

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

ГАВРИЛЮК ОЛЕНА МИХАЙЛІВНА

УДК: 611-018.2:(616.36-003.826-036.12+616.36-002.17)-004-003.9

**МОРФОГЕНЕЗ ФІБРОЗУ ТА РЕПАРАЦІЇ ПРИ ХРОНІЧНОМУ
СТЕАТОГЕПАТИТІ І ВІРУСНОМУ ГЕПАТИТІ С**

14.03.02 – патологічна анатомія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Львів – 2020

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор
Поспішіль Юрій Олексійович,
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри патологічної анатомії та судової медицини

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Дядик Олена Олександрівна,
Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України,
завідувач кафедри патологічної та топографічної анатомії

доктор медичних наук, професор
Гаврилюк Алла Олександрівна,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України,
завідувач кафедри патологічної анатомії, судової медицини та права

доктор медичних наук, професор
Гнатюк Михайло Степанович,
Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,
завідувач кафедри оперативної хірургії з топографічною анатомією.

Захист відбудеться « 12 » березня 2020 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.03 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України (79010, м.Львів, вул.Пекарська, 69).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України за адресою: 79000, м.Львів, вул. Січових Стрільців, 6.

Автореферат розісланий « 10 » лютого 2020 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

С.А.Томашова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Хронічний перебіг таких поширених на сьогодні захворювань печінки, як алкогольний стеатогепатит (АСГ), неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) та вірусний гепатит С (ВГС) у значній мірі залежить від процесів фіброзу та репарації. Наслідком цих процесів в більшості випадків є тканинна реорганізація органу, що зумовлює розвиток ускладнень, лікування яких потребує вирішення серйозних медичних та соціальних проблем (Pimpin L., 2018, Desai A. P., 2018). Епідеміологічні показники АСГ, НАСГ та ВГС є достатньо вивченими у розвинених країнах Європи, Азії та Америки (Andronescu C. I., 2018, Popping S., 2018, Tomedi L. E., 2018). Водночас дані статистики щодо епідеміології захворювань, які призводять до розвитку цирозу печінки (ЦП), по Україні є неповними (Зайцев И. А., 2017, Фадєєнко Г. Д., 2017).

Попри велику кількість наукових публікацій, як вітчизняних (Туманський В.О., 2002-2019; Задорожна Т.Д., 2000-2018;), так і закордонних (Bataller R., 1995-2017, Fausto N., 1964-2017, Friedman S.L., 1985-2017, Roskams T., 1990-2017), в яких висвітлені досягнення у вивченні фундаментальних засад процесів репарації, ангіогенезу та фіброгенезу у печінці, до тепер відсутні системні дослідження, присвячені комплексному аналізу процесів репарації та фіброзу при АСГ, НАСГ та ВГС. Використання сучасних методів дозволяє оцінити участь окремих клітинних популяцій, роль клітинно-матриксних взаємодій (Lanzoni G., 2016, Poisson J., 2017, Novo E., 2015, Poole L.G., 2016), механізмів автофагії (Hung T.M., 2015), клітинного імунітету (Tosello-Tramont A., 2017, Abdullah Z., 2017), індукції інфламасом (Szabo G., 2015) у процесах репарації та фіброзу. Описані варіанти фіброзу печінки та їх асоціації з проявами апоптозу, клітинної інфільтрації, зокрема при вірусних гепатитах (Шебеко Ю.О., 2011, Туманський В.О., 2012, Гаврилюк А.О., 2013), НАСГ (Skoien R., 2013, Johnson A., 2013, Туманський В.О., 2017, Дядик О.О., 2017). Спостерігаються значні зрушення у розумінні механізмів регенерації і ролі епітеліально-мезенхімальних трансформацій у печінці (Alison M.R., 2016, Chen J., 2017, Fabris L., 2016, Туманський В.О., 2018). Разом з тим, відкритими залишаються питання інтеграції проявів репаративної регенерації, ангіогенезу та фіброгенезу з виявленням основних напрямків морфогенезу, особливостей процесів фіброзу та репарації при різних нозологічних формах.

Відмічається дисбаланс між переважаючими дослідженнями, присвяченими раннім стадіям АСГ, ВГС та НАСГ, та роботами, пов'язаними з аналізом змін на етапі реорганізації тканини печінки, зумовленої цими захворюваннями. Діагностичні складності на пізній стадії пояснюються як недоліками існуючих морфологічних напівкількісних шкал, так і більш глибокими причинами, серед яких провідною є концептуальне переосмислення спільнотою гепатологів терміну «цироз» (Hytiroglou P., 2012, Pinzani M., 2012). В останні роки клініцисти зустрілись з наростаючими труднощами у категоризації пізніх стадій хронічних захворювань печінки (ХЗП). Це пов'язано з усвідомленням того, що фіброз у циротичній печінці (і навіть ранні стадії самого цирозу) може підлягати регресії після відповідного лікування (Saffioti F., 2016). Нагромадження даних про оборотність фіброзу та проявів тканинної реорганізації (Quaglia A., 2016, Jung Y.K., 2017) зумовило

активний пошук потенційних мішеней фармакокорекції на пізній стадії ХЗП та підтвердило важливість морфологічної діагностики на цьому етапі захворювання. Тому дуже актуальним є розробка критеріїв для інтегрованої клініко-морфологічної діагностики з визначенням різних етапів розвитку пізніх стадій хронічних фіброгенних захворювань печінки. Основні складності патогістологічного аналізу зумовлені недостатнім урахуванням в існуючих діагностичних схемах особливостей фіброзу та репарації при різних нозологічних формах, прояви яких домінують на пізніх стадіях розвитку захворювань (Theise N.D., 2007, Shiga G., 2009, Germani G., 2010).

На сьогодні значні зусилля спрямовуються на пошук сполук, здатних запобігати несприятливим наслідкам активації механізмів фіброзу та репарації (Zhang F., 2012, Tailleux A., 2012, Гнатюк М.С., 2014). Водночас, залишаються невивченими окремі важливі питання щодо застосування та механізмів дії навіть медикаментів з підтвердженням антифібротичним або прорегенераторним ефектом (Просоленко К. А., 2015, Потяженко М. М., 2017).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних робіт кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (ЛНМУ) «Вивчення патоморфологічних та патогенетичних особливостей захворювань щитоподібної залози, печінки, серцево-судинної та репродуктивної систем та пухлин системи крові з метою вдосконалення їх морфологічної діагностики» (номер державної реєстрації 0108U001134; 2008-2012 рр.) і «Вивчення патоморфологічних, етіологічних та патогенетичних особливостей захворювань щитоподібної залози, серцево-судинної, травної, сечовидільної та репродуктивної систем і перинатального періоду з метою удосконалення їх морфологічної діагностики» (номер державної реєстрації 0113U000205; 2013-2017 рр.). Дисертантом виконано фрагмент роботи щодо вивчення патоморфологічних особливостей фіброзу та репарації при АСГ, НАСГ та ВГС. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ й НАМН України «Патологічна анатомія» (протокол №4 від 13.04.2009 р.)

Мета роботи: встановити особливості морфогенезу фіброзу та репарації при алкогольному ураженні печінки, неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С на пізній стадії розвитку захворювання для оптимізації патоморфологічної діагностики та удосконалення методів фармакокорекції.

Задачі дослідження:

1. Простежити особливості поширеності алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на архівному автопсійному матеріалі.
2. Встановити особливості репаративної регенерації та реорганізації мікроциркуляторного русла у різних тканинних компартментах на основі аналізу кількісних характеристик основних клітинних популяцій.
3. Дати характеристику морфогенетичним варіантам репарації та фіброзу печінки на основі співставлення імуноморфологічних проявів репаративної регенерації,

реорганізації мікроциркуляторного русла при різних гістотопографічних формах фіброзу.

4. З'ясувати особливості репарації фіброзу, тканинної реорганізації та їх регресії, а також типових проявів пошкодження/інфільтрації на пізній стадії алкогольного стеатогепатиту.
5. Виявити особливості репарації і фіброзу та їх типові асоціації з іншими морфологічними проявами на пізній стадії неалкогольного стеатогепатиту.
6. Встановити особливості репарації і фіброзу та асоційовані з ними морфологічні прояви інших патологічних процесів на пізній стадії вірусного гепатиту С.
7. Визначити особливості репарації і фіброзу та асоційовані з ними морфологічні прояви інших патологічних процесів при поєднанні алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С.
8. Розробити патогістологічні критерії алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії захворювання та схеми їх використання в практичній роботі патологоанатома.
9. Виявити вплив урсодезоксихолевої кислоти на розвиток процесів фіброзу та репарації в експерименті хронічного токсичного ураження печінки.
10. Визначити вплив піоглітазону на розвиток процесів фіброзу та репарації в експерименті хронічного токсичного ураження печінки.

Об'єкт дослідження: хронічний стеатогепатит та вірусний гепатит С.

Предмет дослідження: морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С.

Методи дослідження: гістологічні, гістохімічні, імуногістохімічні, електронномікроскопічні, морфометричні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше на пізній стадії алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С виявлено переважання репаративної активності (регенерації та реорганізації мікроциркуляторного русла) у перипортальному/перисептальному компартменті.

На підставі інтеграції проявів активності основних клітинних популяцій при різних гістотопографічних формах фіброзу вперше виділено три морфогенетичні варіанти/патерни репарації/фіброзу. У першому варіанті незначно виражені прояви репаративної регенерації в інтралобулярній ніші асоціюються із значним фіброзом у центролобулярних відділах. У другому варіанті помірно виражені прояви репарації визначаються в обох нішах регенерації та асоціюються з перисептальним фіброзом. У третьому варіанті виражена репарація у перипортальних відділах супроводжується значним перидуктальним фіброзом.

Об'єктивно підтверджена участь популяції інтерстиційних клітин – CD117+ телочитів у регуляції клітинно-матриксних взаємодій на пізній стадії хронічного гепатиту на основі виявлення їх кількісного переважання у першому та другому морфогенетичному варіанті репарації/фіброзу.

Вперше доведена необхідність урахування переважаючого морфогенетичного варіанту репарації та фіброзу при диференційній діагностиці алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній

стадії розвитку в комплексі з проявами реорганізації тканини, регресії фіброзу/реорганізації та пошкодження/інфільтрації.

На основі комплексного патогістологічного дослідження тканини печінки вдосконалено спектр напівкількісних показників пошкодження, клітинної інфільтрації, загоєння та тканинної реорганізації, які максимально повно описують морфологічні зміни тканини печінки при хронічному гепатиті різної етіології на пізній стадії розвитку захворювання. Вперше обґрунтована діагностична значимість дуктулярної реакції ($R=0,65$, $p<0,05$), яка перевищує роль інших ознак реорганізації тканини та, зокрема, фіброзу ($R=0,48$, $p<0,05$). Важливим висновком є також діагностична значущість проявів пошкодження/інфільтрації, яка свідчить про персистенцію типових ознак активності процесу навіть на пізніх стадіях захворювань.

Для практичного використання розроблено математичну модель диференціювання трьох досліджуваних захворювань з відповідним результуючим рівнянням та визначено показники її інформативності: для вірусного гепатиту С (чутливість 89,33%, специфічність 85,47%), для алкогольного стеатогепатиту (чутливість 65,09%, специфічність 97,04%) і для неалкогольного стеатогепатиту (чутливість 86,27%, специфічність 65,70%).

Отримало подальший розвиток дослідження фармакотерапевтичної корекції механізмів фіброзу та репарації. Вперше при хронічному профілактичному введенні щурам урсодезоксихолевої кислоти разом з тетрахлорметаном (в дозі 15 мг/кг маси тіла) та піоглітазону (в дозі 500 мкг/кг маси тіла) показано наявність їх антифібротичного ефекту та встановлено прорегенераторний вплив піоглітазону на основі виявлення гіперплазії овальних клітин.

Практичне значення одержаних результатів. В дисертаційній роботі вперше обґрунтовано положення про доцільність визначення морфогенетичного варіанту фіброзу та репарації для поліпшення діагностики АСГ, НАСГ та ВГС на пізній стадії захворювання. На основі інтеграції результатів гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних досліджень запропонований оптимальний перелік кількісних критеріїв, а також методів і методик, необхідних для визначення морфогенетичного варіанту репарації.

На підставі даних комплексного патоморфологічного дослідження хронічного стеатогепатиту та ВГС розроблено перелік патоморфологічних критеріїв для опису та оцінки змін у тканині печінки («Основні патоморфологічні критерії диференційної діагностики вірусного гепатиту С, алкогольного і неалкогольного стеатогепатитів на етапі циротичної трансформації» Свідectvo про реєстрацію авторського права на твір №73932 від 25.09.2017). Для інтерпретації порушень обміну ліпідів рекомендовано застосування схеми, представленої в інформаційному листі «Оцінка змін печінки з ознаками стеатозу» (№ 158, 2010).

Для визначення фази та стадії захворювання запропоновано використання оціночної шкали («Спосіб визначення фази хронічного алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С» (Патент на корисну модель №119816 UA, МПК G01N 1/06, G01N 33/576 Заявл. 18.04.2017. Опубл. 10.10.2017, Бюл. № 19).

Для диференційної діагностики хронічних гепатитів різної етіології на пізній стадії розвитку створено та рекомендовано для застосування схему її проведення («Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С» (Патент на корисну модель №109581 UA, МПК G01N 33/48 Заявл. 14.03.2016. Опубл. 25.08.2016, Бюл. №16). Ця схема була включена у «Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я у 2017 році» (№ 4).

Для дослідження морфологічних змін у печінці щурів при її експериментальному токсичному хронічному пошкодженні, зумовленому введенням тетрахлорметану, запропоновано інтегративні морфологічні критерії процесів пошкодження, фіброзу і репарації та схему їх використання.

Результати проведеного дослідження та розроблені на їх основі рекомендації з позитивним діагностичним ефектом впроваджені у практичну роботу Львівського, Волинського, Тернопільського та Чернівецького обласних патологоанатомічних бюро, централізованих патологоанатомічних відділень Івано-Франківської, Рівненської, Закарпатської обласних клінічних лікарень, Державного патологоанатомічного центру України у м. Хмельницький. Основні теоретичні положення дисертаційної роботи використовуються в навчальному процесі на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини ЛНМУ, кафедрі патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету, кафедрі патологічної анатомії з секційним курсом та судової медицини ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського».

Особистий внесок здобувача. Автором особисто було обґрунтовано актуальність і необхідність даного дослідження, визначено його напрям, мету і завдання. Самостійно проведено аналіз архівного матеріалу за 10 років, макро- та мікроскопічне дослідження поточних автопсійних та біопсійних випадків з використанням гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методів. Виявлені морфологічні зміни автор самостійно оцінювала за допомогою морфометричного аналізу зображень з визначенням кількісних показників. Дисертант провела систематизацію, статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих даних, обґрунтувала наукові положення, висновки та практичні рекомендації. Автор самостійно підготувала наукові дані до публікації, написала і оформила всі розділи дисертаційної роботи. Автором не використовувались ідеї або розробки співавторів публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень були представлені та обговорювались на: IX (Луганськ, 2013) та X (Івано-Франківськ-Яремче, 2018) конгресах патологів України, XIII (Львів, 2010), XIV (Донецьк, 2012), XVI (Київ, 2016) та XVII (Тернопіль, 2018) конгресах Світової федерації українських лікарських товариств, Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю і пленумі Асоціації інфекціоністів України «Труднощі діагностики і терапії інфекційних хвороб» (Суми, 2011), науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології» (Тернопіль, 2011), IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 2011), науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної патоморфології»,

присвяченої 90-річчю з дня заснування кафедри патологічної і топографічної анатомії Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика (Київ, 2012), 4th International scientific Conference «Advances in pharmacology & pathology of the digestive tract» (Kiev, 2012); науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії» (Київ, 2017).

