



Оригинальная статья

Характерные морфологические признаки поражения головного мозга при хронической HCV-инфекции, выявляемые на аутопсийном материале

Майбогин А.М.¹

Обоснование. Поражение центральной нервной системы – одно из наиболее распространенных внепеченочных проявлений хронической инфекции, вызванной вирусом гепатита С (HCV), с частотой до 50% наблюдений среди инфицированных. Ранее в исследованиях определены основные клинические, патогенетические и нейрометаболические особенности данной патологии, позволяющие говорить о ее определенной нозологической самостоятельности. Однако морфологическая картина изменений головного мозга при хронической HCV-инфекции остается практически не изученной, что существенно ограничивает возможности полноценной патологоанатомической диагностики заболевания. **Цель** – изучить морфологическую картину и выявить характерные, диагностически значимые патогистологические признаки поражения головного мозга при хронической HCV-инфекции. **Материал и методы.** Проведено ретроспективное описательное одномоментное (поперечное) исследование. С применением комплекса иммуногистохимических и патоморфологических методов изучен секционный материал

головного мозга умерших в исходе хронической HCV-инфекции (40 случаев) и умерших без признаков психической и инфекционной патологии в анамнезе (группа контроля – 15 случаев). **Результаты.** Характерными морфологическими признаками HCV-ассоциированного поражения мозга являются иммуногистохимическая экспрессия вирусного маркера NS3, повышение количества CD68-позитивных клеток микроглии, микроглиоз в белом веществе мозга, периваскулярная и диффузная круглоклеточная воспалительная инфильтрация, дистрофические изменения и выпадение нейронов, нейронофагия, демиелинизация, аксональная дегенерация, периваскулярный склероз, волокнисто-клеточный глиоз, мелкие периваскулярные кровоизлияния, очаговые проявления гемосидероза и кальцификации. Параметры наблюдаемых изменений статистически значимо различаются в зависимости от отдела мозга ($p < 0,001$). Определяющее диагностическое значение имеет иммуноморфологическое выявление реакции маркера NS3 в нервной ткани. **Заключение.** Совокупность патогистологических изменений, выявленных

в различных отделах головного мозга инфицированных, представляет собой морфологический эквивалент клинических и функциональных проявлений HCV-ассоциированной церебральной дисфункции. Полученные результаты могут быть использованы для улучшения патологоанатомической диагностики поражения мозга при хронической HCV-инфекции, их применение возможно в условиях рутинной патологоанатомической практики.

Ключевые слова: вирус гепатита С, мозг, морфологические изменения

Для цитирования: Майбогин АМ. Характерные морфологические признаки поражения головного мозга при хронической HCV-инфекции, выявляемые на аутопсийном материале. Альманах клинической медицины. 2020;48(1):34–43. doi: 10.18786/2072-0505-2020-48-008.

Поступила 18.01.2020; доработана 23.02.2020; принята к печати 26.02.2020; опубликована онлайн 06.03.2020

Инфекция, вызываемая вирусом гепатита С (HCV), характеризуется значительной распространенностью – доля инфицированных в мировой популяции составляет 2–3%, большей вероятностью перехода в хроническую форму течения, а также высоким риском развития неблагоприятного исхода в течение 15–20 лет. Более чем в 90% случаев хроническая HCV-инфекция осложняется

развитием внепеченочных проявлений, в основе которых лежит способность возбудителя к репликации в различных органах и тканях, иммуносупрессивные свойства вируса. Эти особенности хронической HCV-инфекции позволяют рассматривать ее как системное заболевание [1, 2].

HCV-ассоциированное поражение головного мозга считается одним из наиболее распространенных внепеченочных проявлений хронической



НСV-инфекции, поражая до 50% больных [3]. К его основным клиническим признакам относят снижение когнитивной функции, различные психогенные и неврологические расстройства, развитие ишемических и воспалительных изменений в веществе мозга [4, 5]. По данным литературы, течение указанной симптоматики не зависит от степени печеночного страдания, клинических и иммунологических показателей, а ее дебют может наблюдаться уже в прецирротической стадии заболевания. Это отличает поражение мозга при НCV-инфекции от церебральных расстройств, наблюдаемых при других заболеваниях печени [3–6]. Данные клинические особенности позволяют говорить об определенной нозологической самостоятельности рассматриваемой патологии, для обозначения которой в зарубежной литературе применяется термин «НСV-ассоциированный церебральный синдром» (англ. “НСV brain syndrome”) [4].

НСV проникает в мозг по механизму «тройного коня» в инфицированных моноцитах периферической крови, которые образуют в мозге популяцию нерезидентной микроглии и являются основным источником вирусной репликации в нервной ткани [7–10]. Ведущими патогенетическими факторами церебральных проявлений хронической НCV-инфекции считаются индуцируемая возбудителем цитокинемия, а также аутоиммунное повреждение нервной ткани и мелких церебральных сосудов антителами и циркулирующими иммунными комплексами. Их исходом становится развитие воспалительных, пролиферативных и дистрофических изменений в веществе мозга [11–13]. Большое значение также имеет гиперактивация клеток микроглии под воздействием НCV, которая обуславливает развитие эксайтотоксического повреждения нейронов в различных отделах серого вещества мозга [14–16].

