

Оригинальная статья = Original article

УДК 611.81:616-006:578.825.13(57.083.24)

Лисяний Н.И.¹, Ключникова А.И.¹, Лисяний А.Н.², Бельская Л.Н.¹, Малышева Т.А.³**Частота выявления ДНК вируса герпеса 4 типа в опухолях головного мозга**

¹ Отдел нейроиммунологии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова НАМН Украины, Киев, Украина; ² Отделение субтенториальной нейроонкологии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова НАМН Украины, Киев, Украина; ³ Отдел нейроморфологии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова НАМН Украины, Киев, Украина

Поступила в редакцию 10.03.15.
Принята к публикации 07.07.15.

Адрес для переписки:

Лисяний Николай Иванович, Отдел нейроиммунологии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова, ул. Платона Майбороды, 32, Киев, Украина, 04050, e-mail: nimun.neuro@gmail.com

Цель. Изучить частоту выявления ДНК вируса герпеса 4 типа (вируса Эпштейна-Барр — ВЭБ) в ткани опухолей головного мозга.

Материалы и методы. Изучены 89 образцов опухолей головного мозга, взятых сразу после их нейрохирургического удаления. ВЭБ исследовали методом ЦРП в реальном времени с использованием коммерческих наборов «ДНК технология».

Результаты. Установлено, что ДНК ВЭБ содержится в 40% образцов различных опухолей головного мозга, во внутримозговых опухолях ВЭБ выявляли реже, чем в глиальных внутримозговых. ДНК ВЭБ чаще определяли в доброкачественных глиомах, чем в злокачественных. Причины проникновения ВЭБ в опухоль мозга и его роль в стимуляции ее роста не изучены.

Выводы. В ткани различных по гистоструктуре опухолей головного мозга с различной частотой выявляли ДНК ВЭБ — онкогенного вируса человека. Наиболее часто вирус определяли в глиальных опухолях.

Ключевые слова: опухоли головного мозга; глиальные опухоли; вирус герпеса 4 типа; вирус Эпштейна-Барр.

Укр. нейрохірург. журн. — 2015. — №3. — С.35-37.

Nikolay Lisiany¹, Antonina Klyuchnikova¹, Alexandr Lisiany², Lyudmila Belska¹, Tatyana Malysheva³**The frequency of detection of DNA of Herpesvirus 4 types in brain tumours**

¹ Neuroimmunology Department, Romodanov Neurosurgery Institute, Kiev, Ukraine; ² Subtentorial Tumors Department, Romodanov Neurosurgery Institute, Kiev, Ukraine; ³ Neuropathomorphology Department, Romodanov Neurosurgery Institute, Kiev, Ukraine

Received, March 10, 2015.
Accepted, July 7, 2015.

Address for correspondence:

Nikolay Lisiany¹, Department of Neuroimmunology, Romodanov Neurosurgery Institute, 32 Platona Mayborody St, Kiev, Ukraine, 04050, e-mail: nimun.neuro@gmail.com

Objective. To study the frequency of identifying DNA of human herpesvirus type 4 (Epstein-Barr virus – EBV) in different brain tumours.

Materials and methods. Following the surgical resection, 89 samples of brain tumours were analyzed by real time PCR ("DNA technology" commercial kit) for the presence of EBV DNA.

Results. EBV DNA was detected in about 40% of the samples of different brain tumours. The frequency of EBV DNA in the samples of extracerebral tumours was higher than in intracerebral glial tumours. EBV DNA positivity in benign gliomas was superior to that in malignant ones. The mechanisms of EBV infection of tumour cells in the brain and the role of EBV in stimulation of tumour growth have not been yet elucidated.

Conclusion. EBV DNA is detected in the cells of brain tumours of different histology, prevalently in glial tumours.

Key words: brain tumours; gliomas; human herpesvirus type 4.

Ukrainian Neurosurgical Journal. 2015;(3):35-7.

