

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.37-091:616.523-022

ЖУКОВА Татьяна Владимировна

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ГЛИОБЛАСТОМЫ, КОНТАМИНИРОВАННОЙ ВИРУСОМ ПРОСТОГО
ГЕРПЕСА

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.00.15- патологическая анатомия

Минск 2008

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Научный руководитель: Недзьведь Михаил Константинович, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Официальные оппоненты: Швед Иван Адамович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник патоморфологической группы Центральной научно-исследовательской лаборатории ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Полещук Николай Николаевич, доктор медицинских наук, заведующий отделом эпидемиологии и иммунопрофилактики инфекционных заболеваний ГУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии»

Оппонирующая организация: УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 29.02.2008 года в 14 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03. 18. 02 в УО «Белорусский государственный медицинский университет» (220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел.272-55-98), e-mail: rector@bsmu.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «__» _____ 2008г.

Ученый секретарь совета Д
03.18.02 кандидат медицинских
наук, доцент

Герасимович А.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

Глиобластома (ГЛБ) - наиболее часто встречающийся вид злокачественной опухоли нейроэпителиального происхождения у взрослых. По данным Минского городского патологоанатомического бюро в 1999-2002гг она составляла на клиническом материале 24% всех интракраниальных опухолей. По данным различных авторов процент одной из самых злокачественных опухолей нейроэпителиального ряда вырос с 19% в 1991г. до 44% в 2005г. Глиобластома, чаще поражающая людей в работоспособном возрасте от 40 до 60 лет, известна как терапевтически резистентная опухоль, поскольку использование различных методов лечения, включая векторную иммунотерапию, нейтронзахватную терапию, лишь ненадолго продлевает послеоперационную продолжительность жизни больных. Факт возможного влияния особенностей гистоструктуры глиобластомы на прогноз заболевания до настоящего времени до конца не изучен.

Во взглядах на нозологическую сущность глиобластомы превалирует точка зрения, что эта опухоль включает в себя несколько подтипов, различающихся по гистологическим признакам.

Клиническое течение глиобластомы нередко обнаруживает сходство с воспалительными заболеваниями головного мозга типа энцефалита или менингоэнцефалита. В связи с этим выделен воспалительный тип течения опухоли. Такое течение опухоли связывается с неблагоприятными воздействиями на головной мозг токсических веществ, вырабатываемых в процессе роста и распада опухоли.

В литературе имеется еще одна точка зрения, согласно которой в этиологии глиобластомы большое значение придается некоторым вирусам и в частности вирусу простого герпеса (ВПГ). Учитывая высокую нейротропность ВПГ и случаи сочетания герпетического поражения головного мозга с развитием глиом появилась гипотеза об этиологической роли этого вируса в генезе некоторых глиальных опухолей, однако эта проблема требует дальнейшего изучения.

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами

Диссертация выполнялась в рамках темы: «Частота и морфологическая характеристика наиболее важных инфекционных заболеваний у детей и взрослых в условиях Республики Беларусь» Белорусского государственного

медицинского университета, № государственной регистрации 20004080 от 05.12.2000г.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: - установить клинико-морфологические особенности глиобластомы, контаминированной вирусом простого герпеса.

Основные задачи:

1. Определить морфологические особенности глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса.
2. Выявить признаки воспалительного процесса в опухолевой ткани в зависимости от степени активации ВПГ и дать его морфологическую характеристику.
3. Дать характеристику морфологическим особенностям рецидивов глиобластомы, контаминированной вирусом простого герпеса.
4. Выявить виды и особенности кровеносных сосудов в глиобластомах, контаминированных вирусом простого герпеса, установить корреляционную связь между количеством внутриядерных герпетических включений и количеством сосудов в опухолевой ткани.

Положения, выносимые на защиту

1. Глиобластома, контаминированная ВПГ, имеет клинико-морфологические особенности, которые отличаются наличием признаков воспалительного процесса, внутриядерных герпетических включений и ядерного полиморфизма опухолевых клеток, снижением митотической активности.
2. Появление в опухолевой ткани лимфоцитарной инфильтрации, иногда с примесью нейтрофилов свидетельствует о воспалительном процессе, на фоне которого протекает глиобластома.
3. Глиобластома, протекающая на фоне обострения хронического воспаления, рецидивирует в интервале 3-6 месяцев, в то время как глиобластома с признаками хронического воспаления рецидивирует в интервале года.
4. Репродукция ВПГ в опухолевой ткани стимулирует процессы ангиогенеза, тем самым, ускоряя рецидивирование глиобластомы.

Личный вклад соискателя

Все этапы исследования: клинико-анатомический анализ историй

болезни, морфологическое и морфометрическое исследование, описание и оценка гистологических препаратов, обработка полученных результатов, написание диссертации, подготовка иллюстраций выполнены лично автором.

Апробация результатов диссертации

Основные положения и материалы диссертации доложены на заседании Минского городского общества патологоанатомов в 2003, 2003, 2004, 2005гг., на научной конференции БГМУ, посвященной 50-летию Белорусской науки (Минск, 2003г.), на научных сессиях БГМУ- в 2002, 2003, 2004, 2005г, 2006гг, на I съезде патологоанатомов РБ (Минск 2006), на II съезде патологоанатомов России (Москва 2006).