Проведенные ранее исследования позволили сформулировать патогенетическую концепцию НCV-ассоциированного поражения мозга и изучить его основные нейрометаболические, функциональные и клинические особенности [3, 14, 16]. В противоположность этому, морфологические изменения мозга при рассматриваемом заболевании остаются недостаточно изученными. Опубликованные по этому вопросу данные весьма немногочисленны и представлены в виде отдельных гистологических «находок», что существенно ограничивает возможности патологоанатомической диагностики и оценки поражения мозга при хронической НCV-инфекции [1, 12, 13].

Целью настоящего исследования было изучение морфологической картины и выявление

Майбогин Артемий Михайлович – исследователь в области медицинских наук (академическое звание Республики Беларусь), врач-патологоанатом отдела патологической анатомии и гистологии глаза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1582-2106>
 ✉ 105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Российская Федерация. Тел.: +7 (965) 107 24 75. E-mail: uvb777@rambler.ru

характерных, диагностически значимых патологических признаков поражения головного мозга при хронической НCV-инфекции на основании комплексного морфологического исследования аутопсийного материала мозга инфицированных.

Материал и методы

Настоящее исследование является ретроспективным описательным одномоментным (поперечным). Характеристика экспрессии CD68, иммуногистохимических и морфологических параметров микроглиоза основана на ретроспективном одномоментном сравнительном исследовании аутопсийных образцов головного мозга 40 умерших в исходе хронической НCV-инфекции и 15 умерших из контрольной группы.

Исследования выполнены на базе ГУЗ «Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро» и прокуратуры Государственной службы судебных экспертиз Управления по Гомельской области (г. Гомель, Республика Беларусь) на текущем и архивном аутопсийном материале в период 2009–2013 гг.

Объектом исследования были аутопсийные образцы головного мозга 40 умерших в исходе хронической НCV-инфекции в возрасте от 35 до 76 лет (медиана возраста 47 (42–49) лет). Диагноз основного заболевания во всех случаях был подтвержден прижизненно молекулярно-генетическими методами согласно действующим клиническим протоколам. В исследуемую группу включали только те случаи, в которых при иммуногистохимическом исследовании маркер НCV NS3 определялся в веществе мозга и в ткани печени. Группу сравнения составили 15 умерших без признаков психической патологии по данным истории болезни в возрасте от 31 до 72 лет (медиана возраста 49,5 (44–55) года).

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 (поле 10, поле 21), базальных ядер (*n. lentiformis*), гиппокампа, мозжечка 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 последующего обзорного исследования.

В результате проведенного сравнительного микроскопического исследования были

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава России; 105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Российская Федерация



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 распространенных патогистологических признаков, отражающих различные изменения нервной ткани, частота встречаемости каждого из которых составляла не менее 30% случаев в исследуемой группе. Среди них: экспрессия вирусного белка NS3 (1), экспрессия CD68 (2), периваскулярная воспалительная инфильтрация (3), паренхиматозная воспалительная инфильтрация (4), нейтрофагия (5), микроглиоз (6), демиелинизация (7), аксональная дегенерация (8), степень поражения (9), периваскулярный склероз (10), выпадение нейронов (11), волокнисто-клеточный глиоз (12), периваскулярные кровоизлияния (13), гемосидероз (14), кальцификация (15). 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 [17, 18]. Для оценки реакций клеток микроглии в белом веществе мозга применялся метод, предложенный нами в работах [19, 20]. Для верификации выявленных патогистологических изменений применяли элективные окраски пикрофуксином по Ван-Гизону, на миелин по Клюверу – Баррера, крезилвиолетом по Нислю, методом Lendrum на фибрин, методом серебрения по Миягава – Александровской, методом фон Косса для выявления солей кальция и прусским голубым на железо [17–19]. Иммуногистохимические исследования осуществляли с применением моноклональных антител к маркеру NS3 (клон MMM 33, “Monosan Xtra”, США) и к клеткам микроглии (CD68, клон KP1, “Bioscare Medical”, США) [9, 21]. Иммуногистохимические реакции проводили в автоматическом режиме с использованием автоматизированного иммуностейнера Leica BOND MAX (“Leica Microsystems”, Германия) согласно протоколам компании-производителя. Микроскопическое исследование выполняли с помощью микроскопа Leica Axioskop 2 plus, оборудованного цифровой фотокамерой Digital Interface DFW-X710.

Этическая экспертиза. Исследование выполнено в соответствии с законом Республики Беларусь № 55-3 от 12.11.2001 «О погребении и похоронном деле».

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программы для статистической обработки данных IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, США). Поскольку в работе рассматривались порядковые признаки, сравнительный анализ между группами проводили с использованием методов непараметрической статистики: дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса для множественных сравнений независимых групп, анализа таблиц сопряженности с определением критерия хи-квадрат для бинарных значений. За уровень статистической значимости принималось значение $p < 0,05$.

