

Совокупность полученных данных и способность электротока к туннелированию по сосудам и протокам ограничивает применение ВЧ электрохирургии, даже в монополярном режиме, при работе на тканях слюнной железы.

#### Литература

1. Белов, С. В. Влияние параметров высокочастотного тока на коагуляцию тканей / С. В. Белов // Медицинская техника. – 1978. - №4. – С. 44 – 47.
2. Bussiere, R. L. Principles of electrosurgery / R. L. Bussiere. – Washington, USA: Tetran Inc., 2001. – 33 p.
3. Electrosurgery: pitfalls and recommendations / Y. Demitraş, S. Ayhan, R. Yavuzer etc // Gazi Medic Journal. – 2006. - № 17 (4). – 145-151.

## ВИЗУАЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕПЛИКАЦИИ РНК ВИРУСА ГЕПАТИТА С НА МЕМБРАНАХ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ СЕТИ ГЕПАТОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ HCV-ИНФЕКЦИЕЙ

*Андреев В.М., Цыркунов В.М., Иванюкович А.В.*

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

**Актуальность.** В настоящее время мы являемся свидетелями распространения двух опасных эпидемий, возбудителями которых являются ВИЧ и вирус гепатита С (ВГС). За долгие годы эволюции в системе «человек – ВГС» все еще не сформировались «партнерские отношения» между макро- и микроорганизмом и равновесие в подавляющем большинстве (85%) случаев при HCV-инфекции смещается в направлении прогрессирования патологических процессов в печени (стеатоз, гепатит, фиброз, цирроз, трансформация клеток) [1].

В жизненном цикле HCV выделяют следующие стадии: проникновение в цитоплазму клетки посредством рецепторно-опосредованного эндоцитоза; освобождения геномной РНК HCV от нуклеокапсида; связывание РНК с рибосомами гранулярной эндоплазматической сети и синтез полипротеина; производство структурных и неструктурных белков вириона, путем разрезания полипротеина протеазами; образование мембранных везикул и репликация в них минус-РНК, которая служит матрицей для производства многих копий геномной плюс-РНК; формирование частиц вириона путем заключения плюс-цепи РНК в капсид, а затем в оболочку, содержащую мембранный белок М и поверхностные (белки Е) [2].

Среди многочисленных (молекулярно-генетические, биохимические, иммуноцитохимические, рентгеноструктурный анализ и другие) методов «морфологический подход», в частности, электронно-микроскопическое исследование занимает достойное место в расшифровке жизненного цикла ВГС, в диагностике и прогнозировании течения хронического гепатита С (ХГС). Электронно-микроскопическая томография (изучение серийных срезов клеток),

позволяет визуализировать такие процессы как образование из мембран эндоплазматической сети (ретикулума) двойных мембранных везикул (ДМВ), в которых локализуется репликативный комплекс и происходит репликация генома ВГС [3]. Способность ВГС стимулировать образование замкнутых, пространственно ограниченных везикул является важным приспособлением, позволяющим защитить геном вируса во время репликации от повреждающих факторов цитоплазмы гепатоцита. Выявление ДМВ в гепатоцитах является ценным диагностическим признаком, поскольку позволяет произвести количественный учет гепатоцитов, пораженных ВГС, а по количеству ДМВ в клетке – судить о репликативном потенциале возбудителя [4].

Однако, существующие в настоящее время методики не позволяют одновременно выявлять в гепатоците структуры ДМВ, в которых осуществляется репликация геномных РНК ВГС и вирусоподобных частиц на различных стадиях их формирования (капсиды без оболочки, сформированные вирионы, и вирионы, связанные с липопротеинами).

**Цель** – применить оригинальный метод фиксации биоптатов ткани печени для количественной электронно-микроскопической визуализации ДМВ и вирусоподобных частиц на различных стадиях их формирования.

