

УДК 616.36-002.2:616-091.8

© Овчаренко М.О., Сосін І.К., Пінський Л.Л., Решетнікова О.С., Зінченко О.В., Овчаренко Т.М., 2009

## ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНІ ОЗНАКИ ЗМІН В ТКАНИНІ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ОПІОЇДНУ ЗАЛЕЖНІСТЬ, СПОЛУЧНУ ІЗ ХРОНІЧНИМ ГЕПАТИТОМ С

Овчаренко М.О., Сосін І.К., Пінський Л.Л., Решетнікова О.С., Зінченко О.В., Овчаренко Т.М.

*Луганський державний медичний університет; Луганський обласний наркологічний диспансер*

**Овчаренко М.О., Сосін І.К., Пінський Л.Л., Решетнікова О.С., Зінченко О.В., Овчаренко Т.М.** Електронно-мікроскопічні ознаки змін в тканині печінки у хворих на опіоїдну залежність, яка поєднана із хронічним гепатитом С // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, № 4. – С. 87-92.

У роботі проаналізовані результати електронно-мікроскопічного дослідження біопатів печінки у хворих на опіоїдну залежність, яка сполучна із хронічним гепатитом С. Встановлені особливості впливу активності гепатиту і вираженості стеатозу на прогресування фіброзу печінки.

**Ключові слова:** опіоїдна залежність, патологія печінки, хронічний гепатит С, електронна мікроскопія.

**Овчаренко Н.А., Сосин И.К., Пинский Л.Л., Решетникова О.С., Зинченко О.В., Овчаренко Т.М.** Электронно-микроскопические признаки изменений в ткани печени у больных с опиоидной зависимостью, сочетанной с хроническим гепатитом С // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, № 4. – С. 87-92.

В работе проанализированы результаты электронномикроскопического исследования биоптатов печени у больных с опиоидной зависимостью, сочетанной с хроническим гепатитом С. Установлены особенности влияния активности гепатита и выраженности стеатоза на прогрессирование фиброза печени.

**Ключевые слова:** опиоидная зависимость, патология печени, хронический гепатит С, электронная микроскопия.

**Ovcharenko M.O., Sosin I.K., Pinsky, L.L. Reshetnikova O.S., Zinchenko O.V., Ovcharenko T.M.** Electronic-microscopic signs of changes in liver tissue at patients with opioid dependence, complicated by chronic hepatitis C // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, № 4. – С. 87-92.

Results of electronic-microscopic research of liver tissue sampling of patients with opioid dependence, complicated by hepatitis C are analyzed in the work, features of influence of hepatitis activity and presence of steatosis on progressing of liver fibroses are stated.

**Key words:** opioid dependence, a liver pathology, a chronic hepatitis C, electronic microscopy.

**Вступ.** Значна розповсюдженість опіоїдної залежності (ОЗ) серед населення України, в тому числі серед осіб молодого, найбільш працездатного віку, є серйозною медичною та соціальною проблемою [1, 2, 3, 4]. У значній кількості хворих на опіоїдну залежність, має місце коморбідна патологія, яка є обтяжливим фактором щодо прогнозу перебігу хвороби [7, 12]. Значущими в патогенезі прогресування ОЗ є патологія печінки, зокрема хронічні вірусні гепатити [6, 8]. Частота зустрічальності ХГС у опіоїдних наркозалежних складає від 73% до 92% спостережень в різних вікових групах [9, 10]. Зростаючі морфологічні зміни внаслідок тривалої опійної інтоксикації та реактивації ХГС обумовлюють прогресування фібротичних змін в печінці, утруднюють призначення адекватної терапії [11].

Для оцінки значущих факторів в патогенезі ураження печінки при коморбідній патології – опійній залежності і ХГС доцільним є визначення ультраструктурних змін в тканині печінки за допомогою електронної мікроскопії.

**Метою** нашої роботи є визначення змін у тканині печінки за даними електронної мікроскопії (ЕМ) у хворих на опіоїдну залежність (ОЗ) із наявністю хронічного гепатиту С (ХГС).

**Досягнення мети вимагає розв'язання таких завдань:**

1. Визначити особливості морфологічних змін у структурі печінки хворих на ОЗ, коморбідну з ХГС із низькою активністю гепатиту.

2. Оцінити морфологічні зміни в тканині печінки у опіоїдних наркозалежних із супутнім ХГС із помірною активністю гепатиту.

3. Оцінити вплив профіброгенних факторів на прогресування фіброзу у хворих на ОЗ, коморбідну із ХГС.

