

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

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

222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.М.Гаврилюк

Науковий консультант:
Поспішіль Юрій Олексійович
доктор медичних наук, професор

Львів – 2019

АНОТАЦІЯ

Гаврилюк О.М. Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному гепатиті С. – Кваліфікаційна наукова праця 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, 2019.

При хронічних захворюваннях печінки (ХЗП) високоспеціалізована паренхіма органу втрачає функціональні можливості, заміщується сполучною тканиною та підлягає реорганізації, тобто розвивається цироз. Цей процес є багатоетапним і включає метаболічні розлади, нерідко у вигляді стеатозу, порушення імунного статусу, зокрема зміни спектру цитокінів з антизапального на прозапальний, пізніше з'являються ознаки пошкодження та клітинної інфільтрації, до яких в подальшому приєднуються процеси фіброзу та репарації. В останні роки клініцисти зустрілись з наростаючими труднощами у категоризації саме пізніх стадій ХЗП. Це стало наслідком усвідомленням того, що фіброз у циротичній печінці (і навіть ранні стадії самого цирозу) можуть підлягати регресії після відповідного лікування. Протягом останніх 20 років отримано беззаперечне підтвердження оборотності фіброзу, як в експериментальних роботах так і на клінічному матеріалі. Це призвело до переосмислення трактування діагнозу «цироз», який тепер розцінюється не як вирок, а як стадія захворювання, яка підлягає і потребує лікування. Тому особливу увагу дослідників на сьогодні привертають пізні стадії ХЗП, як в плані покращення діагностики, так і в плані пошуку потенційних мішеней фармакокорекції.

Серед захворювань, які на сьогодні найчастіше зумовлюють розвиток цирозу, можна виділити алкогольний стеатогепатит (АСГ), неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) та вірусний гепатит С (ВГС). Вагомим аргументом на користь актуальності вивчення даної патології є факт зростання чисельності

хворих, особливо на НАСГ та ВГС, яке відмічається у багатьох регіонах, включаючи Україну.

В основі концепції дослідження була гіпотеза, згідно якої фіброз, який традиційно вважається основною морфологічною ознакою пізніх стадій ХЗП, є лише вершиною айсбергу. Надмірне утворення сполучної тканини є тільки одним із проявів складних клітинно-матриксних взаємодій, які розвиваються у ділянках ніш регенерації. Тому було проведено пошук інших ознак – проявів репаративної регенерації, перебудови мікроциркуляторного русла, та їх типових асоціацій із вже відомими гістотопографічними формами фіброзу – у вигляді морфогенетичних варіантів (патернів). Виявлення ж переважання одного з виділених морфогенетичних варіантів репарації/фіброзу при окремих нозологічних формах може слугувати важливим диференційно-діагностичним критерієм на пізніх стадіях розвитку цих захворювань.

У відповідності до цієї гіпотези дизайн роботи включав чотири етапи: 1) Ретроспективне дослідження автопсійного матеріалу для визначення особливостей поширеності цирозу печінки. 2) Характеристика основних морфологічних проявів репаративної регенерації, ангіогенезу та виділення морфогенетичних варіантів процесів репарації та фіброзу. 3) Оцінка особливостей морфологічних проявів репарації та фіброзу при різних нозологічних формах (алкогольний, неалкогольний стеатогепатит та вірусний гепатит С). 4) Вивчення впливів проглітазону та урсодезоксихолевої кислоти на розвиток процесів фіброзу та репарації в експерименті.

Ретроспективне дослідження базувалось на матеріалі автопсій виконаних у Львівському обласному патологоанатомічному бюро за десять років (2001-2010) і включало 1237 випадків з ознаками цирозу та циротичної трансформації печінки. У відкрите проспективне дослідження було включено 351 автопсійних та 92 біопсійних досліджень тканини печінки хворих на хронічний стеатогепатит і вірусний гепатит С. Для вивчення морфологічних проявів процесів репарації та диференційної діагностики захворювань використано гістологічне дослідження, імуногістохімічне

дослідження з використанням набору відповідних маркерів, електронна мікроскопія, морфометричний аналіз зображень та відповідні статистичні методи обробки результатів. 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

На основі аналізу автопсій, проведених за десять років, показано, що серед захворювань, які зумовили розвиток цирозу печінки, переважає алкогольне ураження (41,5 – 62,9%, середнє – 53,03%). Спостерігається тенденція до зростання частки вірусного гепатиту С та поєднання вірусних гепатитів С і В. 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. Значна частка випадків гістологічно виявленого неповного септального цирозу печінки (36,5%) при попередньо діагностованому цирозі (клінічно та патологоанатомічно) свідчить про необхідність категоризації пізніх стадій хронічних захворювань печінки.

Імуногістохімічне дослідження включало маркери основних клітинних популяцій: епітеліальні – ЕрСAM, СК19; ендотеліальні (порто/септальні та новоутворені судини) – CD31, CD34; фіброгенні (печінкові зірчасті клітини, фібробласти) – α -SMA, Ki67; регулятори (макрофаги) – CD68, телоцити – CD117. Оцінювалась відносна площа, яку займали клітини з позитивною експресією маркерів у трьох групах в залежності від переважаючого типу фіброзу: перичелюлярного, перисептального та перидуктального. Вибір типу фіброзу базувався на наступних положеннях: (1) попередній скринінг показав переважання саме цих форм фіброзу у досліджуваному матеріалі; (2) дані форми мають підґрунтя у вигляді вивчених патогенетичних механізмів – окисний стрес, активація механізмів загоснення, порушення епітеліально-мезенхімальних взаємодій; (3) терміни, вибрані серед чисельних синонімів,

відображають особливості, важливі для даного дослідження. Більшість із досліджуваних процесів відбувається у спеціалізованих ділянках – нішах регенерації. Із чотирьох ніш, які розрізняють в печінці, ми зупинились на двох – перипортальній та інтралобулярній. Більшість показників оцінювались у двох компартментах – септальному (інтерстиційному) та лобулярному (паренхіматозному), які відповідають нішам регенерації.

Патогістологічно та імуногістохімічно 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 CK19) перевищують лобулярні показники в 2-4 рази і гістологічно асоціюються переважно із дуктулярною реакцією. Зміни супроводжуються вираженим септальним неоангіогенезом (септальний CD34+ в чотири рази вищий) з утворенням анастомозів та розгалужень печінкової артерії. У паренхіматозному компартменті (інтралобулярна ніша регенерації) виявляються групи ErCAM+ незрілих печінкових клітин та поодинокі дуктули, які супроводжуються низькими показниками лобулярного ангіогенезу, що відповідають процесам центральної артеріалізації та порталізації. В обох компартментах виявляються ураження синусоїдних ендотеліоцитів, які включають спектр проявів дисфункції, серед яких переважають ознаки пониженої функціональної активності, та пошкодження різного ступеня розвитку та інтенсивності

При першому варіанті виявляється низька репаративна активність (ErCAM, ErCAMH та CK19 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-пристосувальні реакції у септах (CK19) та максимальна експресія маркера телоцитів (CD117=2,13 $\pm$ 0,04; $p<0,05$).

Для другого морфогенетичного варіанту репарації та фіброзу характерні помірна репаративна активність із задіяванням обох тканинних компартментів: маркери репаративної регенерації та ангіогенезу (ErCAMG, ErCAMH, CK19, CD31S, CD34S, CD34P) є ближчими до значень цих показників в групі P1, а значення α -SMAG, α -SMAS, Ki67S, Ki67P, CD34G наближаються до значень таких же показників при P3; перисептальний склероз з проникненням у лобулярний компартмент; виражені септальні адаптативні реакції та важлива регуляторна роль телоцитів (експресія CD117 майже ідентична такій же при P1).

При третьому варіанті репарації та фіброзу висока репаративна активність (ErCAM, ErCAMH та CK19 значуще вищі) переважно у септальному компартменті з домінуючим напрямком диференціюванням у холангіоцити (CK19) асоціюється з перидуктальним склерозом, високими септальними та мінімальними лобулярними маркерами фібро- та ангіогенезу та незначною експресією маркера телоцитів ($CD117=1,16\pm0,05$; $p<0,05$).

Вперше для оцінки особливостей репарації та фіброзу при різних нозологічних формах було проведено комплексний аналіз частоти морфологічних проявів АСГ, НАСГ, ВГС та ПЗ, які відображали (1) переважаючий морфогенетичний варіант, (2) особливості реорганізації тканини та регресії ознак фіброзу/перебудови та (3) ступінь активності (пошкодження/клітинна інфільтрація).

При АСГ переважає морфогенетичний варіант репарації 1 типу із портосептальним фіброзом (68,9%, $p<0,05$) та дифузною ДР (90,6%, $p<0,01$). Серед ознак тканинної реорганізації виявляються великі вузли (83,0%, $p<0,05$) асоційовані з портопортальними та портоцентральною септами з вираженою васкуляризацією. Із проявів регресії/реорганізації домінують тонкі, перфоровані септи та адгезії/колагенові пучки ($p>0,05$). Значуще частіше спостерігаються типові для АСГ ознаки пошкодження/інфільтрації: дифузний, максимально виражений стеатоз (26,4%, $p<0,05$), вогнища

гепатоцитів, асоційовані з інфільтрацією нейтрофілами (40,6%, $p < 0,05$). Крім того виявлялась виражена перисептальна інфільтрація (68,9%, $p < 0,05$).

Для НАСГ найбільш характерним є перший морфогенетичний варіант репарації, але при значущому переважанні дифузної ДР – 92,2%, $p < 0,01$ спостерігається комбінація перицелюлярного (60,8%, $p > 0,1$) і портосептального (32,4%) фіброзу. Тканинна перебудова обмежується септальним склерозом (90,2%, $p < 0,01$) з портопортальними септами, а серед ознак регресії фіброзу/реорганізації значуще домінували тонкі перфоровані септи (68,6%, $p < 0,05$). 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 ВГС переважає морфогенетичний варіант репарації 3 типу (перидуктулярний фіброз – 84,2%, $p < 0,05$ та перисептальна ДР – 86,1%, $p < 0,05$). Із ознак тканинної перебудови домінують великі вузли, портоцентральні септи з помірною васкуляризацією. Серед проявів регресії фіброзу/реорганізації незначуще переважають інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ. Із типових для ВГС ознак пошкодження/інфільтрації значуще частішою є 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%, $p < 0,05$).

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

За допомогою методів множинної регресії було виявлено достовірні діагностичні критерії для трьох досліджуваних захворювань (пізні стадії). Їх поєднання в залежності від діагнозу відображено у результуючому рівнянні нашої моделі:

$$0,127475 * \text{поширеність стеатозу} - 0,421991 * \text{інтралобулярні інфільтрати} + 0,460191 * \text{балонні зміни гепатоцитів} - 0,328519 * \text{перисептальний інфільтрат} + 0,703488 * \text{дуктулярна реакція} + 1,266195 = \text{ДІАГНОЗ}$$

Ці дані, а також розроблені автором диференційно-діагностичні таблиці, можуть рекомендуватись для використання у практичній роботі патологоанатомів.

На четвертому етапі роботи було проведено дослідження механізмів репарації та фіброзу в експерименті. Оскільки процеси фіброзу та репарації зумовлюють розвиток цирозу печінки, перспективними на сьогодні є дослідження фармакотерапевтичної корекції цих механізмів. Ми зупинились на двох препаратах – піоглітазоні та урсодезоксихолевій кислоті - , для яких вже є доведеним антифібротичний ефект. Обидва препарати запобігають активації ПЗК, але через різні механізми: піоглітазон шляхом взаємодії з PPAR γ , а УДХК завдяки антиапоптозному та антиоксидантному ефектам. Особливістю даного дослідження було профілактичне введення препаратів – одночасно з пошкоджуючим фактором (тетрахлорметаном), а не після формування цирозу. Одержані результати показали наявність значущих відмінностей у вираженості фіброзу, проявів пошкодження та репарації у групах лікованих та нелікованих тварин в обох експериментах, що свідчить про важливість подальших досліджень цих сполук.

Таким чином у дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та запропоноване нове вирішення наукової проблеми, яке полягає у розробці концепції морфогенезу процесів репарації і фіброзу при хронічному гепатиті та обґрунтуванні використання морфологічних

діагностичних критеріїв АСГ, НАСГ та ВГС на пізніх стадіях розвитку захворювань.

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

ANNOTATION

Gavrilyuk E.M. Morphogenesis of fibrosis and repair in chronic steatohepatitis and viral hepatitis C. – Qualifying scientific research on the right of manuscript.

Thesis for the scientific degree Doctor of medical science in the speciality 14.03.02 – Pathologic anatomy – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, 2019

In chronic liver diseases specialized organ parenchyma lose its functional abilities and gradually is replaced by connective tissue. Such reorganization results in cirrhosis. Process is multi-stage and includes metabolic disorders (steatosis), immune derangements (changes in cytokine spectrum from anti-inflammatory to proinflammatory), alteration, cellular infiltration and later – repair and fibrosis. In recent years scientists have met with increasing difficulties in categorization of the late stages of chronic liver diseases. It was associated with realization of the fact that fibrosis in cirrhotic liver (and even early stages of cirrhosis) may regress after adequate therapy. Reversibility of fibrosis was confirmed in experimental and clinical researches during last 20 years and now cirrhosis is considered as a stage of disease that must be treated and not as a sentence. So today late stages of chronic liver diseases engage researches who try to improve diagnostical methods and to find new targets for pharmacocorrection.

Alcoholic steatohepatitis, nonalcoholic steatohepatitis and viral hepatitis C are nowadays the most common diseases which results in development of cirrhosis. Significance of their study is approved by the increasing frequency of these nosologies in many regions including Ukraine.

Conception of the research is based on the hypothesis according to which fibrosis, traditionally the main sign of the late stage liver disease, is only the top of the iceberg. Excess synthesis of connective tissue components is only a single sign of a complex matrix-cellular interactions in the niche regeneration. In our research we examine morphologic features of regeneration, microvasculature reorganization, fibrosis and their typical associations with well known histotopographic forms of fibrosis – morphogenetic variants (patterns). If one of the morphogenetic variants would prevail in the specific disease it may be used for the diagnosing and differentiation with other nosologic forms.

In accordance to this hypothesis design of the research include four steps: 1) Retrospective study of autopsy material for analysis of liver cirrhosis occurrence. 2) Characterization of the main morphologic signs of reparative regeneration, angiogenesis, fibrogenesis and selection of the repair/fibrosis morphogenetic patterns. 3) Evaluation of the specific morphologic features of repair and fibrosis in different diseases (alcoholic steatohepatitis, nonalcoholic steatohepatitis and viral hepatitis C). 4) Study of the pioglitazone and ursodesoxycholic acid effects on the repair and fibrosis in experiment.

Retrospective study was based on the materials of autopsies performed in Lviv regional hospital during 10 years (2001-2010) and includes 1237 cases of liver cirrhosis. In open prospective study 351 autopsies and 92 biopsies of liver tissue from patients with alcoholic steatohepatitis, nonalcoholic steatohepatitis and viral hepatitis C were included. Morphologic examination was performed using histologic, histochemical methods, immune histochemistry, electron microscopy, stereometric image analysis and statistics. The experiment is 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.

Retrospective analysis of the autopsies with liver cirrhosis performed during the decade shows prevalence of alcoholic lesions (41,5 – 62,9%, mean – 53,03%). Tendency to increase viral hepatitis C frequency was revealed. Nonalcoholic

steatohepatitis 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% resulted in new interpretation of the morphologic findings – incomplete septal cirrhosis was recognized.

Immunohistochemistry included markers of the main cellular populations: epithelial – EpCAM, CK19; endothelial – CD31, CD34; fibrogenous – α -SMA, Ki67; regulators – CD68, CD117. Relative square of the cells with positive marker expression was evaluated and compared in three groups depending on the predominant histotopographic form of fibrosis: pericellular, portoseptal and periductal. Selection of these types may be appealed to the following statements: (1) primary screening show prevalence of these forms in our material; (2) pathogenetic mechanisms were described for the selected forms of fibrosis; (3) choice of the terms depends on the peculiar features important for our research. Most of the processes develop in the specialized areas – regenerative niches. We choose two – periportal and intralobular – from four niches described in the liver. Immunohistochemical indexes were studied in two tissue compartments – septal (interstitial) and lobular (parenchymal) respectively to these niches.

Pathohistologic and immunohistochemical examination revealed at the late stage of alcoholic, nonalcoholic steatohepatitis and viral hepatitis C 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 were associated mainly with ductular reaction. These morphologic findings were 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 were revealed accompanied by the low septal and moderate lobular vascular indexes, representing arterialization and central portalization processes. Electron

microscopy in the both compartments show a spectrum of changes in the sinusoidal endotheliocytes ranging from dysfunction with predominance of hypofunction to alteration of variable degree and intensity.

Analysis of correlations between the main morphologic indexes of reparative regeneration, angiogenesis, fibrogenesis allow 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; $p<0,05$) was 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) was 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 came up to such indexes in pattern R3. Portoseptal fibrosis with ingrowth into lobular compartment, prominent adaptive reactions and high value of telocyte marker were 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 was 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; $p<0,05$).

For the first time complex analysis of late stage ASH, NASH and VHC morphologic signs was performed in order to evaluate (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 prevail 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 (83,0%, $p<0,05$) 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. Typical features of ASH activity were found: diffuse severe steatosis (26,4%, $p<0,05$), foci of ballooning hepatocytes with adjacent neutrophils (40,6%, $p<0,05$). In addition severe periseptal infiltration was present (68,9%, $p<0,05$).

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%, $p<0,05$). Among the typical for NASH signs of activity moderate diffuse (46,1%, $p<0,05$) or centrolobular (29,4,5%, $p<0,05$) steatosis, single hepatocytes with ballooning changes and mild intralobular (94,1%, $p<0,01$) periseptal infiltration (92,2%, $p<0,01$) are revealed.

In VHC predominant 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 approxiamption of portal tracts and central veins. Among the typical signs of VHC activity only moderate periseptal infiltration shows significant prevalence (54,5%, $p<0,05$). Besides this single foci of ballooning hepatocytes (94,1%, $p<0,05$) are revealed and multiple intralobular infiltrates are found only in a half of cases (92,2%, $p<0,01$).

For the first time it was established that ductular reaction is an important diagnostic criteria at the late stage ASH, NASH and VHC 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 was 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 were found. Their combinations depending on the diagnosis were presented in the resulting equation of our models:

$$0,127475 * \text{steatosis spreading} - 0,421991 * \text{intralobular infiltrates} + 0,460191 * \text{ballooning hepatocytes} - 0,328519 * \text{periseptal infiltration} + 0,703488 * \text{ductular reaction} + 1,266195 = \text{DIAGNOSIS}$$

It was shown that the best informational predictive values are seen in the VHC model (sensitivity 89,33%, specificity 85,47%, accuracy 86,41%).

This equation and tables for determination of the stage and phase of the disease were elaborated and recommended for the pathomorphologic practice.

At the last fourth step study of repair and fibrosis specific mechanisms were performed in the experimental research. We choose two drugs – pioglytason and ursodesoxicholic acid – and examine their effects on the mechanisms of alteration, repair and fibrosis. For both medicaments antifibrotic effect mediated by hepatic stellate cells has been described: pyoglytason interact with PPAR γ and UDCA shows antiapoptotic and antiooxidative effects. Speciality of our research depends on the prophylactic injection of the remedy simultaneously with the pathologic factor (tetrachlormetan) before the development of cirrhosis. In the both experiments significant differences in severity of fibrosis, alteration and repair in the two groups (untreated and treated animals) were revealed. UDCA decreased degree of alteration and fibrosis; pioglytason has antifibrotic and mild proregenerative effect.

Thesis represents theoretical generalization and proposes the new resolution of the scientific problem concerning development of the repair/fibrosis morphogenesis conception and rationales application of morphologic diagnostical criteria in late stage ASH, NASH and VHC.

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

Список публікацій за темою дисертації:

1. Гаврилюк ОМ. Етіологічні фактори цирозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2009;2:22-25.
2. Гаврилюк ІМ, Гаврилюк ОМ, Чикайло ІП, Нектегаєв ІО. 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.
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):90-94.
6. Гаврилюк ОМ, Грицко РЮ. Значення вірусної інфекції для прогресування хронічних захворювань печінки, асоційованих із стеатозом. Інфекційна патологія. 2010;3:75-79.
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;3:40-44.
8. Гаврилюк ОМ. Особливості стромально-паренхіматозних співвідношень при цирозах печінки різної етіології. Патологія. 2011;8(1):83-86.
9. Гаврилюк ОМ. Септальний та перисинусоїдний фіброз печінки при цирозах різного походження. Вісник проблем біології і медицини. 2011;2(3):203-205.

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;3:45-50.
12. Бісярін ЮВ, Гаврилюк ОМ, Абрагамович МО. Ультраструктурні зміни синусоїдних ендотеліоцитів при хронічному стеатогепатиті та цирозі печінки. Гепатологія. 2011;4:29-34.
13. Гаврилюк ОМ. Особливості експресії маркера активації фіброгенних клітин α -SMA на різних стадіях розвитку хронічного гепатиту С. Гепатологія. 2012;1:50-55.
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):163-165.
15. Гаврилюк ОМ. Особливості «дуктулярної реакції» при цирозі печінки, зумовленому неалкогольним стеатогепатитом та вірусним гепатитом С. Гепатологія. 2012;3:41-45.
16. Гаврилюк ОМ, Поспішіль ЮО. Морфологічні особливості ліпідних нагромаджень при неалкогольному та алкогольному стеатогепатиті. Вісник проблем біології і медицини. 2012;2(2):220-224.
17. Гаврилюк ОМ. Морфологічні прояви фіброгенезу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія. 2013;1:31-39.
18. Гаврилюк ОМ. Поширеність хронічного стеатогепатиту та вірусного гепатиту (на базі аналізу автопсійного матеріалу). Львівський медичний часопис. 2013;19(2):34-38.
19. Гаврилюк ОМ, Буфан ММ. Патогістологічні прояви стеатозу при вірусному гепатиті С. Практична медицина 2013;19(1):102-107.

20. Гаврилюк ОМ. Особливості фіброзу, репарації та тканинної реорганізації печінки при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Вісник проблем біології і медицини. 2013;2(1):283-287.
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;1:41-44.
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. Здравоохранение. 2014;7:39-42.
26. Gavrilyuk OM. Interrelation between fibrosis, angiogenesis and ductular reaction in progression of chronic steatohepatitis (alcoholic and non-alcoholic) and hepatitis C virus infection. Pathologia. 2014;2:66-69.
27. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості прогресування та регресії проявів тканинної реорганізації при хронічному неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія. 2016;1:39-47.
28. Гаврилюк ОМ. CD117-позитивні клітини/телоцити при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С: гістотопографічні та кількісні особливості Морфологія. 2016;30(4):18-22.
29. Гаврилюк ОМ. Особливості популяції ЕрСАН+ 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.

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.

34. Гаврилюк ОМ. Особливості ангиогенезу 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.

36. Чикайло ІП, Гаврилюк ІМ, Гаврилюк ОМ, Нектегаєв ІО. Вплив піоглару на морфофункціональний стан печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном. В: Матеріали ІУ Національного з'їзду фармакологів України; 2011 Груд 10-12; Київ. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2011;5:344-345.

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.

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;3:103.

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.

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.

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.

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.

ЗМІСТ

ЗМІСТ	21
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ	
І ТЕРМІНІВ	24
ВСТУП	26
РОЗДІЛ 1 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	36
1.1 Епідеміологія хронічних захворювань печінки	36
1.2 Сучасні погляди на морфогенез процесів фіброзу та репарації ...	38
1.2.1 Механізми та морфологічні прояви репарації	39
1.2.2 Механізми та морфологічні прояви фіброгенезу.....	48
1.3 Міжклітинні та клітинно-матриксні взаємодії у нішах регенерації, задіяні у процесах репарації та фіброзу	54
1.4 Сучасні теорії патогенезу алкогольного, неалкогольного стеатогепатитів та вірусного гепатиту С	61
1.5 Діагностичні критерії для морфологічного дослідження тканини печінки при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С.....	68
1.6 Значення експериментальних досліджень для вивчення патогенезу хронічних захворювань печінки	75
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	78
2.1 Матеріали дослідження	78
2.1.1 Загальна характеристика матеріалу	78
2.1.2 Характеристика досліджених груп	80
2.1.3 Характеристика матеріалу експериментальних досліджень	83
2.2 Методологія морфологічного дослідження.....	84
2.2.1 Дослідження архівного матеріалу.....	84
2.2.2 Дослідження власного матеріалу.....	84
2.2.3 Методики патоморфологічного дослідження	87
2.2.4 Методики експериментального дослідження	90

2.2.5	Методи статистичної обробки отриманих даних	91
РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕНOSTІ ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ		
(АНАЛІЗ АРХІВНОГО АВТОПСІЙНОГО МАТЕРІАЛУ)		94
3.1	Частота цирозу печінки за матеріалами автопсій	94
3.2	Статеві-вікові особливості при цирозах печінки впродовж 2001-2010 р.р.....	96
3.3	Етіологічний профіль цирозу печінки	97
3.4	Особливості прогресування хронічного гепатиту у цироз при різних захворюваннях	103
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНІ ПРОЯВИ І МОРФОГЕНЕЗ РЕПАРАЦІЇ ТА ФІБРОЗУ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМУ, НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОГЕПАТИТІ, ВІРУСНОМУ ГЕПАТИТІ С		
		107
4.1	Морфологічні прояви репаративної регенерації	111
4.2	Морфологічні прояви фібро- та ангіогенезу	122
4.3	Ультраструктурні зміни синусоїдних ендотеліальних клітин при прогресуванні процесів репарації та фіброзу.....	151
4.5	Морфологічні особливості процесів, асоційованих із репарацією та фіброзом	157
4.6	Морфогенетичні варіанти репарації та фіброзу.....	165
РОЗДІЛ 5 МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ РЕПАРАЦІЇ ТА ФІБРОЗУ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМУ, НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОГЕПАТИТІ ТА ВІРУСНОМУ ГЕПАТИТІ С		177
5.1	Частота морфологічних проявів репарації, фіброзу, тканинної реорганізації, регресії фіброзу/перебудови та пошкодження/інфільтрації при неалкогольному, алкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С	177
5.2	Частота морфологічних проявів репарації, фіброзу, тканинної реорганізації, регресії фіброзу/перебудови та пошкодження/інфільтрації при різних варіантах поєднання	190

неалкогольного, алкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С	
5.3 Морфологічні критерії діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії розвитку захворювань	195
РОЗДІЛ 6 ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЇ КИСЛОТИ ТА ПІОГЛІТАЗОНУ НА РОЗВИТОК ПРОЦЕСІВ ФІБРОЗУ ТА РЕПАРАЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ	225
6.1 Морфологічні прояви пошкодження та загоєння при хронічному токсичному ураженні печінки в експерименті	225
6.2 Вплив урсодезоксихолевої кислоти на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном	238
6.3 Вплив піоглітазону на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном	240
РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	245
7.1 Поширеність хронічного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на основі аналізу автопсійного матеріалу.....	245
7.2 Морфогенетичні варіанти репарації та фіброзу	248
7.3 Морфологічні прояви алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії захворювання	285
7.4 Критерії діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту, вірусного гепатиту С на пізній стадії захворювання	314
7.5 Вплив урсодезоксихолевої кислоти та піоглітазону на процеси фіброзу та репарації в печінці при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном	325
ВИСНОВКИ	332
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	337
ДОДАТКИ	387

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АСГ	алкогольний стеатогепатит
ВГВ	вірусний гепатит В
ВГС	вірусний гепатит С
ВЖК	вільні жирні кислоти
ДРК	дуктулярні реактивні клітини
ЕМТ	епітеліально-мезенхімальні транзиції
ЕЦМ	екстрацелюлярний матрикс
ІМТ	індекс маси тіла
КК	клітини Купфера
ЛПНЦ	ліпопротеїни низької щільності
ЛПДНЦ	ліпопротеїни дуже низької щільності
МЕТ	мезенхімально-епітеліальні транзиції
МС	метаболічний синдром
НАЖХП	неалкогольна жирова хвороба печінки
НАСГ	неалкогольний стеатогепатит
ОС	окисний стрес
ПЗ	поєднані захворювання
ПЛР	полімеразна ланцюгова реакція
ПОЛ	перекисне окислення ліпідів
ПП	поєднана патологія
НЦП	неповний цироз печінки
ПГБК	печінкові гепатобіліарні клітини
ПДФ	перидуктальний фіброз
ПЗК	печінкові зірчасті клітини
ПЦП	повний цироз печінки
ПСФ	портосептальний фіброз
ПЦФ	periцелюлярний фіброз
P1	варіант репарації 1 типу
P2	варіант репарації 2 типу
P3	варіант репарації 3 типу
СЕК	синусоїдні ендотеліальні клітини
СС	септальний склероз
ТМД	тільця Малорі-Денка
УДХК	урсодезоксихолева кислота
ФР	фактори росту
ЦП	цироз печінки
ЦТТЛ	цитотоксичні Т лімфоцити
ChREBP	протеїн, зв'язуючий карбогідрат-регулюючий елемент
CTGF	сполучнотканинний фактор росту
CYP2E1	цитохром 450

FasL	Fas ліганди
IFN- γ	γ -інтерферон
IL	Інтерлейкін
IRS	субстрат рецептору інсуліну
L-FABP	печінковий цитоплазматичний зв'язуючий жирні кислоти протеїн
LXR	печінковий рецептор X
MMP	матриксні металопротеїнази
MHC	головний комплекс гістосумісності
MTP	мікросомальний трансферний протеїн тригліцеридів
NK	натуральні кілери
NKT	натуральні кілери –Т лімфоцити
PAT	протеїни регуляції ліполізу
PDGF	фактор росту тромбоцитів
PPAR	рецептор, активований пероксисомним проліфератором
ROS	реактивні радикали кисню
SOCS	супресори цитокінових сигналів
SREBP	протеїн, зв'язуючий стерол-регулюючий елемент
TGF β	трансформуючий фактор росту
Th-1/ Th-2	Т-хелпери 1/Т-хелпери 2
TIMP	тканинний інгібітор матриксних протеїназ
TLR	толл-подібні рецептори
TNF- α	фактор некрозу пухлин альфа
TRAIL	ліганда, що індукуює апоптоз, споріднена з фактором некрозу пухлин

ВСТУП

Актуальність теми. Хронічний перебіг таких поширених на сьогодні захворювань печінки, як алкогольний стеатогепатит (АСГ), неалкогольний стеатогепатит та вірусний гепатит С 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 [1,2]. Епідеміологічні показники АСГ, НАСГ та ВГС є достатньо вивченими у розвинених країнах Європи, Азії та [3,4,5]. Водночас дані статистики щодо епідеміології захворювань, які призводять до розвитку цирозу печінки (ЦП), по Україні є неповними [6,7].

Попри велику кількість наукових публікацій, як вітчизняних (Задорожна Т.Д., 2000-2014; Туманський В.О., 2002-2017; Фадеєнко Г.Д., 2007-2017, Гнатюк М.С., 2005-2017), 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 фіброзу та репарації та фіброзу при АСГ, НАСГ та ВГС. Використання сучасних методів дозволяє оцінити участь окремих клітинних популяцій, роль клітинно-матриксних взаємодій [8,9,10,11], механізмів автофагії [12], клітинного імунітету [13,14], індукції інфламасом [15] у процесах репарації та фіброзу. Описані варіанти фіброзу печінки та їх асоціації з проявами апоптозу, клітинної інфільтрації, зокрема при вірусних гепатитах [16,17,18], НАСГ [19,20,21]. Спостерігаються значні зрушення у розумінні механізмів регенерації і ролі епітеліально-мезенхімальних трансформацій у печінці [22,23,24,25]. 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» [26,27]. В останні роки клініцисти зустрілись з наростаючими труднощами у категоризації пізніх стадій хронічних захворювань печінки (ХЗП), що пов'язано з усвідомленням того, що фіброз у циротичній печінці (і навіть ранні стадії самого цирозу) можуть підлягати регресії після відповідного лікування [28]. Нагромадження даних про оборотність фіброзу та проявів тканинної реорганізації [29,30] 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 у існуючих діагностичних схемах особливостей фіброзу та репарації при різних нозологічних формах, прояви яких домінують на пізніх стадіях розвитку захворювань.

На сьогодні значні зусилля спрямовуються на пошук сполук, здатних запобігати несприятливим наслідкам активації механізмів фіброзу та репарації [31,32,33]. Водночас, навіть стосовно медикаментів з підтвердженим антифібротичним або прорегенераторним ефектом, залишаються невивченими окремі важливі питання щодо їх застосування та механізмів дії [34,35].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи 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» (№ державної реєстрації 0108U001134; 2008-2012 рр.) і «Вивчення патоморфологічних, етіологічних та патогенетичних особливостей захворювань щитоподібної залози, серцево-судинної, травної, сечовидільної та репродуктивної систем і перинетального періоду з метою удосконалення їх морфологічної діагностики» (№ 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 і 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 схему 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 репарації та фіброзу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С.

Методи дослідження: Для вивчення морфологічних проявів процесів загоєння та диференційної діагностики захворювань використовувалось гістологічне дослідження за загальноприйнятою методикою. Для виявлення особливостей морфогенезу фіброзу та репарації було застосовано імуногістохімічне дослідження з використанням набору відповідних маркерів та електронна мікроскопія. Для кількісної оцінки одержаних даних використовувався морфометричний аналіз зображень із застосуванням відповідної комп'ютерної програми. Для статистичного аналізу, залежно від характеру даних (рангові, параметричні, якісні), застосовувались методи дисперсійного та регресійного аналізу з визначенням відповідних критеріїв та розробкою моделей для кожного захворювання. З метою визначення інформативності запропонованих моделей, нами було визначено точність, специфічність та чутливість, позитивне та негативне передбачувальне значення для кожного з математичних рівнянь

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/паттерни репарації/фіброзу. При першому варіанті незначно виражені прояви репаративної регенерації в інтралобулярній ніші асоціюються із значним фіброзом у центролобулярних відділах. При другому варіанті помірно виражені прояви репарації визначаються в обох нішах регенерації та асоціюються з перисептальним фіброзом. При третьому варіанті – виражена репарація у перипортальних відділах супроводжується значним перидуктальним фіброзом. Об'єктивно підтверджена участь популяції інтерстиційних клітин – CD117+ телоцитів у регуляції клітинно-матриксних взаємодій на пізній стадії хронічного

гепатиту на основі виявленого їх кількісного переважання при 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 обгрунтована 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%).

Дістало подальший розвиток дослідження фармакотерапевтичної корекції механізмів фіброзу та репарації. Вперше при хронічному профілактичному (разом з тетрахлорметаном) введенні щурам урсодезоксихолевої кислоти (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 обгрунтовано положення про доцільність визначення морфогенетичного варіанту фіброзу та репарації для покращення діагностики алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С 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 вірусного гепатиту С 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»; свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 73932 від 25.09.2017 (додаток А). Для інтерпретації порушень обміну ліпідів рекомендовано застосування схеми, представленої в інформаційному листі «Оцінка змін печінки з ознаками стеатозу» (№ 158, 2010) (додаток Б). 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) (додаток В). 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) (додаток Д). 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 м.Хмельницький, патологоанатомічного відділення Київської міської лікарні №4 та патологоанатомічного відділення Київської міської лікарні №10. 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», кафедрі патоморфології та судової медицини Буковинського державного медичного університету (додаток Е).

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: 9-му та 10-му Конгресі патологів України (Луганськ, 2013, Івано-Франківськ-Яремче, 2018), XIII, XIV, XVI та XVII конгресах Світової федерації українських лікарських товариств (Львів, 2010, Донецьк, 2012, Київ, 2016, Тернопіль, 2018), 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) (Додаток Ж).

Публікації. Основні положення дисертації викладені у 48 опублікованих роботах, серед яких 31 стаття, у тому числі 29 – у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України (з них 5 – у виданнях, що включені до міжнародних наукометричних баз, 1 стаття – у зарубіжному науковому виданні (Білорусія), 2 статті – в інших виданнях, 13 робіт – у матеріалах конференцій, конгресів та з'їзду, два патенти на корисну модель, один інформаційний лист та одне авторське право на твір (Додаток И).

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.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Епідеміологія хронічних захворювань печінки

Цироз печінки відноситься до десяти захворювань, які є найчастішими причинами смерті у країнах Заходу. За даними ВООЗ у 2002 році у світі від цирозу печінки померло 786 000 чоловік (в середньому 12,6 на 100 000 населення) [37,38]. На Україні смертність від цирозу зростає: лише за один 2004 рік – на 15%. Крім того спостерігається збільшення поширеності та захворюваності у період 1997-2005 рр. відповідно на 35,3% та 93,3% і у 2005 р. становили: поширеність – 128,3; захворюваність – 31,5 на 100 тис. дорослого населення [39,40,41]. Але, якщо епідеміологічні показники, які базуються на даних клінічного обстеження, є достатньо розробленими, то аналіз значного автопсійного матеріалу зустрічається рідше [42,43]. В той же час дослідження секційних випадків відкриває деякі додаткові аспекти, зокрема, після морфологічного аналізу зростає достовірність діагнозу, уточнюються варіанти перебігу та ускладнення, а також враховуються пацієнти з клінічно компенсованим та недіагностованим процесом.

Цироз печінки розвивається внаслідок цілої групи хронічних уражень печінки. Знання етіологічного профілю захворювання та його особливостей в залежності від конкретного регіону є важливим для планування заходів профілактики та лікування. Тому аналіз основних та додаткових причинних факторів цирозу печінки лишається актуальним. Але, незважаючи на загальновідомість даних положень, етіологічна структура летальних наслідків у таких хворих лишається недостатньо вивченою [44,45].

Крім того, на сьогодні є дані про зміну співвідношення між основними етіологічними варіантами цирозу протягом останніх років [46,47,48]. За данимб багатьох досліджень серед захворювань, які призводять до розвитку

цирозу печінки, значну частку складають алкогольний і неалкогольний стеатогепатити та вірусний гепатит С.

Зв'язок вживання алкоголю з розвитком ЦП вперше був встановлений M.Baillie у 1793 році [49,51]. Незважаючи на наявність значної кількості інших етіологічних чинників, алкогольне ураження печінки лишається актуальним і сьогодні. За даним ВООЗ у нетропічних країнах 80% всіх випадків ЦП зумовлено саме цим фактором. Смертність від алкогольного цирозу є вищою, ніж у випадках, зумовлених іншими захворюваннями печінки [50]. За даним деяких досліджень цей показник перевищує смертність при деяких формах раку, зокрема пухлин грудної залози, товстої кишки, простати [51].

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) зустрічається у 20-30% дорослого населення країн Заходу [52,53]. У осіб з вираженим ожирінням частка таких уражень сягає 90% [54]. Більш важка форма - неалкогольний стеатогепатит зустрічається рідше і складає 2-3% у загальній популяції та 37% у осіб з вираженим ожирінням [55,56]. Все більшої поширеності набуває дане захворювання серед дітей. За даними останніх досліджень НАЖХП виявляється у 3% дитячої популяції та у 53% дітей з вираженим ожирінням [55]. Стеатоз спостерігається у 70% неселективної когорти хворих з цукровим діабетом 2 типу [56,57]. НАЖХП спостерігається у всіх етнічних групах, хоча деяке переважання відмічається у іспанців та європейських американців в порівнянні з афроамериканцями. Ці особливості були виявлені після контролю рівня резистентності до інсуліну та ожиріння і можуть відображати відмінності у метаболізмі ліпідів [58].

Глобального розповсюдження набуває також вірусний гепатит С. За даними ВООЗ на вірусний гепатит С хворіє біля 2,2-3,0% населення земної кулі (130-170 мільйонів людей) [4,59]. Вперше дані про частоту цієї патології були опубліковані у 1997 році [60]. Подальші дослідження показали, що в цілому ситуація погіршується і є найбільш загрозливою у Африці та Сході Середземномор'я [59,60]. При вивченні поширеності та захворюваності на

гепатит С дослідники зустрічаються з деякими проблемами. Перш за все дані, які одержують з різних країн є нерівноцінними, оскільки мають базуватись на вивченні репрезентативних вибірок із загальної популяції, а не окремих груп (донори, наркомани, гомосексуалісти) [4,62]. Велике значення має також використання адекватних тест-систем та діагностичних критеріїв, а також урахування таких факторів як вік, географічний регіон та інші [63,64]. Тому на сьогодні дані про поширеність гепатиту С потребують подальшого вивчення.

Таким чином, зважаючи на те, що більшість досліджень базується на матеріалі клінічних обстежень, аналіз автопсійного матеріалу залишається актуальним. Морфологічний підхід дозволяє об'єктивізувати діагноз та виявити випадки з клінічно латентним перебігом (стадія компенсації) у випадках смерті від інших причин. Патогістологічне дослідження сприяє виявленню основних етіологічних чинників цирозу печінки та їх ролі у тривалості та особливостях перебігу захворювання.

1.2 Сучасні погляди на морфогенез процесів фіброзу та репарації

Прогресування хронічних захворювань ведуть до розвитку цирозу і базується на механізмах загоєння. Нагромадження нових даних (одержаних переважно на основі експериментальних досліджень) про особливості процесів склерозу, регенерації у печінці потребує узагальнень та перегляду деяких положень. Фіброгенез, який традиційно вважається основним і описаний у багатьох дослідженнях, є тісно пов'язаним з регенерацією та реорганізацією мікроциркуляторного русла (МЦР) за рахунок спільних регуляторних механізмів та участі одних і тих самих структурних елементів, про які відомо значно менше.

1.2.1 Механізми та морфологічні прояви репарації

Вважається, що кількісні характеристики популяції гепатоцитів залежать від зрілих печінкових клітин, проміжних попередників гепатоцитів та холангіоцитів, розміщених у каналах Герінга, та стовбурових клітин кісткового мозку [65-68]. Реплікація зрілих гепатоцитів, зазвичай, є найшвидшим та найчастішим варіантом регенерації [69]. Проліферація проміжних клітин та їх диференціювання у гепатоцити відбувається, якщо активація зрілих клітин пригнічена або взагалі неможлива. У трансплантованій печінці джерелом гепатоцитів можуть бути клітини кісткового мозку, але в інших випадках кількість печінкових клітин такого походження невелика [70,71].

Протягом багатьох років вважалось, що проліферативний потенціал зрілих гепатоцитів є обмеженим, оскільки регенерація печінки після 70% гепатектомії потребує всього два кола реплікації. Дослідження, проведені за останній час, свідчать, що печінкові клітини можуть ділитись багаторазово (до 70 разів і більше), і що принаймні частина з них є клоногенними, тобто може бути попередниками великої кількості дочірніх клітин [72,73,74]. Крім того, є дані про те, що диплоїдні, тетраплоїдні та октаплоїдні гепатоцити мають однакові можливості щодо розмноження [69,70]. Гепатоцити знаходяться переважно в стані спокою (фаза G0), але після значного пошкодження вони можуть повернутись у клітинний цикл. Подальша проліферативна активність може бути незначною або дуже вираженою, в залежності від умов в яких відбувається регенерація. Принаймні при цирозі визначається пониження рівня реплікації гепатоцитів, так зване «реплікативне старіння», імовірно пов'язане з вкороченням теломерів [77,78].

В ембріогенезі гепатоцити та клітини внутрішньо печінкових жовчевих протоків мають спільного попередника – похідний ендодерми, гепатобласт, який експресує альбумін та альфа-фетопротейн. На 14-ий (у мишей) або 15-ий

(у щурів) день ембріонального розвитку гепатобласти, розміщені периваскулярно, відповідно локалізації майбутніх портальних трактів, експресують маркери як гепатоцитів (альбумін та альфа-фетопротейн), так і холангіоцитів (цитокератини 7 та 19) [79]. Ці гепатобласти є попередниками примітивних внутрішньопечінкових жовчевих протоків, які відповідають каналам Герінга та термінальним дуктулам печінки дорослих і можуть служити нішею внутрішньопечінкових стовбурових клітин.

Клітини попередники у печінці вперше були описані експериментальних дослідженнях, проведених у гризунів, і отримали назву «овальні клітини». Вони являють собою гетерогенну популяцію, частина якої представлена плуріпотентними клітинами, здатними диференціюватись в напрямку гепатоцитів, холангіоцитів та кишкового епітелію, і крім того бути попередниками гепатоцелюлярної та холангіоцелюлярної карциноми.

Проміжні гепатобіліарні клітини (ПГБК) [80] є більшими, ніж 6 мкм у діаметрі (приблизний розмір клітин каналу Герінга в нормі – найменші холангіоцити), але меншими, ніж 40 мкм (розмір типового гепатоцита) і характеризуються іншими ознаками, типовими для гепатоцитів та холагіоцитів. До них відносяться (але не обмежуються ними) одночасна експресія біліарних антигенів (цитокератини 7, 19, OV-6) та антигенів гепатоцитів (HepPar1, альбумін, альфа-1-антитрипсин, біліарний глікопротеїн-1, який виявляється при забарвленні жовчевих капілярів поліклональним СЕА та, іноді, альфа-фетопротейн), інші маркери, такі як, NCAM-1/CD56, наявність базальної мембрани, типової для холангіоцитів та каналікулярні мембрани, характерні для гепатоцитів [81,82].

На основі електронномікроскопічного дослідження було описано три варіанти ПГБК. Найменш диференційовані клітини I типу розміщуються біля синусоїдального полюсу гепатоцитів, містять пучки тонофіламентів та з'єднані із сусідніми клітинами юнкціональними комплексами. Клітини II типу, крім зазначених ознак, мають деякі риси біліарних клітин – латеральні інтердигітації, апікальні мікроворсинки, базальні піноцитозні вакуолі та

добре розвинену базальну мембрану. Розміщені безпосередньо біля гепатоцитів, клітини III типу мають деякі риси печінкових клітин, включаючи геміканалікули та розетки глікогену [83,84].

Для опису збільшення кількості таких клітин та їх диференціювання у напрямку гепатоцитів та/або холангіоцитів вживається термін «активація ПГБК» [85,86,87]. Диференціювання у біліарний епітелій призводить до формування реактивних дуктул, в той час як формування гепатоцитів відбувається шляхом утворення проміжних гепатоцитів.

Необхідно звернути увагу на термінологічні нюанси, які стосуються описаних змін. Термін «дуктулярна реакція» був запропонований Porrer et al. у 1957 році і вважається більш доцільним, ніж «дуктулярна проліферація», оскільки реактивні зміни можуть мати різний генез. Традиційно описують щонайменше чотири патогенетичних механізми: проліферація передіснуючих дуктул, активація та проліферація ПГБК, диференціювання циркулюючих стовбурових клітин (імовірно з кісткового мозку) та біліарної метаблазії гепатоцитів. «Дуктулярна реакція» означає перш за все дуктулярний фенотип, а не походження клітин з біліарного епітелію. Іноді вживаються ще два проблематичні терміни – «типова та атипова дуктулярна проліферація». Ці терміни вперше були запропоновані при спробі патогістологічного диференціювання поза- та внутрішньопечінкового холестазу. Типові дуктули містять чіткий просвіт, вистелені кубічними клітинами і утворюються в результаті проліферації перед існуючих протоків. Класично така реакція спостерігається при гострій обструкції поза печінкових протоків. Атипові протоки являють собою тонкі видовжені структури, які нерівномірно проникають у часточку, вистелені сплюсненими клітинами не містять чіткого просвіту. Така реакція описана при регенерації після некрозу, неповній позапечінковій обструкції та ураженні жовчевих протоків. Оскільки на сьогодні існують інші методи диференціювання поза- та внутрішньо печінкової обструкції, а термін «атиповий» асоціюється з

передраковими процесами, більшість дослідників пропонує уникати вживання даних термінів.

На основі багаторічних досліджень Desmet V. 2011 запропонував гіпотезу, згідно якої одним із морфологічних проявів репаративної регенерації є утворення «дуктулярної реакції із збереженням структури дуктальної пластинки» (ДРДП) [88,89]. Міні-дуктальні пластинки (ДП) у дуктулярній реакції (ДР) містять дрібну центральну судину (синусоїд або венулу), оточену невеликою (мінімальною) кількістю мезенхімальної тканини та зазвичай переривчастий подвійний шар епітеліальних клітин біліарного фенотипу, які вистилають циркулярний, більш або менш видимий просвіт між епітеліальними шарами. В ембріогенезі формування ДП навколо поодиноких синусоїдів іде повільно і призводить до утворення нових ПТ та паренхіми; при патології механізм посилюється та прискорюється, набуваючи гротескних форм: навколо будь-якого синусоїда може формуватись нова ДП, утворюючи своєрідну сітку. Такий варіант регенерації може розвиватись як в перипортальній, так і в інтралобулярній ніші (ДР3/ 2А та ДР2В типів відповідно).

Описані різновиди клітин об'єднують терміном «популяція клітин попередників». Термін «дуктулярна реакція» вживається для опису проліферації передіснуючих дуктул, активації клітин попередників та проміжних гепатоцитів.

Активация ПГБК описана при пошкодженні паренхіматозних елементів (гепатоцитів та холангіоцитів), яке відбувається при недостатній регенерації зрілих клітин. Проведені дослідження дозволили виявити особливості цих процесів при субмасивному некрозі гепатоцитів, хронічному холестазі, хронічних вірусних гепатитах, алкогольних ураженнях та неалкогольному стеатогепатиті.

При субмасивному некрозі ПГБК з'являються по периферії зони некрозу. З часом їх кількість зростає і вони проникають в середину часточок. Така послідовність дозволяє припустити поступове диференціювання ПГБК у

проміжні гепатоцити (по аналогії з експериментальними моделями хімічного пошкодження, асоційованого з недостатньою реплікацією гепатоцитів).

При хронічному холестазі теж спостерігається активація ПГБК [96]. Але в цьому випадку переважають клітини з проміжним фенотипом між ПГБК та зрілими холангіоцитами, що дозволяє припустити домінуюче диференціювання в напрямку біліарного епітелію. Проміжні гепатоцити теж спостерігаються у вигляді невеликих груп або розеток у безпосередній близькості з проліферуючими дуктулами, але їх кількість менша, ніж при регенерації після масивного некрозу. Наявність проміжних гепатоцитів можна пояснити двома припущеннями. Згідно першого, ці клітини є результатом диференціювання ПГБК у гепатоцити, яке ініціюється пошкодженням печінкових клітин при холестазі. Крім того, існує думка, що такий же фенотип може спостерігатись при метаплазії гепатоцитів – пристосувального механізму, направленого на виживання в умовах токсичного впливу жовчевих кислот. Відомо, що у пери портальних гепатоцитах сформувався своєрідний захисний механізм, суть якого полягає у посиленому утворенні транспортних білків, які виводять жовчеві солі у кров. Гепатоцити, які набувають ознак біліарного фенотипу теж стають більш стійкими по відношенню до токсичного впливу жовчі.

При хронічному вірусному гепатиті активація ПГБК спостерігається навіть при незначному ступені запальної реакції. Цікаво, що ступінь активації корелює з ступенем вираженості запалення. Проміжні гепатоцити виявляються лише після того, як був досягнутий певний рівень запалення, що дозволяє припустити що диференціювання у гепатоцити спостерігається тільки після певного “порогового” рівня пошкодження.

При таких захворюваннях як гемохроматоз, алкогольна хвороба, неалкогольний стеатогепатит активність ПГБК теж корелює із стадією захворювання [91,92,93].

Таким чином активація ПГБК є універсальною реакцією і не залежить від етіологічного фактору. В експериментальних роботах, було показано, що

овальні клітини активуються за умови пригнічення регенеративних можливостей зрілих гепатоцитів при окисному стресі. У людини пригнічення реплікативної активності зрілих гепатоцитів, яке супроводжується активацією ПГБК описано при алкогольному ураженні, неалкогольному стеатогепатиті та при вірусних гепатитах, особливо на стадії цирозу. Вважається, що “реплікативне старіння” гепатоцитів є наслідком окисного стресу і супроводжується вкороченням теломерів.

На сьогодні значні зусилля дослідників направлені на вивчення стовбурових клітин. Згідно сучасних поглядів, стовбуровою вважається клітина, яка характеризується двома властивостями: здатністю до самовідтворення та асиметричною реплікацією (одна з дочірніх клітин лишається аналогічною материнській, а друга диференціюється у зрілу клітину даного органу). Дослідження гематопоетичних стовбурових клітин та мезенхімальних клітин кісткового мозку показали їх здатність започатковувати різні типи клітин (трансдиференціювання), а також диференціюватись у різних напрямках (пластичність диференціювання) [94]. Найбільш вражаючі результати були одержані при утворенні гепатоцитів з мультипотентної клітини попередника (еквівалент ембріональної стовбурової клітини, яка збереглась у тканинах дорослого організму) у культурі клітин. При цьому формування гепатоцитів є наслідком диференціювання плюріпотентної незапрограмованої клітини, а не зміни програми диференціювання вже запрограмованої клітини, як це спостерігається при трансдиференціюванні.

Іншим підтвердженням утворення гепатоцитів із стовбурових клітин є експерименти, проведені на мишах з дефіцитом гідролази фумарилацетоацетату. Після трансплантації стовбурових клітин кісткового мозку тваринам з ознаками пошкодження печінки відбувалось збільшення популяції печінкових клітин. Більш детальні дослідження показали, що це є наслідком злиття стовбурової клітини та гепатоцитів, яке ініціює наступну проліферативну активність печінкових клітин. Дослідження проведені на

людині показали, що стовбурові клітини кісткового мозку мають мінімальну здатність формувати гепатоцити в нормальній печінці та дуже низький рівень – у печінці з ознаками пошкодження. Основними механізмами при цьому є: диференціювання специфічних стовбурових клітин (ембріональні стовбурові клітини, клітини пупкового тяжа, фетальні печінкові клітини), диференціювання плюріпотентних стовбурових клітин кісткового мозку, трандиференціювання стовбурових або зрілих клітин та злиття стовбурових клітин і зрілих гепатоцитів [95,96].

І, нарешті, ще один механізм, який на сьогодні активно досліджується – трансдиференціювання в рамках різних зародкових листків (епітеліально-мезенхімальні транзиції) [91-94]. Такі зміни вже описані в нирках та деяких інших органах, а в останній час з'явилися роботи, в яких досліджуються аналогічні процеси в печінці. Зокрема, були виявлені зміни, які свідчать про можливість трансформації дуктулярного епітелію у мезенхімальні клітини та участь останніх у процесах фіброгенезу [98-104].

Таким чином визначні регенераторні властивості печінкової тканини переважно є результатом реплікації зрілих гепатоцитів. Якщо ж проліферація печінкових клітин є недостатньою або пригніченою, активуються ПГБК. Наслідком їх реплікації та диференціювання буде утворення нових паренхіматозних клітин – гепатоцитів та холангіоцитів. Стовбурові клітини можуть бути джерелом гепатоцитів лише зрідка і при цьому переважає механізм злиття, який ініціює наступну проліферацію печінкових клітин. Частота та роль процесів трансдиференціювання (зміна епітеліального фенотипу на мезенхімальний) потребує подальшого вивчення.

Згідно сучасних поглядів процеси репарації включають проліферацію та диференціювання не тільки епітеліальних клітин, а і попередників МЦР [105]. Про тісний зв'язок між цими процесами свідчать результати, одержані у багатьох дослідженнях: локалізація активованих клітин-попередників у так званих «нішах регенерації», формування ДРДП, яка відображає регенерацію у напрямку холангіоцитів, навколо дрібних судин, а також асоціація

новоутворених судин з ознаками реорганізації МЦР – задіювання передіснюючих та формування нових анастомозів, перебудова судинної стінки, зміна фенотипу снусоїдних ендотеліальних клітин, які спостерігаються при хронічному перебігу захворювань.