**Методы исследования.** Проведено электронно-микроскопическое изучение гепатоцитов в биоптатах печени пациентов с ХГС. Прижизненные биоптаты печени получали путем слепой аспирационной биопсии иглой Менгинни. Ткань биоптата сначала фиксировали по усовершенствованной методике Sato Taizan, а затем 1% четырехокисью осмия на фосфатном буфере Зёренсена pH 7,4. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца.

**Результаты и обсуждение.** При электронно-микроскопическом изучении гепатоцитов печени пациентов с ХГС первые морфологические признаки вирусной HCV-интервенции визуально выявлялись в виде кластеров (групп) многочисленных мелких цитоплазматических везикул. Как известно, образованию этих везикул способствует белок вириона NS4b, который внедряется в мембрану эндоплазматической сети гепатоцита [5]. Экспансия данного белка вызывает изгиб мембраны и способствует почкованию везикул. В формирующийся мембранный комплекс втягивается (инвагинирует) другой участок мембраны и формируется двойная, нередко, и мультивезикулярная мембранная структура. Следует заметить, что верифицированные нами везикулы находились вблизи ядра, при этом межмембранное пространство ядерной оболочки было значительно увеличенным на большом протяжении, а само ядро из центральной

области гепатоцита перемещалось в базальную область клетки – к перисинусоидальному пространству. В некоторых гепатоцитах мембранная ткань, состоящая из мелких, средних и крупных микровезикул, заполняла значительную часть цитоплазмы. В таких гепатоцитах нередко наблюдалось разрушение базального участка клеточной мембраны (цитолеммы) с выходом содержимого цитоплазмы (вместе с везикулами) в перисинусоидальное пространство. Значительно реже в перинуклеарной (околоядерной) зоне встречались крупные двойные вакуоли с вирусоподобными частицами, количество которых можно было посчитать.

Следует отметить, что по мере увеличения объема мембранной ткани в цитоплазме гепатоцитов количество двойных мембранных везикул уменьшалось, что указывало на снижение (замедление) темпов (процессов) репликации РНК ВГС. В таких гепатоцитах можно было наблюдать крупные двойные везикулы, в которых толщина внутренней мембраны была значительно увеличена, возможно, за счет репликативных белковых комплексов, встроенных в мембрану и участвующих в синтезе цепей РНК. В рядом с подобными ДМВ наблюдались кластеры микровезикул с многочисленными вирусоподобными частицами, ультраструктура которых свидетельствовала о том, что они находятся на различных стадиях формирования капсида.

**Выводы.** Усовершенствованный метод фиксации ткани печени позволяет провести количественную электронно-микроскопическую визуализацию ДМВ и вирусоподобных частиц на мембранах эндоплазматической сети гепатоцитов на различных стадиях их формирования при ХГС и, тем самым, оценить активность репликативного (инфекционного) процесса внутри клеток. Применение представленной методики внутripеченочной вирусологической оценки стадии HCV-инфекции позволит повысить качество вирусологического контроля в процессе терапии для доказательства полной санации печени от ВГС после завершения противовирусной терапии.

### Литература

1. Цыркунов, В.М. HCV-инфекция: монография / В.М. Цыркунов, Н.В. Матиевская, С.П. Лукашик; под ред. В.М. Цыркунова. – Минск: Асар, 2012. – 480 с.
2. Еремин, В.Ф. Структура генома вируса гепатита С / В.Ф. Еремин // *Здравоохранение*, 2015. – 2015. – №10. – С. 58-68.
3. Rodney, K. L. Stearoyl-CoA desaturase inhibition blocks formation of hepatitis C virus-induced specialized membranes / K. L. Rodney, R. Singaravelu, S. Kargman et al. // *Scientific Reports* 4, 2014. – Article number: 4549.
4. Chevaliez, S. Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology. Chapter 1 HCV Genome and Life Cycle / S. Chevaliez, J.-M. Pawlotsky // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1630>. – Дата доступа: 09.11.2015.
5. Вирус гепатита С, особенности ультраструктуры, размножения. Эпидемиология, иммунитет и устойчивость/ [lib.rosdiplom.ru/library](http://lib.rosdiplom.ru/library). – Дата доступа: 10.11.2015.