Публікації. Основні положення дисертації викладені у 48 опублікованих роботах, серед яких: 31 стаття (29 – у фахових наукових виданнях, рекомендованих Міністерством освіти і науки України, 7 з яких включені до міжнародних наукометричних баз, 1 стаття у зарубіжному (Республіка Білорусь) науковому виданні), а також 2 статті в інших виданнях та 13 робіт у матеріалах конференцій, конгресів і з'їзду, два патенти на корисну модель, один інформаційний лист та одне авторське право на твір.

Обсяг та структура дисертації. Робота викладена на 414 сторінках друкованого тексту, з яких 310 сторінок займає основний текст. Дисертація містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, чотири розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, практичні рекомендації, додатки та перелік використаної літератури (загальна кількість джерел – 510, з них 29 – кирилицею і 481 – латиницею).

Робота ілюстрована 44 таблицями та 70 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводились на базі кафедри патологічної анатомії та судової медицини, кафедри фармакології ЛНМУ, головної лабораторії Львівського обласного патологоанатомічного бюро (ЛОПАБ), лабораторії «Біоптат» протягом 2006-2016 років згідно договорів про співпрацю.

Ретроспективне дослідження базувалось на матеріалах автопсій, виконаних у ЛОПАБ за десять років (2001-2010) і включало 1237 випадків з ознаками цирозу печінки.

У відкрите проспективне дослідження було включено 96 біопсійних та 351 автопсійне дослідження тканини печінки хворих на хронічний стеатогепатит і ВГС (табл.1). За результатами морфологічного обстеження основна група була поділена, залежно від етіології, на чотири підгрупи: 1) АСГ, 2) НАСГ, 3) ВГС та поєднання даних захворювань (ПЗ). В групі ПЗ спостерігались чотири види комбінацій: АСГ+ВГС, АСГ+НАСГ, НАСГ+ВГС та АСГ+НАСГ+ВГС.

Підтвердження діагнозу АСГ та цирозу базувалось на даних анамнезу про тривале зловживання алкоголем (більше 210 грамів на тиждень або 30 грамів на день) та морфологічних проявах алкогольної хвороби - кардіоміопатії, хронічному панкреатиті, алкогольній енцефалопатії та типових змінах в печінці. Вірусний генез вважався достовірним при наявності даних про позитивні маркери ВГС (RNA HCV) та морфологічні ознаки вірусного ураження (критерії METAVIR). Верифікація діагнозу НАСГ включала виявлення проявів метаболічного синдрому та морфологічних змін печінки (критерії Brunt, 2010). Загальноприйняті критерії метаболічного синдрому базуються на даних клінічного обстеження та спеціальних лабораторних аналізів. Оскільки в нашому дослідженні детальний аналіз клінічних

проявів не проводився, були виділені морфологічні критерії, які, разом з деякими клінічними ознаками, стали основою для включення пацієнтів в досліджувану групу. До критеріїв включення у групу НАСГ були віднесені такі морфологічні еквіваленти проявів метаболічного синдрому: гіперглікемія (>6 мм/л), або діагностований цукровий діабет, індекс маси тіла >30 , середній тип ожиріння, потовщення жирової клітковини на передній черевній стінці (>7 см) та паранефральної клітковини (>4 см), множинні фіброзно-ліпідні бляшки у 2-3 судинних басейнах, прояви ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних захворювань, артеріологіаліноз, гіпертрофія стінок лівого шлуночку, нефросклероз.

Критерії виключення з дослідження: вірусні гепатити (крім гепатиту С), гемохроматоз, хвороба Вільсона, автоімунні гепатити, первинний та вторинний біліарний цироз, холангіти, серцево-судинна недостатність важкого ступеня, хронічні захворювання легень з формуванням «легеневого серця», токсичні ураження печінки, включаючи медикаментозні (хіміотерапія при пухлинах, туберкульозі, ВІЛ-інфекції).

Вивчення особливостей морфогенезу репарації та фіброзу у 45 випадках АСГ, НАСГ та ВГС було проведено на основі комплексного патогістологічного, електронномікроскопічного та імуногістохімічного дослідження з подальшим морфометричним аналізом. Особливості репарації на тканинному рівні оцінювались за допомогою напівкількісних показників: типу дуктулярної реакції (ДР) за класифікацією Desmet V. (2011) та ознак реорганізації мікроциркуляторного русла (МЦР).

Таблиця 1 – Загальна характеристика матеріалів та методів дослідження

Матеріал				Методи	Забарвлення/ Маркери
Захво- рювання	Автопсії	Біопсії	Разом		
Ретроспективне дослідження (архівний матеріал за 2001-2010 р.р.)					
	1237	-	1237	Протоколи, мікропрепарати	
Проспективне дослідження (власний матеріал)					
АСГ	88	20	108	Гістологічний Гістохімічний Імуногістохімічний (45) Електронномікроско- пічний (10) Морфометричний (45)	Гематоксилін-еозин Трихром Масона ЕрСАН, CD117, α-SMA, CD31,CD34, Ki67, CK19, CD68
НАСГ	90	14	104		
ВГС	39	62	101		
ПЗ	104	-	104		
Разом	321	96	417		
Експериментальне дослідження					
	60	-	60	Гістологічний	Гематоксилін-еозин

Кількісні показники, які вивчались в нашій роботі, включали маркери основних клітинних популяцій: незрілих печінкових клітин попередників – ЕрСАН, епітеліальних клітин з біліарним фенотипом – CK19, активованих фіброгенних

(печінкові зірчасті клітини (ПЗК), фібробласти) – α -SMA, ендотеліальних (порто/септальні та новоутворені судини) – CD31, CD34, клітин-регуляторів (макрофаги, телицити) – CD68, CD117, маркер проліферації Ki67. Відносна площа, яку займали клітини з експресією маркерів, визначалась у трьох компартментах: загальному (G), септальному (S) та лобулярному (P). У 10 біопсійних випадках хворих, які проходили лікування у терапевтичному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні, було проведено вивчення ультраструктурних змін синусоїдних ендотеліальних клітин (СЕК) на різних стадіях розвитку алкогольного та неалкогольного стеатогепатиту. Поділ на групи (стеатогепатит та цироз) проводився після дослідження препаратів, забарвлених гематоксилін-еозином, і базувався на критеріях Brunt E.M. (2010). При описі ультраструктурних змін синусоїдних ендотеліальних клітин використовувалось поняття дисфункції та пошкодження ендотелію (Гавриш А.С., 2009, Iwakiri Y., 2007). Термін «дисфункція» вживався для опису стану ендотеліоцитів, при якому основною була зміна нормальної функції, асоційована з незначним ураженням органел клітини. Термін «пошкодження» використовувався тоді, коли відмічались значні, незворотні ураження клітин, які можуть призводити до подальшого оголення підлягаючого позаклітинного матриксу або оклюзії просвіту судини.

Аналіз особливостей процесів репарації та фіброзу при різних нозологічних формах (АСГ, НАСГ, ВГС, ПЗ) базувався на дослідженні напівкількісних показників, що відображали основні патологічні процеси на пізній стадії захворювання: типу фіброзу (перичелюлярний (ПЦФ), портосептальний (ПСФ), перидуктальний (ПДФ), дуктулярна реакція (дифузна, перисептальна), нодулярності (септальний склероз, макровузли, мікровузли), типу септ (портопортальні, портопортальні та портоцентральні, перинодулярні), реорганізації паренхіми (дискомплексація балок, потовщення балок та поліморфізм гепатоцитів, гландулярні структури), реорганізації МЦР (збережені співвідношення між центральними венами та портальними трактами, поодинокі інтра- та перисептальні судини; множинні інтра- та перисептальні судини), ознак регресії фіброзу (тонкі перфоровані септи, адгезії/ізолювані колагенові пучки, інтрасептальні гепатоцити, зближення портальних трактів та центральних вен), поширеності стеатозу ($<5\%$, $\leq 33\%$, $33-66\%$, $\geq 66\%$ часточки), локалізації стеатозу (в центрі вузла – перивенулярну, перисептальну/перипортальну, дифузну), балонних змін гепатоцитів (поодинокі, групи клітин, асоційовані з нейтрофільними лейкоцитами), перисептальних інфільтратів (незначні, помірні або виражені), інтралобулярних інфільтратів (поодинокі, множинні, асоційовані з апоптичними тільцями), септальних інфільтратів (незначні, помірні, виражені).

Пункційні біопсії проводились під контролем ультразвукового дослідження лікарями Львівської обласної клінічної лікарні та Львівської комунальної інфекційної лікарні. При пункції отримували 2-4 стовпчики тканини печінки розміром 10x0,8мм, в яких визначалось не менше, ніж 10-12 портальних трактів для повного морфологічного аналізу.

Для патогістологічного дослідження тканину печінки фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, зневоджували у спиртах зростаючої концентрації і

заливали в парафін. На санному мікротомі виготовляли серійні зрізи товщиною 3-5 мкм, які поміщали на предметні скельця для стандартного патогістологічного фарбування. Зрізи фарбували за допомогою оглядових гістологічних та селективних гістохімічних методик: гематоксилін-еозином, трихромом Массона, срібленням за Гоморі. Гістологічні зрізи вивчали під світлооптичним мікроскопом «БИОЛАМ И» (ЛОМО, Росія). Мікрофотографування проводили на мікроскопі Leica DM 750/4 (Німеччина) з цифровою камерою Leica DFC 420 (Німеччина) та програмним забезпеченням Leica Application Suit (Version 3.8).

Імуногістохімічне дослідження проводилось на базі лабораторії Донецького державного медичного університету, ЛОПАБ та лабораторії «CSD Health» (м. Київ). Для імуногістохімічного дослідження зрізи товщиною 4-6 мкм наносили на спеціальні адгезивні предметні скельця Super Frost Plus, потім депарафінували відповідно до прийнятих стандартів, після чого використовували первинні антитіла.

Для вивчення популяції печінкових клітин попередників застосовували моноклональні антитіла до адгезивних молекул епітеліальних клітин (EpCAM) Мо a-Hu EpCAM, Clone Ber-EP4 («DakoCytomation», Данія). Клітини з «біліарним фенотипом» маркували, застосовуючи моноклональні антитіла Мо a-Hu Cytokeratin 19, Clone RCK108 («DakoCytomation», Данія). Для визначення активованих печінкових зірчастих клітин/фібробластів застосовували моноклональні антитіла до α -ізоформи гладком'язового актину (α -SMA) Мо a-Hu Alpha Smooth Muscle Actin, Clone 1A4 («DakoCytomation», Данія). Проліферативна активність клітин визначалась за допомогою моноклональних антитіл Мо a-Hu Ki-67 Antigen, Clone MIB-1 («DakoCytomation», Данія). Імуногістохімічне дослідження ендотеліальних клітин проводилось з використанням моноклональних антитіл Мо a-Hu CD31, Endothelial cell, Clone JC70A («DakoCytomation», Данія) та Мо a-Hu CD34 Class II, Clone QVEnd 10 («DakoCytomation», Данія). Для визначення клітин Купфера та інших субпопуляцій макрофагів використовували моноклональні антитіла Мо a-Hu CD68, Clone PG-M1 («DakoCytomation», Данія), а для виявлення телоцитів застосовували моноклональні антитіла Мо a-Hu CD117 (c-Kit), Clone 104D2 («DakoCytomation», Данія). Для кожного маркера виконували контрольні дослідження з метою виключення помилково позитивних або помилково негативних результатів. Наступний етап імуногістохімічного дослідження проводили з використанням системи візуалізації останнього покоління EnVision («DakoCytomation», Данія). Ідентифікацію реакції проводили за допомогою хромогену DAB («DakoCytomation», Данія) під контролем мікроскопу з проявом у вигляді темно-коричневого забарвлення специфічних структур в залежності від маркеру (ядерна, цитоплазматична, мембранна реакції). Оцінку експресії кожного маркера проводили індивідуально відповідно до рекомендацій інших дослідників (D.J.Dabbs, 2010). Результат вважався позитивним, якщо більше 20% клітин виявляли специфічне забарвлення.

Зрізи, забарвлені гістохімічними та імуногістохімічними методами, використовувались для морфометричного (стереометричного) аналізу з обчисленням відносної площі відповідних структур (колагенових волокон, клітин). Для цього в кожному випадку було досліджено 20 фотографій тканини печінки на

малому збільшенні (х 100) та 20 фотографій на великому збільшенні (х 400). Великі судини та жовчеві протоки виключались з дослідження. Аналіз зображення проводився за допомогою програми Image-Pro Plus (Version 6.).

Електронна мікроскопія проводилась на базі Центральної науково-дослідної лабораторії ЛНМУ. Тканину, одержану при пункційній біопсії, фіксували протягом 1-4 годин в розчині, що містив 2% параформу та 2,5% глутаральдегіду на 0,1М какодилатному буфері з рН 7,4 при кімнатній температурі з подальшою дофіксацією протягом 1-2 годин у 1,5% розчині чотирьохокису осмію у згаданому буфері. Зневоджували матеріал у спиртах зростаючої концентрації (від 50% до 100%) з додаванням в одну з порцій 2% уранілацетату, після цього – у суміші спирту з ацетоном і в абсолютному ацетоні. Ущільнення проведено у суміші епонів з додаванням каталізатора та полімеризацією при 60°C протягом 1-3 діб. Епоксидні блоки (Fluka) різали на мікротомі LKB Ultratome III (Німеччина). Напівтонкі зрізи фарбували метиленовим синім на 1% розчині бури. Ультратонкі зрізи контрастували послідовно в 2% спиртовому розчині уранілацетату і цитраті свинцю. Переглядали в електронному трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100-01 (Росія) при напрузі 75 кВ.

Крім того, в рамках роботи було проведено експериментальне дослідження, виконане на 60 статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г, яких утримували у віварії за стандартних умов розміщення, харчування та санітарно-гігієнічних норм. Утримання тварин та всі маніпуляції з ними проводили згідно загальних принципів Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та вимог Закону України від 21.02.2006 р. №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Для експериментального дослідження різних патогенетичних механізмів хронічного ураження печінки було вибрано добре відому і легко відтворювану модель із введенням тетрахлорметану. Спочатку було відпрацьовано декілька різних варіантів моделі хронічного токсичного ураження печінки (табл.2).

Для цього першій групі тварин щодня вводили інтрагастрально тетрахлорметан у вигляді 20% олійного розчину по 0,2 мл/100 г маси тіла та 40% розчин етилового спирту з розрахунку 0,35 мг/100 г маси тіла впродовж 30 днів. Другій групі тварин вводили інтрагастрально тетрахлорметан у вигляді 20% олійного розчину в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла два рази на тиждень впродовж 30 днів. Обидві моделі були розроблені нами на основі аналізу даних літератури і власних досліджень. Третій групі тварин перших 10 днів експерименту замість води давали пити 5% розчин етилового спирту, а наступних 20 днів – 15% розчин етилового спирту за методикою Дорошенка Е.М. Біологічний матеріал (кров та печінку) забирали на третю добу після останнього введення гепатотоксичної речовини шляхом декапітації на тлі ефірного наркозу. Одержані результати дозволили виділити переваги та недоліки кожного з описаних варіантів. У подальшому в наших дослідженнях використовувався перший варіант моделі з введенням тетрахлорметану.

Для вивчення морфо-функціональних змін печінки у другому експерименті застосовувалась урсодезоксихолева кислота (УДХК), яка вводилась тваринам зі

змодельованим хронічним токсичним ураженням печінки щодня інтрагастрально в дозі 15 мг/кг маси тіла впродовж 30 днів, а в третьому експерименті тваринам, що одержували тетрахлорметан за описаною схемою, вводили щодня інтрагастрально піоглітазон у дозі 500 мкг/кг.

З метою оцінки функціонального стану печінки визначали вміст аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, лужної фосфатази та γ -глутамілтранспептидази у сироватці крові тварин за допомогою біохімічного аналізатора BTS-370 (Іспанія).