Результаты

В результате проведенного морфологического исследования установлены показатели исследуемых признаков в различных отделах мозга. Средние значения показателей балльных признаков приведены в табл. 1. 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 балльной шкалой, в зависимости от отделов головного мозга. Нулевая гипотеза была отвергнута для всех исследуемых переменных ($p < 0,001$ во всех случаях). Результаты применения критерия Краскела – Уоллиса обобщены в табл. 2.

Для выявления статистически значимых различий в анализе Краскела – Уоллиса проводили попарное сравнение выборок по каждому признаку в разных отделах мозга. При выполнении апостериорных сравнений выдвигалась нулевая гипотеза об отсутствии различий между выборками на уровне значимости $p = 0,05$. В результате по каждому из морфологических критериев в программе SPSS были установлены гомогенные подмножества, образованные средними рангами исследуемого признака.

По критерию «экспрессия NS3» выделялось 3 подмножества. Наиболее высокие ранговые показатели признака наблюдались в подкорковом белом веществе лобной и височной долей, а также в стволе мозга – подмножество 3 (статистика критерия (H) = 3,82, достигнутый уровень значимости – $p = 0,148$). Менее выраженные значения определялись в гиппокампе и базальных ядрах – подмножество 2 (H = 0,133, $p = 0,715$). Наименьшие средние ранги экспрессии отмечались в мозжечке

**Таблица 1.** Медианные значения балльных признаков повреждения нервной ткани при хронической HCV-инфекции в разных отделах головного мозга

Морфологический признак, общая частота встречаемости (%)	Отделы головного мозга							
	базальные ядра	кора височной доли	подкорка височной доли	гиппокамп	кора лобной доли	подкорка 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	–	0,0	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

Пропуски в таблице означают отделы мозга, в которых оценка данного признака не проводилась

и сером веществе больших полушарий – подмножество 1 ($H=5,74$, $p=0,56$). Рассчитанные значения r_1 , r_2 , r_3 были более 0,05, что указывало на неравномерный характер экспрессии маркера NS3 в нервной ткани, наиболее выраженные показатели которой определялись в белом веществе мозга (рис. 1).

По критерию «экспрессия CD68» выделено 2 подмножества. Наибольшие показатели обнаруживались в подкорковом белом веществе лобной и височной долей, а также в стволе мозга ($H=1,53$, $p=0,465$). Менее выраженные показатели определялись в гиппокампе, мозжечке, базальных ядрах, в коре лобной и височной долей больших полушарий ($H=9,11$, $p=0,58$). Очевидно, что наибольшие ранги экспрессии CD68 наблюдаются в тех же отделах мозга, что и аналогичные показатели экспрессии NS3. Это согласуется с данными литературы о том, что клетки микроглии являются основным резервуаром HCV в веществе мозга [7–9].

Проведенное исследование показало, что абсолютное увеличение количества CD68-позитивных клеток микроглии при хронической HCV-инфекции сопровождается относительным

повышением их количества в белом веществе мозга (микроглиозом). Развитие микроглиоза наблюдается при различных заболеваниях центральной нервной системы, а в некоторых случаях

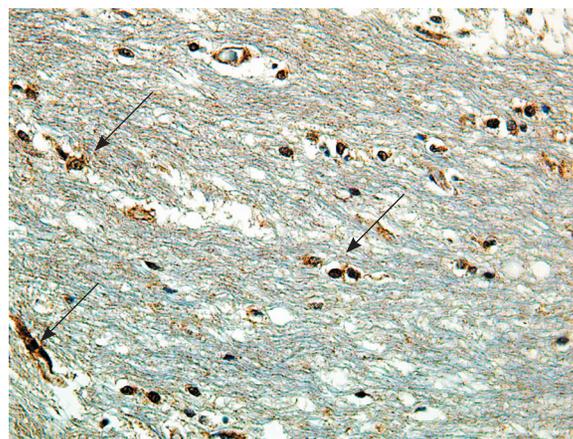


Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция с антителами к неструктурному белку NS3 вируса гепатита С (HCV) в подкорковом белом веществе лобной доли мозга при хронической HCV-инфекции. Хромоген – диаминобензидин; $\times 400$

Таблица 2. Результаты применения критерия Краскела – Уоллиса для определения различий средних рангов балльных признаков в разных отделах головного мозга

Морфологический признак	Статистика критерия (H)	Степени свободы (df)	Уровень значимости (P)	Объем выборки (n)
Экспрессия NS3	194,043	7	< 0,001	320
Экспрессия CD68	84,917	7	< 0,001	320
Периваскулярная круглоклеточная инфильтрация	28,244	7	< 0,001	320
Диффузная круглоклеточная инфильтрация	65,244	7	< 0,001	320
Нейронофагия	95,120	5	< 0,001	240
Микроглиоз	49,686	4	< 0,001	200
Демиелинизация	28,976	4	< 0,001	200
Аксональная дегенерация	85,976	4	< 0,001	200
Степень поражения нейронов	52,832	5	< 0,001	240

