

Результати. Встановлено, що медулобластома містять менше ніж астрочити клітин, що експресують онкопротеїнами Р-53, Fas рецептор апоптозу та також нейрональну молекулу адгезії CD-56, що вказує на більш високий онкогенний потенціал цих клітин.

Ключові слова: фенотипічні особливості медуллобластома, онкопротеїн Р-53, Fas-рецептор апоптозу.

A. N. Lisyanyy, A.I. Potapova, L.A. Kot
**Studies of phenotypical descriptions of medulloblastom
and gliomas of brain**

**Acad. A.P. Romodanov SI “Institute of Neurosurgery,
NAMSc of Ukraine”, Kyiv**

Purpose. To study the phenotypical features of tumour cells obtained in neuro-surgical operations.

Materials and methods. Investigated were 37 samples of medulloblastoma and 12 samples of astroglial tumours. They were used to make cell suspensions and identify phenotypical markers responsible for proliferation, apoptosis and metastatic dissemination. The identification was performed by running laser cyto-fluorimetry using the panel of 8 monoclonal antibodies.

Results. There was found a decreased level of R-53 oncoprotein expressing cells in medulloblastomas, Fas receptor of apoptosis as well as CD-56 neuronal cell adhesion molecule compared with astrocytomas, which is indicative of higher oncogenic potential of these cells.

It is suggested to use the phenotypical markers as prognostic indices.

Key words: medulloblastoma, P-53oncoprotein, Fas-receptor apoptosis.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

*Н.И. Лисяный, А.И. Потапова, А.Н. Лисяный,
А.И. Ключникова, Л.А. Кот*

**СОДЕРЖАНИЕ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ПРОСТОГО
ГЕРПЕСА И ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ В КРОВИ
БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА
ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П.
Ромоданова НАМН Украины», г.Киев**

Вступление. Вирусная инфекция может быть одним из этиологических факторов развития онкологических заболеваний

Цель. Сравнить уровень противовирусных антител в крови нейроонкологических и других групп больных.

Матеріали і методи. В статті приведені дані визначення антител к вирусу простого герпеса і цитомегаловірусу у 116 хворих з нейроонкологічними і хронічною запальною патологією нервової системи і у 50 хворих з запальною гінекологічною патологією.

Результати. При дослідженні було встановлено, що рівень антител к цитомегаловірусу в крові хворих з опухольовим процесом в головному мозку вище, ніж у хворих з хронічними неврологічними і гінекологічними захворюваннями, тоді як рівень антител к вирусу простого герпеса був вище при хронічних запальних процесах. Більш висока частота інфікування і високий рівень антител к цитомегаловірусу в нейроонкологічних хворих порівняно з хронічними запальними захворюваннями ЦНС вказує на наявність у цих хворих активної цитомегаловірусної інфекції, яка може сприяти росту пухлини мозку.

Ключові слова: антитела, вірус герпеса, цитомегаловірус, пухлини головного мозку.

ВВЕДЕНИЕ

Общезвестно, что в крови 80-90% здоровых взрослых людей определяется достаточное высокое количество антител класса IgG к вирусам герпес группы, что свидетельствует о большом распространении этой инфекции и возможности скрытого, бессимптомного инфицирования вирусами в течение инфекции. В то же время герпес вирусной инфекции придает важное значение в развитии многих заболеваний человека, в том числе и заболеваний нервной системы, антитела к вирусам герпеса 1-8 типов, а иногда и сами вирусы определяются в крови и ликворе как при острых, так и затяжных инфекционно-воспалительных заболеваниях или их последствиях. Контролем за распространением герпес вирусной инфекции и ее интенсивностью служат показатели уровня специфических иммуноглобулинов класса IgM, IgG, а также уровень ДНК вируса в биологических жидкостях, определяемых методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Широкое распространение этих двух методов в сочетании с иммуногистологическим выявлением вирусов в ткани, значительно углубили представление о роли отдельных герпес вирусов в той или иной патологии, например, онкологии.

Так, в последние 15 лет появилось много публикаций о связи цитомегаловируса (ЦМВ) и злокачественных опухолей человека, который вирус определяется в опухолях молочной железы, рака простаты, толстого кишечника, медуллобластомах и глиобластомах (1,2,3).