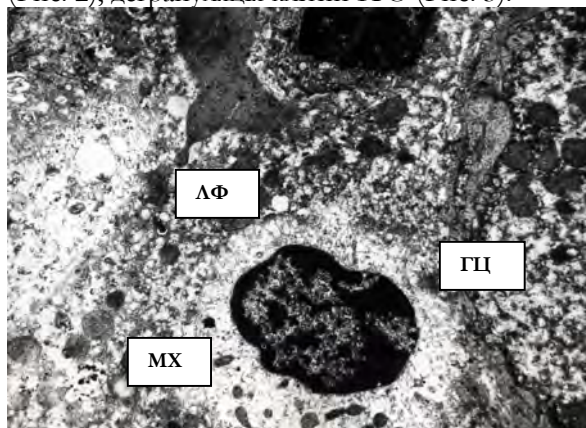
**Зв'язок роботи із науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана у відповідності до основного плану НДР Луганського державного медичного університету і є фрагментом тем НДР «Опіоїдна залежність: клініко-патогенетичні, епідеміологічні, патофізіологічні аспекти, методи лікування і профілактики» (номер держреєстрації 0109U002768), «Клініко-патогенетичні методи діагностики, лікування, профілактики та реабілітації наркотичної залежності та супутньої патології внутрішніх органів» (номер держреєстрації 0109U002769) та кафедри наркології Харківської медичної академії післядипломної освіти «Об'єктивізація діагностики і нові підходи до лікування і реабілітації патологічної залежності та коморбідних станів в наркології» (номер держреєстрації 0108U002113 до 2012 року).

**Матеріали і методи.** Матеріалами дослі-

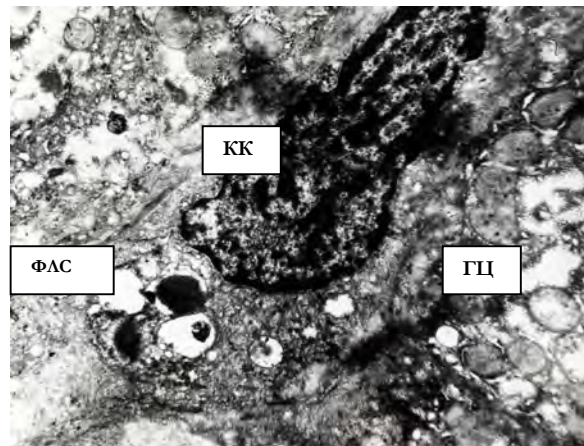
дження стали гістологічні препарати тканини печінки 27 хворих на ОЗ у віці від 22 до 38 років (24 особи чоловічої статі і 3 – жіночої), які спостерігались у Луганському обласному наркологічному диспансері та Луганському центрі з надання гепатологічної допомоги хворим із опіоїдною залежністю. Критеріями включення до дослідження було встановлення у хворого діагнозу – опіоїдна залежність за критеріями МКБ.10 (F 11.30) та ХГС на підставі комплексу клініко-біохімічних показників, визначення антитіл–анти–HCV і полімеразної ланцюгової реакції – HCV–RNA. Біопсія печінки проводилась під контролем ультразвукового дослідження під місцевою анестезією, величина фрагменту печінкової тканини, яка була отримана при біопсії, була діаметром 0,8 мм та довжиною більш 10 мм. У кожному препараті визначався – індекс гістологічної активності (ІГА) за Knodell R.G. (1981), вираженість фіброзу за класифікацією METAVIR (1994) [5].

Для проведення ультрамікроскопічного дослідження тканини печінки використовували стандартні методи ЕМ. Після отримання біоптату печінки відокремлювали 1 мм<sup>3</sup> тканини та вносили до 2,5% розчину глютаральдегіду за Карновським), потім фіксували у чотирьохокисі осмію за Паладе. Після зневоднювання у розчинах етилового спирту та абсолютному ацетоні пробі заливали у суміш епоксидних смол (епон-аралдит) та полімеризували при 60° С протягом 36 годин. Ультратонкі зрізи готувалися на ультрамікромтомі УМПТ– 4 Сумського ВОЛ «Електрон», потім їх контрастували у сполуках урану і свинцю та вивчали в електронному мікроскопі ЕМ– 100 АМ при прискорювальній напрузі 75 Кв при збільшенні від 12000 до 22000.

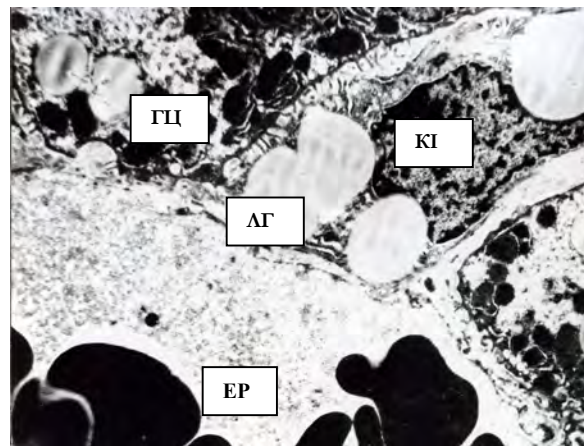
**Результати власних досліджень.** В групі хворих із тривалістю ОЗ до 72 місяців та низькою гістологічною активністю хронічного гепатиту С (ХГС) мали місце такі морфологічні зміни в портальній зоні печінкових часточок: помірна лімфоцитарна інфільтрація портальних трактів (Рис. 1), збільшення активності КК (Рис. 2), дегрануляція клітин ІГО (Рис. 3).



