DOI: 10.29413/ABS.2020-5.2.3

Особенности экспрессии иммуногистохимического маркера HCV NS3 в аутопсийном материале головного мозга умерших в исходе хронической инфекции, вызываемой вирусом гепатита С

Майбогин А.М.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава Российской Федерации (105064, г. Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Майбогин Артемий Михайлович, e-mail: uvb777@rambler.ru

Резюме

Обоснование. Поражение головного мозга является одним из наиболее распространённых внепеченочных проявлений хронической инфекции, вызываемой вирусом гепатита С (HCV). К настоящему времени установлены его основные клинические и нейрометаболические особенности. Однако морфологическая картина HCV-ассоциированных церебральных изменений и особенности экспрессии молекулярных маркеров вируса в веществе мозга остаются недостаточно изученными, что существенно ограничивает возможности патологоанатомической диагностики рассматриваемого заболевания.

Цель исследования. Изучить морфологическую картину и установить особенности иммуногистохимической (ИГХ) экспрессии вирусного маркера HCV NS3 в мозге при хронической HCV-инфекции.

Методы. Исследование выполнено на аутопсийном материале головного мозга умерших в исходе хронической HCV-инфекции (40 случаев) и умерших без признаков психической патологии (15 случаев) с применением комплекса иммуногистохимических и патоморфологических методов.

Результаты. Показано, что морфологическая картина поражения головного мозга при хронической HCV-инфекции представлена неспецифическими дистрофическими, воспалительными и пролиферативными изменениями, выраженность которых статистически значимо различается в зависимости от отделов мозга (р < 0,001). Экспрессия маркера HCV NS3 обнаруживается во всех исследованных отделах головного мозга и характеризуется наибольшей интенсивностью в белом веществе больших полушарий и стволовых отделов (р < 0,05). ИГХ-реакция маркера NS3 проявляется в клетках микроглии, эндотелия сосудов, клетках воспалительного инфильтрата и в клетках перивентрикулярной эпендимы. Методом корреляционного анализа установлено, что показатели экспрессии NS3 образовывали наиболее сильные прямые высокозначимые (р < 0,01) корреляционные взаимосвязи с такими категориями, как экспрессия CD68, микроглиоз и аксональная дегенерация, что позволяет рассматривать их как основные факторы, посредствам которых реализуется повреждающее воздействие HCV в мозге.

Заключение. Изучены типичные морфологические изменения головного мозга при хронической НСV-инфекции. Установлены особенности ИГХ-экспрессии вирусного маркера NS3 в различных отделах мозга. Полученные результаты исследования могут быть использованы для улучшения патологоанатомической диагностики поражения мозга при хронической НСV-инфекции.

Ключевые слова: вирус гепатита С, мозг, морфологические изменения, экспрессия HCV NS3, CD 68, корреляционный анализ

Для цитирования: Майбогин А.М. Особенности экспрессии иммуногистохимического маркера HCV NS3 в аутопсийном материале головного мозга умерших в исходе хронической инфекции, вызываемой вирусом гепатита C. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(2): 17-23. doi: 10.29413/ABS.2020-5.2.3

Peculiarities of the Expression of Immunohistochemical Marker HCV NS3 in the Autopsy Brain of the Patients Died in the Outcome of Chronic Infection, Caused by Hepatitis C Virus

Maybogin A.M.

National Helmholtz Medical Center of Eye Diseases (Sadovaya-Chernogryazskaya 14/19, Moscow 105064, Russian Federation)

Corresponding author: Artemy M. Maybogin, e-mail: uvb777@rambler.ru

Abstract

Background. Brain lesion is one of the most common extrahepatic manifestations of chronic HCV infection. To date, its main clinical and neurometabolic features have been established. However, the morphological picture of HCV-associated cerebral changes and peculiarities of viral molecular markers expression in brain matter remain poorly understood. This significantly limits the possibilities of pathological diagnosis of this disease.

Aims. To study the morphological picture of brain lesion during chronic HCV infection and to determine the peculiarities of immunohistochemical (IHC) expression of the HCV NS3 antigen in brain matter.

Materials and methods. The study was performed on autopsy brain of 40 patients who died in the outcome of HCV infection and 15 patients died without signs of mental pathology. Complex of pathomorphological and ICH methods was used.

Results. It was demonstrated that morphological picture of brain lesion in chronic HCV infection is represented by non-specific dystrophic, inflammatory and proliferative changes, the severity of which varies significantly depending on the brain departments (p < 0.001). Expression of the NS3 marker is found in all studied brain regions and shows the highest intensity in white matter of cerebral hemispheres and in brain stem (p < 0.05). The ICH reaction of NS3 is manifested

in microglia cells, vascular endothelium, inflammatory infiltrate cells and in periventricular ependyma cells. Using correlation analysis method it was found that NS3 expression formed the strongest correlations with such categories as CD68 expression, microgliosis, and axonal degeneration. This allows considering they are the main factors by which HCV realizes its deleterious effect on the brain.