Роль ЦМВ в онкогенезе опухолей и в том числе новообразований головного мозга человека во многом неясны и до конца не установлены и существует, как минимум два противоположных мнения (4,6). Первое, что ЦМВ является причиной возникновения опухолей, что этот вирус, если не является пусковым механизмом развития опухоли, то он может служить «онкомодулятором» и усиливать злокачественность опухоли, влиять на иммунитет и т.д., что доказывается в исследованиях в культуре опухолевых клеток и в эксперименте

на животных (5,6). Второе противоположное мнение заключается в отрицании какой-либо роли вируса ЦМВ в нейроонкогенезе, что объясняется отрицательными результатами определения вирус, а в ткани опухоли, а те находки определенных антигенов ЦМВ в ткани опухоли относятся к контаминации (переходом) вируса из крови или других тканей в опухоль на терминальных стадиях заболевания (7,8). Предложен даже термин для обозначения таких опухолей, как опухоли ассоциированные с ЦМВ (9). Причиной расхождения данных, полученных разными авторами, заключается, в первую очередь, в использовании недостаточно чувствительных иммуногистологических и молекулярно-генетических методов, а потом уже, с выбором определенных вирусных антигенов или локусов ДНК для этих исследований. Так, если использовались антитела против ранних антигенов ЦМВ, то все медуллобластомы содержат этот антиген и, наоборот, если были антитела против поздних антигенов, то лишь в 60% случаев ЦМВ определяли в этих же опухолях (8,9). Роль других вирусов герпеса, а именно вируса простого герпеса, вируса Эпштейн –Барре, герпесов 3, 6, 7, 8 типов в развитии опухолей мозга пока отрицается, хотя они имеют важное значение при других видах патологии нервной системы. Показателем инфицирования тем или другим герпесвирусом организма является наличие и уровень антител в сыворотке крови больных.

Исследований направленных на выяснения уровня антител к ВПГ И ЦМВ в крови при онкологических и неонкологических заболеваниях нервной системы пока не проводилось, поэтому целью наших исследований явилось изучение содержания антител к ВПГ и ЦМВ у больных неврологического профиля с опухолями головного мозга и хроническими воспалительными заболеваниями нервной системы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было исследовано 69 образцов сыворотки крови больных с различными опухолями мозга, которые по данным МРТ имели объемный опухолевый процесс в головном мозге и готовились к нейрохирургическому вмешательству. В качестве группы сравнения были взяты 50 образцов сыворотки крови больных хроническими воспалительными заболеваниями нервной системы (полиневропатии, арахноэнцефалиты, рассеянные энцефаломиелит, невралгии тройничного нерва), которые при очередном обострении обращались к невропатологам и направлялись для вирусологического обследования. В качестве контроля исследовали также 50 образцов сыворотки крови женщин с воспалительными гинекологическими заболеваниями, которые по рекомендации врачей обследовались на содержание в крови антител к нейровирусам. Исследование антител к ВПГ и МВ было проведено одновременно и параллельно.

**Частота выявления содержания антител к ВПГ и ЦМВ
в нейроонкологических больных**

Группы больных	ВПГ ½		ЦМВ	
	Частота (%)	Титр АТ (у.о.)	Частота (%)	Титр АТ (у.о.)
Нейроонкологические заболевания, n=69	11,3	1,26+0,08	91,3*	1,557+0,08
Хронические заболевания нервной системы, n=50	82,3*	0,92+0,104*	76,4	0,371+0,03
Гинекологические заболевания, n=50	68,4	1,61+0,113	64,1	0,40+0,026

Примечание: * - достоверные различия между группами ($p < 0,05$).

Сопоставление уровня инфицированности ВПГ и ЦМВ в разных групп больных, а именно с патологией нервной системы (онко и не онкозаболеваний) и с гинекологической патологией, при которой герпес вирусы также играют важную роль, позволяют более полно и объективно охарактеризовать материал и определить возможную связь этой инфекции с опухолями головного мозга.

Определение противовирусных антител класса М и G проводили с помощью общепринятых наборов для иммуноферментного анализа. Анти ЦМВ антитела определяли с помощью наборов «Вектор Бест» г.Новосибирск, Россия. Анти герпесные антитела класса М с помощью наборов «Вектор Бест», а IgG определяли с помощью наборов «DiaProph Med» г.Киев, Украина.

Методика определения антивирусных антител проводилась согласно инструкций-рекомендаций, прилагавшихся к ИФА наборам.

