

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **19979**

(13) **С1**

(46) **2016.04.30**

(51) МПК

G 01N 33/50 (2006.01)

(54) **СПОСОБ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОРАЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЦИРРОЗЕ И/ИЛИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ, ВЫЗВАННЫХ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С**

(21) Номер заявки: а 20120438

(22) 2012.03.23

(43) 2013.10.30

(71) Заявители: Майбогин Артемий Михайлович; Недзьведь Михаил Константинович (ВУ)

(72) Авторы: Майбогин Артемий Михайлович; Недзьведь Михаил Константинович (ВУ)

(73) Патентообладатели: Майбогин Артемий Михайлович; Недзьведь Михаил Константинович (ВУ)

(56) HÖFTBERGER R. et al. Multiple Sclerosis. - 2007. - V. 13. - P. 1100-1106.
МАЙБОГИН А.М. Проблемы здоровья и экологии. - 2010. - № 1. - С. 36-38.

(57)

Способ морфологического определения поражения головного мозга при циррозе и/или хроническом гепатите, вызванных вирусом гепатита С, включающий гистохимическую обработку срезов головного мозга и их микроскопическое исследование, **отличающийся** тем, что осуществляют гистохимическую обработку серийных срезов головного мозга путем окрашивания среза каждым из следующих методов: окраски гематоксилином и эозином, ШИК, MSB, импрегнации серебром, пикрофуксином по Ван-Гизону, крезилвиолетом по Нисслию и люксолом быстрым голубым по Клюверу и Баррера, и при выявлении наличия при микроскопическом исследовании очагового узелкового эпендимита с периваскулярными лимфоцитарными инфильтратами, фокального асептического лептоменингита, очагов выпадения нейронов коры больших полушарий преимущественно по дегенеративному типу, очагов стриарного некроза в сером и белом веществе, периваскулярных кровоизлияний, лимфоцитарных и плазмоцитарных периваскулярных инфильтратов, пролиферации эндотелия в сосудах МЦР, клеточного и волокнистого глиоза, явления аутофагии нейронов и глиальной нейронафагии, спонгиоза вокруг зон некроза, острых и подострых дистрофических изменений нейронов, очажков обызвествления различных отделов головного мозга, депозитов фибрина в просвете и в стенке сосудов МЦР с очагами плазматического пропитывания и фибриноидного некроза, сливающихся очагов демиелинизации в различных отделах головного мозга с очаговой сохранностью аксонов и очаговой мозаичностью поражения с относительной сохранностью миелина в периваскулярных зонах и фокальной макрофагальной реакцией делают вывод о поражении головного мозга, обусловленном циррозом и/или хроническим гепатитом, вызванными вирусом гепатита С.

Изобретение относится к медицине и может быть использовано в патологической анатомии, клинике инфекционных болезней, медицинской и экспериментальной вирусологии, других областях клинической медицины.

ВУ 19979 С1 2016.04.30

Изучение морфологических проявлений инфекции, вызываемой вирусом гепатита (НСV) инфекции в нервной системе, началось несколько лет назад, после обнаружения репликации НСV в головном мозге [1, 3, 4]. Приблизительно у 50 % инфицированных НСV отмечаются выраженные в разной степени различные неврологические и психиатрические нарушения, сопровождающиеся снижением качества жизни больных, которые, однако, не зависят от степени повреждения печени, показателей вирусной нагрузки либо сопутствующих аутоиммунных расстройств [4]. Это, в свою очередь, явилось теоретической предпосылкой к изучению возможных структурных и функциональных проявлений хронической НСV-инфекции в центральной нервной системе (ЦНС).

Известен способ морфологического выявления поражения головного мозга при циррозах и хронических гепатитах, вызываемых вирусом гепатита С, путем применения общего метода окрашивания изучаемых срезов головного мозга в обзорных окрасках (гематоксилином и эозином) с последующим описанием наблюдаемых морфологических изменений нейронов, глии [1, 3].