Таблиця 2 – Загальна характеристика експериментальних досліджень

№ п/п	Суть експерименту	Групи тварин	Кількість тварин	Загальна кількість тварин
1	Порівняльна характеристика проявів пошкодження та загоєння у трьох моделях хронічного токсичного ураження печінки	1 – контроль 2 – тетрахлорметан + етанол 3 – тетрахлорметан 4 – етанол	6 6 6 6	24
2	Вплив урсодезоксихолевої кислоти на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном	1 – контроль 2 – тетрахлорметан 3 – тетрахлорметан + урсодезоксихолева кислота	6 6 6	18
3	Вплив піоглітазону на морфо-функціональний стан печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном	1 – контроль 2 – тетрахлорметан 3 – тетрахлорметан + піоглітазон	6 6 6	18

Статистична обробка отриманих результатів проводилася за допомогою пакету програми «R». Обчислювали середнє значення (M), стандартне квадратичне відхилення (s), розраховували 95% довірчий інтервал середнього значення. Перед вибором методу порівняння параметричних показників між групами (або в разі повторних досліджень) проводили перевірку на нормальність розподілу за критерієм Шапіро-Вілка. Для виявлення статистичної значущості різниці між підгрупами рангових показників застосовували непараметричний U-критерій Манн-Вітні. Для оцінки відмінностей параметричних характеристик використовували дисперсійний аналіз (ANOVA) з використанням апостеріорного попарного порівняння груп з допомогою критерію найменшої значущої різниці (LSD test). Для порівняння підгруп за альтернативними характеристиками застосовували критерій χ^2 . Для з'ясування корелятивних зв'язків між ранговими характеристиками користувалися критерієм τ Кендала, між параметричними – критерієм Пірсона. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез в досліді приймався рівним 0,05. З метою визначення тих ознак, які є достовірними предикторами для кожного з аналізованих діагнозів, нами застосовано метод

множинної регресії. Оптимальною вважалась та модель, у якій була найменша сума квадратів залишків. Отримані рівняння оцінювались за критерієм Фішера, значенням множинного коефіцієнту кореляції та значенням коефіцієнту детермінації з наступним визначенням показників інформативності моделі.

Особливості поширеності цирозу печінки, зумовленого АСГ, НАСГ та ВГС (аналіз архівного матеріалу). Аналіз матеріалів автопсійних досліджень, проведених у ЛОПАБ протягом 2001-2010 років (9215 випадків), показав, що цироз печінки спостерігався у 13,4% всіх випадків, причому ця частка протягом останніх десяти років змінювалась незначно, що співпадає з результатами аналогічних досліджень, проведених в інших медичних установах. Ці результати відрізняються від даних епідеміологічних досліджень, проведених на основі клінічного матеріалу, згідно яких виявляється чітка тенденція зростання поширеності та смертності від цирозу печінки (Філіпов Ю.О., 2007).

При дослідженні етіологічного профілю ЦП було виділено п'ять патогенетичних груп: цироз, зумовлений АСГ, поствірусний цироз, цироз, зумовлений НАСГ, цироз при поєднаній патології печінки (ПП) та цирози іншого походження (вторинний біліарний цироз, автоімунний гепатит, склерозуючий холангіт, первинний біліарний цироз, токсичні ураження, амілоїдоз, гемохроматоз та криптогенний цироз). Аналіз частоти окремих патогенетичних варіантів цирозу протягом 10 років виявив, що в переважній більшості випадків спостерігався алкогольний цироз печінки, частота якого коливалась від 41,5% до 62,9% і в середньому складала 53,03%. Звертає на себе увагу значна кількість поєднаної патології, яка виявлялась у 3,06-25,5% (середнє – 20,45%), та НАСГ – у 7,1-22% (середнє – 13,9%). Вірусний гепатит призводив до розвитку цирозу рідше у 0-12,8% (середнє – 8,17%); інші фактори – у 0,59-9,3% (середнє – 4,45%). Ці дані співпадають з результатами інших досліджень, проведених на значному автопсійному матеріалі (Павлов А.І., 2005, Бобров А.Н., 2006). Спостерігалась тенденція до зростання частки цирозів, зумовлених ВГС та поєднанням ВГС і вірусного гепатиту В, що відповідає даним інших дослідників (Гураль А.Л., 2011). При аналізі групи поєднаної патології домінуючим був НАСГ. Його в різних комбінаціях виявлено у 92,2% випадків цирозу поєднаної етіології. Друге місце посідав АСГ – 42,8% хворих. З комбінацій у половині усіх випадків виявлявся цироз, зумовлений поєднанням НАСГ та «мускатного склерозу», пов'язаного з хронічним венозним застоєм (хронічні захворювання легенів, вади серця, серцево-судинна недостатність змішаного типу) – 50,2%. Дещо рідше спостерігався цироз, що розвивався внаслідок поєднання АСГ та НАСГ (40,5%). Варіанти поєднання вірусного гепатиту з АСГ та НАСГ зустрічались порівняно рідко. Аналіз таких комбінацій змушує також дещо інакше подивитись на етіологічну структуру усіх випадків цирозу, оскільки в такому разі частота НАСГ серед усіх хворих сягає третини – 35,2%, а АСГ двох третин – 61,9%. Натомість частка ПП знижується до 8,9%. Проведений аналіз показав, що у дослідженому матеріалі випадки ЦП (63,5%) переважали над випадками неповного септального цирозу печінки (НСЦП) (36,5%) ($p < 0,001$). Виражена тканинна перебудова печінки – ЦП домінувала при алкогольних ураженнях та вірусних гепатитах; в групах з НАСГ переважно

спостерігався НСЦП ($p < 0,05$). Виявлення змін, які відповідають НСЦП, у значній частині випадків з діагностованим ЦП зумовлене (1) неоднорідністю уражень у різних частинах органу, (2) складністю оцінки ступеня вираженості клінічних ускладнень та їх морфологічних еквівалентів, (3) недоліками у сучасних класифікаціях цирозу та хронічного гепатиту та різним ступенем ознайомлення з ними патологоанатомів. Все це свідчить про необхідність вивчення морфологічних змін на пізніх стадіях розвитку ХЗП та категоризації цього періоду з виділенням відповідних клініко-морфологічних стадій.

Морфологічні прояви і морфогенез репарації та фіброзу при АСГ, НАСГ та ВГС. Досліджуваний матеріал включав випадки на пізній стадії розвитку ХЗП, на якій рівень проліферації гепатоцитів (основний механізм регенерації при значній втраті паренхіми) зменшується (імовірно внаслідок реплікативного старіння, вкорочення теломерів, та/або метаболічного виснаження, зумовленого архітектурними змінами тканини). Вважається, що за таких умов провідним механізмом відновлення тканини печінки є проліферація та диференціювання печінкових та позапечінкових клітин-попередників (ПКП), які забезпечують поповнення основних клітинних популяцій органу. Репарація, згідно сучасних уявлень, відбувається у СК-нішах, які визначаються як організоване у структурні одиниці мікрооточення, елементи якого захищають стовбурові клітини та регулюють їх розвиток. Оскільки є дані про існування декількох клітинних типів-попередників у печінці, ми вивчали зміни у двох описаних СК-нішах: перипортальній та інтралобулярній. До критеріїв, які дозволяють комплексно описати та оцінити морфологічні еквіваленти процесів репарації та фіброзу, були віднесені такі кількісні показники: відносна площа, визначена морфометрично ЕрСАН+ та СК19+ епітеліоцитів, α -SMA+ та Ki67+ фіброгенних клітин, CD31+ та CD34+ судинних структур, колагену, CD68+ регулюючих макрофагів та CD117+ телицитів, асоційовані з певним типом фіброзу (перичелюлярним, портосептальним та перидуктулярним). Для оцінки локалізації змін наведені показники визначались окремо в стромі та паренхімі (септальні в зоні пограничної пластинки та лобулярні), які відповідали двом СК-нішам. Вибір виду фіброзу базувався на таких положеннях: (1) попереднє скринінгове дослідження матеріалу показало, що найчастіше з описаних в літературі варіантів зустрічався ПЦФ, ПСФ та ПДФ; (2) на сьогодні відомі основні патогенетичні особливості цих варіантів: окисний стрес, механізми загоєння, порушення епітеліально-мезенхімальних взаємодій; (3) терміни, вибрані нами із чисельних синонімів, найкраще відображають гістотопографію та патогенез змін.

Репаративні процеси, що передбачають активацію основних типів клітин у нішах регенерації, були найбільш вираженими у септальному компартменті, який відповідає перипортальній ніші регенерації, і асоціювався з ПДФ. Насамперед, це стосувалось репаративної регенерації, показники якої (ЕрСАН, ЕрСАНН та СК19) перевищували лобулярні показники в 2-4 рази і гістологічно асоціювались із дуктулярною реакцією, розміщеною на межі стромі і паренхіми, та із значною кількістю ЕрСАН+ незрілих гепатоцитів. На тканинному рівні виявлено декілька варіантів структур, які розміщувались у сполучній тканині портального тракту/септи

або по периферії часточки: (1) тубулярні структури у складі септ та портальних трактів (ПТ) з чіткими просвітами, вистеленими кубічними клітинами (ErCAM+, SK19+), розміщеними на базальній мембрані, що за будовою, розмірами та формою не відрізнялись від інтерлобулярних жовчевих проток; (2) невеликі групи ErCAM+ та SK19+ клітин із варіабельним «біліарним» фенотипом (дуктулярні реактивні клітини) на межі між сполучною тканиною та паренхімою часточки, які не формували видимих просвітів, або нагадували за будовою дуктальні пластинки, описані у печінці під час ембріо- та фетогенезу). ErCAM+ гепатоцити розміщувались у вигляді великих популяцій по периферії новоутворених вузлів або залишків печінкових часточок. Спостерігалась також модернізація МЦР: кількісні показники свідчили про виражений септальний неоангіогенез (септальний CD34+ в чотири рази вищий, ніж лобулярний). Гістологічно виявлялись ознаки перебудови судинних елементів: неоваскуляризація (тонкостінні судини з щілиноподібними або неправильної форми просвітами, вистелені клітинами з неоднорідною експресією CD31 та CD34 маркерів, які розміщувались у сполучній тканині септ і портальних трактів); «артеріалізація»/«порталізація» периферійних синусоїдів, ендотелій яких теж виявляв експресію судинних маркерів CD31 та CD34 з формуванням анастомозів та розгалужень печінкової артерії. У складі сполучнотканинних прошарків септ/портальних трактів, в безпосередній близькості до новоутворених судин і дуктулярних структур, виявлялись чисельні α -SMA+ клітини. Проліферативна активність клітин (Ki67+), що беруть участь у репаративних процесах, теж була значуще вищою у ділянках, які відповідають перипортальній ніші реєнерації.

У паренхіматозному компартменті, який відповідає інтралобулярній ніші регенерації, репаративні процеси кількісно характеризувались більш низькими показниками і виявлялись переважно в групі з ПЦФ. При цьому гістологічно спостерігались групи ErCAM+ незрілих печінкових клітин та поодинокі дуктули (невеликі групи ErCAM+, SK19+ клітин з або без формування тубулярних структур з просвітом), розміщені у централобулярних відділах, що, згідно з гіпотезою Desmet V., 2011 та даними Kisseleva A., 2013, можна розцінювати як морфологічні еквіваленти регенераторної активності. Прояви реорганізації МЦР включали декілька варіантів: артеріалізація (поодинокі судинні просвіти, вистелені CD34+ клітинами, місцями оточені гладком'язовими клітинами у різних відділах часточок); центральна порталізація (CD34+ судинні просвіти без гладком'язових клітин, асоційовані з ДР (SK19+ клітинами) у централобулярних відділах); капіляризація синусоїдів (групи CD34+ ендотеліальних клітин у синусоїдах без формування чіткого просвіту). Активовані ПЗК (α -SMA+ «міофібробласти»), які, за даними останніх досліджень, відносяться до популяції клітин-попередників/стовбурових клітин, виявлялись у перисинусоїдних ділянках у вигляді поодиноких клітин.

Одержані результати показали, що на пізній стадії досліджуваних ХЗП переважають репаративні процеси у перипортальній СК-ніші, які проявляються вираженою ДР та значною популяцією незрілих гепатоцитів, утворених внаслідок активації ПКП у каналах Герінга і «дедиференціювання» гепатоцитів пограничної пластинки, а також ознаками значного септального неоангіогенезу, що

відображають утворення анастомозів та розгалужень печінкової артерії. У інтралобулярній СК-ніші виявлялись поодинокі елементи ДР та незрілі гепатоцити, утворені внаслідок активації ПКП, розміщених у просторах Діссе, які асоціювались з незначно вираженими проявами лобулярного ангиогенезу, що відповідають процесам центральної артеріалізації та порталізації.

Результати проведених патоморфологічних досліджень засвідчили, що традиційний опис фіброзу, який базується на визначенні виду та локалізації сполучнотканинних септ, є недостатнім для оцінки процесів репарації. Була запропонована робоча гіпотеза, згідно якої окремі різновиди фіброзу, а саме перицелюлярний, портосептальний та перидуктальний, є компонентами більш складних репаративних процесів. Виділення різних морфогенетичних варіантів репарації базувалось на інтеграції основних гістотопографічних форм фіброзу з ознаками перебудови МЦР та репаративної регенерації епітеліальних елементів.

Результати патогістологічного, імуногістохімічного та електронномікроскопічного дослідження проявів модернізації МЦР при неповному септальному цирозі виявили кількісні та якісні особливості перебудови судинного русла. Було підтверджено наявність відмінностей експресії двох маркерів ендотеліоцитів CD31 та CD34. Зміни, виявлені у септах та у перипортальних ділянках, були зумовлені переважно брунькуванням гілок печінкової артерії (ангиогенезом) та формуванням (задіюванням у кровоток) шунтів між існуючими судинами. Загальна відносна площа, яку займали CD31+ клітини, була найвищою при ПСФ ($0,76 \pm 0,19$). У групах ПЦФ та ПДФ цей показник був нижчим ($0,64 \pm 0,097$ та $0,51 \pm 0,12$ відповідно). Значущою була відмінність ПДФ порівняно з двома іншими групами. Така картина визначалася, насамперед, рівнем септального ангиогенезу, хоча й не повністю, оскільки при його оцінці чітко вирізнялася саме група ПСФ ($1,83 \pm 0,47$) порівняно з двома іншими ($P_{1-3}=0,004$, $P_{1-3}=0,003$). При дослідженні відносної площі, яку займали CD34+ клітини, загальний показник був найвищим у групі ПДФ ($1,85 \pm 0,3$) суто за рахунок відмінності септального показника ($13,03 \pm 0,32$) від аналогічних показників у двох інших групах (ПЦФ: $3,06 \pm 0,4$, $p=0,005$, ПДФ: $3,48 \pm 0,35$, $p<0,01$).

Лобулярні зміни пов'язані, насамперед, з двома процесами: центральною порталізацією та капіляризацією синусоїдів. Прояви центральної порталізації виявлялись переважно при ПЦФ та ПСФ (88% та 68% відповідно) і відображали процеси активації ПКП у інтралобулярній ніші (Gill R.M. 2011), або міграцію незрілих клітин-попередників з перипортальної СК-ніші (Lee H., 2014), яка є, вірогідно, переважаючим механізмом при ПДФ. Морфологічні прояви капіляризації синусоїдів домінували при ПСФ (78%), хоча виявлялись і в інших досліджуваних групах. Капіляризація синусоїдів є результатом нагромадження новоутворених білків екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) у просторі Діссе і відноситься до проявів фіброзу, але, оскільки асоційована із цим процесом гіпоксія вважається важливим чинником індукції інтралобулярної СК-ніші, вірогідно, що перисинусоїдний склероз відіграє важливу роль у процесах репарації. Щодо кількісних показників, то лобулярний ангиогенез був найбільш вираженим при ПЦФ ($1,09 \pm 0,27$), а при ПДФ – знову ж таки найслабшим – $0,41 \pm 0,16$ (відмінності, значущі між всіма трьома

групами при їх попарному порівнянні, $p=0,01$, $p<0,001$, $p<0,001$). Лобулярний CD34 був найвищим при ПЦФ ($1,91\pm0,096$) і найнижчим при ПДФ ($0,71\pm0,066$). Група ПСФ займала проміжну позицію – $0,95\pm0,096$ (різниця, значуща порівняно з двома іншими групами, $p<0,01$).

