ВЕБ, можуть траплятися в інших пухлинах як головного мозку, так і інших органів.

У табл. 3 наведено дані про поєднане та окреме визначення ЦМВ та ВЕБ у медулобластомах дорослих осіб методом ПЛР у режимі реального часу, який є чутливішим методом і дає змогу виявити вищі показники вірусного забруднення медулобластом дорослих осіб.

При використанні ПЛР за умови дворазової постановки реакції з метою запобігання хибним ре-

Т а б л и ц я 1

#### Частота герпесвірусної контамінації пухлин головного мозку

Вид пухлин	Тип герпесу				
	1/2	4	5	7	8
Внутрішньомозкові (n = 88)	3/48 (6,25%)	38/88 (43,18%)*	42/88 (47,70%)	4/43 (9,30%)	1/43 (2,30%)
Позамозкові (n = 11)	0	2 (18,18%)	1 (9,09%)	0	0

Для внутрішньомозкових пухлин наведено позитивні результати та кількість зразків, які досліджували на певний тип вірусу.

\* Статистично значуща різниця щодо 1/2, 7 та 8 типів герпесу ( $p < 0,05$ ).

Т а б л и ц я 2

#### Частота виявлення вірусів герпесу в гістологічних зразках медулобластом дітей та дорослих методом ПЛР з електрофоретичною реєстрацією

Вікова група	Тип герпесу			
	1/2	4	5	7
Дорослі (n = 42)	2 (4,76%)	10 (23,80%)	14 (33,33%)*	3 (7,14%)
Діти (n = 15)	0	4 (26,67%)	3 (20,00%)	0

\* Статистично значуща різниця щодо інших груп ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3

**Частота та характер вірусної контамінації пухлинної тканини медулобластом дорослих осіб (n = 42)**

Характер вірусної контамінації	Кількість
Поєднана інфекція (ЦМВ+ВЕБ)	19 (45,24 %)
ЦМВ	5 (22)* (11,90 %)
ВЕБ	5 (20)* (11,90 %)
Без вірусів	13 (30,95 %)

Загальна кількість пухлин, контамінованих вірусом.

зультатам виявлено наявність двох вірусів у 19 (45,24 %) із 42 зразків.

На підставі отриманих результатів можна виділити чотири варіанти вірусної контамінації тканини пухлин медулобластом: медулобластоми без вірусного забруднення, медулобластоми із забрудненням двома вірусами, медулобластоми з ЦМВ-контамінацією та медулобластоми із ВЕБ-інфікуванням.

Важливим фактом, установленим у нашій роботі, є те, що за допомогою простих комерційних наборів можна швидко виявити наявність вірусної контамінації пухлинного вогнища та застосувати противірусну терапію в комбінованому лікуванні злоякісних пухлин. Подібні дослідження щодо ви-

користання противірусної терапії при комбінованому лікуванні таких пухлин уже проводяться [6, 9, 13]. Розпочато створення нових біопрепаратів та протипухлинних вакцин на основі інфікованих ЦМВ або ВЕБ клітин [5, 8, 11, 13].

**Висновки**

У злоякісних пухлинах головного мозку методом полімеразної ланцюгової реакції у 45—50 % випадках виявлено два віруси герпесної природи — вірус Епштейна—Барр та цитомегаловірус, тоді як герпеси 1/2, 6 і 7-го типу практично не трапляються.

Частота вірусної контамінації цитомегаловірусом пухлин медулобластомної природи в 1,5 разу вища у дорослих порівняно з дітьми, тоді як частота забруднення вірусом Епштейна—Барр пухлин була однаковою у дітей і дорослих.

Залежно від вірусного забруднення пухлини мозку можна розподілити на чотири групи: пухлини без вірусів, пухлини з двома вірусами та пухлини з цитомегаловірусом або вірусом Епштейна—Барр.

Метод полімеразної ланцюгової реакції дає змогу швидко виявити вірусну контамінацію пухлинного матеріалу та за потреби використати в комплексному лікуванні методи противірусної терапії.