Статистическую обработку данных проводили согласно пакета программ «Статистика» для ПК с определением М+m, а достоверность (р) – с помощью таблиц Стьюдента .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенные исследования 169 образцов сыворотки крови больных нейроонкологическими, хроническими неврологическими и гинекологическими заболеваниями на содержание антител к ЦМВ и ВПГ 1/2 типа позволили установить (табл.1), что в целом у взрослого населения выявляются антитела к этим вирусам с большой частотой от 68 до 90% наблюдений, что, в общем, соответствует данным литературы. В то же время выявлены особенности в уровне антител в зависимости и от характера имеющейся

патологии. Так, антитела к ВПГ наиболее часто выявлялись в группе неврологических больных, что составляло 82% случаев, тогда как при нейроонкологических заболеваниях в 71% и несколько ниже у больных с гинекологическими заболеваниями – 68%. Статистические различия в частоте проявлений имеются лишь между группой неврологических больных и группой онко и гинекологических заболеваний. При анализе частоты выявления положительного уровня антител ЦМВ установлено несколько другое распределение между этими видами патологии. Наиболее часто у 91,3% антитела к ЦМВ выявлялись в нейроонкологических больных, затем с хроническими нервными заболеваниями у 76% и меньше всего антитела выявлялись в группе больных с гинекологическими заболеваниями, всего 64%.

В этой связи необходимо отметить тот факт, что процент лиц с высоким уровнем антител к ВПГ ? типа при неврологических и гинекологических заболеваниях был выше, чем к ЦМВ и это соответствует данным литературы (ершов). В то же время при нейроонкологических заболеваниях число лиц с антителами к ЦМВ вируса на 20% выше, чем к ВПГ, что косвенно указывает на большую распространенность ЦМВ инфекции у нейроонкологических больных.

Содержание антител классов М и G к этим вирусам в сыворотках крови также различалось. Так антитела класса М к ВПГ были выявлены лишь у 3 из 50 пациентов с гинекологической патологией. В остальных группах больных антитела класса М как ВПГ, так и ЦМВ не определялись, что позволяет утверждать, что у этих больных отсутствовали признаки острой герпес вирусной инфекции, а имеется лишь свидетельство перенесения этих инфекций ранее в скрытой или латентной форме заболевания. Уровни антивирусных антител класса G были различны в зависимости от патологии и от вида вирусов. Так, наибольший уровень антител к ВПГ определялся в группе пациентов с гинекологической патологией, несколько меньше в нейроонкологических больных и наименьший уровень был у больных неврологического профиля, что, в общем, можно объяснить в том, что в этой группе присутствуют пациенты с рецидивирующими формами полового герпеса, что и отразилось почти в 2 раза большим уровне антител к ВПГ по сравнению с группой неврологических больных.

Содержание антител к ЦМВ класса IgG в крови отличалось от уровней антител ВПГ у этих групп больных. Так, наибольший уровень ЦМВ антител был в группе нейроонкобольных, который в 3-4 раза превышал уровень этих же антител в других группах больных. Помимо этого, у больных с опухолями мозга уровень анти ЦМВ антител был выше уровня антител к ВПГ, тогда как в других группах больных, наоборот, уровень анти ЦМВ антител был ниже уровня анти ВПГ антител. Следовательно, лишь в группе онкобольных отмечается наибольшее высокое статистически достоверное содержание анти ЦМВ в крови, кроме того, в этой группе больных более 90% пациентов имели в крови антитела к этому вирусу, что указывает на большую инфицированность ЦМВ этих больных.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить зависимость распространения ВПГ и ЦМВ инфекции от вида патологии человека и вида вируса, а именно инфицированность ВПГ неврологических больных

составляла 82% от числа обследованных, тогда как у нейроонкологических больных и больные контрольной группы с генитальной патологией были инфицированы в 71% и 68% случаев. Общая инфицированность этих трех разных групп больных колебалась от 68% до 82% что соответствует известным данным литературы (Ершов и др.). При этом интенсивность ВПГ инфекции, если судить по уровню специфического иммуноглобулина IgG, была наибольшей у больных с гинекологической воспалительной патологией, а затем у больных с нейроонкологической патологией. Группа больных с неврологическими заболеваниями имела самый низкий уровень противовирусных антител, что можно объяснить более слабой ответной иммунной реакцией на ВПГ в силу ее локализации в клетках нервной системы за пределами гематоэнцефалического барьера или наличием определенной (медикаментозной или инфекционной) иммунной недостаточности гуморального иммунитета, отвечающего за выработку антител к ВПГ.