(болезнь Альцгеймера и др.) выступает одним из наиболее ранних патологоанатомических признаков дегенеративного процесса в мозге [22]. В литературе указывается, что активированные под воздействием HCV клетки микроглии в белом веществе мозга претерпевают определенные метаболические изменения, в результате чего они приобретают способность оказывать повреждающее действие на нейроны по механизму эксайтотоксичности [4, 14–16]. По существующим данным и собственным наблюдениям в группе контроля, содержание клеток микроглии в белом веществе мозга в нормальных условиях не превышает 13–15%. В связи с этим в настоящем исследовании пороговым значением для определения микроглиоза принималось содержание клеток CD68-позитивной микроглии свыше 15% в общей глиальной популяции [19, 20]. Было установлено, что показатели средних рангов микроглиоза образовывали 3 подмножества. Наиболее высокие значения признака наблюдались в подкорковом белом веществе лобной и височной долей больших полушарий – подмножество 1 ($H=0,71$, $p=0,399$). Менее выраженные значения имели место в белом веществе стволовых отделов мозга – подмножество 2 ($H=3,09$, $p=0,78$). Наименьшие показатели

микроглиоза определялись в гиппокампе – подмножество 3 ($H=0,988$, $p=0,32$). Значение средних рангов признака в мозжечке позволяет в равной степени отнести данный отдел к подмножествам 1 и 2. Выявленные различия показателей микроглиоза говорят о том, что наиболее выраженные продуктивные изменения клеток микроглии наблюдаются в подкорковом белом веществе больших полушарий мозга. При микроскопическом исследовании обращали на себя внимание качественные изменения популяции микроглии, в которой преобладали амебодные фагоцитирующие клетки (рис. 2), а также обнаруживалось формирование микроглиальных узелков. Наблюдаемые изменения согласуются с имеющимися данными визуализации с признаками пролиферативных изменений CD68-позитивных клеток микроглии в подкорковом белом веществе больших полушарий при хронической HCV-инфекции [3, 4, 20].

По критерию «паренхиматозная воспалительная инфильтрация» было выделено 4 подмножества. Наиболее высокие показатели средних рангов признака определялись в подкорковых отделах лобной и височной долей больших полушарий ($H=0,185$, $p=0,667$). В остальных подмножествах ($H_{1-3}=3,24$, $6,74$, $6,4$; $p_{1-3}=0,197$, $0,82$, $0,93$) значения ранговых показателей признака пересекались по большинству независимых переменных, что не позволяет выявить значимых различий между ними. Полученные данные согласуются с имеющимися сведениями об активации воспалительных реакций в подкорковом белом веществе больших полушарий мозга у инфицированных HCV (рис. 3) [3, 11, 15].

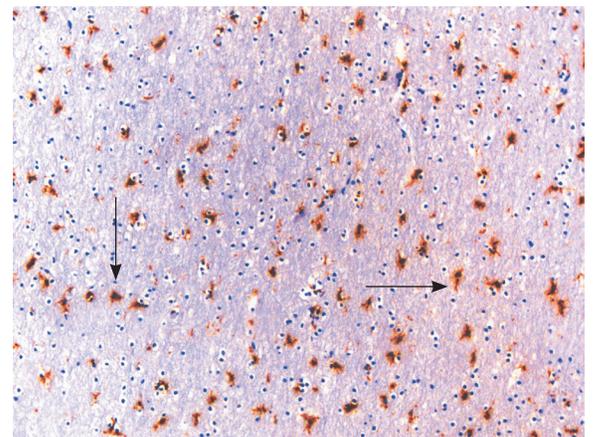


Рис. 2. Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD68 в подкорковом белом веществе мозга при хронической HCV-инфекции. Амебодные клетки CD68-позитивной микроглии частично обозначены стрелками. Хромоген – диаминобензидин; $\times 200$

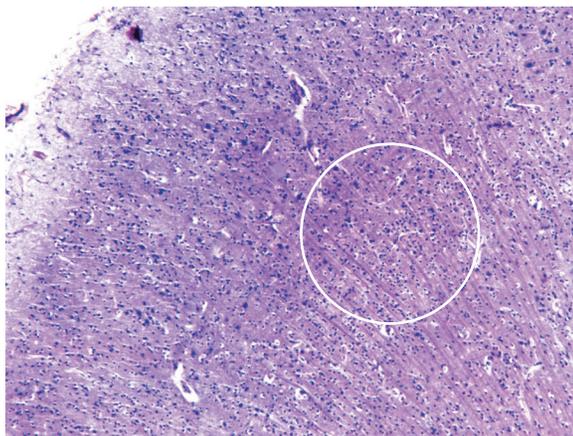


Рис. 3. Диффузная круглоклеточная воспалительная инфильтрация в сером веществе больших полушарий головного мозга (частично обведено). Окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$

По критерию «периваскулярная воспалительная инфильтрация» в результате процедуры апостериорных сравнений были установлены 4 гомогенных подмножества ($N_{1-4} = 8,76, 9,20, 8,72, 7,24$; $p_{1-4} = 0,67, 0,56, 0,68, 0,23$), ранговые показатели которых пересекаются по большинству независимых переменных, что затрудняет определение четких различий между ними.