В последние два десятилетия возобновился интерес к вирусной теории онкогенеза различных опухолей человека, в т.ч. головного мозга, что связывают с внедрением современных методов иммуногистохимии и молекулярно-генетических методов исследования, в частности, цепной реакции с полимеразой (ЦРП). В ткани опухолей мозга, особенно в глиобластомах и медуллобластомах, выявляют многие вирусы, в том числе SV-40 и GC вирусы полиомы [1, 2], папилломы, особенно часто — вирус группы герпеса — цитомегаловирус (ЦМВ) [3–5].

Спорным является вопрос о роли герпесвирусов в возникновении злокачественных опухолей и причинах их появления в ткани опухоли. У здоровых иммунокомпетентных лиц эта вирусная инфекция протекает латентно и бессимптомно, у 95% взрослого населения планеты в крови содержатся антитела к этим вирусам, титр которых периодически увеличивается или уменьшается, что свидетельствует о периодической латентной активации этих инфекций [6, 7].

Из наиболее распространенных 8 типов вирусов герпеса два вируса относятся к группе онкогенных.

Это вирус герпеса 4 типа — ВЭБ и 8 типа, которые вызывают соответственно лимфопролиферативные заболевания, назофарингеальную карциному гортани и саркому Капоши [5, 6]. Герпес 8 типа считают в основном инфекцией у пациентов с приобретенным иммунодефицитом (СПИД), ВЭБ — инфекцией детского возраста, вызывающей благоприятно протекающий инфекционный мононуклеоз, а также у взрослых пациентов при различных неврологических нарушениях. О связи этого вируса с опухолями головного мозга в литературе данных очень мало. Целью работы явилось изучение содержания ДНК ВЭБ в опухолях головного мозга различной гистоструктуры с применением ЦРП.

Материалы и методы исследования. Изучены 89 образцов ткани опухоли головного мозга больных, оперированных в клинике в 2013–2014 гг. Ткань опухоли, удаленной во время операции, направляли для гистологического подтверждения диагноза в течение 1–2 ч после операции, небольшие фрагменты (объемом 5–10 мм³) отбирал квалифицированный специалист для морфологического исследования. Из этого фрагмента опухоли в тот же день выделяли

общую ДНК с помощью наборов ДНК-сорб А фирмы «Амплисенс» (Россия). Полученную ДНК исследовали на следующий день, определяли содержание в ней ДНК ВЭБ методом ЦРП в режиме реального времени с использованием наборов фирмы «ДНК технология» (Россия). В качестве контроля наличия ДНК в пробах ставили общепринятые реакции с праймерами В-актина — гена «домашнего хозяйства», а также определяли содержание ДНК в образцах на спектрофотометре с микрокуветами при длине волны 260 нм. Гистологическую структуру опухоли изучали общепринятыми морфологическими методами в соответствии с современной нейрогистологической классификацией [8–10].

Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программы Statistica для Microsoft Excel 2007, вычисляли показатель χ^2 .

Результаты и их обсуждение. ДНК ВЭБ достаточно часто выявляли в ткани опухолей различной локализации у больных разного возраста, в том числе у 13% — во внутримозговых, у 57% — внутримозговых новообразованиях. Различия показателей в этих группах опухолей достоверны ($p < 0,05$) (табл. 1). В опухолях у пациентов детского возраста ДНК вируса выявляли в 2 раза реже, чем в ткани внутримозговых, но в 2 раза чаще, чем в ткани внутримозговых опухолей у взрослых пациентов. Статистически достоверных различий между частотой выявления ДНК в опухолях детей и взрослых нет. Это позволяет считать, что ВЭБ может находиться в опухолях мозга как детей, так и взрослых больных. При анализе содержания ДНК вируса в опухолях различного гистологического типа установлено (табл. 2), что во внутримозговых опухолях ВЭБ выявляется с различной частотой: в менингиомах — в 9%, в невриномах — в 25%. Наиболее часто (в 78,53% наблюдений) этот вирус выявляли в фибриллярно-протоплазматических астроцитарных опухолях.