**Рис. 1.** Активний лімфоцит (ЛФ) з множинними мітохондріями (МХ) в цитоплазмі, який має контакт з мембраною гепатоциту (ГЦ) (Електронограма тканини печінки хворого Н., x12000).



**Рис. 2.** Висока активність клітин Купфера (КК), накопичення множинних фаголізосом (ФЛС) в їх цитоплазмі при збільшенні дистрофічних змін в гепатоцитах (Електронограма тканини печінки хворого Н., КК – клітина Купфера, ГЦ – гепатоцит, x12000).

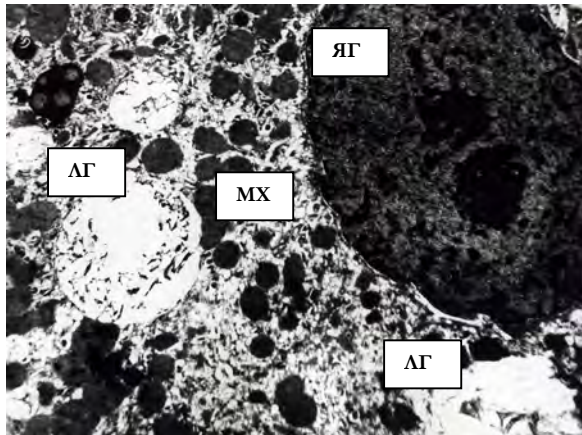


**Рис. 3.** Зростання активності клітин Іто (КІ) при зменшенні насиченості їх цитоплазми ліпідними відкладами (ЛГ) (Електронограма тканини печінки хворої Г., ГЦ – гепатоцит, ЕР – еритроцит, x12000).

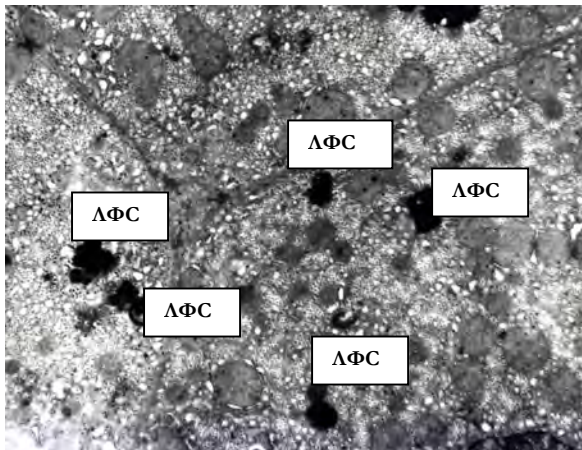
В гепатоцитах ЦЛЗ спостерігаються виражені відкладення ЛГ, переважно значної щільності із зміщенням органел в ЦТ, зниження площі ГрЕС, поява вільних рибосом в ЦТ, розширення ГлЕС, збіднення вмісту глікогену в ЦТ. В цій групі в перипортальній зоні поряд з активністю створення ЛГ має місце висока активність механізмів деградації ЛГ, що зумовлює значне переважання відкладення ЛГ в центролобулярній зоні у співставленні з перипортальною зоною (Рис. 4). В ГЦ перипортальної зони суттєво зростає кількість МХ, які мають безпосередній контакт с ЛГ, що свідчить про активну участь МХ в деградації ЛГ, посилена секреція ЛГ в біліарні капіляри, збільшена кількість ліпофагосом в цитоплазмі (Рис. 5) та ЛГ з ознаками деградації поверхневого шару (Рис. 6).

В ГЦ ЦЛЗ має місце виражена жирова дистрофія з відкладенням гігантських ЛГ із заміщенням ними більшої частини ЦТ. В ППЗ у гепатоцитах без ознак некрозу має місце суттєве збільшення кількості та щільності ЛГ (Рис. 7), зниження активності механізмів деградації ліпідів.