Наибольшие показатели средних рангов по степени поражения нейронов определялись в коре лобной и височной долей больших полушарий ($N = 3,06, p = 0,80$), в которых обнаруживались (преимущественно в V слое) отдельные нервные клетки с признаками гидропической дистрофии и пикноза ядер (рис. 4). Менее выраженные показатели признака фиксировали в стволе мозга, ядрах мозжечка, базальных ядрах и гиппокампе ($N = 6,84, p = 0,77$), где изменения нейронов были представлены главным образом признаками острого набухания и изменения тинкториальных свойств. По критерию «нейрофагия» также выделялись 2 подмножества. Наибольшие показатели средних рангов признака обнаруживались в сером веществе лобной и височной долей ($N = 2,01, p = 0,156$); менее выраженные значения – в ядерных группах ствола мозга, базальных ядрах, мозжечке и гиппокампе ($N = 2,49, p = 0,477$). Таким образом, проведенный анализ показал, что при хронической HCV-инфекции в разных отделах мозга наблюдаются неспецифические дистрофические изменения нейронов, которые имеют наиболее выраженный характер в сером веществе больших полушарий мозга. По данным литературы, регрессивные изменения нейронов, обнаруживаемые

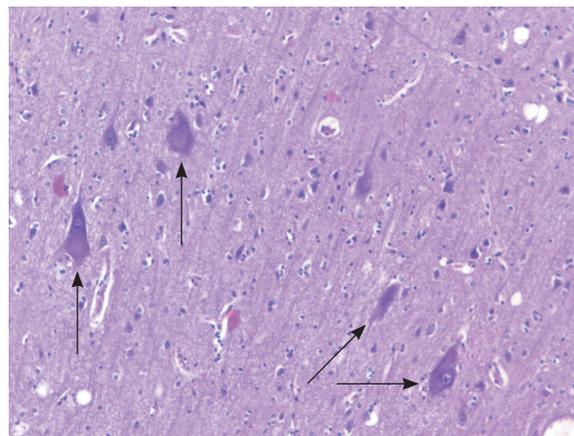


Рис. 4. Тяжелые дистрофические изменения в V слое нейронов коры височной доли головного мозга при хронической HCV-инфекции (обозначены стрелками). Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

в коре больших полушарий мозга, имеют большое значение в развитии HCV-ассоциированной когнитивной дисфункции [3, 4, 11].

Повреждение нейронов сопровождалось дегенеративными изменениями нервных волокон. Наибольшие значения средних рангов демиелинизации отмечены в подкорковых отделах лобной и височной долей ($N = 1,70, p = 0,192$) (рис. 5). Менее выраженные показатели признака выявлялись в белом веществе стволовых отделов мозга, гиппокампа и мозжечка ($N = 2,63, p = 0,268$). Аналогичный характер распределения ранговых показателей наблюдался и по критерию «аксональная дегенерация»: более выраженный характер признака имел место в подкорковых отделах лобной и височной долей ($N = 3,46, p = 0,63$); в меньшей степени деструктивные изменения нервных волокон были выражены в стволовых отделах мозга, белом веществе мозжечка и гиппокампа ($N = 3,90, p = 0,142$). Полученные данные указывают на то, что выраженность процессов демиелинизации и аксональной дегенерации при рассматриваемом заболевании в целом соответствуют друг другу, что отличает их от проявлений первичных демиелинизирующих процессов и нейродегенеративных заболеваний, при которых на первый план выходят процессы деструкции миелиновой оболочки [20]. Обнаруженные изменения не противоречат имеющимся данным отдельных морфологических исследований и визуализации [11–13]. Повреждение белого вещества, наблюдаемое при хронической HCV-инфекции, способствует развитию прогрессирующей энцефалопатии и когнитивной дисфункции у таких пациентов [3, 11, 12].



Рис. 5. Очаги демиелинизации и спонгиоза в глубоких отделах белого вещества лобной доли головного мозга (указаны звездочками), разделенные участком сохраненных нервных волокон (указан стрелкой), при хронической HCV-инфекции; $\times 200$

Для исследования взаимосвязи между бинарными признаками и отделами головного мозга выводились таблицы сопряженности, на их основе рассчитывался тест независимости хи-квадрат.

Показатели бинарных признаков приведены в табл. 3. Выдвигалась нулевая гипотеза об отсутствии различий исследуемых бинарных признаков в зависимости от отделов мозга. Для всех зависимых переменных нулевая гипотеза отвергалась ($p < 0,001$). Показатели хи-квадрат на основании таблиц сопряженности даны в табл. 4.