В анапластических астроцитомах и глиобластомах ДНК ВЭБ определяли примерно с равной частотой — 50 и 46,6% образцах соответственно, что несколько меньше, чем в астроцитарных доброкачественных опухолях ($p > 0,05$). Можно предположить, что при условии большого числа наблюдений статистические различия частоты выявления вируса в доброкачественных и злокачественных глиомах будут установлены. На основании этих данных можно лишь утверждать, что в доброкачественных астроцитомах ДНК ВЭБ выявляли значительно чаще (на 25–30%), чем

в злокачественных опухолях. Отмечены также различия содержания ДНК ВЭБ в разных астроцитомах, в фибриллярно-протоплазматических астроцитомах ДНК вируса определяли несколько чаще (в 78,3%), чем в олигодендроастроцитомах (в 50%).

При исследовании опухолей у пациентов детского возраста, в частности, медуллобластом и примитивных нейроэктодермальных опухолей, ДНК ВЭБ определяли реже — соответственно у 25–33,3%, достоверные различия частоты выявления ДНК ВЭБ в медуллобластомах и глиобластомах не выявлены.

Предварительно можно сделать заключение, что ВЭБ выявляют в различных по гистоструктуре опухолях головного мозга с различной частотой. В целом, из всей группы 89 обследованных образцов опухолей ВЭБ определялся в 40,44% наблюдений, что говорит о большой вирусной контаминации опухолей мозга.

По данным исследования с определением содержания ДНК этого вируса установлены некоторые особенности наличия ВЭБ в ткани опухолей мозга. Во-первых, ДНК этого онкогенного вируса определяли в различных опухолях, в основном во внутримозговых глиальных опухолях с частотой 50–75%. Во-вторых, наличие ДНК ВЭБ не связано со степенью злокачественности, в злокачественных глиомах реже выявлен вирус, чем в классических фибриллярно-протоплазматических астроцитарных опухолях. В-третьих, важным результатом явилось то, что ВЭБ выявляли примерно в 2 раза чаще в опухолях у взрослых пациентов, чем у детей.

В литературе отсутствует единое объяснение происхождения и роли ВЭБ в возникновении глиальных опухолей головного мозга, чаще обсуждают вопрос о роли ЦМВ [4, 11–14]. Можно высказать несколько общих предположений. Доброкачественные глиальные опухоли растут значительно медленнее, чем глиобластомы, есть достаточно времени для попадания ВЭБ в очаг опухоли, поэтому, возможно, эти вирусы выявляют чаще в астроцитомах. Рост глиальных опухолей, независимо от степени анаплазии, сопровождается перифокальным отеком, т.е. воспалением, при этом с кровотоком и клетками крови, в частности, В-лимфоцитами и моноцитами, ВЭБ может попадать и сохраняться в опухолевом очаге. Открытым остается вопрос, почему в крови больных при наличии глиальных опухолей циркулирует ВЭБ и почему он остается в опухолевом очаге, это следствие скрытой активации ВЭБ инфекции на определенном

Таблица 1. Частота выявления ДНК ВЭБ в ткани опухолей внутри- и внутримозговой локализации у взрослых и больных детского возраста.

Показатель	Частота выявления опухолей		
	у взрослых		у детей, всего
	внутри-мозговых	внутри-мозговых	
Общее число образцов	51	15	17
Число образцов с ВЭБ	29	2	3
Частота выявления, %	56,86*	13,33	29,41

Примечание. * — различия показателей достоверны по сравнению с таковыми во внутримозговых опухолях ($p < 0,05$).

Таблица 2. Частота выявления ДНК ВЭБ в опухолях головного мозга различной гистоструктуры.

Показатель	Частота выявления опухолей, %								
	всех	медулло-бластома	внутри-мозговых		внутри-мозговых			примитивные нейроэктодермальные опухоли	
			менингиома	невринома	глиобластома	протоплазматические астроциты	олигодендроастроциты		анапластическая астроциты
Общее число образцов	89	12	11	4	15	15	7	14	5
Число образцов с ВЭБ	36	3	1	1	7	11	4	7	2
Частота выявления, %	40,44	25	9,09	25	46,6	78,33	57,14	50	33,57

етапе онтогенеза или механический перенос вируса с клетками крови, в которых он постоянно содержится. В организме человека ВЭБ содержится в лимфоидных клетках, особенно в В-лимфоцитах, а также эпителии слизистых оболочек верхних дыхательных путей, поэтому вирус через длительное время способен вызывать соответствующую опухоль у человека [5].