Conclusion. Characteristic morphological changes of the brain in chronic HCV infection were studied. The features of ICH expression of the NS3 in various parts of the brain are established. The results can be used to improve pathological diagnosis of brain lesion in chronic HCV infection.

Key words: hepatitis C virus, brain, morphological changes, HCV NS3 expression, CD68, correlation analysis

For citation: Maybogin A.M. Peculiarities of the Expression of Immunohistochemical Marker HCV NS3 in the Autopsy Brain of the Patients Died in the Outcome of Chronic Infection, Caused by Hepatitis C Virus. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(2): 17-23. doi: 10.29413/ABS.2020-5.2.3

ОБОСНОВАНИЕ

Инфекция, вызываемая вирусом гепатита С (HCV), является актуальной проблемой современной медицины. Более чем в 90 % случаев её течение сопровождается развитием внепеченочных проявлений, в основе которых лежит способность возбудителя к репликации в различных органах и тканях. Одним из наиболее распространённых внепеченочных проявлений является HCVассоциированное поражение головного мозга, частота которого достигает 50 % среди пациентов с хронической формой инфекции [1, 2, 3, 4]. Основными его клиническими проявлениями являются когнитивная дисфункция, различные аффективные и неврологические расстройства, а также ишемические и воспалительные изменения в различных отделах мозга [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9]. По данным литературы, развитие данной симптоматики не зависит от степени печёночного страдания, клинических и иммунологических показателей, а её дебют может наблюдаться уже в прецирротической стадии заболевания. Это отличает поражение мозга при HCV-инфекции от церебральных расстройств при других заболеваниях печени. Последнее позволяет говорить о её определённой нозологической самостоятельности, для обозначения которой в зарубежной литературе используется термин «церебральный HCV синдром» (HCV Brain Syndrome) [3, 4, 5, 6].

Из литературы известно, что HCV проникает в головной мозг по механизму «троянского коня» в инфицированных моноцитах периферической крови, которые образуют в мозге популяцию CD68-позитивной микроглии и являются основным источником вирусной репликации в веществе головного мозга [10,11,12]. Ведущими патогенетическими факторами церебральных расстройств при хронической HCV-инфекции считаются индуцированная возбудителем цитокинемия и аутоиммунное повреждение нервной ткани и мелких церебральных сосудов антителами и циркулирующими иммунными комплексами, следствием которых являются дистрофические и воспалительные изменения вещества мозга [3, 4].

Проведённые ранее исследования позволили изучить патогенез, а также основные клинические и нейрометаболические особенности HCV-ассоциированного поражения мозга [3, 4, 5, 6, 13, 14, 15, 16, 17]. В противоположность этому, морфологическая картина изменений головного мозга при рассматриваемом заболевании в настоящее время остаётся недостаточно изученной. Ещё меньше известно об особенностях экспрессии и локализации молекулярных маркеров возбудителя в нервной ткани. Это существенно ограничивает возможности морфологической диагностики и оценки поражения мозга при хронической HCV-инфекции [1, 4].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение морфологической картины HCVассоциированного поражения головного мозга и определение особенностей иммуногистохимической (ИГХ) экспрессии молекулярного маркера HCV NS3 в веществе мозга на основании комплексного морфологического исследования головного мозга умерших в исходе хронической HCV-инфекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование является ретроспективным описательным одномоментным (поперечным). Аутопсийные исследования выполнены на базе ГУЗ «Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро» (Республика Беларусь). Работа выполнена в рамках диссертационных исследований, одобренных на заседании Совета по этике УО «Гомельский государственный медицинский университет», протокол № 51 от 15.10.2009 г.

Объектом исследования явились аутопсийные образцы головного мозга 40 умерших в исходе хронической HCV-инфекции в возрасте от 35 до 76 лет (медиана возраста – 47,0 (42,0–49,0) лет). Диагноз основного заболевания во всех случаях был подтверждён прижизненно молекулярно-генетическими методами согласно действующим клиническим протоколам. В исследуемую группу включали только те случаи, в которых при ИГХ исследовании маркер HCV NS3 определялся в веществе мозга и в ткани печени. Группу сравнения составили 20 умерших без признаков психической патологии в возрасте от 31 до 72 лет (медиана возраста – 49,5 (44,0–55,0) лет).