Одним із провідних механізмів вважається ангиогенез. Судинні структури можуть розвиватись двома шляхами. Деякі судини, що походять із синусоїдів, персистують у сполучнотканинній сітці в ділянках постнекротичного колапсу. Інші судини утворюються в результаті ангиогенезу – компоненту фіброгенезу – який може відбуватись через мобілізацію ендотеліальних клітин-попередників із кісткового мозку або шляхом брунькування з передіснюючих судин. Останній варіант, який зустрічається частіше включає декілька етапів. Після стимуляції оксидом азоту, фактором росту ендотелію судин розвивається вазодилатація, втрата міжендотеліальних контактів та підвищення проникливості перед існуючих судин. Це створює умови для формування основних напрямків наступної міграції ендотеліоцитів. Рух ендотеліальних клітин стає можливим лише після деградації ЕЦМ, яка здійснюється за допомогою активаторів плазміногену, металопротеїназ, їх тканинних інгібіторів та інших факторів. Протеоліз призводить до експресії нових епітопів та виділення факторів, які розміщуються у ЕЦМ. Інтегрини забезпечують міграцію ендотелію у ЕЦМ, забезпечуючи прикріплення/відділення. Недостатній протеоліз не дозволяє ендотеліоцитам мігрувати, надмірний протеоліз дестабілізує підтримуючі структури ЕЦМ. В обох випадках це призводить до пригнічення ангиогенезу. Активність протеїназ залежить від їх концентрації та мікрооточення. Проліферація ендотеліоцитів індукується факторами, які виділяють оточуючі клітини: ПЗК, лейкоцити, гепатоцити, КК. Найважливішим серед них є фактор росту ендотелію судин, який регулює процес на всіх етапах. Розмноження клітин відбувається послідовно, що веде до формування просвіту, діаметр та довжина якого залежать від впливу різноманітних факторів. При надмірному протеолізі ендотеліоцити формують кісти, а не

просвіти, що пов'язано з пошкодженням загальної схеми ангиогенезу. Завершується процес стабілізацією судин, внаслідок чого складна трьохмірна сітка судин однакового розміру перетворюється на мікроциркуляторне русло. Це супроводжується появою перицитів, синтезом базальної мембрани та елементів прилягаючого інтерстицію, утворенням нових розгалужень [106-108].

Дослідження неоангиогенезу були в багатьох роботах сфокусовані на ролі гіпоксії, яка індукує розвиток судин. Гіпоксія може бути наслідком порушення проникливості і перфузії синусоїдів (капіляризація), вазоконстрикції, тромбозу [109].

Особливістю ангиогенезу у печінці є те, що новоутворені судини активно задіюються у процесі шунтування. В залежності від локалізації, це можуть бути шунти між аферентними судинами (порто-портальні септи), еферентними судинами (центро-центральної септи та між еферентними і аферентними судинами (порто-центральної септи). Останні забезпечують максимальне скидання крові в обхід паренхіми. Морфологічним проявом того, що кров поступає переважно з гілок печінкових артерій є артеріалізація, що асоціюється з модифікацією фенотипу синусоїдних ендотеліоцитів при капіляризації синусоїдів [110].

Шунтування призводить до значних змін у гемодинаміці. При вираженому цирозі більша частина крові рухається по печінці через описані канали. Більшість із цих шунтів є мікроскопічними, але в 1 з 4 хворих можуть бути продемонстровані шунти діаметром 1-2 мм при портографії. Шунтування крові через "швидкі" судинні структури (порто-венозні та артеріо-венозні) лишають частину паренхіми практично без кровопостачання, що пояснює посилений плин крові через синусоїди та відносну гіперперфузію паренхіми печінки в цілому [111].

Частина судинних змін при циротичній трансформації пов'язані із тромбозом судин. Облітерація просвітів портальних та центральних вен виявлялась у 36-70% випадках цирозів (видалені при трансплантації). Автори

вважали, що тромбоз середніх та великих гілок портальної вени та печінкової вени є частою знахідкою при цирозі, і що ці зміни важливі для прогресування цирозу [113,114].

Цироз є в значному ступені судинне ураження печінки. Роррег вважав, що: “збереження терміну цироз, який етимологічно є беззмістовний, можна аргументувати особливостями порушення печінкового кровообігу» [93]. Фіброз при цирозі печінки разом із судинними змінами являє собою механічний компонент судинної обструкції у патогенезі портальної гіпертензії, які разом із іншими механізмами зумовлює підвищений внутрішньопечінковий судинний опір [94].

1.2.2 Механізми та прояви фіброгенезу

Якщо щодо механізмів та проявів репарації, багать питань залишаються невиясненими, фіброз та його основні різновиди описані досить детально.

Процеси склерозу залежать від активності цілої групи так званих фіброгенних клітин, здатних утворювати елементи екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) [115-121]. До них відносяться печінкові зірчасті клітини (ПЗК), портальні фібробласти, гладком'язові клітини дрібних портальних судин, пограничні міофібробласти, фібробласти капсули Гліссона, так звані клітини другого шару навколо центральних вен [124,125].

При активації клітини відбувається зміна фенотипу із «стану спокою» у проліферуючий, фіброгенний та контрактильний. Процес тривалий і на ранніх стадіях відрізняє від пізніх за ознаками росту, відповіді на розчинні медіатори, участі у запаленні та потенції до апоптозу. Виділяють дві фази активації: ініціації та підтримки. Фаза ініціації характеризується ранніми змінами експресії генів та фенотипу, що робить клітину чутливою до дії цитокінів та інших стимулів (паракринні впливи, ефекти ЕЦМ та контакти з продуктами перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та пошкодженими

гепатоцитами). На фазі підтримки внаслідок дії стимулів підтримується стан активності (за допомогою авто- та паракринних шляхів), який виражається у: проліферації, скоротливості, фіброгенезі, деградації матриксу. Резолюція фіброзу асоціюється з активацією шляхів апоптозу у клітині або повернення її до більш спокійного фенотипу [127-129].

Активовані фіброгенні клітини синтезують колагени (I, III, IV), фібронектин, ундулін, еластин, ламінін, гіалуронан, протеоглікани. При цьому кількість сполучної тканини збільшується в 3-5 рази [6,61].

Процеси фіброгенезу знаходяться у стані динамічної рівноваги з процесами руйнування ЕЦМ [117]. Для формування рубцьової тканини необхідне попереднє руйнування передіснуючого ЕЦМ печінки. З іншої сторони резорбція надлишкового матриксу створює умови для зменшення печінкової дисфункції та портальної гіпертензії. Так звана деградація ЕЦМ є наслідком активації родини ферментів, що називаються металопротеїнази (ММП). Ці ферменти виділяються з клітин у ЕЦМ у вигляді проензимів, які пізніше активуються групою специфічних, зазвичай зв'язаних з клітинною поверхнею реакцій розпаду. Активні ферменти в свою чергу пригнічуються родиною тканинних інгібіторів металопротеїназ (ТІМП 1-4). Така комбінація механізмів забезпечує чітку регуляцію процесів руйнування ЕЦМ і запобігає значному пошкодженню тканини. На сьогодні вважається, що у печінці основну роль відіграє наступна група ММП – желатинази А та В (ММР-2, -9), стромелізини (ММР-3, -7, -10, -11), МТ1-ММП та інтерстиційні колагенази (ММП-1, -8, -13). Серед інгібіторів ММП найважливішими є ТІМП-1 та -2. Основні дані про роль описаних сполук одержані при дослідженні різних клітин та тканин на неоднорідному матеріалі (культура клітин, тваринні моделі та тканини людини). Тому, якщо важливість даних процесів при розвитку склерозу у печінці не викликає сумнівів, то розуміння механізмів та регуляції підтримки динамічної рівноваги між синтезом та руйнуванням елементів ЕЦМ потребує подальших досліджень.

Модуляція фіброгенезу здійснюється за рахунок цитокінів та складних міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодій. Гепатоцити, які є основною мішенню для пошкоджуючих факторів (віруси, алкоголь, жовчеві кислоти) забезпечують виділення реактивних радикалів кисню (ROS) та фіброгенних медіаторів, що індукує скупчення лейкоцитів; апоптоз гепатоцитів стимулює фіброгенну активність міофібробластів. Лейкоцити (лімфоцити та нейтрофіли) активують ПЗК з наступною секрецією колагену, а також виділенням прозапальних хемокинів, експресією клітинних адгезивних молекул, модуляцією активності лімфоцитів. Різні підгрупи Т-хелперів (Th) регулюють фіброз – Th-2 асоціюється з більш активним фіброгенезом. Клітини Купфера (KK) регулюють запалення виділяючи ROS та цитокіни, зокрема (фактор росту тромбоцитів (PDGF), який є основним мітогеном для ПЗК. Біліарні епітеліоцити стимулюють портальні міофібробласти, які відкладають ЕЦМ навколо пошкоджених жовчевих протоків. Зміни у складі ЕЦМ можуть безпосередньо активувати фіброгенез: колаген IV, фібриноген стимулюють резидентні ПЗК, активуючи латентні цитокіни (тканинний фактор росту бета 1(TGF- β 1); фібрилярні колагени стимулюють ПЗК через зв'язування з інтегринами; пошкоджений ЕЦМ служить резервуаром факторів росту та металопротеїназ.

Виділяють декілька етапів фіброзу [132].

1) Ранні зміни з'являються у просторі Діссе: нагромадження колагенів I та III типів та формування сітки фібрил, яка заміщує мембраноподібну речовину; у ендотеліюцитах зникають пори (капіляризація синусоїдів), що зумовлює значне пониження дифузії. Перебудова інтерстицію асоціюється з активацією синусоїдних клітин (нагромадження значної кількості цитокінів, які при передачі сигналу через елементи ЕЦМ переходять у активні форми і модифікують мікрооточення клітин з наступною доставкою інформації до клітини та її активацією).

2) Дещо пізніше розвивається розширення портальних трактів (ПТ) та перицентральных ділянок з формуванням септ. Септальний фіброз – розвиток

трьохвимірної васкуляризованої сполучної тканини, яка перетинає суцільні ділянки паренхіми. Септи можуть утворюватись з ПТ або центральних вен (ЦВ) і простягатись на різну довжину у різних напрямках. Фіброзні септи, які проникають у часточкову паренхіму без досягнення інших судинних структур (ПТ або ЦВ) називаються неповними (або септи з сліпим закінченням). Повні септи можуть з'єднувати ЦВ, утворюючись після тривалого централобулярного пошкодження і призводячи до формування анастомозів між двома або більше дренуючими системами. Септи між сусідніми ПТ утворюють анастомози між аферентними судинами уражених ПТ. Порто-портальні септи типово виникають при хронічному гепатиті в результаті тривалого пограничного запалення та при хронічних біліарних розладах.

Судинні структури у центрально-центрально та порто-портальних септах не є визначальними для порушень внутрішньопечінкової гемодинаміки. Ключовим моментом у розвитку справжнього цирозу є утворення фіброзних васкуляризованих септ між ПТ та ЦВ. Тому порто-центрально мостоподібний фіброз є визначальним. При цьому формуються прямі анастомози між аферентними (печінкова артерія та портальна вена) і еферентними (центрально вена) судинами печінки, що дозволяє частині крові обминати паренхіму часточки (втрата функціонального контакту з метаболічно активними паренхіматозними елементами).

Порто-центрально мостоподібний фіброз є результатом вираженого або повторного пошкодження паренхіми часточки: порто-центрально некроз, панлобулярний некроз та мультилобулярний некроз. Перший призводить до утворення тонких порто-центрально септ, в той час, як мультилобулярний некроз веде до формування значних ділянок випадіння паренхіми та фіброзних рубців, що з'єднують декілька первинних ПТ та ЦВ, зв'язаних судинною сіткою неоматриксу, що розвивається.

3) Останньою стадією є цироз, який асоціюється з нодулярністю, і характеризується іншим типом тканинної організації та кровопостачання

(кров поступає переважно з гілок печінкових артерій, а не портальних вен); регенерація при цьому може бути різного ступеня вираженості, і навіть відсутньою.

Вважається, що фіброз – процес нестабільний, динамічний, включає фазу прогресії (синтез ЕЦМ) та регресії (деградація ЕЦМ) [128]. Протягом останнього десятиліття у багатьох роботах піднімається питання про «оборотність» склерозу, і навіть цирозу. Оборотно́ість фіброзу на сьогодні вже є підтвердженою значним фактичним матеріалом і залежить від типу колагену та кількості поперечних зв'язків у молекулах; щільності та кількості клітин у сполучній тканині; топографії септ (більш стабільні порто-центрально́і септи з судинними шунтами); загальної кількості колагену та інших компонентів ЕЦМ, зокрема еластичних волокон, які створюють значну масу для літичних ферментів. У прогресуванні та регресії фіброзу значну роль відіграють фіброгенні клітини (механізми активації, апоптоз): ПЗК, септальні/портальні, пограничні міофібробласти.

Механізми, які можуть впливати на фіброгенез включають: хронічну активацію реакцій запалення, окисний стрес, порушення епітеліально-мезенхімальних взаємодій та епітеліально-мезенхімальні трансформації при холангіопатіях [79,80].

В залежності від «топографії» пошкодження, популяції міофібробластів, задіяних у репарації та деяких інших факторів виділяють декілька варіантів фіброзу [130].

Мостоподібний фіброз характерний для хронічного вірусного гепатиту і є результатом порто-центрального (венозного) мостоподібного некрозу з подальшим формуванням порто-центрально́их септ. Такий сценарій зазвичай асоціюється (особливо при гепатиті С) з ступінчастим некрозом (гепатитом), розвитком порто-портально́их септ та сліпих септ у паренхімі та раннім формуванням судинних з'єднань з портальною системою.

Біліарний фіброз спостерігається при проліферації реактивних жовчевих протоків та перидуктулярних міофібробластів, що відбувається на

межі між ПТ та паренхімою, з наступним розвитком порто-портальних септ – сценарій, який не передбачає анастомозів з портальною системою протягом тривалого часу.

Перисинусоїдний/periцелюлярний фіброз переважає при метаболічних розладах (НАСГ) або алкогольних ураженнях (АСГ) і супроводжується відкладанням позаклітинного матриксу переважно у просторах Діссе довкола синусоїдів або навколо груп гепатоцитів, що призводить до двох варіантів: капіляризації синусоїдів та формування сотової структури відповідно [131,132].

Центролобулярний фіброз виникає при захворюваннях з порушенням венозного відтоку (хронічна серцево-судинна недостатність) та проявляється утворенням центрально-центрального (венозних) фіброзних септ та наступною «спотвореною» лобулярністю

Описано особливості фіброгенезу при деяких захворюваннях. Алкоголь уражує популяцію кишкових бактерій та пригнічує перистальтику кишків, що призводить до посиленого росту Грам- флори. Ліпополісахарид (підвищений рівень у крові портальної системи) активує КК через комплекс CD14/Толл-подібний рецептор-4 (CD14/TLR-4), що призводить до виділення ROS через НАДФ оксидазу. Оксиданти активують ядерний фактор КК, що веде до посиленого виділення фактору некрозу пухлин альфа (TNF- α), який індукує інфільтрацію нейтрофілами та стимулює продукцію оксидантів у мітохондріях гепатоцитів, що активує апоптоз. Ацетальдегід, основний продукт метаболізму етанолу та ROS активують ПЗК та стимулюють прозапальні та профіброгенні сигнали [133].

Фіброз при хронічному гепатиті С погано вивчений оскільки відсутня модель персистуючої інфекції у гризунів. Вірус уникає імунної відповіді та інфікує гепатоцити, спричинюючи окисний стрес та скупчення лейкоцитів. Обидва фактори ведуть до активації ПЗК та синтезу колагену. Деякі протеїни вірусу безпосередньо стимулюють прозапальну та профіброгенну активність ПЗК [134].

Отже, дослідження процесів репарації/фіброзу при ХЗП залишається актуальним питанням сьогодення. Сучасні методи дозволяють маркірувати окремі види клітин, виявляти їх активацію та оцінювати їх роль у окремих ланках патогенезу хронічних уражень. Нагромаджена значна інформація про цитокіни та інші епігенетичні та генетичні фактори, які регулюють складні механізми фіброгенезу та репарації. Описані основні етапи синтезу та нагромадження елементів позаклітинного матриксу, варіанти склерозу, їх роль у формуванні цирозу та розвитку печінково-клітинної недостатності. Досліджені механізми ангиогенезу, роль новоутвореної судинної сітки у розвитку гемодинамічних розладів, зокрема портальної гіпертензії. Описано три основних типи клітин, які є джерелами регенерації печінки. Багато зроблено для підтвердження даних, одержаних в експерименті, стосовно виявлення структурних аналогів «овальних клітин» та дослідження їх здатності до реплікації і диференціювання. Активно досліджуються стовбурові клітини та їх роль у процесах загоєння. Але залишається багато до кінця невирішених проблемних питань, зокрема таких як, механізми інтеграції процесів фіброгенезу, ангиогенезу та регенерації, патогістологічні еквіваленти процесів загоєння, особливості процесів фіброзу та репарації при різних нозологічних формах, роль механізмів загоєння у циротичній трансформації.

1.3 Міжклітинні та клітинно-матриксні взаємодії у нішах регенерації, задіяні у процесах репарації та фіброзу

Процеси репарації у печінці включають множинні складні механізми, які є тісно пов'язаними між собою, маючи багато спільних ланок та регулюючих факторів. Структурні елементи печінкової тканини, задіяні у репаративних реакціях теж не можна чітко розділити згідно їх участі у тому чи іншому процесі. Перш за все це стосується клітин, які активно взаємодіють і зумовлюють основні етапи загоєння. В ході репарації клітини

секретують великий спектр цитокінів, проліферують, змінюють свій фенотип, експресуючи нові рецептори, та синтезують елементи позаклітинного матриксу. Від співвідношення цих механізмів по великому рахунку залежить перебіг та наслідки процесів загоєння, а, отже, імовірність та швидкість прогресування хронічних захворювань печінки у цироз.

Вважається, що репаративні процеси відбуваються у нішах регенерації/нішах стовбурових клітин [135,136]. Ніші СК є мікрооточенням, організованим у структурні одиниці, які захищають СК та регулюють їх розвиток. До складу ніш входять самі СК, різноманітні оточуючі клітини, фактори які вони секретують, міжклітинні контакти, протеїни базальної мембрани, судини та елементи симпатичної нервової системи [137]. Ніші СК здатні підтримувати СК або направляти їх наступний розвиток через сигнальні шляхи, такі як Wnt/ β -catenin, Notch, TGF β , Bmp, Hedgehog. Сигнальний шлях CXCR4/SDF1 є необхідним для контролю мобілізації та зупинки СК. Ніші СК можуть містити різні типи стовбурових клітин/клітин-попередників, які взаємодіють між собою [138,139]. Є дані про існування декількох клітинних типів та ніш у печінці.

R. Kuwahara et al. у 2008 р. виявили затримку маркера BrdU клітинами каналів Герінга, інтралобулярних жовчевих протоків, перидуктулярними клітинами (нульові клітини без маркерів гепатоцитів та холангіоцитів) та перибіліарними гепатоцитами пограничної пластинки. Вважається, що ці клітини відображають різні стадії розвитку однієї ніші СК, в якій основною є популяція ПКП. Крім того до складу ніші входять нерви, які пересікають БМ і контактують з холангіоцитами [140].

Другою одиницею мікрооточення, яка відповідає вимогам ніші СК є ніші ПЗК у просторах Діссе, описана Savitza et al. (2009) [136]. До складу такої інтралобулярної ніші входять: основні клітини – ПЗК (експресують маркери СК та можуть диференціюватись), здатні виділяти HGF (підтримка прилягаючих гепатоцитів та СЕК); протеїни ЕЦМ (колаген ІV, ламінін підтримують стан спокою ПЗК), нервові закінчення, що контактують з ПЗК

та індукують їх активацію (симпатичні – норадреналін); гепатоцити (виділяють канонічні Wnt ліганди – активують ПЗК; мембранозв’язаний Jag1 індукує сигнальний шлях Notch); СЕК (SDF1 приваблює та підтримує популяцію ПЗК у просторі Діссе). ПЗК підтримує ПКП, які можуть мігрувати у простір Діссе з інших місць або сама підлягати диференціюванню.

Процеси регенерації при загоєнні забезпечуються переважно епітеліальними елементами: гепатоцитами, біліарним епітелієм та клітинами-попередниками.

Гепатоцити є основною клітинною популяцією печінки. В нормі вони реагують з моноклональними антитілами до СК8 та СК18, альбуміну, α 1-антитрипсину, іноді α -фетопротейну та деякими іншими. При репаративних процесах гепатоцити можуть проліферувати і підлягати метаплазії – біліарній та, можливо, епітеліально-мезенхімальній трансформації. Ступінь проліферативної активності (Ki67 «+») може бути дуже різним, але вважається, що при цирозі настає «реплікативне старіння клітин» [127]. Біліарна метаплазія гепатоцитів (з експресією відповідних маркерів), описана при хронічному холестазі, може спостерігатись як пристосувальна реакція до токсичного впливу жовчних кислот [142]. Крім того є думка, що гепатоцити можуть брати участь у епітеліально-мезенхімальних трансформаціях. Так описують зміну фенотипу гепатоцитів у культурі клітин з експресією маркерів фібробластів (FSP1 – fibroblast-specific protein-1), але така гіпотеза вимагає подальшого підтвердження [143,144].

Біліарний епітелій вистилає просвіти жовчевих проток, починаючи з каналів Герінга. Холангіоцити можна виявити за допомогою поліклональних антитіл до цитокератинів, моноклональних антитіл до СК7, 8, 18, 19, епітеліального мембранного антигену, карциноембріонального антигену [145,146]. При репарації ці клітини можуть активно проліферувати, частково забезпечуючи «дуктулярну реакцію» по периферії портальних трактів та септ. БЕ на відміну від гепатоцитів розміщуються на повноцінній базальній мембрані, і відповідно здатні синтезувати її компоненти. На

сьогодні є роботи, в яких *in vitro* та *in vivo* була виявлена експресія мРНК різних компонентів базальної мембрани (В1 ланцюг ламініну, $\alpha 1$ ланцюг колагену 1 та інші). Крім того вже біля 20 років тому було описано можливість зміни фенотипу біліарного епітелію (в експерименті) в ділянках так званої «дуктулярної реакції», при якій епітеліоцити експресували віментин. Пізніше дані про коекспресію епітеліальних та мезенхімальних маркерів були одержані на матеріалі людини, що стало основою для гіпотези про можливість епітеліально-мезенхімальної трансформації біліарного епітелію. Ці питання зараз інтенсивно досліджуються [147].

Крім того в печінці описана так звана популяція клітин-попередників. Після тривалих досліджень та обговорень була узгоджена класифікація та термінологія для опису клітин цієї групи [80]. На сьогодні виділяють ПГБК, які одночасно експресують маркери гепатоцитів та біліарного епітелію. Серед цих клітин виділяють три варіанти, які відрізняються за ступенем диференціювання і мають морфологічні відмінності на ультраструктурному рівні. Крім того виділяють «проміжні гепатоцити», фенотип яких є проміжним між ПГБК та гепатоцитами. Цитоплазма таких клітин характеризується імунореактивністю до маркерів ПГБК (за виключенням СК 19), яка є найбільш вираженою біля плазматичної мембрани. В частині робіт в культурі клітин описані процеси диференціювання гепатоцитів з гематопоетичних стовбурових клітин та мезенхімальних клітин кісткового мозку, але ці дані потребують подальшого підтвердження (табл.1.1).

Описані клітини найчастіше виявляються у вигляді так званої «дуктулярної реакції» - сітки анастомозуючих тяжів незрілих клітин, які розміщуються на межі мезенхімальних (портальних, септальних) та паренхіматозних елементів. Епітеліальні елементи різного ступеня зрілості забезпечують механізми регенерації, яка є компонентом репаративних процесів. V. Desmet пропонує виділяти три типи ДР [88,89,133]. При ДР1 типу, попередньо існуючі холангіоцити розмножуються та формують дуктальні структури у відповідь на зміни в мікрооточенні (набряк,

запалення). Така ДР не формує нові каналікуло-дуктулярні контакти. ДР 2 типу включає реакції за участю ПКП, які здатні підтримувати каналікуло-дуктулярні зв'язки, що нагадують ДП під час ембріонального та фетального розвитку. ДР 2А спостерігається у перипортальних ділянках при хронічному холестази та запальних ураженнях та трактується як реакція ПКП, які або передіснують або є наслідком дедиференціювання гепатоцитів. ДР 2В зустрічається у центролобулярних відділах та ділянках гіпоксії паренхіми, індукується гіпоксією та відповідає «дуктулярній метаплазії» як при 2А з переважно таким же клітинним походженням. ДР 3 зумовлена активацією ПКП, які розміщуються у каналах Герінга. Всі типи ДР відіграють роль у прогресуванні фіброзу при хронічних захворюваннях печінки [147].

Синусоїдні ендотеліальні клітини (СЕК), вистилаючи судини, знаходяться в постійному контакті з елементами крові та іншими клітинами – гепатоцитами, ПЗК та КК. Вони відіграють центральну роль у ангиогенезі, який є обов'язковим компонентом процесів загоєння та у капіляризації синусоїдів – втраті типових фенестр та появи організованої базальної мембрани у просторі Діссе. Популяція СЕК неоднорідна і це виявляється при використанні імуногістохімічних маркерів. Так, фактор Віллебранда (factor VIII-related antigen) спостерігається переважно у ендотелії артерій та вен. Маркери CD31 та 34 дають позитивну реакцію у ендотелії артерій, вен та частини перипортальних синусоїдів, в той час як основна маса СЕК дає негативну реакцію [148]. При фіброзі, і, особливо, при цирозі печінки відбувається перебудова мікроциркуляторного русла, що супроводжується формуванням анастомозів та зміною ендотеліальної вистилки внаслідок ангиогенезу та реорганізації передіснюючих синусоїдів. Ці складні механізми вивчені недостатньо, але в літературі зустрічаються окремі описи таких змін, зокрема – так звана «артеріалізація синусоїдів», в яких виявляється позитивна реакція на CD34, поява нових CD31+ судин у портальних трактах та септах [149]. У багатьох роботах аналіз судинних змін базується на дослідженні регулюючих факторів ангиогенезу (переважно факторів росту),

які синтезуються різними видами клітин [150,151]. На нашу думку такий підхід є більш виправданий для вивчення патогенетичних механізмів, а не для пошуку морфологічних критеріїв реорганізації мікроциркуляторного русла.

Серед клітин так званої фіброгенної популяції можна виділити декілька варіантів, які маючи спільні риси, в деяких аспектах відрізняються одна від одної. ПЗК відносяться безумовно до найбільш вивчених клітин даної групи, що є наслідком великої уваги, яка приділялась процесам фіброгенезу протягом останніх десятиліть [152]. Ці клітини зірчастої форми розміщуються у просторах Діссе і нагромаджують вітамін А. До основних маркерів ПЗК відносять елементи цитоскелету – гліальний фібрилярний кислий протеїн (GFAP) (виявляється не завжди, тому валідність має бути підтвердженою), десмін (позитивний у гризунів, у людини – негативний), віментин. Після активації вони диференціюються у міофібробласти, змінюючи свій фенотип та експресуючи α -SMA. Активовані ПЗК синтезують основні компоненти позаклітинного матриксу. Протягом останнього десятиліття з'явилися дані про те, що не всі α -SMA позитивні міофібробласти є похідними ПЗК. Зокрема, дослідження, проведені на гризунах показали, що при фіброзі (моделі перев'язки жовчевих протоків та артеріальної ішемії) сполучнотакнинні септи містили переважно α -SMA позитивні похідні портальних фібробластів (десмін-негативні), а не ПЗК (десмін-позитивні). Інші резидентні клітини, що можуть диференціюватись у міофібробласти, включають фібробласти капсули Гліссона, гладком'язові клітини судинних стінок, так звані клітини другого шару навколо центральних вен. Крім того при деяких формах фіброзу виявлялись α -SMA-негативні активовані фібробласти. За останній час з'явилися дані про те, що частина фіброгенних клітин можуть бути похідними попередників з кісткового мозку. В експериментальних дослідженнях були описані GFAP-позитивні ПЗК у печінці тварин, яким було трансплантовано кістковий мозок з GFAP-експресуючими клітинами [153,154]. Інші дослідники виявляли

циркулюючі мезенхімальні попередники із кісткового мозку, які в печінці диференціювались у міофібробласти та секретували колаген [10].

Враховуючи неоднорідність даної клітинної популяції, найважливішим маркером можна вважати α -SMA, який свідчить про активацію клітин та диференціювання у міофібробласти, тобто активну участь у фіброгенезі. Але для розуміння механізмів та варіантів фіброгенезу (перипортальний, перисинусоїдний) доцільним є пошук інших маркерів, які б дозволяли виявляти окремі клітинні популяції.

В стінці синусоїдів розміщуються КК – печінкові макрофаги, які виступають у просвіт, впливаючи на його розмір. Основна функція цих клітин – фагоцитоз та виділення регулюючих цитокінів, що дозволяє їм, взаємодіючи з іншими структурними елементами брати участь у процесах репарації [155,156]. Для виявлення КК використовують звичайні маркери макрофагів – CD68 та лізоцим. Після активації КК змінюють фенотип, збільшуються в розмірі, але імуногістохімічні особливості активованих КК не описані.

Ще одним видом так званих синусоїдних клітин є “pit” клітини. Ці клітини з фенотипом великих гранулярних лімфоцитів знаходяться в просвіті синусоїдів, безпосередньо контактуючи з ендотеліоцитами та КК (іноді відростки проникають у простір Діссе) [157-161]. Основними функціями є виділення цитокінів та пряма цитотоксичність, завдяки чому даний вид клітин бере участь у регуляції процесів пошкодження та загоєння (пригнічення процесів фіброзу та регенерації завдяки виділенню гамма-інтерферону (γ -IFN) та безпосередньому знищенню ПЗК та гепатоцитів). Популяція “pit” клітин є неоднорідною і за допомогою імуногістохімічних маркерів виділяють декілька підвидів, які відрізняються за функцією та фенотипом – печінкові “pit” клітини з фенотипом великих гранулярних лімфоцитів експресують CD56+CD3-, печінкові “pit” клітини –Т-клітини, що поєднують риси натуральних кіллерів та Т-лімфоцитів експресують CD56+CD3+. Участь у процесах загоєння у більшості робіт підтверджується

зміною кількості клітин даної популяції, хоча є дані про те, що активовані печінкові “pit” клітини частково набувають ознак дендритних клітин (експресують CD11c+) і описуються як печінкові “pit” клітини –дендритні клітини [162-164].

КК та “pit” клітини впливають на процеси репарації, виділяючи регулюючі цитокіни та здійснюючи безпосереднє знищення інших видів клітин (ПЗК, гепатоцитів), тому, можливо, трактування їх наявності та ступеня активності є більш складним і є доцільним при дослідженні патогенетичних особливостей механізмів репарації [143].

Таким чином для аналізу перебігу процесів репарації важливо виявити не тільки вираженість склерозу, а і кількість задіяних клітин, та по можливості, дати характеристику їх активності. На сьогодні цього можна досягти, використовуючи імуногістохімічні маркери. Особливості експресії маркерів основних клітинних типів у стані спокою та при активації, описані у різних літературних джерелах, представлені у табл.1.1.

Для дослідження тонких механізмів та функціональної активності окремих видів клітин доцільно використовувати культури клітин, що і робиться у багатьох лабораторіях. Але не менш актуальним є комплексне виявлення найважливіших клітин за допомогою відносно простих і доступних маркерів, які можна використовувати не тільки на біопсійному, але і на автопсійному матеріалі. Останнє пов'язано з тим, що матеріал пункційних біопсій є незначним і дозволяє застосувати обмежену кількість маркерів.

1.4 Сучасні теорії патогенезу алкогольного, неалкогольного стеатогепатитів та вірусного гепатиту С

Поєднані впливи патологічних факторів та багатоетапний розвиток хронічних захворювань печінки зумовлює складності трактування основних етапів та особливостей морфо- та патогенезу більшості захворювань. Але,

Таблиця 1.1 – Характеристика основних імуногістохімічних маркерів клітин печінки в нормі та при процесах репарації

Тип клітини	Імуногістохімічні маркери, які виявляються в нормі	Імуногістохімічні маркери, які виявляються при репаративних процесах
Епітеліальні клітини – попередники (проміжні гепатобіліарні клітини)	Біліарні маркери: СК 7, 19, OV-6) Маркери гепатоцитів: HerPar1, альбумін, α 1-антитрипсин, іноді α -фетопротеїн	КІ 67 при активації ПГБК (дуктулярна реакція)
Гепатоцити	СК8, 18, альбумін, α 1-антитрипсин, іноді α -фетопротеїн	Кі 67 при регенерації СК19 при біліарній метаплазії
Біліарний епітелій	СК7, 8, 18, 19 Поліклональні антитіла до цитокератинів Епітеліальний мембранний антиген CEA (карциноембріональний антиген)	Кі 67, віментин при дуктулярній реакції
Печінкові зірчасті клітини	GFAP, десмін, віментин	α -SMA (фіброз)
Портальні міофібробласти та інші попередники	Десмін, віментин	α -SMA (фіброз)
Ендотелій	Factor VIII-related antigen CD31, 34	CD34 (артеріалізація синусоїдів) CD31 в новоутворених судинах септ
Клітини Купфера	Лізоцим, CD68	
Pit-клітини	CD56+CD3- CD56+CD3+	CD11c+

незважаючи на це, при більшості нозологій швидкість та інші особливості прогресування залежать від етіологічних чинників (перший поштовх) та приєднання інших факторів (другий та наступні поштовхи), які ще

недостатньо досліджені. Така схема є спільною для таких несхожих процесів, як алкогольна хвороба, вірусний гепатит С, неалкогольний стеатогепатит.

Вважається, що алкогольне ураження печінки виникає за умов перевищення «порогу» кількості щоденного споживання етанолу – 40-60г/день для чоловіків та 20-40 г/день для жінок при тривалості зловживання більше 10-12 років. За таких умов у 90-100% осіб розвивається стеатоз печінки. Цей стан прогресує у стеатогепатит лише у 10-35%, а циротична трансформація спостерігається у 8-20% [2,3]. Імовірно, що алкоголь є «потенційним гепатотоксином», а розвиток захворювання залежить від балансу між впливами багатьох факторів, зокрема статі, поліморфізму ферментів, задіяних у метаболізмі етанолу, ефективності імунних реакцій, вживання ліків, індивідуальних особливостей метаболізму, харчування, зокрема схильності до ожиріння [165-169].

При алкогольній хворобі описано два етапи розвитку уражень печінки [166]. На першому етапі в умовах зловживання спостерігається порушення метаболізму алкоголю з утворенням токсичних, катаболічних продуктів – ацетальдегіду та CYP2E1 (або інших ізоформ). Ці сполуки мають прямий цитотоксичний ефект або ініціюють захисні реакції [167]. Основним наслідком метаболічних розладів є стеатоз – нагромадження тригліцеридів у печінці та своєрідна «сенсibiliзація» гепатоцитів. Розрізняють дві стадії розвитку стеатозу.

Рання стадія – гострий шифт у співвідношенні $NAD^+ \setminus NADH$ посилює утворення триацилгліцеролу через зміну співвідношення гліцерол-3-фосфат\дигідроксиацетон фосфат та пригнічення β -окислення через зниження інтрамітохондріального співвідношення $NAD^+ \setminus NADH$. Такі зміни спостерігаються при гострому помірному вживанні алкоголю.

Пізня стадія – при продовженні зловживання алкоголю шифт $NAD \setminus NADH$ зменшується (якщо б це був єдиний механізм стеатозу – спостерігалось би пониження нагромадження ліпідів), але зростає значення інших впливів: підвищення активності фосфатидат фосфогідролази та

диацилгліцерол ацилтрансферази; підвищення рівня протеїну, що зв'язує вільні жирні кислоти (ВЖК); пониження рівня виділення ліпопротеїнів дуже низької щільності з гепатоцитів; пониження рівня β -окислення внаслідок ураження мітохондрій; генетичні особливості (недостатність трифункціонального протеїну)

На другому етапі основну роль відіграють окисний стрес (утворення реактивних метаболітів кисню та азоту), вплив ендотоксину (посилюється транслокація кишкових бактерій), гіпоксії, виділення синусоїдними клітинами прозапальних цитокінів та розвитку імунних реакцій до модифікованих протеїнів [168]. В результаті при морфологічному дослідженні у печінці будуть виявлятися ознаки некрозу, апоптозу та запальної інфільтрації – прояви гепатиту.

Розвиток склерозу є компонентом загоєння; його ступінь зумовлений рядом генетичних факторів, які регулюють фактори активації ПЗК (TNF- α , TGF β), мітогени ПЗК (PDGF, IGF1), ферменти окисного стресу, компоненти та ферменти, що регулюють обмін ЕЦМ, переважання Th2 типу реакції (IgE), яка може формуватись в дитинстві під впливом певних антигенів мікроорганізмів [169,170].

Механізми розвитку неалкогольного стеатозу та гепатиту на сьогодні теж описані досить детально завдяки роботам декількох груп дослідників [172,173]. Дана патологія розглядається як морфологічний еквівалент змін у печінці при так званому метаболічному синдромі – поєднання цукрового діабету II типу, ожиріння, гіпертензії та дисліпідемії.

У 2005 році International Diabetes Federation (IDF) визначила єдині критерії встановлення діагнозу «метаболічний синдром». Згідно рекомендацій IDF обов'язковим критерієм МС є центральне (абдомінальне) ожиріння (окружність талії більше 94 см для чоловіків та більше 80 см для жінок – у європеїдній раси) у поєднанні як мінімум з двома із наступних чотирьох факторів: збільшення рівня тригліцеридів більше 1,7 ммоль/л чи специфічного лікування дисліпідемії; зниження концентрації ліпопротеїдів

високої щільності менше 1,03 ммоль/л у чоловіків і менше 1,29 ммоль/л у жінок або специфічне лікування; підвищення артеріального тиску: систолічного більше 130 мм рт.ст. або діастолічного більше 85 мм рт.ст. або антигіпертонічна терапія; підвищення глюкози венозної плазми натще більше 5,6 ммоль/л або раніше діагностований цукровий діабет II типу (при глікемії натще більше 5,6 ммоль/л). До додаткових критеріїв МС відносяться: порушення розподілу жирової тканини, атерогенна дисліпідемія (при підвищенні рівня тригліцеридів та зниженні вмісту ліпопротеїдів високої щільності), прозапальний статус, протромботичний статус, гормональні фактори.

У патогенезі неалкогольного стеатогепатиту традиційно теж розрізняють два етапи. На першому – розвивається стеатоз печінки, зумовлений цілим комплексом факторів, серед яких провідну роль відіграє резистентність до інсуліну. З резистентних адипоцитів виділяється збільшена кількість жирних кислот, а резистентні міоцити та частково гепатоцити сприяють підвищенню рівня глюкози та/або інсуліну в плазмі. В результаті формується новий рівень динамічної рівноваги між підвищенням вмісту жирних кислот, посиленням ліпогенезу та утворення тригліцеридів, посиленням β -окислення у мітохондріях та порушенням виділенням ліпопротеїнів дуже низької щільності з клітини, що морфологічно проявляється нагромадженням вакуолей жиру у гепатоцитах. Іноді такий стан лишається незмінним, іноді ж призводить до ініціації процесів некрозу, апоптозу та запалення – другого етапу захворювання. Основними механізмами, які при цьому зумовлюють пошкодження є перекисне окислення ліпідів (інактивація компонентів дихального ланцюга), посилена експресія TNF- α (підвищення проникливості мітохондріальної мембрани) та наступна дисфункція мітохондрій. Загибель гепатоцитів та утворення цитокінів призводить до активації запальної відповіді, що морфологічно проявляється лімфо-макрофагальною інфільтрацією з домішкою нейтрофілів – НАСГ.

Продукти перекисного окислення та лептин, який виділяється адипоцитами з ліпідними нагромадженнями активують фіброгенез двома шляхами: посилюють утворення TGF- β макрофагами та безпосередньо посилюють продукцію позаклітинного матриксу зірчастими клітинами.

В останній час з'явилися роботи, в яких описується роль інших важливих факторів у патогенезі НАСГ що відповідно ускладнює всю схему розвитку захворювання. Так згідно гіпотези Dowman J.K., 2010 [172] можна виділити три стадії хвороби. На першому етапі провідною ознакою є нагромадження ліпідів, які в подальшому підлягають β -окисленню, естерифікації з утворенням тригліцеридів або виділенню з клітини у вигляді ліпопротеїнів низької щільності. Дисбаланс у цих механізмах може супроводжуватись утворенням значної кількості неестерифікованих вільних ЖК, які можуть мати прямий цитотоксичний вплив, посилюючи окисний стрес та активуючи прозапальні шляхи. Тому стеатоз, який є провідною морфологічною ознакою та першому етапі, можна розцінювати як захисний механізм, що запобігає пошкодженню гепатоцитів токсичними вільних ЖК. Другий етап характеризується переважанням процесів пошкодження, асоційованих з клітинною інфільтрацією.

Ще одним важливим фактором, запропонованим авторами, є порушена проліферація гепатоцитів, яка спостерігається на третьому етапі – «третій» поштовх. За нормальних умов у печінці загибель гепатоцитів зумовлює реплікацію зрілих збережених паренхіматозних клітин, які заміщують пошкоджені структури та відновлюють нормальну функцію тканини. Але окисний стрес, провідний механізм розвитку НАЖХП, пригнічує реплікацію зрілих гепатоцитів та призводить до збільшення кількості популяції печінкових клітин-попередників (аналогів овальних клітин у експерименті). Ці клітини можуть диференціюватись у напрямку гепатоцитів, але, крім того, збільшення їх кількості корелює з прогресуванням фіброзу та розвитком гепатоцелюлярної карциноми. При хронічному пошкодженні тканини печінки розвиток фіброзу та цирозу залежить від повноцінності відновлення

популяції гепатоцитів, тому загибель клітин, асоційована з порушеннями проліферації попередників гепатоцитів відіграє провідну роль на третьому етапі розвитку НАЖХП.

Гепатит С спричинюється РНК-вмісним вірусом з родини *Flaviviridae*, який при взаємодії з клітиною-мішенню зумовлює цілу низку різноманітних ефектів. Розпізнавання віруса веде до активації клітинної відповіді, яка регулюється дендритними клітинами, NK-клітинами, Т-лімфоцитами (CD4, CD8, Treg), цитокінами (IFN, TNF), мікроРНК. Гармонійна, сильна імунна відповідь обмежує інфекцію, але оскільки противірусні протеїни виявляються неефективними, внутрішньоклітинні сигнали є заблокованими або розрегульованими, реплікація може продовжуватись. Крім того сам вірус блокує антивірусну активність (недостатня активація TLR), сповільнене поступлення у лімфовузли з порушенням розпізнавання антигенів, виділення прозапальних цитокінів, блокування та порушення процесів клітинної сигналізації). Окремі протеїни віруса (ядерний протеїн, неструктурний протеїн NS5A) зумовлюють проапоптичний ефект, порушення метаболізму ліпідів у гепатоцитах, а також утворення вільних радикалів кисню та інших прозапальних факторів. Таким чином підтримується хронічний запальний процес [174-177].

При вірусному гепатиті С розрізняють три варіанти перебігу – гострий гепатит, хронічний гепатит із стабільним перебігом та хронічний гепатит з повільним прогресуванням. Вважається, що переважання певного варіанту залежить від подій у гострій фазі, зокрема від рівня імунної відповіді. Прогресуючий перебіг вимагає порушення процесів загоєння – фіброгенезу та репарації. Вважається, що склероз є результатом не вираженого запалення (мононуклеарна інфільтрація), а асоційованої зовнішньої або внутрішньої імуносупресії. При цьому важливе значення має приєднання додаткових факторів (алкоголь, метаболічний синдром, гемохроматоз) – так званий другий поштовх [178,179]. Є дані про те, що вірус гепатиту С відіграє роль у розвитку інсулінорезистентності [178].

Таким чином при всіх трьох захворюваннях схема розвитку змін в печінці включає декілька етапів.

Порушення метаболізму гепатоцитів з нагромадженням ліпідів та розвитком ознак пошкодження (переважно оборотного). Такі зміни ініціюються зазвичай етіологічними чинниками – вплив алкоголю, цитопатичний ефект вірусів, зміни мікрооточення гепатоцитів (резистентність до інсуліну, гіперглікемія).

Загибель клітин та активація захисних механізмів (запалення, імунна відповідь). При цьому при морфологічному дослідженні виявляються ознаки некрозу, апоптозу, клітинної інфільтрації. Описані реакції зумовлені впливом додаткових факторів (приєднання ожиріння, інших інфекцій), які зараз інтенсивно досліджуються.

Розвиток процесів загоєння, які за умови прогресуючого перебігу ведуть до тканинної перебудови з формуванням цирозу. Але, оскільки, прогресування фіброзу та неповна регенерація спостерігається не у всіх випадках, імовірно, що при цьому теж може мати місце вплив додаткових, недостатньо вивчених факторів (генетичні, ефективність лікування).

Отже, незважаючи на те, що загальна схема патогенезу зрозуміла, лишається багато не вияснених питань щодо факторів, ініціюючих активацію наступної фази прогресування (гепатиту та цирозу).

1.5 Діагностичні критерії для морфологічного дослідження тканини печінки при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С

При діагностиці хронічних захворювань печінки морфологічне дослідження продовжує залишатись найбільш достовірним. Зазвичай основною метою біопсійного дослідження є не підтвердження діагнозу, а визначення ступеня активності процесу та вираженості фіброзу. Для цього було розроблено шкали напівкількісної оцінки основних патологічних змін, виявлених при хронічних гепатитах [180]. Були створені шкали для аналізу

випадків вірусного гепатиту [184] автоімунних захворювань. Пізніше було створено декілька модифікацій таких шкал, а також по аналогії розроблені шкали для напівкількісної оцінки змін при НАСГ, АСГ [185,186].

При біопсійному дослідженні найчастішим питанням, яке стоїть перед патоморфологом є визначення особливостей виду та перебігу хронічного гепатиту: етіологічні маркери, ступінь активності та стадія розвитку захворювання. Раніше, коли в переважній більшості випадків зустрічались вірусні гепатити В, “ні А ні В” та автоімунні ураження, достатньо було діагностувати хронічний персистуючий, агресивний та лобулярний гепатит, а також констатувати ознаки циротичної трансформації. На сьогодні, коли етіологічний профіль хронічних гепатитів дещо змінився, зокрема, поширеність гепатиту С набуває характеру епідемії, виникла потреба у більш детальній та спеціалізованій оцінці морфологічних змін. Одна з перших напівкількісних шкал була створена групою дослідників під керівництвом Knodell, які описали три види альтеративно-запальних змін та четвертий варіант уражень – тканинну дезорганізацію та склероз [180]. Ступінь вираженості таких змін визначалась у цифрах, що дозволяло в кінцевому результаті дати кількісну характеристику процесу. Дана система набула широкого розповсюдження, але в той же час виявились і недоліки – у випадках з вираженою активністю і незначним склерозом кількісні характеристики могли бути такими ж, як і при цирозі з низькою активністю процесу. Тому почалася активна робота по створенню нових напівкількісних шкал, яка продовжується і сьогодні.

При цирозах перед дослідниками постає дещо інше завдання – оцінка функціональних можливостей збереженої паренхіми та прогноз захворювання (імовірність прогресування, стабілізації або зворотніх змін). Для цього необхідні дещо інші критерії, які в комплексі дозволять знайти відповідь на поставлені питання.

Розроблені на сьогодні шкали можна умовно поділити на три групи, які відрізняються за призначенням [181-184]:

1. Максимально детальний опис виявлених морфологічних змін, які є важливими у дослідницькій роботі (Knodell, Ishak)
2. Проста схема, яка базується на ознаках з максимальною відтворюваністю результатів (METAVIR, Scheuer, Серов В.В.)
3. Схематичні зображення, які полегшують сприйняття виявлених морфологічних змін для клініцистів (Batts-Ludwig)

Кожна із наведених та інші схеми мають свої переваги та недоліки, які детально обговорюються у відповідних спеціалізованих оглядах. Відповідно їх вибір залежить від уподобань та поглядів кожного патолога. Але існує певний мінімум вимог та рекомендацій, якого потрібно дотримуватись у кожному випадку біопсійного дослідження печінки. На нашу думку корисними можуть бути рекомендації відомого патолога Theise N., який спеціалізується у гепатології [187]. На основі власного досвіду та аналізу багатьох літературних джерел він пропонує при дослідженні біопсії печінки при хронічних гепатитах дотримуватись наступних принципів:

1. Не має значення, яка із напівкількісних шкал вибрана, важливо, щоб була домовленість з клініцистом щодо доцільності використання певної схеми та розуміння її особливостей.
2. У патогістологічному заключенні має бути вказана шкала, яка використовується. Вираженість процесу може бути представлена у вигляді цифр та/або у вербальній формі, оскільки діагноз має бути зрозумілим для будь-якого лікаря.
3. При оцінюванні альтеративно-запальних змін важливо виявити зливні некрози, оскільки вони мають велике клінічне значення (загострення – при гепатиті С або агресивний перебіг при гепатиті В; коінфекція, вплив медикаментів/токсинів, імунодефіцитний стан). Але такі зміни спостерігаються відносно рідко. Виявлення незначних ступінчастих та внутрішньочасточкових некрозів є менш важливим для клінічного перебігу, тому надмірна деталізація в таких випадках не є необхідною.

4. Визначення стадії процесу є основним критерієм при розробці схеми лікування, враховуючи значні побічні впливи ліків та сумнівність повної ерадикації вірусів. Тому простота та легкість сприйняття використовуваної схеми в цьому питанні особливо важливі.

5. При поєднаних ураженнях визначення індексу гістологічної активності та фіброзу може бути недостатнім для розробки лікування та розуміння прогнозу захворювання. В таких випадках великого значення набувають додаткові зміни.

6. Виходячи з цього доцільно описувати найчастіші з них при кожному дослідженні у коментарі. До таких змін відносяться стеатоз, гемосидероз та велико- або дрібноклітинні зміни.

В зв'язку з широким розповсюдженням комп'ютерних технологій та їх впровадженням у рутинну роботу, реальною стає можливість проведення морфометричного дослідження. Такий аналіз забезпечує єдиний, стандартизований підхід, використання кількісних показників, їх адекватну обробку та максимальну об'єктивність дослідження. Основні принципи морфометричного аналізу були закладені Weibel E.R. на прикладі дослідження патоморфології легень. Пізніше даний метод був розроблений у роботах багатьох авторів [188]. На сьогодні існують моделі дослідження тканини печінки та відповідні програми, які забезпечують можливість проведення необхідних вимірювань. Так, італійські дослідники запропонували наступну схему дослідження тканини печінки з використанням гістологічних і імуногістохімічних методів [189,190].

На малому збільшенні (трихромне забарвлення) визначались об'ємні частки (по відношенню до всієї печінки), представлені: паренхімою, непаренхіматозними структурами, фіброзом, портальними тріадами; середній розмір циротичних вузлів та кількість циротичних вузлів. На великому збільшенні (трихромне забарвлення) визначались об'ємні частки (по відношенню до всієї печінки), представлені: ядрами гепатоцитів, центролобулярними венами, просвітами та ендотелієм синусоїдів, фіброзом,

портальними тріадами, просвітами та ендотелієм печінкових артерій, просвітами та ендотелієм портальних вен, жовчевими протоками. При імуногістохімічному дослідженні оцінювались об'ємні частки, представлені: капілярними одиницями, по відношенню до паренхіми (CD31), ендотелієм печінкових артерій, по відношенню до фіброзу (FVIII), ендотелієм печінкових вен, по відношенню до зон фіброзу (FVIII), просвітом печінкових артерій, по відношенню до фіброзу (FVIII), просвітом портальних вен, по відношенню до зон фіброзу (F VIII), жовчевими протоками, по відношенню до всієї печінки (CK7), гепатоцитами з біліарною метаплазією, по відношенню до паренхіми (CK7).

Але така схема є корисною для детального, повного опису змін, виявлених у основних тканинних та клітинних структурах печінки, який застосовується переважно у наукових дослідженнях. Їх узагальнення та висновки щодо діагнозу потребують багато часу та високої кваліфікації дослідника. Для практичної роботи більш доцільною була б модель, яка базується на характеристиці окремих патологічних процесів. Причому по аналогії з напівкількісними шкалами, імовірно є потреба в декількох шкалах – окремо для гепатитів, і окремо для цирозів. Так Т. Caballero et al. у 2001 р. [190] запропонували автоматизовану систему кількісної оцінки фіброзу печінки за допомогою комп'ютерної програми «Фіброквант». В пам'ять комп'ютера були занесені середні величини основних параметрів структурних одиниць печінки (ширина ПТ, діаметр судин та інші). Заключення видається після порівняння показників, закладених в комп'ютері та індивідуальних показників хворого.

Незважаючи на важливість інформації, одержаної при мікроскопічному дослідженні тканини печінки, використання методу пункційної біопсії має певні обмеження (табл.1.2) [191].

Тому на сьогодні велика увага приділяється розвитку неінвазивних методів дослідження, які дозволяють оцінити ступінь вираженості таких процесів як стеатоз, пошкодження, запалення, фіброз. Найбільш

розробленими є методи виявлення ознак фіброзу, оскільки саме цей процес визначає стадію захворювання [191,192]. До них відносяться тести, які базуються на показниках лабораторних аналізів (непрямі, прямі та комплексні панелі) та фізикальні методи дослідження.

Основою для непрямих тестів є показники, що визначаються при рутинному дослідженні функції печінки, і тому більшість з них є недорогими та доступними. Найчастіше враховуються значення рівня ферментів (аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, гаммаглутаміл-трансферази), кількість тромбоцитів, протромбіновий час, холестерин, α 2-макроглобулін, гаптоглобін, аполіпопротеїн, загальний білірубін та інші показники у різних комбінаціях (APRI, Forns index, Fibrotest) [192].

Таблиця 1.2 – Фактори, що обмежують використання методу пункційної біопсії (ПБ) для оцінки морфологічних змін у тканині печінки

Причини “непопулярності” біопсії печінки	
Наявність протипоказів	Порушення гемостазу, виражений холестаз, цукровий діабет, декомпенсовані серцево-судинні захворювання, правобічний ексудативний плеврит
Потенційний ризик процедури	59% хворих та 22% лікарів поділяють нерішучість щодо ПБ
Побічні ефекти біопсії	1 з 3-х пацієнтів відмічає біль, 1 з 1000 має важкі, часом загрожуючі життю ускладнення, 1 з 10000 ПБ закінчується летально
Низька відтворюваність результатів	30% цирозів печінки не діагностується при ПБ; При цирозі печінки три зразки, узяті однаковою методикою в тих самих хворих, узгоджується лише у 50% випадків; Розбіжності між результатами ПБ правої та лівої часток печінки; Відмінності у гістологічних заключеннях одного патолога щодо тієї ж самої біопсії та між двома різними висококваліфікованими патологами
Технічна складність процедури	Лише у 50% матеріал, одержаний при ПБ відповідає вимогам - стовпчик довжиною 15 мм з ≥ 5 портальними трактами

Прямі тести базуються визначенні кількості білків ЕЦМ у крові: гіалуринової кислоти, пептидів про колагену, ММП та ТІМП, оскільки рівень цих сполук залежить від збалансованості процесів синтезу та деградації елементів позаклітинного матриксу [193]. Часом показники або їх співвідношення об'єднуються у групи або складні панелі (Fibrospect II, Heparscore, Fibrometer). У багатьох дослідженнях проводився порівняльний аналіз результатів використання наведених вище та інших тестів, але достовірних результатів так і не було одержано. Серед фізикальних методів найчастіше використовуються ультразвукове дослідження, комп'ютерна томографія, ядерно-магнітний резонанс. Результативність цих методів залежить від стадії захворювання: діагноз цирозу є достовірним, а більш ранні зміни визначити складніше. Одним із відносно нових методів є еластографія, яка дозволяє визначити щільність тканини на основі вимірювання швидкості розповсюдження вібраційної хвилі у органі. При цьому розмір ділянки, що досліджується складає 4см^3 , що значно перевищує стовпчика тканини при біопсії. Але знову ж таки цей метод дає найкращі результати у випадках сформованого цирозу печінки.

Отже, незважаючи на значні успіхи у пошуках нових методів клінічного обстеження хворих з хронічними захворюваннями печінки, біопсійне дослідження лишається актуальним. Але, оскільки процедура є інвазивною, і зрідка може супроводжуватись ускладненнями, необхідно чітко дотримуватись загальноприйнятих положень на всіх етапах її проведення, включаючи детальний опис патогістологічних змін та кваліфіковане патоморфологічне заключення з використанням відповідних якісних та кількісних критеріїв.

Таким чином розробка таких критеріїв як для рутинного напівкількісного дослідження, так і для морфометричного аналізу із застосуванням гістохімічних маркерів лишається актуальним.