Вероятно, вирус попадает в опухолевый очаг с клетками иммунной системы, в том числе, В-лимфоцитами и стволовыми гемопоэтическими CD-34⁺, участвующими в неоваскулогенезе [6, 12]. Наличие отека вокруг опухолевого очага является благоприятным фактором для перехода вируса с воспалительными клетками в ткань опухоли. Связывать ВЭБ с индукцией опухолей головного мозга сложно, по-видимому, для этого необходимо проведение дополнительных исследований в эксперименте. Влияние ВЭБ на течение опухолевого процесса, длительность жизни больных после комбинированного лечения не изучено, это может быть задачей будущих исследований. Наличие ВЭБ в опухолевом очаге ставит вопрос о возможности проведения специфической терапии в комбинированном лечении глиальных, особенно злокачественных опухолей.

Выводы. 1. В 40% различных по гистоструктуре опухолей головного мозга определяли ДНК ВЭБ, что свидетельствовало о большой вирусной персистенции ВЭБ в этих опухолях. Наиболее часто определяли вирус в глиальных опухолях взрослых пациентов.

2. Частота выявления ДНК ВЭБ не зависит от степени злокачественности глиальных опухолей, хотя в доброкачественных астроцитомах его определяют на 15–30% чаще, чем в злокачественных опухолях.

3. В медуллобластомах у пациентов детского возраста этот вирус выявляют реже, чем в глиальных опухолях у взрослых больных, что косвенно свидетельствует об определенной роли возрастного фактора в попадании и накоплении ВЭБ в опухолях.

4. Частота выявления ДНК ВЭБ в ткани глиальных опухолей очень высокая, однако роль ВЭБ в возникновении, течении и прогрессировании опухолевого процесса, особенно после операции, не изучена, необходимо проведение дальнейших исследований.

Список литературы

1. Васильева И.Г. Биомолекулярные механизмы развития глиом / И.Г. Васильева // Глиомы головного мозга; под ред. Ю.А. Зозули. — К.: ЭксОб, 2007. — С.35–91.
2. Лисяный А.И. Содержание онкогенных вирусов в медуллобластомах и глиомах головного мозга / А.И. Лисяный // 36. матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. — К., 2014. — С.34–36.
3. Лисяный Н.И. Содержание цитомегаловируса во внутримозговых глиальных опухолях различной степени анаплазии / Н.И. Лисяный, А.И. Ключникова, А.Н. Лисяный // 36. матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. — К., 2014. — С.37–38.
4. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma / C.S. Cobbs, L. Harkins, M. Samanta, G.Y. Gillespie, S. Bharara, P.H. King, L.B. Nabors, C.G. Cobbs, W.J. Britt // *Cancer Res.* — 2002. — V.62, N12. — P.3347–3350.
5. Moore P.S. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumours virology / P.S. Moore, Y. Chang // *Nat. Rev. Cancer.* — 2010. — V.10, N12. — P.878–889.
6. Soroceanu L. Is HCMV a tumor promoter? / L. Soroceanu, C.S. Cobbs // *Virus Res.* — 2011. — V.157, N2. — P.193–203.
7. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas / M.E. Scheurer, M.L. Bondy, K.D. Aldape, T. Albrecht, R. El-Zein // *Acta Neuropathol.* — 2008. — V.116, N1. — P.79–86.
8. Хоминский Б.С. Гистологическая диагностика опухолей центральной нервной системы / Б.С. Хоминский. — М.: Медиздат, 1969. — 240 с.
9. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System;