При вскрытии мозг извлекали целиком и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина не менее 48 часов. Для гистологического исследования вырезали кусочки коры и белого вещества из лобных и височных долей больших полушарий (поля 10 и 21 по Бродману), базальных ганглиев (чечевицеобразное ядро), гиппокампа, мозжечка и ствола мозга (на уровне олив), которые подвергали стандартной гистологической проводке с последующей заливкой в парафин. С парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4-6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином для обзорного исследования. В результате проведённого сравнительного микроскопического исследования были определены морфологические признаки, по которым образцы мозга из исследуемой группы отличались от аналогичных образцов из группы контроля. Для последующего морфологического исследования были выбраны 15 наиболее распространённых патогистологических признаков, отражавших различные изменения нервной ткани, частота встречаемости каждого из которых составляла не менее 30 % случаев в исследуемой группе. Среди них: экспрессия маркера HCV NS3

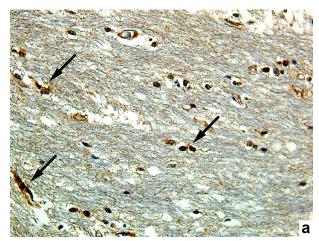
(1), экспрессия CD68 (2), периваскулярная воспалительная инфильтрация (3), паренхиматозная воспалительная инфильтрация (4), нейронофагия (5), микроглиоз (6), демиелинизация (7), аксональная дегенерация (8), степень поражения нейронов (9), периваскулярный склероз (10), выпадение нейронов (11), волокнисто-клеточный глиоз (12), периваскулярные кровоизлияния (13), гемосидероз (14), кальцификация (15). Для верификации выявленных патогистологических изменений применяли следующие элективные окраски: пикрофуксином по Ван-Гизону, на миелин по Клюверу – Баррера, крезилвиолетом по Нисслю, на фибрин по Лендруму, методом серебрения по Миягава – Александровской на микроглию, методом фон Косса для выявления солей кальция и Прусским голубым на железо [18, 19]. Интенсивность выявленных изменений оценивали в 10 случайных полях зрения при 200- и 400-кратном увеличении микроскопа с применением визуально-аналоговых морфометрических шкал балльной (для критериев 1–9) и бинарной (для критериев 10–15) оценки по предложенным ранее методикам [18, 19].

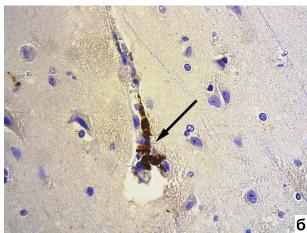
Иммуногистохимические исследования осуществляли с применением моноклональных антител к маркеру HCV NS3 (клон MMM 33, Monosan Xtra™, США) и к клеткам микроглии (CD68, клон KP1, Biocare Medical™, CША) [12, 20]. ИГХ-реакцию проводили в автоматическом режиме с использованием автоматизированного иммуностейнера Leica BOND MAX (Leica Microsystems, Германия) согласно протоколам компании-производителя. Экспрессию NS3 оценивали на срезах из всех исследованных отделов мозга в 10 случайных полях зрения при 200-кратном увеличении микроскопа с применением полуколичественной шкалы: отсутствие экспрессии – 0 баллов; от 1 до 10 окрашенных клеток – 1 балл; от 11 до 20 окрашенных клеток – 2 балла, более 20 окрашенных клеток – 3 балла [20]. Оценку реакций клеток микроглии в белом веществе мозга проводили с использованием метода, предложенного нами ранее [21, 22]. Микроскопическое исследование проводили с применением микроскопа Zeiss Axioskop 2 plus, оборудованного цифровой фотокамерой Digital Interface DFW-X710

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, США). Сравнительный анализ между группами проводили с использованием методов непараметрической статистики: дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса для множественных сравнений независимых групп, анализа таблиц сопряжённости с определением критерия Хи-квадрат для бинарных значений и метода непараметрического корреляционного анализа с определением коэффициентов Спирмена. За уровень статистической значимости принимался p < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ИГХ-экспрессия HCV NS3 обнаруживалась во всех исследованных отделах мозга. В веществе мозга маркеры NS3 выявлялись главным образом в клетках микроглиального фенотипа в виде стойкого коричневого цитоплазматического окрашивания с максимальной плотностью в перинуклеарной зоне. Экспрессия NS3 также проявлялась в эндотелии мелких церебральных сосудов и в клетках воспалительного инфильтрата в периваскулярных пространствах. В 5 случаях (12,5 %) позитивное окрашивание NS3 наблюдалось в цитоплазме клеток перивентрикулярной эпендимы (рис. 1).





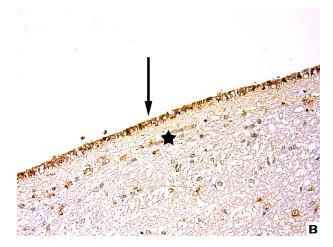


Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция HCV NS3 в веществе головного мозга при хронической HCV-инфекции: а – экспрессия маркера NS3 в клетках микроглии (частично указаны стрелками) в подкорковом белом веществе височной доли (поле 21); 6 – экспрессия NS3 в эндотелии церебрального сосуда мелкого калибра (указано стрелкой); в – экспрессия вирусного маркера NS3 в клетках эпендимы боковых желудочков мозга (указано стрелкой) и в клетках микроглии в белом веществе из перивентрикулярной зоны (указано звёздочкой); хромоген – диаминобензидин. Увеличение ×400.