Опубликованность результатов

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ: из них 4 статьи в сборниках, 4 статьи в журналах, 3 тезисов докладов на международных, республиканских съездах и конференциях. Общее количество опубликованных материалов 2,58 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Текст диссертации изложен на 98 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, 6 глав, списка использованной литературы, включающего 51 русскоязычных и 99 иностранных источников. Работа иллюстрирована 13-ю таблицами и 49 рисунками, занимающими 24 страницы.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Объекты, методы исследования, оборудование

Материалом исследования послужил текущий и архивный материал 240 случаев глиобластом у взрослых, прооперированных в 9-й и 5-й городских клинических больницах г. Минска в 1991-2006гг, а также 52 рецидивов глиобластом и 292 истории болезни пациентов с глиобластомой. Контрольную группу составили 20 глиобластом в которых при окрашивании гематоксилином и эозином не встречались внутриядерные герпетические включения, а при проведении реакции непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами антиген вируса простого герпеса не был обнаружен.

Все препараты окрашивались гематоксилином и эозином.

Использовались также окраски Клювер-Баррера на миелин, пикрофуксином по Ван-Гизону, MSB для выявления в опухоли соединительной ткани и коллагеновых волокон. Для выявления в опухоли ВПГ в 20 случаях использовалось иммуногистохимическое исследование с антителами к антигену вируса простого герпеса I и II типа. Метод непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами во всех случаях исследованного материала проводился в вирусобактериологической лаборатории городского клинического патологоанатомического бюро г. Минска (зав.- к.м.н. И.В. Куличковская). В 20 наблюдениях глиобластом в отделении клинической вирусологии БелНИИ эпидемиологии и микробиологии (д.м.н. В.Ф.Еремин) проведена ПЦР (полимеразная цепная реакция) Для выявления эндотелиальных клеток использовалось иммуногистохимическое исследование с использованием антител к фактору Виллибранта. Исследование проводилось в иммунологической лаборатории кафедры патологической анатомии БГМУ (к.м.н. А.С. Портянко).

Морфометрическое исследование проводилось с анализом внутриядерных герпетических включений, признаков воспалительной инфильтрации, особенностей пролиферации сосудов, количества симпластов, изучалось также количество митозов. Взаимосвязь между показателями определялась методом двустороннего непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r). Достоверность различия между показателями устанавливалась с помощью двустороннего непараметрического метода Манна-Уитни. Для расчетов статистических показателей использовалась программа Excel из пакета Microsoft Office 2000, SPSS 11.0.1, а также пакет STATGRAPHICS Plus for Windows 3.0 (статистически е сравнения и построение регрессионных моделей).

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЛИОБЛАСТОМЫ, КОНТАМИНИРОВАННОЙ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА

Морфологическое исследование опухолей, контаминированных вирусом простого герпеса позволило, в зависимости от клеточного строения выделить следующие виды глиобластомы: гигантоклеточная 23 случая (9,58 %), полиморфноклеточная – 64 случая (26,66 %), - гемистоцитарная 127 (50,02%) , изоморфная - 10 (4%), а также глиосаркома - 16 (6,66%).

В контрольной группе встречались: изоморфноклеточная глиобластома в 7 случаях, а также гемистоцитарная глиобластома в 13 исследованиях. Морфологическим подтверждением контаминации опухолевой ткани ВПГ явились внутриядерные герпетические включения I и II типа, а также феномен тутовой ягоды.

Внутриядерные включения I типа обнаруживались в 93,12% глиобластом от 1 до 20 в пяти полях зрения (в среднем $7,31 \pm 0,12$).

Включения II типа встречались в опухолевой ткани в 100%, с частотой от 13 до 27 в пяти полях зрения (в среднем $21,01 \pm 0,15$).

Во всех случаях глиобластом, контаминированных ВПГ, обнаружены признаки воспалительного процесса с наличием лимфоцитов и плазматических клеток в опухолевой ткани и стенке сосудов.

В контрольной группе воспалительная инфильтрация в ткани опухоли отсутствовала.

Подсчет митозов в группе глиобластомы, контаминированной ВПГ и в контрольной группе показал, что они составляют $11,32 \pm 0,24$ и $13,15 \pm 0,01$ на пять полей зрения соответственно в исследуемой и контрольной группах.

Важно отметить, что наибольшее число митозов отмечалось в глиобластомах изоморфного строения, что косвенно свидетельствовало о более выраженной злокачественности этой формы.

При изучении количества и качества сосудов в глиобластомах, контаминированных ВПГ было отмечено, что пролиферирующие сосуды встречались в 100% опухолей и составили $20,64 \pm 0,18$. Во всех исследуемых глиобластомах в стенке сосудов отмечалось наличие воспалительной инфильтрации.

В контрольной группе пролиферирующие сосуды встречались во всех опухолях – от 4 до 12 ($9,06 \pm 0,19$) в пяти полях зрения. В стенке пролиферирующих сосудов контрольной группы воспалительная инфильтрация не отмечалась.