Установлено, что доли встречаемости периваскулярного склероза при хронической HCV-инфекции были значимо выше в базальных ядрах, гиппокампе, мозжечке и стволе головного мозга по сравнению с таковыми в сером и белом веществе исследованных долей больших полушарий ($p < 0,05$). Развитие периваскулярного склероза, в основе которого лежит патология периваскулярных астроцитов и токсические изменения сосудистой стенки, представляет собой субстрат микроваскулярной дисфункции, обнаруживаемой методами визуализации в супратенториальных отделах мозга у пациентов с хронической формой HCV-инфекции [1, 4, 12].

Доли встречаемости феномена выпадения нейронов не имели статистически значимых различий среди исследованных отделов мозга ($p < 0,05$), что свидетельствовало об отсутствии признаков

Таблица 3. Показатели бинарных критериев повреждения нервной ткани при хронической HCV-инфекции в разных отделах головного мозга

Признак, общая частота встречаемости (%)	Отделы головного мозга									
	Балл	базальные ядра	кора височной доли	подкорка височной доли	гиппокамп	кора лобной доли	подкорка лобной доли	мозжечок	ствол мозга	всего, %
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

Пропуски в таблице означают отделы мозга, в которых оценка данного признака не проводилась

**Таблица 4.** Показатели хи-квадрат на основании таблиц сопряженности для бинарных признаков

Морфологический признак	Значение хи-квадрат Пирсона	Минимальное предполагаемое число	Степень свободы (df)	Асимптотическая значимость	Количество допустимых наблюдений
Периваскулярный склероз	180,93	18,25	7	< 0,001	320
Выпадение нейронов	19,93	7,50	5	< 0,001	240
Волокнисто-клеточный глиоз	20,53	12,60	4	< 0,001	200
Периваскулярные кровоизлияния	118,62	11,50	7	< 0,001	320
Гемосидероз	174,02	15,77	7	< 0,001	320
Кальцификация	29,47	7,63	7	< 0,001	320

специфического атрофического процесса в мозге при рассматриваемой патологии.

Доли встречаемости волокнисто-клеточного глиоза были выше в сером веществе лобной и затылочной долей больших полушарий мозга, а также в гиппокампе по сравнению с показателями признака в мозжечке ($p < 0,05$). Наблюдаемые изменения, вероятно, отражают токсические изменения астроцитов, выявляемые нейрометаболическими исследованиями при HCV-ассоциированном поражении мозга [11, 14, 15].

Доли встречаемости периваскулярных кровоизлияний были выше в базальных ядрах, гиппокампе, мозжечке и стволе головного мозга по сравнению с белым веществом больших полушарий ($p < 0,05$). Развитие данного признака в ядрах ствола мозга может рассматриваться как один из

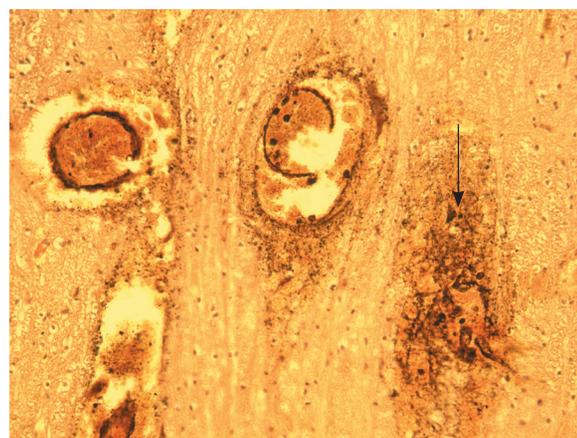


Рис. 6. Мелкие периваскулярные кровоизлияния в белом веществе головного мозга при хронической HCV-инфекции. Видна деструкция стенок мелких церебральных сосудов с развитием очаговых кровоизлияний и гемосидероза (указан стрелкой). Ножки мозга. Окраска по Ван-Гизону; $\times 400$

патогенетических факторов прогрессирующей вегетативной дисфункции у инфицированных HCV (рис. 6) [12].

Доли встречаемости гемосидероза имели наибольшую величину в базальных ядрах, гиппокампе и мозжечке по сравнению с показателями в сером и белом веществе исследованных долей больших полушарий мозга ($p < 0,05$), что отражало альтернативные изменения микрососудов в глубоких подкорковых структурах мозга [18].

Доли встречаемости кальцификации были выше в гиппокампе по сравнению с показателями в базальных ядрах, мозжечке и стволовых отделах мозга ($p < 0,05$). Выраженный характер кальцификации в гиппокампе, по-видимому, имеет важное патогенетическое значение в развитии HCV-ассоциированной когнитивной дисфункции [18].

Наше исследование показало, что течение хронической HCV-инфекции сопровождается развитием различных морфологических изменений в головном мозге. В основе морфологической картины поражения мозга при хронической HCV-инфекции лежат различные альтеративно-дистрофические, воспалительные и пролиферативные изменения нервной ткани, интенсивность которых значительно различается в зависимости от отделов мозга ($p < 0,001$). Характерными морфологическими признаками HCV-ассоциированного поражения мозга являются: повышение количества CD68-позитивных клеток микроглии, микроглиоз в белом веществе мозга, периваскулярная и диффузная круглоклеточная воспалительная инфильтрация, неспецифические дистрофические изменения нейронов, нейронофагия, выпадение отдельных нейронов в различных отделах серого вещества, очаговая демиелинизация и аксональная дегенерация, волокнисто-клеточный



глиоз, периваскулярный склероз, мелкие периваскулярные кровоизлияния, очаги гемосидероза и кальцификации в нервной ткани. Определяющее диагностическое значение имеет иммуноморфологическое выявление экспрессии вирусного маркера NS3 в нервной ткани.