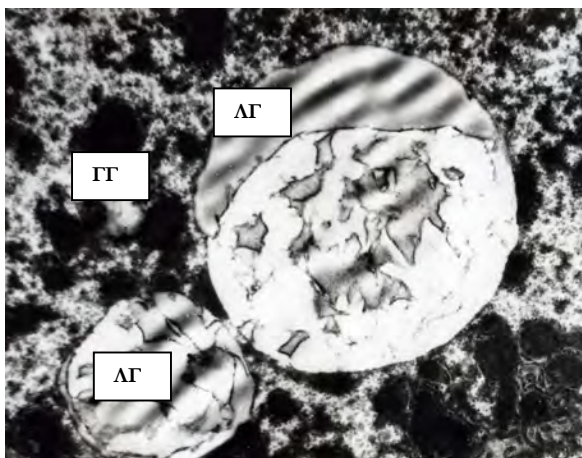
дів (зменшення кількості МХ, ліпофagosом), зростання площі ГЛЕС, руйнування ГрЕС, збільшення ЦТ глікогеном.



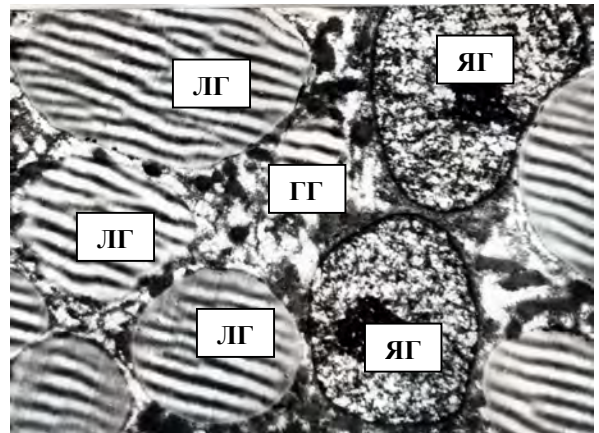
**Рис. 4.** Значне зменшення кількості ліпідних гранул (ЛГ) в цитоплазмі гепатоциту при зростанні кількості мітохондрій (МХ), які мають безпосередній контакт з ЛГ (Електронограма тканини печінки хворої Г., ЯГ – ядро гепатоциту, x12000).



**Рис. 5.** Суттєве зменшення відкладень ліпідних гранул в зонах розповсюдження ліпофagosом (ЛФС) в цитоплазмі гепатоцитів перипортальної зони (Електронограма тканини печінки хворого Т., x12000).



**Рис. 6.** Деградація ліпідних гранул (ЛГ) із руйнуванням їх поверхневого шару та відновлення гранул глікогену (ГГ) в цитоплазмі гепатоциту перипортальної зони (Електронограма тканини печінки хворого Т., x12000).

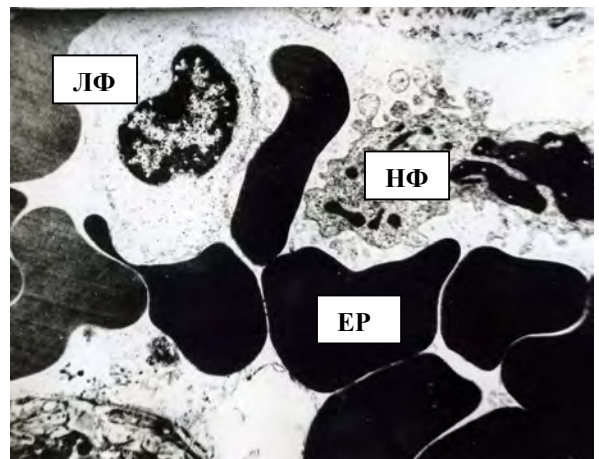


**Рис. 7.** Заміщення цитоплазми гепатоциту ліпідними гранулами (ЛГ) на фоні зниження вмісту зернин глікогену (ГГ) (Електронограма тканини печінки хворої Г., ЯГ – ядро гепатоциту, x12000).

Характерним також було збільшення у частині пацієнтів кількості нейтрофілоцитів в просторі Дісе (Рис. 8, 9).



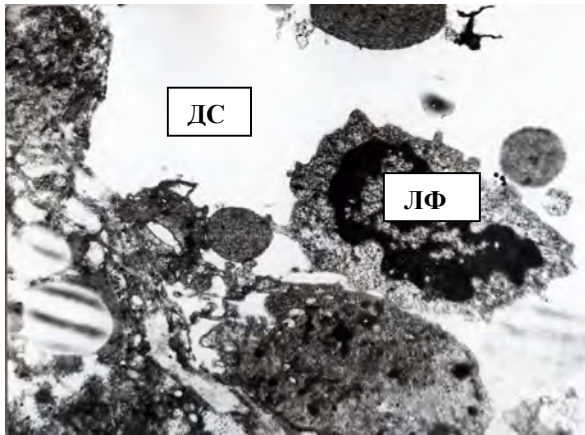
**Рис. 8.** Нейтрофіл (НФ) в просторі Дісе (ДС), контакт нейтрофілу з еритроцитами (ЕР) (Електронограма тканини печінки хворої Г., x12000).