Морфологические особенности глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса показаны в таблице 1.

Таблица 1.

Сравнение морфологических признаков глиобластомы, контаминированной ВПГ и контрольной группы опухолей.

Вид опухоли	Включения I типа	Включения II типа	Воспал. реакция	Митозы	Сосуды
Глиобластома	$7,31 \pm 0,12$.	$21,01 \pm 0,15$	+	$11,32 \pm 0,24$	$20,64 \pm 0,18$
Контрольная группа	-		-	$13,15 \pm 0,01$	$9,06 \pm 0,19$

Из таблицы видно, что глиобластомы, контаминированные вирусом простого герпеса отличаются наличием воспалительной реакции, достоверно меньшим количеством митозов, большим количеством сосудов.

Результаты применения описательной статистики показали, что количество сосудов в глиобластомах, контаминированных ВПГ достоверно отличается от контрольной группы. Количество митозов в обеих подгруппах достоверно не различались. В этом случае были применены методы непараметрической статистики, что позволило воспользоваться стандартными параметрическими методами (таблица 2).

Таблица 2.

Параметры	Глиобластома, контаминированная ВПГ		Контрольная группа	
	Сосуды	Митозы	Сосуды	Митозы
Среднее арифметическое	20,64	11,32	9,06	13,15
Медиана	7,68	11,62	8,14	12,96
Дисперсия	25,12	10,6194	8,7057	13,572
Стандартное отклонение	5,012	3,259	2,9505	3,684
Стандартная ошибка	0,48	1,0	0,20	0,45
Коэффициент вариации %	153,6	64,1	65,4	54,6
Стандартная асимметрия	6,216	1,504	1,627	1,922
Стандартный эксцесс	11,967	0,713	0,235	0.255

Сравнение средних показателей митозов в глиобластомах, контаминированных ВПГ и контрольной группе на основании t-критерия Стьюдента показало, что они различаются с высокой достоверностью ($P < 0,002$).

Сравнение стандартных отклонений и дисперсии параметрическими методами показало высокую степень достоверности различий количества сосудов в глиобластомах, контаминированных ВПГ и в контрольной группе ($P < 0,01$). Применение X-критерия Колмогорова-Смирнова показало высокую достоверность различий распределения двух выборок ($P < 0.002$).

Выводы

1. Морфологическими признаками контаминации глиобластомы вирусом простого герпеса является наличие в опухолевых клетках внутриядерных герпетических включений I и II типа, интраваскулярной и диффузной круглоклеточной инфильтрации опухолевой ткани, выраженной пролиферации кровеносных сосудов.

2. Контаминация ВПГ оказывает двойственное влияние на морфологические свойства глиобластомы. Такая опухоль отличается выраженным полиморфизмом и достоверно меньшим количеством митозов.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В ГЛИОБЛАСТОМАХ, КОНТАМИНИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА

Во всех наблюдениях глиобластом, контаминированных ВПГ встречалась диффузная и интраваскулярная круглоклеточная инфильтрация, свидетельствующая о наличии хронического воспалительного процесса.

В 137 (57,08%) случаях глиобластом в периваскулярных и интраваскулярных воспалительных инфильтратах преобладали нейтрофильные лейкоциты, что мы расценивали, как обострение хронического процесса.

Таким образом, исследуемый материал мы разделили на две группы: опухоли, протекающие на фоне хронического воспалительного процесса без обострения и с его обострением.

Среди глиобластом, протекающих на фоне хронического воспаления, полиморфные опухоли составили 16,47%, гемистоцитарные- 56,02%, изоморфные- 24,18%, гигантоклеточные- 1,33%.

ГЛБ, развивающиеся на фоне обострения хронического воспаления, отличались выраженным клеточным полиморфизмом: полиморфные опухоли составили 52,53%, гемистоцитарные - 33,89%. Изоморфных вариантов в глиобластомах, протекающих на фоне обострения хронического воспаления, не встречалось. Гигантоклеточные глиобластомы составили 9,58%. В 4,16 % опухоль имела строение глиосаркомы.

В опухолевой ткани глиобластом, протекающих на фоне хронического воспаления, насчитывалось $5,53 \pm 0,16$ внутриядерных герпетических включений I и $16,91 \pm 0,39$ внутриядерных герпетических включений II типа.

В опухолевой ткани глиобластом, протекающих на фоне обострения хронического воспаления, насчитывалось $13,93 \pm 0,26$ внутриядерных герпетических включений I типа и $21,91 \pm 0,39$ внутриядерных герпетических

включений II.

Во всех случаях в опухолевой ткани имело место интенсивное размножение эндотелиальных клеток, которые образовывали крупные клеточные скопления - симпласты. В ядрах эндотелиальных клеток, образующих симпласты, выявлялись герпетические включения, преимущественно II типа.

Симпласты были обнаружены во всех исследуемых глиобластомах, но в опухолях, протекающих на фоне обострения хронического воспаления, они встречались значительно чаще - $5,13 \pm 0,12$ (при хроническом воспалении – $1,47 \pm 0,62$). В контрольной группе опухолей симпласты не встречались.