Недостатками данного способа являются:

отсутствие селективного окрашивания наблюдаемых тканевых и клеточных структур, что не позволяет определить наличие совокупности структурных изменений нейронов, клеток микро- и макроглии и их деталей (тел клеток, их ядер и отростков), микрососудов и миелинизированных нервных волокон, отсутствие дифференциальной окраски клеток микро- и макроглии, внутрисосудистого фибрина;

отсутствие исследования серийных срезов головного мозга, что не обеспечивает представления о выраженности и распространенности процесса в исследуемой ткани.

Наиболее близким к предлагаемому способу выявления поражения головного мозга при циррозах и хронических гепатитах, вызываемых вирусом гепатита С, является способ, согласно которому для окрашивания гистологических срезов исследуемой ткани мозга применяют обзорные, а также некоторые селективные окраски (люксол быстрый голубой по методу Клувера и Баррера, в т.ч. с применением докраски по методу ШИК) с последующим описанием наблюдаемых морфологических изменений нейронов, клеток микроглии, миелинизированных нервных волокон - прототип [2].

Недостатками прототипа являются:

отсутствие исследования мягкой мозговой оболочки головного мозга;

отсутствие селективного окрашивания структурных компонентов микрососудов и внутрисосудистого фибрина, клеток микроглии и их деталей (тел, ядер, отростков), а также структурных компонентов нейронов, что не позволяет определить наличие совокупности структурных изменений нейронов, глии, микрососудов и миелинизированных нервных волокон;

отсутствие исследования серий парафиновых срезов, что не обеспечивает полного представления о выраженности и распространенности процесса в исследуемой ткани.

Задача, на решение которой направлено предполагаемое изобретение, заключается в создании высокодостоверного и воспроизводимого способа морфологического определения поражения головного мозга при циррозе и хроническом гепатите, вызванных вирусом гепатита С, и определения выраженности и распространенности этих изменений.

Задача решается за счет того, что способ морфологического определения поражения головного мозга при циррозе и/или хроническом гепатите, вызванных вирусом гепатита С, включает гистохимическую обработку срезов головного мозга и их микроскопическое исследование, причем осуществляют гистохимическую обработку серийных срезов головного мозга путем окрашивания среза каждым из следующих методов: окраски гематоксилином и эозином, ШИК, MSB, импрегнации серебром, пикрофуксином по Ван-Гизону, крезилвиолетом по Нисслию и люксолом быстрым голубым по Клуверу и Баррера, и при выявлении наличия при микроскопическом исследовании очагового узелкового эпендимита с периваскулярными лимфоцитарными инфильтратами, фокального асептиче-

ского лептоменингита, очагов выпадения нейронов коры больших полушарий преимущественно по дегенеративному типу, очагов стриарного некроза в сером и белом веществе, периваскулярных кровоизлияний, лимфоцитарных и плазмоцитарных периваскулярных инфильтратов, пролиферации эндотелия в сосудах МЦР, клеточного и волокнистого глиоза, явления аутофагии нейронов и глиальной нейронафагии, спонгиоза вокруг зон некроза, острых и подострых дистрофических изменений нейронов, очажков обызвествления различных отделов головного мозга, депозитов фибрина в просвете и в стенке сосудов МЦР с очагами плазматического пропитывания и фибриноидного некроза, сливающихся очагов демиелинизации в различных отделах головного мозга с очаговой сохранностью аксонов и очаговой мозаичностью поражения с относительной сохранностью миелина в периваскулярных зонах и фокальной макрофагальной реакцией делают вывод о поражении головного мозга, обусловленном циррозом и/или хроническим гепатитом, вызванными вирусом гепатита С.

Пример.