Результати електронномікроскопічного дослідження синусоїдних ендотеліоцитів показали, що при прогресуванні хронічного гепатиту у цироз у судинах МЦР виявляються множинні зміни, які відображають такі процеси, як ангиогенез, структурно-функціональна реорганізація та пошкодження. При аналізі ультраструктурних змін СЕК у шістьох хворих на стеатогепатит спостерігались ознаки дисфункції ендотеліальних клітин: ускладнення конфігурації цитолемі внаслідок появи складок, виступів та міхурців на люмінальній поверхні, а також значного збільшення кількості мікроворсинок в ділянці перикаріона та вздовж міжклітинних контактів; збільшення кількості мікровезикул; розходження міжендотеліальних контактів при ретракції периферійних ділянок клітин. У деяких клітинах виявлялись відшнуровування ворсиноподібних виступів (мікроклазматоз), пониження щільності цитоплазматичного матриксу, розправлення контурів цитоплазми та зменшення ступеня везикуляції. Виявлені зміни свідчать про неоднорідний функціональний стан синусоїдних ендотеліоцитів, серед яких одні мають ознаки гіперфункції, а інші знаходяться в стані спокою або пониженої функціональної активності. У чотирьох хворих на цироз спостерігались ознаки гіпофункції та глибокі альтеративні зміни СЕК, які асоціювались з вогнищевим нагромадженням колагенових фібрил у просторі Діссе. У частині клітин виявлялось значне пониження електронної щільності цитоплазми внаслідок надмірної гідратації та/або втрати значної кількості клітинної речовини, в інших – явища пікнотичного ущільнення цитоплазми та витончення тіла клітини. Місцями в просвітах синусоїдів виявлявся клітинний детрит. Таким чином, більшість ендотеліоцитів мають ознаки дисфункції. Серед цих ознак переважають прояви пониженої функціональної активності і пошкодження різного ступеня розвитку та інтенсивності. Функціональний стан СЕК має важливе значення, оскільки вважається, що саме ці клітини регулюють диференціювання ПЗК з переважанням профіброгенної або прорегенераторної активності.

Популяція фіброгенних клітин у печінці є гетерогенною і відрізняється за складом у портально/септальному та лобулярному компартментах, але всі ці клітини після активації набувають фенотип «міофібробласта» та експресують α -SMA. При порівнянні відносної площі, яку займали α -SMA+ клітини, виявлені значущі відмінності при попарному порівнянні усіх трьох груп щодо загального, септального і лобулярного α -SMA. При визначенні септального α -SMA кількість активованих фіброгенних клітин у септах була найбільшою у групі ПДФ ($23,71\pm0,23$), а найнижчою – при ПЦФ ($12,7\pm0,29$). Натомість абсолютно протилежною була закономірність щодо лобулярного α -SMA: показник був найвищим у групі ПЦФ ($2,79\pm0,071$), нижчим при ПСФ ($1,99\pm0,12$) і найменшим при ПДФ ($0,55\pm0,11$). Такі зворотні тенденції пояснюють відносне «вирівнювання» показників загального α -SMA. Попри це, загальний показник був найвищим у групі ПДФ ($8,73\pm0,46$), а

найнижчим — у групі ПЦФ ($6,81 \pm 0,84$) із значущими відмінностями між всіма групами ($p < 0,001$).

Аналіз відносної площі, яку займали проліферуючі клітини (Ki67+), засвідчив наявність значущих відмінностей у кількості клітин, задіяних у репаративних процесах, між досліджуваними групами. У септах проліферативна активність клітин була найвищою у групі ПДФ ($13,03 \pm 0,32$), значуще нижчою у групі ПСФ ($10,94 \pm 0,27$) і при ПЦФ ($3,45 \pm 0,31$) ($p < 0,001$). Натомість інтралобулярна проліферативна активність була найвищою в групі ПЦФ ($1,36 \pm 0,028$, $p < 0,001$), а між ПСФ ($0,051 \pm 0,02$) і ПДФ ($0,045 \pm 0,026$) значущої відмінності не виявлено.

Мікроскопічне та імуногістохімічне дослідження клітин інфільтрату, які завжди присутні в ділянці активного загоєння та репарації, підтвердило участь, але не виявило кількісних особливостей клітин макрофагального ряду при різних варіантах склерозу. При аналізі значень відносної площі, яку займали CD68+ клітини, було виявлено, що загальний показник був найнижчим при ПСФ ($0,81 \pm 0,33$) без значущої відмінності між групами ПЦФ ($1,09 \pm 0,29$) та ПДФ ($1,11 \pm 0,41$). Оскільки всі субпопуляції клітин макрофагального ряду були задіяні у процесі, лобулярні та септальні показники не визначались. Одержані результати можна пояснити центральною регулюючою роллю макрофагів у процесах загоєння та репарації, оскільки саме від них залежить спектр цитокінів, що здійснює аутокринну та паракринну регуляцію. Переважання класичного або альтернативного варіанту диференціювання цих клітин вважається навіть більш важливим для зміни протизапального спектру цитокінів на прозапальний, ніж співвідношення Т-хелперів 1 та 2 типів (Wynn T., 2010, Suh Y., 2011).

CD117+ клітини (телоцити) виявлялись переважно у септальному компартменті і часто асоціювались із ділянками ДР. Площа, яку займали телоцити, була найбільшою при ПЦФ і найменшою при ПДФ (значущі відмінності). Показник CD117 при ПСФ займав проміжне значення, і відмінність від такого ж показника при ПЦФ була незначущою. Значуще менша кількість телоцитів при ПДФ може бути наслідком порівняно високого рівня фіброзу у цій групі (FG). Схожі дані отримали і інші дослідники. Siyi Fu et al. (2015) запропонували гіпотезу щодо потенційної ролі телоцитів у фіброзі печінки, згідно якої імовірними є два механізми: (1) безпосередній вплив на активність фіброгенних клітин, зокрема ПЗК, завдяки участі у трьохвимірній організації позаклітинного матриксу через міжклітинні зв'язки та паракринну секрецію; (2) сприяння фіброзу за рахунок взаємодії з ПКП: виснаження СК-ніш, пригнічення регенерації та замісне розростанням сполучної тканини. Є дані про те, що телоцити можуть запобігати аномальній активації імунокомпетентних клітин та фібробластів, а також впливати на змінену організацію ЕЦМ під час фіброгенезу.

Прорегенераторна роль телоцитів була показана в експериментальних роботах (Wang F., 2014). Згідно наших результатів високий показник CD117 спостерігався при ПЦФ і, відповідно, корелював з високими показниками активності інтралобулярної СК-ніші. Але локалізація телоцитів у інтерстиційному компартменті не дозволяє робити висновки про безпосередню участь даної клітинної популяції у репаративній регенерації, хоча повністю виключити

паракринний цитокінетичний вплив теж не можна. Зокрема, Cretoiu D. та співавтори у 2016 році висунули гіпотезу та знайшли її підтвердження в експерименті, згідно якої телоцити спроможні виділяти позаклітинні везикули, що містять біологічно активні сполуки, здатні впливати на елементи мікрооточення.

Основним обмеженням нашого дослідження є використання лише одного імуногістохімічного маркера CD117+, в той час як інші автори застосовували подвійне або потрійне забарвлення. Звичайно, за таких умов достовірність результатів підвищується, але в той же час наша робота показала, що навіть урахування експресії лише одного маркера CD117 дозволяє аналізувати особливості поширеності та гістотопографії даної клітинної популяції.

Результати аналізу кореляційних зв'язків між двома судинними маркерами та показниками фіброгенезу продемонстрували відсутність певної кореляції септального CD34 зі септальним рівнем CD31+ і наявність кореляції – зі септальним фіброзом. На противагу цьому лобулярна експресія CD34+ була найвища у групі ПЦС ($r=0,507$, $p<0,001$ при оцінці кореляції септальних CD34+ і α -SMA). Вона чітко корелювала з лобулярною експресією CD31+ ($r=0,71$, $p<0,001$) і маркерами лобулярного фіброзу ($r=0,87$, $p<0,001$ при оцінці кореляції септальних CD34+ і α -SMA). Одержані дані підтверджують існування відмінностей при оцінці ангіогенезу з використанням двох судинних маркерів CD31 та CD34, які стосуються переважно процесів у сполучнотканинних септах. Імовірно це зумовлено особливостями самих маркерів та клітин, що їх експресують: CD31+ ендотеліоцити виявляються переважно у зрілих (передіснуючих або новоутворених) судинах. CD34+ клітини, крім того, спостерігаються у незрілих судинах, які формуються у значній кількості у септальному компартменті.

Для виявлення основних закономірностей морфогенезу процесів фіброзу та репарації було проведено аналіз кореляційних зв'язків між досліджуваними показниками. Результати зіставлення процесів ангіогенезу і фіброгенезу показали наявність паралелізму лобулярних змін при оцінці їх за середньогруповими значеннями, наприклад, при оцінці кореляції лобулярних CD31+ і α -SMA ($r=0,79$, $p<0,001$). Натомість септальний ангіогенез не корелював з процесами септального фіброзу, що вказує на патогенетичну відмінність лобулярних і септальних змін. Оцінка кореляції СК19 з попередніми характеристиками показала наявність значущої прямої кореляції з вираженістю більшості септальних (α -SMAS: $r=0,6899$, $p=0,001$; Ki67S: $r=0,7251$, $p<0,001$; CD34S: $r=0,2878$, $p=0,055$) і загальних процесів (FG: $r=0,6987$, $p<0,001$; α -SMAG: $r=0,6257$, $p<0,001$, CD34G: $r=0,6428$, $p<0,001$). Що ж торкається лобулярних змін, то спостерігалась обернена кореляція (α -SMAP: $r=-0,9513$, $p<0,001$; CD31P: $r=-0,7542$, $p<0,001$; CD34P: $r=-0,7003$, $p<0,001$; Ki67P: $r=-0,5705$, $p<0,001$). Оцінка кореляцій CD68 по окремим клінічним випадкам взагалі не виявила жодного зв'язку цієї характеристики з іншими, що свідчить про незалежність вираженості макрофагальної інфільтрації від ангіогенезу і фіброзу.

Виявлені особливості стали підґрунтям для виділення морфогенетичних варіантів репарації: асоційованого з ПЦФ (P1), із ПСФ (P2) та з ПДФ (P3).

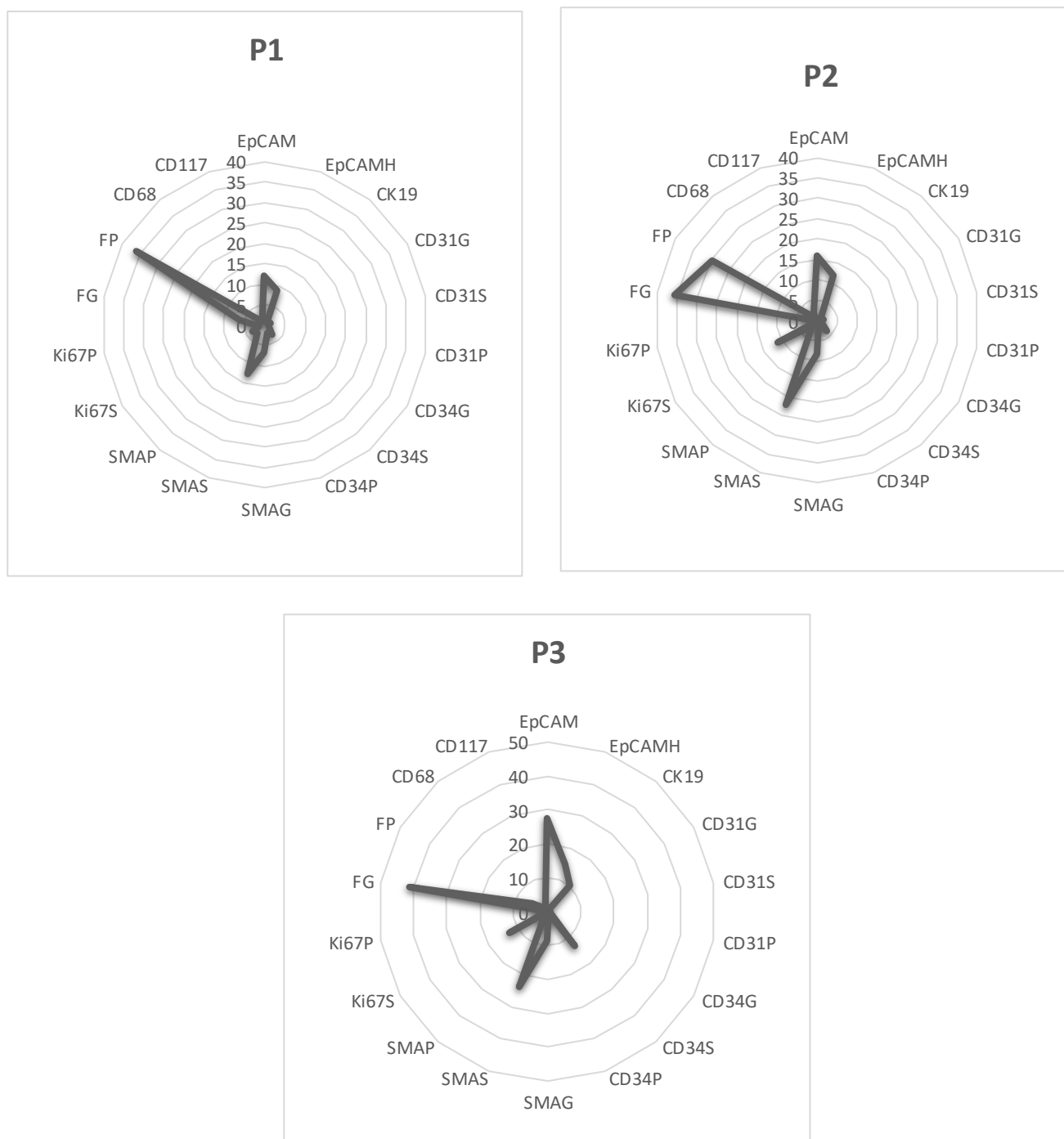
При P1 кількісні характеристики репаративних процесів були найнижчими серед досліджуваних груп (загальні маркери EpCAMG, α -SMAG, CD31G та CD34G),

що зумовлено, насамперед, низькою септальною та перисептальною активністю (септальні показники α -SMAS, Ki67S, CD31S та CD34S значуще нижчі). Виявлені прояви репарації переважали у лобулярному компартменті (маркери α -SMAP, Ki67P, CD31P та CD34P були значуще вищими, ніж при P2 та P3) і визначались переважанням диференціювання у гепатоцити (ErCAMH). Інтрасепальна локалізація CK19+ клітин свідчить про їхню участь у компенсаторно-приспосувальних реакціях. Ознаки репарації асоціювались із незначно вираженим, порівняно з іншими групами (FG значуще нижчий) ПЦФ (FP значуще переважав відносно P2 та P3). Важливу роль у регуляції механізмів репарації та фіброзу відіграють CD117+ клітини та макрофаги (відповідно значуще та незначуще переважання порівняно з P2 та P3).