Совокупность структурных изменений, выявляемых в различных функционально важных зонах (кора и подкорка лобной и височной долей больших полушарий, базальные ядра, гиппокамп, ствол мозга), представляет собой морфологический субстрат церебральной дисфункции при хронической HCV-инфекции [4, 11, 12].

Заключение

Впервые проведена комплексная морфологическая оценка изменений головного мозга при хронической HCV-инфекции; выявлены характерные морфологические признаки HCV-ассоциированных изменений в разных отделах мозга. Полученные результаты статистически значимы и представляются объективными. Их использование позволит улучшить патологоанатомическую диагностику поражения мозга при хронической HCV-инфекции и является возможным в условиях рутинной патологоанатомической практики. ☺

Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Литература / References

1. Kuna L, Jakab J, Smolic R, Wu GY, Smolic M. HCV extrahepatic manifestations. *J Clin Transl Hepatol.* 2019;7(2):172–82. doi: 10.14218/JCTH.2018.00049.
2. Lingala S, Ghany MG. Natural history of hepatitis C. *Gastroenterol Clin North Am.* 2015;44(4): 717–34. doi: 10.1016/j.gtc.2015.07.003.
3. Weissenborn K, Ennen JC, Bokemeyer M, Ahl B, Wurster U, Tillmann H, Trebst C, Hecker H, Berding G. Monoaminergic neurotransmission is altered in hepatitis C virus infected patients with chronic fatigue and cognitive impairment. *Gut.* 2006;55(11):1624–30. doi: 10.1136/gut.2005.080267.
4. Yarlott L, Heald E, Forton D. Hepatitis C virus infection, and neurological and psychiatric disorders – A review. *J Adv Res.* 2017;8(2):139–48. doi: 10.1016/j.jare.2016.09.005.
5. Forton DM, Thomas HC, Murphy CA, Allsop JM, Foster GR, Main J, Wesnes KA, Taylor-Robinson SD. Hepatitis C and cognitive impairment in a cohort of patients with mild liver disease. *Hepatology.* 2002;35(2):433–9. doi: 10.1053/jhep.2002.30688.
6. 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):847–54. doi: 10.1017/S1355617703960048.
7. 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): 5170–83. doi: 10.1128/jvi.78.10.5170-5183.2004.
8. Radkowski M, Wilkinson J, Nowicki M, Adair D, Vargas H, Ingui C, Rakela J, Laskus T. 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):600–8. doi: 10.1128/jvi.76.2.600-608.2002.
9. Wilkinson J, Radkowski M, Laskus T. Hepatitis C virus neuroinvasion: identification of infected cells. *J Virol.* 2009;83(3):1312–9. doi: 10.1128/JVI.01890-08.
10. Fletcher NF, Wilson GK, Murray J, Hu K, Lewis A, Reynolds GM, Stamatakis Z, Meredith LW, Rowe IA, Luo G, Lopez-Ramirez MA, Baumert TF, Weksler B, Couraud PO, Kim KS, Romero IA, Jopling C, Morgello S, Balfe P, McKeating JA. Hepatitis C virus infects the endothelial cells of the blood-brain barrier. *Gastroenterology.* 2012;142(3):634–43.e6. doi: 10.1053/j.gastro.2011.11.028.
11. Bokemeyer M, Ding XQ, Goldbecker A, Raab P, Heeren M, Arvanitis D, Tillmann HL, Lanfermann H, Weissenborn K. Evidence for neuroinflammation and neuroprotection in HCV infection-associated encephalopathy. *Gut.* 2011;60(3):370–7. doi: 10.1136/gut.2010.217976.
12. Pawlowski T, Radkowski M, Malyszczak K, Inglot M, Zalewska M, Jablonska J, Laskus T. Depression and neuroticism in patients with chronic hepatitis C: correlation with peripheral blood mononuclear cells activation. *J Clin Virol.* 2014;60(2):105–11. doi: 10.1016/j.jcv.2014.03.004.
13. 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):305–8. doi: 10.1016/0303-8467(96)00040-6.
14. Seifert F, Struffert T, Hildebrandt M, Blümcke I, Brück W, Staykov D, Huttner HB, Hilz MJ, Schwab S, Bardutzky J. 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):214–8. doi: 10.1111/j.1468-1331.2007.02044.x.
15. Grover VP, Pavese N, Koh SB, Wylezinska M, Saxby BK, Gerhard A, Forton DM, Brooks DJ, Thomas HC, Taylor-Robinson SD. Cerebral microglial activation in patients with hepatitis C: in vivo evidence of neuroinflammation. *J Viral Hepat.* 2012;19(2):e89–96. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01510.x.
16. Forton DM, Hamilton G, Allsop JM, Grover VP, Wesnes K, O'Sullivan C, Thomas HC, Taylor-Robinson SD. Cerebral immune activation in chronic hepatitis C infection: a magnetic resonance spectroscopy study. *J Hepatol.* 2008;49(3):316–22. doi: 10.1016/j.jhep.2008.03.022.
17. Чубинидзе АИ. К методике гистологического (морфологического) определения степени поражения центральной нервной системы. *Архив патологии.* 1972;34(11):77–8. [Chubinidze AI. [On the technique for histological (morphological) determination of the degree of the central nervous system damage]. *Архив Патологии.* 1972;34(11):77–8. Russian.]