**Література**

1. Васильева И. Г. Биомолекулярные механизмы развития глиом // Глиомы головного мозга / Под ред. Ю. А. Зозули. — С. 35—91.
2. Лисяный А. И. Содержание онкогенных вирусов в медуллобластомах и глиомах головного мозга // 36. матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. — К., 2014. — С. 34—36.
3. Лисяный Н. И., Ключникова А. И., Лисяный А. Н. Содержание цитомегаловируса во внутримозговых глиальных опухолях различной степени анаплазии // 36. матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. — К., 2014. — С. 37—38.
4. Хоминский Б. С. Гистологическая диагностика опухолей центральной нервной системы. — М.: Медиздат, 1969. — 240 с.
5. Baryawno J. C., Rahbar N., Wolmer-Solberg A. et al. Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target // *Klin. Invest.* — 2011. — Vol. 121. — P. 4043—4055.
6. Cinatl J. Jr., Vogel J. U., Kotchetkov R. et al. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2004. — Vol. 28(1). — P. 59—77.
7. Cobbs C. L., Harkins M. S. et al. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma // *Cancer.* — 2002. — Vol. 62. — P. 3347—3350.
8. Johnsen J. I., Baryawno J. C., Söderberg-Nauclér C. Is human cytomegalovirus a target in cancer therapy? // *Oncotarget.* — 2011. — Vol. 2. — P. 1329—1338.
9. Louis D. N., Ohgaki H., Wiestler O. D. et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system // *Acta Neuropathol.* — 2007. — Vol. 114(2). — P. 97—109.
10. Moore P. S., Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumours virology // *Nat. Rev. Cancer.* — 2010. — Vol. 10. — P. 878—889.
11. Ranganathan P. A., Clark P., Kuo J. et al. Significant association of multiple human cytomegalovirus genomic loci with glioblastoma multiforme samples // *J. Virol.* — 2012. — Vol. 86(2). — P. 854—864.
12. Scheurer M. E., Bondy M. L., Aldape K. D. et al. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas // *Acta Neuropathol.* — 2008. — Vol. 116. — P. 79—86.
13. Soderberg-Naucler C. HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer // *J. Clin. Virol.* — 2008. — Vol. 41. — P. 218—223.
14. Soroceanu L., Cobbs C. S. Is HCMV a tumor promoter? // *Virus Res.* — 2011. — Vol. 157. — P. 193—203.

А. Н. ЛИСЯНИЙ

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова НАМН Украины», Киев

## Герпесвирусная контаминация медуллобластом и глиальных опухолей головного мозга

**Цель** — изучить персистенцию вирусов герпесного типа в медуллобластомах и глиальных опухолях головного мозга.

**Материалы и методы.** Проведено изучение 103 образцов опухолей головного мозга, взятых для исследования сразу после нейрохирургического их удаления. Исследование вирусов герпеса (1/2, 6, 7, вирус Эпштейна—Барр (ВЭБ), цитомегаловирус (ЦМВ)) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени и с электрофоретической регистрацией с помощью наборов производства «Амплисенс» и «ДНК-технология».

**Результаты.** Установлено, что в злокачественных опухолях головного мозга методами ПЛР в 45—50 % случаев обнаруживаются два вируса герпесной природы — ЦМВ и ВЭБ, а вирусы 1/2, 6 и 7-го типа практически не встречаются. Частота вирусной контаминации ЦМВ опухолей медуллобластомной природы в 1,5 раза выше у взрослых по сравнению с детьми, тогда как частота загрязнения ВЭБ опухолей была одинаковой у детей и взрослых. В зависимости от вирусной контаминации ткани медуллобластом и глиом головного мозга опухоли можно распределить на четыре группы: опухоли без вирусов, опухоли с двумя вирусами и опухоли с ЦМВ или ВЭБ.

**Выводы.** Среди опухолей головного мозга встречаются опухоли как с вирусами, так и без вирусов. ПЦР позволяет быстро определить вирусную контаминацию ткани опухоли.

**Ключевые слова:** вирусы герпеса 4-го и 5-го типа, вирус Эпштейна—Барр, цитомегаловирус, медуллобластомы, глиальные опухоли головного мозга.

О. М. LISIANYI

SI «Institute of Neurosurgery named after acad. A. P. Romodanov of NAMS of Ukraine», Kyiv

## Herpes viral contamination medulloblastomas and gliomas tumor of brain

**Objective** — to study the persistence of the herpes viruses in brain tumors: medulloblastomas and gliomas.

**Methods and subjects.** In total 103 different samples of brain tumors were taken for analysis immediately after the neurosurgical removal. Virus research conducted by PCR and electrophoresis in real time using commercial kits «AmpliSens» and «DNA technology» to determine herpes 1/2, 6, 7, CMV, VEB.

**Results.** It is found that in 45—50% of samples of different types of brain tumors contain CMV and the VEB, and other viruses are much rarer. The medulloblastoma CMV contamination frequency in adults is 1.5 times more comparing with children while VEB contamination was the same in adults and children. Depending on the viral contamination medulloblastomas tissue and glioma brain tumors can be divided into 4 groups: the tumor without viruses, tumors with two or with one of these viruses.

**Conclusions.** Depending on the viral contamination the brain tumors can be with viruses and virus-free. PCR allows very quickly to determine the viral contamination in the tumor tissue, which opens up new options capability in the treatment of these tumors

**Key words:** herpes viruses 4 and 5 types, Epstein — Barr virus, cytomegalovirus, medulloblastoma, glial brain tumors.