При P2 вираженість репаративних процесів була проміжною в порівнянні з іншими двома варіантами – P1 та P3. При цьому показники репаративної регенерації (включаючи гістотопографічні особливості – дифузний характер без ознак пограничної активності) та ангиогенезу ErCAMG, ErCAMH, CK19, CD31S, CD34S, CD34P були ближчими до значень цих показників в групі P1. У той же час значення α -SMAG, α -SMAS, Ki67S, Ki67P, CD34G були ближчими до значень таких самих показників при P3. Водночас у цій групі була виявлена значуща відмінність для більшості значень показників репаративних процесів. Виключення складають лише такі: для Ki67P такої відмінності не було виявлено у порівнянні з групою P3, $p=0,41$; для CD31S ($p=0,53$) та CD34S ($p=0,86$) з групою P1; для CK19 з групою P1 ($p=0,152$). Виявлені прояви асоціювались з порівняно вираженим ПСФ (значення FG було ближчим до показника групи P3) із значним проникненням у лобулярний компартмент (значення FP наближалось до показника в групі P1). Кількість CD117+ телоцитів була проміжною і значуще відрізнялась від інших двох груп, а кількість макрофагів була найменшою.

При P3 репаративні процеси були найбільш вираженими. Це стосується як загальної кількості незрілих попередників (ErCAMG), так і ПКП з ознаками диференціювання у гепатоцити (ErCAMH) та холангіоцити. Але найбільш виразною була відмінність значень показника CK19, який значно (у п'ять разів) відрізнявся від двох інших груп і виявлявся переважно на межі між септою та пограничною пластинкою часточки з частковим проникненням в останню. Кількість ErCAM+ гепатоцитів теж була найвищою. Крім того, виявлялись вони у вигляді великих груп, прилягаючих до пограничної стромально-паренхіматозної зони. Загальні та септальні показники ангиогенезу були значуще вищими, ніж у групах P1 та P2, але серед них вирізнявся CD34S, який був в 4,3 рази вищий, ніж у групі P1. Прояви репарації асоціювались із вираженим перидуктальним фіброзом (FG значуще вищий) і мінімальним розповсюдженням у паренхіматозному компартменті (FP значуще нижчий). Кількість макрофагів та CD117+ клітин була значуще нижчою, порівняно з іншими двома групами. Особливо виразною була відмінність щодо телоцитів (CD117 у групі P1 переважав такий же показник у групі P3 вдвічі).

Таким чином, одержані результати показали, що при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С на пізній стадії розвитку захворювання морфологічні особливості репаративних процесів асоціюються з різними



EpCAMG – загальний EpCAM, EpCAMH – EpCAM гепатоцитів, CK19 – загальний CK19, CD31G – загальний CD31, CD31S – септальний CD31, CD31P – лобулярний CD31, CD34G – загальний CD34, CD34S – септальний CD34, CD34P – лобулярний CD34, SMAG – загальний α -SMA, SMAS – септальний α -SMA, SMAP – лобулярний α -SMA, Ki67S – септальний Ki67, Ki67P – лобулярний Ki67, FG – загальний фіброз, FP – лобулярний фіброз, CD68 – загальний CD68, CD117 – загальний CD117.

Рисунок 1– Характеристика морфометричних показників фіброзу і репарації при трьох морфогенетичних варіантах репарації та фіброзу (P1, P2, P3)

гістотопографічними формами фіброзу, що дозволяє виділити декілька варіантів репарації. Непрямим підтвердженням існування запропонованих морфогенетичних варіантів є дані літератури стосовно патогенезу описаних змін: Р1 зумовлений переважаючим впливом окисного стресу, Р2 пов'язують з активацією стереотипних реакцій фібро- та ангіогенезу, Р3 – з порушенням епітеліально-мезенхімальних взаємодій та, можливо, епітеліально-мезенхімальними транзиціями (Ismail M., 2009).

Морфологічні особливості процесів репарації та фіброзу при АСГ, НАСГ, ВГС та ПЗ. Традиційно морфологічні зміни ділять на прояви, що відображають активність процесу (стеатоз, пошкодження, клітинна інфільтрація) та процеси, що забезпечують хронічний прогресуючий перебіг захворювання (репаративна регенерація, фіброз, реорганізація часточки). Базуючись на результатах аналізу 417 випадків хронічних АСГ, НАСГ, ВГС та їх поєднань, а також, враховуючи дані інших досліджень, було виділено низку патоморфологічних проявів, які, на нашу думку, доцільно використовувати в якості диференційно-діагностичних критеріїв.

На пізніх стадіях провідну роль у прогресуванні захворювань відіграють процеси репарації, фіброзу та реорганізації печінкової часточки, на які була спрямована основна увага у даному дослідженні. При цьому акцент був зроблений на таких напрямках: визначення переважаючого варіанту репарації, характеру тканинної реорганізації та проявів регресії фіброзу/реорганізації тканини.

Оскільки із всіх показників, які визначались за допомогою імуногістохімічних маркерів, при рутинному дослідженні (забарвлення гематоксилін-еозином) можна оцінити лише локалізацію новоутвореної сполучної тканини та характер дуктулярної реакції, ці показники було взято за основу при визначенні переважаючого варіанту загоєння. На основі комплексного патогістологічного дослідження тканини печінки з урахуванням гістотопографічної форми фіброзу та типу ДР було виявлено високозначущу різницю у переважанні різних варіантів репарації між чотирма етіологічними групами. Р2 домінував при АСГ (ПСФ виявлявся у 66,7% (95% ДІ 51-80%) ($p=0,03$), дифузна дуктулярна реакція – у 88,89% (95% ДІ 80,4-97,7%) ($p<0,01$). Р1 переважав при НАСГ: найчастіше спостерігався ПЦФ, але переважання не було значущим 55,1% (95% ДІ 43,2-73,0%) ($p>0,1$) та дифузна ДР – 91,84% (95% ДІ 75,9-96,3%) ($p<0,01$). Р3 визначався переважно при ВГС: ПДФ – у 82,6% (95% ДІ 6,6-92,2%) ($p=0,02$) та перисептальна ДР – у 84,78% (95% ДІ 71,1-93,7%) ($p<0,01$). При ПЗ виявлялась дещо інша комбінація: ПЦФ (52,3% (95% ДІ 36,7-67,5%) ($p>0,1$) та поєднання дифузної 56,72% (95% ДІ 41,0-71,7%), і перисептальної ДР (43,18% ($p>0,1$), що ставить цю групу в окреме положення.

Для оцінки характеру тканинної перебудови досліджувались: нодулярність (збережена гістоархітектоніка, макронодулярні та мікронодулярні зміни); реорганізація паренхіми (дискомплексация балок, потовщення балок та поліморфізм гепатоцитів/гландулярність) та реорганізація мікроциркуляторного русла (збережені співвідношення між центральними венами та портальними трактами; поодинокі інтра- та перисептальні судини; множинні інтра- та перисептальні судини). При НАСГ спостерігалась переважно ($p<0,01$) збережена гістоархітектоніка часточки (90,2%; 95% ДІ 77,8-96,6%). Натомість при АСГ значуще переважали великі вузли

(83%; 95% ДІ 67/9-92%). Відносно рідше, близько половини усіх випадків (переважання незначуще, $p > 0,1$) великі вузли спостерігались при ВГС (62,4%; 95% ДІ 45,4-74,9%) і при ПЗ (51,9%), однак при останньому дрібні вузли спостерігались майже з такою ж частотою (44,2%; 95% ДІ 34,6-65,4%). У значній кількості випадків у всіх групах ознаки реорганізації паренхіми, зумовлені регенерацією гепатоцитів, були мінімальними і обмежувались дискомплексацією балок (від 37,6% при ВГС до 45,2% при ПЗ). Приблизно у третині випадків виявлялись ознаки потовщення балок (від 31,4% при НАСГ до 37,6% при ВГС). Дещо рідше спостерігались гландулярні структури, найчастіше – при АСГ (32,1%). За цією характеристикою не було виявлено різниці між жодними з чотирьох груп. За варіантами септоутворення значущої різниці не виявлено тільки між групами АСГ і ВГС. При НАСГ найчастіше (переважання значуще, $p < 0,01$) виявлялись тільки портопортальні септи (82,4%; 95% ДІ 68-91,2%). Перинодулярні септи значуще домінували при ПЗ (83,7%; 95% ДІ 72,6-94,8%). Наявність портопортальних та портоцентральных септ найчастіше (без значущого переважання) була при АСГ та ВГС - 69,8% та 62,4% відповідно. Структура МЦР була переважно збереженою при НАСГ (89,7%), натомість при інших захворюваннях спостерігались ознаки реорганізації судинного русла. Поодинокі судини, розміщені у товщі септи та на межі з паренхімою найчастіше спостерігались при ВГС (52,2%). Множинні інтра- та перисептальні судини переважали при ПЗ (72,7%) і при АСГ (60%) без значущої відмінності між цими групами. При ВГС у більшості випадків спостерігались ознаки реорганізації МЦР, однак у 52,2% це були поодинокі інтра- та перисептальні судини.

З ознак регресії фіброзу/реорганізації було виявлено і проаналізовано частоту чотирьох компонентів: тонкі (перфоровані) септи, адгезії/колагенові пучки, інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ та центральних вен (ЦВ). Значущі відмінності спостерігались у групах НАСГ та ПЗ. При НАСГ домінували тонкі, перфоровані септи (68,6%), а при ПЗ – інтрасептальні гепатоцити, які виявлялись у 43,3% і асоціювались з досить частим зближенням ПТ та ЦВ (35,5%). Між групами АСГ та ВГС відмінності були незначущими, хоча при АСГ частіше виявлялись тонкі септи та адгезії, а при ВГС – інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ.

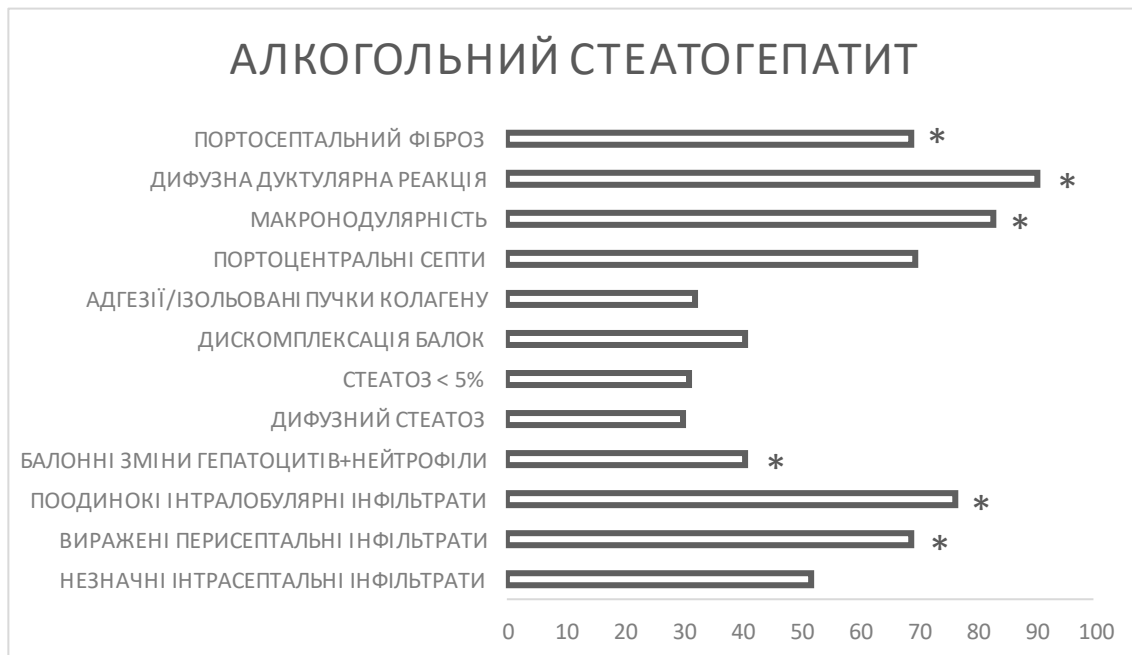
Аналіз частоти стеатозу з урахуванням двох показників (поширеність та локалізація ліпідних нагромаджень) показав наявність значущих особливостей при досліджуваних захворюваннях. Згідно наших результатів, стеатоз був найменш виражений при ВГС: у 52,17% стеатоз був фактично відсутнім, а поширеність уражень понад 66% виявлялась лише у 8,7%, що можна пояснити дослідженням випадків на етапі неповного септального цирозу, коли реплікація вірусів імовірно вже не є значною. Щодо локалізації стеатозу, то одержані нами результати показали, що на пізній стадії гістотопографія ліпідних нагромаджень не відрізнялась від змін, описаних для більш ранніх стадій гепатиту. Найчастіше спостерігалась дифузна жирова дистрофія, яка при НАСГ виявлялась у 57,9% усіх випадків стеатозу, а при ПЗ – у 59,4%, у групах АСГ і НАСГ він часто мав також перивенулярний характер. Натомість при ураженнях вірусного генезу у 40,9% випадків стеатозу він мав перисептальний/перипортальний характер, завдяки чому ця група значуще відрізнялась від інших.

Результати патогістологічного дослідження частоти виявлення інших ознак пошкодження/інфільтрації підтвердили наявність значущих відмінностей між чотирма групами. При цьому враховувались прояви, асоційовані зі загибеллю печінкових клітин, до яких відносились балонні зміни гепатоцитів та апоптозні тільця. На місці загиблих клітин, або біля них виявлялись інфільтрати, до складу яких входили переважно мононуклеарні клітини, а іноді – нейтрофільні лейкоцити. Тому ми вважали за доцільне розглядати прояви альтерації та інфільтрації разом. Таким чином, серед групи ознак, які описують прояви пошкодження/інфільтрації, значущі відмінності між всіма групами були виявлені у частоті балонних змін гепатоцитів (множинні вогнища переважали при ВГС та НАСГ, а при АСГ асоціювались з нейтрофілами – 42,22%), інтралобулярних (множинні вогнища виявлялись при ПЗ – 54,55% ($p < 0,05$) та перисептальних інфільтратів (виражені інфільтрати домінували при АСГ (68,89%), при ВГС і ПЗ вони здебільшого були помірними). Виявлені закономірності свідчать про те, що на стадії НСЦ зберігаються загальні тенденції прогресування досліджуваних захворювань: високий рівень імунних реакцій (зокрема імунного цитолізу) і в септальному, і в лобулярному компартменті, при ВГС та ПЗ і задіювання інших механізмів пошкодження (інтралобулярних) при НАСГ.

Статистичний аналіз дозволив виявити особливості переважаючого варіанту репарації (гістотопографічна форма фіброзу, тип дуктулярної реакції), ознак тканинної перебудови (варіант нодулярності, тип септ; ступінь реорганізації паренхіми), регресії фіброзу/реорганізації та проявів активності (поширеність та локалізація стеатозу, балонні зміни гепатоцитів, вираженість перисептальних, інтралобулярних та інтрасептальних інфільтратів) при окремих захворюваннях. Оскільки значущих відмінностей у проявах реорганізації МЦР не було виявлено, ці ознаки в подальшому не враховувались.

При АСГ переважав морфогенетичний варіант репарації 1 типу з ПСФ (68,9%, $p < 0,05$) та дифузною ДР (90,6%, $p < 0,01$). Серед ознак тканинної реорганізації переважали великі вузли (83,0%, $p < 0,05$), асоційовані з портопортальними та портоцентральною септами з вираженою васкуляризацією. З проявів регресії/реорганізації домінували тонкі, перфоровані септи та адгезії/колагенові пучки, хоча відмінності були незначущими. Значуще частіше спостерігались типові для АСГ ознаки пошкодження/інфільтрації: дифузний, максимально виражений стеатоз (26,4%), вогнища гепатоцитів, асоційовані з інфільтрацією нейтрофілами (40,6%, $p < 0,05$). Крім того виявлялась виражена перисептальна інфільтрація (68,9%, $p < 0,05$).