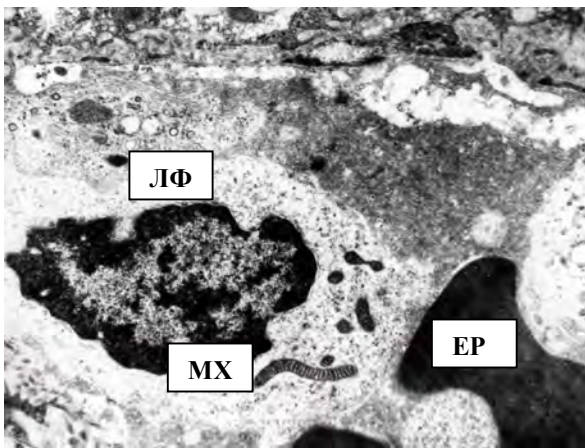
**Рис. 9.** Зростання кількості нейтрофілоцитів (НФ), лімфоцитів (ЛФ) в просторі Дісе, уповільнення кровоплину, сладж-феномен (Електронограма тканини печінки хворої Г., ЕР – еритроцит, x12000).

Помірна гістологічна активність ХГС супроводжувалась значним збільшенням кількості лі-

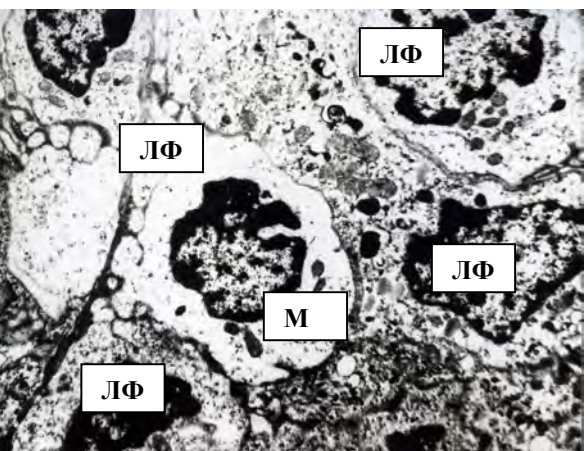
мфоцитів в просторі Дісе (Рис. 10), зростанням активності лімфоцитів в порталній та перипортальній зонах (Рис. 11). В зоні контакту лімфоцитів з ГЦ перипортальної зони мають місце дистрофічні та некротичні зміни ГЦ (Рис. 12).



**Рис. 10.** Збільшення кількості лімфоцитів (ЛФ) в просторі в Дісе (ДС) при помірній активності ХГС на фоні тривалого вживання опіатів (Електронограма тканини печінки хворого Д., x12000).

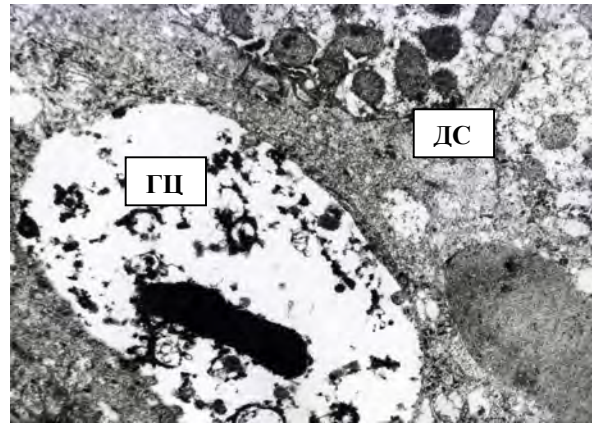


**Рис. 11.** Активований лімфоцит (ЛФ) із збільшеними веретеноподібними мітохондріями (МХ) в цитоплазмі при помірній активності ХГС на фоні тривалого вживання опіатів (Електронограма тканини печінки хворого Д., ЕР – еритроцит, x12000).



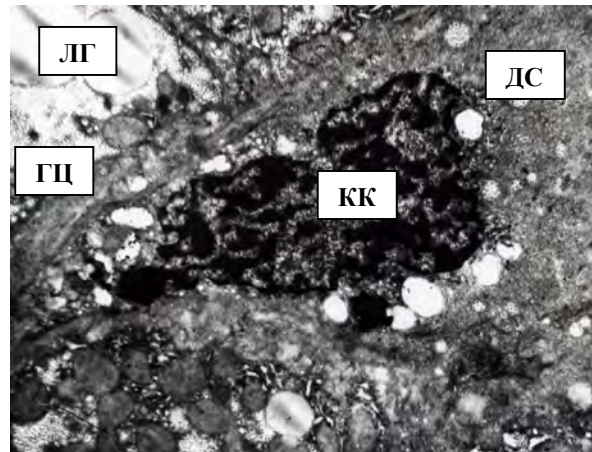
**Рис. 12.** Лімфоцитарна інфільтрація в перипортальній зоні печінкової часточки, множинні мітохондрії (МХ) в цитоплазмі лімфоцитів (ЛФ) (Електронограма тканини печінки хворого Р., x12000).