1.6 Значення експериментальних досліджень для вивчення патогенезу хронічних захворювань печінки

Процеси загоєння залежать як від первинних етіологічних чинників, так і від множинних вторинних впливів, які приєднуються на різних етапах патогенезу. Тому важливим є пошук кореляцій між дією певного фактору та активації відповідних механізмів загоєння. На сьогодні нагромаджено достатньо великий матеріал щодо експериментальних уражень печінки, які більш або менш точно моделюють різноманітні варіанти пошкодження та запалення. Моделі, які дозволяють вивчати процеси загоєння – фіброз, ангиогенез та регенерацію відомі в меншій мірі. Особливо важливою є розробка моделей, які б відтворювали переважно один з компонентів процесів загоєння. Це дозволить вивчати вплив різноманітних ліків на дану ланку патогенезу та оцінювати її роль у прогресуванні захворювання.

Сучасні експериментальні моделі відтворюють різні механізми ураження в залежності від причини розвитку патології печінки. Хронічне токсичне ураження печінки моделюють за допомогою повторного введення гепатотоксинів: тетрахлорметану, диметилнітрозаміну [194,195], галактозаміну [196], тіоацетаміду [197], етанолу [198]. Для моделювання уражень, зумовлених нагромадженням у печінці металів тваринам вводять нітрилотриацетат заліза або міді [199]. Зміни, спричинені холестазом, викликають перев'язуванням загальної жовчевої протоки [200]. Метіонін- або метіонін/холінодефіцитна дієта може використовуватися для моделювання неалкогольного стеатогепатиту [201]. Останнім часом використовують також трансгенні моделі, пов'язані з посиленням експресії генів [202] або їх нокаутом [203]. Всі перелічені моделі використовуються на гризунах і лише з певним обмеженням можуть застосовуватися для оцінки фіброгенезу в людей у зв'язку з міжвидовими відмінностями. Однак на даний час моделі *in vivo* залишаються незамінними при вивченні механізмів фіброзу та репарації, оскільки на відміну від експериментів *in vitro* вони

дають можливість врахувати роль позаклітинного середовища, нервової системи та імунної відповіді в процесі фіброгенезу [204-206].

Використання більшості галогенізованих алканів таких, як чотирьохокис вуглецю (CCl_4), хлороформ (CHCl_3) або йодоформ (CHI_3) є обмеженим та строго контролюється. Але CCl_4 і сьогодні продовжує застосовуватись для моделювання механізмів, які зумовлюють стеатоз, фіброз, загибель гепатоцитів та канцерогенез [207]. В залежності від дози, тривалості дії та наявності потенціюючих факторів, а також від віку тварини, можливим є розвиток регенерації та повне відновлення після пошкодження [208]. CCl_4 активується цитохромом (CYP)2E1, CYP2B1 або CYP2B2, а також можливо CYP3A, з утворенням радикалу CCl_3 . Цей радикал може приєднуватись до клітинних молекул (нуклеїнових кислот, протеїнів, ліпідів), порушуючи перебіг таких важливих процесів як, наприклад, метаболізм ліпідів, що призводить до жирової дистрофії. Утворення аддуктів між CCl_3 та ДНК ініціює розвиток гепатоцелюлярної карциноми. Цей радикал взаємодіє також з киснем, що веде до утворення групи інших високо реактивних сполук, зокрема CCl_3OO . Останній ініціює ланцюгову реакцію перекисного окислення ліпідів з наступним руйнуванням поліненасичених ЖК, включаючи ЖК, асоційовані з фосфоліпідами. Ці ефекти зумовлюють підвищення проникливості плазмолем, мембран мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму, порушення внутрішньоклітинного обміну кальцію з його секвестрацією та пошкодження клітини. До продуктів розпаду ЖК відносяться реактивні альдегіди, зокрема 4-гідроксиноненал, який легко приєднується до функціональних груп протеїнів та пригнічує активність важливих ферментів. Отруєння CCl_4 призводить також до гіпометилування клітинних компонентів; у випадку РНК це призводить до пригнічення синтезу білків, у випадку фосфоліпідів – до пригнічення секреції ліпопротеїдів. Ні один з описаних процесів сам по собі не призводить до загибелі клітини, але за умови їх асоціації розвивається пошкодження, ступінь якого залежить від дози та тривалості дії. На молекулярному рівні

CCl_4 активує $\text{TNF}\alpha$, NO, $\text{TGF-}\alpha$ та $-\beta$, які зумовлюють апоптоз або ініціюють фіброз. $\text{TNF}\alpha$ активує механізми апоптозу, в той час як TGF призводить до фіброзу. IL-6, індукований $\text{TNF}\alpha$, характеризується антиапоптичним ефектом; схожий ефект має IL-10. Отже обидва інтерлейкіни мають можливості ініціювати відновлення гепатоцитів після пошкодження CCl_4 . Частина з описаних процесів можуть пригнічуватись при застосуванні антиоксидантів та мітогенів шляхом поновлення клітинного метилювання або підтримуючи секвестрацію кальцію відповідно. Ще однією мішенню CCl_4 є мікросомальний транспортер тригліцеридів (MTP). Введення тетрахлорметану зумовлює посттрансляційну деградацію цієї сполуки, не впливаючи на активність, пов'язану з транспортом тригліцеридів [209].

Таким чином модель хронічного ураження печінки при введенні тетрахлорметану може використовуватись для дослідження багатьох механізмів, задіяних у процесах фіброзу та репарації.

Проведений аналіз літературних джерел показав, що остаточно **невирішена низка важливих питань:**

- Відсутні системні дослідження присвячені комплексному вивченню процесів фіброгенезу репаративної регенерації та фіброгенезу при хронічних захворюваннях печінки
- Не з'ясовані основні етіопатогенетичні фактори прогресування хронічних захворювань печінки
- Потребують подальшого вивчення особливості морфологічних проявів фіброгенезу та репарації при алкогольній хворобі, вірусному гепатиті C, неалкогольному стеатогепатиті
- Потребують модифікації та розробки діагностичні алгоритми оцінки процесів фіброгенезу і репарації для використання у практичній роботі патоморфолога.

Матеріали даного розділу опубліковані в статтях [66, 164, 179, 191].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали дослідження

2.1.1 Загальна характеристика матеріалу

Дослідження проводились на базі кафедри патологічної анатомії та судової медицини та кафедри фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, головної лабораторії Львівського обласного патологоанатомічного бюро (ЛОПАБ), лабораторії «Біоптат» протягом 2006-2016 років згідно договору про співпрацю.

Ретроспективне дослідження базувалось на матеріалі автопсій виконаних у Львівському обласному патологоанатомічному бюро за десять років (2001-2010) і включало 1237 випадків з ознаками цирозу печінки, зумовленого різними захворюваннями.

У відкрите проспективне дослідження було включено 95 біопсійних та 321 автопсійний випадок досліджень тканини печінки хворих на хронічний стеатогепатит і вірусний гепатит С.

Підтвердження діагнозу алкогольного стеатогепатиту та цирозу базувалось на даних анамнезу про тривале зловживання алкоголю (більше 210 грам на тиждень або 30 грам на день – згідно рекомендацій Національного Інституту Здоров'я Сполучених Штатів Америки) та морфологічних проявах алкогольної хвороби – кардіоміопатії, хронічного панкреатиту, алкогольної енцефалопатії та типових змін в печінці. Вірусний генез вважали достовірним при наявності даних про позитивні маркери вірусного гепатиту С (RNA HCV) та морфологічних ознак вірусного ураження (критерії METAVIR) [184]. Верифікація діагнозу неалкогольного стеатогепатиту включала виявлення проявів метаболічного синдрому та морфологічних змін печінки (критерії Brunt M., 2010) [186].

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 (гіперглікемія, полінейропатія, ураження очей, спадкова схильність – випадки цукрового діабету в батьків, або в близьких родичів) стали основою для включення пацієнтів в досліджувану групу (табл.2.1).

Таблиця 2.1 – Морфологічні еквіваленти проявів метаболічного синдрому (МС), які враховувались при діагностиці неалкогольного стеатогепатиту

Ознаки МС	Морфологічні еквіваленти проявів МС
Резистентність до інсуліну (цукровий діабет).	Зміни стінок судин (фіброзно-ліпідні бляшки, склероз, гіаліноз, потовщення базальної мембрани); Наслідки макро- та мікроангіопатії (ішемічні розлади – інфаркти, гангрени, гломерулосклероз).
Ожиріння	Індекс маси тіла > 30 ; Тип ожиріння (загальний, середній); Товщина жирової клітковини на передній черевній стінці > 7 см; Товщина паранефральної клітковини > 4 см.
Дисліпідемія	Атеросклеротичні ураження основних судинних басейнів (аорта, коронарні, церебральні, мезентеріальні, ниркові та артерії нижніх кінцівок); Зміни судинної стінки та ішемічні розлади в паренхімі.
Гіпертензія	Склероз та гіаліноз стінок дрібних артерій та артеріол; Гіпертрофія стінок лівого шлуночку серця; Нефросклероз.

Таким чином випадки з ознаками МС у досліджувану групу включались за умов виявлення наступних ознак: гіперглікемії (> 6) або

діагностованого ЦД; ІМТ > 30 та середнього типу ожиріння; множинних фіброзно-ліпідних бляшок у 2-3 судинних басейнах; проявів ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних захворювань; артеріологіалінозу, гіпертрофії стінок лівого шлуночку серця та нефросклерозу.

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).

2.1.2 Характеристика досліджених груп

Архівний матеріал включав автопсії проведені у ЛОПАБ протягом десяти років (2001-2010). При аналізі 9215 секцій було виділено 1237 випадків з ознаками цирозу печінки.

Власний матеріал включав 417 випадків алкогольного та неалкогольного стеатогепатиту, вірусного гепатиту С та поєднання даних захворювань (табл.2.2). У групу контролю увійшло 10 секційних випадків, які були тотожними за статтю та віковим складом основній групі.

Таблиця 2.2 – Загальна характеристика та обсяг дослідженого матеріалу (власний матеріал)

Гепатит	Автопсії (n)	Біопсії (n)	Разом (n)	Середній вік (M+s)	Стать (Ч/Ж)
АСГ	88	20	108	47,2±10,1	66/42
НАСГ	90	14	104	65,1±14,3	56/48
ВГС	39	62	101	42,1±11,3	56/45
ПЗ	104	-	104	56,4±14,3	58/46
<i>Разом</i>	321	96	417	55,6±12,1	236/181

У досліджуваній групі було 236 чоловіків та 181 жінка. Середній вік хворих складав $55,6 \pm 12,1$ роки. Особливості статево-вікового розподілу у різних групах представлені у таблиці 2.2.

На основі аналізу гістологічних змін у печінці було визначено стадію розвитку досліджуваних захворювань та ступінь активності процесу (табл.2.3).

Таблиця 2.3 – Ступінь активності та стадія тканинної перебудови у печінці у досліджуваних групах (власний матеріал)

Група	Стадія (n)				Ступінь активності (n)				Разом (n)
	0	1	2	3	0	1	2	3	
АСГ	-	8	68	32	-	30	36	42	108
НАСГ	-	80	20	4	50	52	2	-	104
ВГС	-	10	53	38	-	50	51	-	101
ПЗ	-	-	12	92	-	52	12	40	104
Разом	-	98	153	166	50	184	101	82	417

Примітка:

Стадія 0 – збережена тканинна організація;

Стадія 1 – перицелюлярний та/або перипортальний фіброз, вогнищевий або розповсюджений;

Стадія 2 – порто-портальні та порто-центральні септи;

Стадія 3 – цироз, можливий або наявний.

Ступінь активності 0 – мінімально виражені ознаки пошкодження та інфільтрації;

Ступінь активності 1 – незначний;

Ступінь активності 2 – помірний;

Ступінь активності 3 – виражений.

При визначенні стадії та ступеня активності використовувались критерії, розроблені автором на основі модифікації існуючих напівкількісних шкал [195,200,201], представлені в додатку 2.

В групі поєднаних захворювань розрізняли чотири види комбінацій: АСГ+ВГС, АСГ+НАСГ, НАСГ+ВГС та АСГ+НАСГ+ВГС (табл.2.4).

Таблиця 2.4 – Загальна характеристика та обсяг дослідженого матеріалу у групі поєднаних захворювань

Комбінація	Кількість (n)	Середній вік (M+s)	Стать (Ч/Ж)
АСГ+ВГС	32	54,4±12,5	24/8
АСГ+НАСГ	54	58,1±15,6	37/17
НАСГ+ВГС	12	58,0±14,8	5/7
АСГ+НАСГ+ВГС	6	45,5±5,5	3/3
Разом	104	56,4±14,3	69/35

Забір матеріалу для біопсійного дослідження проводився під контролем УЗД для уточнення розмірів печінки, розміщення жовчевого міхура та анатомічних відхилень.

Техніка біопсії. Для проведення пункції хворого вкладають на лівий бік. Прокол печінки проводиться в восьмому-десятому міжребер'ї справа, між передньою аксілярною та середньоключичною лінією під контролем ультразвуку. Контроль проводиться безперервно за допомогою УЗ сканера SONOSCAPE SS1-1000 конвексним полічастотним датчиком 2,5-5 МГц. Шкіру обробляється 70% розчином етилового спирту, після чого застосовується анестезія 2% розчином лідокаїну, спочатку внутрішньошкірно, потім обезболюються м'язи, плевра та капсула печінки. Через 1-2 хвилини проколюється шкіра за допомогою стилету на глибину 2-4 мм. Через намічене місце вводиться голка для пункційної біопсії печінки "Sterylab S.r.l." G18, перпендикулярно до поверхні ребра та проводиться забір

матеріалу. Отриманий стовпчик біоптату печінки мав мати довжину не менше 15 мм. На місце проколу клали стерильну пов'язку. Одразу після пункції на ділянку правого підребер'я накладається лід, який хворий тримає, з перервами, протягом двох годин.

2.1.3 Характеристика матеріалу експериментальних досліджень

Дослідження були виконані на статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г, яких утримували у віварії за стандартних умов розміщення, харчування та санітарно-гігієнічних норм (табл.2.5).

Таблиця 2.5 – Характеристика матеріалу експериментальних досліджень

Дослідження особливостей фіброгенезу та репарації в експериментальних моделях				
№	Мета дослідження	Групи	Кількість тварин	Разом
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 УДХК на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлоретаном	1 – контроль 2 – тетрахлорметан 3 – тетрахлорметан + УДХК	6 6 6	18
3	Вплив проглітазону на морфо-функціональний стан печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлоретаном	1 – контроль 2 – тетрахлорметан 3 – тетрахлорметан + піоглітазон	6 6 6	18

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 №3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

2.2 Методологія морфологічного дослідження

2.2.1 Дослідження архівного матеріалу

Було проаналізовано патологоанатомічні діагнози всіх розтинів, проведених на базі ЛОПАБ за 2001-2010 роки. Автопсії з діагностованим цирозом печінки були включені у групу архівного матеріалу. У кожному випадку були проаналізовані матеріали секцій, а при потребі проведено перегляд мікропрепаратів, на основі чого проведено розподіл на випадки з неповним септальним цирозом печінки (НСЦП) та цирозом печінки (ЦП).

При вивченні протоколів розтинів виявлялись основні етіологічні чинники, можливі додаткові патогенетичні фактори, а також особливості перебігу захворювання (статеві-вікові характеристики, основне захворювання, безпосередня причина смерті). Оскільки ЛОПАБ обслуговує стаціонари широкого профілю, спеціалізовані лікарні та випадки смерті вдома, аналіз виявленого етіологічного профілю проводився з урахуванням місця смерті хворих.

2.2.2 Дослідження власного матеріалу

Для опису патогістологічних уражень була розроблена схема (додаток К), яка дозволяла максимально врахувати різні варіанти морфологічних змін, незалежно від їх генезу. Основні прояви описувались згідно провідних патологічних процесів, які спостерігаються в печінці при хронічних

захворюваннях: альтерація, запалення/імунопатологічні розлади, фіброз та репарація.

Для діагностики захворювання та його стадії на основі виявлених змін була розроблена універсальна напівкількісна шкала (додаток Л). При цьому були використані критерії відомих напівкількісних шкал для оцінки змін у печінці при хронічних гепатитах різного походження запропонованих Brunt [185], та критерії METAVIR [184]. Ознаки, на яких базуються напівкількісні шкали, були нами модифіковані та поповнені для єдиного підходу при порівнянні змін у різних патогенетичних групах.

Для вивчення морфогенетичних особливостей репаративних процесів та фіброзу було проведено аналіз найважливіших проявів репаративної регенерації, фіброгенезу та ангіогенезу на основі імунофенотипування основних клітинних популяцій, задіяних у нішах регенерації. Для цього була розроблена відповідна схема (додаток М). Для вивчення репаративної регенерації проводилась оцінка епітеліальних елементів. Для цього оцінювали відносну площу, яку займають печінкові клітини попередники (ErCAM), а також клітини з ознаками диференціювання у гепатоцити (ErCAMH) та у холангіоцити (CK19). Оскільки фіброз зумовлений функцією фіброгенних клітин, в нашому дослідженні вивчалась кількість, локалізація та основні функції міофібробластів – контрактильна, секреторна та проліферативна. Для цього оцінювали відносну площу, яку займають активовані α -SMA позитивні та проліферуючі Ki-67 позитивні клітини, а також елементи позаклітинного матриксу – колагенові волокна. Для оцінки ангіогенезу використовувались маркери ендотеліальних клітин – CD31 та CD34, які відображали кількість повністю сформованих судин та утворення нових недиференційованих судинних структур. Стан ендотеліальних клітин досліджувався за допомогою електронної мікроскопії, яка дозволяє виявити ознаки адаптативних реакцій та пошкодження клітини. Із клітин, які потенційно регулюють репаративні процеси вивчались CD68+ клітини макрофагального ряду та CD117+ телцити. Оскільки за даними літератури

репаративна регенерація здійснюється у спеціалізованих структурах – нішах регенерації – розміщених у різних відділах часточки (перипортально в ділянках каналів Герінга та інтралобулярно в просторах Діссе), наведені вище показники вивчались у двох тканинних компартментах – інтерстиційному (септальному) та перенхіматозному (інтралобулярному). Виходячи із того, що гістотопорафічні форми фіброзу, виявлені на нашому матеріалі, відрізняються за провідними патогенетичними механізмами, вивчення кількісних особливостей клітин, задіяних у репаративних процесах, проводилось у трьох групах: з перицелюлярним, перисептальним та перидуктальним фіброзом.

На другому етапі роботи для покращення діагностики АСГ, НАСГ та ВГС при рутинному дослідженні тканини печінки (використання гістологічних методів) було розроблено перелік основних патогістологічних проявів, які відображали провідні патологічні процеси, характерні для пізньої стадії розвитку захворювань (додаток Н). Оскільки репарація та фіброз відбувались паралельно із іншими патологічними процесами і, імовірно, залежали від них, ми вважали доцільним оцінити найважливіші із них. Було проведено аналіз стеатозу – розповсюдженість та переважна локалізація змін. Вивчення клітинних інфільтратів проводилось з урахуванням кількості найважливіших представників реакцій вродженого імунітету (клітини макрофагального ряду) та реакцій набутого імунітету (лімфоцити). Ознаки пошкодження гепатоцитів включали апоптичні тільця у просторах Діссе, балонні зміни печінкових клітин та загибель гепатоцитів у перисептальних ділянках. До діагностично важливих показників були віднесені: гістотопографічна форма фіброзу; тип дуктулярної реакції; варіант нодулярності, тип септ; ступінь реорганізації МЦР, ознаки регресії фіброзу/реорганізації, поширеність та локалізація стеатозу, балонні зміни гепатоцитів, вираженість перисептальних, інтралобулярних та септальних інфільтратів. При цьому акцент було зроблено на дослідженні особливостей репарації і фіброзу, реорганізації структури часточки, ознак регресії

фіброзу/перебудови та проявів пошкодження/інфільтрації. Аналіз частоти напівкількісних показників та статистична обробка результатів дозволив виявити важливі особливості АСГ, НАСГ, ВГС та їх поєднань та розробити схему дослідження тканини печінки на пізній стадії АСГ, НАСГ та ВГС.

Для вивчення ролі окремих морфогенетичних механізмів було проведено дослідження впливу декількох речовин на перебіг процесів загоєння в експерименті. Була використана добре вивчена модель повторного введення токсичних речовин – тетрахлорметану та етанолу, яка дозволяла відтворити хронічні ураження печінки. Порівняння трьох модифікацій даної моделі дозволила виділити варіанти, найбільш придатні для вивчення різних механізмів загоєння – фіброзу, ангиогенезу та репарації. Крім того було проведено дослідження гепатопротекторної, антифібротичної та прорегенераторної активності УДХК, піоглітазону (вплив на механізми окисного стресу та на активацію ПЗК опосередковану PPAR γ відповідно).

2.2.3. Методики патоморфологічного дослідження

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, описаних у керівництвах з гістологічної техніки. Як оглядові використовували фарбування 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) із цифровою камерою Leica DFC 420 (Німеччина) та програмним забезпеченням Leica Application Suit Version 3.8.

Імуногістохімічне дослідження проводилось на базі лабораторій Донецького державного медичного університету, Львівського обласного патологоанатомічного бюро 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 QBEnd 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 використання системи візуалізації останнього покоління EnVision (DakoCytomation). Ідентифікацію реакції проводили за допомогою хромогену

(DAB (DakoCytomation) під контролем мікроскопу з проявом у вигляді темно-коричневого забарвлення специфічних структур в залежності від маркеру (ядерна, цитоплазматична, мембранна реакція). Оцінку експресії кожного маркера проводили індивідуально у відповідності з рекомендаціями інших дослідників (D.J.Dabbs, 2010) [210]. 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 (x 100) та 20 фотографій на великому збільшенні (x 400). Великі судини та жовчеві протоки виключались з дослідження. Аналіз зображення проводився за допомогою ліцензійної програми Image-Pro Plus (Version 6.).

Електронна мікроскопія проводилась на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за участю доцента кафедри патологічної анатомії ЛНМУ імені Данила Галицького Ю.В. Бісяріна. Тканину одержану при пункційній біопсії, фіксували протягом 1-4 годин в розчині, що містив 2% параформу та 2,5% глютаральдегіду на 0,1М какодилатному буфері з рН 7,4 при кімнатній температурі з подальшою до фіксацією протягом 1-2 годин у 1,5% розчині чотирьохокису осмію у зазначеному буфері. Зневоджували матеріал у спиртах зростаючої концентрації (від 50% до 100%) із додаванням в одну з порцій 2% ураніл ацетату, після цього – у суміші спирту з ацетоном і в абсолютному ацетоні. Ущільнення проведено у суміші епонів із 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. Проглядали в електронному трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100-01 (Росія) при напрузі 75 кВ.

2.2.4 Методики експериментального дослідження

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. 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 [211]. 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. [212]. Четверта група тварин – контрольна. Біологічний матеріал (кров та печінку) забирали на третю добу після останнього введення гепатотоксичної речовини після декапітації на фоні ефірного наркозу. Одержані результати дозволили виділити переваги та недоліки кожного із описаних варіантів. В подальшому в наших дослідженнях використовувався перший варіант моделі із введенням тетрахлорметану.

Для вивчення ролі окисного стресу застосовувалась УДХК, яка вводилась тваринам із змодельованим хронічним токсичним ураженням печінки щодня інтрагастрально в дозі 15 мг/кг маси тіла впродовж 30 днів.

Для дослідження ролі PPAR γ тваринам, що одержували тетрахлорметан за описаною схемою, вводили щодня інтрагастрально піоглітазон у дозі 500 мкг/кг впродовж 30 днів.

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).

2.2.5 Методи статистичної обробки отриманих даних

На основі усієї зібраної інформації було створено базу даних, яка була структурована і містила наступні складові частини:

- клінічні дані включали основну інформацію про хворих, у яких було виявлено стеатогепатит та ВГС, а саме: паспортні дані, основний клінічний діагноз, безпосередня причина смерті, наявність ожиріння, цукрового діабету, гіпертензії, дисліпідемії, маркерів вірусного гепатиту С, тривалого алкогольного впливу.
- мікроскопові показники містили морфологічні прояви найважливіших патологічних процесів : стеатозу, пошкодження/інфільтрації, фіброзу, репарації та тканинної реорганізації.
- морфометричні показники – відносна площа, яку займали альціан позитивні колагенові волокна та клітини, що виявляли експресію імуногістохімічних маркерів.

Характеристики включали якісні (стать, тип та локалізація стеатозу, тип септ та ін.), кількісні (вік, морфометричні показники), рангові, які були визначенні в дискретних балах (поширеність стеатозу та ін.) та бінарні (ступінь вираженості внутрішньолобулярного запального інфільтрату, ступінь вираженості перисептального запального інфільтрату, ураження гепатоцитів з їх загибеллю та ін.).

Статистична обробка отриманих результатів проводилася за допомогою пакету програми “R”.

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 визначення відмінностей поміж незалежними групами з гаусівським розподілом використовували непарний критерій Стюдента. Для оцінки відмінностей параметричних характеристик через наявність більше ніж двох груп проводили дисперсійний аналіз (ANOVA), з апостеріорним попарним порівнянням груп за критерієм найменшої значущої різниці (LSD test). Для порівняння підгруп за якісними і альтернативними характеристиками застосовували критерій χ^2 . Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним 0,05.

Для з'ясування корелятивних зв'язків між ранговими характеристиками користувалися критерієм Спірмена, а для кількісних показників – Пірсона.

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 коефіцієнта детермінації.

Оскільки розміри біоптатів та некроптатів є обмеженими, а набір необхідних методів дослідження для досягнення мети і вирішення завдань досить великий, не всі випадки можна було обробити перерахованими нижче методами (табл.2.6). Тому обсяг матеріалу, обробленого спеціальними методами, не обов'язковими для рутинної патогістологічної діагностики, є меншим.

Таблиця 2.6 – Забезпечення дослідження спеціальними методами морфологічного аналізу

Метод	Кількість хворих у групах спостереження (n)			
	АСГ	НАСГ	ВГС	ПЗ
Імуногістохімія	15	15	15	-
Гістохімія	15	15	15	-
Морфометрія	15	15	15	-
Електронна мікроскопія	6	4	-	-

Результати всіх фрагментів комплексного морфологічного дослідження були статистично оброблені за вище вказаними способами та співставлені з іншими результатами.

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕНOSTІ ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ (АНАЛІЗ АРХІВНОГО АВТОПСІЙНОГО МАТЕРІАЛУ)

3.1 Частота цирозу печінки за матеріалами автопсій

При вивченні матеріалів автопсій, проведених на базі ЛОПАБ у 2001-2010 р.р. була виділена група пацієнтів з діагностованим цирозом печінки. Аналіз показав, що цироз печінки спостерігався у 13,4% всіх випадків (табл.3.1), причому ця частка протягом останніх десяти років змінювалась незначно.

Таблиця 3.1 – Частота автопсійних випадків цирозу печінки за 2001-2010 р.р.

Роки	Всі випадки (абс.)	Випадки цирозу (абс.)	Випадки цирозу (%)
2001	775	82	10,6
2002	780	96	12,3
2003	894	109	12,2
2004	803	110	13,7
2005	947	146	15,4
2006	907	154	17
2007	1056	170	16,1
2008	1082	127	11,7
2009	1107	159	14,4
2010	864	84	9,72
Разом	9215	1237	13,4

Для проведення дослідження було вибрано головну лабораторію ЛОПАБ, оскільки у ній концентруються автопсії декількох великих стаціонарів, а також частина випадків смерті вдома. Зважаючи на різний профіль лікарень та наявність випадків смерті вдома, коли клінічні дані були мінімальними, для досягнення достовірності весь матеріал був поділений на дві групи. Перша – включала випадки смерті хворих у багатопрофільних

стаціонарах – обласній клінічній та трьох міських лікарнях. До другої групи були віднесені летальні випадки спеціалізованих стаціонарів (Львівської комунальної інфекційної клінічної лікарні, Львівського обласного кардіоцентру, Львівського регіонального фтізіо-пульмонологічного центру, Львівської комунальної психіатричної лікарні) та смерть вдома. Ми вважали, що дані багатопрофільних стаціонарів, які обслуговують відносно постійний контингент населення, наближаються до відповідних закономірностей у загальній популяції. Матеріали, одержані у спеціалізованих стаціонарах, де відбувається прицільний відбір пацієнтів, повинні мати значні відмінності від середньостатистичних. Кількісний розподіл автопсій, проведених за десять років представлено на рис.3.1.

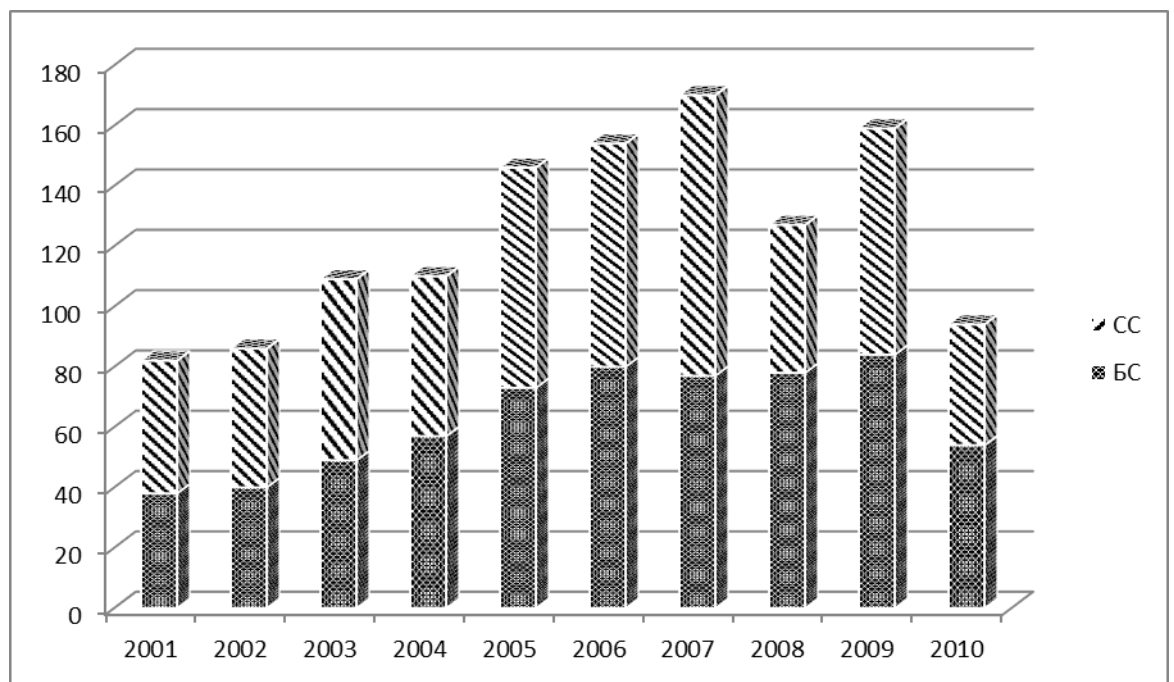


Рисунок 3.1 – Порівняння частоти автопсійних випадків цирозу печінки у багатопрофільних (БС) та спеціалізованих (СС) стаціонарах за десять років (2001-2010)

Статистично значущих відмінностей у частоті випадків з цирозом печінки протягом останніх десяти років не спостерігалось. Ці результати відрізняються від даних епідеміологічних досліджень, проведених на основі клінічного матеріалу, згідно яких виявляється чітка тенденція зростання поширеності та смертності від цирозу печінки. Отже аналіз автопсійного матеріалу дозволяє тільки констатувати внутрішньо стаціонарну летальність і не відображає тенденцій, що спостерігаються у загальній популяції.

Кількість автопсій з багатoproфільних лікарень та спеціалізованих медичних закладів була майже однаковою: у першій групі (багатoproфільні лікарні) випадки цирозу та циротичної трансформації складали в середньому 17%, а в другій групі (спеціалізовані заклади) – 14,5%. Це, імовірно, можна пояснити включенням у другу групу медичних установ різного напрямку спеціалізації, що наближує одержані результати до даних по багатoproфільним лікарням.

3.2 Статеві-вікові особливості при цирозах печінки впродовж 2001-2010 р.р

Упродовж усього часу дослідження (2001-2010 р.р.) серед померлих від цирозу печінки (табл.3.2) стабільно переважали чоловіки ($p < 0,001$). Частка випадків ураження печінки у осіб чоловічої статі складала приблизно дві третини – 68,3% (95% ДІ 65,6-70,9%), а у жінок цироз печінки був діагностований лише у 31,7% .

Середній вік померлих від цирозу печінки впродовж досліджуваної декади складав $54,62 \pm 14,42$ роки. Відмінності цього показника протягом десяти років, що досліджувались, були незначними (статистично незначущими).

Таблиця 3.2 – Статеві-вікові характеристики випадків цирозу печінки за 2001-2010 р.р.

Роки	Вік (M±s)	Чоловіки		Жінки		Разом
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.
2001	51,2±15,4	61	74,4	21	25,6	82
2002	55±15,7	57	66,3	29	33,7	86
2003	56±14,1	71	65,1	38	34,9	109
2004	56,6±14,7	82	74,5	28	25,5	110
2005	54,6±13,1	95	65,1	51	34,9	146
2006	53,6±13,4	105	68,2	49	31,8	154
2007	54,9±14,1	112	65,9	58	34,1	170
2008	52,3±14,1	90	70,9	37	29,1	127
2009	55,7±15,4	107	67,3	52	32,7	159
2010	55,9±14,9	65	69,1	29	30,9	94
2001-10	54,6±14,4	845	68,3	392	31,7	1237

3.3 Етіологічний профіль цирозу печінки

При вивченні протоколів розтинів виявлялись основні етіологічні чинники, можливі додаткові патогенетичні фактори, а також особливості перебігу захворювання (статеві-вікові характеристики, основне захворювання, безпосередня причина смерті).

Для аналізу етіологічного профілю у досліджуваній групі перш за все були виділені випадки алкогольного ураження та вірусного гепатиту, що зумовлено відносною достовірністю діагностичних критеріїв цієї патології та легкістю відбору. В патологоанатомічному діагнозі ці види патології, як правило розцінювались як основне захворювання, яке призвело до смерті хворого. Алкогольний генез змін у печінці вважали достовірним, якщо були

дані анамнезу про тривале зловживання алкоголем (8-15 років) та позапечінкові морфологічні прояви алкогольної хвороби. Діагноз “вірусний гепатит” базувався на даних анамнезу, позитивних серологічних маркерах.

У великій групі випадків, що залишились, були проаналізовані інші можливі чинники, які могли відіграти роль у патогенезі уражень печінки. Перш за все було виділено групу факторів, які розцінюються як достовірні прояви метаболічного синдрому – резистентність до інсуліну, ожиріння, дисліпідемія та гіпертензія. Зміни в печінці при описаному симптомокомплексі розцінювались як цироз внаслідок неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ). При підтвердженні ролі метаболічного синдрому основну увагу звертали на морфологічні прояви описаних процесів, але по можливості враховувались і клінічні дані. Матеріали автопсійного дослідження дозволяли виявити ознаки резистентності до інсуліну (цукровий діабет - зміни стінок судин (фіброзно-ліпідні бляшки, склероз, гіаліноз, потовщення базальних мембран), наслідки макро- та мікроангіопатії (ішемічні розлади, гломерулосклероз), діагностовані в клініці гіперглікемія, полінейропатія, ураження очей); ожиріння (індекс маси тіла, тип ожиріння, товщина жирової клітковини на передній черевній стінці); дисліпідемії (ураження основних судинних басейнів – аорта, коронарні, церебральні, мезентеріальні, ниркові та артерії нижніх кінцівок; зміни судинної стінки та ішемічні розлади в паренхімі); гіпертензії (склероз та гіаліноз стінок артерій та артеріол, гіпертрофія стінок лівого шлуночку серця, нефросклероз).

У значній частині випадків було виявлено поєднання описаних захворювань між собою або з іншими хворобами. Тому окрему групу склали хворі з поєднаною патологією (ПП).

Якщо ж аналіз автопсійних матеріалів свідчив про наявність інших етіологічних чинників (біліарні ураження – вторинний біліарний цироз, автоімунні процеси – гепатит, склерозуючий холангіт, первинний біліарний цироз, токсини та медикаменти, амілоїдоз, гемохроматоз) або причинні

фактори не були виявлені (криптогенний цироз), випадки відносились до останньої групи – «інші».

Таким чином було виділено 5 патогенетичних груп цирозу печінки: цироз зумовлений АСГ, поствірусний цироз, цироз, умовлений НАСГ, цироз при поєднаній патології печінки та цирози іншого походження.

Характеристика часток, які складали основні патогенетичні групи, впродовж досліджуваного періоду представлена на рис.3.2.

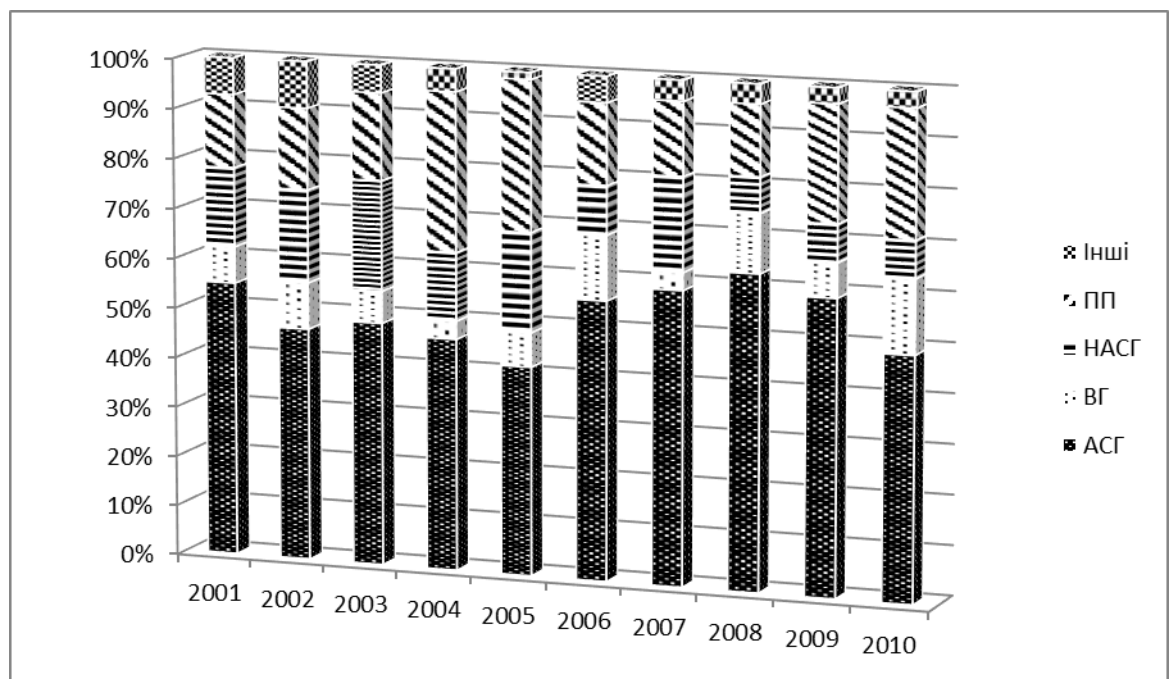


Рисунок 3.2 – Етіологічний профіль автопсійних випадків цирозу печінки за 10 років (2001-2010 р.р.), зумовленого алкогольним стеатогепатитом (АСГ), вірусним гепатитом (ВГ), неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ), поєднаною патологією (ПП) та іншими захворюваннями

Аналіз частоти окремих патогенетичних варіантів цирозу протягом досліджуваних 10 років (рис.3.2) 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%. Інші патологічні фактори призводили до розвитку цирозу рідше: ВГ у 0-12,8% (середнє –

8,17%); НАСГ у 7,1-22% (середнє – 13,9%); ПП у 3,06-25,5% (середнє – 20,45%); інші у 0,59-9,3% (середнє – 4,45%) [213,214].

При порівняльному аналізі статистично значущих відмінностей у частоті різних патогенетичних форм цирозу протягом досліджуваного періоду не було виявлено.

Окремо слід зупинитись на частоті поствірусних цирозів, оскільки в цю групу включались захворювання, зумовлені гепатитом «В», гепатитом «С» та їх поєднанням (рис.3.3)

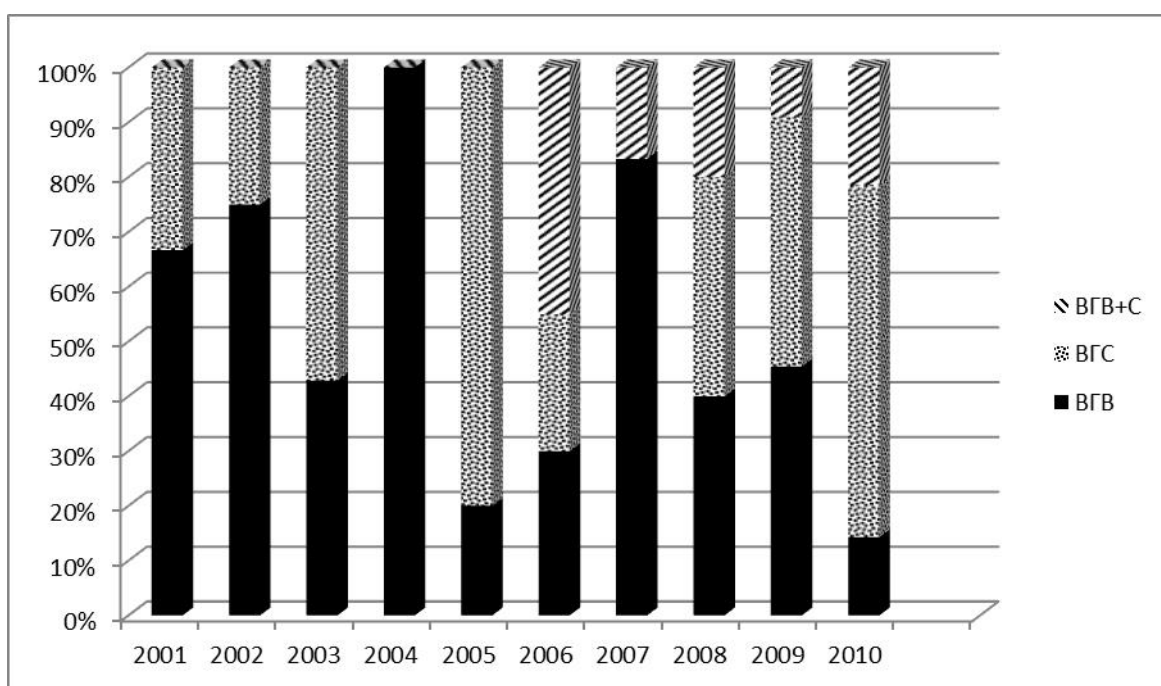


Рисунок 3.3 – Співвідношення частоти цирозів печінки, зумовлених вірусними гепатитами «В» (ВГВ), «С» (ВГС) та їх поєднанням (ВГВ+С), протягом досліджуваних 10 років

Поєднані випадки ВГС та ВГВ+С з'явилися, починаючи з 2006 року. В цілому спостерігалась тенденція до зростання частки цирозів, зумовлених ВГС та ВГВ+С – сумарно 42 (63,6%) проти 16 (47,%) ($p=0,094$ двосторонній точний критерій Фішера), що, вірогідно, відображає як збільшення поширеності даної патології, так і покращення діагностичних можливостей,

зокрема використання ПЛР для прижиттєвого виявлення відповідних маркерів. Відповідно, значущою була відмінність у частоті поєднаних ВГ – 26,7% проти 0 ($p < 0,001$).

При аналізі групи поєднаної патології можна вирізнити два аспекти: 1) частка конкретної патології як складової (у різних комбінаціях) в усій вибірці і 2) найчастіші конкретні комбінації (рис. 3.4).

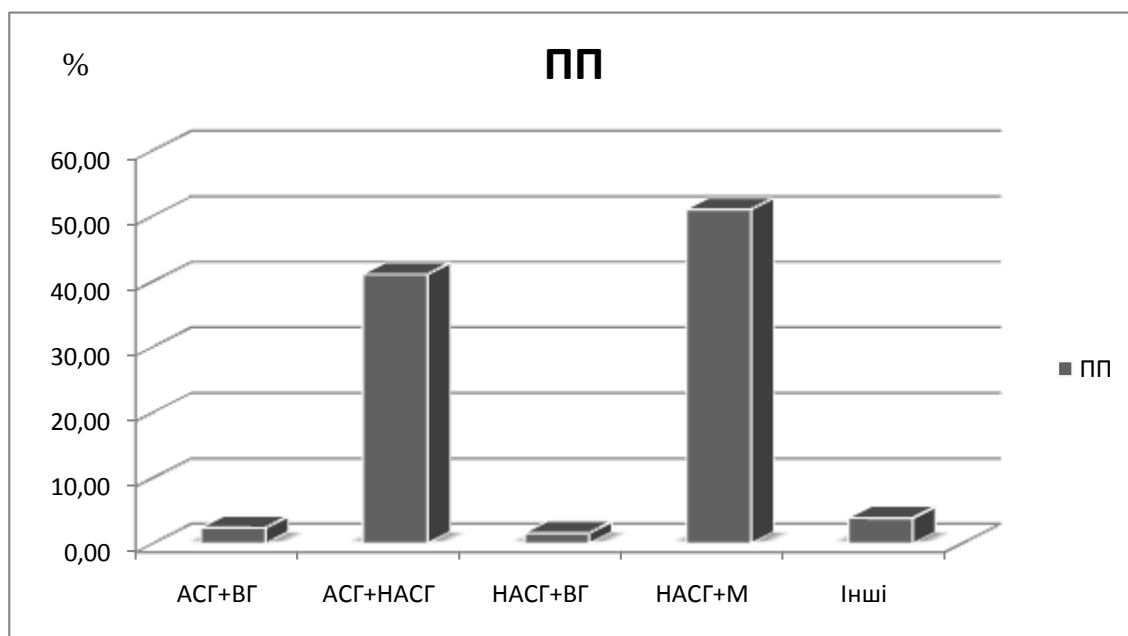


Рисунок 3.4 – Співвідношення частоти цирозів печінки, зумовлених різними варіантами поєднаної патології (ПП): алкогольним стеатогепатитом в поєднанні з вірусним гепатитом (АСГ+ВГ); алкогольним стеатогепатитом в поєднанні з неалкогольним стеатогепатитом (АСГ+НАСГ); неалкогольним стеатогепатитом в поєднанні з вірусним гепатитом (НАСГ+ВГ); неалкогольним стеатогепатитом в поєднанні з мускатним склерозом (НАСГ+М)

Незаперечно домінуючим був НАСГ – його в різних комбінаціях виявлено у 92,2% випадків цирозу поєднаної етіології. Друге місце посідав АСГ – 42,8% хворих. З конкретних комбінацій у половині усіх випадків виявлявся цироз, зумовлений поєднанням НАСГ та «мускатного склерозу»

пов'язаного з хронічним венозним застоєм (хронічні захворювання легень, вади серця, серцево-судинна недостатність змішаного типу) 50,9%. Дещо рідше спостерігався цироз, що розвивався внаслідок поєднання АСГ та НАСГ (41,1%). Варіанти поєднання вірусного гепатиту з АСГ та НАСГ зустрічались порівняно рідко.

Аналіз таких комбінацій змушує також дещо інакше глянути 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%.

Цілком логічно, що чоловіки становлять значущу більшість серед усіх груп, за винятком ВГ (вірогідно у жінок можуть відігравати роль косметичні та гінекологічні процедури) (табл.3.3)

Таблиця 3.3 – Статеві-віковий розподіл у групах цирозу, зумовленого алкогольним стеатогепатитом (АСГ), вірусним гепатитом (ВГ), неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ), поєднаною патологією (ПП) та іншими захворюваннями

Група	Вік (M±s)	Чоловіки		Жінки		Разом
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.
АСГ	50,1±11,8	494	75,30	162	24,70	656
ВГ	46,8±15,9	42	42,00	58	58,00	100
НАСГ	65,3±11,7	105	61,05	67	38,95	172
ПП	61,9±13,8	173	68,38	80	31,62	253
Інші	55,3±17,2	31	55,36	25	44,64	56
Разом	54,6±14,4	845	68,31	392	31,69	1237

Найстаршими були померлі з НАСГ (середній вік 65,3±11,7), наймолодшими – з ВГ (середній вік 46,8±15,9). Значущих відмінностей при порівнянні цього показника у досліджуваних групах не було виявлено.

3.4 Особливості прогресування хронічного гепатиту у цироз при різних захворюваннях.

При вивченні матеріалів автопсій (протоколів розтинів та гістологічних препаратів) серед випадків, де був діагностований цироз печінки, було виділено варіанти цирозу печінки (ЦП) та неповного септального цирозу печінки (НСЦП) (табл.3.4). Диференціювання цих двох станів базувалось на наступних критеріях: наявність клінічних ознак декомпенсації функції печінки (портальна гіпертензія, гепатаргія, виражена жовтяниця) та виявлення чіткої нодулярності при гістологічному дослідженні випадків з цирозом. При відсутності відповідних клінічних проявів та гістологічних змін був діагностований неповний септальний цироз (мікроскопічно – септальний склероз, місцями з формуванням нечітко обмежених вузлів) [215,216].

Таблиця 3.4 – Частота випадків неповного септального цирозу печінки (НСЦП) та цирозу печінки (ЦП) при цирозі, зумовленому алкогольним стеатогепатитом (АСГ), вірусним гепатитом (ВГ), неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ), поєднаною патологією (ПП) та іншими захворюваннями

Група	НСЦП		ЦП		Загальна кількість
	Абс.	%	Абс.	%	
АСГ	130	19,82	526	80,18	656
ВГ	47	47,00	53	53,00	100
НАСГ	116	67,44	56	32,56	172
ПП	139	54,94	114	45,06	253
Інші	19	33,93	37	66,07	56
Разом	451	36,46	786	63,54	1237

Проведений аналіз показав, що у дослідженому матеріалі випадки ЦП (63,5%) переважали над випадками НСЦП (36,5%) ($p < 0,001$).

Найчастіше повний цироз спостерігався при АСГ (табл. 3.5), частота якого була найвищою серед усіх секцій (різниця значуща порівняно з усіма іншими нозологічними групами ($p < 0,05$). Переважав він і при ВГ (67,3% ЦП та 32,7% НСЦП). Найрідше ЦП виникав внаслідок НАСГ (різниця значуща порівняно з усіма іншими нозологічними групами, $p < 0,05$).

Стать мало впливала на прогресування захворювання при АСГ (погранично значуще більше ЦП при АСГ у жінок ($p = 0,08$). Середній вік хворих був приблизно однаковий: з ЦП становив $50,3 \pm 11,6$ років, а з НСЦП – $49,6 \pm 12,7$ років.

При ВГ середній вік хворих з цирозом був вищим. Щодо статевого розподілу, відмінності були незначними, але чоловіки уражались дещо частіше.

При НАСГ різні стадії циротичної трансформації спостерігались у майже однакових вікових групах: НСЦП – $65,8 \pm 12,6$ роки, а ЦП – $64,1 \pm 9,7$ роки. Серед чоловіків дана патологія зустрічалась частіше.

При поєднаній патології середній вік хворих у групі з НСЦП був більший ($65,7 \pm 12,8$ роки), ніж у випадках з ЦП ($57,5 \pm 13,7$ роки). Серед хворих частіше виявлялись чоловіки.

Що ж до останньої групи, куди включались інші захворювання, які спричинили цироз печінки, НСЦП частіше виявлявся у жінок (78,8%), а ЦП спостерігався з однаковою частотою у чоловіків та жінок. Середній вік у групах НСЦП та ЦП практично не відрізнявся.

Порівняння віку, в якому у хворих розвивається НСЦП з віком у групі з ознаками ЦП дозволяє з певним наближенням оцінювати швидкість прогресування процесу.

Таблиця 3.5 – Статеві-вікові співвідношення у групах цирозу, зумовленого алкогольним стеатогепатитом (АСГ), вірусним гепатитом (ВГ), неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ), поєднаною патологією (ПП) та іншими захворюваннями в залежності від стадії циротичної трансформації – неповного септального цирозу печінки (НСЦП) та цирозу печінки (ЦП)

Група	Вид цирозу	Загальна кількість		Вік (M±s)	Чоловіки		Жінки	
		Абс.	% *		Абс.	% **	Абс.	% **
АСГ (n=656)	НСЦП	130	19,8	49,6±12,7	110	84,6	20	15,4
	ЦП	526	80,2	50,3±11,6	384	73	142	27
ВГ (n=101)	НСЦП	33	32,7	40,2±14,5	19	57,6	14	42,4
	ЦП	68	67,3	47,6±15,5	36	52,9	32	47,1
НАСГ (n=172)	НСЦП	116	67,4	65,8±12,6	70	60,3	46	39,7
	ЦП	56	32,6	64,1±9,7	35	62,5	21	37,5
ПП (n=253)	НСЦП	139	54,9	65,7±12,8	89	64	50	36
	ЦП	114	45,1	57,5±13,7	84	73,7	30	26,3
Інші (n=55)	НСЦП	33	60	55,3±16,8	7	21,2	26	78,8
	ЦП	22	40	56,6±18,3	11	50	11	50
Разом n=1237	НСЦП	451	36,5	58,5±15,6	295	65,4	156	34,6
	ЦП	786	63,5	52,4±13,2	550	70	236	30

Примітки:

* – відсотки вираховувались від n (кількості випадків у патогенетичній групі);

** – відсотки вираховувались від кількості випадків у підгрупах – НСЦП та ЦП кожної з патогенетичних груп

У більшості груп НСЦП спостерігалась у більш старшому віці. Значущою ця відмінність була у хворих з поєднаною патологією ($p<0,05$). При алкогольній хворобі відмінності були незначущими. І тільки в групі з вірусними гепатитами НСЦП розвивався у достовірно молодшому віці

($p < 0,05$). Можливо виявлені особливості прогресування пов'язані з впливами додаткових факторів або генетичною схильністю, які зумовлюють існування декількох прогностично різних варіантів перебігу захворювання.

Узагальнюючи викладені в цьому розділі дані, слід зазначити, що:

Аналіз автопсій, проведених за 10 років у ЛОПАБ дозволив виявити, що цироз печінки зустрічався у 13,4%, причому ця частка не залежить від профілю лікарні і майже не змінювалась протягом останніх років.

Найчастішим етіологічним чинником цирозу печінки було зловживання алкоголем (41,5-62,9%, середнє – 53,03%). Цироз, зумовлений НАСГ, зустрічається рідше 7,1-22% (середнє – 13,9%), але, враховуючи його домінування у випадках поєднаної патології, найчастіше в комбінації з «мускатним склерозом» і АСГ, частка цього захворювання сягає 1/3 всіх випадків цирозу печінки. Спостерігається тенденція до зростання частки цирозів, зумовлених ВГС та ВГС в поєднанні з вірусним гепатитом В.

Виражена тканинна перебудова печінки – повний цироз переважала при алкогольних ураженнях та вірусних гепатитах. В групах з неалкогольним стеатогепатитом переважно спостерігався неповний цироз печінки. Але, оскільки НСЦП зустрічався у більш старшому віці, ніж ЦП (крім випадків з вірусними гепатитами), імовірно, що варіант перебігу залежить не тільки від основного етіологічного чинника, але і від додаткових факторів.

Значна частка випадків гістологічно виявленого неповного септального цирозу печінки (36,5%) при попередньо діагностованому цирозі (клінічно та патологоанатомічно) свідчить про необхідність категоризації пізніх стадій хронічних захворювань печінки.

Матеріали даного розділу опубліковані у статтях [213, 214, 215, 216].