Fig. 1. Immunohistochemical reaction of HCV NS3 in the brain matter in chronic HCV infection: a – expression of NS3 marker in the microglial cells (partially indicated with arrows) in subcortical white matter of temporal lobe; 6 – expression of NS3 in the endothelium of the small caliber cerebral vessel (arrow). B – NS3 marker expression in the ependyma cells of lateral ventricles (arrow) and in the microglia cells in periventricular white matter (indicated with asterisk); Chromogen – diaminobenzidine. Magnification ×400.

В 100 % наблюдений маркеры NS3 проявлялась в подкорковом белом веществе больших полушарий и ствола мозга, где показатели признака были наиболее выражены. Средние значения показателей экспрессия NS3 представлены в таблице 1. В результате проведённого морфологического исследования также были определены показатели остальных изучаемых морфологических признаков. Средние значения признаков, измеряемых по балльным и бинарным шкалам, представлены в таблицах 1 и 2.

При исследовании статистической связи между морфологическими признаками, измеряемыми в баллах, и отделами мозга методом Краскела – Уоллиса в качестве зависимых переменных были выбраны порядковые переменные, а независимых переменных – исследованные отделы головного мозга. Выдвигалась нулевая гипотеза об отсутствии различий средних рангов исследуемых признаков, измеряемых в балльной шкале, в зависимости от отделов головного мозга. За уровень значимости

Медианные значения балльных признаков в различных отделах мозга

Таблица 1 Table 1

Median values of scoring criteria in various parts of the brain

Морфологический	Отделы головного мозга								
признак, общая частота встречаемости (%)	Базальные ядра	Кора височной доли	Белое вещество височной доли	Гиппокамп	Кора лобной доли	Белое вещество лобной доли	Мозжечок	Ствол мозга	
Экспрессия вирусного белка NS3, 100 %	2,0	1,0	3,0	2,0	1,0	3,0	1,0	3,0	
Экспрессия CD68, 100 %	2,0	2,0	3,0	2,5	2,0	3,0	2,0	3,0	
Периваскулярная воспалительная инфильтрация, 90 %	2,0	1,0	1,0	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	
Паренхиматозная воспалительная инфильтрация, 90 %	2,0	2,0	3,0	2,0	2,0	3,0	1,5	2,0	
Нейронофагия, 90 %	1,0	2,0	_	,0	2,0	-	1,0	1,0	
Микроглиоз, 100 %	-	_	3,0	2,0	_	3,0	3,0	3,0	
Демиелинизация, 100 %	-	-	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	
Аксональная дегенерация, 100 %	-	-	2,0	1,0	-	2,0	1,0	1,0	
Степень поражения нейронов. 100 %	1,0	3,0	_	1,0	2,0	_	1,0	2,0	

Примечание. «—» — оценка признака не проводилась.

Показатели бинарных критериев в различных отделах мозга

Таблица 2

Table 2

Average values of binary criteria in various parts of the brain

	Отдел мозга, частота встречаемости признака (%)									
Признак, общая частота встречаемости (%)	Балл	Базаль- ные ядра	Кора височной доли	Белое вещество височной доли	Гиппо- камп	Кора лоб- ной доли	Белое вещество лобной доли	Мозжечок	Ствол мозга	Bcero, %
Периваскулярный склероз, 95 %	0	15,0	95,0	90,0	30,0	90,0	90,0	20,0	5,0	54,4
	1	85,0	5,0	10,0	70,0	10,0	10,0	80,0	95,0	45,6
Выпадение нейронов, 100 %	0	22,5	10,0	_	32,5	0,0	_	30,0	17,5	18,8
	1	77,5	90,0	_	67,5	100,0	_	70,0	82,5	81,3
Волокнисто- клеточный глиоз, 85 %	0	_	22,5	_	25,0	15,0	_	57,5	37,5	31,5
	1	_	77,5	_	75,0	85,0	_	42,5	62,5	68,5
Периваскулярные кровоизлияния, 67,5 %	0	47,5	100,0	97,5	37,5	100,0	92,5	62,5	32,5	71,3
	1	52,5	0,0	2,5	62,5	0,0	7,5	37,5	67,5	28,7
Гемосидероз, 100 %	0	40,0	95,0	92,5	12,5	92,3	90,0	55,0	0,0	59,6
	1	60,0	5,0	7,5	87,5	7,7	10,0	45,0	100,0	40,4
Кальцификация, 40 %	0	92,5	75,0	80,0	60,0	70,0	80,0	97,5	92,5	80,9
	1	7,5	25,0	20,0	40,0	30,0	20,0	2,5	7,5	19,1
Примечание. «-» – оценка признака не проводилась.										

принимали p=0,05. Для всех зависимых переменных нулевая гипотеза отвергалась при p<0,001. Результаты применения критерия Краскела – Уоллиса представлены в таблице 3. Для исследования взаимосвязи между бинарными признаков и отделами головного мозга выводились таблицы сопряжённости, и на их основе рассчитывался тест независимости хи-квадрат. Выдвигалась нулевая гипотеза об отсутствии различий исследуемых бинарных признаков в зависимости от отделов мозга. За уровень значимости принимали p=0,05. Для всех зависимых переменных нулевая гипотеза отвергалась при p<0,001.