В глиобластомах, протекающих на фоне хронического воспаления очаги склероза в стенках сосудов были обнаружены в 93,67 % , в опухолевой ткани в 44,61 % .

При обострении хронического воспаления очаги склероза в стенках сосудов были обнаружены в 58,27 %, в опухолевой ткани в 24,32 %.

В контрольной группе опухолей ни в стенках сосудов, ни в опухолевой ткани очаги склероза не отмечались.

Сравнительная характеристика морфологических особенностей течения глиобластом на фоне хронического воспаления и его обострения приводится в таблице 3.

Таблица 3

Сравнительная характеристика морфологических особенностей ГЛБ, контаминированной ВПГ, протекающей на фоне хронического воспаления и с признаками обострения воспалительного процесса.

Варианты течения ГЛБ, контаминированной ВПГ	Тип Воспалительной инфильтрации	Симпласты	Клеточный состав опухоли	Тип включений ВПГ
Хроническое течение без обострения.	Лимфоидная	$1,47 \pm 0,62$	Гемистоцитарные, изоморфные	I- $5,53 \pm 0,16$ II- $16,91 \pm 0,39$
Хроническое течение с обострением	Лимфоидная и нейтрофильн.	$5,13 \pm 0,12$	Полиморфные, гигантокл., глиосаркома	I- $13,93 \pm 0,26$ II- $21,91 \pm 0,39$

Мы провели корреляционный анализ между количеством симпластов в глиобластоме, протекающей на фоне хронического воспаления и его обострения и количеством включений I типа.

Расчет коэффициента корреляции (R) между количеством внутриядерных включений I-го типа и количеством симпластов в глиобластоме, протекающей на фоне хронического воспалительного процесса и его обострения, который проводился с помощью встроенных функций Microsoft Excel, доказал наличие сильной связи между этими показателями в исследованной выборке ($R=1,001311$).

Таким образом, при активации ВПГ, характеризующейся ростом внутриядерных герпетических включений I типа, растет количество симпластов, которые при вызревании опухоли могут усиливать картину клеточного полиморфизма опухоли.

Признаками активации вируса можно считать увеличение в опухолевой ткани внутриядерных включений I типа, появление нейтрофилов в воспалительной инфильтрации.

Выводы

1. Для глиобластомы, контаминированной ВПГ характерна диффузная и периваскулярная круглоклеточная инфильтрация, подтверждающая наличие хронического воспалительного процесса, который характеризуется выраженным клеточным полиморфизмом, что можно объяснить появлением внутриядерных герпетических включений на различных стадиях их трансформации, а также симпластов в результате цитопролиферативного воздействия ВПГ.

2. Установлено, что в 57,08 % случаев глиобластомы, протекающие с преобладанием в лимфоидных инфильтратах нейтрофильных лейкоцитов, рецидивируют в интервале от 3 до 6 месяцев.

Клинико-морфологические особенности рецидивов глиобластом

Исследовано 52 рецидива глиобластомы.

Постановка диагноза в рецидивах опухоли вызывала большие трудности, так как опухолевая ткань рецидива не имела четких гистологических признаков глиобластом: выраженный полиморфизм, поля некроза, кровоизлияния, а также большое количество пролиферирующих сосудов. Отсутствие типичных признаков и морфологические особенности рецидива делали необходимым иммуногистохимическое исследование для верификации опухолей. Морфологически ткань рецидива имела особую структуру и состояла из мономорфных малодифференцированных клеток.

Местами она напоминала грануляционную ткань с наличием воспалительной реакции и нейтрофильных лейкоцитов, обилием тонкостенных сосудов ($23,09 \pm 0,08$). Вновь образованные единичные тонкостенные сосуды наблюдались в 63,07% рецидивов. Комплексы, симулирующие ангио-венозную мальформацию - в 36,93%. Опухолевые клетки в основном были однородными с крупными, в 4-6 раз увеличенными ядрами за счет внутриядерных герпетических включений I-го типа ($14,09 \pm 0,11$) и внутриядерных герпетических включений II типа ($21,34 \pm 0,08$).

Воспалительная инфильтрация обнаружена во всех 52 случаях рецидивов глиобластомы. Во всех случаях в инфильтратах присутствовали нейтрофильные лейкоциты, что было расценено, как признак обострения хронического воспаления. В опухолевой ткани рецидива встречались симпласты ($5,01 \pm 0,02$).

Таблица 4.

Сравнительная характеристика морфологических особенностей глиобластомы протекающих на фоне хронического воспаления и рецидивов.

Опухоль	Глиобластома на фоне хронического воспаления	Рецидив
Клеточный состав	Гемистоцитарная Изоморфная Полиморфная	Изоморфная
Инфильтрация	Лимфоцитарная	Лимфолейкоцитарная
Внутриядерные герпетические включения	I- $5,53 \pm 0,16$ II - $16,91 \pm 0,39$	$14,09 \pm 0,11$ $21,34 \pm 0,08$
Симпласты	$1,47 \pm 0,62$	$5,01 \pm 0,02$

Сравнивая морфологическую структуру глиобластомы, протекавшей на фоне хронического воспаления и рецидива, видно, что рецидив сопровождался появлением признаков обострения воспалительного процесса в глиобластомах, увеличением количества симпластов в опухолевой ткани. Сравнение стандартных отклонений и дисперсии параметрическими методами показало высокую степень достоверности различий количества внутриядерных включений I типа в глиобластомах, протекающих на фоне хронического воспаления и рецидивов ($P < 0,01$).