Согласно протоколам от 2012 г. были проведены исследования ткани головного мозга умершего В., 32 лет (основная причина смерти - цирроз печени в исходе хронического вирусного гепатита С) и умершей Б., 35 лет (основная причина смерти - хронический вирусный гепатит С). С целью объективной оценки морфологических изменений головного мозга и их распространенности для исследования были взяты кусочки симметрично из коры и (отдельно) подкорки правой и левой лобных долей, а также из базальных ядер, гиппокампа, мозжечка и ствола мозга. После фиксации кусочки подвергали стандартной гистологической проводке и заливке в парафин (каждый отдельно). Из каждого парафинового блока готовили серийные срезы толщиной 4-6 мкм в количестве не менее 7 (по числу применяемых окрасок для каждого исследуемого кусочка вещества мозга). Каждый срез из серийных срезов окрашивали одним из применяемых методов окраски: гематоксилином и эозином, ШИК, MSB, импрегнации серебром, пикрофуксином по Ван-Гизону, крезилвиолетом по Нисслию и люксолом быстрым голубым по Клюверу и Баррера. Таким образом в рамках настоящего исследования было изготовлено 8 парафиновых блоков, из которых в дальнейшем были выполнены 56 серийных срезов (по 7 на каждый исследуемый кусочек вещества мозга, монтированный в блок). Далее окрашенные препараты подвергались микроскопическому исследованию. Были обнаружены следующие изменения: очаговый узелковый эпендимит с периваскулярными лимфоцитарными инфильтратами, фокальный асептический лептоменингит, очаги выпадения нейронов коры больших полушарий преимущественно по дегенеративному типу, очаги стриарного некроза в сером и белом веществе, периваскулярные кровоизлияния, лимфоцитарные и плазмоцитарные периваскулярные инфильтраты, пролиферация эндотелия в сосудах МЦР, клеточный и волокнистый глиоз, явления аутофагии нейронов и глиальной нейронафагии, спонгиоз вокруг зон некроза, острые и подострые дистрофические изменения нейронов, очажки обызвествления различных отделов головного мозга, депозиты фибрина в просвете и в стенке сосудов МЦР с очагами плазматического пропитывания и фибриноидного некроза, сливающиеся очаги демиелинизации в различных отделах головного мозга с очаговой сохранностью аксонов и очаговой мозаичностью поражения с относительной сохранностью миелина в периваскулярных зонах и фокальной макрофагальной реакцией. На основании выявленных изменений был сделан вывод о наличии характерных морфологических признаков поражения головного мозга, обусловленного циррозом печени и хроническим гепатитом, вызванных вирусом гепатита С, поскольку данная совокупность структурных изменений не встречается при других заболеваниях печени.

Предлагаемый способ выявления морфологического поражения головного мозга при циррозе печени и хроническом гепатите, вызываемом вирусом гепатита С, обеспечивает высокую степень достоверности, легко воспроизводим и обладает относительно низкой стоимостью. Позволяет при микроскопическом исследовании комплексно оценивать из-

ВУ 19979 С1 2016.04.30

менения всех основных гистологических компонентов ткани головного мозга (нейронов, глии, нервных волокон и сосудов), а также некоторые их детали на субклеточном уровне (тела, ядра и отростки клеток), дифференцировать компоненты микро- и макроглии. Кроме того, использование данного способа на серийных гистологических срезах исследуемой ткани мозга позволяет не только дать объективную качественную оценку наблюдаемым изменениям, но и проследить их распространенность и степень выраженности, а также снижает вероятность артефициальной погрешности. Применение данного способа возможно при проведении как морфологических, так и морфометрических исследований, поскольку с его использованием объективизируются все доступные изучению на светооптическом уровне гистологические компоненты ткани головного мозга, что, в свою очередь, позволяет производить как качественную оценку, так и количественный подсчет последних. Данный способ может быть широко применим при изучении морфологических особенностей психоневрологических расстройств, часто наблюдаемых у больных хроническим вирусным гепатитом С и циррозом печени, а также впервые позволит дать объективную комплексную морфологическую оценку изменений головного мозга в условиях назначения медикаментозной терапии, а следовательно, и эффективности последней, что, согласно данным литературы, приобретает все большую актуальность.

Источники информации:

1. Jeffrey Wilkinson et al. Hepatitis C virus neuroinvasion: identification of infected cells // *Journal of Virology*. - 2009. - Vol. 83. - P. 1312-1313.
2. Hoftberger R. et al. Fulminant central nervous system demyelination associated with interferon- β therapy and hepatitis C virus infection // *Multiple Sclerosis*. - 2007. - Vol. 13. - P. 1100-1106.
3. Jacinta Murray et al. Clinicopathologic correlates of hepatitis C virus in brain: A pilot study // *J Neurovirol*. - 2008. - Vol. 14(1). - P. 17-27.
4. Karin Weissenborn et al. Hepatitis C infection and the brain // *Metab Brain Dis*. - 2009. - Vol. 24(1). - P. 197-210.