Для выявления статистически статистически значимых различий в анализе Краскела – Уоллиса проводили попарное сравнение выборок по каждому признаку в различных отделах мозга. За уровень значимости принимали p=0,05. В результате были установлены гомогенные подмножества, образованные средними рангами исследуемого признака, различия значений в которых являются статистически незначимыми.

По признаку экспрессия NS3 выделялось три подмножества. Наиболее высокие ранговые показатели признака наблюдались в подкорковом белом веществе лобной и височной долей, а также в стволе мозга (статистика критерия (H) = 3,82, достигнутый уровень значимости (P) = 0,148 при p = 0,05). Менее выраженные значения определялись в гиппокампе и базальных ядрах (H = 0,133, P = 0,715, p = 0,05). Наименьшие средние ранги экспрессии отмечались в мозжечке и сером веществе больших полушарий (H = 5,74, P = 0,56, p = 0,05). Это указывало на неравномерный характер экспрессии маркера NS3 в нервной ткани,

наиболее выраженные показатели которой статистически значимо определялись в белом веществе мозга.

Для определения степени взаимовлияния различных морфологических изменений мозга при хронической HCV-инфекции был проведён анализ корреляционных связей между их ранговыми показателями. При этом рассматривались только сильные (0,7 < r < 1,0) и умеренные (0,5 < r < 0,7) высокозначимые (p < 0,01) корреляционные связи. По критерию экспрессия NS3 было обнаружено 6 корреляционных связей, удовлетворяющих заданным условиям (таблица 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённое исследование показало, что в основе морфологической картины поражения мозга при хронической HCV-инфекции лежат различные дистрофические, воспалительные и пролиферативные изменения нервной ткани, интенсивность которых статистически значимо различается в зависимости от отделов мозга (p < 0,05). Диагностическое значение при патологоанатомическом исследовании имеет определение экспрессии иммуноморфологических маркеров HCV. Совокупность гистологических изменений, выявленных в различных функционально важных зонах (кора и подкорка больших полушарий, базальные ядра, гиппокамп, ствол мозга) представляет собой морфологический субстрат церебральной дисфункции, характерной для пациентов с хронической HCV-инфекцией [3, 4, 5, 6].

Установлено, что экспрессия маркера HCV NS3 обнаруживается во всех исследованных отделах головного

Результаты применения критерия Краскела – Уоллиса Results of the Kruskal – Wallis test

Таблица 3

Table 3

Морфологический признак	Статистика критерия (<i>H</i>)	Степени свободы (df)	Уровень значимости (<i>P</i>)	Объём выборки (<i>n</i>)
Экспрессия NS3	194,043	7	0,000	320
Экспрессия CD68	84,917	7	0,000	320
Периваскулярная круглоклеточная инфильтрация	28,244	7	0,000	320
Диффузная круглоклеточная инфильтрация	65,244	7	0,000	320
Нейронофагия	95,120	5	0,000	240
Микроглиоз	49,686	4	0,000	200
Демиелинизация	28,976	4	0,000	200
Аксональная дегенерация	85,976	4	0,000	200
Степень поражения нейронов	52,832	5	0,000	240

Таблица 4

Характер корреляционных связей, ассоциированных с критерием экспрессия NS3

Table 4

The characteristics of the correlations associated with the NS3 expression criterion

Показатель	Коэффициент корреляции Спирмена	Количество наблюдений	p
NS3 vs CD68	r = 0,801	320	< 0,001
NS3 vs периваскулярная воспалительная инфильтрация	r = 0,602	320	< 0,001
NS3 vs диффузная воспалительная инфильтрация	r = 0,635	320	< 0,001
NS3 vs микроглиоз	<i>r</i> = 0,751	200	< 0,001
NS3 vs демиелинизция	<i>r</i> = 0,616	200	< 0,001
NS3 vs аксональная дегенерация	r = 0,723	200	< 0,001

мозга и характеризуется наибольшей интенсивностью в белом веществе больших полушарий и стволе головного мозга (p < 0.05). ИГХ реакция NS3 проявляется главным образом в клетках микроглии, эндотелия мелких церебральных сосудов и в клетках воспалительного инфильтрата. Это согласуется с имеющимися данными о том, что CD68-позитивные клетки микроглии являются основным субстратом вирусной нейроинвазии [10, 11, 12]. Также существуют указания на то, репликацию HCV способны поддерживать клетки эндотелия церебральных сосудов, которые обладают всеми основными рецепторами, необходимыми для его трансмембранного проникновения [13]. Особый интерес представляет наблюдавшаяся в 5 случаях (12,5 % наблюдений) при ИГХ реакции экспрессия маркера NS3 в клетках перивентрикулярной эпендимы. Мы предполагаем, что это может быть связано как с проявлениями антигенной мимикрии между исследуемым антигеном и ультраструктурами эпендимоцитов, так и с возможным внутриклеточным проникновением HCV в клетки эпендимы с последующим их инфицированием. В свою очередь, это может свидетельствовать о возможности нейроинвазии HCV из ликвора в перивентрикулярных зонах. Последнее, однако, нуждается в дальнейшем изучении, учитывая ограничения применённого нами метода исследования.