Таким образом, рецидив глиобластомы чаще представляет изоморфная опухолевая ткань с большим количеством вновь образованных тонкостенных сосудов.

Выводы

1. В биоптатах рецидивов глиобластомы можно выделить два морфологических компонента: опухолевая ткань глиобластомы с наличием признаков хронического воспаления в стадии обострения и ткань рецидива опухоли, отличающаяся изоморфностью клеточного состава, достаточно большим количеством внутриядерных герпетических включений I типа и появлением большого количества тонкостенных сосудов.

Клинико-морфологические особенности образования сосудов в глиобластомах, контаминированных вирусом простого герпеса.

При исследовании глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса были выделены следующие виды образования сосудов: в виде единичных сосудов, в виде крупных эндотелиальных почек, сосудистого пролиферата в виде гирлянды, подушкообразной пролиферации, комплексов кровеносных сосудов, симулирующих ангио-венозную мальформацию.

В 103 опухолях, протекающих на фоне хронического процесса без обострения, насчитывалось $17,19 \pm 0,31$ пролиферирующих сосудов. В 67,38% исследуемых глиобластом они встречались в виде единичных сосудов, в виде крупных эндотелиальных почек в 30,12% , сосудистого пролиферата в виде гирлянды в 3,5%.

В эндотелии сосудов определялись внутриядерные герпетические включения II типа $20,37 \pm 0,01$, включения I типа либо вообще не определялись (2,31% опухолей), либо их насчитывалось $5,43 \pm 0,03$. В 67,53% в стенке сосудов отмечались признаки склероза.

Вновь образованные (тонкостенные) сосуды встречались в глиобластомах, протекающих на фоне хронического воспаления в 32,03% случаев в виде единичных сосудов ($3,19 \pm 0,51$).

В 137 глиобластомах, протекающих на фоне обострения хронического воспаления пролиферирующие сосуды составили $25,12 \pm 0,05$ в пяти полях зрения. Они встречались в виде единичных сосудов в 11,31% исследуемых глиобластомах, крупных эндотелиальных почек в 38,12% , в виде подушкообразной пролиферации в 24,84% , сосудистого пролиферата в виде гирлянды в 25,73%.

В эндотелии сосудов определялись включения ВПГ II типа $25,67 \pm 0,61$, включения I типа $16,31 \pm 0,02$. В 58,13% в стенке сосудов отмечались признаки склероза; некрозы были обнаружены в 53,87% исследуемого материала.

Вновь образованные (тонкостенные) сосуды встречались в глиобластомах, протекающих на фоне хронического воспаления в стадии обострения в 100% случаев в виде единичных сосудов (63,07%), комплексов, симулирующих ангио-венозную мальформацию (36,93%).

В стенках сосудов глиобластом, протекающих на фоне обострения хронического воспаления в 100% также обнаружена воспалительная лимфоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофильных лейкоцитов. В 53,84% наблюдались опухолевые клетки с митозами $5,45 \pm 0,06$ на пять полей зрения.

В контрольной группе опухолей пролиферирующие сосуды насчитывали от 3 до 14 ($7,21 \pm 0,07$) на пять полей зрения в виде единичных и в 2 случаях в виде крупных эндотелиальных почек. В 48,19% в стенке сосудов отмечались признаки склероза.

Тонкостенные сосуды в виде единичных встречались в 30,19% опухолей.

Таблица 5.

Особенности образования сосудов в глиобластомах, контаминированных ВПГ (подсчет в 5 полях зрения).

Вид опухоли	Пролиф. сосуды	Тонкост. сосуды	В\я г-е Вкл Ит	В\я г-е вкл Пт	Форма
Глиобластома с хр. воспалением	$13,76 \pm 0,36$	$4,01 \pm 0,16$	$5,43 \pm 0,03$	$16,91 \pm 0,39$	Единичн., Эндотел. почки, сосуд. пролиферат
Глиобластома с обостр. хр воспаления	$19,37 \pm 0,66$	$24,01 \pm 0,13$	$16,31 \pm 0,02$	$21,91 \pm 0,39$	+ Подушк. пролиферат, сосуд.мальф.
Контрольная группа	$19,06 \pm 0,19$	$0,87 \pm 0,04$		-	Единичные, эндотел.поч

В период обострения в опухолях увеличивается число включений как I типа так и II типа. При этом сравнение средних показателей внутриядерных герпетических включений I и II типа в глиобластомах, протекающих на фоне

хронического воспаления и его обострения на основании t-критерия Стьюдента показало, что они различаются с высокой достоверностью ($P < 0,002$). Количество включений I типа увеличивается более значительно ($P < 0,001$). При этом растет количество вновь образованных сосудов: $4,01 \pm 0,16$ при хроническом воспалении и $24,01 \pm 0,13$ при хроническом воспалении с обострением. Увеличивается также количество пролиферирующих сосудов: $13,76 \pm 0,36$ при хроническом воспалении и $19,37 \pm 0,66$ при его обострении. Изменяется форма сосудов. В случаях глиобластом, протекающих на фоне обострения хронического воспаления форма более разнообразна, что может быть косвенным подтверждением более активного процесса их образования при активации вируса.