Инфицированность ЦМВ отличается от инфицированности ВПГ во всех трех исследованных группах больных. Так, наибольшая инфицированность была характерна для группы нейроонкологических больных и составляла 91,3%, т.е. практически была 100% инфицированность ЦМВ этих больных, тогда как в неврологической и контрольной, гинекологической группе больных уровень инфицированности был на 15 и 25% ниже. Нужно отметить, что инфицированность ЦМВ в неврологических и гинекологических пациентов была ниже от инфицированности ВПГ, что, в общем, соответствует существующим представлениям об этих инфекциях, тогда как при нейроонкологической патологии была обратная ситуация, инфицированность ЦМВ была на 20% выше, чем ВПГ. Уровень антител к ЦМВ вирусу, как показатель интенсивности скрытой ЦМВ инфекции был максимальным в нейроонкологической группе больных и превышал в 3-4 раза уровни антител в других группах больных, тогда как отмечалось выше, при ВПГ инфекции наибольший уровень антител наблюдался в пациентов с генитальной патологией.

Следовательно, полученные данные указывают на определенную тропность ЦМВ к новообразованиям головного мозга, что подтверждается как высоким уровнем антител, так и частотой инфицированности и это ничем другим нельзя объяснить как только активной латентной ЦМВ инфекцией в этих больных. На вопросы, что первично ЦМВ инфекция или развитие опухолевого процесса, где локализована ЦМВ инфекция в опухоли или в крови, существует ли функциональная связь между двумя процессами, пока что однозначных ответов нет. Имеется предположение, что ЦМВ накапливается в опухолевом очаге, для которого характерно развитие вяло текущей воспалительной реакции, куда может устремиться ЦМВ самостоятельно или заносится другими клетками, например с моноцитами крови. Как меняется инфицированность ЦМВ опухоли в зависимости от гистоструктуры опухоли и степени злокачественности пока что неизвестно, хотя по данным литературы более часто сам ЦМВ вирус находят в злокачественных опухолях, чем доброкачественных..

Таким образом, герпес вирусная инфекция наиболее часто встречается у больных с хроническими заболеваниями нервной системы, тогда как ЦМВ инфекция выявляется в большей степени в нейроонкологических больных и если о роли ВПГ как и других герпес вирусов, таких как вирус Зостера, вирусов 6,7,8 типов в развитии патологии ЦНС известно очень много, и вопрос о связи ЦМВ вируса опухолями мозга лишь в последние годы начал интенсивно изучаться, что имеет не только теоретическое, но и уже практическое значение. Так уже в эксперименте доказана эффективность анти ЦМВ терапии в лечении опухолей контаминированных ЦМВ и сделаны рекомендации по использованию такой терапии при комбинированном лечении злокачественных опухолей(11). По-видимому, при успешном испытании такого метода лечения и его внедрении в широкую практику, показанием для назначения анти ЦМВ терапии будет служить уровень антител к этому вирусу в крови, а также наличие самого вируса в ткани опухоли.

ВЫВОДЫ

- Уровень антител к ЦМВ в крови больных с опухолевым процессом в головном мозге выше, чем у больных хроническими неврологическими и гинекологическими заболеваниями, тогда как уровень антител к ВПГ был выше при хронических воспалительных процессах.

- Более высокая частота инфицирования и высокий уровень антител к ЦМВ у нейроонкологических больных по сравнению с хроническими воспалительными заболеваниями ЦНС указывает на наличие в этих больных активной ЦМВ инфекции, которая может способствовать росту опухолей мозга.

Литература

1. Soroceanu L., Cobbs C.S. Is HCMV a tumor promoter? *Virus Res.* 2011, 157: 193–203.
2. Melnick M., Sedghizadeh P.P., Allen C.N. 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: 118–125.
3. Scheurer M.E., Bondy M.L., Aldape K.D. et al. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2008, 116: 79–86.
4. Moore P.S., Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat. Rev. Cancer.* 2010, 10: 878–889
5. 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. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1997, 94 (7): 3341–3345.
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, 28 (1): 59–77.
7. Lau S., Chen Y.Y., Chen W.G. et al. Lack of association of cytomegalovirus with human brain tumors. *Mod Pathol.* 2005, 18 (6): 838–843.
8. Ranganathan P.A., Clark P., Kuo J. et al. Significant Association of Multiple Human Cytomegalovirus Genomic Loci with Glioblastoma Multiforme Samples. *J. Virol.* 2012, 86 (2): 854–864.

9. Rahbar A., Stragliotto G., Orrego A. et al. Low levels of Human Cytomegalovirus Infection in Glioblastoma multiforme associates with patient survival; -a case-control study. Herpesviridae. 2012, 3. Published online 2012 March 16. doi: 10.1186/2042-4280-3-3PMCID

10. Baryawno J. C., Rahbar N., Wolmer-Solberg A. et al. Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target. Klin Invest. 2011, 121: 4043–4055.

11. Johnsen J.L., Baryawno N., Derberg-Naucler C.S. Is human cytomegalovirus a target in cancer therapy? Oncotarget. 2011, 2: 1329–1338.