В результате проведённого корреляционного анализа было выявлено, что показатели экспрессии NS3 в мозге образуют наиболее сильные прямые высокозначимые корреляционные связи с такими морфологическими категориями, как экспрессия CD68 (r=0,801; p<0,001), микроглиоз (r=0,751; p<0,001) и аксональная дегенерация (r=0,723; p<0,001). Это позволяет рассматривать их как основные факторы, посредствам которых реализуется повреждающее воздействие возбудителя в нервной ткани при хронической HCV-инфекции. Полученные результаты согласуются с данными литературы о ведущей роли клеток микроглии в поддержании вирусной репликации в мозге, и о возможном развитии аутоиммунной демиелинизации в белом веществе мозга при хронической HCV-инфекции [3, 4, 15, 17, 21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена комплексная морфологическая оценка изменений головного мозга при хронической НСV-инфекции и установлены её характерные морфологические признаки в веществе мозга. Впервые изучены особенности иммуногистохимической экспрессии вирусного маркера HCV NS3 в различных отделах мозга; показана реакция NS3 в клетках перивентрикулярной эпендимы. Методом корреляционного анализа установлены морфологические категории, которые могут рассматриваться как основные факторы повреждающего воздействия HCV в нервной ткани. Полученные результаты являются объективными и статистически значимыми, их использование позволит улучшить патологоанатомическую диагностику поражения мозга при хронической HCV-инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Цинзерлинг В.А., Чухловина М.Л. Инфекционные поражения нервной системы: вопросы этиологии, патогенеза и диагностики: руководство для врачей. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2011.
- 2. Lingala S, Ghany MG. Natural history of Hepatitis C. *Gastroenterol Clin North Am.* 2015; 44(4): 717-734. doi: 10.1016/j. gtc.2015.07.003

- 3. Mathew S, Faheem M, Ibrahim SM, Iqbal W, Rauff B, Fatima K, et al. Hepatitis C virus and neurological damage. *World J Hepatol*. 2016; 8(12): 545-556. doi: 10.4254/wjh.v8.i12.545
- 4. Yarlott L. Heald E, Forton D. Hepatitis C virus infection, and neurological and psychiatric disorders a review. *J Adv Res*. 2017; 8(2): 139-148. doi: 10.1016/j.jare.2016.09.005
- 5. Hilsabeck RC, Hassanein TI, Carlson MD, Ziegler EA, Perry W. Cognitive functioning and psychiatric symptomatology in patients with chronic hepatitis C. *J Int Neuropsychol Soc.* 2003; 9(6): 847-857. doi: 10.1017/S1355617703960048
- 6. Weissenborn K, Ennen JC, Bokemeyer M, Ahl B, Wurster U, Tillmann H, et al. Monoaminergic neurotransmission is altered in hepatitis C virus infected patients with chronic fatigue and cognitive impairment. *Gut.* 2006; 55(11): 1624-1630. doi: 10.1136/gut.2005.080267
- 7. Forton DM, Thomas HC, Murphy CA, Allsop JM, Foster GR, Main J, et al. Hepatitis C and cognitive impairment in a cohort of patients with mild liver disease. *Hepatology*. 2002; 35(2): 433-439. doi: 10.1053/jhep.2002.30688
- 8. Bolay H, Söylemezoğlu F, Nurlu G, Tuncer S, Varli K. PCR detected hepatitis C virus genome in the brain of a case with progressive encephalomyelitis with rigidity. *Clin Neurol Neurosurg*. 1996; 98(4): 305-308. doi: 10.1016/0303-8467(96)00040-6
- 9. Seifert F, Struffert T, Hildebrandt M, Blümcke I, Brück W, Staykov D, et al. In vivo detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in the brain in a case of encephalitis: evidence for HCV neuroinvasion. *Eur J Neurol*. 2008; 15(3): 214-218. doi: 10.1111/j.1468-1331.2007.02044.x
- 10. Forton DM, Karayiannis P, Mahmud N, Taylor-Robinson SD, Thomas HC. Identification of unique hepatitis C virus quasispecies in the central nervous system and comparative analysis of internal translational efficiency of brain, liver, and serum variants. *J Virol.* 2004; 78(10): 5170-5183. doi: 10.1128/jvi.78.10.5170-5183.2004
- 11. Radkowski M, Wilkinson J, Nowicki M, Adair D, Vargas H, Ingui C, et al. Search for hepatitis C virus negative-strand RNA sequences and analysis of viral sequences in the central nervous system: evidence of replication. *J Virol.* 2002; 76(2): 600-608. doi: 10.1128/ivi.76.2.600-608.2002
- 12. Wilkinson J, Radkowski M, Laskus T. Hepatitis C Virus neuroinvasion: identification of infected cells. *J Virol.* 2009; 83(3): 1312-1319. doi: 10.1128/JVI.01890-08
- 13. Fletcher NF, Wilson GK, Murray J, Hu K, Lewis A, Reynolds GM, et al. Hepatitis C virus infects the endothelial cells of the blood-brain barrier. *Gastroenterology*. 2012; 142(3): 634-643. e6. doi: 10.1053/j.gastro.2011.11.028
- 14. Bokemeyer M, Ding XQ, Goldbecker A, Raab P, Heeren M, Arvanitis D, et al. Evidence for neuroinflammation and neuroprotection in HCV infection-associated encephalopathy. *Gut.* 2011; 60(3): 370-377. doi: 10.1136/gut.2010.217976
- 15. Pawlowski T, Radkowski M, Małyszczak K, Inglot M, Zalewska M, Jablonska J, et al. Depression and neuroticism in patients with chronic hepatitis C: correlation with peripheral blood mononuclear cells activation. *J Clin Virol*. 2014; 60(2): 105-111. doi: 10.1016/j.jcv.2014.03.004
- 16. Grover VP, Pavese N, Koh SB, Wylezinska M, Saxby BK, Gerhard A, et al. Cerebral microglial activation in patients with hepatitis C: in vivo evidence of neuroinflammation. *J Viral Hepat.* 2012; 19(12): e89-96. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01510.x
- 17. Forton DM, Hamilton G, Allsop JM, Grover VP, Wesnes K, O'Sullivan C, et al. Cerebral immune activation in chronic hepatitis C infection: a magnetic resonance spectroscopy study. *J Hepatol*. 2008; 49(3): 316-322. doi: 10.1016/j.jhep.2008.03.022
- 18. Чубинидзе А.И. К методике гистологического (морфологического) определения степени поражения центральной нервной системы. *Архив патологии*. 1972; 34(11): 77-78.
- 19. Herder V, Hansmann F, Wohlsein P, Peters M, Varela M, Palmarini M, et al. Immunophenotyping of inflammatory cells associated with Schmallenberg virus infection of the central nervous system of ruminants. *PLoS One*. 2013; 8(5): e62939. doi: 10.1371/journal.pone.0062939