Результат корреляционного анализа показал, что имеется положительная корреляционная взаимосвязь между количеством включений I типа и количеством сосудов в пересчете на пять полей зрения. Расчет коэффициента корреляции (R) между количеством внутриядерных включений I-го типа и количеством сосудов в глиобластомах доказал наличие связи между этими показателями в исследованной выборке ($R=0,902311$).

В стенке сосудов глиобластом, контаминированных ВПГ определялся склероз, встречались очаги склероза в стенках опухоли контрольной группы, но инфильтрация лимфоцитами и нейтрофилами, полиморфизм клеток эндотелия, фигуры митозов в контрольной группе опухолей не были выявлены.

Выводы

1. Можно предположить, что контаминация опухолевой ткани ВПГ и его репродукция способствует пролиферации эндотелиальных клеток, это ведет к ускорению роста сосудов в глиобластомах, контаминированных ВПГ.
2. Рост кровеносных сосудов в опухоли осуществляется путем почкования с образованием эндотелиальных комплексов и подушкообразной пролиферации эндотелиальных клеток более крупных сосудов, сосудистых пролифератов в виде гирлянд, а также комплексов кровеносных сосудов, симулирующих ангио-венозную мальформацию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Основные научные результаты

1. Глиобластомы, контаминированные вирусом простого герпеса (ВПГ) имеют следующие морфологические признаки: наличие внутриядерных герпетических включений I ($7,31 \pm 0,12$) и II ($21,01 \pm 0,15$) типа в опухолевых клетках и в клетках эндотелия кровеносных сосудов ($5,43 \pm 0,03$ и $20,37 \pm 0,01$ соответственно), полиморфизм ядер, пролиферация кровеносных сосудов на 55% выше, чем в контрольной группе, снижение митотической активности (в глиобластомах на 8,4%, в рецидивах на 55%), наличие признаков воспаления с образованием симпластов [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9].

2. Признаками воспаления в глиобластомах, контаминированных ВПГ, является наличие лимфоцитарной инфильтрации, как в опухолевой ткани, так и в стенках кровеносных сосудов. При активации вируса в лимфоидных инфильтратах появляются нейтрофильные лейкоциты, что свидетельствует об обострении воспалительного процесса [2, 3, 4, 7, 9].

3. Обострение воспалительного процесса в глиобластоме является неблагоприятным прогностическим признаком и тем самым указывает на значительную вероятность быстрого (до 3 месяцев) рецидивирования опухоли [2, 4, 9, 11].

4. Рецидивы глиобластом, как правило, имеют изоморфное строение с большим количеством вновь образованных сосудов, диффузной лимфолейкоцитарной инфильтрацией опухолевой ткани и стенок кровеносных сосудов [1, 8, 10, 11].

5. Контаминация глиобластом ВПГ способствует пролиферации эндотелиальных клеток и активации ангиогенеза, который осуществляется путем почкования с образованием эндотелиальных комплексов и подушкообразной пролиферации клеток более крупных сосудов. Имеется прямая корреляционная связь между количеством включений I типа и количеством сосудов в опухолевой ткани ($R=0,902311$) [1, 8, 10].

Рекомендации по практическому применению.

Проведенное исследование позволило пересмотреть ряд представлений, связанных с течением одной из самых злокачественных опухолей головного мозга. Выявленные морфологические особенности глиобластомы, контаминированной ВПГ дают возможность определить тяжесть течения опухоли. Использование морфометрических показателей обеспечит объективную оценку тяжести течения опухоли, а также скорость ее рецидивирования. В связи с выявленными особенностями рецидивов глиобластомы, для проведения верификации опухоли рекомендуется

проведение иммуногистохимического исследования во всех случаях рецидивов, что позволит судить о качестве проведенной операции. Использование морфологического метода не требует введения новых, не использованных ранее методик, однако определение контаминации глиобластомы ВПГ, позволит использовать новые методики в лечении опухоли, направленные на продление жизни больных.

Результаты исследования внедрены в работу УЗ Минское городское патологоанатомическое бюро.

Результаты проведенного исследования могут быть использованы в практической и научно-исследовательской работе патологоанатомами, нейрохирургами, невропатологами, онкологами, вирусологами, а также в учебном процессе на кафедрах патологической анатомии, гистологии, нейрохирургии и неврологии медицинских высших учебных заведений.

**СПИСОК РАБОТ,
ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ
Статьи в научных журналах**

1-А. Жукова, Т.В. Клинико-морфологические особенности ангиогенеза в глиобластомах, контаминированных вирусом простого герпеса / Т.В.Жукова, М.К. Недзведь // Медицинский журнал.-2006.- № 2 (16).-С.42-43.