- eds. D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler, W.K. Cavenee. — Lyon: IARC, 2007. — 312 p.
10. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system / D.N. Louis, H. Ohgaki, O.O. Wiestler, W.K. Cavenee, P.C. Burger, A. Jouvett, B.W. Schelthauer, P. Kleihues // *Acta Neuropathol.* — 2007. — V.114, N2. — P.97–109.
11. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression / J. Cinatl Jr., J.U. Vogel, R. Kotchetkov, H. W. Doerr // *FEMS Microbiol. Rev.*—2004—v.28(1)—P.59–77.
12. Shen Y. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins are mutagenic and mediate “hit-and-run” oncogenic transformation in cooperation with the adenovirus E1A proteins / Y. Shen, H. Zhu, T. Shenk // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1997. — V.94, N7. — P.3341–3345.
13. Human cytomegalovirus and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: Cell-specific localization of active viral and oncogenic signaling proteins is confirmatory of a causal relationship / M. Melnick, P.P. Sedghizadeh, C.N. Allen, T. Jaskoll // *Exp. Mol. Pathol.* — 2012. — V.92, N1. — P.118–125.
14. Lack of association of herpesviruses with brain tumors / S. Poltermann, B. Schlehofer, K. Steindorf, P. Schnitzler, K. Geletneky, J. Schlehofer // *J. Neurovirol.* — 2006. — V.12, N2. — P.90–99.

References

1. Vasilyeva IG. Biomolekulyarnyye mekhanizmy razvitiya gliom [Biomolecular mechanisms of glioma]. In: Zozulya YuA., editor. *Gliomy golovnogo mozga [Brain gliomas]*. Kiev: EksOb; 2007. p.35–91. Russian.
2. Lisyany AI. Soderzhaniye onkogennykh virusov v medulloblastomakh i gliomakh golovnogo mozga [The content of oncogenic viruses in medulloblastoma and gliomas of the brain]. In: Abstract Book of International Conf.; 2014, Kiev, Ukraine. Kiev, 2014. p.34–36. Russian.
3. Lisyany NA, Klyuchnikova AI, Lisyany AN. Soderzhaniye tsitomegalovirusa vo vnutrimozgovykh glial'nykh opukholyakh razlichnoy stepeni anaplazii [The content of cytomegalovirus in glial intracerebral tumors of different degree of anaplasia]. In: Abstract Book of International Conf.; 2014, Kiev, Ukraine. Kiev, 2014. p.37–38. Russian.
4. Cobbs CS, Harkins L, Samanta M, Gillespie GY, Bharara S, King PH, Nabors LB, Cobbs CG, Britt WJ. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res.* 2002;62(12):3347–3350.
5. Moore P, Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(12):878–889.
6. Soroceanu L, Cobbs C. Is HCMV a tumor promoter?. *Virus Res.* 2011;157(2):193–203.
7. Scheurer M, Bondy M, Aldape K, Albrecht T, El-Zein R. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2008;116(1):79–86.
8. Khominsky B.S. *Gistologicheskaya diagnostika opukholey tsentralnoy nervnoy sistemy [The histological diagnosis of central nervous system tumors]*. Moscow: Medizdat; 1969. Russian.
9. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, editors. *WHO Classification Of Tumours Of The Central Nervous System*. Lyon: IARC; 2007.
10. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvett A, Scheithauer BW, Kleihues P. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97–109.
11. Cinatl J Jr, Vogel J, Kotchetkov R, Doerr HW. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression. *FEMS Microbiol. Rev.* 2004;28(1):59–77.
12. Shen Y, Zhu H, Shenk T. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins are mutagenic and mediate “hit-and-run” oncogenic transformation in cooperation with the adenovirus E1A proteins. *Proc Nat Acad Sci.* 1997;94(7):3341–3345.
13. Melnick M, Sedghizadeh P, Allen C, Jaskoll T. Human cytomegalovirus and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: Cell-specific localization of active viral and oncogenic signaling proteins is confirmatory of a causal relationship. *Exp Mol Pathol.* 2012;92(1):118–125.
14. Poltermann S, Schlehofer B, Steindorf K, Schnitzler P, Geletneky K, Schlehofer J. Lack of association of herpesviruses with brain tumors. *J Neurovirol.* 2006;12(2):90–99.