При поєднанні АСГ з ВГС або НАСГ ПЦФ та ПДФ зустрічались частіше, ніж при АСГ (в 2,06-2,1 і в 3-2,75 рази відповідно), а ПСФ – в 2,6-2,8 разів рідше. Зростала частота перисептальної ДР (сильніше в 6,6 разів при АСГ+ВГС, та в 3,4 рази при АСГ+НАСГ) та, відповідно, зменшувалась частота дифузної. В обох варіантах ПЗ частіше виявлялась мікронодулярність, портоцентральної та перинодулярної септи ($p < 0,05$), хоча відмінності були більш вираженими при АСГ+ВГС.



*Наявність значущих відмінностей ($p < 0,05$) в порівнянні з групами вірусного гепатиту С, неалкогольного стеатогепатиту та поєднаних захворювань

Рисунок 2 – Характерні патогістологічні прояви алкогольного стеатогепатиту

При поєднанні АСГ з ВГС або НАСГ ПЦФ та ПДФ зустрічались частіше, ніж при АСГ (в 2,06-2,1 і в 3-2,75 рази відповідно), а ПСФ – в 2,6-2,8 разів рідше. Зростала частота перисептальної ДР (сильніше в 6,6 разів при АСГ+ВГС, та в 3,4 рази при АСГ+НАСГ) та, відповідно, зменшувалась частота дифузної. В обох варіантах ПЗ частіше виявлялась мікронодулярність, портоцентральні та перинодулярні септи ($p < 0,05$), хоча відмінності були більш вираженими при АСГ+ВГС.

Для НАСГ найбільш характерним був другий морфогенетичний варіант репарації, але при значущому переважанні дифузної ДР – 92,2%, $p < 0,01$ спостерігалась комбінація ПЦФ (60,8%) і ПСФ (32,4%). Тканинна перебудова обмежувалась септальним склерозом (90,2%, $p < 0,01$) з портоцентральними септами, а серед ознак регресії фіброзу/реорганізації значуще домінували тонкі перфоровані септи (68,6%). Серед типових для НАСГ проявів пошкодження/інфільтрації виявлялись: помірний дифузний (46,1%, $p < 0,05$) або центролобулярний (29,4,5%, $p < 0,05$) стеатоз, поодинокі вогнища гепатоцитів з балонними змінами та незначна інтралобулярна (94,1%, $p < 0,01$) і перисептальна (92,2%, $p < 0,01$) інфільтрація.

При поєднанні НАСГ з АСГ або ВГС частота ПЦФ та ПСФ зменшувалась (в 1,3-1,2 і в 1,25-1,29 рази відповідно), а ПДФ зустрічався частіше, ніж при НАСГ (в 3,75-3,62 рази відповідно при НАСГ+АСГ та НАСГ+ВГС). Зростала частота перисептальної ДР, яка була переважаючою при НАСГ+ВГС (58,3%, $p < 0,05$), та відповідно зменшувалась частота дифузної, яка домінувала при НАСГ (92,2%).



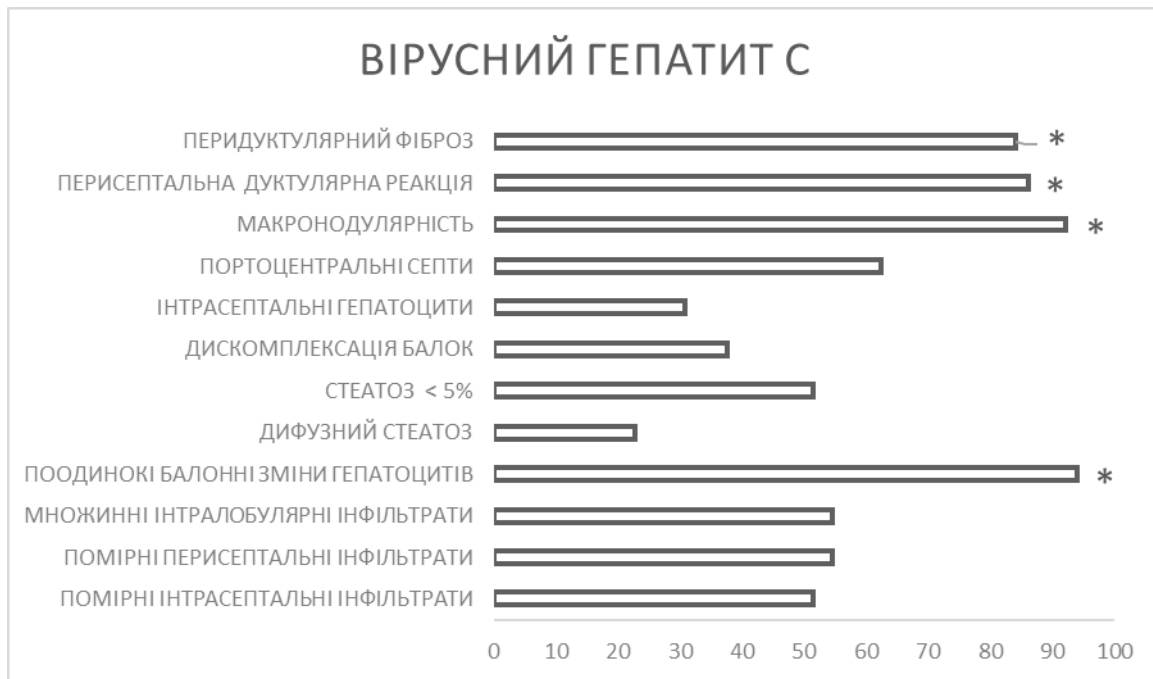
*Наявність значущих відмінностей ($p < 0,05$) в порівнянні з групами вірусного гепатиту С, алкогольного стеатогепатиту та поєднаних захворювань

Рисунок 3 – Характерні патогістологічні прояви неалкогольного стеатогепатиту

В обох варіантах ПЗ частіше виявлялась мікронодулярність та перинодулярні септи (особливо при НАСГ+ВГС, $p < 0,05$). Відмінності у паренхіматозних змінах не були значущими. З ознак регресії фіброзу адгезії та тонкі септи зустрічались рідше, а зближення ПТ та ЦВ і інтрасептальні гепатоцити (особливо при НАСГ+АСГ) – частіше, ніж при НАСГ, але відмінності теж не були значущими.

При ВГС переважав морфогенетичний варіант репарації 3 типу (ПДФ – 84,2%, $p < 0,05$ та перисептальна ДР – 86,1%, $p < 0,05$). З ознак тканинної перебудови домінували великі вузли, портоцентральні септи з помірною васкуляризацією. Серед проявів регресії фіброзу/реорганізації незначуще переважали інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ. З типових для ВГС ознак пошкодження/інфільтрації значуще частішою була лише помірна перисептальна інфільтрація (54,5%, $p < 0,05$). Крім того, часто виявлялись поодинокі вогнища гепатоцитів з балонними змінами (94,1%, $p < 0,05$), а множинні інтралобулярні інфільтрати спостерігались лише в половині випадків (54,5%, $p < 0,05$).

При поєднанні ВГС з АСГ або НАСГ частота ПЦФ та ПСФ зростала (в 12-12,8 і в 2,1 рази відповідно), а ПДФ зустрічався рідше, ніж при ВГС (в 2,9-3,37 рази відповідно при ВГС+АСГ та ВГС+НАСГ). Зменшувалась частота перисептальної ДР, хоча вона і залишалась переважаючою при обох ПЗ ($p < 0,05$) та, відповідно, зростала частота дифузної ДР. В обох варіантах ПЗ частіше виявлялась мікронодулярність та перинодулярні септи (в 3,27-3,31 рази, $p < 0,05$).



*Наявність значущих відмінностей ($p < 0,05$) в порівнянні з групами алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та поєднаних захворювань

Рисунок 3 – Характерні патогістологічні прояви вірусного гепатиту С

На основі проведеного статистичного аналізу (метод множинної регресії) було виявлено групу незалежно значущих предикторів належності конкретного випадку до тієї чи іншої нозологічної форми. Кінцева модель включала 12 характеристик (табл.3).

Таблиця 3 – Результати аналізу кореляційних зв'язків між морфологічними ознаками та діагнозами захворювань (алкогольний стеатогепатит, неалкогольний стеатогепатит та вірусний гепатит С)

№ з/п	Назва ознаки	Коефіцієнт кореляції (Спірмена)
1	Дуктулярна реакція	0,65*
2	Гістотопорафічна форма фіброзу	0,48*
3	Варіант нодулярності	0,08
4	Тип септ	0,02
5	Регресія фіброзу	0,11
6	Реорганізація паренхіми	-0,02
7	Поширеність стеатозу	0,26*
8	Локалізація стеатозу	-0,13*
9	Балонні зміни гепатоцитів	-0,59*
10	Інтралобулярні інфільтрати	0,55*
11	Перисептальний інфільтрат	-0,14*
12	Інтрасептальний інфільтрат	0,10

* Коефіцієнт кореляції достовірний ($p < 0,05$)

Як свідчать наведені результати, з-поміж дванадцяти ознак у семи існує достовірний ($p < 0,05$) зв'язок поміж морфологічною ознакою та діагнозом. Враховуючи те, що деякі з ознак можуть взаємопов'язуватися поміж собою, нами застосовано метод множинної регресії для визначення достовірних діагностичних критеріїв для кожного з аналізованих трьох захворювань. Було встановлено, що п'ять ознак достовірно поєднуються для аналізованих діагнозів, а саме: поширеність стеатозу, балонні зміни гепатоцитів, інтралобулярні інфільтрати, перисептальний інфільтрат та дуктулярна реакція. Дана модель є адекватною з вірогідністю вище 99,9% ($p < 0,001$), оцінка якої проведена за критерієм Фішера (фактичне значення F-критерію 145,82). Множинний коефіцієнт кореляції становить +0,84 та вказує на наявність сильного зв'язку поміж аналізованими параметрами. Значення коефіцієнту детермінації 0,70 вказує, що п'ять аналізованих діагностичних критеріїв на 70% залежать від первинної нозології, а на 30% визначаються іншими ознаками.

Відтак результуючим рівнянням нашої моделі, у якому відображена залежність п'яти діагностичних критеріїв від захворювання є: $0,127475 * \text{поширеність стеатозу} - 0,421991 * \text{балонні зміни гепатоцитів} + 0,460191 * \text{інтралобулярний інфільтрат} - 0,328519 * \text{перисептальний інфільтрат} + 0,703488 * \text{дуктулярна реакція} + 1,266195 = \text{діагноз}$

З метою оцінки інформативності запропонованої моделі нами були визначені: точність, специфічність, чутливість, позитивне та негативне передбачувальне значення для кожного захворювання. Найкращими показниками інформативності були для вірусного гепатиту С: чутливість моделі становила 89,33%, специфічність 85,47%, а точність – 86,41%.

На основі ранжування максимальної зміни кожної з ознак було встановлено, що найбільш залежним від діагнозу є тип дуктулярної реакції, який на 25,36% детермінується первинним захворюванням. На другому та третьому місцях – «інтралобулярні інфільтрати» та «балонні зміни гепатоцитів» (відповідно з показниками 24,88% та 22,81%). «Перисептальний інфільтрат» максимально змінюється від діагнозу на 17,76%, а найбільш лабільною з аналізованих ознак є «поширеність стеатозу», яка лише на 9,19% залежить від первинного діагнозу.

Ці дані дозволяють стверджувати, що дуктулярна реакція є важливим диференційно-діагностичним критерієм та пізній стадії розвитку АСГ, НАСГ та ВГС і її значимість перевищує роль інших ознак фіброзу та реорганізації тканини. Важливим висновком є також діагностична значущість проявів пошкодження/інфільтрації, яка свідчить про персистенцію типових ознак активності процесу навіть на пізніх стадіях захворювань.

Вивчення впливу УДКХ та піоглітазону на розвиток процесів фіброзу та репарації в експерименті. Для вивчення ролі окремих механізмів фіброгенезу було проведено експериментальне дослідження. Спочатку були відпрацьовані моделі хронічного ураження печінки тетрахлорметаном та розроблена напівкількісна шкала для опису виявлених морфологічних змін. Критерії, використані у напівкількісній шкалі, базуються на описі гісто-логічних проявів

основних патологічних процесів (пошкодження, фіброзу та регенерації) і дозволяють оцінити три ступеня змін.

У першому експерименті за допомогою розробленої шкали було відібрано найбільш адекватну модель хронічного пошкодження печінки (введення тетрахлорметану) для дослідження процесів фіброзу та регенерації.

Для вивчення особливостей фіброгенезу тваринам разом з тетрахлорметаном вводили речовини з відомим механізмом дії і порівнювали ступінь ураження з групою нелікованих тварин.

В другому експерименті тваринам одночасно з тетрахлорметаном вводилась УДХК. З багатьох ефектів цього препарату для розвитку фіброзу мали значення антиоксидантний та антиапоптичний впливи (Lukivskaya O.Y., 2007, Amaral J.D., 2009). Одержані результати підтвердили значуще менший ступінь фіброзу печінки при введенні тетрахлорметану разом з УДХК ($p < 0,05$).

В третьому експерименті вводили піоглітазон – агоніст рецептора, активованого пероксисомним проліфератором γ (PPAR γ), експресованого на адіпоцитах та ПЗК. Відомий лікувальний ефект препарату (антидіабетичний) базується переважно на модуляції активності адіпоцитів з наступним виділенням відповідних адіпокінів та прозапальних цитокінів і розвитком інсулінорезистентності. Для впливу на фіброгенез в печінці більше значення має активація ПЗК (Marras F., 2006, Chalasani N.P., 2009). Одержані результати показали, що у групі тварин, яким вводився тетрахлорметан разом з піоглітазоном, ступінь фіброзу був значуще меншим ($p < 0,05$). Крім того, спостерігалось збереження/незначне посилення регенерації (статистично незначуще) за рахунок проліферації ПКП (гіперплазія овальних клітин).

Відсутність ознак пригнічення регенерації, яке відмічається у ряді досліджень (Gazit V., 2012), можна пояснити компенсацією негативних впливів неактивованих ПЗК за рахунок інших механізмів: забезпечення енергією та макромолекулярними попередниками, що утворюються при метаболічних розладах, характерних для печінковоклітинної недостатності, а також генерації специфічних молекулярних сигналів, що ініціюють проліферацію печінкових клітин. Крім того, пролонговане пошкодження та запалення у печінці може вести до паракринної стимуляції ПКП у СК-нішах за рахунок активності інших клітин (пошкоджених гепатоцитів, макрофагів, лімфоцитів) та підтримувати або посилювати регенерацію.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано теоретичне обґрунтування та запропоновано нове вирішення актуальної наукової проблеми патоморфології та гепатології – морфогенезу репарації та фіброзу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С, що дозволило виділити особливості репаративної регенерації та реорганізації мікроциркуляторного русла при різних гістотопографічних формах фіброзу у вигляді морфогенетичних патернів. На основі аналізу морфологічних показників репарації/фіброзу, тканинної реорганізації та пошкодження/інфільтрації розроблено методи діагностики (оціночну шкалу та математичну модель

диференціювання) алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії розвитку захворювання.

1. Ретроспективний аналіз автопсій за десятилітній період (2001-2010 р.р.) показав, що серед захворювань, які зумовили розвиток цирозу печінки, переважає алкогольне ураження (41,5 – 62,9%, середнє – 53,03%). Неалкогольний стеатогепатит зустрічається рідше, але, враховуючи його домінування у випадках поєднаної патології (найчастіше в комбінації з «мускатним склерозом» і алкогольним стеатогепатитом), частка цього захворювання сягає 1/3 всіх випадків. Частота вірусного гепатиту С є меншою (0-12,8%, середнє – 8,17%), однак спостерігається тенденція до її зростання, особливо в поєднанні з іншими вірусними гепатитами (63,6% проти 47%, двосторонній точний критерій Фішера $p=0,094$). В 1/3 випадків цирозу, задокументованого в протоколах розтинів, виявлені морфологічні зміни трактувались нами як неповний септальний цироз, що свідчить про необхідність модифікації підходів до категоризації пізніх стадій хронічних захворювань печінки.