2-А. Жукова, Т.В. Морфологические признаки глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса / Т.В.Жукова, М.К. Недзведь // Медицинский журнал.-2006.- № 4 (18).-С.50- 51.

3-А. Жукова, Т.В. Морфологические особенности глиобластомы, контаминированной вирусом простого герпеса / Т.В. Жукова // Здравоохранение.- 2007.- № 6 – С.62-65.

4-А. Недзведь М.К. Ангиогенез и воспалительный процесс в глиобластомах, контаминированных вирусом простого герпеса (ВПГ)/ М.К.Недзведь, Т.В. Жукова, Т.М. Недзведь // Нейроиммунология.-2005.- том III, №; 2 – С.57

Статьи в сборниках научных работ

5-А. Жукова, Т.В. Морфологическая характеристика интракраниальных опухолей в современных условиях ./ Т.В.Жукова, М.К. Недзведь, А.Ф. Пучков // Здоровье и окружающая среда. Сб. научных трудов к 75- летию НИИ санитарии и гигиены; ред. доктора медицинских наук, профессора С.М. Соколова, к.м.н. В.Г. Цыганкова.

6-А. Жукова, Т.В. Клинико-морфологические особенности глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса./ Т.В.Жукова, М.К. Недзведь // Актуальные проблемы неврологии и нейрохирургии; ред.заслуженного деятеля науки Беларуси, академика Белорусской АМН профессора А.Ф. Смяновича и академика НАН Беларуси, члена-корреспондента Российской АМН, профессора И.П. Антонова.- Минск, 2004.- С. 53-57.

7-А. Жукова, Т.В. Клинико-морфологические особенности воспалительного процесса в глиобластомах, контаминированных вирусом простого герпеса / Т.В.Жукова, М.К. Недзведь // Актуальные проблемы неврологии и нейрохирургии; ред.заслуженного деятеля науки Беларуси, академика Белорусской АМН профессора А.Ф. Смяновича и академика

НАН Беларуси, члена- корреспондента Российской АМН, профессора И.П. Антонова.- Минск, 2006.- С. 51-54.

8-А. Жукова, Т.В. Особенности образования сосудов в рецидивах глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса (ВПГ) / Т.В.Жукова, М.К. Недзведь // Актуальные проблемы неврологии и нейрохирургии; ред.заслуженного деятеля науки Беларуси, академика Белорусской АМН профессора А.Ф. Смяновича и академика НАН Беларуси, члена- корреспондента Российской АМН, профессора И.П. Антонова.- Минск, 2007.- С. 51-54.

Тезисы докладов

9-А. Жукова, Т.В. Глиобластомы, контаминированные вирусом простого герпеса / Т.В.Жукова // Материалы III съезда онкологов и радиологов. Министерство здравоохранения Республики Беларусь. Ассоциация директоров центров и институтов онкологии, радиологии и рентгенологии СНГ. Национальная академия наук Беларуси. Государственный комитет по науке и технологиям Республики Беларусь. Государственное учреждение «Научно-исследовательский институт онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова. Минск «Тонпик», 2004. – С.258.

10-А. Жукова, Т.В. Морфогенетические особенности ангиогенеза рецидивов глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса / Т.В. Жукова, М.К. Недзведь // II съезд Российского общества патологоанатомов. Москва, 2005- С.159.

11-А. Жукова, Т.В. Особенности рецидивирования глиобластом, контаминированных вирусом простого герпеса./ Жукова Т.В., Недзведь М.К. // Поленовские чтения. Санкт- Петербург. 2005 – С.228.

РЭЗІЮМЭ

Таццяна Уладзіміраўна

Клініка - марфалагічныя асабістасці гліабластомы, кантамініраванай вірусам простага герпеса

Ключавыя словы: вірус простага герпеса, гліабластома, кантамінацыя ВПГ, унутрыядзерныя герпетычныя уключэнні I тыпа, унутрыядзерныя герпетычныя уключэнні II тыпа, хранічнае запаленне, праліферацыя эндатэліяльных клетак, ангіагенэз.

Мэта даследавання: устанавіць клініка-морфалагічныя асабістасці гліабластомы, кантамініраванай вірусам простага герпеса.

Метады даследавання: марфалагічны, іммунагістахімічны, марфаметрычны, статыстычны.

Выкарыстаная апаратура: светавы мікраскоп, мікраскоп «Ахіорлан», камп'ютар Pentium VI.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню атрыманы вынік, што гліабластома, кантамініраваная вірусам простага герпеса (ВПГ) маюць марфалагічныя прыкметы: наяўнасць унутрыядзерных герпетычных уключэнняў I і II тыпа ў пухлінных клетках і клетках эндатэлія крованосных сасудаў, палімарфізм ядзер клетак, праліферацыю эндатэліяльных клетак крованосных сасудаў, паніжэнне мітатычнай актыўнасці, наяўнасць прыкмет запалення з утварэннем сімпластаў. Пры актывацыі віруса ў лімфоідных інфільтратах з'яўляюцца нейтрафільныя лейкоцыты, што сведчыць аб абстрактным запалення. Упершыню доказана, што абстрактнае запалення ў гліабластоме – неблагапрыятная прыкмета, якая указвае на вялікую верагоднасць хуткага (ад 3 да 6 месяцаў) рэцыдывіравання пухліны.