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГІЧНІ ПРОЯВИ І МОРФОГЕНЕЗ РЕПАРАЦІЇ ТА ФІБРОЗУ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМУ, НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОГЕПАТИТІ, ВІРУСНОМУ ГЕПАТИТІ С

При описі морфологічних змін ми зіткнулись з термінологічними проблемами. Такі основні поняття як «регенерація», «загоєння», «фіброгенез», «ангіогенез», «репарація», «репаративна регенерація», «фіброз» мають свої загальноприйняті визначення. Проте морфологічні ураження, що характеризують ці поняття, часто виражені не в однаковій мірі, що зумовлене різними причинами (особливості морфологічної структури органу, етіологією патологічного процесу, функціональними особливостями та іншими факторами). Якщо орієнтуватись на словники [217], то відмінності між термінами регенерація, репарація та загоєння не зовсім чіткі, оскільки не вказується тип тканини та варіант ушкодження. Інтерпретація даних термінів у спеціальній англійській літературі в цілому співпадає з трактуванням, поданим у загальновідомому підручнику Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease [218]. В українськомовних виданнях вказані терміни переважно вживаються у відповідності до положень підручника А.І. Струкова, В.В. Серова «Патологічна анатомія», 2006 [219]. Найбільш суперечливими термінами є «регенерація» та «загоєння». В українськомовній літературі розрізняють види регенерації, серед яких виділяють: фізіологічну, репаративну (субституцію, реституцію) та патологічну. В англійськомовних джерелах майже такі ж варіанти описують як види загоєння. В зв'язку з наявними протиріччями та особливостями процесів репарації у печінці ми створили власну схему використання основних термінів у певних контекстах (табл. 4.1). Оскільки завданням нашого дослідження було вивчення морфогенезу процесів, які забезпечують прогресування хронічних захворювань печінки, для опису механізмів утворення нової сполучної

тканини ми вживали термін «фіброгенез»; для механізмів утворення нових елементів мікроциркуляторного русла – «ангіогенез».

Таблиця 4.1 – Основні терміни та їх значення, що застосовувались в даному дослідженні

Термін	Визначення (значення)
Регенерація	Проліферація паренхіматозних клітин печінки у дослідженнях <i>in vitro</i> або в експерименті.
Загоєння	Комплексна реакція тканини печінки на хронічне пошкодження, яка включає фіброгенез, ангіогенез та репаративну регенерацію.
Фіброгенез	Складова загоєння: проліферація клітин фіброгенної популяції, синтез елементів ЕЦМ
Ангіогенез	Складова загоєння: формування нових судин з передіснуючих компонентів мікроциркуляторного русла шляхом брунькування
Реорганізація мікроциркуляторного Русла	Включає неоангіогенез та перебудову існуючих судин (капіляризація, артеріалізація, порталізація синусоїдів)
Репаративна регенерація	Складова загоєння: проліферація та дозрівання епітеліальних клітин – незрілих гепато-біліарних попередників, гепатоцитів та холангіоцитів; включає зміну фенотипу та можливі епітеліально-мезенхімальні трансформації
Репарація	Відновлення клітинної популяції та реорганізація мікроциркуляторного русла при хронічному перебігу захворювань печінки
Фіброз	Формування нової ділянки сполучної тканини в результаті синтезу елементів позаклітинного матриксу (фіброгенез), утворення елементів мікроциркуляторного русла (ангіогенез) та проліферації клітин (фіброгенних). Включає стадію утворення грануляційної тканини та наступного ремоделювання рубця шляхом поетапної активації механізмів синтезу та деградації основних білкових молекул.

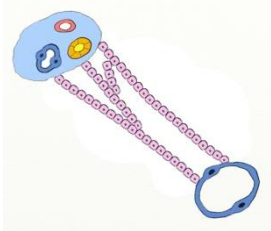
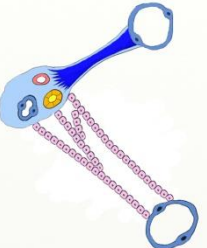
Найбільш проблематичним був термін, який описує реакцію епітеліальних елементів печінки (гепатоцитів та холангіоцитів). Він з однієї сторони повинен відображати реакцію тканини на ушкодження, а з другої сторони акцентувати увагу на участі переважно епітеліальних елементів. Оскільки термін «регенерація» стосовно печінки найчастіше вживається для опису змін після парціальної гепатектомії, він був відкинутий. Різновид репаративної регенерації – реституція – означає «заповнення дефекту тканиною ідентичною загиблій» тобто відновлення всіх тканинних структур, а не тільки епітеліальних елементів. Тому цей термін теж був неприйнятний. Термін «загоєння» у більшості літературних джерел асоціюється зі всім комплексом досліджуваних процесів. Тому було обрано терміни «репаративна регенерація» для опису проліферації-диференціювання епітеліоцитів і термін «репарація» для комплексної характеристики відновлення клітинної популяції та реорганізації мікроциркуляторного русла під час загоєння при хронічних захворюваннях печінки.

При вивченні хронічних захворювань печінки традиційно основна увага приділялась фіброзу. Виділяють декілька патогенетичних варіантів цього процесу, серед яких найчастіше описують перивенулярний, перицелюлярний/перисинусоїдний, перипортальний, септальний та перидуктальний фіброз (табл. 4.2).

Такі описи є доволі суб'єктивними, базуються переважно на наближеній оцінці кількості новоутвореної сполучної тканини і лише іноді доповнюються напівкількісними критеріями. Інші процеси, задіяні при загоєнні та репарації і їх асоціації з фіброзом при цьому, як правило, не враховуються. Після узагальнень множинних класифікацій і описів ми виділили три варіанти фіброзу: перицелюлярний (ПЦФ), перисептальний (ПСФ) та перидуктальний фіброз (ПДФ), використовуючи критерії, представлені в табл. 4.2.

Базуючись на локалізації новоутвореної сполучної тканини, наведені вище патогенетичні варіанти можна було діагностувати при звичайному гістологічному дослідженні (гематоксилін-еозин).

Таблиця 4.2 – Характеристика основних варіантів фіброзу: перицелюлярного (ПЦФ), перисептального (ПСФ) та перидуктального (ПДФ)

Варіант	Локалізація	Механізм
	Портальні тракти, ділянки навколо центральних вен, простори Діссе	Фізіологічне оновлення елементів сполучної тканини
Норма		
	Перицелюлярний, перисинусоїдний	Окисний стрес
ПЦФ		
	Перипортальний, перисептальний	Універсальні механізми загоєння та тканинної перебудови
ПСФ		
	Перидуктальний,	Епітеліально-мезенхімальні трансформації
ПДФ		

Оскільки, імовірно, ці варіанти зумовлені різними механізмами, асоціації з іншими проявами загоєння та репарації теж можуть мати особливості. Тому досліджуваний матеріал був поділений на три групи відповідно до переважаючого варіанту фіброзу і в подальшому проаналізований з використанням гістохімічних, імуногістохімічних маркерів та морфометрії.

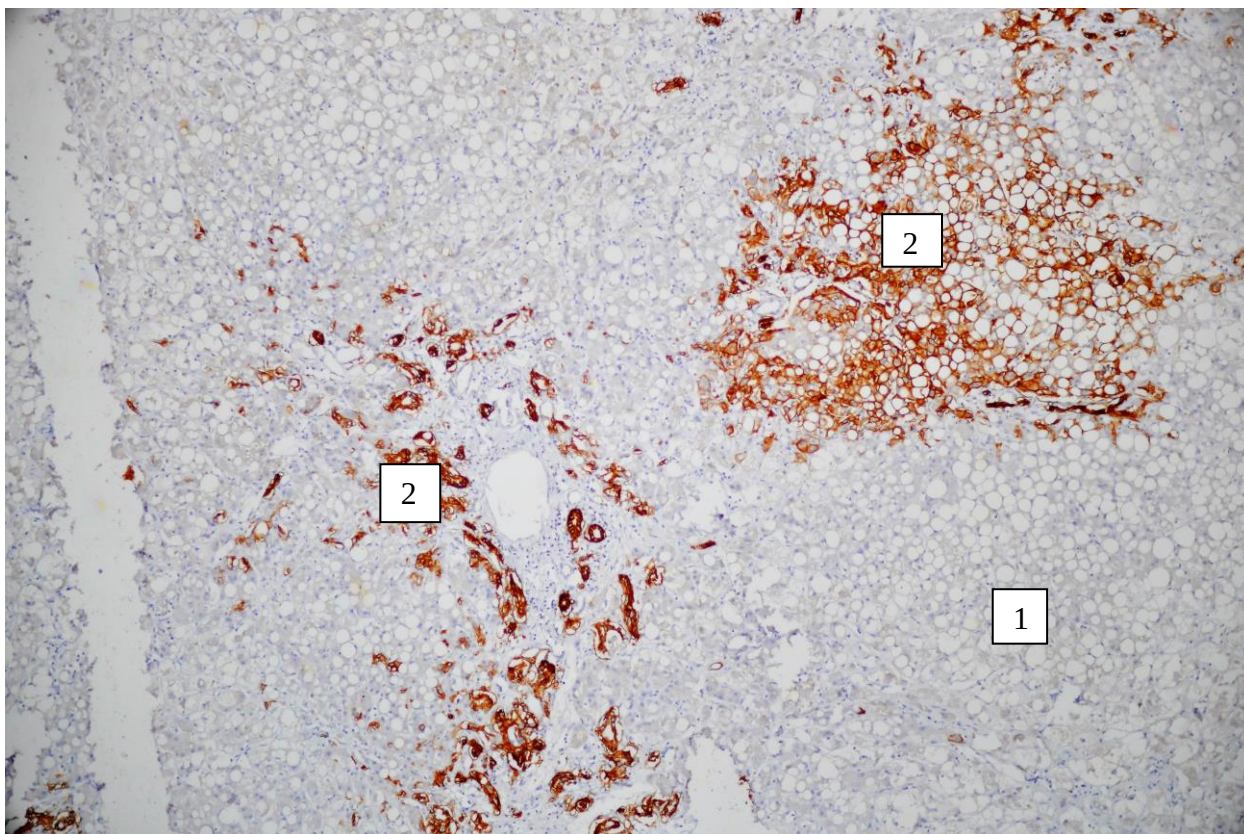
Основна увага була приділена маркерам клітин, задіяних у процесах фіброзу та репарації, а саме клітин фіброгенної популяції, ендотеліальних та епітеліальних клітин. Враховуючи важливість регуляторних механізмів, окремо оцінювались найважливіші з цієї точки зору клітини макрофагального ряду.

4.1 Морфологічні прояви репаративної регенерації

В даній роботі вивчались процеси репарації, які базуються на складних міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодіях основних структурних елементів печінки в умовах хронічного впливу пошкоджуючих факторів. В такій ситуації основним механізмом відновлення тканини є проліферація та диференціювання печінкових та позапечінкових клітин-попередників, яке може бути різнонаправленим.

Одним з універсальних імуногістохімічних маркерів ПКП є ЕрСАР, який експресується на клітинах різного ступеня та напрямку диференціювання.

Зокрема, ЕрСАР виявляється на клітинах з різним фенотипом: незрілих стовбурових, біліарного ряду та гепатоцитах (рис. 4.1).



1) гепатоцити з ознаками жирової дистрофії;

2) EpCAM-позитивні клітини.

Рисунок 4.1 – Гетерогенна популяція EpCAM+ клітин. Забарвлення на EpCAM. Збільшення 10x10. Автопсія №148. Хвора Б. 70 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

Частина EpCAM+ клітин формує тяжі з більш або менш чіткими просвітами (реактивні дуктули). Інші ж виявляються переважно у паренхіматозному компартменті.

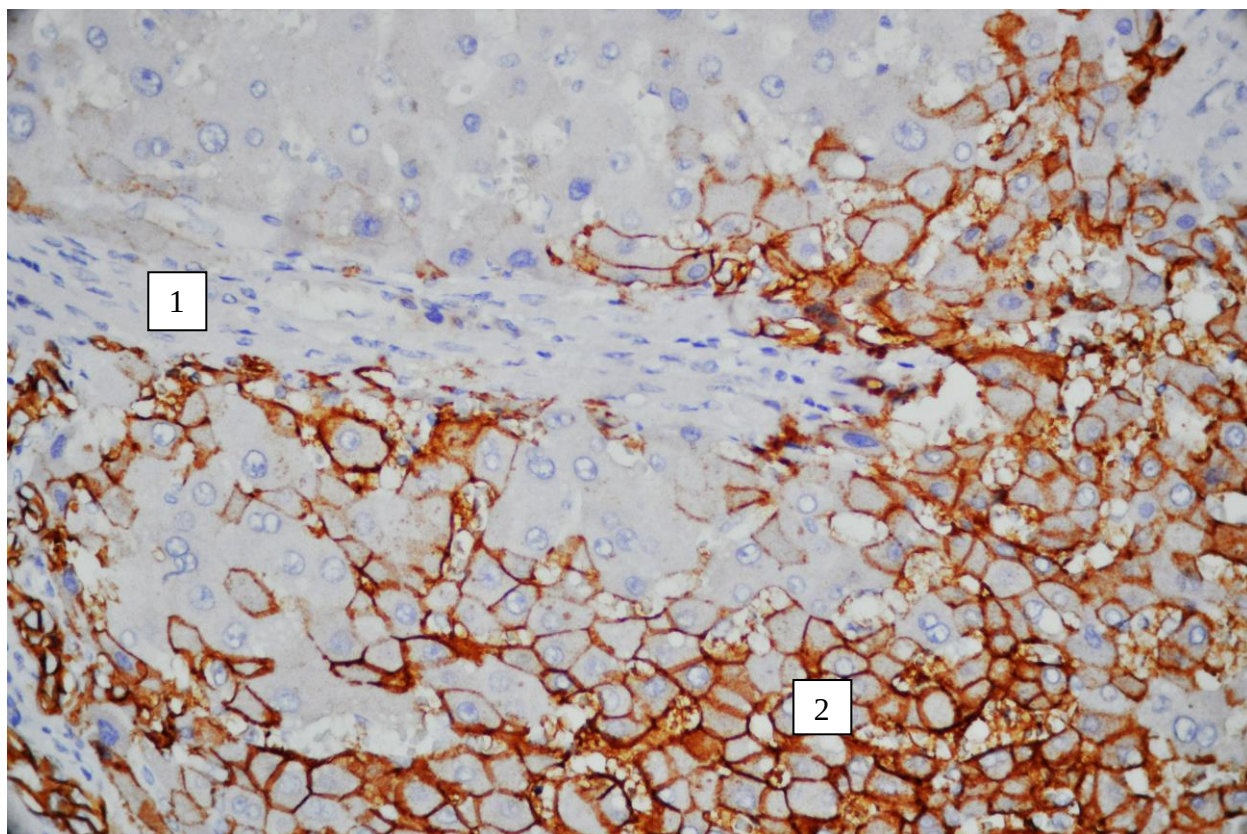
Як показали наші дослідження, найбільшою була площа EpCAM+ клітин у групі ПДФ ($27,43 \pm 0,08$), а найменшою - у групі ПЦФ ($11,87 \pm 0,05$) (табл. 4.3). Проміжні значення спостерігались у групі ПСС ($15,72 \pm 0,04$). Відмінності між групами були значущими ($P < 0,001$) [220].

Таблиця 4.3 – Особливості популяції ЕрСМ+ клітин при різних формах фіброзу: перичелюлярному (ПЦС), септальному (СС), перидуктальному (ПДС), ($M \pm s$)

	ПЦФ	ПСФ	ПДФ	Р
ЕрСМ+ клітини (% площа)				
Ер СМ+ клітини	11,87±0,05	15,72±0,04	27,43±0,08	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{2-3} < 0,001$
ЕрСМ+ гепатоцити	8,85±0,06	11,71±0,013	15,05±0,06	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{2-3} < 0,001$

При патогістологічному дослідженні було виявлено, що популяція ЕрСМ+ клітин була неоднорідною. Маркер виявлявся у ПКП, які формували дуктулярну реакцію (переважно дифузна цитоплазматична експресія) та у гепатоцитах (гомогенна експресія вздовж плазматичної мембрани).

ЕрСМ+ гепатоцити спостерігались у всіх досліджуваних випадках. Було виявлено, що при ПДФ кількість ЕрСМ+ гепатоцитів була значуще вищою (15,05±0,06, $P_{1-2} < 0,001$). Клітини розміщувались переважно у перисептально/перипортальних ділянках і формували великі комплекси (рис. 4.2).



- 1) сполучнотканинна септа;
- 2) ЕрСАМ-позитивні гепатоцити.

Рисунок 4.2 – Перисептальна популяція ЕрСАМ+ гепатоцитів. Забарвлення на ЕрСАМ. Збільшення 10х40. Автопсія №148. Хвора Б. 70 р., жін. Діагноз: вірусний гепатит С

В окремих випадках ЕрСАМ+ клітини захоплювали більшу частину паренхіматозного вузла (рис. 4.3). Розміщувались такі клітини нерівномірно, як в центральних відділах, так і по периферії вузла.

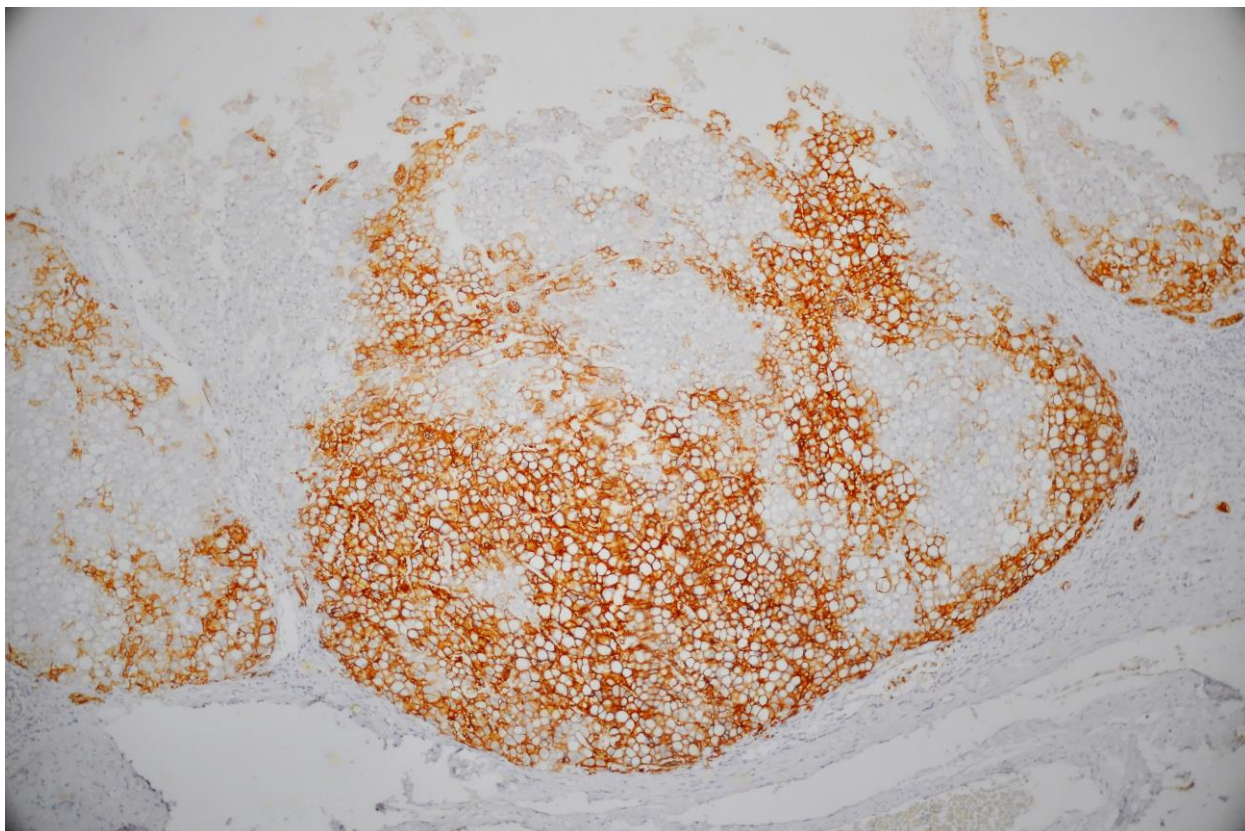


Рисунок 4.3 – Значна популяція ЕрСАМ+ гепатоцитів, які складають більшу частину паренхіматозного вузла. Забарвлення на ЕрСАМ. Збільшення 10х10.

Автопсія №148. Хвора Б. 70 р., жін. Діагноз: вірусний гепатит С.

При цьому у сусідніх вузлах або ділянках кількість ЕрСАМ+ гепатоцитів була значно меншою або вони взагалі не спостерігались, тобто розподіл таких клітин не виявляв певних закономірностей. Не було виявлено також асоціацій ЕрСАМ+ гепатоцитів із ЕрСАМ+ дуктулами, розміщеними у септах або перисептально.

При ПЦФ та ПСФ групи ЕрСАМ+ гепатоцитів були меншими ($8,85 \pm 0,06$ та $11,71 \pm 0,013$ відповідно) і виявлялись вони як всередині, так і по периферії часточок (рис. 4.4).

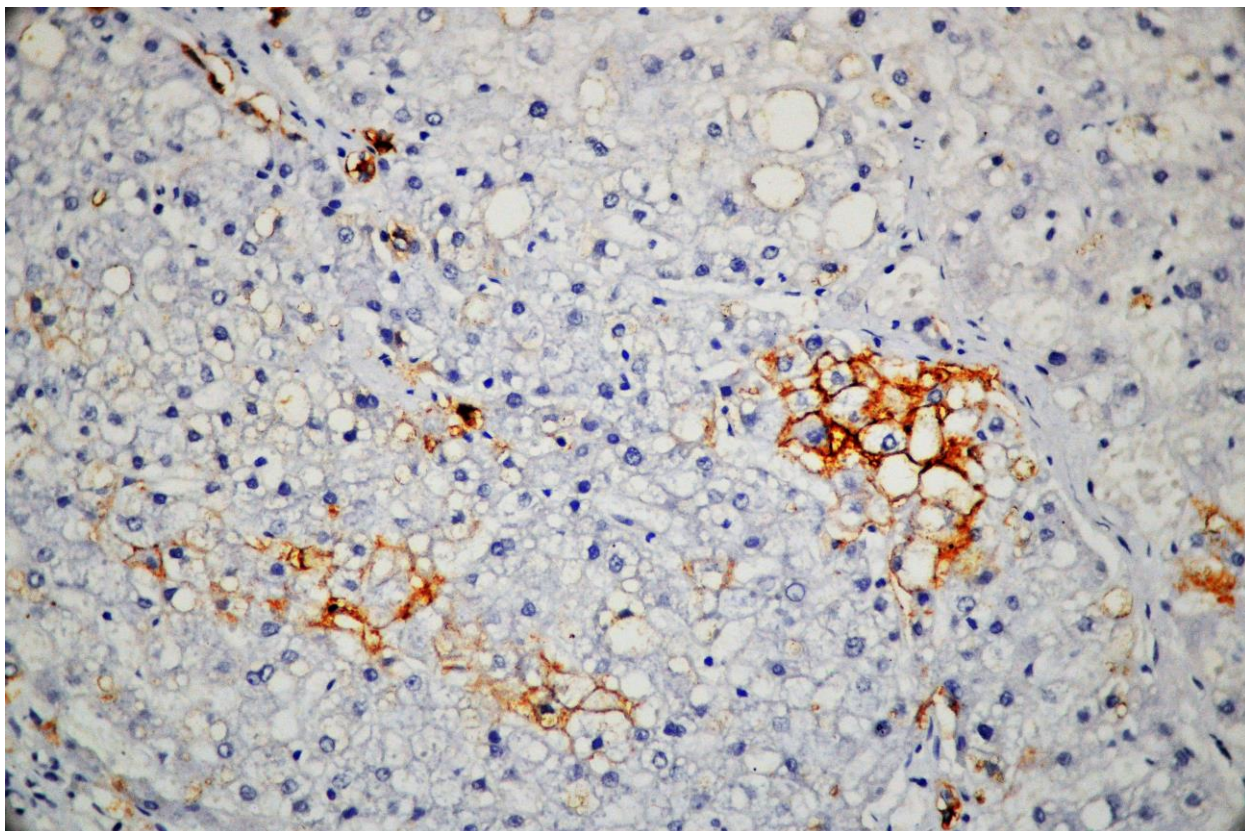


Рисунок 4.4 – Невеликі групи ЕрСАМ+ гепатоцитів. Забарвлення на ЕрСАМ.

Збільшення 10х40. Автопсія №148. Хвора Б. 70 р., жін. Діагноз:

неалкогольний стеатогепатит

Інтралобулярні ЕрСАМ+ гепатоцити теж розміщувались хаотично і не виявляли тенденції до асоціацій з ЕрСАМ+ дуктулами або із сполучнотканинними септами.

ЕрСАМ+ дуктули спостерігались по периферії паренхіматозних вузлів/часточок і нерідко проникали в глибокі відділи паренхіматозного компартменту (рис. 4.5). Такі дуктули мали різну форму і часто не формували просвіту. ЕрСАМ+ гепатоцити поруч зазвичай не виявлялись.

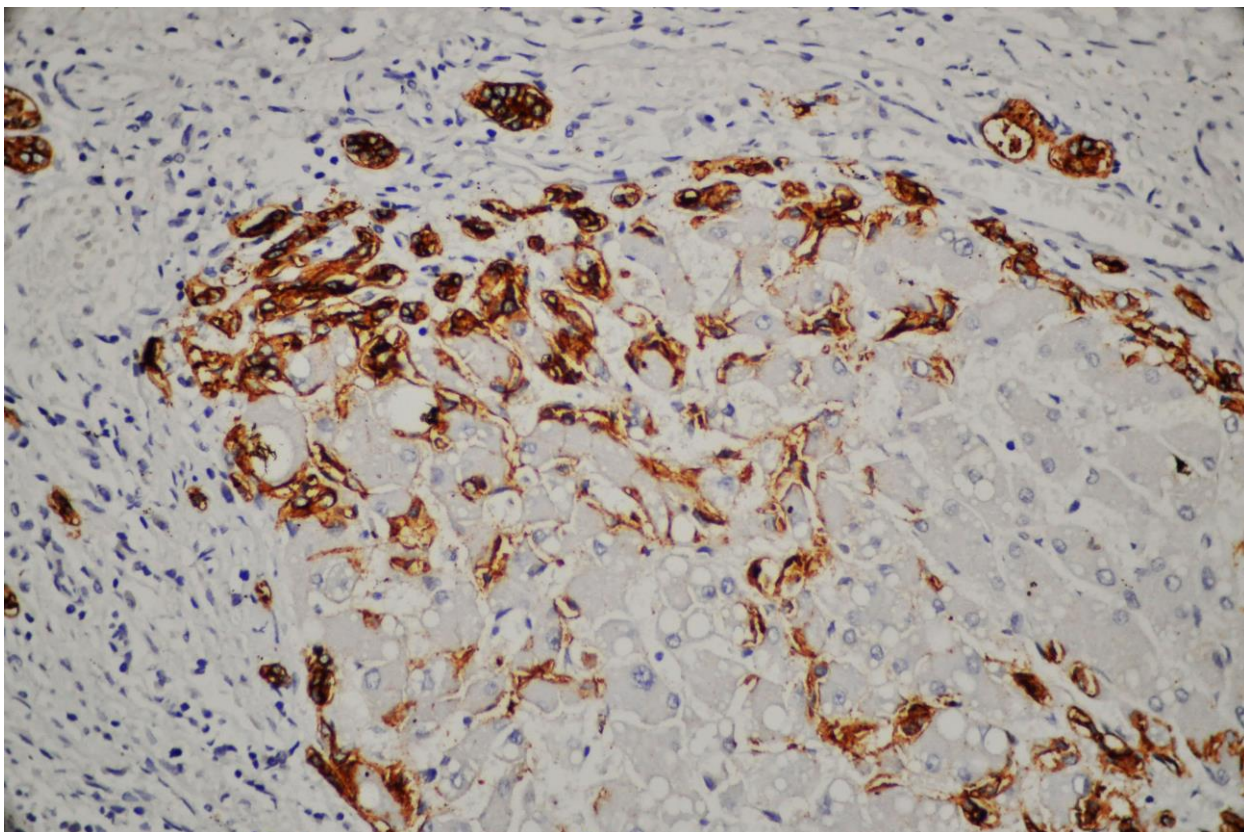


Рисунок 4.5 – ЕрСАМ+ клітини у зоні перисептальної дуктулярної реакції .
Забарвлення на ЕрСАМ. Збільшення 10х40. Автопсія №148. Хвора Б. 70 р.,
жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

Кількість інтрасептальних ЕрСАМ+ дуктул в прилягаючих до інтралобулярних (перисептальних) скупчень ЕрСАМ+ дуктул теж була незначною.

Частина ЕрСАМ+ дуктул виявлялась у товщі сполучнотканинних септ (рис. 4.6). При цьому більшість дуктул за структурою нагадували звичайні жовчеві протоки, а деякі – варіабельні скупчення реактивних дуктулярних клітин. В частині випадків спостерігалась асоціація інтасептальних та перисептальних скупчень ЕрСАМ+ клітин.

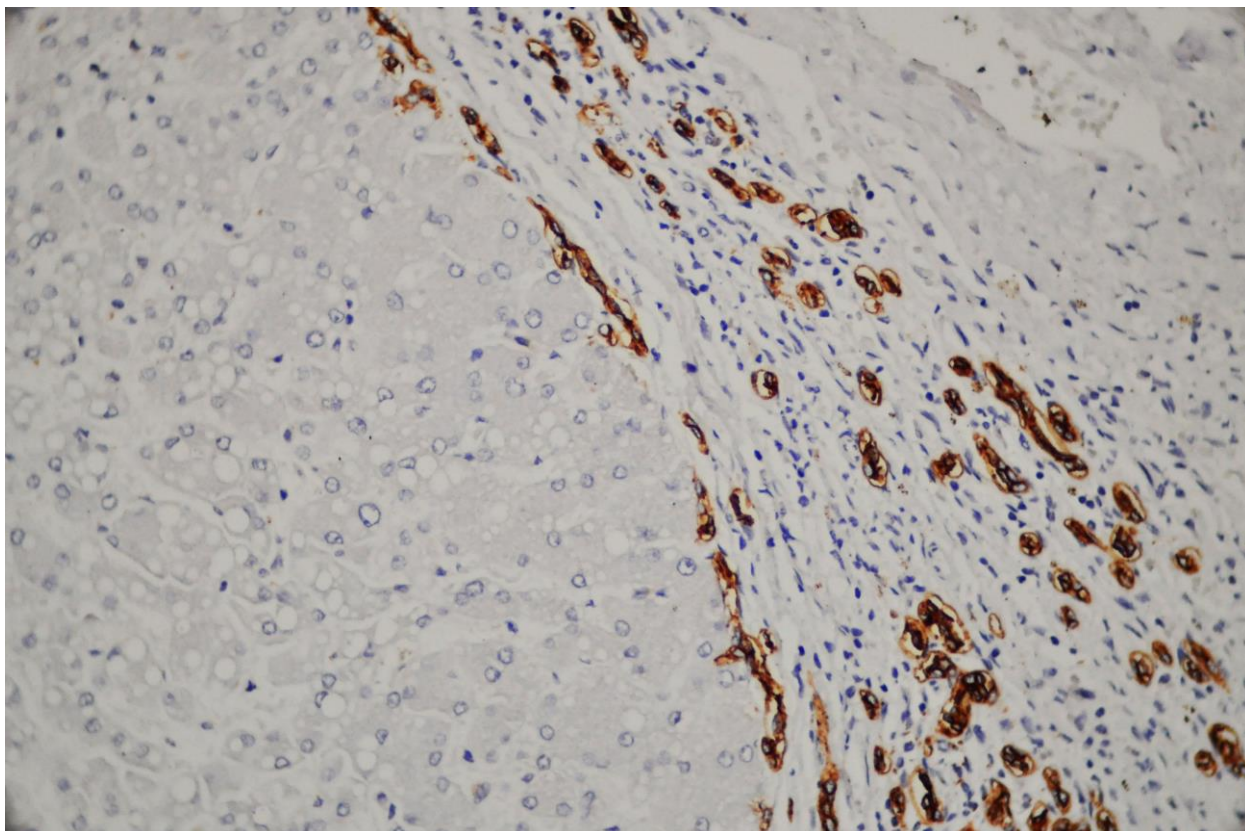
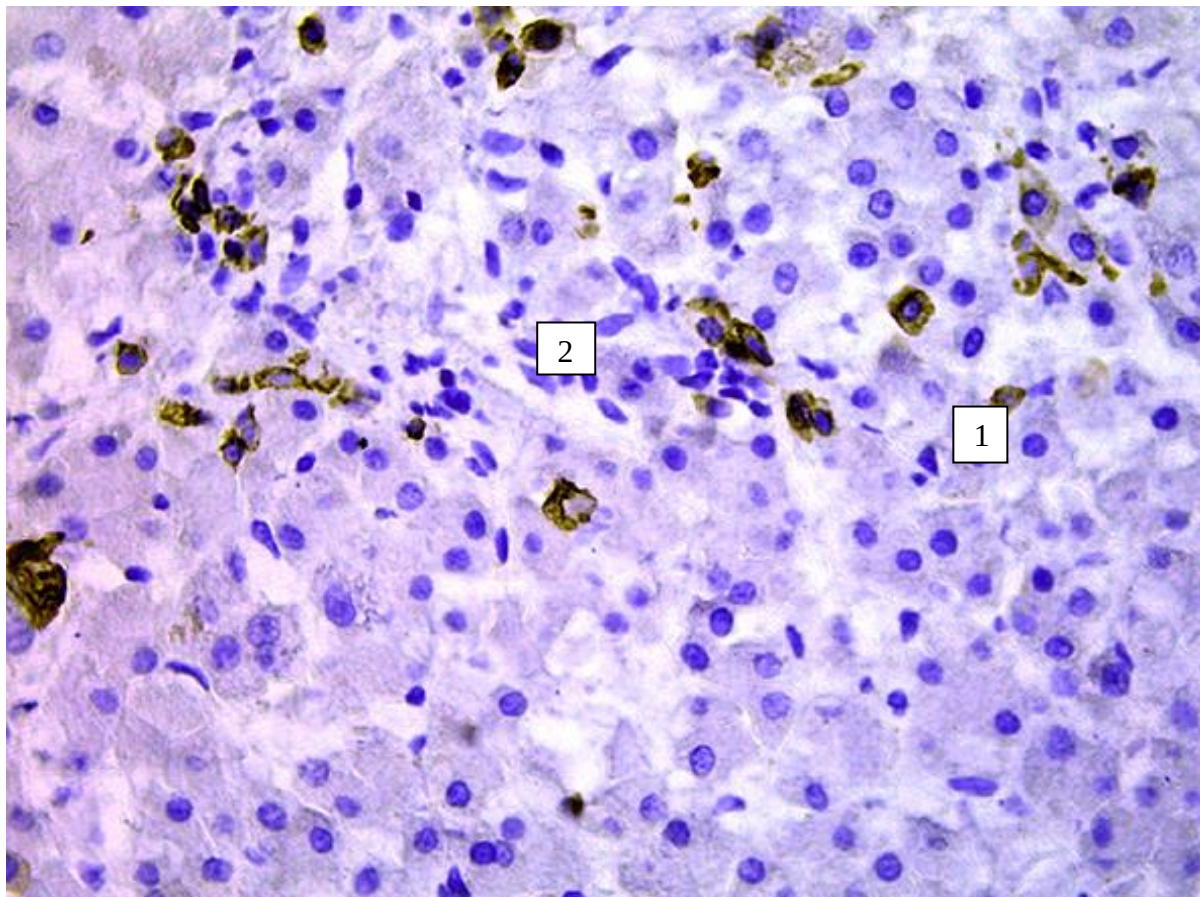


Рисунок 4.6 – EpCAM+ клітини в зоні інтрасептальної дуктулярної реакції. Забарвлення на EpCAM. Збільшення 10x40. Автопсія №148. Хвора Б. 70 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

Для вивчення клітин з «біліарним фенотипом», що переважають в зонах дуктулярної реакції, визначалась площа, яку займали клітини з позитивною експресією цитокератина 19 (СК19). Частина цієї клітинної популяції була представлена звичайними холангіоцитами передіснюючих дуктул. Більша ж частина, імовірно, включала гетерогенну групу клітин різного ступеня зрілості, які утворились в результаті проліферації та диференціювання біліарного епітелію, гепатоцитів та клітин-попередників.

При більш детальному аналізі виявлялось, що новоутворені дуктули не були однаковими. У складі вузлів серед паренхіматозних елементів

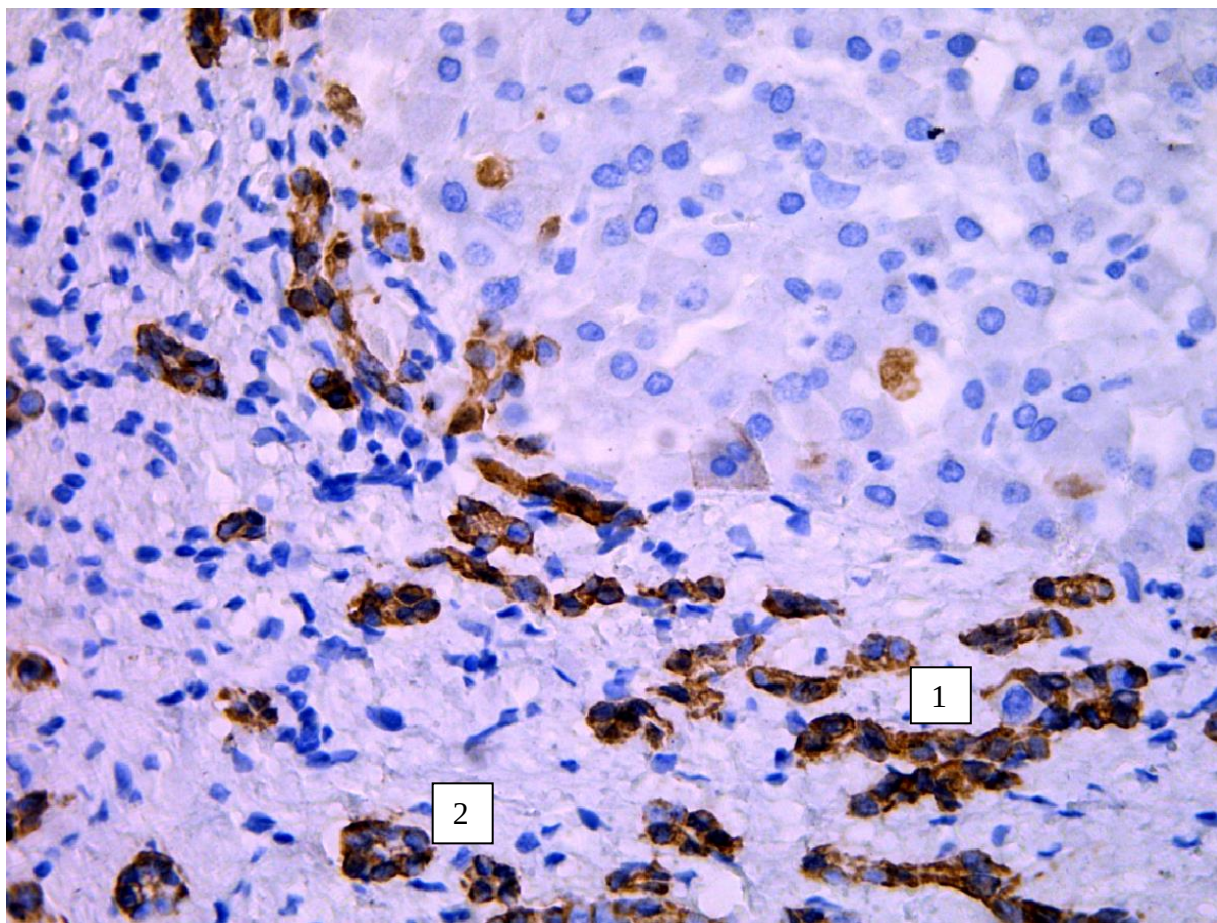
виявлялись поодинокі СК19+ клітини (рис.4.7). Імовірно вони могли належати до ПГБК в ділянці каналів Герінга та до новоутворених холангіоцитів (їх похідних).



- 1) СК19-позитивні клітини серед гепатоцитів;
- 2) веретеноподібні клітини у складі тонкої септи.

Рисунок 4.7 – Поодинокі СК19+ клітини у складі паренхіматозного вузла. Забарвлення на СК19. Збільшення 10х40. Автопсія №148. Хвора Б. 70 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

Часто СК19+ клітини виявлялись перисептально, на межі із паренхімою (рис.4.8). При цьому більшість із них виявлялись у вигляді невеликих груп або тяжів і тільки подекуди спостерігались дуктули з просвітом.

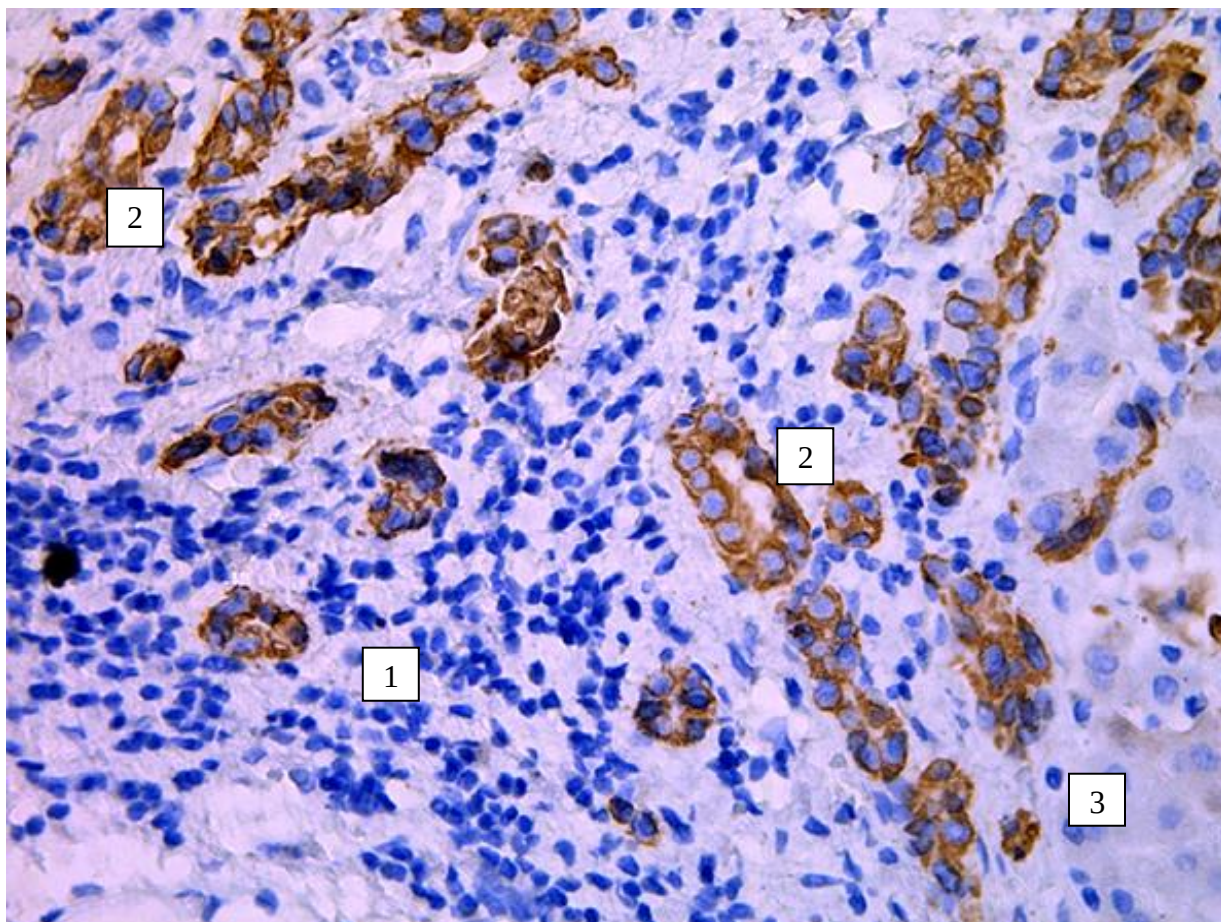


1) тяжі СК19-позитивних клітин;

2) формування окремих дуктул з просвітом.

Рисунок 4.8 – Тяжі СК19+ клітин та дуктули у складі септи.
Забарвлення на СК19. Збільшення 10х40. Автопсія №128. Хворий В. 41 р.,
чол. Діагноз: алкогольний стеатогепатит та вірусний гепатит С (поєднані
захворювання)

В інших випадках більшість СК19+ клітин виявлялось у складі сформованих дуктул, які містили чіткий просвіт (рис.4.9).



- 1) мононуклеарний інфільтрат у складі септи;
- 2) формування чітких дуктул з просвітом (СК+19 клітини);
- 3) паренхіматозний вузол.

Рисунок 4.9 – СК19+ клітини у складі септи на межі з паренхіматозним вузлом. Забарвлення на СК19. Збільшення 10х40. Автопсія №78Z . Хворий М. 42 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

Дані про рівень кількісних показників дуктулярної реакції при різних морфогенетичних варіантах склерозу представлені в табл.4.6.

Таблиця 4.6 – Показники репарації (дуктулярної реакції) при різних варіантах склерозу: перицелюлярному (ПЦФ), септальному (ПСФ), перидуктальному (ПДФ), ($M \pm s$)

	ПЦФ	ПСФ	ПДФ	P
СК19 (% площа)				
Загальний (СК19)	1,17 $\pm$ 0,06	1,99 $\pm$ 0,1	10,17 $\pm$ 0,06	$P_{1-2}=0,152$ $P_{1-3}=0,004$ $P_{2-3}=0,003$

СК19 виявлявся на клітинах з «біліарним» фенотипом, до яких відносяться холангіоцити та недиференційовані клітини у ділянці дуктулярної реакції. Загальний показник був найвищим у групі ПДФ. (відмінність від показника у групі ПЦФ та ПСФ була статистично значуща - $p=0,0042$ та $p=0,003$ відповідно).

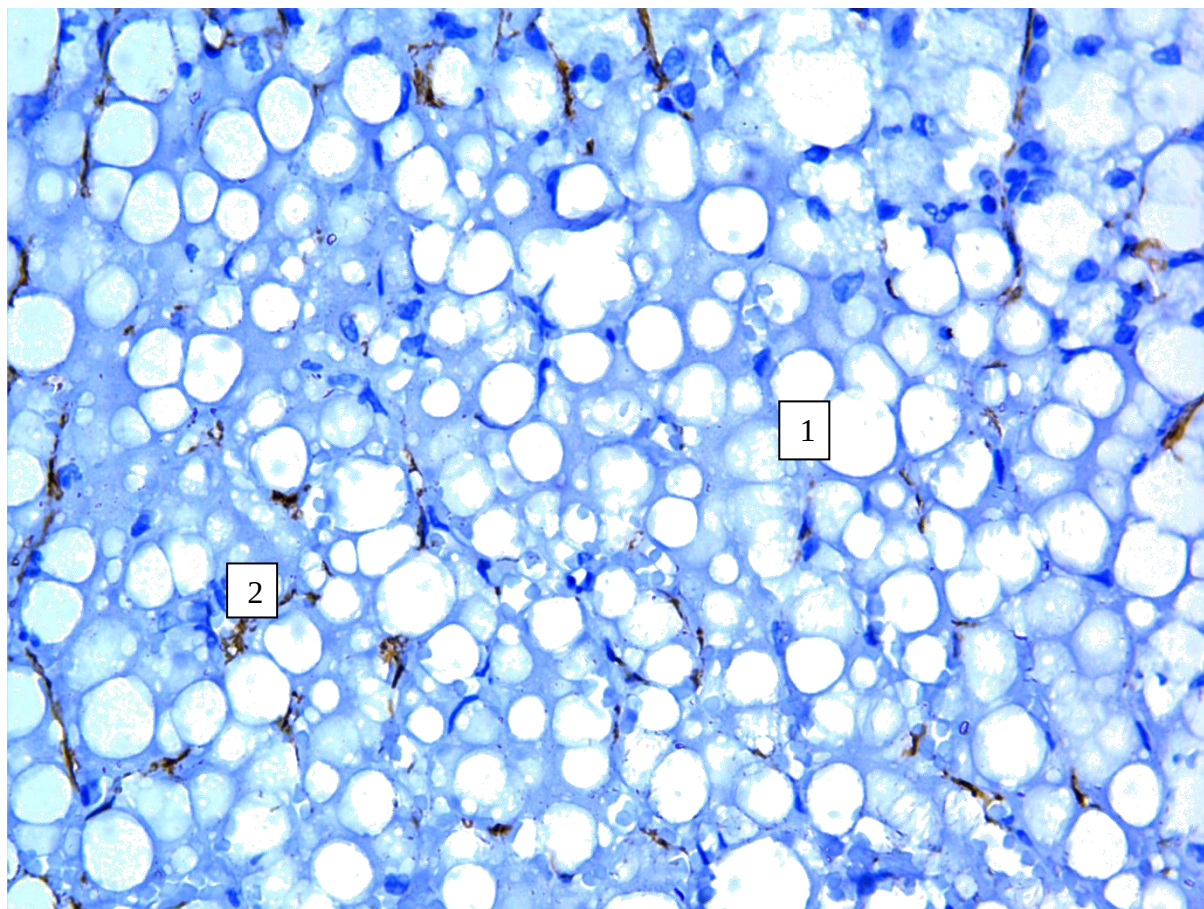
4.2 Морфологічні прояви фібро- та ангіогенезу

Утворення нової сполучної тканини забезпечується гетерогенною популяцією фіброгенних клітин, для яких спільним є експресія маркеру α -SMA при активації. Міофібробласти можуть виявляти різні варіанти функціональної активності, найважливішими з яких є здатність синтезувати елементи позаклітинного матриксу та проліферувати. Ми вважали, що для оцінки фіброгенезу доцільно використовувати наступні показники: кількість активованих міофібробластів (α -SMA+), мітотично активних мезенхімальних клітин (Ki67+) та кількість колагену (волокна забарвлені альціановим синім при використанні трихром Массона – колаген III типу. Для врахування переважної локалізації фіброзу описані показники оцінювались в складі септ/портальних трактів, інтралобулярно та загалом в препараті.

Потенційно фіброгенні клітини, хоча і мають відмінності у профілі імунного фенотипу, при активації експресують маркер α -SMA. При

дослідженні мікропрепаратів було виявлено, що α -SMA+ клітини розміщувались у різних відділах печінкових часточок, що дало можливість віднести їх до різних субпопуляцій.

ПЗК розміщуються у інтерстиції просторів Діссе, мають довгі відростки, що оточують ендотелій синусоїдів, нагадуючи перицити інших органів (рис.4.10).

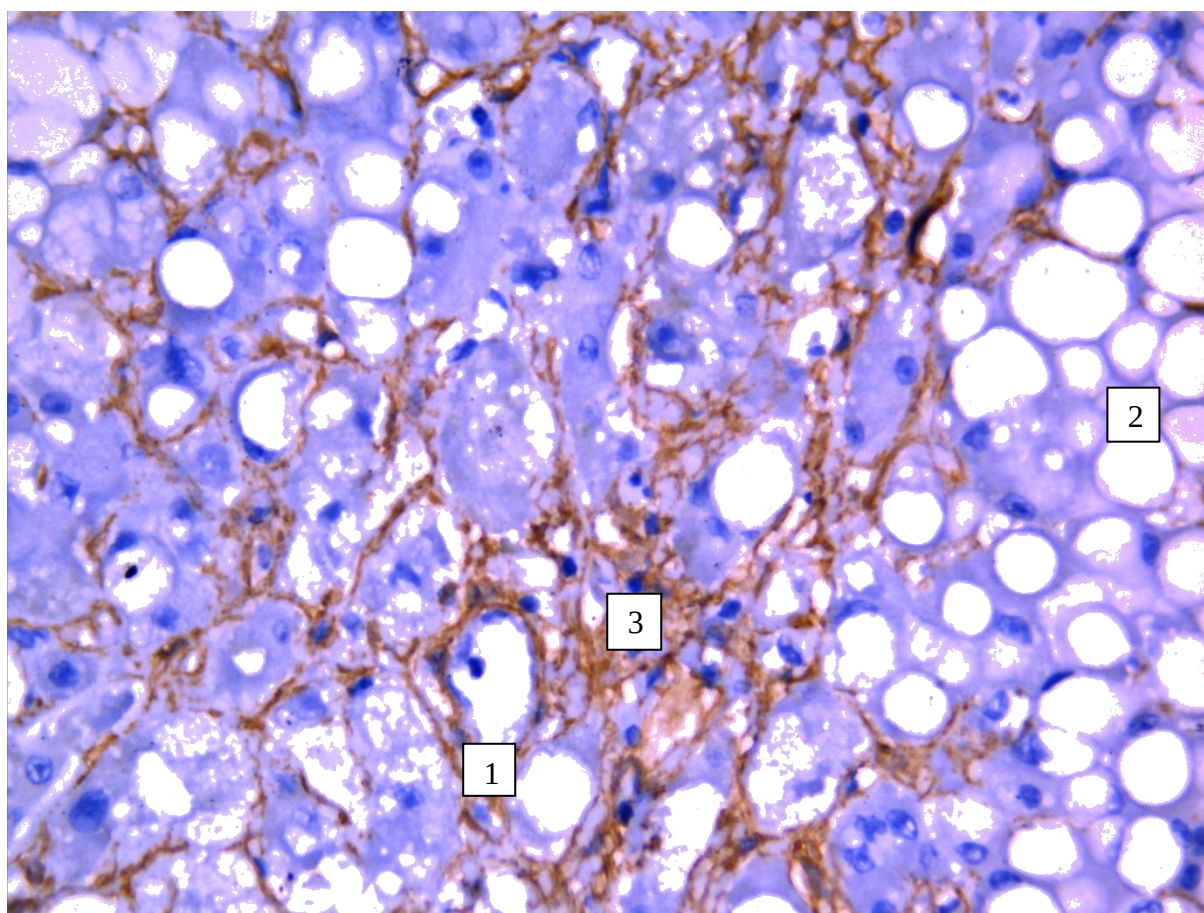


1) гепатоцити з ознаками жирової дистрофії;

2) α -SMA-позитивні клітини.

Рисунок 4.10 – Поодинокі α -SMA+ клітини, які розміщуються інтралобулярно і вірогідно є похідними печінкових зірчастих клітин. Забарвлення на α -SMA. Збільшення 10x40. Автопсія №148. Хвора Б. 70 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

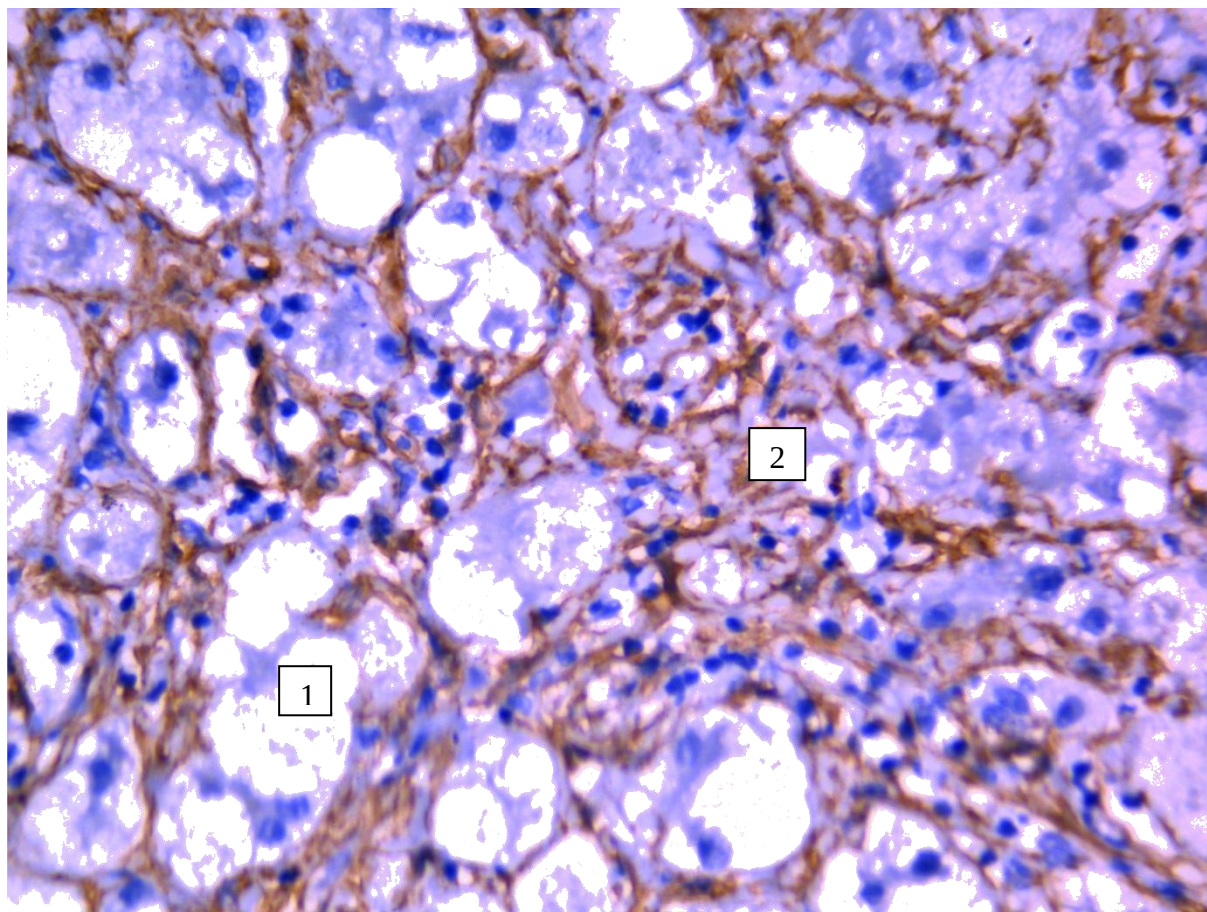
Ці клітини мають множинні контакти з прилягаючими гепатоцитами та нервовими закінченнями, які проникають у цитоплазматичні відростки. При звичайному гістологічному дослідженні виявити їх важко. Після активації ПЗК експресують α -SMA, починають проліферувати та мігрувати у інші відділи часточки. Виявлення поодиноких α -SMA+ клітин всередині часточок імовірно можна віднести до найбільш ранніх морфологічних ознак процесів загоєння. В подальшому кількість активованих ПЗК зростає паралельно із збільшенням кількості фібрилярних білків, які нагромаджуються у просторах Діссе та навколо гепатоцитів (рис.4.11).