2. На пізній стадії алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С виявлено максимальну активність репаративної регенерації у септальному компартменті (відповідає перипортальній ніші регенерації), показники якої (ErCAM, ErCAMH та SK19) перевищували лобулярні показники в 2-4 рази і гістологічно асоціювались переважно з дуктулярною реакцією та вираженим септальним неоангіогенезом (септальний CD34+ в чотири рази вищий) з утворенням анастомозів та розгалужень печінкової артерії. У паренхіматозному компартменті (інтралобулярна ніша регенерації) виявлялись групи ErCAM+ незрілих печінкових клітин та поодинокі дуктули, які супроводжувались низькими показниками лобулярного ангіогенезу, що відповідають процесам центральної артеріалізації та порталізації.

3. Виділено три варіанти морфогенезу репарації/фіброзу на основі інтеграції проявів репаративної регенерації, реорганізації мікроциркуляторного русла та гістотопографічної форми фіброзу. При першому морфогенетичному варіанті репарації та фіброзу виявляється низька репаративна активність (ErCAM, ErCAMH та SK19 значуще нижчі), яка переважає у лобулярному компартменті з домінуючим напрямком диференціювання у гепатоцити ($ErCAMH=0,12$; $p<0,05$); перицелюлярний склероз, який асоціюється з високими лобулярними та низькими септальними показниками фібро- та ангіогенезу; виражені компенсаторно-приспосувальні реакції у септах (SK19) та максимальна експресія маркера телоцитів ($CD117=9,12$; $p<0,05$).

4. Для другого морфогенетичного варіанту репарації/фіброзу характерні помірна репаративна активність із залученням обох тканинних компартментів: маркери репаративної регенерації та ангіогенезу (ErCAMG, ErCAMH, SK19, CD31S, CD34S, CD34P) є ближчими до значень цих показників при першому варіанті, а значення α -SMAG, α -SMAS, Ki67S, Ki67P, CD34G наближаються до значень таких же показників при третьому; перисептальний склероз з проникненням у лобулярний компартмент; виражені септальні адаптативні реакції.

5. При третьому варіанті репарації/фіброзу висока репаративна активність (ErCAM, ErCAMH та SK19 значуще вищі, відповідно у 2,4, 2,2 та 5 разів), переважно у септальному компартменті з домінуючим напрямком диференціюванням у холангіоцити (SK19), асоціюється з перидуктальним склерозом, високими септальними і мінімальними лобулярними маркерами фіброза та ангіогенезу і незначною експресією маркера телоцитів (CD117=9,12; $p<0,05$).

6. При алкогольному стеатогепатиті переважає морфогенетичний варіант репарації/фіброзу другого типу з портосептальним фіброзом (66,7%, $p<0,05$) та дифузною дуктулярною реакцією (88,9%, $p<0,01$). Серед ознак тканинної реорганізації переважають великі вузли (82,2%, $p<0,05$), асоційовані з портопортальними та портоцентральною септами з вираженою васкуляризацією. З проявів регресії/реорганізації домінували тонкі, перфоровані септи та адгезії/колагенові пучки, хоча відмінності були незначущими. Значуще частіше спостерігались типові для алкогольного ураження ознаки пошкодження/інфільтрації: дифузний, максимально виражений стеатоз (51,1%, $p<0,05$), вогнища гепатоцитів, асоційовані з інфільтрацією нейтрофілами (42,2%, $p<0,05$). Крім того, виявлялась виражена перисептальна інфільтрація (68,9%, $p<0,05$).

7. Для неалкогольного стеатогепатиту найбільш характерним був перший морфогенетичний варіант репарації/фіброзу, але при значущому переважанні дифузної дуктулярної реакції – 91,8%, $p<0,01$ спостерігалась комбінація перицелюлярного (60,8%, $p<0,05$) і портосептального (32,4%, $p<0,05$) фіброзу. Тканинна перебудова обмежувалась септальним склерозом (89,8%, $p<0,01$) з портоцентральною септами, а серед ознак регресії фіброзу/реорганізації значуще домінували тонкі перфоровані септи. Серед типових для неалкогольного стеатогепатиту проявів пошкодження/інфільтрації виявлялись: помірний дифузний (57,9%, $p<0,05$) або центролобулярний (39,5%, $p<0,05$) стеатоз, поодинокі вогнища гепатоцитів з балонними змінами та незначна інтралобулярна (93,8%, $p<0,01$) і перисептальна (91,8%, $p<0,01$) інфільтрація.

8. При вірусному гепатиті С переважав морфогенетичний варіант репарації/фіброзу третього типу (перидуктальний фіброз – 82,6%, $p<0,05$ та перисептальна дуктулярна реакція – 84,78%, $p<0,05$). З ознак тканинної перебудови домінували великі вузли, портоцентральною септи з помірною васкуляризацією. Серед проявів регресії фіброзу/реорганізації незначуще переважали інтрасептальні гепатоцити та зближення портальних трактів і центральних вен. З типових для вірусного гепатиту С ознак пошкодження/інфільтрації значущою була лише помірна перисептальна інфільтрація. Крім того, часто виявлялись множинні вогнища гепатоцитів з балонними змінами (93,8%, $p<0,05$), а натомість інтралобулярні інфільтрати були поодинокими (93,9%, $p<0,05$).

9. У випадках поєднання двох із досліджуваних захворювань (алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С) виявлено спільні тенденції: нівелювання особливостей морфогенетичних варіантів репарації та фіброзу, характерних для первинного ураження, посилення ступеня реорганізації тканини, втрата специфічних для ранніх стадій проявів пошкодження/інфільтрації.

10. На основі аналізу частоти морфологічних проявів пізньої стадії алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С виділено напівкількісні морфологічні диференційно-діагностичні критерії, які дозволяють визначити переважаючий морфогенетичний варіант репарації/фіброзу, ступінь реорганізації тканини, регресії фіброзу/реорганізації та ступінь активності. Серед критеріїв найбільше діагностичне значення мають: тип дуктулярної реакції ($R=0,65$, $p<0,05$), балонні зміни гепатоцитів ($R=-0,59$, $p<0,05$), вираженість лобулярних інфільтратів ($R=0,55$, $p<0,05$) та гістотопографічна форма фіброзу ($R=0,48$, $p<0,05$). Виділені показники використані для розробки диференційно-діагностичної моделі та оціночної шкали з визначенням стадії та фази захворювання.

11. В експериментальній моделі хронічного токсичного ураження печінки встановлено, що урсодезоксихолева кислота, введена щурам в дозі 15 мг/кг маси тіла з профілактичною метою (паралельно з тетрахлорметаном), зменшує ступінь пошкодження та прояви фіброзу печінки ($p<0,05$), послаблюючи рівень окисного стресу.

12. В експерименті на щурах виявлено, що піоглітазон в дозі 500 мкг/кг маси при одночасному хронічному застосуванні з тетрахлорметаном зменшує прояви фіброзу печінки ($p<0,05$), запобігаючи опосередкованій рецептором, активованим пероксисомним проліфератором- γ , активації печінкових зірчастих клітин та має незначний прорегенераторний ефект ($p>0,05$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для діагностики морфогенетичного варіанту процесів репарації/фіброзу при патоморфологічному дослідженні біопсійного та автопсійного матеріалу хворих на алкогольний стеатогепатит, неалкогольний стеатогепатит і вірусний гепатит С рекомендується патогістологічне визначення проявів репаративної регенерації, реорганізації мікроциркуляторного русла і гістотопографічної форми фіброзу та імуногістохімічне виявлення рівня експресії ErCAM , CK19 , $\alpha\text{-SMA}$, CD34 , CD117 в основних клітинних популяціях.

2. Для опису та оцінки змін у тканині печінки на пізній стадії алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С рекомендується використання розробленого переліку патоморфологічних критеріїв (авторське право на твір №73932), оціночної шкали для визначення фази та стадії захворювання (патент №u2017 03738) та схеми для проведення диференційної діагностики (патент №u201602468, реєстрація №281 4/17). Для практичного використання запропонована математична модель диференціювання вірусного гепатиту С (точність 86,41%), алкогольного стеатогепатиту (точність 86,08%) і неалкогольного стеатогепатиту (точність 72,49%).

3. Для опису патогістологічних змін у тканині печінки в експериментальних дослідженнях із застосуванням тетрахлорметану рекомендується уніфікована напівкількісна шкала, яка базується на морфологічних проявах важливих патологічних процесів. На препаратах, забарвлених гематоксилін-еозином, визначаються прояви та ступінь вираженості пошкодження, фіброзу і регенерації,

що дозволяє дати повну комплексну характеристику ознак хронічного токсичного ураження печінки.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гаврилюк ОМ. Етіологічні фактори цирозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2009;2:22-5.
2. Гаврилюк ІМ, Гаврилюк ОМ, Чикайло ІП, Нектегаєв Ю. Порівняльний аналіз трьох моделей фіброзу печінки, зумовленого її хронічним токсичним ураженням. Вісник Української медичної стоматологічної академії. «Актуальні проблеми сучасної медицини». 2009;9(2):27-30. *(Здобувач провела морфологічне дослідження печінки, описала та оцінила виявлені гістологічні зміни, разом зі співавторами проаналізувала та узагальнила одержані результати).*
3. Гаврилюк ОМ. Частота цирозу печінки за даними автопсійного матеріалу Львівського патологоанатомічного бюро. Практична медицина. 2009;15(1):55-59.
4. Гаврилюк ОМ. Клітини, задіяні у процесах репарації при хронічних захворюваннях печінки: морфофункціональні особливості та методи виявлення. Гепатологія. 2010;4:17-25.
5. Гаврилюк ОМ, Гаврилюк ІМ, Чикайло ІП. Морфологічні прояви пошкодження та загоєння при хронічному токсичному ураженні печінки в експерименті. Патологія. 2010;7(2):90-4. *(Здобувач провела морфологічне дослідження печінки, описала та оцінила виявлені гістологічні зміни, разом зі співавторами проаналізувала та узагальнила одержані результати).*
6. Гаврилюк ОМ, Грицько РЮ. Значення вірусної інфекції для прогресування хронічних захворювань печінки, асоційованих із стеатозом. Інфекційні хвороби. 2010;3:75-9. *(Здобувач провела аналіз літератури, здійснила патоморфологічне дослідження, проаналізувала та узагальнила одержані результати).*
7. Гаврилюк ОМ. Особливості експресії імуногістохімічних маркерів клітин печінки, задіяних у репаративних процесах, на біопсійному та автопсійному матеріалі. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2011;3:40-4.
8. Гаврилюк ОМ. Особливості стромально-паренхіматозних співвідношень при цирозах печінки різної етіології. Патологія. 2011;8(1):83-6.
9. Гаврилюк ОМ. Септальний та перисинусоїдний фіброз печінки при цирозах різного походження. Вісник проблем біології і медицини. 2011;2(3):203-5.
10. Гаврилюк ОМ. Аналіз експресії судинних маркерів CD31 та CD34 при цирозі печінки за допомогою методів морфометрії. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2011;4:68-71.
11. Гаврилюк ОМ. Особливості експресії судинного маркера CD34 при цирозах печінки різного походження. Гепатологія. 2011;3(13):45-50.
12. Бісярін ЮВ, Гаврилюк ОМ, Абрагамович МО. Ультраструктурні зміни синусоїдних ендотеліоцитів при хронічному стеатогепатиті та цирозі печінки. Гепатологія. 2011;4(14):29-34. *(Здобувач провела аналіз літератури та сформулювала концепцію роботи, описала виявлені ультраструктурні зміни, разом зі співавторами проаналізувала одержані результати, підготувала статтю до друку).*

13. Гаврилюк ОМ. Особливості експресії маркера активації фіброгенних клітин α -SMA на різних стадіях розвитку хронічного гепатиту С. Гепатологія. 2012;1(15):50-5.

14. Гаврилюк ОМ. Особливості участі різних популяцій α -SMA-позитивних фіброгенних клітин у розвитку цирозу печінки, зумовленого неалкогольним стеатогепатитом та вірусним гепатитом С. Вісник проблем біології і медицини. 2012;2(1):163-5.

15. Гаврилюк ОМ. Особливості «дуктулярної реакції» при цирозі печінки, зумовленому неалкогольним стеатогепатитом та вірусним гепатитом С. Гепатологія. 2012;3(17):41-45.

16. Гаврилюк ОМ, Поспішіль ЮО. Морфологічні особливості ліпідних нагромаджень при неалкогольному та алкогольному стеатогепатиті. Вісник проблем біології і медицини. 2012;2(2):220-4. *(Здобувач провела аналіз літератури, описала морфологічні прояви стеатозу, проаналізувала та узагальнила одержані результати, підготувала статтю до друку).*

17. Гаврилюк ОМ. Морфологічні прояви фіброгенезу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія. 2013;1:31-9.

18. Гаврилюк ОМ. Поширеність хронічного стеатогепатиту та вірусного гепатиту (на базі аналізу автопсійного матеріалу). Львівський медичний часопис. 2013;19(2):34-8.

19. Гаврилюк ОМ, Буфан ММ. Патогістологічні прояви стеатозу при вірусному гепатиті С. Практична медицина 2013;19(1):102-7. *(Здобувач провела аналіз літератури, описала морфологічні прояви стеатозу, проаналізувала та узагальнила одержані результати, підготувала статтю до друку).*

20. Гаврилюк ОМ. Особливості фіброзу, репарації та тканинної реорганізації печінки при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Вісник проблем біології і медицини. 2013;2(100):283-7.

21. Гаврилюк ОМ. Морфологічні прояви стеатозу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія. 2013;2:60-66.

22. Гаврилюк ОМ. Особливості ангиогенезу при алкогольному, неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С за результатами імуногістохімічного дослідження. Морфологія*. 2013;7(4):18-22.

23. Гаврилюк ОМ. Особливості дуктулярної реакції при алкогольному, неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С за результатами імуногістохімічного дослідження. Патологія*. 2014;1(30):41-4.

24. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості клітинної інфільтрації тканини печінки при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Медицина транспорту України*. 2014;2:23-28.

25. Гаврилюк ЕМ. Экспрессия цитокератина 19 при хроническом стеатогепатите и вирусном гепатите С. Здоровоохранение. 2014;7:39-42.

26. Gavriilyuk OM. Interrelation between fibrosis, angiogenesis and ductular reaction in progression of chronic steatohepatitis (alcoholic and non-alcoholic) and hepatitis C virus infection. Pathologia*. 2014;2(31):66-9.

* Позначені видання, включені до міжнародних наукометричних баз.

27. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості прогресування та регресії проявів тканинної реорганізації при хронічному неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія*. 2016;2(32):39-47.

28. Гаврилюк ОМ. CD117-позитивні клітини/телоцити при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С: гістотопографічні та кількісні особливості Морфологія*. 2016;10(32):18-22.

29. Гаврилюк ОМ. Особливості популяції ЕрСМ+ гепатоцитів при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія*. 2017;2:26-33.

30. Гаврилюк ОМ. Регенерація печінки: провідні механізми та морфологічні прояви. Гепатологія. 2008;2:16-23.

31. Гаврилюк ОМ, Гаврилюк ІМ, Чикайло ІП. Вплив урсодезоксихолевої кислоти на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлоретаном. Гепатологія. 2009;4:54-58. *(Здобувач провела морфологічне дослідження печінки, описала та оцінила виявлені гістологічні зміни, разом зі співавторами проаналізувала та узагальнила одержані результати).*

32. Гаврилюк ОМ. Летальні ускладнення при цирозах печінки різної етіології В: Матеріали XIII конгресу світової федерації українських лікарських товариств; 2010 Вер-Жов 28-02; Львів. Львів; 2010. С. 677.