При тривалій ОЗ та помірній гістологічній активності ХГС має місце значне зростання некробіотичних змін в ГЦ порталній та перипортальній зон особливо в місці контакту ГЦ перипортальної зони, які містять значні відкладення ліпідів, та активних лімфоцитів лімфомоноцитарного інфільтрату порталльної зони, що супроводжується руйнуванням органел ГЦ, вивільненням вмісту фаголізосом ГЦ в цитоплазму клітин (Рис. 13).



**Рис. 13.** Некротизований гепатоцит (ГЦ) в простві Дісе (ДС) (Електронограма тканини печінки хворого Г., x12000).

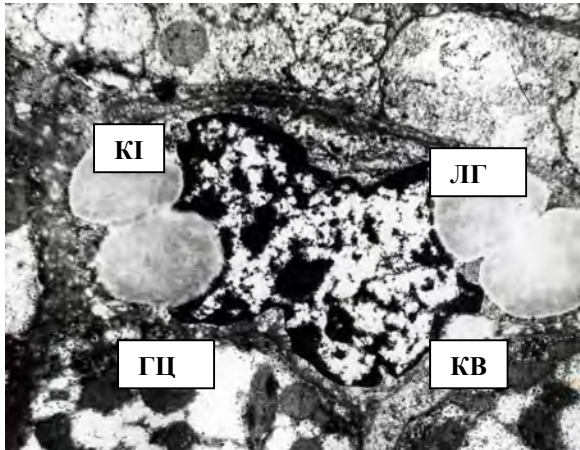
В перипортальній зоні спостерігається значне збільшення високоактивних КК, в яких відбувається збільшення ядер, відділення КК від стінки синусоїда, накопичення фагосом в цитоплазмі КК (Рис. 14).



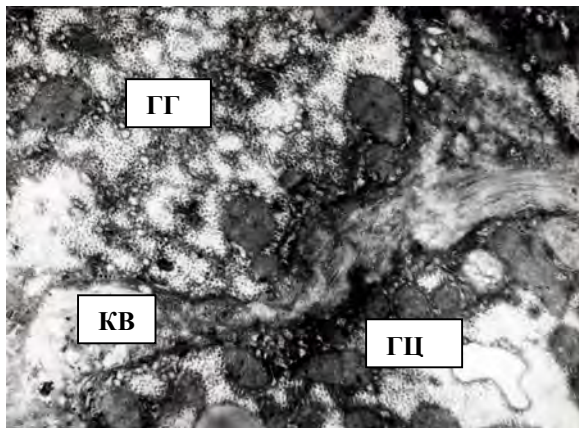
**Рис. 14.** Зростання фагоцитарної активності клітин Купфера (КК), збільшення кількості ліпідних гранул (ЛГ), які виділяються гепатоцитами в простір Дісе (ДС) (Електронограма тканини печінки хворого К., ГЦ – гепатоцит, x12000).

В більшості клітин ІГО спостерігається зменшення кількості ліпідних гранул та трансформація цих клітин до фіброblastів (Рис. 15).

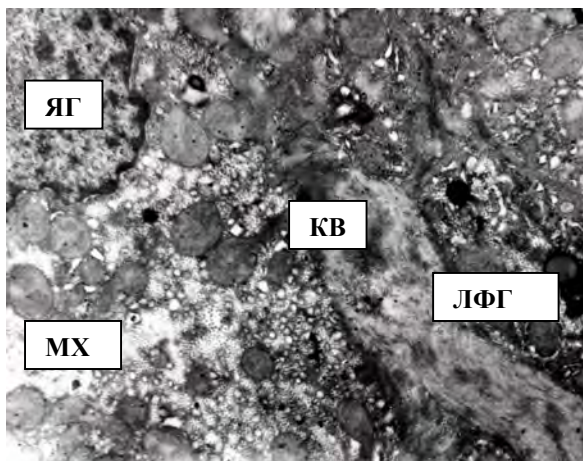
Прогресування гістологічної активності ХГС та стеатозу ГЦ супроводжуються значним відкладенням колагенових волокон в перипортальному та перисинусоїдальному просторах переважно в перипортальній та центролобулярній зонах часточок з розвитком вираженого фіброзу печінки (Рис. 16, 17, 18, 19).