- 1) гепатоцити з ознаками балонних змін;
- 2) гепатоцити з ознаками жирової дистрофії;
- 3) α -SMA-позитивні клітини.

Рисунок 4.11 – Збільшена кількість α -SMA+ клітин, які розміщуються інтралобулярно і імовірно є похідними печінкових зірчатих клітин. Забарвлення на α -SMA. Збільшення 10x40. Автопсія №884. Хвора Б. 45 р., жін. Діагноз: алкогольний стеатогепатит

При максимальному ступені вираженості цього варіанту фіброгенезу – «капіляризації синусоїдів» або «сотового склерозу» – α -SMA+ клітини розміщуються в складі новоутворених сполучнотканинних прошарків всередині часточок, часто в безпосередньо прилягаючи до гепатоцитів із вираженими ознаками пошкодження (рис.4.12).

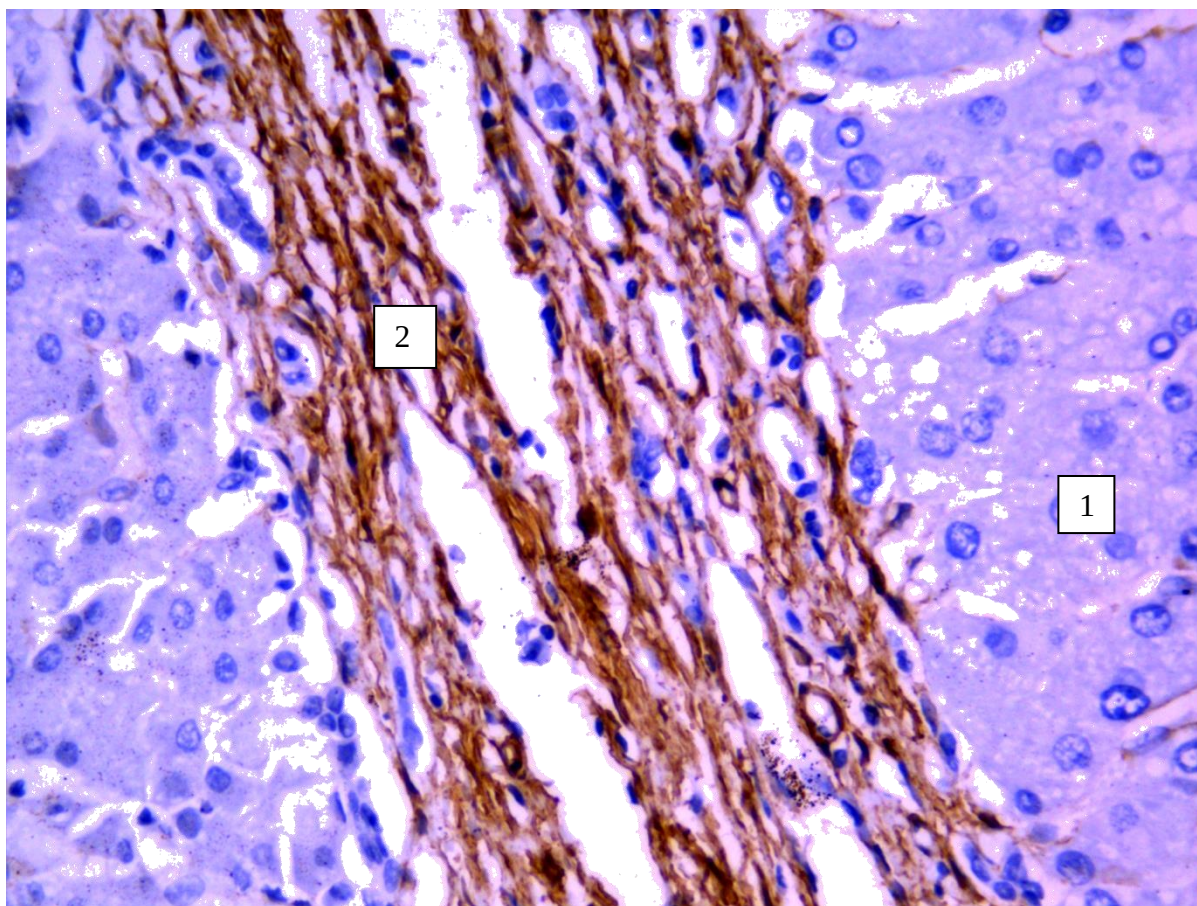


1) гепатоцити з ознаками балонних змін;

2) α -SMA-позитивні клітини

Рисунок 4.12 – Збільшена кількість α -SMA+ клітин, які розміщуються у сполучнотканинних прошарках, що формуються при «сотовому» склерозі. Забарвлення на α -SMA. Збільшення 10x40. Автопсія №884. Хвора Б. 45 р., жін. Діагноз: алкогольний стеатогепатит

Значна кількість α -SMA+ клітин виявлялась у складі фіброзних септ. Ці клітини імовірно є похідними портальних фібробластів, які відіграють провідну роль при септальному фіброгенезі. α -SMA+ клітини розміщуються дифузно між новоутвореними фібрилярними білками (рис.4.13).

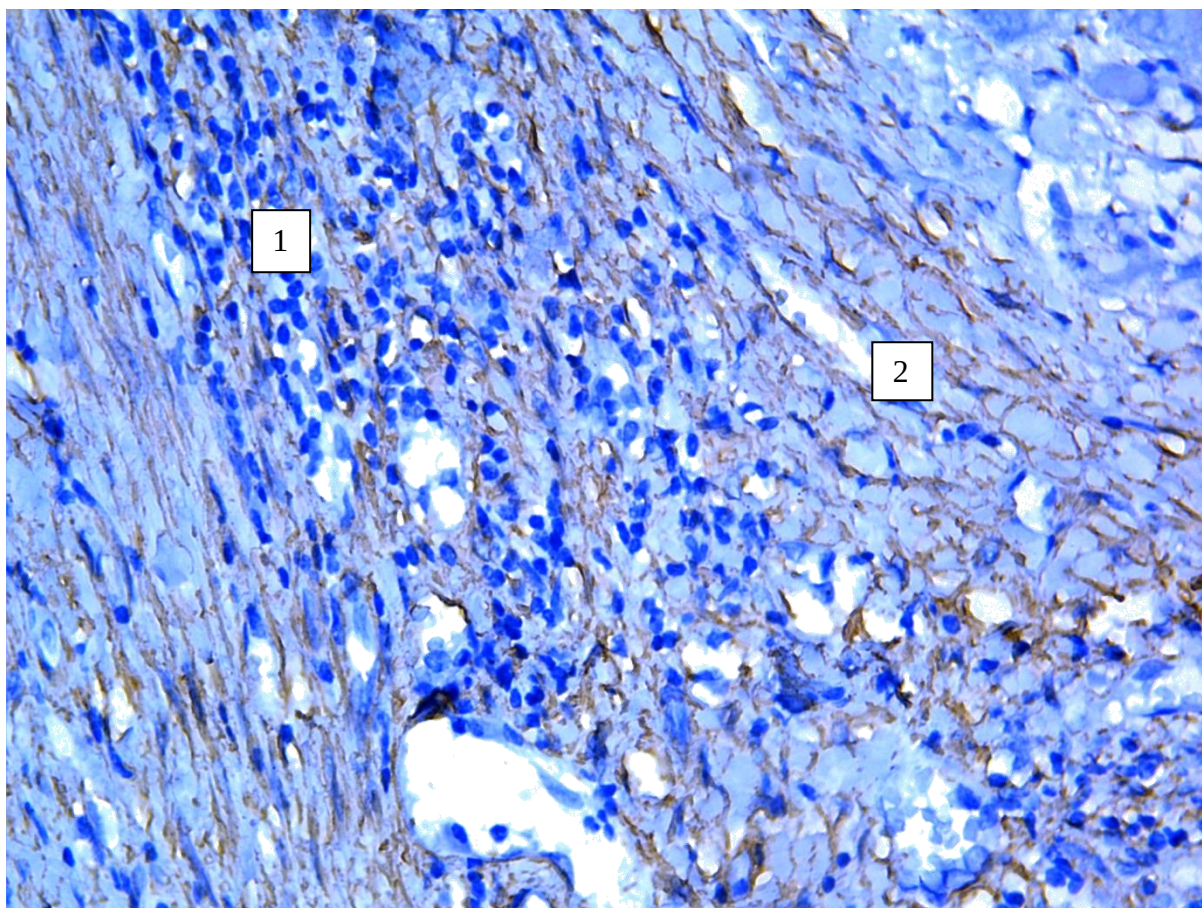


1) збережені гепатоцити;

2) α -SMA-позитивні клітини у складі фіброзної септи.

Рисунок 4.13 – Збільшена кількість α -SMA+ клітин, які розміщуються дифузно у сполучнотканинних септах. Забарвлення на α -SMA. Збільшення 10x40. Автопсія №593. Хвора П. 54 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

Кількість α -SMA+ клітин була значно меншою в ділянках клітинної інфільтрації (рис. 4.5). а також в зоні проліферації біліарного епітелію – дуктулярної реакції (рис.4.14).



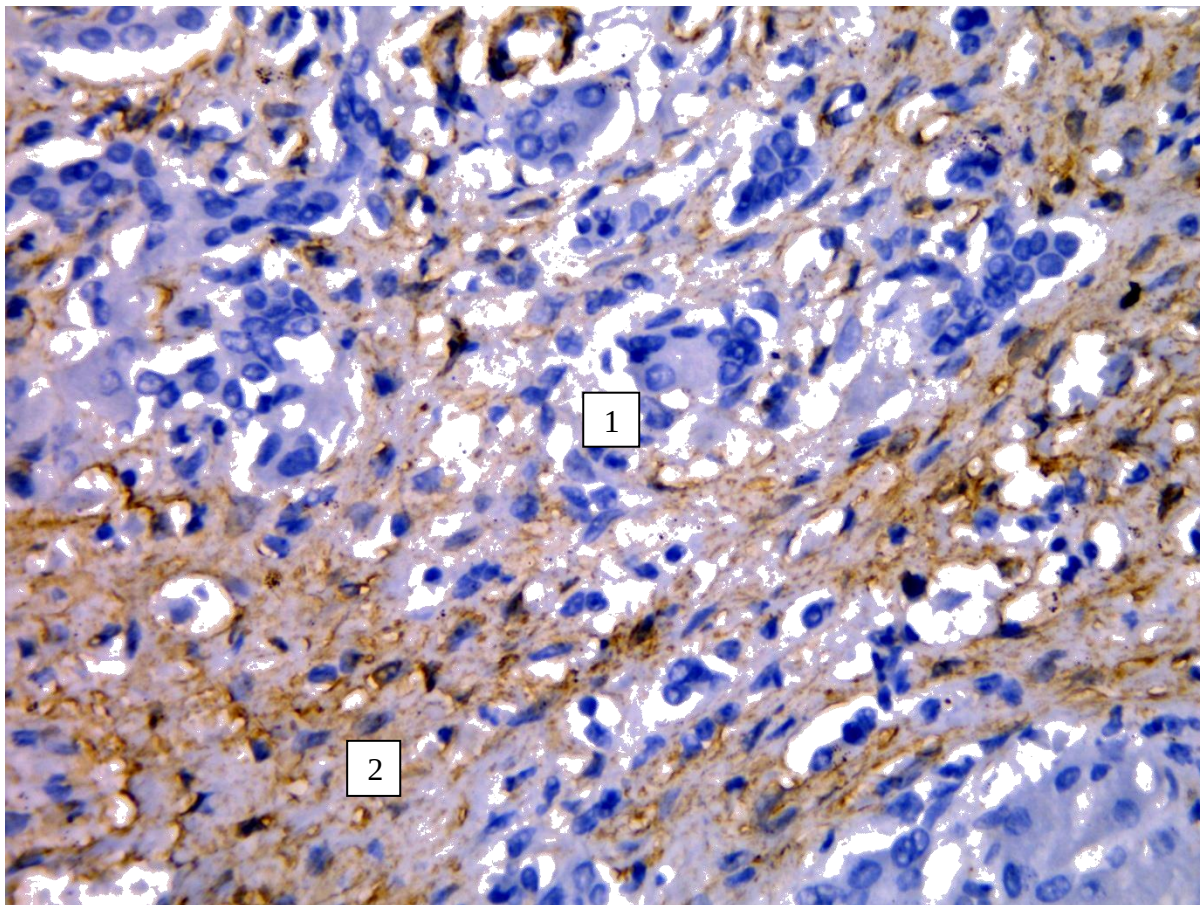
1) щільний мононуклеарний інфільтрат;

2) α -SMA-позитивні клітини розділені фібрилярними білками.

Рисунок 4.14 – Збільшена кількість α -SMA+ клітин у складі сполучнотканинної септи в зоні інфільтрації. Забарвлення на α -SMA.

Збільшення 10x40. Автопсія №404. Хворий П. 38 р., чол. Діагноз: алкогольний та неалкогольний стеатогепатит (поєднані захворювання)

В зоні проліферації біліарного епітелію – дуктулярної реакції – кількість α -SMA-позитивних клітин теж була відносно меншою (рис.4.15), що імовірно пов'язано з нагромадженням фібрилярних білків та, можливо, переходом клітин в неактивний стан.



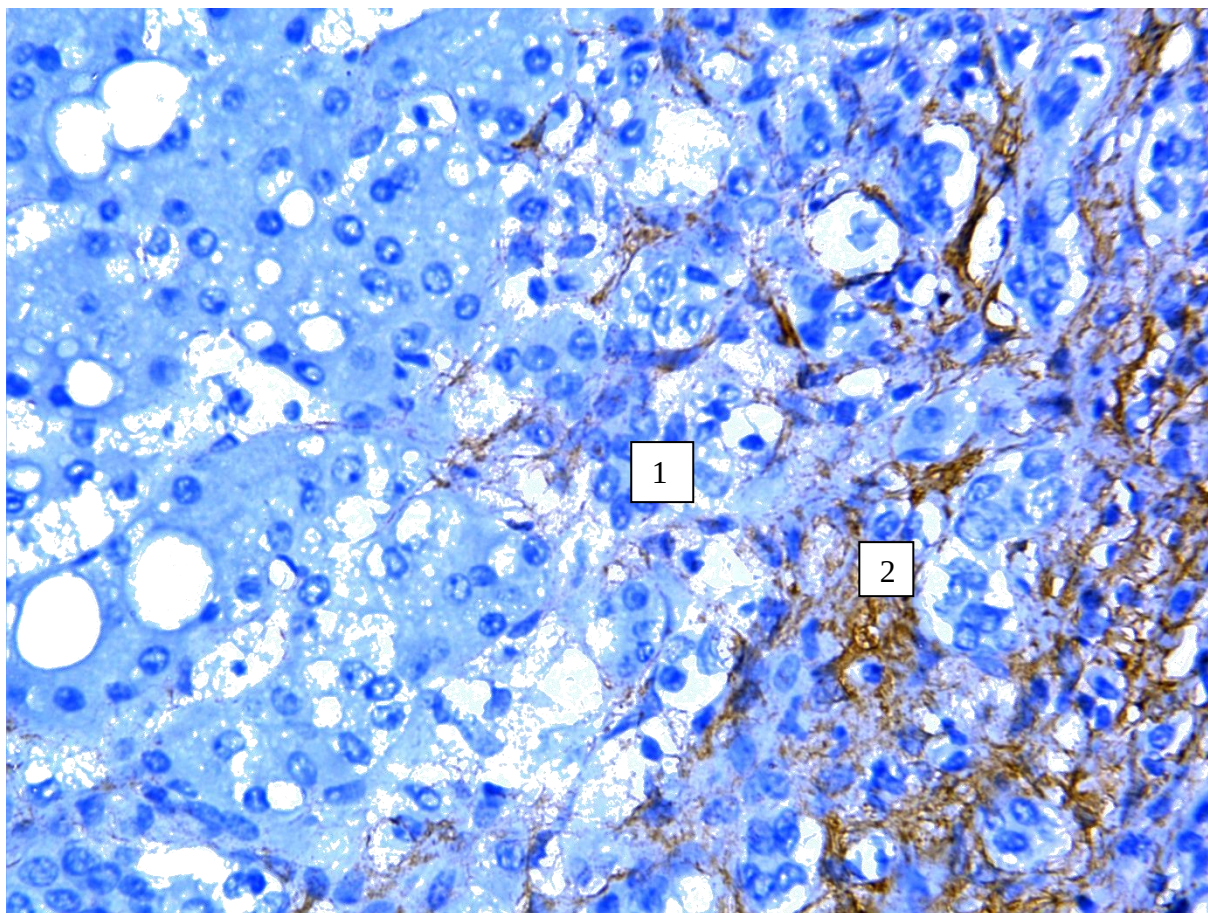
1) проліферація біліарного епітелію;

2) α -SMA-позитивні клітини розділені фібрилярними білками.

Рисунок 4.15 – Збільшена кількість α -SMA+ клітин у складі сполучнотканинної септи в зоні дуктулярної реакції. Забарвлення на α -SMA.

Збільшення 10x40. Автопсія №128. Хворий В. 41 р., чол. Діагноз: алкогольний та неалкогольний стеатогепатит (поєднані захворювання)

Співвідношення локалізації α -SMA+ клітин та дуктулярної реакції не було однаковим. У випадках, коли новоутворені дуктули формувались по периферії сполучнотканинної септи, активовані α -SMA+ клітини виявлялись між біліарними проліфератами (рис.4.16).

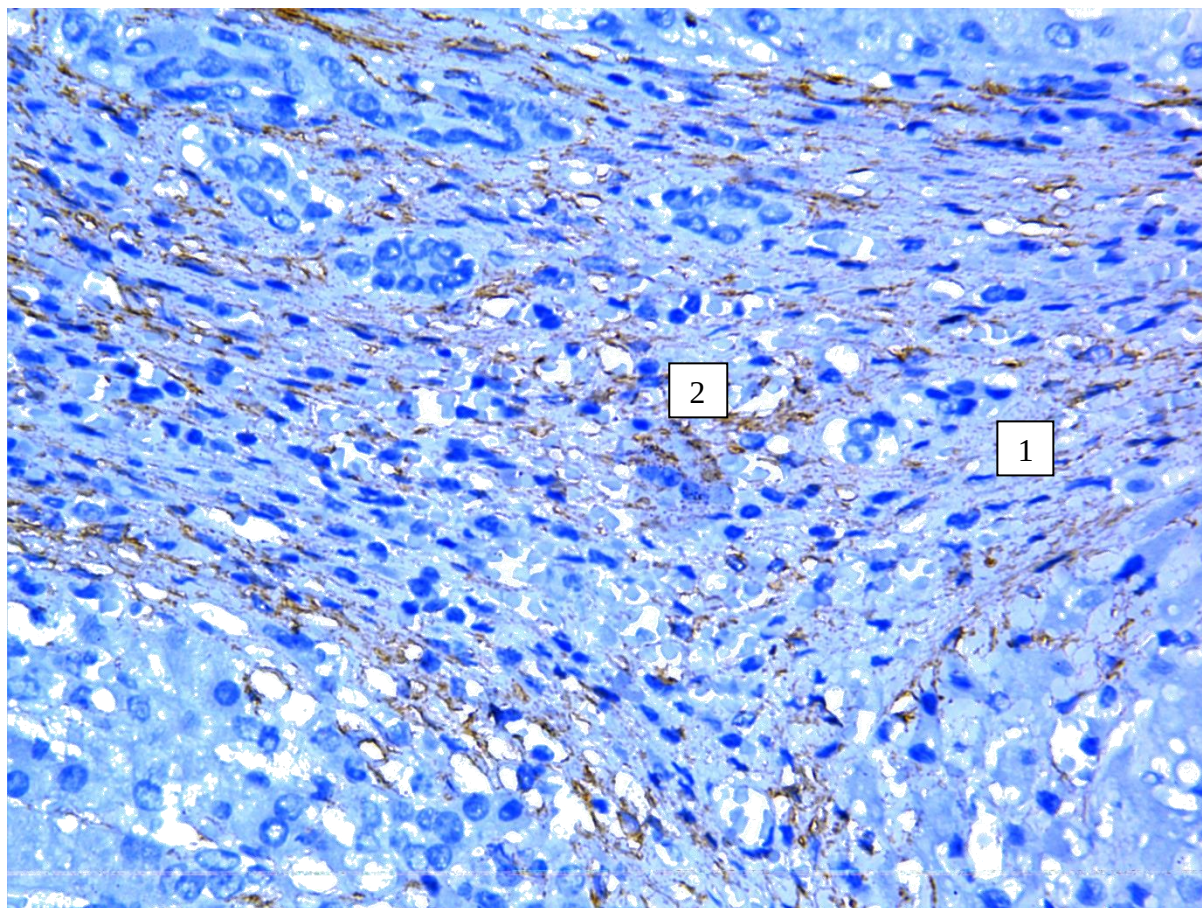


1) проліферація біліарного епітелію;

2) α -SMA-позитивні клітини між новоутвореними дуктулами.

Рисунок 4.16 – Збільшена кількість α -SMA+ клітин по периферії сполучнотканинної септи в зоні дуктулярної реакції. Забарвлення на α -SMA. Збільшення 10x40. Автопсія №878. Хворий М. 42 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

Ознаки активації, тобто експресії α -SMA, спостерігалась лише в частині клітин фіброзної септи з мезенхімальним фенотипом (веретеноподібним) (рис.4.17). Інші клітини імовірно були представлені неактивованими портальними фібробластами. Тобто визначення кількості α -SMA+ клітин до певного ступеня може відображати активність механізмів фіброгенезу.



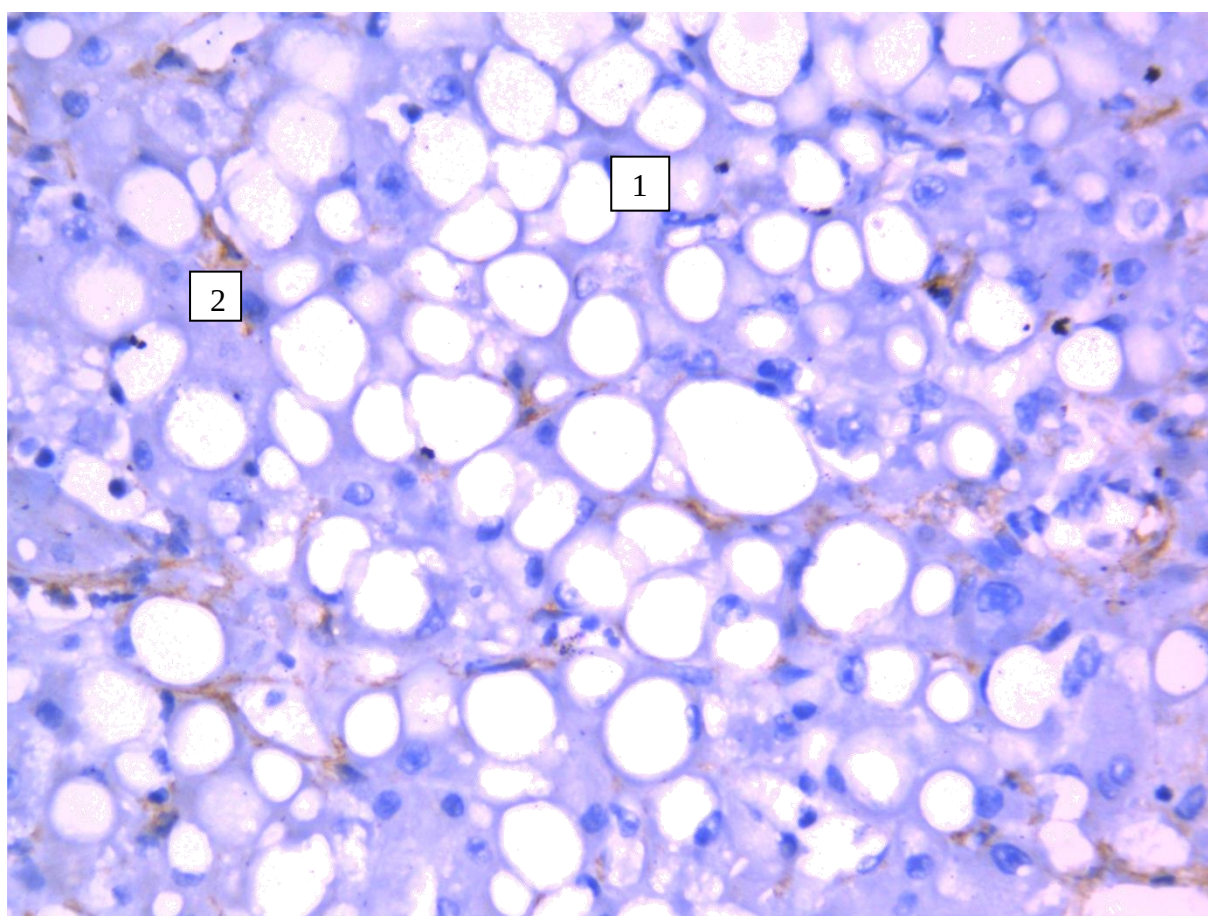
1) веретеноподібні клітини без ознак експресії α -SMA;

2) α -SMA-позитивні клітини розділені фібрилярними білками.

Рисунок 4.17 – Активовані α -SMA+ клітини у складі сполучнотканинної септи. Забарвлення на α -SMA. Збільшення 10x40. Автопсія №841. Хворий І. 49 р., чол. Діагноз: алкогольний стеатогепатит

Найважливішими наслідками активації клітин фіброгенної популяції є проліферація та секреція елементів ЕЦМ. Мітотична активність

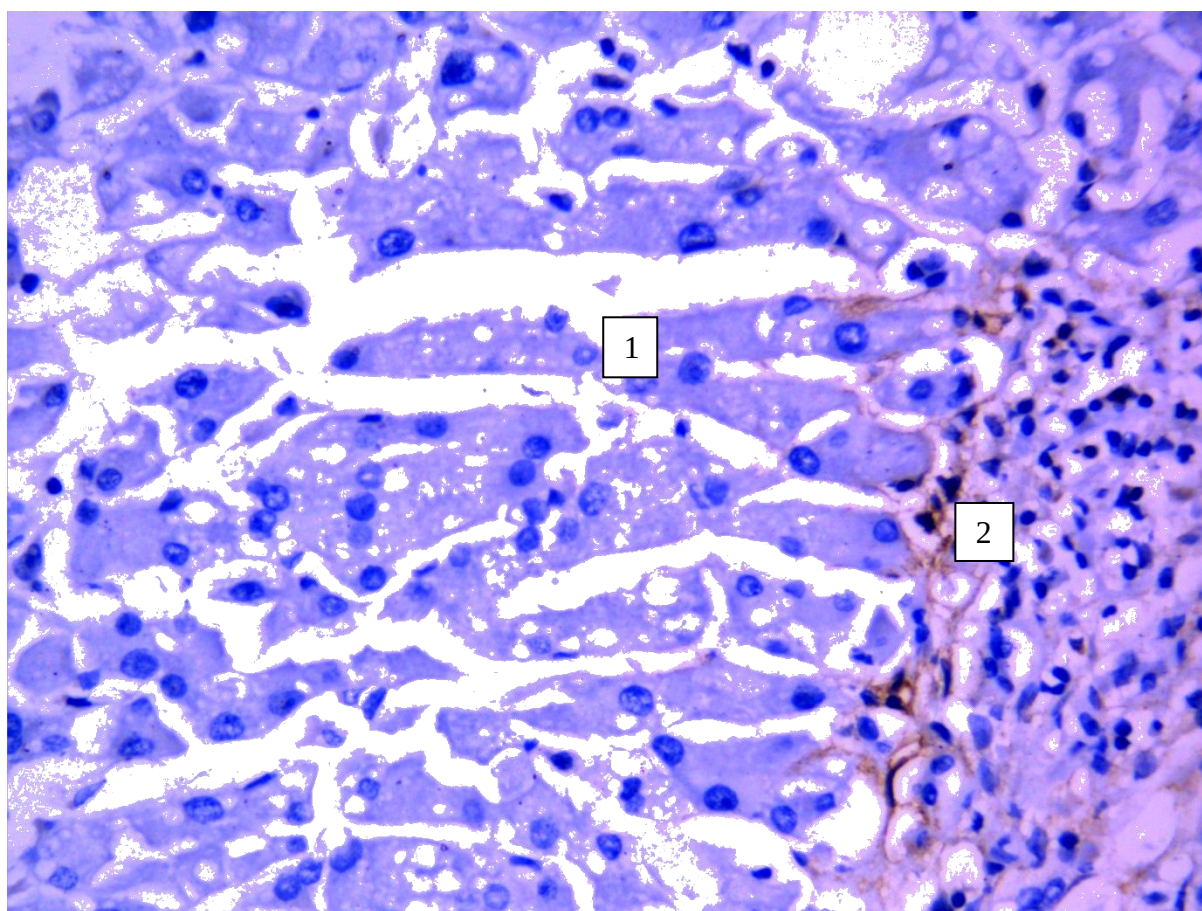
міофібробластів визначалась за кількістю Ki67+ клітин. Оскільки при цирозі проліферативна активність гепатоцитів є низькою, популяція Ki67+ клітин переважно включала елементи, які були задіяні у фіброгенезі. Частина таких клітин, що виявлялась всередині часточки, вірогідно включала ПЗК та, можливо, КК і СЕК, проліферація яких є характерною для активованих механізмів загоєння (рис.4.18).



- 1) гепатоцити з нерівномірно вираженим стеатозом;
- 2) поодинокі Ki67-позитивні клітини розміщені між гепатоцитами та по ходу синусоїдів.

Рисунок 4.18 – Ki67+ клітини всередині печінкової часточки. Забарвлення на Ki67. Збільшення 10x40. Автопсія №884. Хворий Б. 38 р., чол. Діагноз: алкогольний стеатогепатит

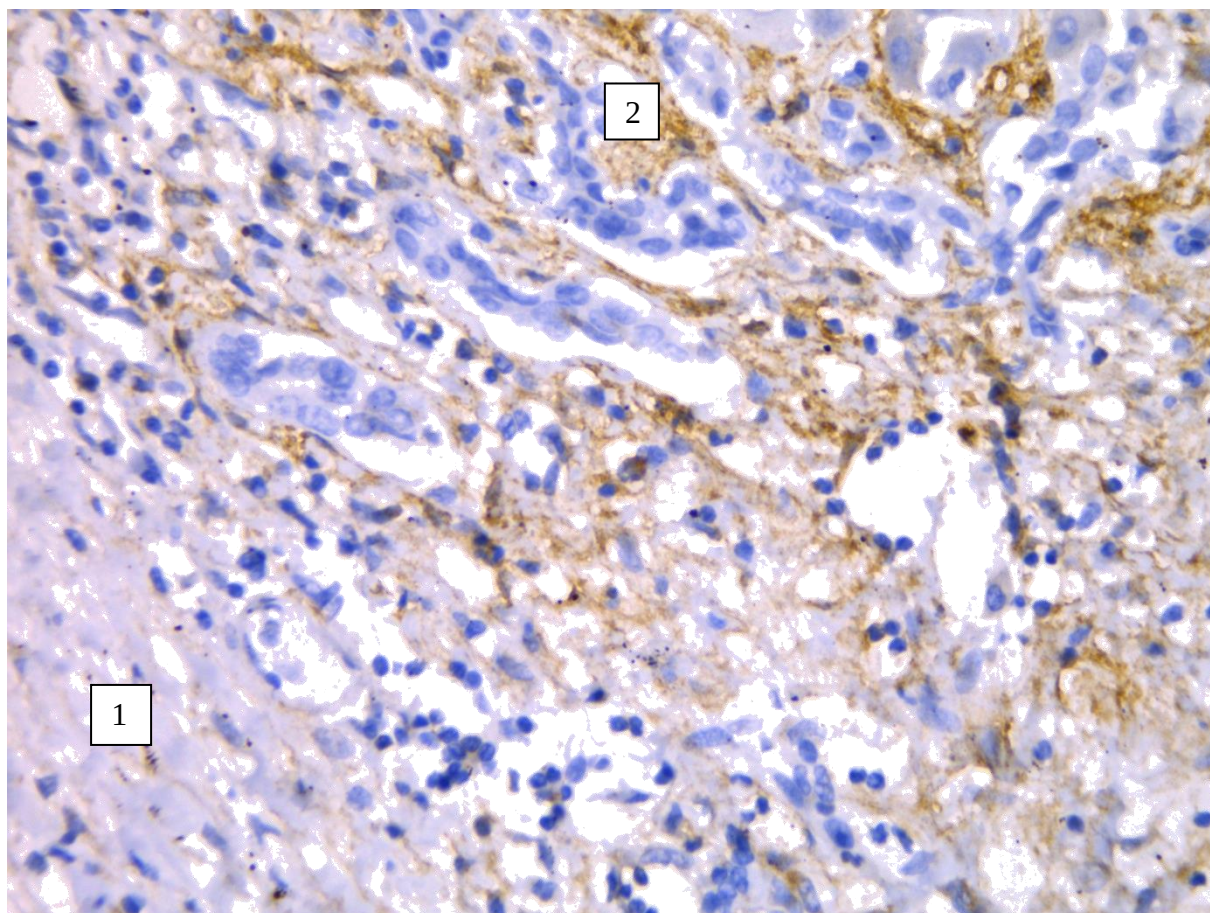
Більшість Ki67+ клітин розміщувались у сполучнотканинних септах. При цьому можна було виділити декілька варіантів локалізації таких клітин. Найчастіше Ki67+ клітини розміщувались на межі септи та паренхіми (рис.4.19).



- 1) гепатоцити з нерівномірно вираженим стеатозом;
- 2) поодинокі Ki67-позитивні клітини розміщені на межі паренхіми та септи.

Рисунок 4.19 – Ki67+ клітини на межі печінкової часточки та септи.
Забарвлення на Ki67. Збільшення 10x40. Автопсія №593 . Хвора П. 54 р., жін.
Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

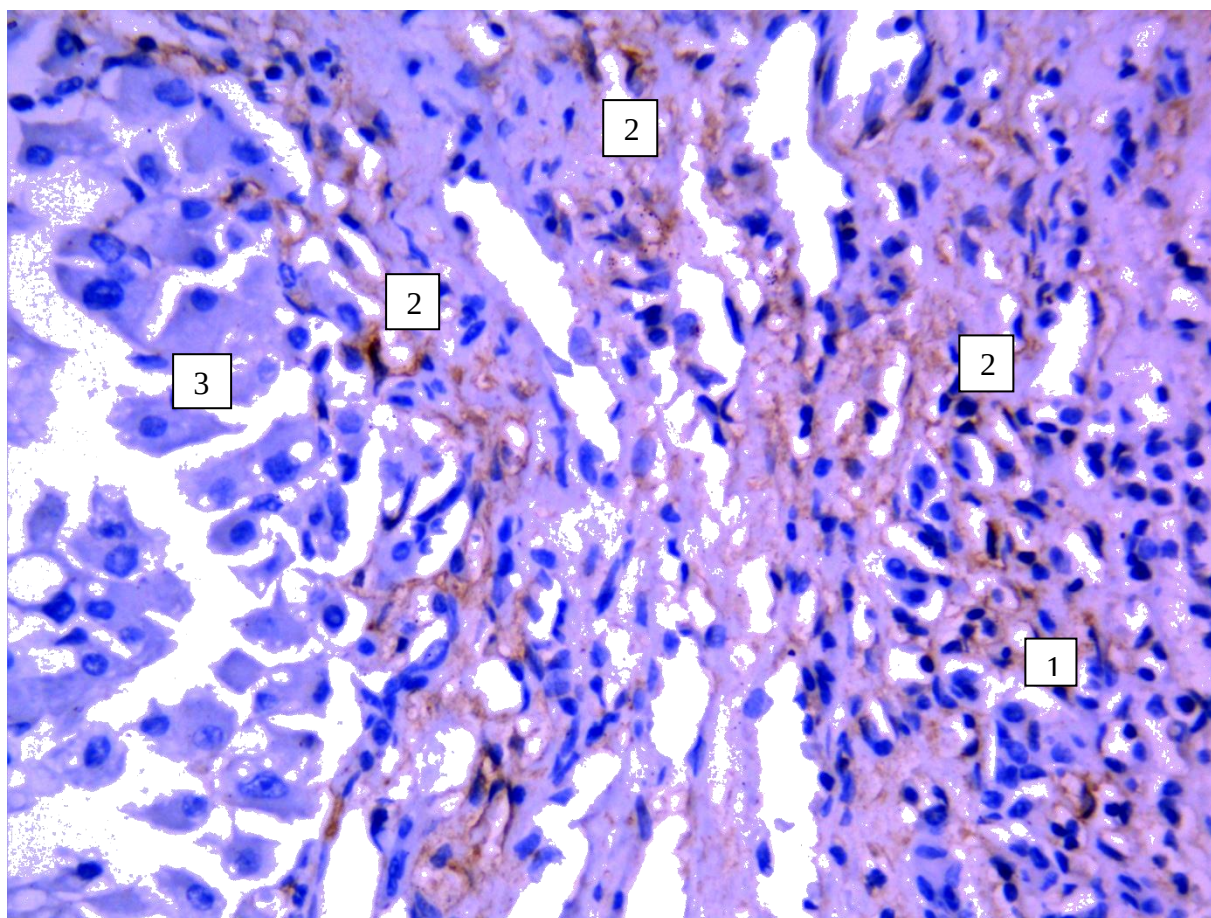
В частині випадків Ki67+ клітини розміщувались в ділянках вираженої дуктулярної реакції. При цьому це були, найбільш імовірно, клітини мезенхімального, а не епітеліального ряду (рис.4.20).



- 1) сполучнотканинна септа;
- 2) Ki67-позитивні клітини розміщені на межі паренхіми та септи навколо новоутворених дуктул.

Рисунок 4.20 – Ki67+ клітини в пограничній зоні, асоційовані з дуктулярною реакцією. Забарвлення на Ki67. Збільшення 10x40. Автопсія №473. Хворий А. 45 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

Іноді Ki67+ клітини виявлялись дифузно по всій товщині сполучнотканинної септи, включаючи стінки дрібних судин (рис.4.21).



- 1) сполучнотканинна септа з інфільтратом;
- 2) дифузно розміщені Ki67-позитивні клітини;
- 3) гепатоцити.

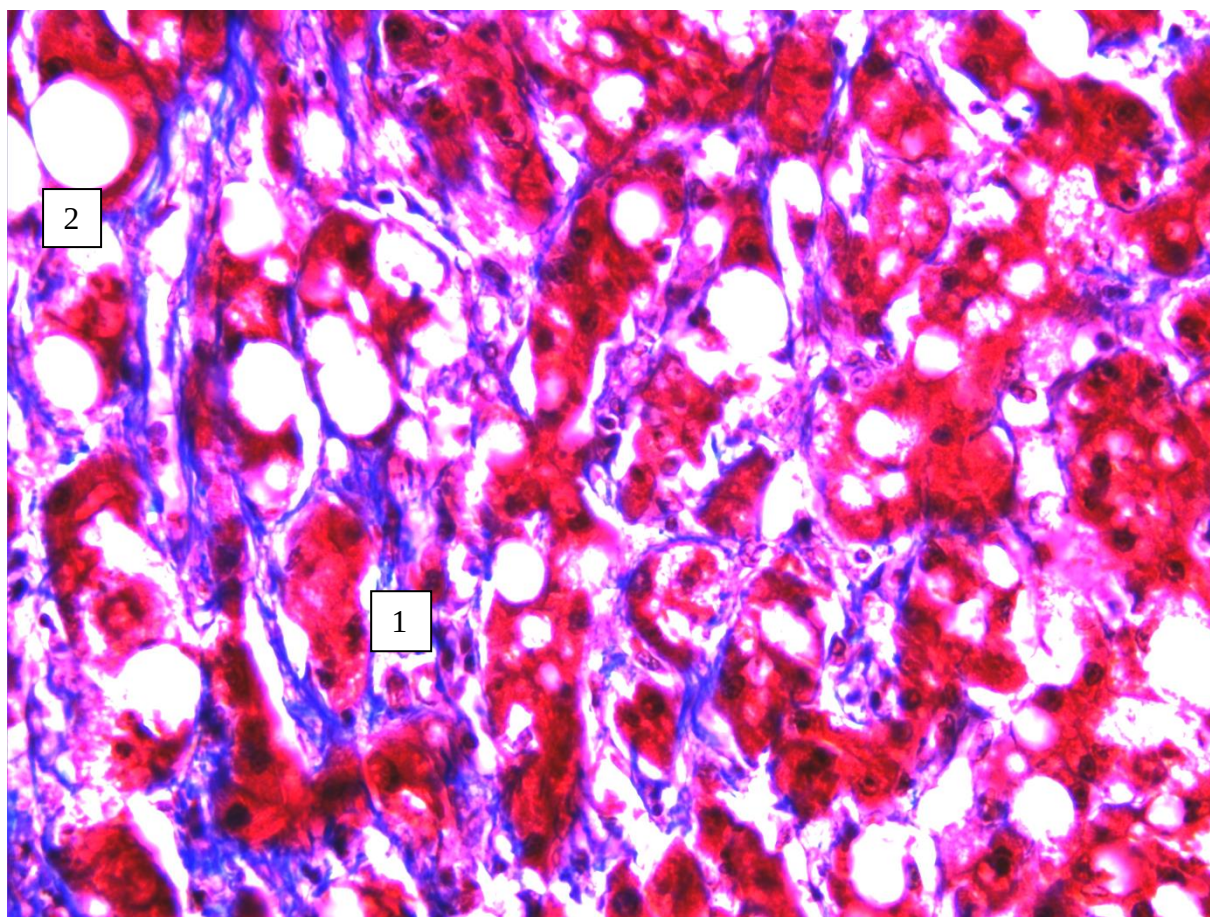
Рисунок 4.21 – Ki67+ клітини розміщені дифузно по всій товщі сполучнотканинної септи, включаючи пограничну зону. Забарвлення на Ki67.

Збільшення 10x40. Автопсія №128. Хворий В. 41 р., чол. Діагноз: алкогольний стеатогепатит та вірусний гепатит С (поєднані захворювання)

Для оцінки секреторної активності фіброгенних клітин було проведено аналіз особливостей нагромадження колагенових волокон. Оскільки процеси фіброгенезу передбачають утворення перш за все колагену III типу,

характерного для рубцьової тканини, оцінювались волокна, які фарбуються альціановим синім при забарвленні трихромом Масона.

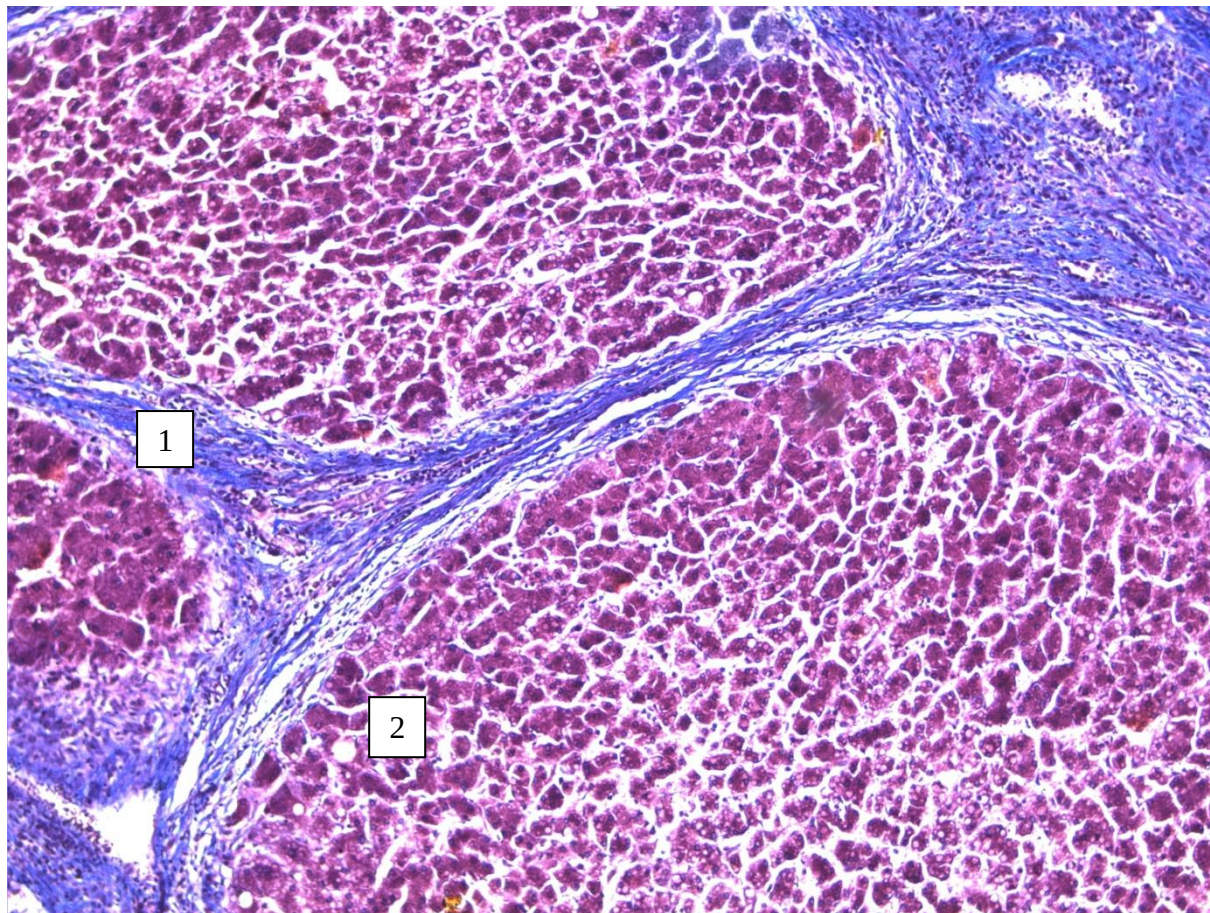
Альціан-позитивні волокна визначались у різних відділах печінкової тканини, в залежності від того, яка популяція фіброгенних клітин їх переважно синтезувала. Якщо це були ПЗК, новоутворені волокна визначались у інтерстиції просторів Діссе. При цьому розвивався перицелюлярний та/або перисинусоїдний склероз (рис.4.22).



- 1) альціанпозитивні волокна, які оточують окремі клітини та/або розміщуються у перисинусоїдних просторах Діссе;
- 2) гепатоцити з ознаками стеатозу.

Рисунок 4.22 – Перицелюлярний фіброз. Забарвлення трихромом Масона. Збільшення 10х40. Автопсія №884. Хворий Б. 38 р., чол. Діагноз: алкогольний стеатогепатит

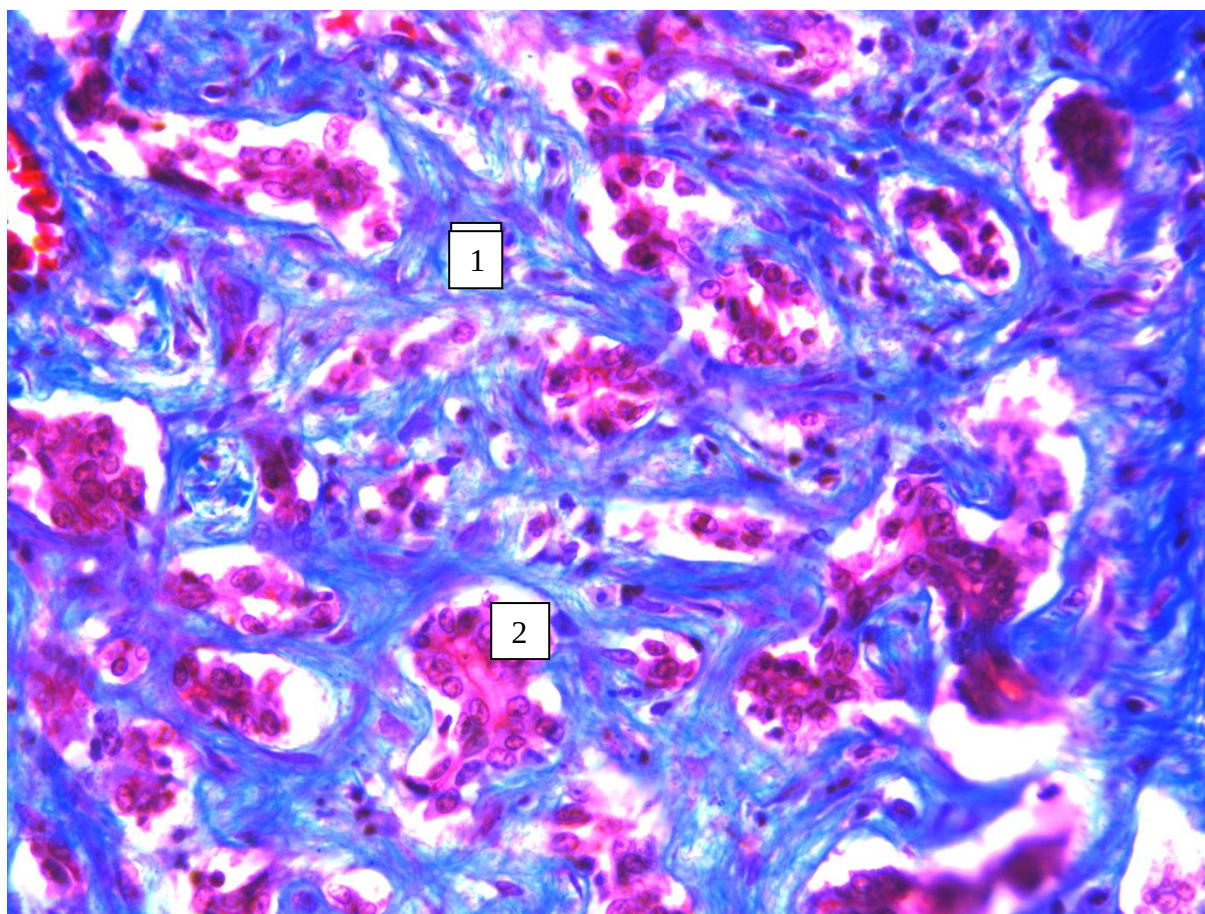
При активації портальних та пограничних фібробластів спостерігалось розширення ПТ та формування септ (рис.4.23).



- 1) альціанпозитивні волокна, які проникають всередину часточки та ділять її на декілька частин;
- 2) гепатоцити з ознаками стеатозу.

Рисунок 4.23 – Портосептальний фіброз. Забарвлення трихромом Масона. Збільшення 10х20. Автопсія №593. Хвора П. 54 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

В частині випадків септоутворення асоціювалось з вираженою дуктулярною реакцією (рис.4.24).



- 1) альціанпозитивні волокна, які оточують новоутворені дуктули;
- 2) проліферуючий біліарний епітелій.

Рисунок 4.24 – Перидуктальний фіброз.

Забарвлення трихромом Масона. Збільшення 10х40. Автопсія №202.

Хвора М. 49 р., жін. Діагноз: вірусний гепатит С

Дані про рівень кількісних показників фіброгенезу при різних патогенетичних варіантах склерозу представлені в табл.4.3.

При порівнянні відносної площі, яку займали α -SMA+ клітини, виявлено значущі відмінності при попарному порівнянні усіх трьох груп щодо загального, септального і лобулярного α -SMA.

Таблиця 4.3 – Показники фіброгенезу при різних варіантах склерозу: перицелюлярному (ПЦФ), перисептальному (ПСФ), перидуктальному (ПДФ), ($M \pm s$)

	ПЦФ	ПСФ	ПДФ	P
α -SMA (% площа)				
Загальний	6,81 $\pm$ 0,84	8,09 $\pm$ 0,71	8,73 $\pm$ 0,46	P ₁₋₂ =0,0005 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ =0,0107
Септальний	12,7 $\pm$ 0,29	21,84 $\pm$ 0,32	23,71 $\pm$ 0,23	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001
Лобулярний	2,79 $\pm$ 0,071	1,99 $\pm$ 0,12	0,55 $\pm$ 0,11	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001
Ki-67 (% площа)				
Септальний	3,45 $\pm$ 0,31	10,94 $\pm$ 0,27	13,03 $\pm$ 0,32	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001
Лобулярний	1,36 $\pm$ 0,028	0,051 $\pm$ 0,02	0,045 $\pm$ 0,026	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ =0,41
Фіброз (% площа альціан-позитивних волокон)				
Загальний	6,23 $\pm$ 0,58	35,38 $\pm$ 0,39	41,4 $\pm$ 0,54	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001
Лобулярний	36,18 $\pm$ 0,1	29,7 $\pm$ 0,41	4,91 $\pm$ 0,12	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001

При визначенні септального α -SMA кількість активованих фіброгенних клітин у септах була найбільшою у групі ПДФ і найнижчою —

при ПЦФ. Натомість цілком протилежною була закономірність щодо лобулярного α -SMA, показник був найвищим у групі ПЦФ, нижчим при ПСФ і найменшим при ПДФ. Такі зворотні тенденції пояснюють відносне «вирівнювання» показників загального α -SMA, тим не менше загальний показник був найвищим у групі ПДФ, а найнижчим — у групі ПЦФ із значущими відмінностями між всіма групами.

Аналіз відносної площі, яку займали проліферуючі клітини, засвідчив аналогічні закономірності У септах проліферативна активність клітин була найвищою у групі ПДФ, значуще нижчою у групі ПСФ і при ПЦФ. Натомість інтралобулярна проліферативна активність була найвищою в групі ПЦР, а між ПСФ і ПДФ значущої відмінності не виявлено.

Аналогічно, при оцінці відносної площі, яку займали альціан-позитивні КВ, було виявлено найвищий загальний показник у групі ПДФ, значуще нижчий при ПСФ та найнижчий у групі ПЦФ (у 6,6 раза порівняно з групою ПДФ). Натомість кількість альціан+ волокон у інтерстиції часточок була найбільшою при ПЦФ, у двох інших групах ці показники були значуще меншими, причому слід відзначити, що коли за загальним рівнем альціан+ волокон проміжна група ПСФ була відносно ближчою до ПДФ, то за лобулярними змінами вона була ближчою до ПЦФ.