М.І. Лісяний, А.І. Потапова, О.М. Лісяний,

А.І. Ключникова, Л.А. Кот

**Вміст антитіл до вірусу простого герпесу і цитомегаловірусу в крові хворих з пухлинами головного мозку
ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова
НАМН України», м.Київ**

Вступ. Вірусна інфекція може бути одним з етіологічних факторів розвитку онкологічних захворювань

Мета. Порівняти рівень противірусних антитіл у крові нейроонкологічних та інших груп хворих.

Матеріали та методи. В статті приведені дані визначення антитіл до ВПГ і ЦМВ у 116 хворих з нейроонкологічною і хронічною запальною патологією нервової системи і в 50 хворих із запальною гінекологічною патологією.

Результати. При дослідженні було встановлено, що рівень антитіл до цитомегаловірусу у крові хворих з пухлинним процесом у головному мозку вище, ніж у хворих з хронічними неврологічними та гінекологічними захворюваннями, тоді як рівень антитіл до вірусу простого герпесу був вище при хронічних запальних процесах. Більш висока частота інфікування і високий рівень антитіл до цитомегаловірусу у нейроонкологічних хворих у порівнянні з хронічними запальними захворюваннями ЦНС вказує на наявність у цих хворих активної цитомегаловірусної інфекції, яка може сприяти зростанню пухлин мозку.

Ключові слова: антитіла, вірус герпесу, цитомегаловірус, пухлини головного мозку

N. I. Lisianiy, A.I. Potapova, A.N. Lisyaniy,

A.I. Kliuchnicova, L.A. Kot

**Antibody level against herpes simplex virus and cytomegalovirus in blood of patients with brain tumors
Acad. A.P. Romodanov SI “Institute of Neurosurgery, NAMSc of
Ukraine”, Kyiv**

Introduction. A viral infection could be one of etiological factors in cancer development.

Purpose. To compare the level of antiviral antibodies in the blood of patients with brain tumors and other groups of patients.

Materials and methods. The article offers data on detection of antibodies against herpes simplex virus HSV and cytomegalovirus in 116 patients with brain tumors and chronic inflammatory disorders of the nervous system and in 50 patients with inflammatory gynecological pathology.

Results. When examined, it was found that the level of antibodies against cytomegalovirus in the blood of patients with tumor process in the brain is higher than in patients with chronic neurological and gynecological diseases, whereas the level of antibodies against herpes simplex virus was higher in chronic inflammatory processes. A higher frequency of infecting and high levels of antibodies against cytomegalovirus in patients with brain tumors compared with chronic inflammatory diseases of the central nervous system are indicative of active cytomegalovirus infection presence in these patients, which can contribute to the growth of brain tumors.

Key words: antibodies, herpes virus, cytomegalovirus, brain tumors.

© М.О. МАРУЩЕНКО, 2013

М.О. Марущенко

ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ КРІО-МЕТОДУ В НЕЙРОХІРУРГІЇ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Національний медичний університет ім.
О.О.Богомольця МОЗ України

Вступ. Локальна кріодеструкція структур головного мозку та патологічних утворень є методом вибору в лікуванні нейрохірургічної патології.

Мета. Вивчення впливу локальної кріодеструкції кори головного мозку на стан гуморального та клітинного імунітету в експерименті.

Матеріал та методи. Дослідження проведено на 78 щурах-самцях. Виділено 4 групи тварин: I групі проводилась локальна кріодеструкція кори головного мозку в лівій лобово-тім'яній ділянці (n=24); II (n=22) та III (n=20) групам порівняння - електро- та механічна деструкція кори в аналогічній ділянці, IV контрольна (n=12). Кріодеструкцію виконували з використанням кріоапарату АСК-8, електродеструкцію -- "ЭСЛ-1". Показники гуморального та клітинного імунітету оцінювали на 7-му, 14-ту, 30-ту та 60-ту добу.

Результати. Дослідження тимічного індексу виявило вірогідне збільшення на 14-ту та 60-ту добу у порівнянні з контролем та іншими дослідними групами. Виявлене наростання рівня аутоантитіл до ОБМ з 14-ої доби, а на 60-ту добу рівень зростав до $27,4 \pm 7,3$ у.о. Рівень аутоантитіл до білка S-100 та NSE підвищувався на 30-ту та 60-ту добу. При інших видах деструкції рівень аутоантитіл до ОБМ зазнавав незначних коливань. Після локальної кріодеструкції виявлено зниження рівня всіх видів циркулюючих ІК, переважно на 60-ту добу.