- 20. Younis LK, Talaat FM, Deif AH, Borei MF, Reheim SM, El Salmawy DH. Immunohistochemical detection of HCV in nerves and muscles of patients with HCV associated peripheral neuropathy and myositis. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2007; 1(2): 195-202.
- 21. Майбогин А.М., Недзьведь М.К., Карапетян Г.М. Метод морфологической диагностики микроглиоза в белом веществе головного мозга (инструкция по применению). Гомель, Белоруссия: Гомельский государственный медицинский университет; 2014.
- 22. Майбогин А.М., Недзьведь М.К. Микроглиоз в белом веществе головного мозга при хронической НСV-инфекции: морфологическое исследование. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2019; 11(3): 49-56. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-49-56

REFERENCES

- 1. Tsinzerling VA, Chuhlovina ML. *Infectious lesions of nervous system: etiology, pathogenesis and diagnostics: guidelines for specialists*. Saint-Petersburg: ELBI-SPb; 2011. (In Russ.)
- 2. Lingala S, Ghany MG. Natural history of Hepatitis C. *Gastroenterol Clin North Am.* 2015; 44(4): 717-734. doi: 10.1016/j. gtc.2015.07.003
- 3. Mathew S, Faheem M, Ibrahim SM, Iqbal W, Rauff B, Fatima K, et al. Hepatitis C virus and neurological damage. *World J Hepatol*. 2016; 8(12): 545-556. doi: 10.4254/wjh.v8.i12.545
- 4. Yarlott L. Heald E, Forton D. Hepatitis C virus infection, and neurological and psychiatric disorders a review. *J Adv Res.* 2017; 8(2): 139-148. doi: 10.1016/j.jare.2016.09.005
- 5. Hilsabeck RC, Hassanein TI, Carlson MD, Ziegler EA, Perry W. Cognitive functioning and psychiatric symptomatology in patients with chronic hepatitis C. *J Int Neuropsychol Soc.* 2003; 9(6): 847-857. doi: 10.1017/S1355617703960048
- 6. Weissenborn K, Ennen JC, Bokemeyer M, Ahl B, Wurster U, Tillmann H, et al. Monoaminergic neurotransmission is altered in hepatitis C virus infected patients with chronic fatigue and cognitive impairment. *Gut.* 2006; 55(11): 1624-1630. doi: 10.1136/gut.2005.080267
- 7. Forton DM, Thomas HC, Murphy CA, Allsop JM, Foster GR, Main J, et al. Hepatitis C and cognitive impairment in a cohort of patients with mild liver disease. *Hepatology*. 2002; 35(2): 433-439. doi: 10.1053/jhep.2002.30688
- 8. Bolay H, Söylemezoğlu F, Nurlu G, Tuncer S, Varli K. PCR detected hepatitis C virus genome in the brain of a case with progressive encephalomyelitis with rigidity. *Clin Neurol Neurosurg*. 1996; 98(4): 305-308. doi: 10.1016/0303-8467(96)00040-6
- 9. Seifert F, Struffert T, Hildebrandt M, Blümcke I, Brück W, Staykov D, et al. In vivo detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in the brain in a case of encephalitis: evidence for HCV neuroinvasion. *Eur J Neurol*. 2008; 15(3): 214-218. doi: 10.1111/j.1468-1331.2007.02044.x
- 10. Forton DM, Karayiannis P, Mahmud N, Taylor-Robinson SD, Thomas HC. Identification of unique hepatitis C virus quasispecies in the central nervous system and comparative