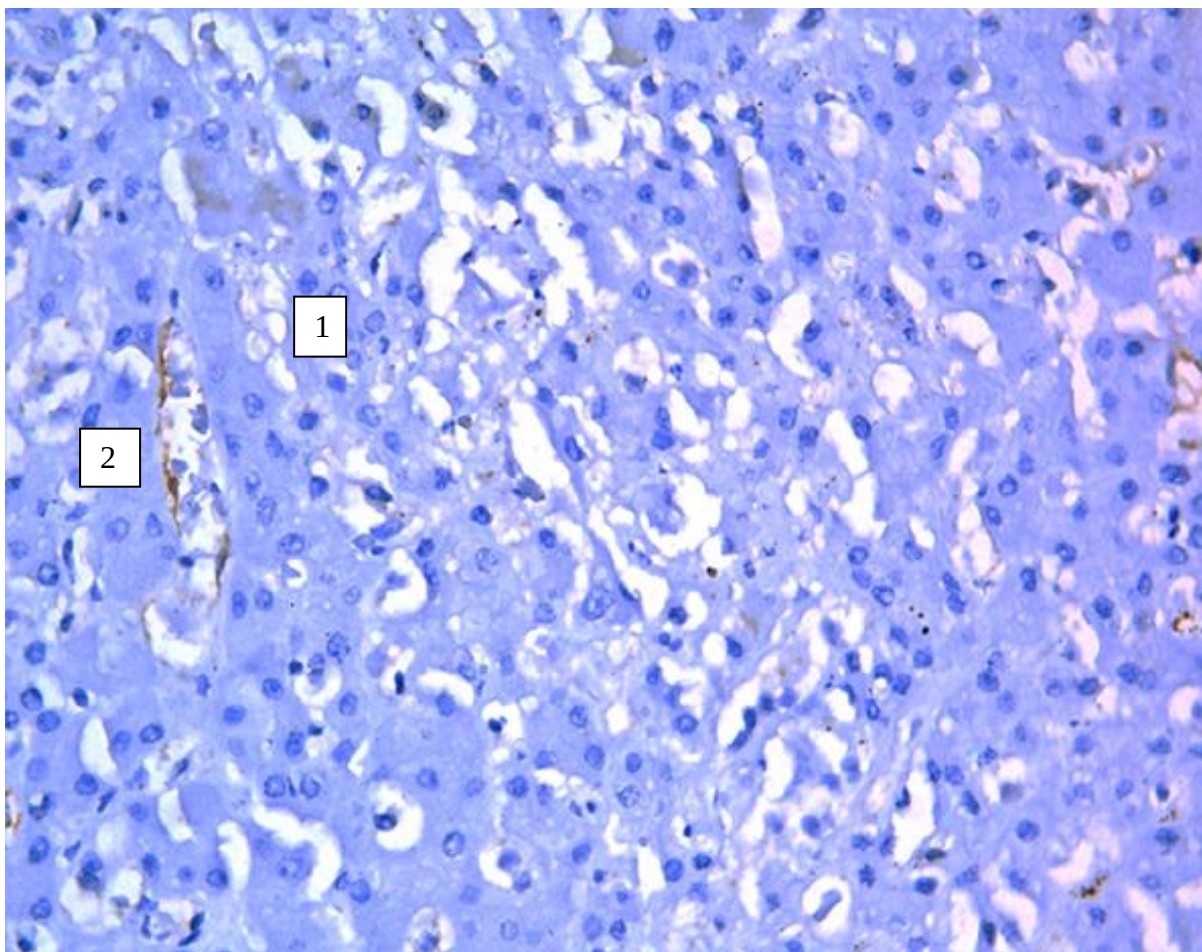
Загалом можна вказати на однозначний паралелізм маркерів кількості активованих міофібробластів (α -SMA+), мітотично активних мезенхімальних клітин (Ki67+) та кількості колагену та протилежність вираженості цих процесів у септальному і лобулярному компартментах при порівнянні груп ПЦФ, ПСФ і ПДФ. Причому група СС посідає проміжне місце. Відтак можна зробити висновок про те, що ці групи можна об'єктивно окреслити і віддиференціювати за рівнями цих маркерів, причому паралельна оцінка кількох маркерів дає змогу забезпечити високу вірогідність коректної дефініції конкретного випадку.

Утворення нових судин при процесах загоєння залежить передовсім від активності ендотеліальних клітин, які розміщуються у судинах ПТ та в

синусоїдах. Для виявлення ендотеліальних клітин було вибрано маркери CD31 та CD34, які експресуються дещо за різних умов.

В нормальній печінці синусоїдні ендотеліоцити є CD31 та CD34-негативні. Натомість в судинах портальних трактів та центральних відділів часточок спостерігається експресія обох маркерів. Вважається, що CD31 є структурним маркером ендотеліальних клітин, а CD34 – функціональним, тобто асоціюється з дисфункцією або активацією клітини. При хронічних захворюваннях печінки всередині часточок виявляються фокуси CD34+ клітин; при цирозі вони спостерігаються у перипортальних синусоїдах; при гепатоцелюлярній карциномі типовим є дифузне розміщення CD34+ клітин [130]. Вивчення експресії CD31 показало пряму залежність між кількістю CD31+ клітин та ступенем фіброзу [131]. Даних про паралельне виявлення обох маркерів в тканині печінки в літературі немає. Описані відмінності у експресії маркерів CD31 та CD34 зумовили те, що одним із завдань нашої роботи було порівняння їх експресії при процесах загоєння і аргументація доцільності вибору одного з них для морфологічного дослідження.

Експресія маркерів CD31 та CD34 виявлялась як всередині часточок, так і в ділянках септ. Оскільки експресія маркера CD34 кількісно була більш вираженою, ніж маркера CD31, ілюстрації включають переважно забарвлення на CD34. Інтралобулярно CD34+ клітини спостерігались у різній кількості та часом асоціювались з іншими морфологічними ознаками. При незначній експресії лише в поодиноких синусоїдах виявлялись CD34+ клітини (рис.4.25) [229-233]. Імовірно такі зміни відповідали початковим етапам активації ендотеліальних клітин, які в подальшому ставали базою для компенсаторно-приспосувальних реакцій або для проліферації з утворення нових судинних розгалужень.



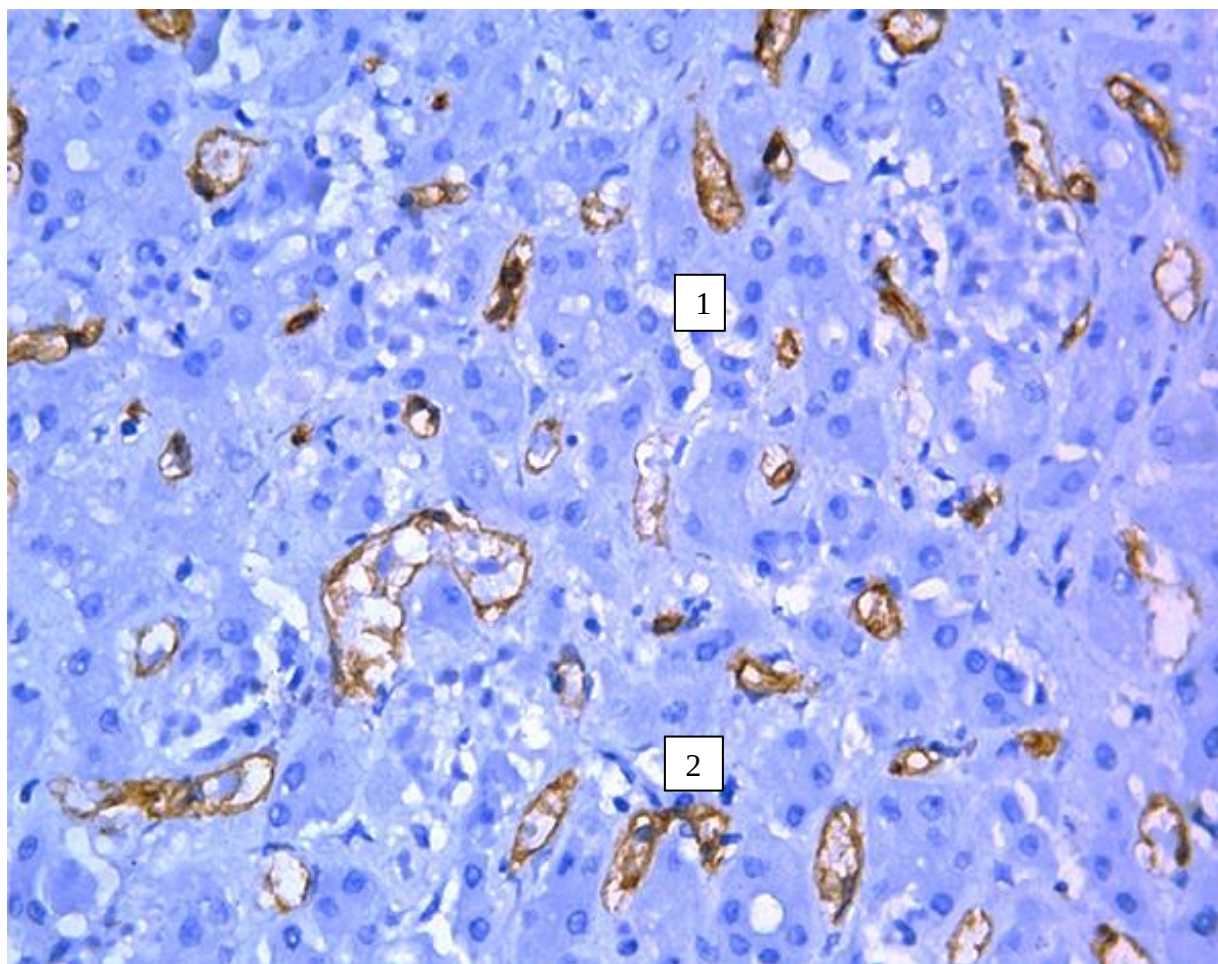
1) гепатоцити з ознаками вакуольної дистрофії;

2) CD34-позитивні клітини.

Рисунок 4.25 – Незначна кількість CD34+ клітин, які розміщуються інтралобулярно по ходу синусоїдів. Забарвлення на CD34. Збільшення 10х40.

Автопсія №3Z. Хвора Ж. 56 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

При більш вираженому процесі CD34+ клітини виявлялись у більшості синусоїдів (рис.4.26), що імовірно відображало активацію СЕК та можливо перебудову МЦР – артеріолізація синусоїдів.

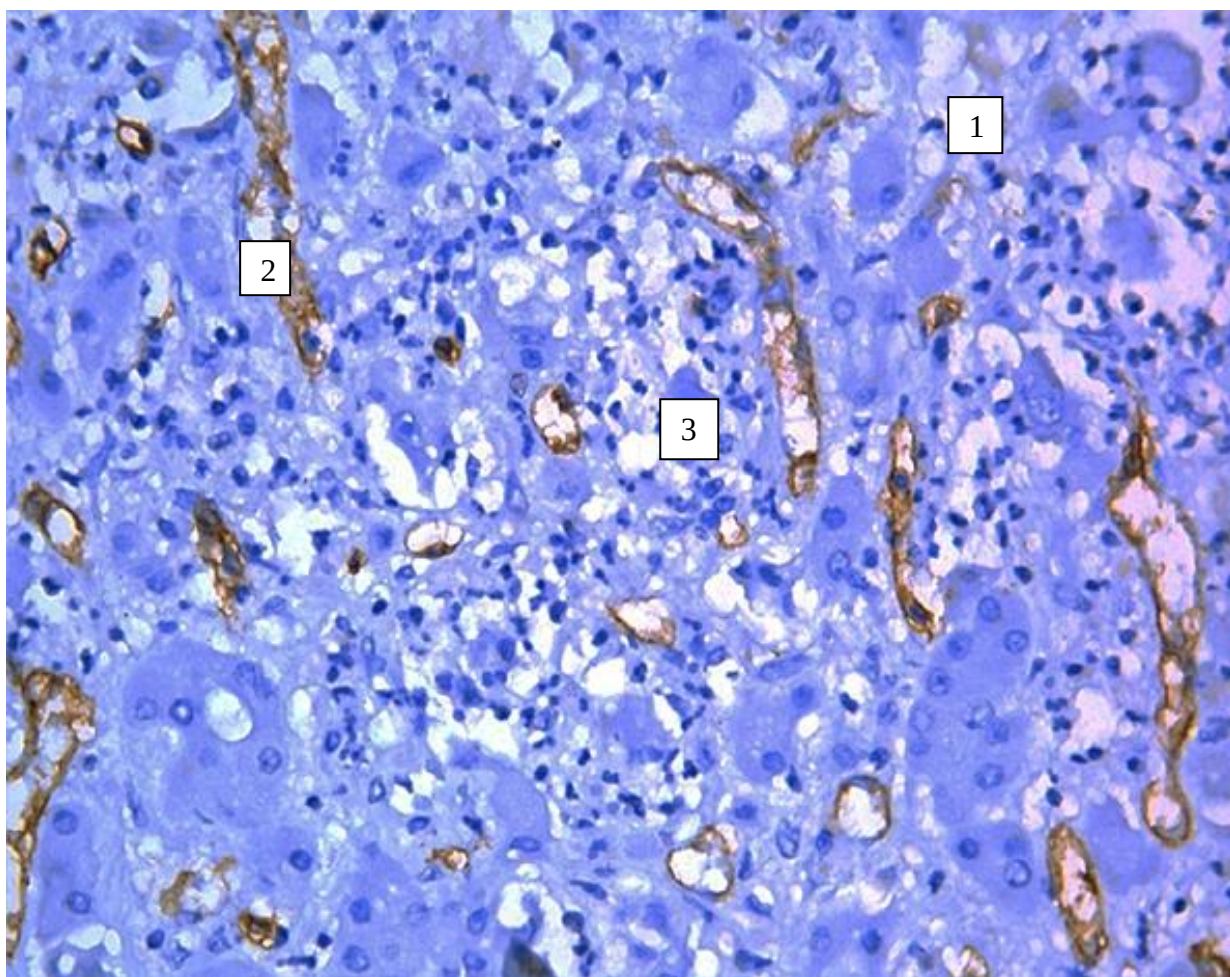


1) гепатоцити з ознаками дистрофії;

2) CD34-позитивні клітини.

Рисунок 4.26 – Збільшена кількість CD34+ клітин, які розміщуються інтралобулярно і імовірно є активованими синусоїдними ендотеліальними клітинами. Забарвлення на CD34. Збільшення 10x40. Автопсія №3Z. Хвора Ж. 56 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

В частині випадків виражена експресія CD34 асоціювалась з ділянками поліморфноклітинної інфільтрації (рис.4.27)



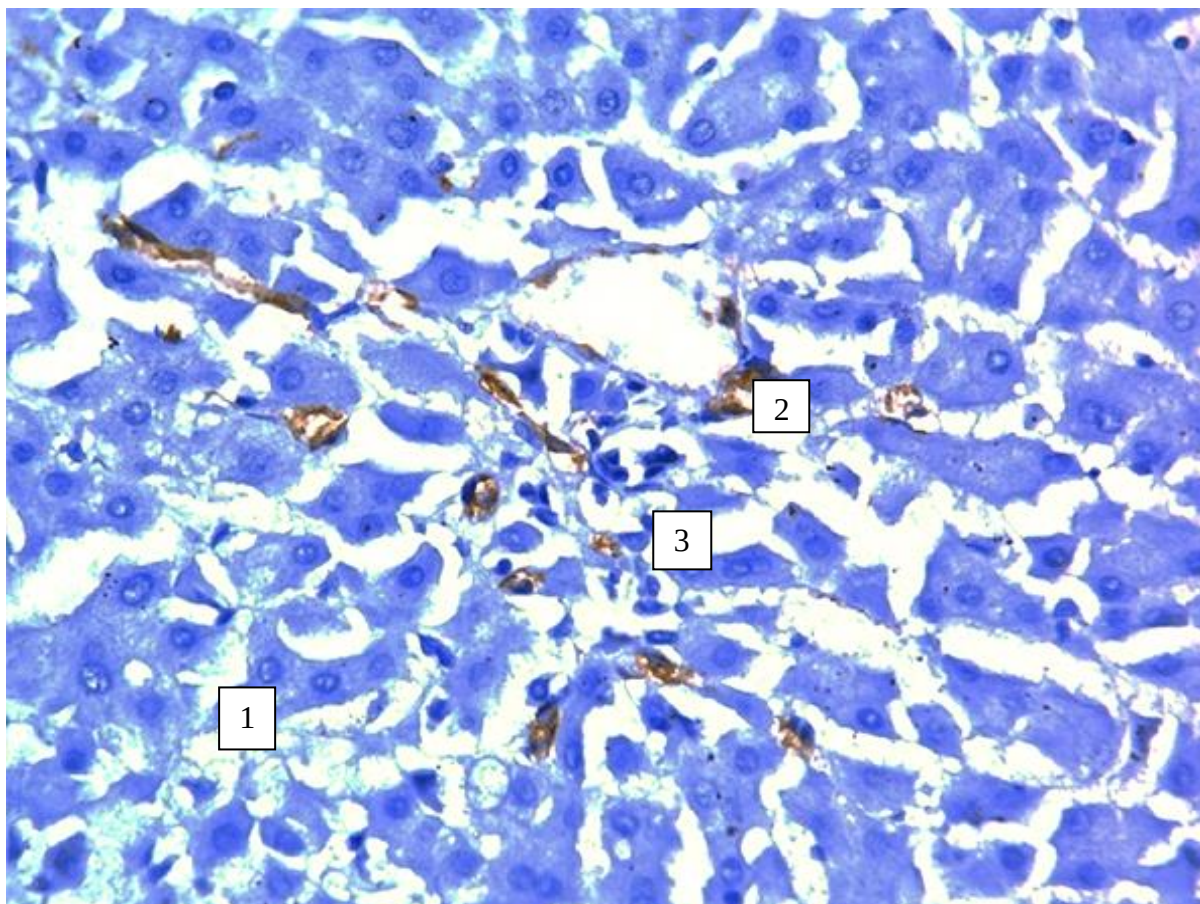
1) гепатоцити з ознаками дистрофії;

2) CD34-позитивні клітини;

3) клітинна інфільтрація.

Рисунок 4.27 – Збільшена кількість CD34+ клітин, які розміщуються інтралобулярно і асоціюються з вираженою поліморфноклітинною інфільтрацією. Забарвлення на CD34. Збільшення 10x40. Автопсія №406. Хворий Д. 66 р., чол. Діагноз: алкогольний та неалкогольний стеатогепатит (поєднані захворювання)

Найчастіше всередині часточок спостерігалось вогнищеве збільшення експресії CD34 (рис.4.28), яке асоціювалось з початковими проявами перицелюлярного склерозу.



1) гепатоцити з ознаками дистрофії;

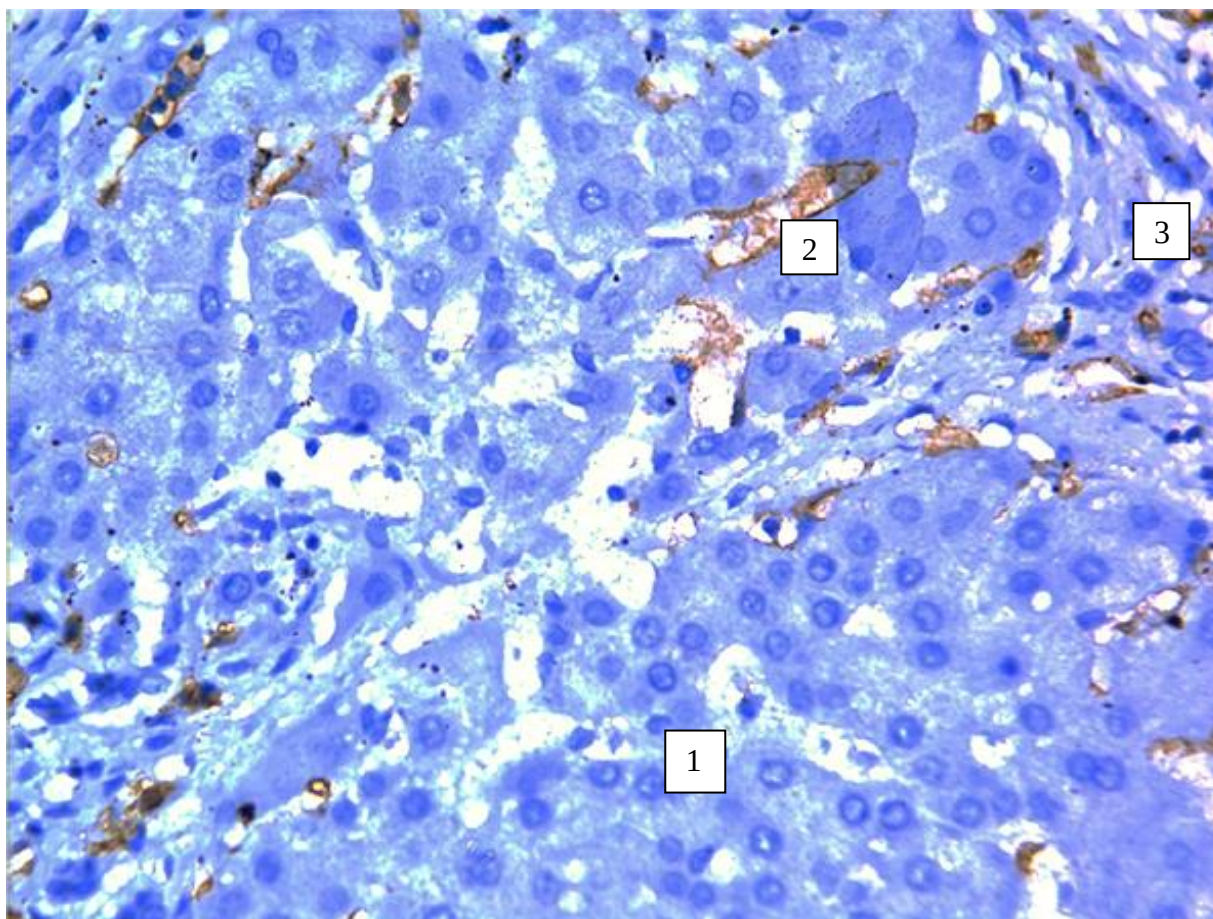
2) CD34-позитивні клітини;

3) фокус загибелі гепатоцитів та мононуклерної інфільтрації.

Рисунок 4.28 – Збільшена кількість CD34+ клітин, які розміщуються у вигляді окремого вогнища всередині часточки. Забарвлення на CD34.

Збільшення 10x40. Автопсія №78Z. Хворий М. 42 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

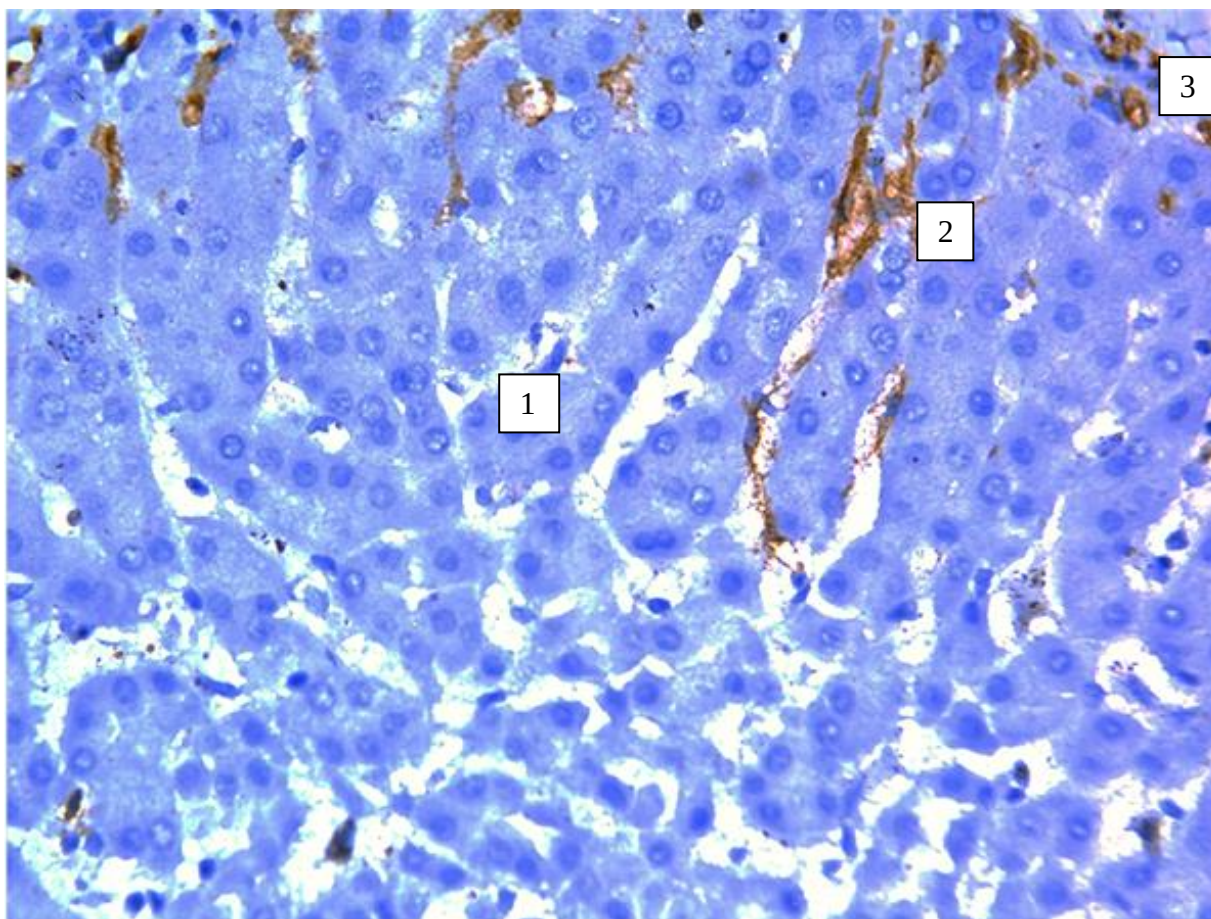
Часом розміщення CD34+ клітин дозволяло прослідкувати напрямок формування майбутньої септи (рис.4.29). При цьому даний прояв можна було розцінювати як маркер ангіогенезу.



- 1) гепатоцити з ознаками дистрофії;
- 2) CD34-позитивні клітини;
- 3) сполучнотканинні септи.

Рисунок 4.29 – Збільшена кількість CD34+ клітин, які розміщуються у напрямку формування майбутньої септи. Забарвлення на CD34. Збільшення 10x40. Автопсія №78Z . Хворий М. 42 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

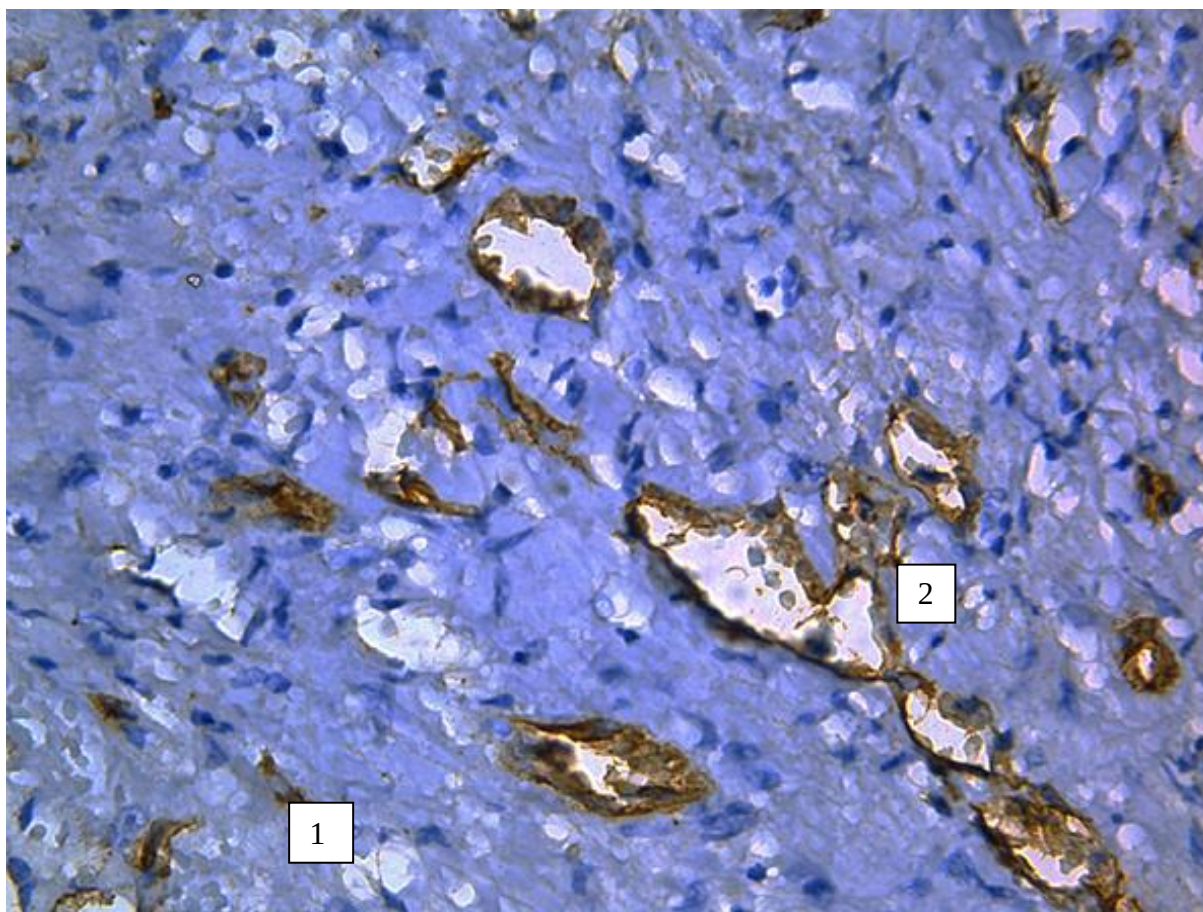
Ще одним варіантом, який спостерігався досить часто, було розміщення CD34+ клітин по периферії часточки або циротичного вузла безпосередньо біля сполучнотканинних септ (рис.4.30). Імовірно, що в такому випадку посилена експресія CD34 відображає перш за все функціональну перебудову мікроциркуляторного русла з шунтуванням крові.



- 1) гепатоцити;
- 2) CD34-позитивні клітини по периферії вузла;
- 3) сполучнотканинні септи з CD34+ судинами.

Рисунок 4.30 – Збільшена кількість CD34+ клітин, які розміщуються по периферії циротичного вузла. Забарвлення на CD34. Збільшення 10x40. Автопсія №138 . Хвора Я. 54 р., жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

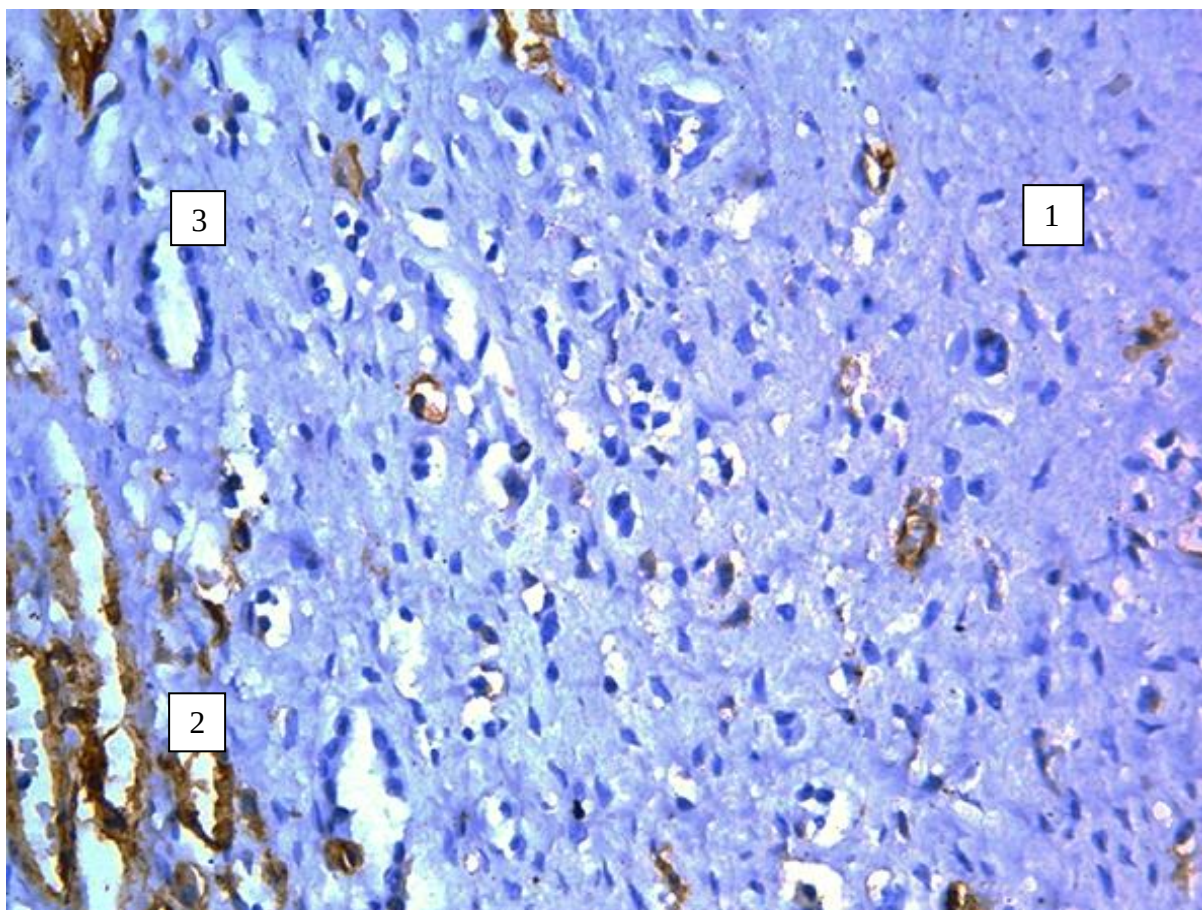
У септах розміщення CD34+ клітин теж було нерівномірним. В частині випадків спостерігалась виражена експресія CD34 майже у всіх судинних просвітах (рис.4.31).



- 1) сполучнотканинна септа ;
- 2) CD34-позитивні клітини у судинах.

Рисунок 4.31 – Експресія CD34 у ендотелії сполучнотканинної септи. Забарвлення на CD34. Збільшення 10х40. Автопсія №404 . Хворий П. 38 р., чол. Діагноз: алкогольний та неалкогольний стеатогепатит (поєднані захворювання)

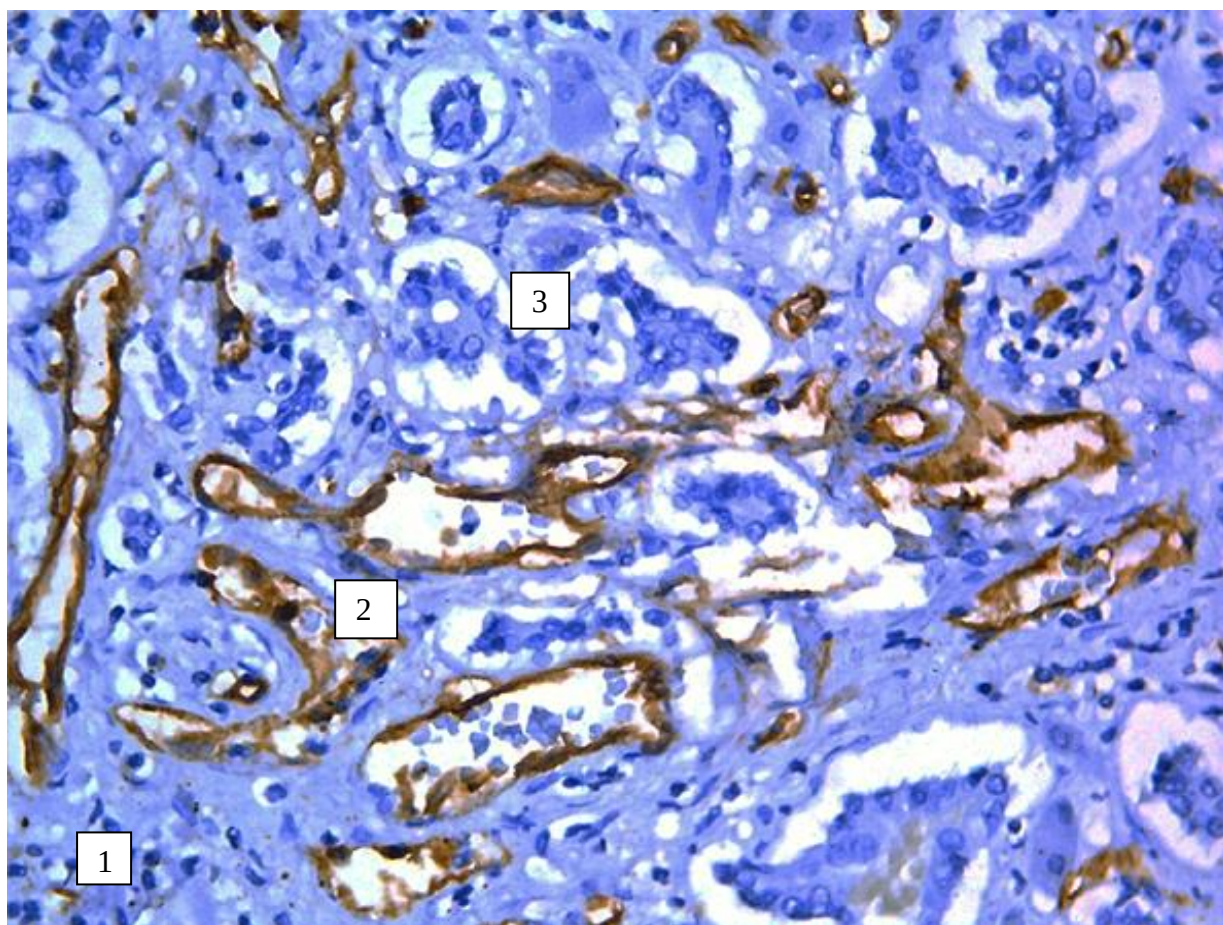
В інших випадках спостерігалась експресія CD34 лише в частині судин септи, що імовірно пов'язано із зрілістю судини та функціональним станом ендотелію (рис. 4.32).



- 1) сполучнотканинна септа;
- 2) CD34-позитивні клітини у судинах;
- 3) судини, в ендотелії яких CD34 не експресований.

Рисунок 4.32 – Експресія CD34 у ендотелії сполучнотканинної септи.
Забарвлення на CD34. Збільшення 10х40. Автопсія №473. Хворий А. 45 р.,
чол. Діагноз: вірусний гепатит С

Часто судини з вираженою експресією CD34 виявлялись в ділянці дуктулярної реакції (рис.4.33).



- 1) сполучнотканинна септа;
- 2) CD34-позитивні клітини у судинах;
- 3) новоутворені дуктули по периферії септи.

Рисунок 4.33 – Експресія CD34 у ендотелії судин сполучнотканинної септи в ділянці дуктулярної реакції. Забарвлення на CD34. Збільшення 10x40.

Автопсія №78Z . Хворий М. 42 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

Дані про рівень кількісних показників ангиогенезу при цирозі, зумовленому різними етіологічними факторами представлені в табл.4.4.

Таблиця 4.4 – Показники ангиогенезу при різних варіантах склерозу: перичелюлярному (ПЦФ), септальному (ПСФ), перидуктальному (ПДФ), ($M \pm s$)

	ПЦФ	ПСФ	ПДФ	P
CD31 (% площа)				
Загальний	0,64±0,097	0,76±0,19	0,51±0,12	P ₁₋₂ =0,152 P ₁₋₃ =0,004 P ₂₋₃ =0,003
Септальний	1,24±0,34	1,83±0,47	1,2±0,48	P ₁₋₂ =0,0016 P ₁₋₃ =0,53 P ₂₋₃ =0,0017
Лобулярний	1,09±0,27	0,84±0,2	0,41±0,16	P ₁₋₂ =0,01 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001
CD34 (% площа)				
Загальний	1,14±0,35	1,44±0,32	1,85±0,3	P ₁₋₂ =0,019 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ =0,037
Септальний	3,06±0,4	3,48±0,35	13,03±0,32	P ₁₋₂ <0,01 P ₁₋₃ =0,005 P ₂₋₃ =0,86
Лобулярний	1,91±0,096	0,95±0,096	0,71±0,066	P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001

Загальна відносна площа, яку займали CD31+ клітини, була найвищою при СС. У групах ПЦФ та ПДФ цей показник був нижчим, 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 відрізнялася саме група ПСФ порівняно з двома іншими. Натомість лобулярний ангиогенез був найвираженішим при ПЦФ, а при ПДФ – знову ж таки найслабшим (відмінності значущі між всіма трьома групами при їх попарному порівнянні). При зіставленні процесів ангиогенезу і фіброгенезу можна вказати на паралелізм лобулярних змін при оцінці їх за середньогруповими значеннями – наприклад, при оцінці кореляції лобулярних CD31+ і α -SMA за кожним препаратом (секцією) –

$r=0,79$, $p<0,001$. Натомість септальний ангиогенез не корелював з процесами септального фіброзу, що вказує на патогенетичну відмінність лобулярних і септальних змін.

При дослідженні відносної площі, яку займали CD34+ клітини, загальний показник був найвищим у групі ПДФ, суто за рахунок відмінності септального показника з великим відривом від двох інших груп – у 4,3 раза порівняно з групою ПЦФ. Не виявлено її певної кореляції з септальним рівнем CD31, хоча є – з септальним фіброзом. На противагу цьому лобулярна експресія CD34 була найвища у групі ПЦФ ($r=0,507$, $p<0,001$ при оцінці кореляції септальних CD34 і α -SMA; відмінності значущі між всіма трьома групами). Лобулярна експресія CD34 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). Отже оцінка ангиогенезу за CD31 та CD34 дає різні значення переважно щодо септальних процесів.

4.3 Ультраструктурні зміни синусоїдних ендотеліальних клітин при прогресуванні процесів репарації та фіброзу

При цирозі печінки спостерігається не тільки утворення нових судин, а і більш складні процеси структурної та функціональної перебудови мікроциркуляторного русла. На даний час оцінити ці зміни, базуючись тільки на імуногістохімічних маркерах, неможливо. Тому в нашій роботі було проведено вивчення ультраструктурних змін СЕК печінки на різних стадіях розвитку хронічних уражень печінки, зумовлених алкогольним та неалкогольним стеатогепатитом [234].

Для цього було досліджено десять біопсійних випадків хворих із стеатогепатитом, які проходили лікування у терапевтичному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні. Поділ на групи проводився після дослідження препаратів, забарвлених гематоксилін-еозином і базувався на

критеріях, розроблених авторами (додаток 2), які враховували модифіковані критерії Brunt E.M., 2010 та METAVIR, 1994 [200,201]:

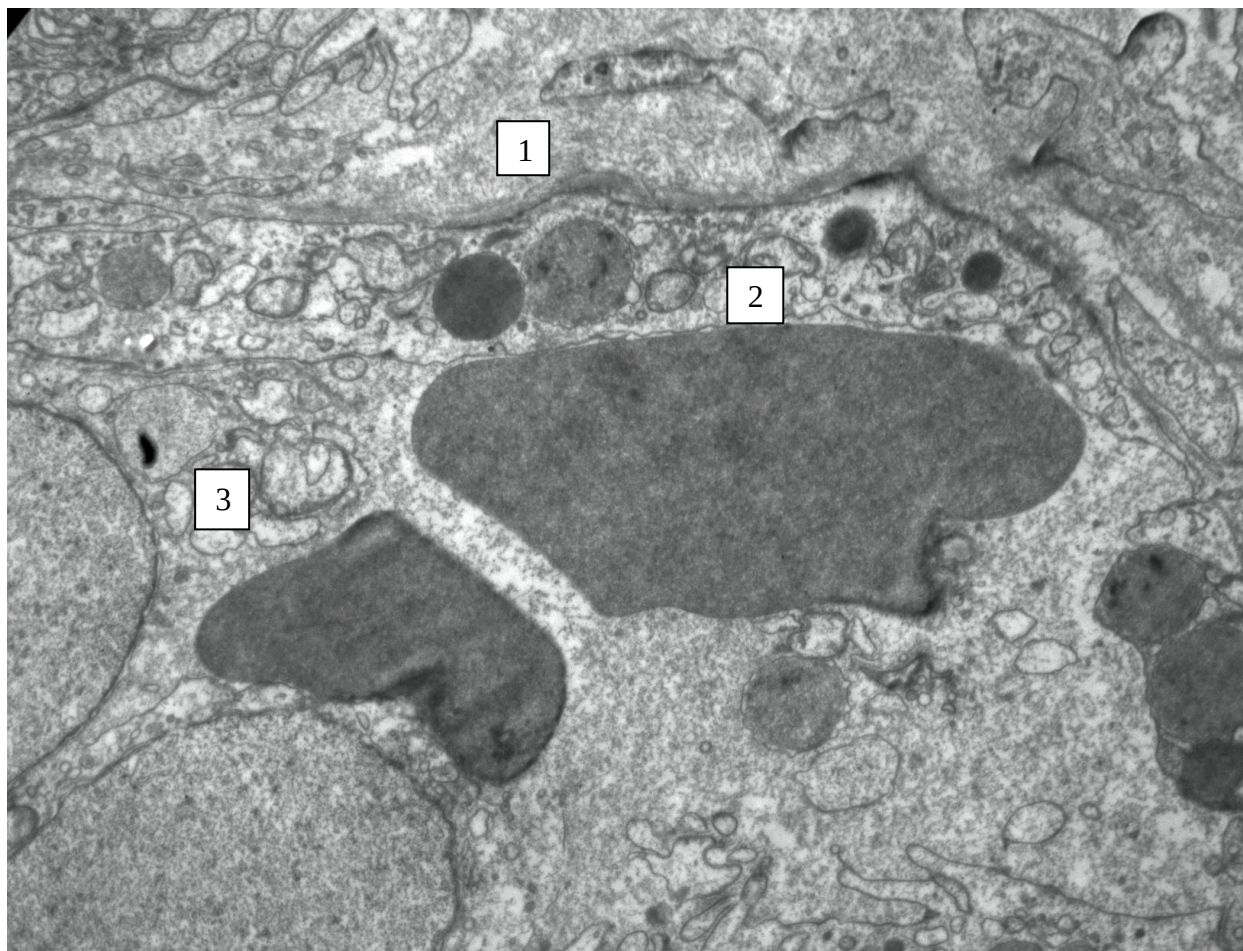
Таблиця 4.5 – Загальна характеристика пацієнтів досліджуваної групи

Параметр	Стеатогепатит (n=6)	Цироз (n=4)
Стать (Ч/Ж)	4/2	2/2
Вік (M±s)	58 ± 2,5	61 ± 1,8
Захворювання (n)		
АСГ	3	2
НАСГ	3	2
Ступінь активності (n)		
1	-	-
2	2	1
3	4	3
Ступінь тканинної реорганізації (n)		
1	-	-
2	6	-
3	-	4

При описі ультраструктурних змін ми використовували поняття дисфункції та пошкодження ендотелію. Термін «дисфункція» зазвичай вживається для опису стану ендотеліоцитів, для якого характерним є зміна нормальної функції - порушення балансу між факторами вазоконстрикції та вазодилатації, факторами росту та його пригнічення, про- та антиатерогенними, про- та антикоагулянтними факторами. Термін «пошкодження» вживається переважно, якщо відмічаються значні, незворотні ураження клітин, які можуть призводити до наступного оголення підлягаючого позаклітинного матриксу або оклюзії просвіту судини.

У шістьох хворих із стеатогепатитом спостерігались ознаки дисфункції ендотеліальних клітин – ускладнення конфігурації цитолемі: люмінальної поверхні внаслідок появи складок, виступів та міхурів, а також значного збільшення кількості мікрворсинок в ділянці перикаріона та вздовж

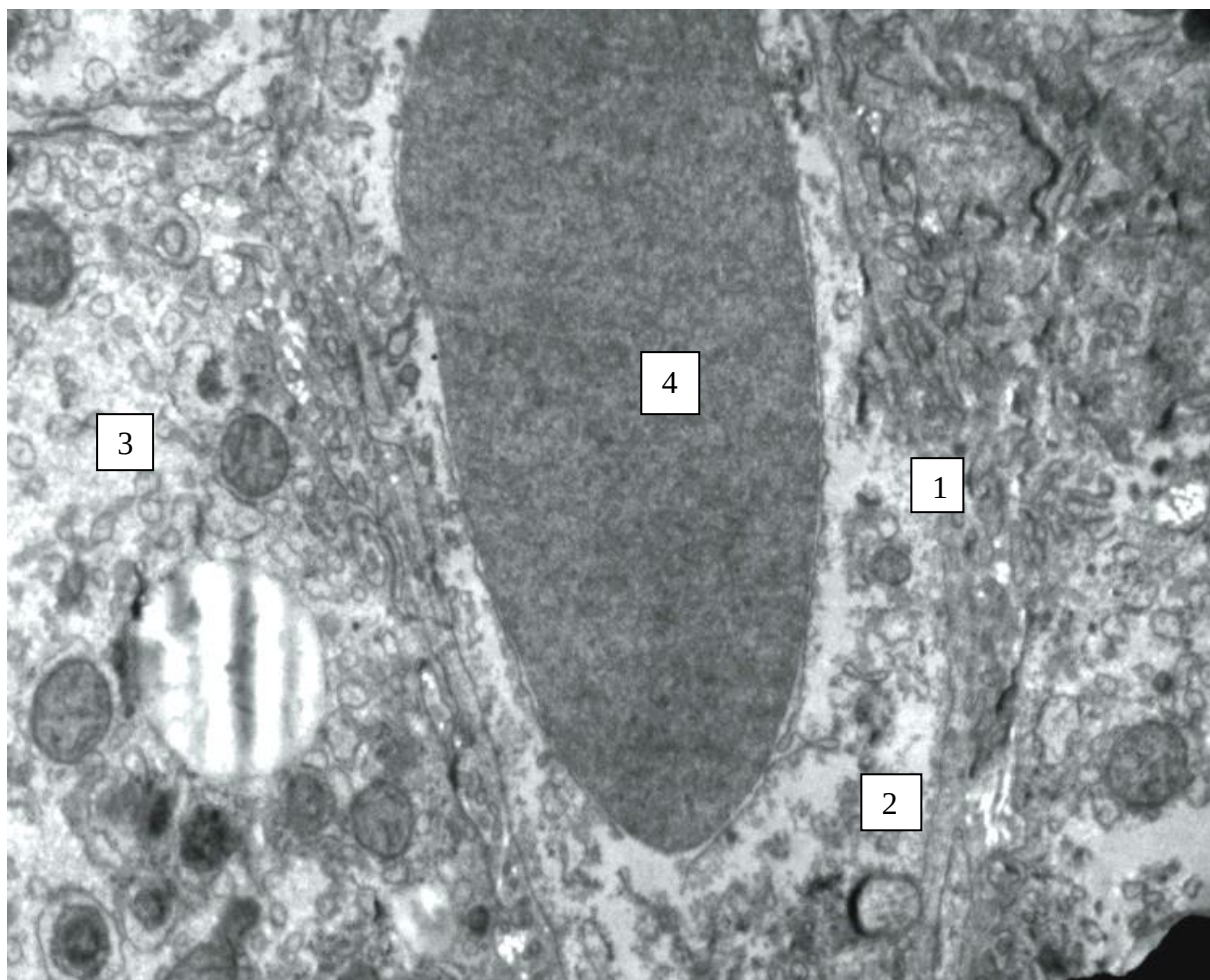
міжклітинних контактів, збільшення кількості міковезикул, розходження міжендотеліальних контактів при ретракції периферійних ділянок клітин (рис.4.34).



- 1) розширення простору Діссе;
- 2) гіперплазія органел, включаючи первинні та вторинні лізосоми;
- 3) фрагменти синусоїдної ендотеліальної клітини, оточені плазматичною мембраною (клазматоз), та еритроцити у просвіті синусоїда.

Рисунок 4.34 – Синусоїдна ендотеліальна клітина з ультраструктурними ознаками незначної дисфункції. Електронограма. Збільшення x4500. Біопсія № 1251. Хворий К.57р. Діагноз: алкогольний стеатогепатит

У деяких клітинах виявлялись відшнуровання ворсиноподібних виступів (мікроклазматоз), пониження щільності цитоплазматичного матриксу, розправлення контурів цитоплазми та зменшення ступеня везикуляції (рис.4.35).

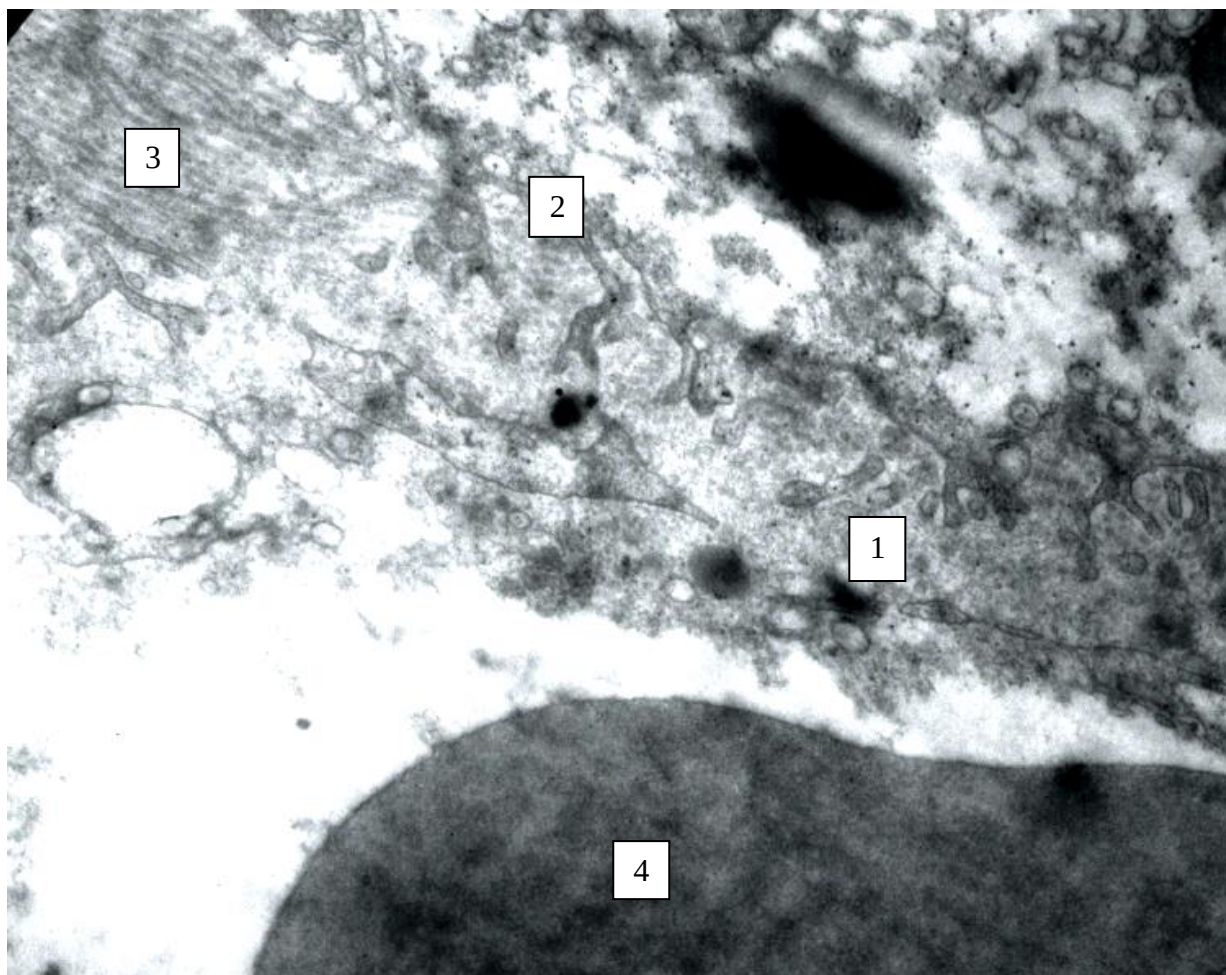


- 1) фрагментація люмінальної плазматичної мембрани;
- 2) органели з альтеративними змінами у просвіті синусоїда;
- 3) прилягаючі гепатоцити звичайної будови;
- 4) еритроцит у просвіті синусоїда.

Рисунок 4.35 – Синусоїдна ендотеліальна клітина з ознаками вираженої дисфункції. Електронограма. Збільшення x4500. Біопсія № 1318. Хворий М.55р. Діагноз: алкогольний стеатогепатит

Виявлені зміни свідчать про неоднорідний функціональний стан синусоїдних ендотеліоцитів, серед яких деякі мають ознаки гіперфункції, а деякі знаходяться в стані спокою або пониженої функціональної активності.