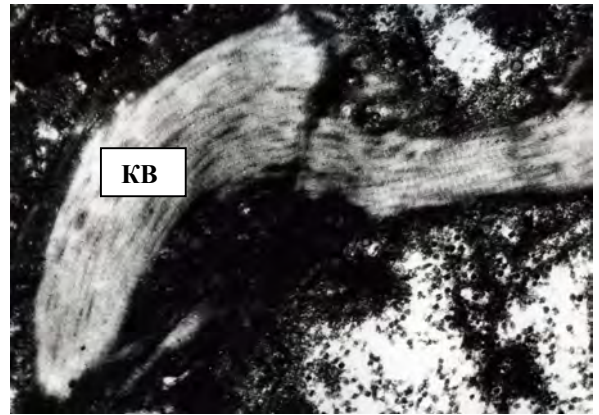
**Рис. 15.** Зменшення кількості ліпідних гранул (ЛГ) в клітині Іто (КІ), яке супроводжується початком відкладень колагенових волокон (КВ) в перипортальному просторі (Електронограма тканини печінки хворої Г., ГЦ – гепатоцит, x12000).



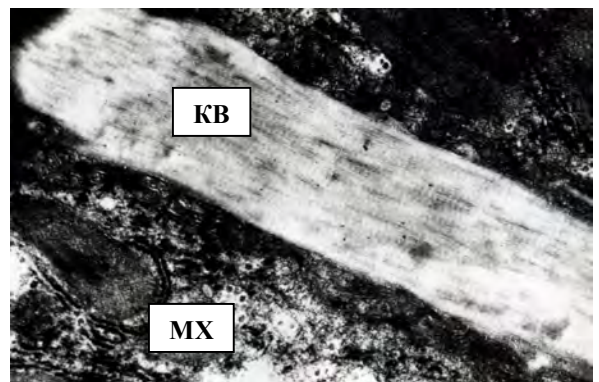
**Рис. 16.** Розповсюджене відкладення колагену (КВ) в перипортальній зоні печінкових часточок при тривалому вживанні опіоїдів та помірній активності ХГС (Електронограма тканини печінки хворої Г., ГЦ – гепатоцит, ГГ – відкладення глікогену, x12000).



**Рис. 17.** Виражена стаія фіброзу (F3 за METAVIR) з поширеними відкладеннями колагенових волокон (КВ) в перипортальній зоні (Електронограма тканини печінки хворого К., ЯГ – ядро гепатоциту, ЛФГ – ліпофагосома, МХ – мітохондрії, x12000).



**Рис. 18.** Значна деформація структури печінкових часточок з відкладенням колагену в перипортальних і центролобулярних зонах (Електронограма тканини печінки хворого Т., КВ – колагенові волокна, x12000).



**Рис. 19.** Фібрилярна структура колагенових волокон при вираженому фіброзі (F4 за METAVIR) з тривалим анамнезом вживання опіоїдів та помірною активністю ХГС (Електронограма тканини печінки хворого С., КВ – колагенові волокна, МХ – мітохондрії, x12000).

При цьому синусоїди печінкових часточок здавлені товстими прошарками колагену так, що зникає їх просвіт, та кровоплин в них стає блокованим (Рис. 20).



**Рис. 20.** Множинний слядж-феномен у хворих на ОЗ, сполучну з ХГС (Електронограма тканини печінки хворого С., ЕР – еритроцит, ЯГ – ядро гепатоциту, ЛГ – ліпідні гранули, x12000).

#### Висновки:

1. В групі хворих із тривалістю ОЗ до 72 місяців та низькою гістологічною активністю ХГС

мають місце такі морфологічні зміни: в порталній зоні печінкових часточок помірна лімфоцитарна інфільтрація порталних трактів, збільшення кількості та активності КК, дегрануація клітин ПГО. В гепатоцитах централобулярної зони спостерігаються виражені відкладення ЛГ, переважно значної щільності із зміщенням органел, зниження площі гранулярної ендоплазматичної сітки, поява вільних рибосом в цитоплазмі, розширення гладкої ендоплазматичної сітки, збіднення вмісту глікогену. В цій групі в перипортальній зоні має місце висока активність механізмів деградації ЛГ, що обумовлює значне переважання відкладення ЛГ в централобулярній зоні у співставленні з перипортальною.