- analysis of internal translational efficiency of brain, liver, and serum variants. *J Virol*. 2004; 78(10): 5170-5183. doi: 10.1128/jvi.78.10.5170-5183.2004
- 11. Radkowski M, Wilkinson J, Nowicki M, Adair D, Vargas H, Ingui C, et al. Search for hepatitis C virus negative-strand RNA sequences and analysis of viral sequences in the central nervous system: evidence of replication. *J Virol.* 2002; 76(2): 600-608. doi: 10.1128/jvi.76.2.600-608.2002
- 12. Wilkinson J, Radkowski M, Laskus T. Hepatitis C Virus neuroinvasion: identification of infected cells. *J Virol.* 2009; 83(3): 1312-1319. doi: 10.1128/JVI.01890-08
- 13. Fletcher NF, Wilson GK, Murray J, Hu K, Lewis A, Reynolds GM, et al. Hepatitis C virus infects the endothelial cells of the blood-brain barrier. *Gastroenterology*. 2012; 142(3): 634-643. e6. doi: 10.1053/j.gastro.2011.11.028
- 14. Bokemeyer M, Ding XQ, Goldbecker A, Raab P, Heeren M, Arvanitis D, et al. Evidence for neuroinflammation and neuroprotection in HCV infection-associated encephalopathy. *Gut.* 2011; 60(3): 370-377. doi: 10.1136/gut.2010.217976
- 15. Pawlowski T, Radkowski M, Małyszczak K, Inglot M, Zalewska M, Jablonska J, et al. Depression and neuroticism in patients with chronic hepatitis C: correlation with peripheral blood mononuclear cells activation. *J Clin Virol*. 2014; 60(2): 105-111. doi: 10.1016/j.jcv.2014.03.004
- 16. Grover VP, Pavese N, Koh SB, Wylezinska M, Saxby BK, Gerhard A, et al. Cerebral microglial activation in patients with hepatitis C: in vivo evidence of neuroinflammation. *J Viral Hepat*. 2012; 19(12): e89-96. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01510.x
- 17. Forton DM, Hamilton G, Állsop JM, Grover VP, Wesnes K, O'Sullivan C, et al. Cerebral immune activation in chronic hepatitis C infection: a magnetic resonance spectroscopy study. *J Hepatol*. 2008; 49(3): 316-322. doi: 10.1016/j.jhep.2008.03.022
- 18. Tchubinidze Al. On the methodology of histological (morphological) determination of the degree of damage to the central nervous system. *Archive pathologii*. 1972; 34(11): 77-78. (In Russ.)
- 19. Herder V, Hansmann F, Wohlsein P, Peters M, Varela M, Palmarini M, et al. Immunophenotyping of inflammatory cells associated with Schmallenberg virus infection of the central nervous system of ruminants. *PLoS One*. 2013; 8(5): e62939. doi: 10.1371/journal.pone.0062939
- 20. Younis LK, Talaat FM, Deif AH, Borei MF, Reheim SM, El Salmawy DH. Immunohistochemical detection of HCV in nerves and muscles of patients with HCV associated peripheral neuropathy and myositis. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2007; 1(2): 195-202.
- 21. Maybogin AM, Nedzved MK, Karapetyan GM. *Method for the morphological diagnosis of microgliosis in the white matter of the brain (instructions for use)*. Gomel, Republic of Belarus: Gomel State Medical University; 2014. (In Russ.)
- 22. Maybogin AM, Nedzvedz MK. Microgliosis in white matter of the brain in chronic HCV-infection: morphological study. *HIV Infection and Immunosuppresive Disorders*. 2019; 11(3): 49-56. (In Russ.)

Сведения об авторе

Майбогин Артемий Михайлович — врач-патологоанатом отдела патологической анатомии и гистологии глаза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: uvb777@rambler.ru

Information on the author

Artemy M. Maybogin — Pathologist at the Department of Eye Pathology and Histology, National Helmholtz medical center of eye diseases, e-mail: uvb777@rambler.ru

Статья получена: 27.01.2020. Статья принята: 02.03.2020. Статья опубликована: 26.04.2020. Received: 27.01.2020. Accepted: 02.03.2020. Published: 26.04.2020.