Зміни, виявлені у чотирьох хворих з цирозом представлені на рис.4.36.

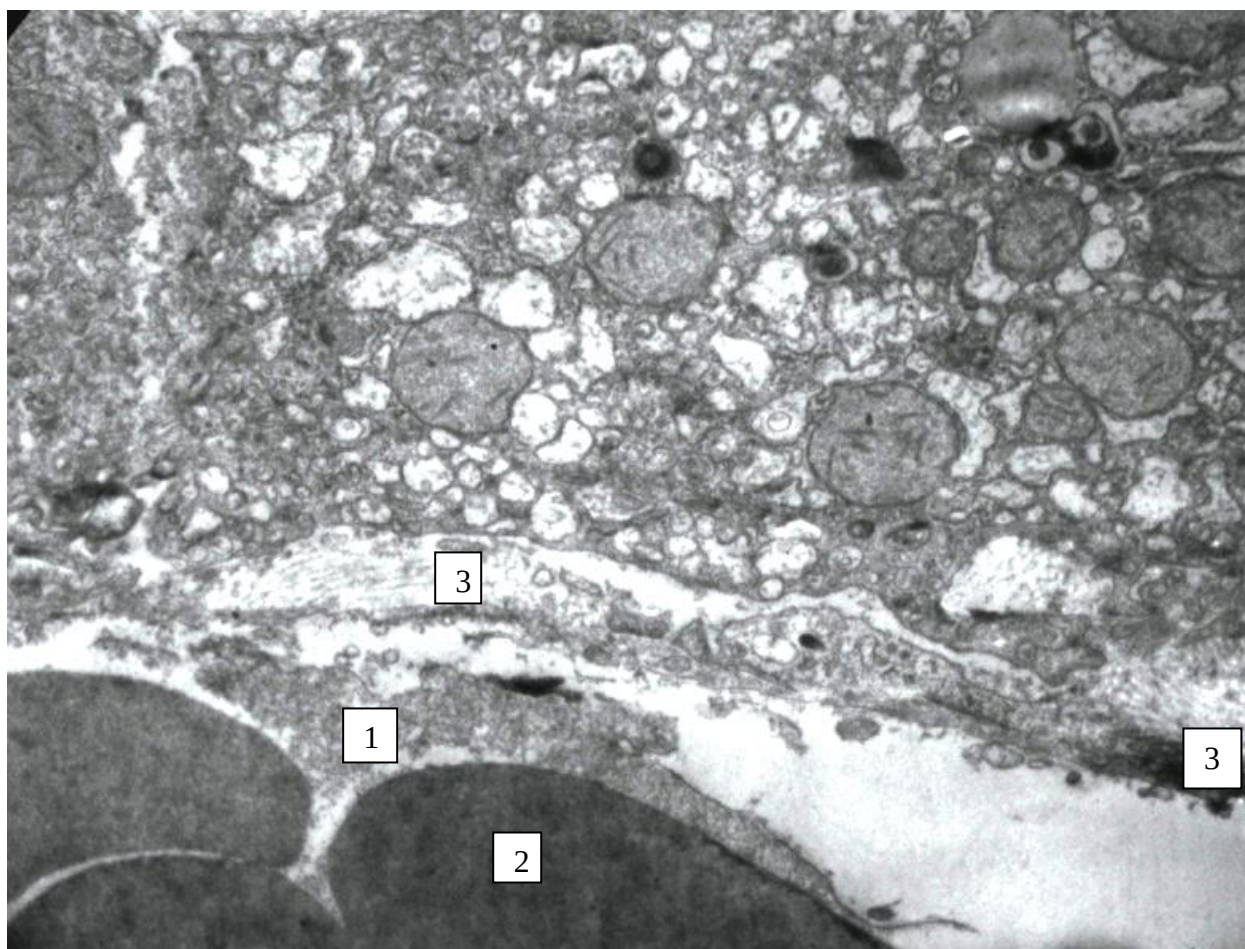


- 1) елементи деструктивно зміненої ендотеліальної клітини;
- 2) відростки колаген-утворюючої клітини у просторі Діссе;
- 3) невпорядковано розміщені пучки фібрил колагену;
- 4) еритроцит у просвіті синусоїда.

Рисунок 4.36 – Пошкоджена синусоїдна ендотеліальна клітина у ділянці склерозу. Електронограма. Збільшення x9000. Біопсія № 1856.

Хворий Х.52р. Діагноз: алкогольний стеатогепатит на стадії цирозу

У цих випадках спостерігались ознаки гіпофункції та глибокі альтеративні зміни СЕК, які асоціювались з вогнищевим нагромадженням колагенових фібрил у просторі Діссе (рис.4.37).



1) дрібні фрагменти ендотеліальної клітини (детрит) у просвіті синусоїда;

2) еритроцити серед мас детриту;

3) вогнища колагенізації у просторі Діссе

Рисунок 4.37 – Синусоїдна ендотеліальна клітина з ознаками вираженого пошкодження. Електроннограма. Збільшення x6000. Біопсія № 1324. Хворий К.49р. Діагноз: алкогольний стеатогепатит на стадії цирозу

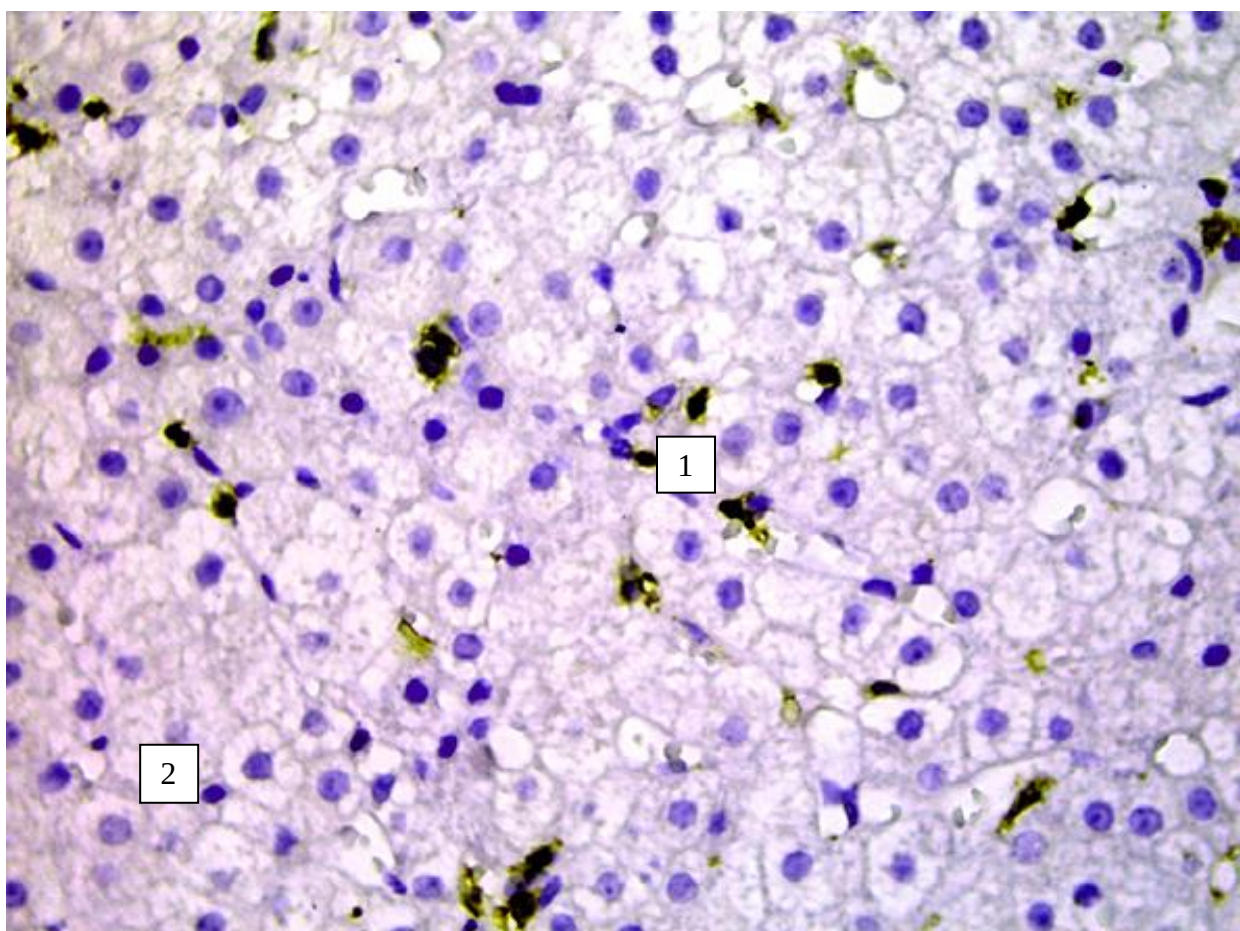
У частині клітин виявлялось значне пониження електронної щільності цитоплазми внаслідок надмірної гідратації та/або втрати значної кількості клітинної речовини, в інших – явища пікнотичного ущільнення цитоплазми та витончення тіла клітини. Місцями в просвітах синусоїдів виявлявся клітинний детрит (рис.4.37).

Таким чином більшість ендотеліоцитів мають ознаки дисфункції, серед яких переважають прояви пониженої функціональної активності та пошкодження різного ступеня розвитку та інтенсивності.

4.5 Морфологічні особливості процесів, асоційованих із репарацією та фіброзом

Центральну роль у ініціації процесів загоєння та репарації відіграють клітини макрофагального ряду. Вони виділяють основні цитокіни, необхідні для активації та подальшої підтримки процесів фіброгенезу, ангиогенезу та регенерації. Тому в нашому дослідженні були проаналізовані морфологічні особливості даної клітинної популяції. Основним маркером був CD68, який виявляє компоненти гранул у більшості субпопуляцій макрофагів. Використання лише одного маркера можна розцінювати як обмеження нашого дослідження, оскільки добре відомо, що існує декілька субпопуляцій цих клітин з різною функціональною активністю. Але ми вважали, що інформативним буде навіть кількісна оцінка всієї популяції клітин – професійних фагоцитів.

В більшості випадків спостерігалась помірна кількість CD68+клітин, які всередині часточок та вузлів імовірно були представлені переважно КК (рис.4.38).

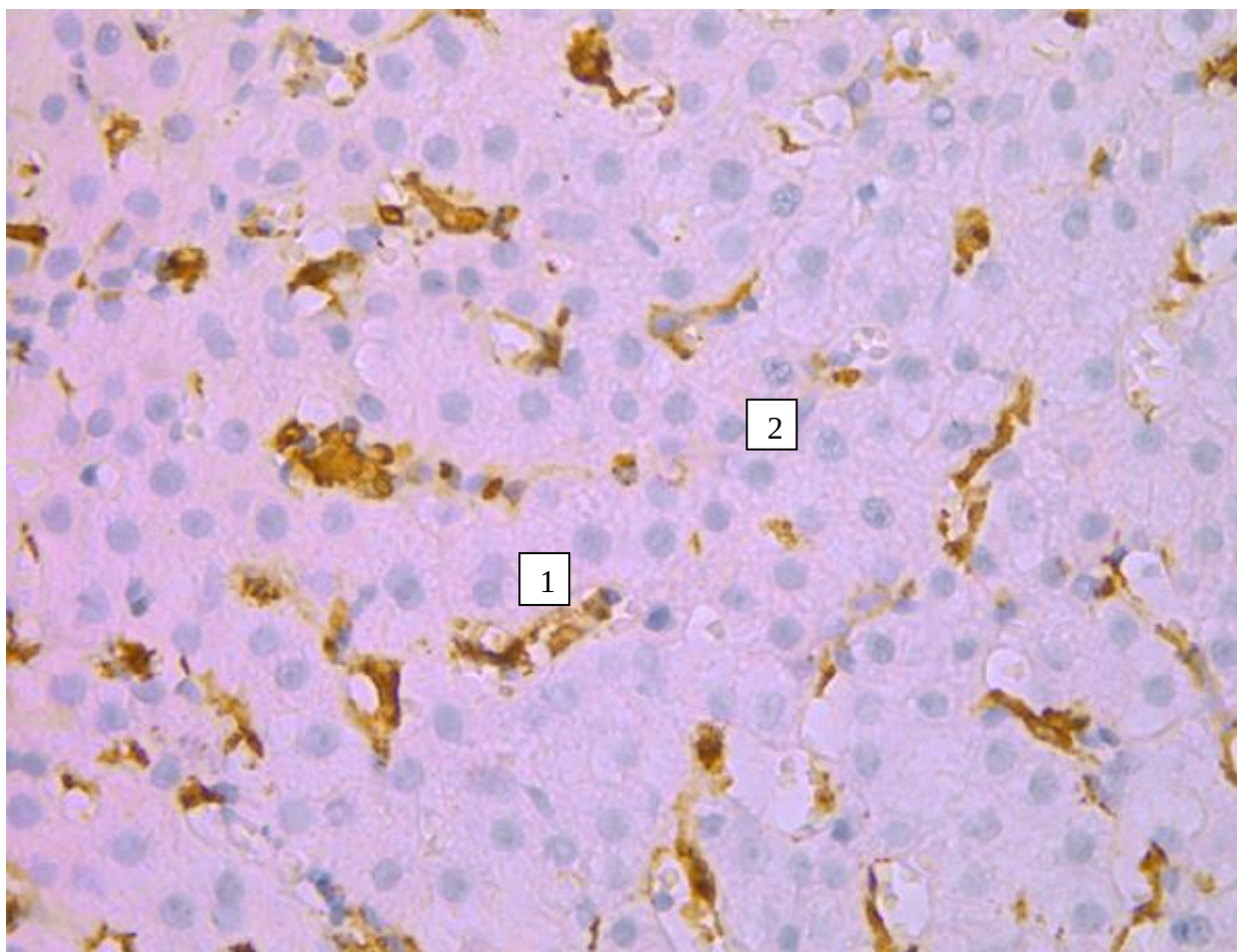


1) CD68+ клітини розміщені по ходу синусоїдів;

2) гепатоцити.

Рисунок 4.38 – CD68+ клітини у складі паренхіматозного вузла.
Забарвлення на CD68. Збільшення 10x40. Автопсія №138 . Хвора Я. 54 р.,
жін. Діагноз: неалкогольний стеатогепатит

В інших випадках кількість інтралобулярних CD68+ клітин була значно більшою (рис.4.39).

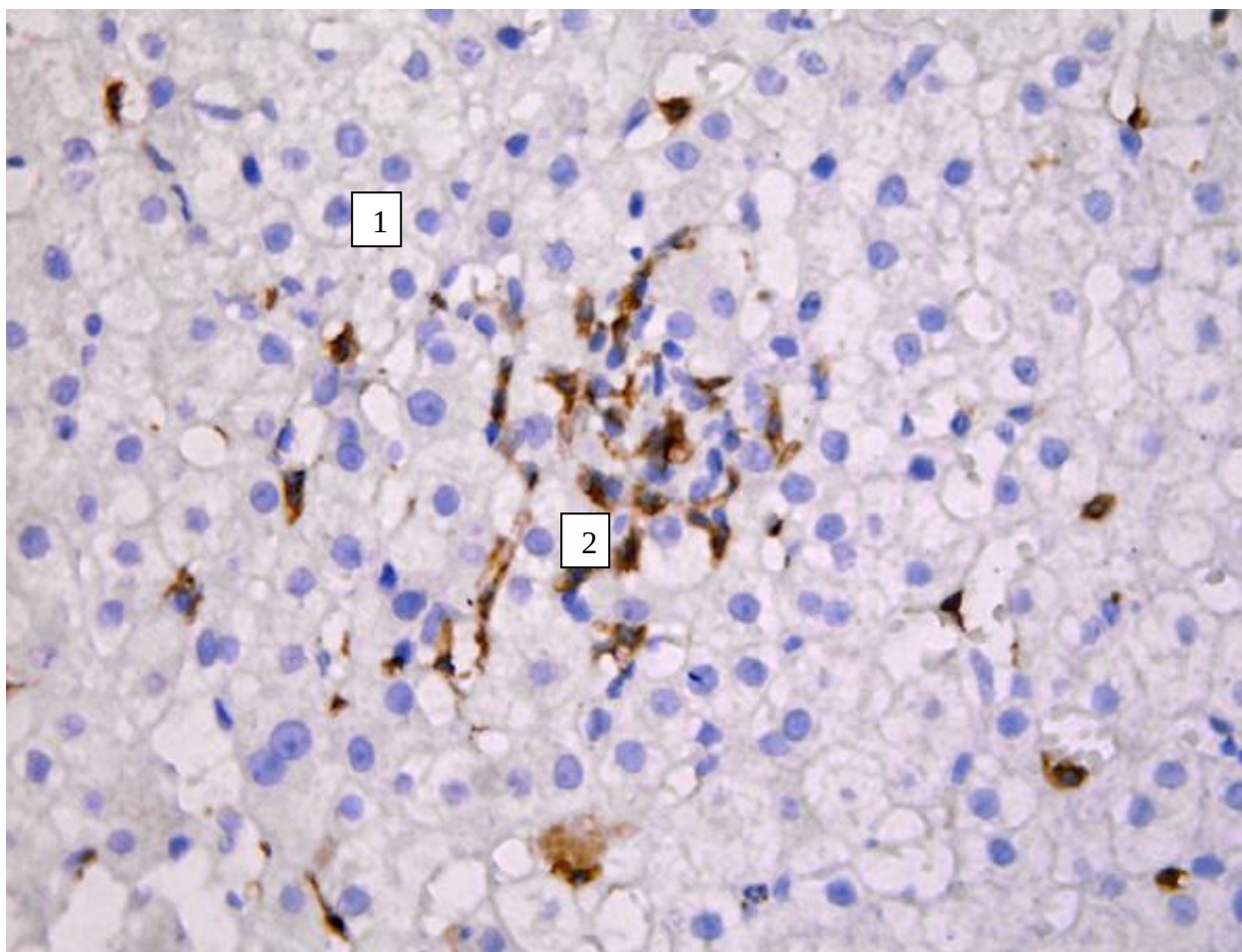


1) множинні CD68+ клітини розміщені по ходу синусоїдів;

2) гепатоцити.

Рисунок 4.39 – Збільшення кількості CD68+ клітини у складі паренхіматозного вузла. Забарвлення на CD68. Збільшення 10x40. Автопсія №78Z . Хворий М. 42 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

Іноді спостерігалось вогнищеве інтралобулярне скупчення CD68+ клітин, асоційоване з апоптозом гепатоцитів (рис.4.40).

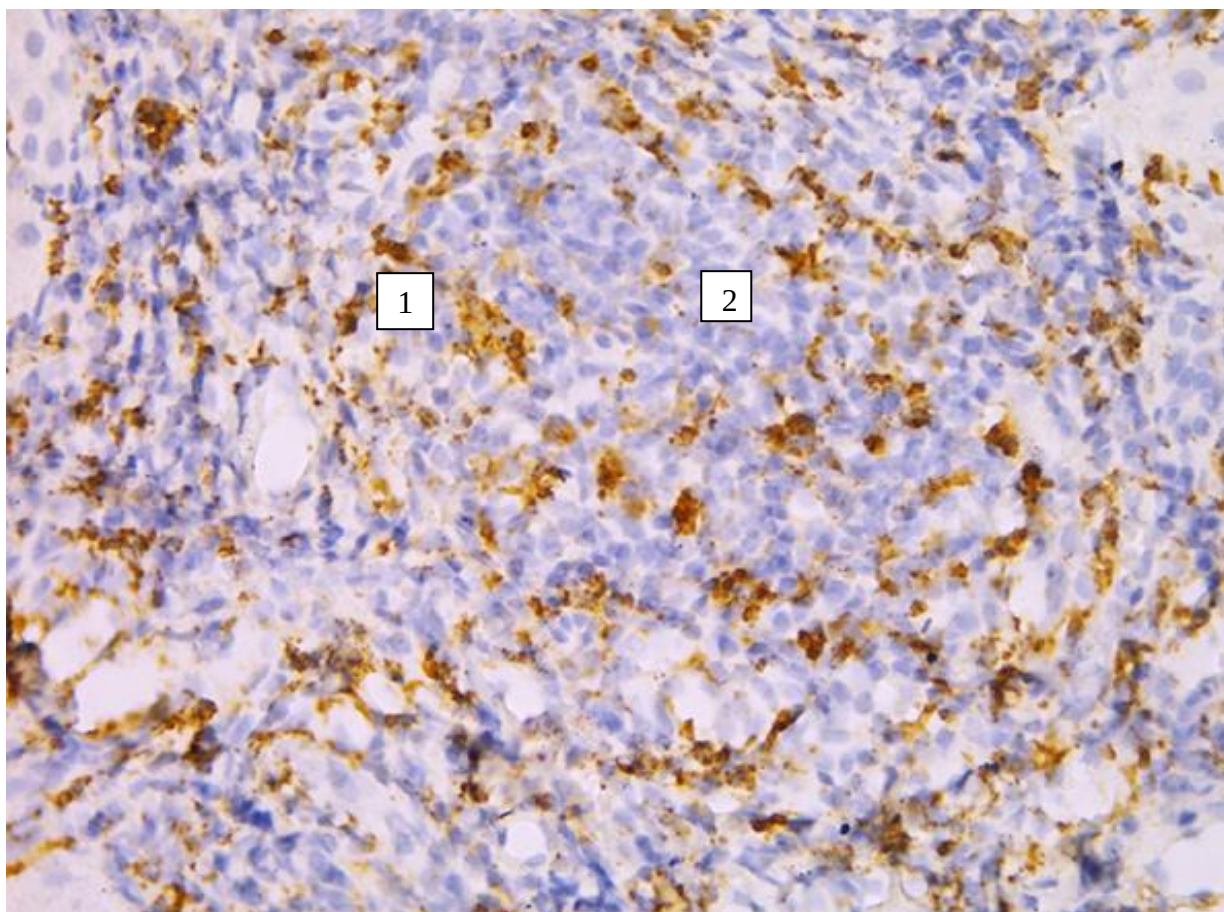


1) CD68+ клітини розміщені на місці загиблих гепатоцитів;

2) гепатоцити з ознаками пошкодження.

Рисунок 4.40 – Вогнищеве скупчення CD68+ клітини у складі паренхіматозного вузла. Забарвлення на CD68. Збільшення 10x40. Автопсія №202. Хворий М. 49 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

CD68+ клітини виявлялись також у складі сполучнотканинних септ у складі більш або менш вираженого запального інфільтрату (рис.4.41).



1) CD68+ клітини;

2) значний мононуклеарний інфільтрат.

Рисунок 4.41 – Значна кількість CD68+ клітини у складі сполучнотканинної септи. Забарвлення на CD68. Збільшення 10х40. Автопсія №128 . Хворий В. 41 р., чол. Діагноз: алкогольний стеатогепатит та вірусний гепатит С (поєднані захворювання)

Дані про рівень кількісних показників макрофагальної інфільтрації при різних патогенетичних варіантах склерозу представлені в табл.4.8.

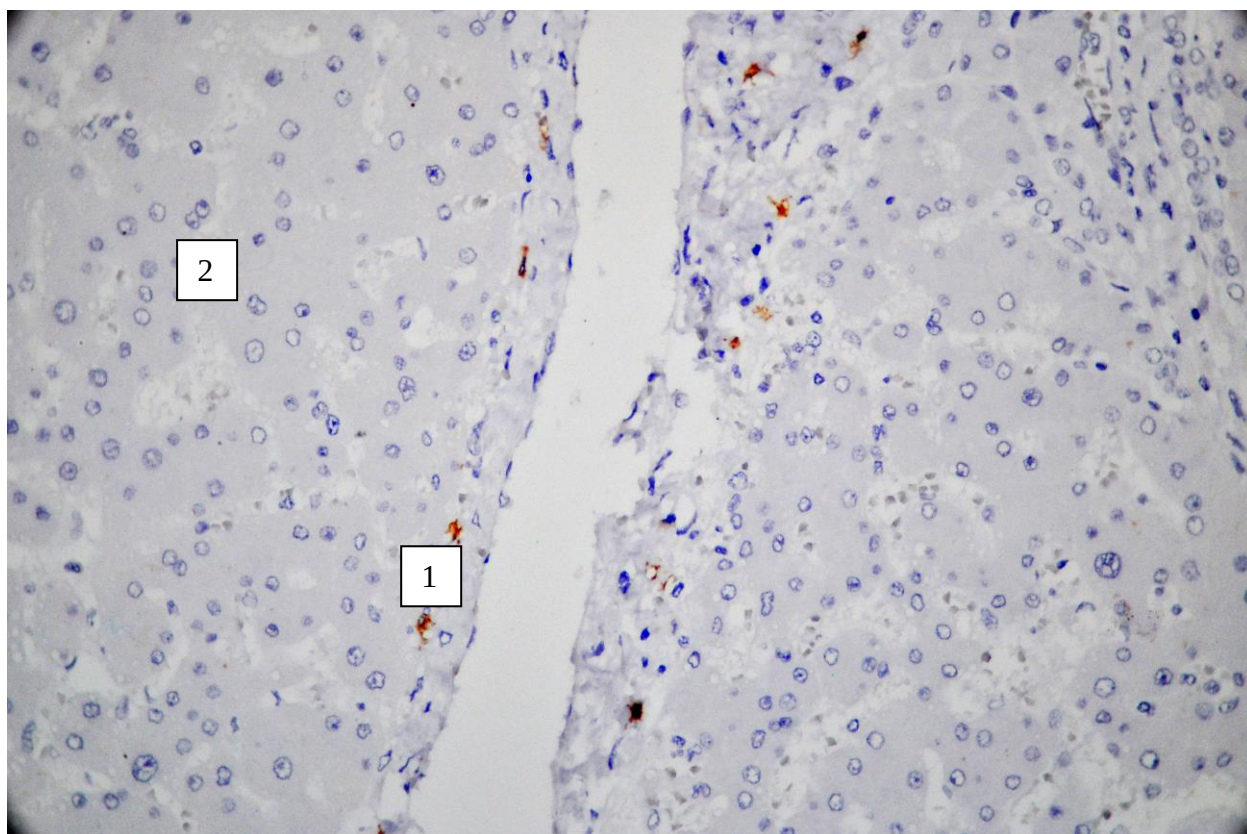
Таблиця 4.8 Показники макрофагальної інфільтрації при різних варіантах фіброзу: перицелюлярному (ПЦФ), септальному (ПСФ), перидуктальному (ПДФ), ($M \pm s$)

	ПЦФ	ПСФ	ПДФ	P
CD68 (% площа)				
Загальний	1,09 $\pm$ 0,08	0,81 $\pm$ 0,08	1,07 $\pm$ 0,08	$P_{1-2} < 0,05$ $P_{1-3} > 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$

Оскільки всі субпопуляції клітин макрофагального ряду були задіяні у процес, лобулярні та септальні показники не визначались.

При аналізі значень відносної площі, яку займали CD68+ клітини макрофагального ряду, було виявлено, що загальний показник був найнижчим при ПСФ без значущої відмінності між групами ПЦФ та ПДФ. Якщо спробувати оцінювати його кореляцію з іншими характеристиками, то здавалося б, що це відповідає особливостям експресії загального і септального CD31, однак оцінка кореляцій по окремих клінічних випадках взагалі не виявив жодних кореляцій цієї характеристики з іншими, що свідчить про окремішність вираженості макрофагальної інфільтрації від ангиогенезу і фіброзу.

Результати нашого дослідження показали, що CD117+ клітини виявлялись переважно у септальному компартменті, в більшості випадків у пограничній ділянці між паренхімою та стромою (рис.4.42) .



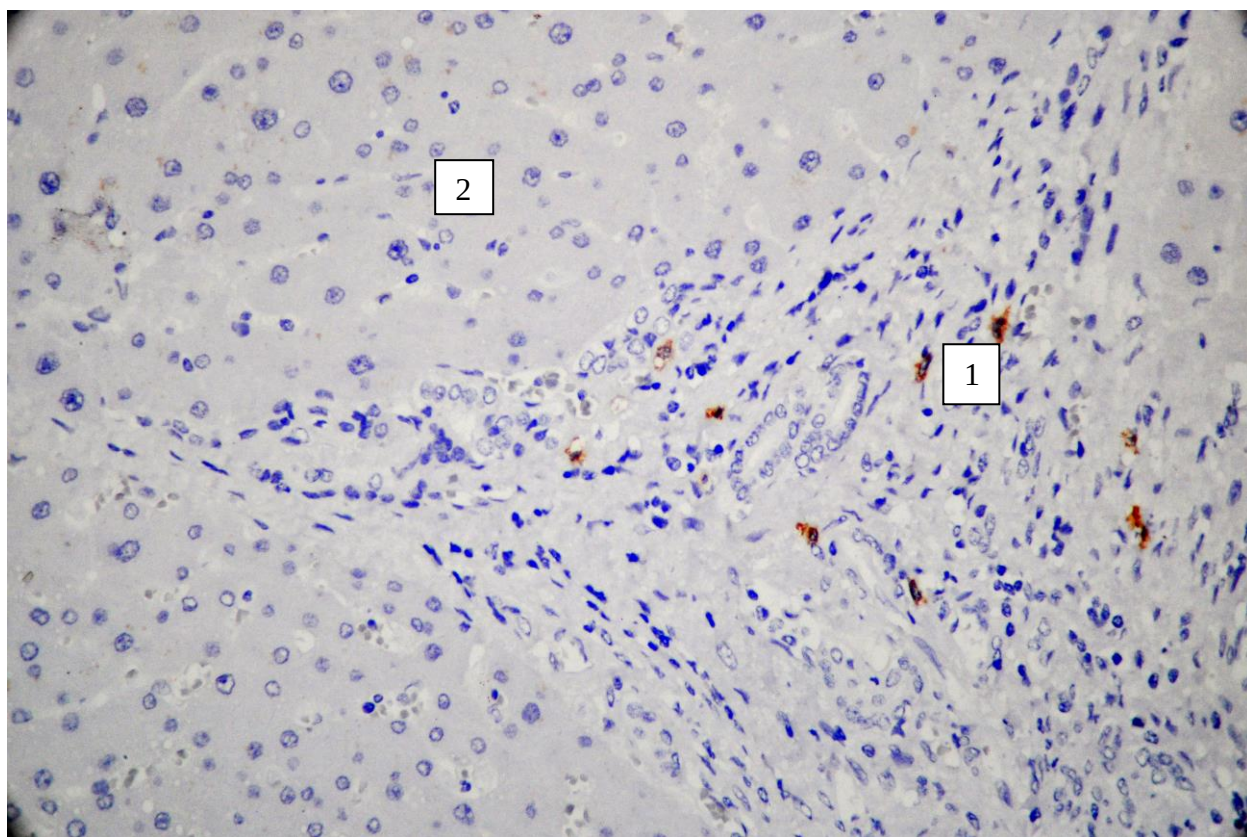
- 1) CD117+ клітини розміщені на межі з пограничною пластинкою;
- 2) гепатоцити.

Рисунок 4.42 – CD117+ клітини на межі між септою та паренхіматозними елементами. Забарвлення на CD117. Збільшення 10x40.

Автопсія №202. Хворий М. 49 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

При цьому не було виявлено залежності від розміщених поруч або відсутніх елементів дуктулярної реакції, а також від вираженості фіброзу (товщини сполучнотканинних септ).

В частині випадків CD117+ клітини виявлялись в товщі сполучнотканинних септ (рис.4.43).



1) CD117+ клітини розміщені інтрасептально;

2) гепатоцити .

Рисунок 4.43 – CD117+ клітини розміщені у товщі сполучнотканинної септи. Забарвлення на CD117. Збільшення 10х40. Автопсія №202. Хворий М. 49 р., чол. Діагноз: вірусний гепатит С

В таких випадках CD117+ клітин розміщувались переважно поодиночі, хаотично (часто приблизно на однаковій відстані одна від одної) і не асоціювались з іншими гістологічними структурами (дугулами, судинами МЦР).

Для кількісної характеристики досліджуваних клітин більшість авторів застосовували підрахунок CD117+ клітин у одному полі зору на великому збільшенні. Ми віддали перевагу морфометричному аналізу з визначенням відносного показника – % площі, яку займають дані клітини. Результати порівняння цього показника у досліджуваних групах представлені у табл.4.8.

Таблиця 4.8 Показники CD117+ клітин при різних варіантах фіброзу: перицелюлярному (ПЦФ), септальному (ПСФ), перидуктальному (ПДФ), ($M \pm s$)

	ПЦФ	ПСФ	ПДФ	P
CD117 (% площа)				
Загальний	2,13 $\pm$ 0,04	2,02 $\pm$ 0,04	1,16 $\pm$ 0,05	P ₁₋₂ >0,05 P ₁₋₃ < 0,01 P ₂₋₃ <0,01

Найвищий показник CD117 виявлявся у групі ПЦФ (2,13 $\pm$ 0,04), а найнижчий – у групі ПДФ (1,16 $\pm$ 0,05); відмінності між досліджуваними групами були значущими.

4.6 Морфогенетичні варіанти репарації та фіброзу

Для визначення закономірностей морфогенезу процесів репарації при різних варіантах фіброзу було проаналізовано корелятивні зв'язки між виявленими показниками (рис. 4.44).

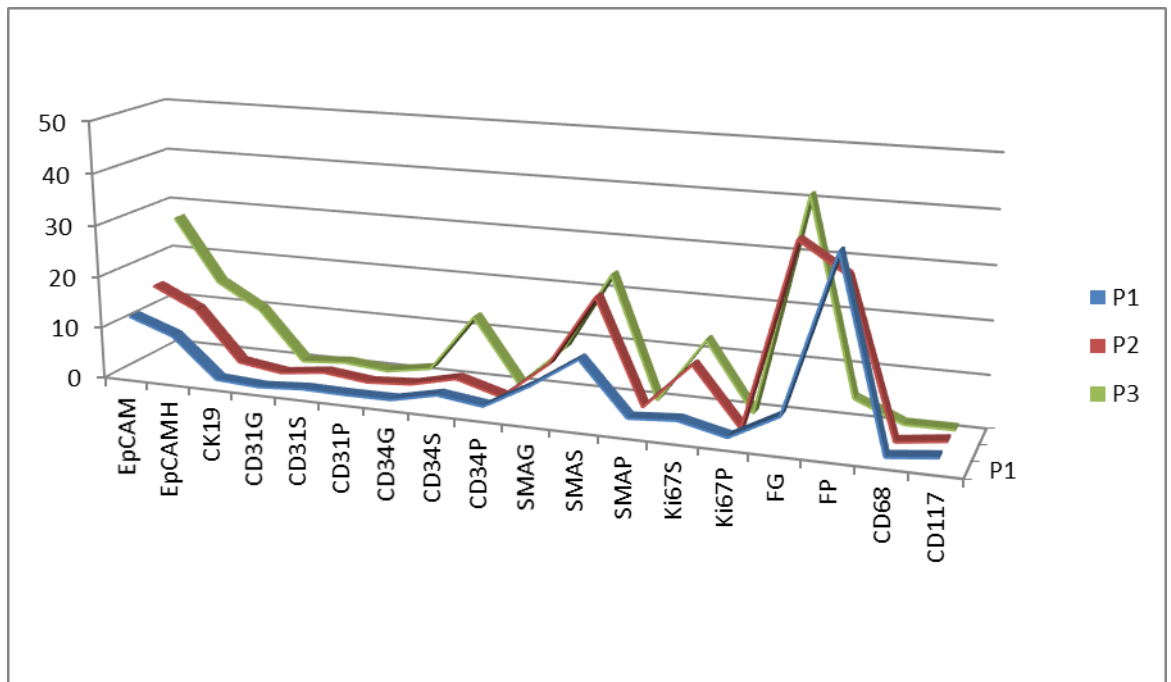


Рисунок 4.44 – Характеристика основних показників при різних морфогенетичних варіантах репарації: P1, P2 та P3

Одержані результати показали наявність спільних тенденцій при оцінці кореляції показників репаративної регенерації (EpCAM, EpCAMH та CK19) з іншими характеристиками (табл.4.9). Так, для CK19 було виявлено значуща пряма кореляція з вираженістю більшості септальних (α -SMAS: $r=0,6899$, $p=0,001$; Ki67S: $r=0,7251$, $p=0,000$; CD34S: $r=0,2878$, $p=0,055$) і загальних процесів (FG: $r=0,6987$, $p=0,000$; α -SMAG: $r=0,6257$, $p=0,000$, CD34G: $r=0,6428$, $p=0,000$). Що ж до лобулярних змін – спостерігалась обернена кореляція (α -SMAP: $r= -0,9513$, $p=0,000$; CD31P: $r= -0,7542$, $p=0,00$; CD34P: $r= -0,7003$, $p=0,00$; Ki67P: $r= -0,5705$, $p=0,00$). Загалом, відмінності за цією характеристикою між групами відповідали відмінностям у вираженості септального фіброзу і септального ангіогенезу за CD34.

Таблиця 4.9 – Кореляція значень ЕрСAМ, ЕрСАМН та СК19 з іншими показниками

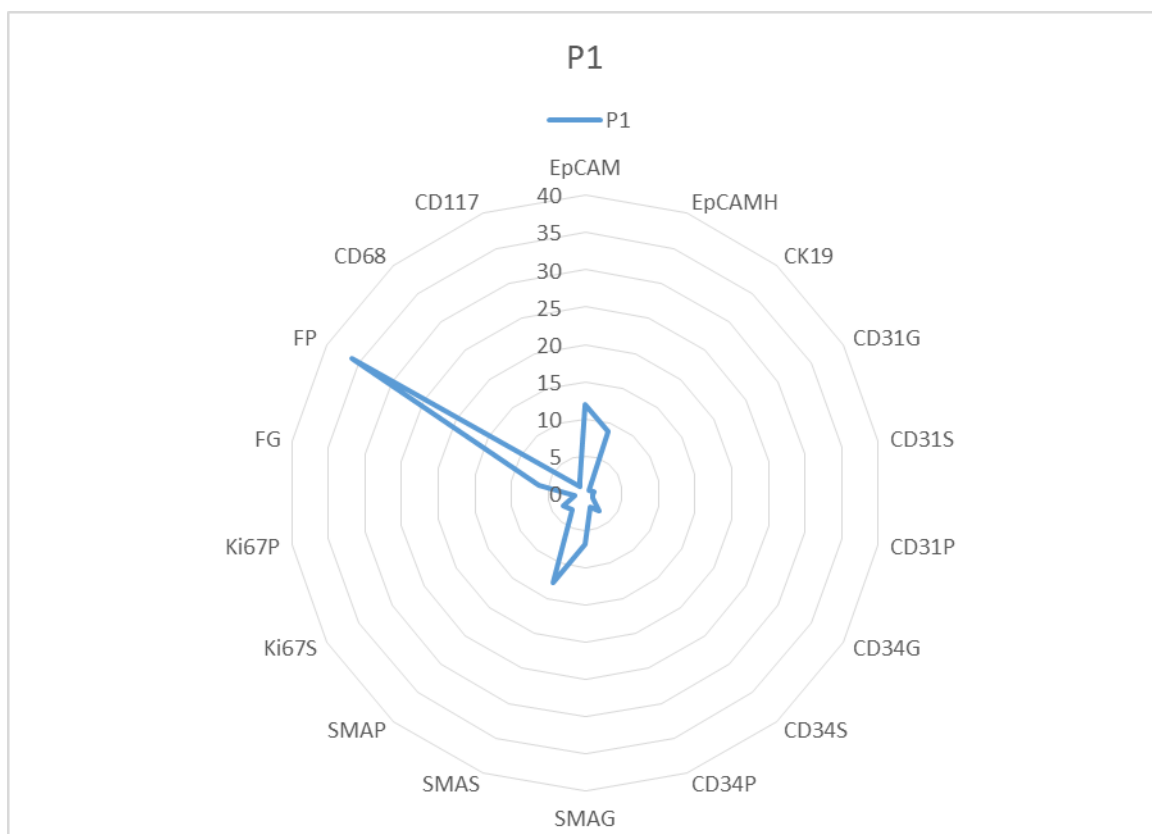
Показник	ЕрСАМ		ЕрСАМН		СК19	
	R	p	r	p	R	p
CD31G	-0,44	0,002206	-0,33	0,026584	-0,4772	0,001
CD31P	-0,79	7,09E-11	-0,79	1,2E-10	-0,7542	0,000
CD31S	-0,18	0,232642	-0,44	0,798533	-0,2564	0,089
CD34G	0,67	6,28E-07	0,69	2,08E-07	0,6428	0,000
CD34P	-0,80	2,86E-11	-0,02	1,08E-18	-0,7003	0,000
CD34S	0,36	0,015671	0,42	0,003856	0,2878	0,055
α -SMA _G	0,68	2,33E-07	0,75	3,13E-09	0,6257	0,000
α -SMA _P	-0,99	0	-0,98	0	-0,9513	0,000
α -SMA _S	0,80	6,43E-11	0,91	1,82E-18	0,6899	0,000
CD68	0,08	0,610798	0,01	0,957211	0,1517	0,320
CD117	-0,92	3,66E-19	-0,86	3,16E-14	-0,6703	0,000
Ki67 _P	-0,69	1,35E-07	-0,84	4,4E-13	-0,5705	0,000
Ki67 _S	0,82	3,67E-12	0,93	1,5E-20	0,7251	0,000
FG	0,80	5,76E-11	0,92	1,46E-18	0,6927	0,000
FP	-0,998	0	-0,96	8,42E-25	-0,9905	00,00

Одержані результати показали наявність однозначного паралелізму експресії маркерів фіброгенезу та протилежність вираженості цих процесів у септальному і лобулярному компартментах (рис. 4.44). При зіставленні процесів ангіогенезу і фіброгенезу можна вказати на паралелізм лобулярних змін при оцінці їх за середньогруповими значеннями. Натомість септальний ангіогенез не корелював з процесами септального фіброзу, що вказує на патогенетичну відмінність лобулярних і септальних змін. Оцінка кореляцій CD68 по окремих клінічних випадках взагалі не виявив жодних зв'язків цієї характеристики з іншими, що свідчить про окрему роль вираженості макрофагальної інфільтрації незалежну від особливостей ангіогенезу і фіброгенезу.

Проведений аналіз показав, що виділені варіанти склерозу асоціюються з низкою інших морфологічних проявів процесів загоєння та репарації.

Виявлені співвідношення стали підґрунтям для виділення морфогенетичних варіантів репарації: P1, P2 та P3 [236-239].

При морфогенетичному варіанті репарації 1 типу (P1) перицелюлярний фіброз (рис.4.45) асоціювався з найнижчими з досліджуваних груп показниками репаративної регенерації (EpCAMG, EpCAMH та CK19).



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.

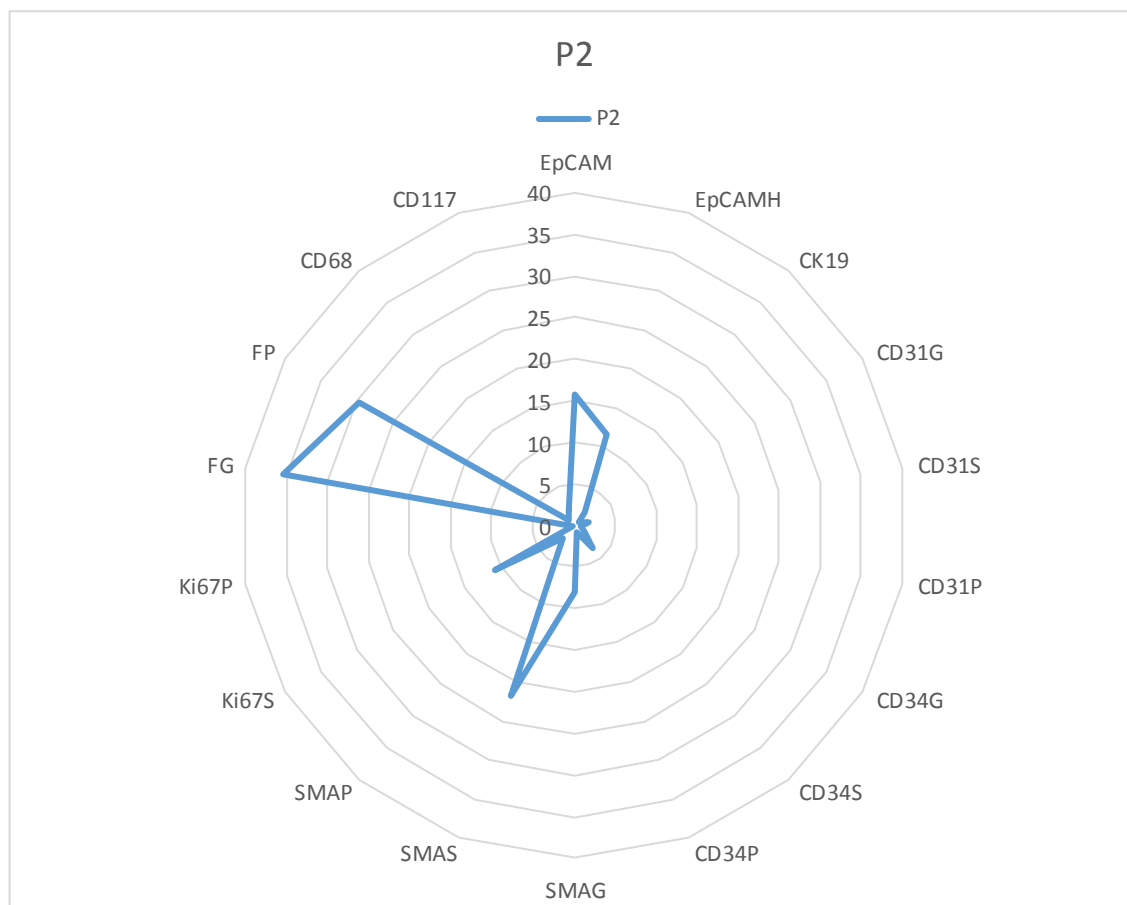
Рисунок 4.45 – Характеристика морфометричних показників фіброзу і репарації при P1

При цьому EpCAM+ гепатоцити виявлялись у паренхіматозному компартменті у вигляді невеликих груп та поодиноких клітин. Що ж до

CK19, то його значення було значуще нижчим, ніж при P3 і відрізнялось за локалізацією – клітини з «біліарним фенотипом» розміщувались дифузно у товщі септ. Показники фіброгенезу та ангіогенезу були високими у лобулярному компартменті. Значення FP, α -SMA_P, Ki67_P, CD31_P та CD34_P були значуще вищими, ніж при P2 та P3. Загальні (α -SMA_G, CD31_G та CD34_G) та септальні (α -SMA_S, Ki67_S, CD31_S та CD34_S) показники фіброгенезу та ангіогенезу навпаки були значуще нижчими, ніж при інших варіантах.

При морфогенетичному варіанті репарації 2 типу з переважанням септального фіброзу (рис. 4.46) більшість показників займали проміжне положення між такими ж з двох інших варіантів – P1 та P3.

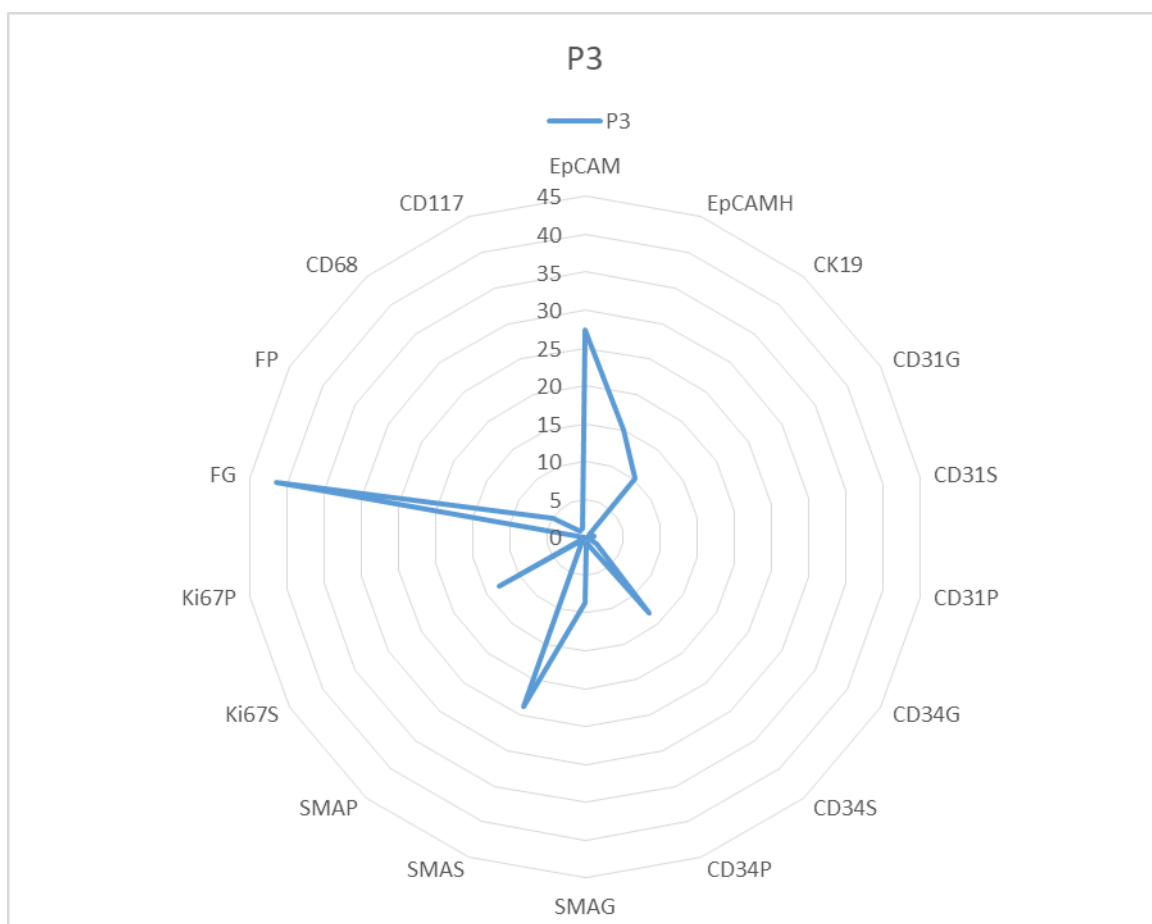
При цьому показники репаративної регенерації та ангіогенезу EpCAM_G, EpCAM_H, CK19, CD31_S, CD34_S, CD34_P та FP були ближчими до значень цих показників в групі P1. Стосовно гістотопографічних особливостей: CK19⁺ клітини виявлялись дифузно по всій септі, а EpCAM⁺ гепатоцити спостерігались у різних відділах лобулярного компартменту у вигляді невеликих груп. В той же час значення α -SMA_G, α -SMA_S, Ki67_S, Ki67_P, FG, CD34 були ближчими до значень таких же показників при P3. Водночас для цієї групи була виявлена значуща відмінність для більшості значень показників фіброгенезу, ангіогенезу та репаративної регенерації. Виключення складають лише наступні: для Ki67_P такої відмінності не було виявлено в порівнянні з групою P3, $p=0,41$; для CD31_S ($p=0,53$) та CD34_S ($p=0,86$) з групою P1; для CK19 з групою P1 ($p=0,152$).



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 4.46 – Характеристика морфометричних показників фіброзу і репарації при P2

При морфогенетичному варіанті репарації 3 типу (P3) (рис. 4.47) показники репаративної регенерації були значуще вищими, ніж в групах P1 та P2.



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 4.47– Характеристика морфометричних показників фіброзу і репарації при P3

Але найбільш виразною була відмінність значень показника CK19, який значно (у п'ять разів) відрізнявся від двох інших груп ($10,17 \pm 0,23$ проти $1,17 \pm 0,25$ при P1, $p=0,004$ та проти $1,99 \pm 0,4$ при P2, $p=0,003$). Важливою особливістю була переважна локалізація CK19+ клітин на межі між септою та пограничною пластинкою часточки з частковим проникнення в останню. Загальні та септальні показники ангиогенезу та фіброгенезу були значуще

вищими, ніж в групах P1 та P2. Але найбільш виразною була відмінність значень септального CD34, який був в 4,3 рази вищий, ніж в групі P1.

Коротке узагальнення

Процеси репарації та фіброзу при хронічному ураженні печінки забезпечуються механізмами репаративної регенерації, фіброгенезу та ангиогенезу. До критеріїв, які дозволяють комплексно описати та оцінити їх морфологічні еквіваленти, відносяться кількісні показники – відносна площа, визначена морфометрично ЕрСАН+ та СК19+ епітеліоцитів, α -SMA+ та Кі67+ фіброгенних клітин, CD31+ та CD34+ судинних структур, колагену, CD 68+ регулюючих макрофагів та CD117+ телицитів, асоційовані з певним типом склерозу (перичелюлярним, перисептальним та перидуктальним склерозом). Для оцінки локалізації змін наведені показники доцільно визначати окремо в стромі та паренхімі (септальні та лобулярні показники).

Репаративні процеси, які передбачають активацію всіх клітин у нішах регенерації, були найбільш вираженими в групі ПДФ. Перш за все це стосувалось репаративної регенерації, показники якої (ЕрСАН, ЕрСАНН та СК19) виявляли значущу пряму кореляцію з вираженістю більшості септальних маркерів та обернену – з лобулярними показниками. Найбільш виразними ці тенденції були стосовно СК19 – маркера клітин з біліарним фенотипом, включаючи ПКП, які диференціюються у напрямку холангіоцитів.

Досліджувані прояви фіброгенезу відображають активацію контрактильної, секреторної та проліферативної функції клітин фіброгенної популяції. При порівняльному аналізі проявів фіброгенезу у групах з різними гістологічними типами склерозу був виявлений паралелізм маркерів кількості активованих міофібробластів (α -SMA+), мітотично активних мезенхімальних клітин (Кі 67+) та кількості колагену та протилежність вираженості цих процесів у септальному і лобулярному компартментах при порівнянні груп ПЦФ, ПСФ і ПДФ.

Дослідження кореляційних зв'язків між двома судинними маркерами CD31 та CD34 та з показниками фіброгенезу показали відсутність певної кореляції септального CD34 з септальним рівнем CD31, і наявність кореляції – з септальним фіброзом. Лобулярна експресія CD34 чітко корелювала з лобулярною експресією CD31. Отже оцінка ангиогенезу за CD31 та CD34 дає різні значення переважно щодо септальних процесів, що свідчить про доцільність використання саме CD34 для виявлення новоутворених судин у складі сполучнотканинних септ.

Виявлені ультраструктурні зміни синусоїдних ендотеліальних клітин свідчать про зміну стану ендотелію при прогресуванні стеатогепатиту у цироз. При стеатогепатиті переважають ознаки дисфункції ендотеліоцитів - зміни, які свідчать про гетерогенність функціонального стану клітин. При цирозі печінки виявляються ознаки гіпофункції та глибокі альтеративні зміни синусоїдних ендотеліальних клітин, які свідчать про декомпенсацію пристосувальних механізмів та пошкодження клітин.

Відмінності у експресії CD68 не були статистично значущими, що свідчить про участь різних популяцій макрофагів у регуляції процесів загоєння та репарації. Переважаюча експресія CD117 при ПЦФ відображає значення тлоцитів у регуляції клітинно-матриксних взаємодій при репаративних процесах у лобулярному компартменті.

На основі одержаних даних було виділено три морфогенетичні варіанти процесів репарації та фіброзу: P1, P2 та P3, які характеризуються особливостями проявів репаративної регенерації, фіброгенезу та ангиогенезу. Найважливіші морфометричні характеристики, притаманні цим морфогенетичним варіантам репарації та фіброзу представлені у табл. 4.10.

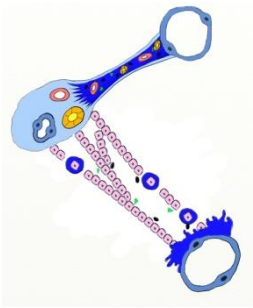
При P1 кількісні характеристики репаративних процесів були найнижчими серед досліджуваних груп (загальні маркери EpCAMG, α -SMAG, CD31G та CD34G), що зумовлено перш за все низькою септальною та перисептальною активністю (септальні показники α -SMAS, Ki67S, CD31S та CD34S значуще нижчі). Виявлені прояви репарації переважали у

лобулярному компартменті (маркери α -SMA, 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 їх участь у компенсаторно-приспосувальних реакціях. Ознаки репарації асоціювались із незначно вираженим, порівняно з іншими групами (FG значуще нижчий) перичелюлярним фіброзом (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. В той же час значення α -SMA, α -SMA, Ki67S, Ki67P, CD34G були ближчими до значень таких же показників при P3. Водночас для цієї групи була виявлена значуща відмінність для більшості значень показників репаративних процесів. Виключення складають лише наступні: для Ki67P такої відмінності не було виявлено в 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 перисептальним фіброзом (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.