33. Гаврилюк ОМ, Канарейкін АВ, Грицко РЮ. Фіброз печінки: напівкількісні та морфометричні методи дослідження. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю і пленуму Асоціації інфекціоністів України «Труднощі діагностики і терапії інфекційних хвороб»; Суми, 2011 Трав 19-20; Тернопіль; 2011. С. 8-9. *(Здобувач провела аналіз літератури, розробила концепцію дослідження, здійснила морфологічне дослідження, аналіз та узагальнення результатів).*

34. Гаврилюк ОМ. Особливості ангіогенезу при неалкогольному стеатогепатиті та цирозі печінки. В: Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології»; 2011 Чер 17-18; Тернопіль. Тернопіль; 2011. С. 36-37.

35. Гаврилюк ОМ, Канарейкін АВ, Грицко РЮ. Особливості стеатозу печінки при ураженнях, зумовлених різними генотипами вірусу гепатиту С. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції інфекціоністів «Природно-осередкові інфекції»; 2012 Трав 17-18; Ужгород. Тернопіль; 2012. С. 47. *(Здобувач провела морфологічне дослідження, проаналізувала та узагальнила одержані результати у вигляді висновків, підготувала тези до друку).*

36. Чикайло ІП, Гаврилюк ІМ, Гаврилюк ОМ, Нектегаєв ІО. Вплив піоглару на морфофункціональний стан печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном. В: Матеріали IV Національного з'їзду фармакологів України; 2011 Груд 10-12; Київ. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2011;5:344-345. *(Здобувач провела морфологічне дослідження печінки, описала та оцінила виявлені гістологічні зміни, разом із співавторами проаналізувала та узагальнила одержані результати).*

37. Гаврилюк ОМ, Столяр ГЛ. Зміни в печінці при ожирінні (автопсійний матеріал). В: Матеріали XIV конгресу світової федерації українських лікарських

товариств. 2012 Жов 4-6 Донецьк. Донецьк; 2012. С. 410. *(Здобувач провела морфологічне дослідження, проаналізувала одержані результати та зробила узагальнення).*

38. Gavrilyuk O.M. Angiogenesis in the progression of nonalcoholic steatohepatitis. 4th International scientific Conference “Advances in pharmacology & pathology of the digestive tract”; 2012 Sept 26-28; Kiev. Kiev, 2012. P. 39.

39. Гаврилюк ОМ. Патогенез процесів загоєння та репарації при стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. В: Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання сучасної патоморфології», присвяченої 90-річчю з дня заснування кафедри патологічної і топографічної анатомії Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика; 2012 Жов 4-5; Київ. Патологія. 2012;3(26):103.

40. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості склерозу і дуктулярної реакції при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. В: Матеріали IX конгресу патологів України «Актуальні проблеми патології»; 2013 Трав 15-17; Луганськ. Український медичний альманах. 2013;16(3):167-168.

41. Гаврилюк ОМ. Морфологічні прояви фіброзу та репарації при неповному септальному цирозі печінки різного генезу. В: Матеріали XVI конгресу світової федерації українських лікарських товариств; 2016 Сер 8-23; Берлін-Київ. Берлін-Київ, 2016. С.233.

42. Гаврилюк ОМ, Шип ТВ. Препечінкова портална гіпертензія (опис випадку). Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії. В: Матеріали науково-практичної конференції; 2017 Квіт 26-27; Київ; Київ; 2017. С. 23-25. *(Здобувачем проведено дослідження мікропрепаратів, сформульовано висновки).*

43. Гаврилюк ОМ. Морфологічні прояви репарації та фіброзу при поєднанні хронічного алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С. В: Матеріали X конгресу патологів України «Актуальні проблеми патології»; 2018 Вер 27-28; Івано-Франківськ-Яремче. Івано-Франківськ-Яремче; 2018. С. 41-42.

44. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості репарації та фіброзу при поєднанні вірусного гепатиту С з алкогольним та неалкогольним стеатогепатитом. В: Матеріали XVII конгресу світової федерації українських лікарських товариств; 2018 Вер 20-22; Тернопіль. Тернопіль, 2018. С. 67.

45. Гаврилюк ОМ, Гаврилюк ІМ, Поспішіль ЮО, винахідники; Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, патентовласник. Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С. Патент України на корисну модель. №109581. 2016 Сер 25; реєстрація №281 4/17. *(Здобувачем розроблено схему морфологічної діагностики, разом зі співавторами оформлено патент, підготовлені матеріали для включення у «Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я у 2017 році»).*

46. Гаврилюк ОМ, Гаврилюк ІМ, винахідники; Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, патентовласник. Спосіб визначення фази хронічного алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного

гепатиту С. Патент України на корисну модель. №119816. 2017 Жов 10. *(Здобувачем розроблено оціночну шкалу, разом зі співавтором оформлено патент).*

47. Гаврилюк ОМ. Основні патоморфологічні критерії диференційної діагностики вірусного гепатиту С, алкогольного і неалкогольного стеатогепатитів на етапі циротичної трансформації, наукова робота. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 73932. 2017 Вер 25.

48. Поспішіль ЮО, Гаврилюк ОМ, Чайка ЮІ. Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, автори. Оцінка змін печінки з ознаками стеатозу. Інформаційний лист (проблема «Патологічна анатомія») № 158. 2010. *(Здобувач розробила основні морфологічні критерії дослідження тканини печінки при стеатозі та разом зі співавторами запропонувала варіант їх використання у практичній роботі патоморфолога).*

АНОТАЦІЯ

Гаврилюк О.М. Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті та гепатиті С. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, 2020.

В дисертації розроблено концепцію морфогенезу процесів репарації та фіброзу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. На основі патогістологічного, імуногістохімічного та електронномікроскопічного дослідження виявлено особливості репаративної регенерації, реорганізації мікроциркуляторного русла у перипортальній та інтралобулярній нішах регенерації та їх асоціації з гістотопографічними формами фіброзу (перичелюлярного, портосептального та перидуктального) у вигляді трьох морфогенетичних варіантів. Запропоновано перелік обґрунтованих напівкількісних патоморфологічних критеріїв, на основі яких розроблено диференційно-діагностичну модель алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту і вірусного гепатиту С та оціночну шкалу для визначення стадії та фази захворювання. В експерименті при хронічному профілактичному введенні щурам урсодезоксихолевої кислоти (разом з тетрахлорметаном) та піоглітазону виявлено антифібротичний ефект препаратів та встановлено прорегенераторний вплив піоглітазону.

Ключові слова: алкогольний стеатогепатит, неалкогольний стеатогепатит, вірусний гепатит С, репаративна регенерація, дуктулярна реакція, піоглітазон, урсодезоксихолева кислота.

АННОТАЦИЯ

Гаврилюк Е.М. Морфогенез фиброза и репарации при хроническом стеатогепатите и гепатите С. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия. – Львовский национальный медицинский университет имени Даниила Галицкого, Львов, 2020.

В диссертации разработана концепция морфогенеза процессов репарации и фиброза при хроническом стеатогепатите и вирусном гепатите С. На основании патогистологического, иммуногистохимического и электронномикроскопического исследования выявлены особенности репаративной регенерации, реорганизации микроциркуляторного русла в перипортальной и интралобулярной нишах регенерации и их ассоциации с гистотопографическими формами фиброза (periцеллюлярного, портосептального и перидуктального) в виде трех морфогенетических вариантов. Предложен перечень обоснованных полуколичественных патоморфологических критериев, на основании которых разработана дифференциально-диагностическая модель алкогольного, неалкогольного стеатогепатита и вирусного гепатита С, а также оценочная шкала для определения стадии и фазы заболевания. В эксперименте при хроническом профилактическом введении крысам урсодезоксихолевой кислоты (вместе с тетрахлорметаном) и пиоглитазона выявлен антифибротический эффект препаратов и установлено прорегенераторное влияние пиоглитазона.

Ключевые слова: алкогольный стеатогепатит, неалкогольный стеатогепатит, вирусный гепатит С, репаративная регенерация, дуктулярная реакция, пиоглитазон, урсодезоксихолевая кислота.

SUMMARY

Gavrilyuk O.M. Morphogenesis of fibrosis and repair in chronic steatohepatitis and viral hepatitis C. – On the right of the manuscript.

The dissertation for the scientific degree Doctor of Medical Science in the speciality 14.03.02 – Pathologic Anatomy – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, 2020.

The thesis represents theoretical generalization and proposes the new resolution of the scientific problem concerning elaboration of the repair/fibrosis morphogenesis conception and rationales application of morphologic diagnostical criteria in late stage alcoholic steatohepatitis (ASH), nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and HCV infection (HCV).

The retrospective study for the analysis of liver cirrhosis occurrence is based on the materials of autopsies performed in Lviv regional hospital for 10 years (2001-2010) and includes 1237 cases of liver cirrhosis. In the open prospective study 321 autopsies and 96 biopsies of liver tissue from patients with late stage ASH, NASH and HCV are included for the characterization of the main morphologic signs of reparative regeneration, angiogenesis, fibrogenesis. The morphologic examination is performed using histologic, histochemical methods, immune histochemistry, electron microscopy, stereometric image analysis and statistics. The experiment was performed on sixty laboratory male rats weighing approximately 180–220. All the experimental procedures were approved by the Ethics Committee of Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

The retrospective analysis shows prevalence of alcoholic lesions (41,5 – 62,9%, mean – 53,03%) and tendency to increase HCV frequency. NASH was more rare but its predominance in combined diseases (commonly with “nutmeg liver” and alcoholic steatohepatitis) increased proportion of this disorder up to 1/3 of all cases. Histologic

revision of slides in the cases of liver cirrhosis diagnosed by clinicians and pathomorphologists in 36,5% results in new interpretation of the morphologic findings – incomplete septal cirrhosis was recognized.

The pathohistologic and immunohistochemical examination reveals at the late stage of ASH, NASH and HCV the highest reparative activity in the septal compartment (corresponds to periportal niche) where these indexes (EpCAM, EpCAMH and CK19) exceed the same markers in the lobular compartment 2-4 times and histologically are associated mainly with ductular reaction. These morphologic findings are accompanied by prominent septal neoangiogenesis (septal CD34+ quadruple that of lobular) with anastomoses and hepatic artery branches formation. In the parenchymal compartment (intralobular niche) groups of EpCAM+ immature hepatic cells and single ductules are revealed accompanied by the low septal and moderate lobular vascular indexes, representing arterialization and central portalization processes. Electron microscopy in the both compartments shows a spectrum of changes in the sinusoidal endotheliocytes ranging from dysfunction with predominance of hypofunction to alteration of variable degree and intensity.

The analysis of correlations between the main morphologic indexes of reparative regeneration, angiogenesis, fibrogenesis allows to select three repair/fibrosis morphogenetic patterns. In the first variant (R1) low reparative activity (EpCAM, EpCAMH and CK19 significantly lower) mostly in the lobular compartment with prevailing differentiation into hepatocytes (EpCAMH=0,12; $p<0,05$) is revealed. Pericellular fibrosis with high lobular and low septal indexes of angio- and fibrogenesis; pronounced compensatory septal reactions (CK19+ ductules) and the highest level of telocyte marker expression (CD117=2,13 $\pm$ 0,04; $p<0,05$). The second morphogenetic variant of repair/fibrosis (R2) is characterized by moderate reparative activity in the both tissue compartments: markers of reparative regeneration and angiogenesis (EpCAMG, EpCAMH, CK19, CD31S, CD34S, CD34P) approximate to that of pattern R1 and α -SMAG, α -SMAS, Ki67S, Ki67P, CD34G values come up to such indexes in pattern R3. Portoseptal fibrosis with ingrowth into lobular compartment, prominent adaptive reactions and high value of telocyte marker are revealed. The third variant of repair/fibrosis (R3) high reparative activity (EpCAM, EpCAMH and CK19 significantly higher) mostly in the septal compartment with prevalence of cholangiocyte-type differentiation is associated with periductal fibrosis, high septal and low lobular values of fibro- and angiogenesis and low expression of telocyte marker (CD117=1,16 $\pm$ 0,05; $p<0,05$).

The complex analysis of late stage ASH, NASH and HCV morphologic signs includes evaluation of (1) predominant morphogenetic pattern, (2) specific features of tissue reorganization and fibrosis regression, (3) degree and specificity of activity signs (alteration/cellular infiltration). In ASH prevails morphogenetic pattern 2 with portoseptal fibrosis (68,9%, $p<0,05$) and diffuse ductular reaction (90,6%, $p<0,01$). Among the signs of tissue reorganization large nodules (83%, $p<0,05$) associated with portoportal and portocentral septa with severe vascularization are the most common. Signs of fibrosis regression include thin fragmented septa and thick collagen bundles/adhesions. In NASH the most common is morphogenetic variant R1, but significant predominance of diffuse ductular reaction (92,2%, $p<0,01$) is associated with combination of pericellular (60,8%,

$p > 0,1$) and portoseptal (32,4%, $p < 0,05$) fibrosis. Tissue reorganization is limited by septal sclerosis (90,2%, $p < 0,01$) with portoportal septa and is accompanied by significant predominance of thin perforated septa (68,6%, $p < 0,05$). In HCV predominates third morphogenetic pattern R3 (periductal fibrosis – 84,2%, $p < 0,05$ and periseptal ductular reaction – 86,1%, $p < 0,05$). Tissue reorganization is presented mostly by macronodularity with portocentral septa and moderate vascularization. Signs of fibrosis regression include intraseptal hepatocytes and approximation of portal tracts and central veins

It has been established that ductular reaction is an important diagnostic criteria at the late stage ASH, NASH and HCV and its statistical significance is higher than that of other morphologic features including signs of tissue reorganization and fibrosis. Another important conclusion concerns diagnostic significance of typical for every disease manifestations of alteration and cellular infiltration. It has been shown that these features commonly described at acute stage persist and are important at the late stage of chronic hepatitis also. Using methods of multiple regression reliable diagnostic criteria of the three studied diseases are found. The resulting equation of our models shows the best informational predictive values in the HCV model (sensitivity 89,33%, specificity 85,47%, accuracy 86,41%).

Mechanisms of alteration, repair and fibrosis are studied in two experiments with prophylactic injection of the remedies – pioglytason and ursodesoxicholic acid – simultaneously with the pathologic factor (tetrachlormetan), before the development of cirrhosis. It has been shown that UDCA decreased degree of alteration and fibrosis; pioglytason has antifibrotic and mild proregenerative effect.

Key words: alcoholic steatohepatitis, nonalcoholic steatohepatitis, viral hepatitis C, reparative regeneration, ductular reaction, pioglytason, ursodesoxicholic acid.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АСГ	алкогольний стеатогепатит
ВГС	вірусний гепатит С
ДР	дуктулярна реакція
ЕЦМ	екстрацелюлярний матрикс
КК	клітини Купфера
ЛНМУ	Львівський національний університет імені Данила Галицького
ЛОПАБ	Львівське обласне патологоанатомічне бюро
МС	метаболічний синдром
НАЖХП	неалкогольна жирова хвороба печінки
НАСГ	неалкогольний стеатогепатит
ПЗ	поєднані захворювання
ПП	поєднана патологія
НСЦ	неповний септальний цироз
ПДФ	перидуктальний фіброз
ПЗК	печінкові зірчасті клітини
ПСФ	портосептальний фіброз
ПТ	портальний тракт
ПЦФ	periцелюлярний фіброз
СЕК	синусоїдні ендотеліальні клітини
СК-ніша	ніша стовбурових клітин
УДХК	урсодезоксихолева кислота
ХЗП	хронічні захворювання печінки
ЦВ	центральна вена
ЦП	цироз печінки
PPAR	рецептор, активований пероксисомним проліфератором