2. При тривалому перебігу ОЗ та помірній гістологічній активності ХГС має місце значне зростання некробіотичних змін у гепатоцитах порталльної та перипортальної зон особливо в місці контакту гепатоцитів перипортальної зони, які містять значні відкладення ліпідів, та активних лімфоцитів лімфоцитарного інфільтрату порталльної зони, що супроводжується деструкцією органел ГЦ. В гепатоцитах централобулярної зони має місце виражена жирова дистрофія з відкладенням гігантських ЛГ із заміщенням ними більшої частини органел. В перипортальній зоні в гепатоцитах без ознак некрозу спостерігається суттєве збільшення кількості та щільності ЛГ, зниження активності механізмів деградації ліпідів (зменшення кількості МХ, ліпофагосом), зростання площі ГЛЕС, руйнування ГрЕС, спалахова відсутність глікогену в ЦТ. Характерним також було збільшення у частини пацієнтів кількості нейтрофілоцитів в просвіті Дісе. Прогресування гістологічної активності ХГС та стеатозу ГЦ супроводжуються значним відкладенням колагенових волокон в перипортальному та перисинусоїдальному просторах переважно в перипортальній та централобулярній зонах часточок з розвитком вираженого фіброзу печінки, що суттєво уповільнює кровоплин в синусоїдах.

3. У хворих на ОЗ сполучну із ХГС значущими факторами в прогресуванні фіброзу в порталній та перипортальній зонах печінкових часточок є зростання кількості та активності лімфоцитів лімфоцитарного інфільтрату в цих зонах та вираженість стеатозу гепатоцитів перипортальної зони. Вираженість фіброзу в централобулярній зоні залежить від інтенсивності відкладень жирових гранул в цій зоні та зростає при збільшенні толерантності та терміну вживання наркотиків. Біполярність прогресування фіброзу в централобулярній, з одного боку, та в порталній і перипортальній зонах, з другого, є характерною ознакою прогресування ураження печінки при сполучному перебігу ОЗ та ХГС.

4. Електронно-мікроскопічні дослідження печінки у хворих на опіоїдну залежність сполучну із ХГС дозволяють об'єктивно оцінити важкість ушкодження гепатоцитів, переважання токсичного або вірусного компонента в патогенезі ураження печінки у кожного з обстежених пацієнтів, вира-

женість профіброгенних факторів, ступінь фібротичних змін в тканині печінки, що є важливим у визначенні прогнозу перебігу хвороби.

5. Перспективним є визначення метаболічних, імунологічних особливостей перебігу хронічного гепатиту С у хворих на опіоїдну залежність.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Битенский В.С. Современные аспекты патогенеза психических и наркологических заболеваний / Битенский В.С., Мельник Э.В. // Вісник психічного здоров'я. – 2001. - № 3. – С. 20 – 23.
2. Линский И.В. Длительность и результаты стационарного лечения больных опиоманией с различной прогрессивностью лечения // Архив патологии. – 2001. - №1-2(24-25).- С. 62-66.
3. Минко А.И. Наркология. / Минко А.И., Линский И.В. - М.:Эксмо, 2004.- 2 изд., испр. и доп.— 736 с.
4. Мишиев В.Д. Современные подходы к лечению разных форм зависимости от психоактивных веществ / Мишиев В.Д. // Архив психиатрии. – 2002.-№4(31).-С. 61-66.
5. Серов В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / Серов В.В., Лапиш К. / М.: Медицина, 1989.- 336 с.
6. Сосин И.К. Диагностическая значимость функциональных проб печени при наркозависимых токсических гепатитах / Сосин И.К., Чуев Ю.Ф., Задорожная Т.К. // Современные проблемы диагностики и терапии гепатитов. Приложение к журналу «School of Fundamental Medicine Journal» December, 1999. – Vol.5 №2. – Харьков, 2000. – С. 128 – 132.
7. Сосин И.К. Наркология (монография) / Сосин И.К., Чуев Ю.Ф. - Харьков: Коллегиум, 2005. – 800 с.
8. Сосин И.К. Реографический мониторинг функционального состояния печени при хронической интоксикации психоактивными веществами / Сосин И.К., Сема В.И. // Проблемы клиники, диагностики та терапії гепатитів. Збірник праць науково-практичної конференції. – Харків, 2005. – С. 206-208
9. Hallinan R. Hepatitis C virus prevalence and outcomes among injecting drug users on opioid replacement therapy / Hallinan R., Byrne A., Amin J., Dore G.J. // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2005.- Jul;20(7). – P.1082 - 1086.
10. McCarthy J.J., Flynn N. Hepatitis C in methadone maintenance patients: prevalence and public policy implications / McCarthy J.J., Flynn N. // J. Addict Dis. – 2001. - 20(1). – P.19-31.
11. Verrando R. Methadone and buprenorphine maintenance therapies for patients with hepatitis C virus infected after intravenous drug use / Verrando R., Robaeys G., Matheï C., Buntinx F. // Acta Gastroenterol Belg. – 2005.- Jan-Mar;68(1). – P.81-85.
12. Zhang T. Drug abuse, innate immunity and hepatitis C virus / Zhang T., Li Y., Ho W.Z. // Rev. Med. Virol. – 2006. - Sep-Oct;16(5). – P.311-327.

Надійшла 21.10.2009 р.

Рецензент: проф. В.І.Лузін