Упершыню устаноўлена, што рэцыдывы гліабластомы, маюць ізаморфнае страенне, вялікую колькасць абразаваных сасудаў, дэфузной лімфалеікацытарнай інфільтрацыяй пухліннай тканіны і сценак крованосных сасудаў.

Упершыню даказана, што кантамінацыя гліабластом ВПГ вядзе да актывацыі ангіагенеза, які ідзе пачкаваннем з утварэннем эндатэліяльных комплексаў і падушчаабразнай праліферацыі клетак больш крупных сасудаў.

Рэкамендацыі па выкарыстанню. Получаныя сведзенні рэкамендуецца браць на ўвагу пры лячэнні хворых з гліабластомай.

Галіна прымянення: паталагічная анатомія, неуралогія, нейрахірургія, анкалогія.

РЕЗЮМЕ

Татьяна Владимировна

Клинико- морфологические особенности глиобластомы, контаминированной вирусом простого герпеса

Ключевые слова: вирус простого герпеса, глиобластома, контаминация ВПГ, внутриядерные герпетические включения I типа, внутриядерные герпетические включения II типа, хроническое воспаление, пролиферация эндотелиальных клеток, ангиогенез.

Цель исследования: установить клинико-морфологические особенности глиобластомы, контаминированной вирусом простого герпеса.

Методы исследования: морфологический, иммуногистохимический, морфометрический, статистический.

Использованная аппаратура: световой микроскоп, микроскоп «Аxioplan», компьютер Pentium VI.

Полученные результаты и их новизна: Впервые выявлено, что глиобластомы, контаминированные вирусом простого герпеса (ВПГ) имеют следующие морфологические признаки: наличие внутриядерных герпетических включений I и II типа в опухолевых клетках и в клетках эндотелия кровеносных сосудов, полиморфизм ядер клеток, пролиферация эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, снижение митотической активности, наличие признаков воспаления с образованием симпластов. При активации вируса в лимфоидных инфильтратах появляются нейтрофильные лейкоциты, что свидетельствует об обострении воспалительного процесса. Впервые доказано, что обострение воспалительного процесса в глиобластоме является неблагоприятным прогностическим признаком и тем самым указывает на значительную вероятность быстрого (от 3 до 6 месяцев) рецидивирования опухоли.

Впервые установлено, что рецидивы глиобластомы, как правило, имеют изоморфное строение, отличаются большим количеством вновь образованных сосудов, диффузной лимфолейкоцитарной инфильтрацией опухолевой ткани и стенок кровеносных сосудов.

Впервые доказано, что контаминация глиобластом ВПГ способствует активации ангиогенеза, который осуществляется путем почкования с образованием эндотелиальных комплексов и подушкообразной пролиферации клеток более крупных сосудов. **Рекомендации по использованию.** Полученные сведения рекомендуется учитывать при лечении больных с глиобластомой.

Область применения: патологическая анатомия, неврология, нейрохирургия, онкология.

SUMMARY

Zhukava Tatsiana Vladimirovna

Clinic pathologic particulars contamination of glioblastoma with herpes simplex virus

Key words: glioblastoma, HSV contamination, herpes simplex virus, inclusion bodies of type I and II, proliferation activity of endothelial cells, angiogenesis.

The aim of research: revelation of features of clinic pathologic particulars of glioblastomas with HSV.

Methods of research: morphologic, immunohistochemistry, morphometry, statistic.

Equipment: light microscope, «Axioplan» microscope, Pentium IV computer.

The received results and novelty:

It has first been revealed that glioblastoma contaminated by herpes simplex virus (HSV) has the following morphological characteristics: presence of inclusion bodies of type I and II in malignant cells and endothelial cells of blood vessels, polymorphism of nuclear cells, proliferation of endothelial cells of blood vessels, deterioration of mitotic activity, inflammation with symplast formation. It has first been determined that glioblastoma with herpes simplex virus inflammation signs is presence of lymphocytic infiltration both in malignant tissue and blood vessels walls. At virus activation neutrophilic leucocytes emerge in lymphoid infiltrations that testifies to exacerbation of inflammation process. It has first been proved that exacerbation of inflammation process in glioblastoma is an ill effect predicted sign and thereby indicates high probability of a fast (from 3 to 6 months) recurrent tumor. It has first been determined that recurrences of glioblastoma, as a rule, have isomorphous structure, are remarkable for a great number of new-formed vessels, diffusive lymphatic leukemia seepage of tumor tissue and blood vessels walls.

It has first been proved that contamination of HSV glioblastoma contributes to proliferation activity of endothelial cells and to angiogenesis activation which is carried out in the way of gemmation with endothelial complecies formation and pincushion type proliferation of bigger vessels cells. There is direct correlation between the number of inclusion bodies of type I and the number of vessels in tumor tissue. The research results widen the conception of the pathologic process essence in case of HSV glioblastoma.

Recommendation on use: The received data are recommended to be considered in therapy of patients with glioblastoma.

Fields of application: anatomical pathology, neurology, neurosurgery, oncology.