18. Herder V, Hansmann F, Wohlsein P, Peters M, Varela M, Palmarini M, Baumgärtner W. 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.
19. Майбогин АМ, Недзьведь МК, Карапетян ГМ. Метод морфологической диагностики микроглиоза в белом веществе головного мозга: инструкция по применению. Утверждено Министерством здравоохранения Республики Беларусь 11.11.2014. Гомель: Гомельский государственный медицинский университет; 2014. 18 с. [Maybogin AM, Nedzved MK, Karapetyan GM. [The method for morphological diagnosis of microgliosis in brain white matter: an instruction for use. Approved by the Ministry of Health of the Republic of Belarus 11.11.2014]. Gomel: Gomel State Medical University; 2014. 18 p. Russian.]
20. Майбогин АМ, Недзьведь МК. Микроглиоз в белом веществе головного мозга при хронической HCV-инфекции: морфологическое исследование. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2019;11(3):49–56. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-49-56. [Maybogin AM, Nedzved MK. [Microgliosis in white matter of the brain in chronic HCV-infection: Morphological study]. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2019;11(3):49–56. Russian. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-49-56.]
21. 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.
22. Hjerrild S, Renvillard SG, Leutscher P, Sørensen LH, Østergaard L, Eskildsen SF, Videbech P. Reduced cerebral cortical thickness in Non-cirrhotic patients with hepatitis C. *Metab Brain Dis*. 2016;31(2):311–9. doi: 10.1007/s11011-015-9752-3.

Characteristic morphological signs of the brain damage during chronic hepatitis C virus infection identified in autopsy samples

A.M. Maybogin¹

Background: The central nervous system damage is one of the most common extra hepatic manifestations of chronic hepatitis C viral (HCV) infection, with the prevalence of up to 50% of the infected cases. Previous studies have identified the main clinical, pathogenetic and neurometabolic features of this pathology, which make it possible to suggest its definite nosological independence. However, the morphological pattern of brain lesions in chronic HCV infection remains virtually unexplored, significantly limiting the possibility of comprehensive pathological diagnosis of the disease. **Aim:** To study morphological patterns and to identify typical and diagnostically significant pathological signs of brain involvement in chronic HCV infection. **Materials and methods:** This was a retrospective descriptive cross-sectional study performed with a range of immunohistochemical (IHC) and pathomorphological techniques in the autopsy brain samples from patients who died of chronic HCV infection (40 cases) and those who died without any signs of past mental and infectious disorders (the control group, 15 cases). **Results:** The characteristic morphological signs of HCV-associated brain injury are IHC expression of the NS3 viral marker, an increase in CD68-positive microglial cell count, white brain matter microgliosis, perivascular and diffuse round cell inflammatory infiltration, degeneration and loss of neurons,

neurophagy, demyelination, axonal degeneration, perivascular sclerosis, fibrous cell gliosis, small perivascular hemorrhages, focal hemosiderosis and calcification. The parameters of the identified abnormalities differ significantly depending on the brain region ($p < 0.001$). The identification of the HCV NS3 marker in the nervous tissue has the definitive diagnostic value. **Conclusion:** The body of histopathological abnormalities found in various parts of the brain from the infected patients represents the morphological equivalent of the clinical and functional manifestations of HCV-associated cerebral dysfunction. The results obtained can be used to improve the pathological diagnostics of brain lesions in chronic HCV infection; their implementation is feasible in routine pathological practice.

Key words: hepatitis C virus, brain, morphological changes

For citation: Maybogin AM. Characteristic morphological signs of the brain damage during chronic hepatitis C virus infection identified in autopsy samples *Almanac of Clinical Medicine*. 2020;48(1):34–43. doi: 10.18786/2072-0505-2020-48-008.

Received 18 January 2020; revised 23 February 2020; accepted 26 February 2020; published online 6 March 2020

Artemij M. Maybogin – Medical Researcher, Pathologist, Department of Eye Pathology and Histology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1582-2106>

✉ 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya ul., Moscow, 105062, Russian Federation. Tel.: +7 (965) 107 24 75. E-mail: uvb777@rambler.ru

Conflict of interests

The author declares no conflict of interests.

¹ Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases; 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya ul., Moscow, 105062, Russian Federation