Таблиця 4.10 – Морфогенетичні варіанти процесів фіброзу та репарації:
P1, P2 та P3

Варіант морфогенезу	Особливості
 P1	Низька репаративна активність, яка переважає у лобулярному компартменті з домінуючим напрямком диференціюванням у гепатоцити; перичелюлярний склероз; важлива регуляторна роль телоцитів
 P2	Помірна репаративна активність із задіяванням обох тканинних компартментів септальний склероз з проникненням у лобулярний компартмент; виражені адаптаційні реакції
 P3	Висока репаративна активність переважно у септальному компартменті з домінуючим напрямком диференціюванням у холангіоцити; перидуктальний склероз; незначна регуляторна роль телоцитів

Але найбільш виразною була відмінність значень показника СК19, 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 ЕрСАМ+ гепатоцитів теж була найвищою; крім того виявлялись вони у вигляді великих груп, прилягаючих до пограничної стромально-паренхіматозної зони. Загальні та септальні показники ангіогенезу були значуще вищими, ніж в групах P1 та P2, але

серед них вирізнявся CD34S, який був в 4,3 рази вищий, ніж в 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).

Матеріали даного розділу опубліковані у статтях [220-231, 234-236] та апробовані на наукових форумах [232, 233, 237, 238, 239].

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ РЕПАРАЦІЇ ТА ФІБРОЗУ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМУ, НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОГЕПАТИТІ ТА ВІРУСНОМУ ГЕПАТИТІ С

На пізніх стадіях розвитку хронічних захворювань печінки процеси загоєння та репарації відіграють основну роль. В наявних на сьогодні діагностичних алгоритмах ці процеси оцінюються лише на основі фіброгенезу. При аналізі активності процесу враховуються ознаки некрозу та запальної інфільтрації. В нашому дослідженні було проведено порівняння основних морфологічних проявів чотирьох груп автопсійних випадків АСГ, НАСГ, ВГС та ПЗ на пізній стадії захворювання. При цьому використовувались розроблені нами критерії, які враховували ознаки основних патологічних процесів, задіяних на цьому етапі.

5.1 Частота морфологічних проявів репарації, фіброзу, тканинної реорганізації, регресії фіброзу/перебудови та пошкодження/інфільтрації при неалкогольному, алкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С

При аналізі процесів загоєння та репарації акцент був зроблений на двох напрямках: визначення переважаючого варіанту загоєння та характеру тканинної реорганізації [240-243]. 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.

До основних варіантів склерозу було віднесено перицелюлярний, перисептальний та перидуктальний склероз. За частотою різних типів склерозу виявлено високозначущу різницю між усіма чотирма етіологічними

групами (табл. 5.1). При НАСГ та при ПЗ найчастіше спостерігався ПЦФ - відповідно 60,8% (95% ДІ 43,2-73,0%) і 47,1% (95% ДІ 36,7-67,5%) (переважання ПЦФ у цих групах не є значущим $p>0,1$). Фактично, відмінність між цими двома групами зумовлена частотою не власне ПЦС, а різною частотою ПСФ і ПДФ. Натомість ПСФ значуще переважав при АСГ – 68,9% (95% ДІ 51-80%) ($p<0,05$). ПДФ значуще переважав у хворих з ВГС – 84,2% (95% ДІ 68,6-92,2%) ($p<0,05$).

Таблиця 5.1 – Частота гістотопографічних варіантів фіброзу при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захворювання	Фіброз						Значущість різниці
		ПЦФ		ПСФ		ПДФ		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	23	22,7	73	68,9	10	9,4	P ₁₋₂ <0,01
2	ВГС (n=101)	4	3,9	12	11,9	85	84,2	P ₁₋₃ <0,01
3	НАСГ (n=102)	62	60,8	33	32,4	7	6,9	P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₃ <0,01
4	ПЗ (n=104)	49	47,1	26	25,0	29	27,9	P ₂₋₄ <0,01 P ₃₋₄ =0,06

Дифузна ДР значуще переважала ($p<0,01$) при НАСГ (92,2%, 95% ДІ 75,9-96,3%) і при АСГ (90,6%, 95% ДІ 80,4-97,7%) без значущої різниці між цими двома групами (табл.5.2).

Перисептальна ДР переважала при ВГС (86,1%, 95% ДІ 71,1-93,7%). При ПЗ обидва варіанти локалізації виявлялись приблизно з однаковою частотою: дифузна – 53,8% (95% ДІ 41,0-71,7%), а перисептальна – 46,2% (значущого переважання немає $p>0,1$).

Таблиця 5.2 – Частота переважної локалізації дуктулярної реакції при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захворювання	Локалізація дуктулярної реакції				Значущість різниці
		Дифузна септальна		Перисептальна		
		Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	96	90,6	10	9,4	P ₁₋₂ <0,01
2	ВГС (n=101)	14	13,9	87	86,1	P ₁₋₃ >0,1
3	НАСГ (n=102)	94	92,2	8	7,8	P ₁₋₄ <0,01
4	ПЗ (n=104)	56	53,8	48	46,2	P ₂₋₃ <0,01 P ₂₋₄ <0,01 P ₃₋₄ <0,01

Для оцінки характеру тканинної перебудови при циротичній трансформації досліджувались: нодулярність (збережена гістоархітектоніка, макронодулярні та мікронодулярні зміни); реорганізація паренхіми (дискомплексація 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 порівнянні досліджуваних груп були виявлені значущі відмінності за частотою варіантів нодулярності. (табл.5.3).

При НАСГ спостерігалась переважно (переважання значуще, $p<0,01$) збережена гістоархітектоніка часточки (90,2%; 95% ДІ 77,8-96,6%). Сформовані вузли при цій патології виявлялись лише у 7,8% (великі) та у 1,9% (дрібні). 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%), а збереження структури часточки було рідкісним (3,9%).

Таблиця 5.3 – Частота різних варіантів нодулярності при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захворювання	Нодулярність						Значущість різниці
		Збережена гістоархітек- тоніка		Великі вузли		Дрібні вузли		
		Абс.	%	Абс	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	10	9,4	88	83,0	8	7,6	P ₁₋₂ =0,047 P ₁₋₃ <0,01 P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₃ <0,01 P ₂₋₄ >0,1 P ₃₋₄ <0,01
2	ВГС (n=101)	10	9,9	63	62,4	28	27,7	
3	НАСГ (n=102)	92	90,2	8	7,8	2	1,9	
4	ПЗ (n=104)	3	3,9	54	51,9	46	44,2	

У значній кількості випадків у всіх групах ознаки реорганізації паренхіми, зумовлені регенерацією гепатоцитів, були мінімальними і обмежувались дисконплексацією балок (від 37,6% при ВГС до 45,2% при ПЗ) (табл.5.4).

Таблиця 5.4 – Частота реорганізації паренхіми при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захво- рювання	Реорганізація паренхіми						Значущість різниці
		Дискомплек- сація балок		Потовщення балок		Гландулярні структури		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	43	40,6	29	27,4	34	32,1	P>0,1 для всіх пар порівнянь
2	ВГС (n=101)	38	37,6	38	37,6	25	24,8	
3	НАСГ (n=102)	41	40,2	32	31,4	29	28,4	
4	ПЗ (n=104)	47	45,2	37	35,6	20	19,2	

Приблизно в 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 (табл.5.5) значущої різниці не виявлено тільки між групами АСГ і ВГС. При НАСГ найчастіше (переважання значуще, $p < 0,01$) виявлялися 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.

Таблиця 5.5 – Частота варіантів септоутворення при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захво- рування	Септи						Значущість різниць
		Портопор- тальні септи		Портопортальні та портоцен- тральні септи		Перинодулярні септи		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	10	9,4	74	69,8	22	20,8	P ₁₋₂ >0,1 P ₁₋₃ <0,01 P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₃ <0,01 P ₂₋₄ <0,01 P ₃₋₄ <0,01
2	ВГС (n=101)	10	9,9	63	62,4	28	27,7	
3	НАСГ (n=102)	84	82,4	14	13,7	4	3,9	
4	ПЗ (n=104)	-	-	17	16,3	87	83,7	

Структура МЦР (табл.5.6) 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.

Таблиця 5.6 – Частота ознак реорганізації мікроциркуляторного русла при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захво- рування	Реорганізація мікроциркуляторного русла						Значущість різниці (критерій Манн- Вітні)
		Збережені ЦВ та тріади		Поодинокі інтра- та перисептальні судини		Множинні інтра-та перисептальні судини		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	6	13,3	12	26,7	27	60	$P_{1-2}>0,1$ $P_{1-3}<0,01$
2	ВГС (n=101)	3	6,5	24	52,2	19	41,3	$P_{1-4}>0,1$ $P_{2-3}<0,01$
3	НАСГ (n=102)	44	89,8	5	10,2	-	-	$P_{2-4}<0,01$ $P_{3-4}<0,01$
4	ПЗ (n=104)	2	4,6	10	22,7	32	72,7	

Із ознак регресії фіброзу/реорганізації (табл.5.7) було виявлено і проаналізовано частоту чотирьох ознак: тонкі (перфоровані) септи, адгезії/колагенові пучки, інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ та ЦВ. Значущі відмінності спостерігались стосовно груп 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.

Таблиця 5.7 – Частота ознак регресії фіброзу/реорганізації при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захворювання	Ознаки регресії фіброзу/реорганізації								Значущість Різниці
		Тонкі септи		Адгезії		Інтрасептальні гепатоцити		Зближені ПТ та ЦВ		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	30	28,3	34	32,1	22	20,1	20	18,8	
2	ВГС (n=101)	24	23,8	16	15,8	31	30,7	30	29,7	
3	НАСГ (n=102)	70	68,6	26	25,5	4	3,9	2	1,9	
4	ПЗ (n=104)	8	7,7	14	13,5	46	43,3	37	35,5	

Стеатоз є частим проявом АСГ, НАСГ та ВГС і патогенетично пов'язаний з іншими ознаками цих захворювань, включаючи процеси загоєння та репарації. Тому ми вважали за доцільне проаналізувати особливості жирової дистрофії при гепатитах різного походження [244-247].

У значній кількості випадків стеатоз був фактично відсутнім (табл.5.8). При ВГС, частота таких випадків сягала 51,5%, а стеатоз понад 66% - лише у 7,9%. Ступінь вираженості стеатозу був найбільшим при АСГ (>66% у 26,4%, а сумарно 33-100% – 50%) та при ПЗ (відповідно 25% і 53,8%). При НАСГ ступінь вираженості жирової дистрофії посідав проміжне місце і у цій групі найчастіше траплялися випадки помірного стеатозу (39,2%). Статистично значущі відмінності спостерігались лише при порівнянні групи ВГС з іншими трьома групами.

Таблиця 5.8 – Залежність ступеня поширеності стеатозу від захворювання (алкогольного стеатогепатиту (АСГ), вірусного гепатиту С (ВГС), неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) та поєднаних захворювань (ПЗ)

№	Захво- рю- вання	Поширеність стеатозу								Р (критерій Манн- Вітні)
		<5%		5-33%		33-66%		>66%		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	33	31,1	32	30,2	28	26,4	13	12,3	P ₁₋₂ <0,05 P ₁₋₃ >0,05 P ₁₋₄ >0,05 P ₂₋₃ <0,01 P ₂₋₄ <0,01 P ₃₋₄ >0,05
2	ВГС (n=101)	52	51,5	23	22,8	6	5,9	20	19,8	
3	НАСГ (n=102)	23	22,6	47	46,1	30	29,4	2	1,9	
4	ПЗ (n=104)	24	23,1	24	23,1	30	28,8	26	25	

Щодо локалізації стеатозу (табл.5.9), то найчастіше спостерігалась дифузна жирова дистрофія.

Таблиця 5.9 – Частота переважної локалізації стеатозу при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захво- рю- вання	Гістотопографія стеатозу								Р
		<5%		Дифузний		Перивену- лярний(ЦВ)		Перисеп- тальний		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	33	31,1	32	30,2	28	26,4	13	12,3	P ₁₋₂ <0,05 P ₁₋₃ >0,1 P ₁₋₄ >0,1 P ₂₋₃ <0,01 P ₂₋₄ <0,05 P ₃₋₄ >0,1
2	ВГС (n=101)	52	51,5	23	22,8	6	5,9	20	19,8	
3	НАСГ (n=102)	23	22,6	47	46,1	30	29,4	2	1,9	
4	ПЗ (n=104)	24	23,1	33	31,7	25	24,0	22	21,2	

Дифузні ліпідні нагромадження при НАСГ виявлялись у 46,1% усіх випадків стеатозу, а при ПЗ – у 31,7%, у групах АСГ і НАСГ вони часто мали також перивенулярний характер. Натомість при ураженнях вірусного генезу (19,8%) випадків стеатоз мав перисептальний/перипортальний характер, завдяки чому ця група значуще відрізнялася від решти.

Ознаки пошкодження включали також більш виражені зміни, асоційовані із загибеллю гепатоцитів. До них відносились балонні зміни гепатоцитів та апоптозні тільця. На місці загиблих клітин або біля них зазвичай виявлялись інфільтрати, до складу яких входили переважно мононуклеарні клітини, а іноді – нейтрофільні лейкоцити. Тому ми вважали за доцільне розглядати прояви альтерації та інфільтрації разом [248,249].

Одним з найчастіших варіантів пошкодження гепатоцитів були балонні зміни. При цьому виявлялось збільшення клітини в розмірі, розріджена, бліда цитоплазма та велике, гіперхромне ядро, часто з чітким ядерцем. Вважається, що такі зміни є результатом пошкодження проміжних філаментів цитоскелету та/або мікровезикулярного стеатозу і супроводжуються втратою типових для гепатоцитів цитокератинів, зокрема СК8 та СК18. Гепатоцити з такими змінами часто містять тільця Малорі-Денка (ТМД) – еозинофільні інтрацитоплазматичні включення, які розміщуються біля ядра клітини з балонними змінами у 3 зоні, часто у ділянках перисинусоїдного фіброзу. Описані прояви пошкодження часто асоціюються із клітинним інфільтратом, в якому переважають нейтрофільні лейкоцити (мікросателітоз). Склад інфільтрату зумовлений переважанням специфічних хемоатрактантів, які виділяються пошкодженими гепатоцитами та іншими клітинами.

При ВГС та при НАСГ спостерігалися переважно множинні вогнища балонних змін (табл.5.10). Особливістю є те що при АСГ частіше, ніж при ВГС, були присутні також скупчення нейтрофільних лейкоцитів (40,6% проти 32,61% відповідно), водночас дещо частіше випадки з поодинокими вогнищами альтерації. Натомість поодинокі гепатоцити з балонними змінами

з найбільшою частотою виявлялись при ПЗ (75%) та при НАСГ (55,1%) (відмінність між цими групами лише погранично значуща). У цих двох групах нейтрофіли виявлялися лише в поодиноких випадках.

Таблиця 5.10 – Характеристика проявів пошкодження (гепатоцити з балонними змінами) при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захворювання	Гепатоцити з балонними змінами						Значущість різниць (критерій Манн-Вітні)
		Поодинокі		Множинні		+ нейтрофіли		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	29	27,4	34	32,1	43	40,6	P ₁₋₂ <0,01
2	ВГС (n=101)	95	94,1	6	5,9	0	0	P ₁₋₃ <0,01
3	НАСГ (n=102)	55	53,9	43	42,2	4	3,9	P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₃ <0,01
4	ПЗ (n=104)	78	75	13	12,5	13	12,5	P ₂₋₄ =0,013 P ₃₋₄ =0,096

Інтралобулярні інфільтрати діагностувались при виявленні невеликих скупчень мононуклеарних клітин всередині часточки. Серед клітин інфільтрату визначались лімфоцити, макрофаги та зрідка гранулоцити. Внутрішньочасточкові скупчення лімфоцитів, імовірно є морфологічним еквівалентом впливу цитотоксичних Т-лімфоцитів (CD8+) і часом асоціюються з явищем емперіоплезу. В таких ділянках можуть виявлятися і інші види лімфоцитів (CD4+ Т-хелпери), NK-клітин та їх різновидів (pit-клітини). В деяких випадках у інфільтраті переважали клітини макрофагального ряду, серед яких імовірно були як КК так і похідні циркулюючих макрофагів (мікрогранульома). Часом поблизу клітин виявлялись дрібні округлі еозинофільні глобули – апоптичні тільця.

Інтралобулярні інфільтрати (табл.5.11) у вигляді множинних вогнищ найчастіше виявлялись при ПЗ (54,55%), у всіх інших групах домінували поодинокі інтралобулярні вогнища мононуклеарних клітин (переважання

значуще, $p < 0,05$): при АСГ 75,56% (95% ДІ), при ВГС 93,48% (95% ДІ) і при НАСГ 93,88% (95% ДІ).

Таблиця 5.11 – Характеристика інтралобулярної інфільтрації на місці загиблих гепатоцитів при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захворювання	Інтралобулярні інфільтрати						Значущість різниці (критерій Манн-Вітні)
		Поодинокі		Множинні		+ апоптоз		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	81	76,4	25	23,6	0	0	P ₁₋₂ <0,01 P ₁₋₃ =0,013 P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₃ <0,01 P ₂₋₄ =0,03 P ₃₋₄ <0,01
2	ВГС (n=101)	14	13,7	55	54,5	32	31,7	
3	НАСГ (n=102)	96	94,1	6	5,9	0	0	
4	ПЗ (n=104)	39	37,5	28	26,9	37	35,6	

Термін «перисептальні інфільтрати» вживався, якщо ознаки пошкодження та скупчення клітин переважали по периферії часточки або вузла на межі між строною та паренхімою. Такі зміни в літературі описуються під різними назвами: ступінчасті некрози, пограничний гепатит та інші. Оскільки при гістологічному дослідженні переконливих ознак некрозу гепатоцитів в таких ділянках не було виявлено та враховуючи, що переважаючим механізмом пошкодження клітин більшість дослідників вважає апоптоз, термін «ступінчастий некроз» було відкинуто. Розповсюджений у англійській літературі термін “interface hepatitis” (пограничний гепатит) викликає асоціації з діагнозом стадії захворювання, хоча ми виявляли такі зміни і на стадії цирозу. Крім того пограничний гепатит описується найчастіше на стадії, коли зміни переважають на межі між портальним трактом та паренхімою і включають руйнування гепатоцитів, що входять до складу пограничної пластинки. Тому цей термін теж не був прийнятним. Наведені міркування зумовили використання

терміну «перисептальний інфільтрат», як такий, що акцентує основну увагу на локалізації ураження і може включати різні варіанти пошкодження та наступної клітинної інфільтрації.

Перисептальна інфільтрація (табл.5.12) розподілялася дещо інакше: виражені перисептальні інфільтрати переважали при АСГ (68,89%). У групах ВГС і ПЗ вона здебільшого носила помірний характер. Незначна інфільтрація на межі між септою та паренхімою була майже у всіх випадках при НАСГ (91,84%), тоді як в інших групах такого не було взагалі.

Таблиця 5.12 – Характеристика перисептальної інфільтрації на місці загиблих гепатоцитів при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захворювання	Перисептальні інфільтрати						Значущість різниці (критерій Манн-Вітні)
		Незначні		Помірні		Виражені		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	0	0	33	31,1	73	68,9	P ₁₋₂ =0,023 P ₁₋₃ <0,01 P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₃ <0,01 P ₂₋₄ >0,1 P ₃₋₄ <0,01
2	ВГС (n=101)	0	0	55	54,5	46	45,5	
3	НАСГ (n=102)	94	92,2	8	7,8	0	0	
4	ПЗ (n=104)	0	0	58	55,8	46	44,2	

Щодо наявності, ступеня вираженості та ролі клітинного інфільтрату у складі септ на сьогодні немає єдиної думки. В частині діагностичних рекомендації цей критерій не враховується взагалі або описується як додаткова ознака. Оскільки мінімальна кількість клітин у сполучнотканинних септах присутня завжди, ми вважали за доцільне враховувати цей показник (рис.5.6). За складом клітинна популяція була різноманітною, але в більшості випадків переважали моноклеарні клітини – лімфоїдного та макрофагального ряду. Певну складність являє собою диференціювання

септальних інфільтратів із пограничними перисептальними ураженнями. В таких випадках проводився прицільний пошук ознак пошкодження гепатоцитів, перисинусоїдного розміщення клітин інфільтрату та асоціацій з дуктулярною реакцією.

Виражена мононуклеарна інфільтрація у складі септ найчастіше спостерігалась при ПЗ (15,9%) (табл.5.13). Помірний ступінь вираженості інфільтрації виявлявся при ПЗ (54,55%) та ВГС (52,17%). Незначна кількість мононуклеарних клітин переважала при НАСГ (81,63%) та при АСГ (53,3%).

Таблиця 5.13 – Характеристика ступеня вираженості інфільтрації у септах при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

№	Захво рування	Інтрасептальні інфільтрати						Значущість різниці
		Незначні		Помірні		Виражені		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
1	АСГ (n=106)	55	51,9	36	33,9	15	14,2	P _{1,2} >0,1 P _{1,3} <0,01 P _{1,4} =0,053 P _{2,3} <0,01 P _{2,4} >0,1 P _{3,4} <0,01
2	ВГС (n=101)	37	36,6	52	51,5	12	11,9	
3	НАСГ (n=102)	83	81,4	17	16,7	2	1,9	
4	ПЗ (n=104)	29	27,9	54	51,9	21	20,2	

При порівнянні частоти різних ступенів вираженості септальних інфільтратів при досліджуваних захворюваннях були виявлені значущі відмінності для пар АСГ проти НАСГ ($p<0,01$), ВГС проти НАСГ ($p<0,01$), НАСГ проти ПЗ ($p<0,01$) та АСГ проти ПЗ (граничне $p=0,0533$). Відмінності між групами АСГ проти ВГС ($p>0,1$) та ВГС проти ПЗ ($p>0,1$) не були значущими.

5.2 Частота морфологічних проявів репарації, фіброзу, тканинної реорганізації, регресії фіброзу/перебудови та пошкодження/інфільтрації при різних варіантах поєднання неалкогольного, алкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С

Аналіз морфологічних проявів проводився у наступних групах поєднаних захворювань: алкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С (АСГ+ВГС), алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (АСГ+НАСГ), вірусному гепатиті С та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+НАСГ), вірусному гепатиті С, алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+АСГ+НАСГ). При цьому загальні підходи у дослідженні були такими ж, як і при основних нозологічних формах [250,251].

В досліджуваних групах переважав перицелюлярний фіброз, який найчастіше виявлявся в групі ВГС+НАСГ (50%) (рис. 5.1).

Тільки в групі ВГС+АСГ+НАСГ з такою ж частотою спостерігався перидуктальний фіброз (50%). Септальний фіброз з найбільшою частотою виявлявся в групі АСГ+НАСГ (25,9%).

Перисептальна ДР виявлялась частіше, в порівнянні з дифузною. Найвищими показники були в групі ВГС+АСГ+НАСГ (66,7%), хоча при АСГ+ВГС та ВГС+НАСГ частота була майже такою ж (62,5% та 58,3% відповідно).

Дифузна ДР переважала при поєднанні АСГ+НАСГ (62,9%), причому її частота майже в 1,5 рази перевищувала показник у групах АСГ+ВГС (37,5%) та ВГС+НАСГ (41,7%) і в 3 рази – показник групи ВГС+АСГ+НАСГ (16,7%).

Септальний склероз спостерігався лише в групах АСГ+НАСГ (5,6%) та ВГС+НАСГ (8,3%). Формування великих вузлів майже з однаковою частотою виявлялось при ВГС+АСГ+НАСГ (66,7%) та АСГ+ВГС (59,4%). Дрібні вузли визначались найчастіше при ВГС+НАСГ (58,3%). Відмінності були граничними для груп ВГС+АСГ+НАСГ та ВГС+НАСГ.

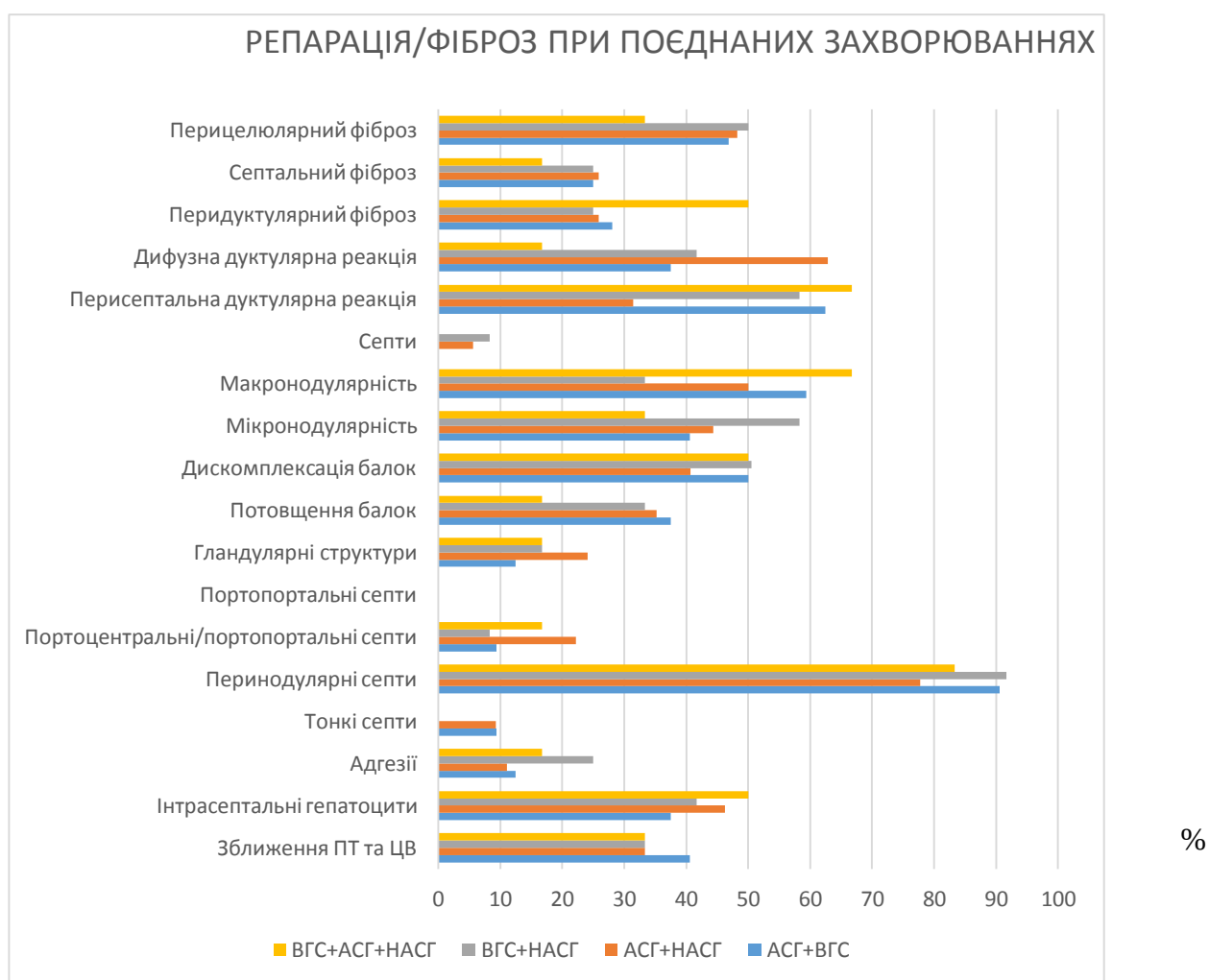


Рисунок 5.1 – Прояви репарації, фіброзу тканинної реорганізації та регресії фіброзу/перебудови при поєднаних захворюваннях: алкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С (АСГ+ВГС), алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (АСГ+НАСГ), вірусному гепатиті С та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+НАСГ), вірусному гепатиті С, алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+АСГ+НАСГ)

Дрібні вузли визначались найчастіше при ВГС+НАСГ (58,3%). Відмінності були граничними для груп ВГС+АСГ+НАСГ та ВГС+НАСГ.

У всіх чотирьох групах із ознак реорганізації паренхіми переважала дисконплексація балок, причому відмінності між ними були мінімальними. Потовщення балок найчастіше виявлялась при АСГ+ВГС (37,5%) і найрідше – при ВГС+АСГ+НАСГ (16,7%). Гландулярні структури спостерігались з найменшою частотою і переважали в групі АСГ+НАСГ (24,1%).

У всіх досліджуваних групах переважали перинодулярні септи. При цьому найвищими показники були при ВГС+НАСГ та АСГ+ВГС (91,7% та 90,6% відповідно). Портопортальні в комбінації з портоцентральною септами найчастіше виявлялись при АСГ+НАСГ (22,2%). Варіант тільки з портопортальними септами в досліджуваних групах не визначався.

Із ознак регресії фіброзу майже з однаковою частотою спостерігались зближення ПТ та ЦВ та групи інтрасептальних гепатоцитів. При цьому перша ознаками найчастіше виявлялась в групі АСГ+ВГС (40,6%), а друга – в групі ВГС+АСГ+НАСГ (50%).

Максимальна поширеність стеатозу спостерігалась в групі ВГС+НАСГ (у 41,7% - більше 66% площі) (рис.5.2). В той же час при ВГС+АСГ+НАСГ випадки без стеатозу (<5% площі) взагалі були відсутніми, а в 50% нагромадження ліпідів спостерігалось на 33-66% площі. Дифузний стеатоз переважав у групах ВГС+НАСГ та ВГС+АСГ+НАСГ (66,7% та 60% відповідно). Особливо виразною ця відмінність була при ВГС+НАСГ, в якій дифузне розповсюдження ліпідних вакуолей переважало над іншими формами майже в шість разів.

Балонні зміни гепатоцитів виявлялись переважно лише в окремих випадках (від 61,1% при АСГ+НАСГ до 91,7% при ВГС+НАСГ). Найбільше випадків з множинними балонними змінами гепатоцитів в поєднанні з нейтрофілами спостерігалось у групах АСГ+ВГС та ВГС+АСГ+НАСГ (16,7%). Інтралобулярні інфільтрати в більшості спостережень були множинними і асоціювались з апоптозними тільцями (від 30,4% при АСГ+НАСГ до 56,3% при АСГ+ВГС). Протилежна тенденція виявлялась в групі АСГ+НАСГ, в якій переважали поодинокі інтралобулярні інфільтрати (50%). Перисептальні інфільтрати теж були в більшості випадків вираженими (50% при ВГС+НАСГ та ВГС+АСГ+НАСГ та 62,5% при АСГ+ВГС) і лише в групі АСГ+НАСГ відмічався помірний ступінь вираженості (68,5%). Виражені септальні інфільтрати з формуванням агрегатів найчастіше виявлялись в групі ВГС+АСГ+НАСГ (50%). В трьох інших групах

переважала дифузна септальна інфільтрація (від 51,9% при АСГ+НАСГ до 58,3% при ВГС+НАСГ).

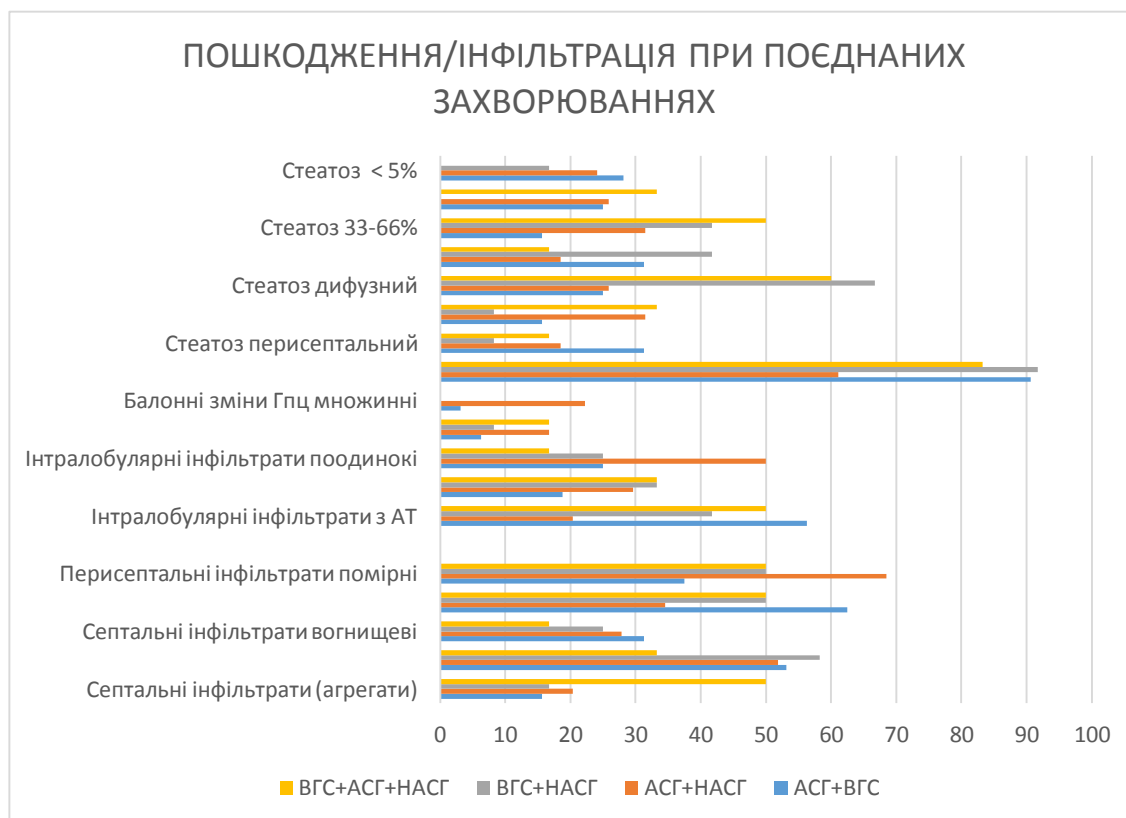


Рисунок 5.2 – Прояви пошкодження/інфільтрації при поєднаних захворюваннях: алкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С (АСГ+ВГС), алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (АСГ+НАСГ), вірусному гепатиті С та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+НАСГ), вірусному гепатиті С, алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+АСГ+НАСГ)

При АСГ+ВГС виявлявся переважно перицелюлярний фіброз (46,9%), в комбінації з перисептальною (62,5%) та дифузною (37,5%) ДР. Переважаючі перинодулярні септи (90,6%) комбінувались з формуванням великих (59,4%) та дрібних (40,6%) вузлів. Серед паренхіматозних змін переважали дисконкомплексція (50%) та потовщення (33,3%) балок. Спостерігались всі ознаки регресії фіброзу, серед яких домінувало зближення

ПТ та ЦВ (40,6%) – найвищий показник серед досліджуваних груп. У максимальній кількості випадків, порівняно з іншими групами, стеатоз був відсутнім (28,1%), але майже в такій же кількості спостерігалось ураження >66% часточки (31,3%), яке було переважно перисептальним (31,3%) та дифузним (25%). Серед ознак пошкодження переважали інтралобулярні інфільтрати, асоційовані з апоптозними тільцями (56,3%); балонні зміни гепатоцитів були поодинокими (90,6%). Перисептальні (62,5%) та дифузні септальні (53,1%) інфільтрати були більш вираженими, порівняно з іншими групами ПЗ.

При ВГС+НАСГ перицелюлярний фіброз спостерігався вдвічі частіше (50%), ніж інші види і поєднувався переважно з перисептальною ДР (58,3%). Перинодулярні септи, які виявлялись частіше, ніж в інших групах (91,7%), комбінувались переважно з мікронодулярністю (58,3%), але водночас в частині випадків відмічався тільки септальний склероз (8,3%). Серед паренхіматозних змін переважали дискомплексація (50%) та потовщення (37,5%) балок. Серед ознак регресії фіброзу переважали інтрасептальні гепатоцити (41,7%); тонкі септи взагалі не виявлялись. У більшості випадків ліпідні включення спостерігались на площі >66% (41,7%) або 33-66% часточки (41,7%) і розміщувались дифузно (66,7%). Балонні зміни гепатоцитів були поодинокими (91,7%), однак інтралобулярні інфільтрати з апоптозними тільцями виявлялись у 41,7%. Перисептальні інфільтрати з однаковою частотою були помірними (50%) або вираженими (50%), а септальні були переважно дифузними (58,3%) – найвищий показник серед досліджуваних груп ПЗ.

При АСГ+НАСГ перицелюлярний фіброз (48,2%) комбінувався з вдвічі переважаючою дифузною ДР (62,9%) в порівнянні з перисептальною ДР (31,5%). Переважаючі перинодулярні септи (77,8%) поєднувались з порто-центральною варіантом септоутворення (22,2%), частота якого була найбільшою серед досліджуваних груп. Серед новоутворених вузлів зустрічались як великі – 50%, так і дрібні – 44,4%. Паренхіматозні зміни

включали як дискомплексацію (40,7%) та потовщення (35,2%) балок, так і гландулярність (24,1%). Серед ознак регресії фіброзу переважали інтрасептальні гепатоцити (46,3%), хоча виявлялись всі досліджувані прояви. Переважаючий центральний стеатоз (31,5%) виявлявся у значній частині часточки (33-66%) – 31% випадків. Ознаки пошкодження були незначними: поодинокі гепатоцити з балонними змінами (61,1%) та поодинокі інтралобулярні інфільтрати (50%). Перисептальні інфільтрати на відміну від інших груп ПЗ були переважно помірними (68,5%) і асоціювались з домінуючими дифузними септальними (51,9%).

При ВГС+АСГ+НАСГ домінував перидуктальний фіброз (50%), частота якого значно перевищувала показники перицелюлярного (33,3%) та септального (16,7%). ПДФ асоціювався з переважаючою перисептальною ДР (66,7%). Переважаючі перинодулярні септи (83,3%) асоціювались з домінуючими макровузлами (66,7%). Серед паренхіматозних змін переважала дискомплексація (50%) балок. Із ознак регресії фіброзу домінували інтрасептальні гепатоцити (50%), частота яких була найвищою серед досліджуваних груп. На відміну від інших груп ПЗ, стеатоз виявлявся у всіх випадках і був помірно вираженим (33-66% площі – у 50% випадків) та дифузним (60%). Балонні зміни гепатоцитів були поодинокими (83,3%), а інтралобулярні інфільтрати асоційовані з апоптозними тільцями виявлялись у більшості випадків (50%). З однаковою частотою виявлялись помірні та виражені перисептальні інфільтрати (50%). Частота септальних інфільтратів з формуванням агрегатів була найвищою (50%) серед досліджуваних груп ПЗ.

5.3 Морфологічні критерії діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії розвитку захворювань

На основі вивчення частоти морфологічних показників базових патологічних процесів, які виявляються на пізніх стадіях розвитку захворювань, було проведено аналіз важливих особливостей АСГ, НАСГ,

ВГС та їх поєднань. При цьому акцент було зроблено на виявленні особливостей репарації і фіброзу, реорганізації структури часточки, ознак регресії фіброзу/перебудови та проявів пошкодження/інфільтрації. До діагностично важливих показників були віднесені: фіброз (гістотопографічна форма: перицелюлярний, перисептальний та перидуктальний); дуктулярна реакція (дифузна, перисептальна); нодулярність (септальний склероз, макровузли, мікровузли), септи (портопортальні, портоцентральні, перинодулярні); реорганізація МЦР (збережена ангіоархітектоніка, поодинокі інтра та перисептальні судини, множинні інтра та перисептальні судини); регресія фіброзу/реорганізації (тонкі перфоровані септи, адгезії/великі колагенові пучки, інтрасептальні гепатоцити, зближення портальних трактів та центральних вен); поширеність ($\leq 33\%$, $33-66\%$, $\geq 66\%$ часточки) та локалізація стеатозу (в центрі вузла (перивенулярна), перисептальна (перипортальна), дифузна); балонні зміни гепатоцитів (поодинокі, множинні, соційовані з нейтрофілами), перисептальні інфільтрати (незначні, помірні, виражені), інтралобулярні інфільтрати (поодинокі, множинні, з апоптичними тільцями), септальні інфільтрати (вогнищеві, дифузні, асоційовані з лімфоїдними агрегатами).

При аналізі процесів репарації та фіброзу акцент був зроблений на трьох напрямках: визначення переважаючого варіанту репарації, характеру тканинної реорганізації та особливостях регресії фіброзу/репарації. Оскільки із всіх показників, які визначались за допомогою імуногістохімічних маркерів, при рутинному дослідженні (забарвлення гематоксилін-еозином) можна оцінити лише локалізацію новоутвореної сполучної тканини (перицелюлярний, перисептальний та перидуктальний фіброз) та характер дуктулярної реакції (перисептальна, дифузна септальна), ці показники було взято за основу при визначенні переважаючого варіанту загоєння.

Аналіз частоти варіантів фіброзу та типу дуктулярної реакції (рис.5.3) показав статистично значущі відмінності між всіма чотирма групами. При АСГ переважав ПСФ (66,67%) та дифузна ДР (88,89%), при ВГС – ПДФ

(82,6%) та перисептальна ДР (84,78%), при НАСГ – ПЦФ (55,10%) та дифузна ДР (91,84%). При ПЗ переважав ПЦС (52,27%), а варіанти ДР спостерігались майже з однаковою частотою: дифузна у 56,82%, а перисептальна – у 43,18%.

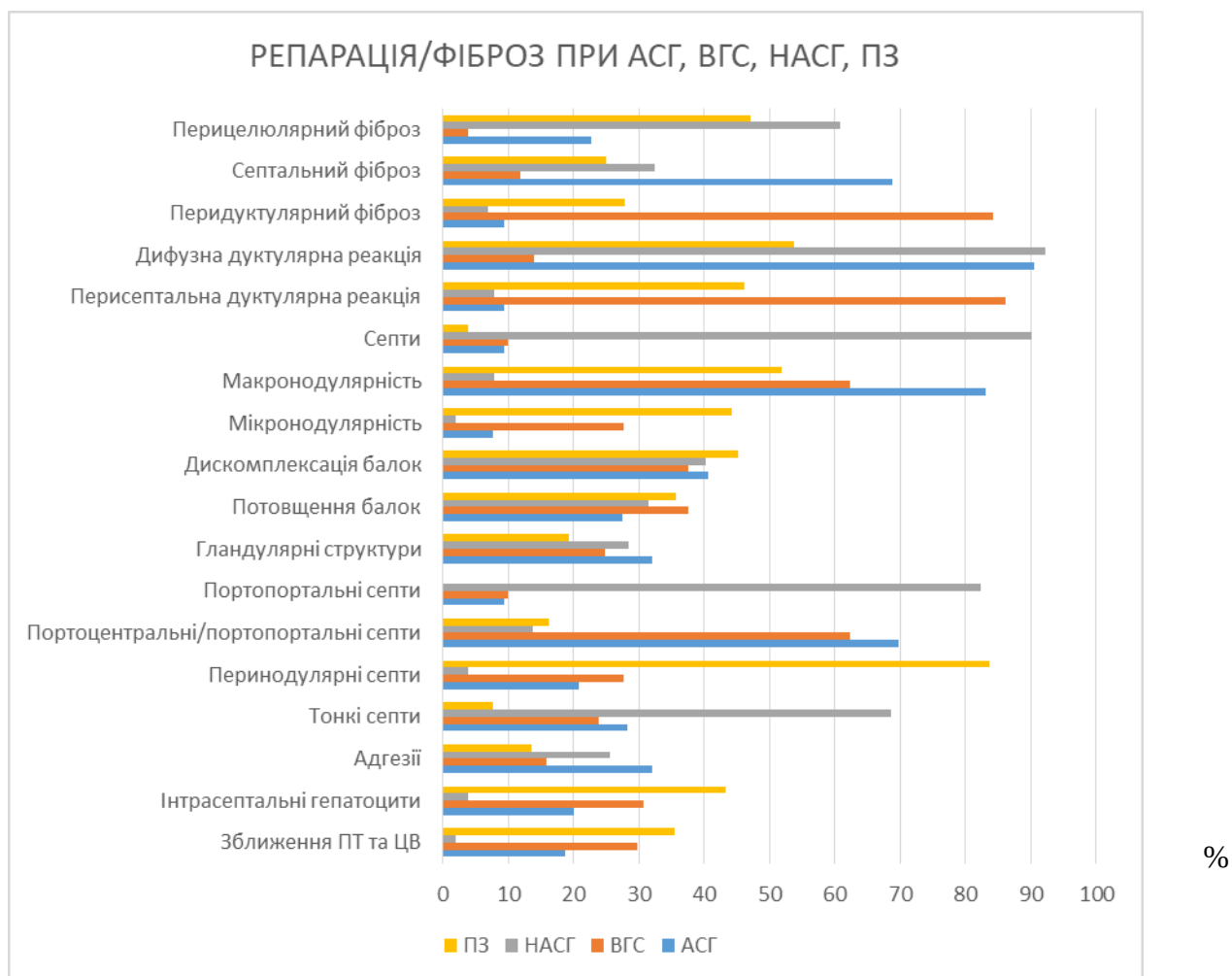


Рисунок 5.3 – Прояви репарації та фіброзу при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

Виявлення значущих відмінностей у переважаючому варіанті склерозу, асоційованому з відповідною ДР, при різних захворюваннях дозволяє зробити висновок про домінування певного виду репарації/фіброзу при цих ураженнях: Р1 при НАСГ, Р2 при АСГ та Р3 – при ВГС. При ПЗ виявлялась

дещо інша комбінація: ПЦФ та поєднання дифузної і перисептальної ДР, що ставить цю групу в окреме положення.

Для оцінки характеру тканинної перебудови (рис.5.7) на пізній стадії захворювання досліджувались: нодулярність (септальний склероз при неповному цирозі, макронодулярні та мікронодулярні зміни при повному цирозі); тип септоутворення (портопортальні, портоцентральної, перинодулярні), реорганізація паренхіми (дискомплексація 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.

За типом нодулярності значуще вирізнялась група НАСГ, у якій в більшості випадків спостерігався септальний склероз без формування чітких вузлів (89,8%). Макронодулярні зміни переважали при АСГ (82,22%) та ВГС (60,87%), відмінності між якими не були значущими ($p=0,1005$) та були гранично значущими з групою ПЗ (50%, $p=0,066$). Що стосується ознак реорганізації паренхіми, то при всіх захворюваннях переважала дисконплексація балок, і тільки при ВГС – потовщення балок з поліморфізмом гепатоцитів (39,13%), але відмінності між досліджуваними групами не були значущими. Значущі відмінності між всіма чотирма групами були виявлені при порівнянні частоти різних варіантів септоутворення ($p=0,0000$). При НАСГ домінували портопортальні септи (81,63%), при АСГ та ВГС переважали порто портальні та порто центральної септи (66,67% та 60,87% відповідно). При ПЗ в більшості випадків виявлялись перинодулярні септи – 86,36%. Оцінка реорганізації МЦР показала значущі відмінності НАСГ в порівнянні з іншими групами, при якому в більшості випадків ангіоархітектоніка печінкової часточки була збережена (89,90%). Поодинокі інтра- та перисептальні судини переважали при ВГС (52,17%), а множинні виявлялись переважно при АСГ (60,00%) та ПЗ (72,23%). Але значущих відмінностей не було виявлено при порівнянні груп АСГ та ВГС ($p=0,2180$)

та АСГ і ПЗ ($p=0,1557$). Таким чином при порівнянні цієї групи ознак найбільш виразні відмінності між досліджуваними групами були виявлені при оцінці типу септоутворення. Результати порівняння варіанту нодулярності, типу реорганізації МЦР та септоутворення виявило чіткий паралелізм значущих відмінностей для досліджуваних груп. Оцінка реорганізації паренхіми не виявила значущих відмінностей, що свідчить про доцільність подальшої модифікації цього критерію.

При дослідженні стеатозу важливо відмітити: поширеність ($\leq 33\%$, $33-66\%$, $\geq 66\%$) та локалізацію ліпідних нагромаджень (в центрі вузла/перивенулярну, перисептальну /перипортальну, дифузну) (рис. 5.4).

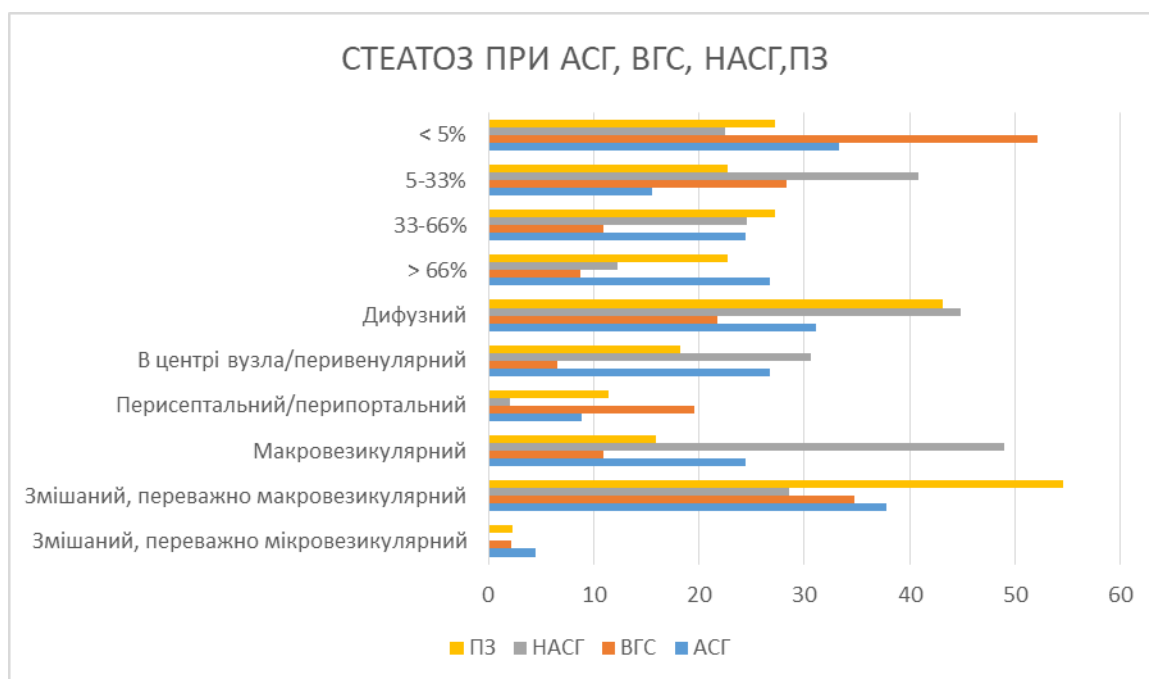


Рисунок 5.4 – Прояви стеатозу при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

У значній кількості випадків стеатоз був відсутнім. Переважно це були випадки ВГС (52,17%) та АСГ (33,33%). Ступінь вираженості стеатозу був найбільшим при АСГ ($>66\%$ у 26,67%) та при ПЗ ($>66\%$ у 22,73%). Найменше значення цей показник мав при ВГС ($>66\%$ у 8,7%). При НАСГ

ступінь вираженості жирової дистрофії мав проміжне значення (>66% у 12,24%). Статистично значущі відмінності спостерігались лише стосовно групи ВГС, показники якої значно відрізнялись від інших трьох груп ($p=0,0000$), маючи протилежну направленість в порівнянні з групою АСГ та ПЗ.

Оцінка локалізації жирових вакуолей у вузлах показала наявність значущих відмінностей для всіх чотирьох груп. Переважали дифузні зміни, які при НАСГ виявлялись у 44,90%, при ПЗ – у 43,18%, при АСГ у 31,11%, а при ВГС – у 21,74%. Перисептальна/пери портална локалізація домінувала при ВГС (19,57%), що значуще відрізняло цю групу в порівнянні з іншими трьома. Таким чином обидві групи показників виявили значущі особливості при досліджуваних захворюваннях, що свідчить про можливість їх використання при диференційній діагностиці.

Ознаки пошкодження включали також прояви, асоційовані із загибеллю гепатоцитів. До них відносились балонні зміни гепатоцитів та апоптозні тільця. На місці загиблих клітин або біля них зазвичай виявлялись інфільтрати, до складу яких входили переважно мононуклеарні клітини, а іноді – нейтрофільні лейкоцити. Тому ми вважали за доцільне розглядати прояви альтерації та інфільтрації разом (рис.5.4).

При вивченні ознак пошкодження/інфільтрації оцінювались наступні види виявлених змін: балонні зміни (поодинокі або групи клітин), перисептальні інфільтрати (незначні, помірні або виражені), інтралобулярні інфільтрати (поодинокі, множинні, асоційовані з апоптичними тільцями), септальні інфільтрати (вогнищеві, дифузні, асоційовані з пошкодженими дуктулами).

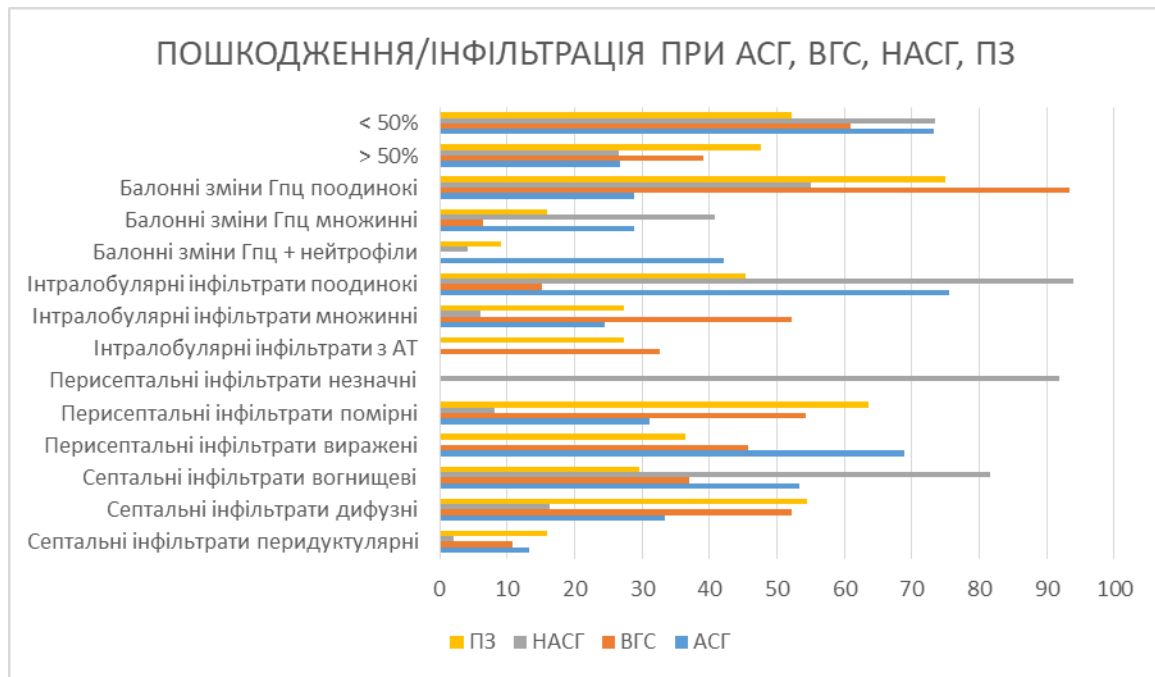


Рисунок 5.4 – Прояви пошкодження/інфільтрації при алкогольному стеатогепатиті (АСГ), вірусному гепатиті С (ВГС), неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях (ПЗ)

При дослідженні частоти варіанту пошкодження/інфільтрації у вигляді балонних змін гепатоцитів АСГ значуще вирізнявся поміж іншими групами – переважали множинні ураження, асоційовані з інфільтрацією нейтрофілами (42,22%, $p=0,0000$). Група ВГС теж значуще відрізнялась від інших, оскільки у цих випадках зміни були мінімальними у 93,48% ($p=0,0000$). Граничними були відмінності між групами НАСГ та АСГ ($p=0,0967$).

Дослідження частоти інтралобулярної інфільтрації, асоційованої з апоптичними тільцями, показало наявність значущих відмінностей між усіма чотирма групами. Найбільш вираженим процес був при ВГС (32,61%) при ПЗ (27,27%) ($p=0,0303$). Мінімальним зміни були при НАСГ (93,88%) та дещо більш вираженими при АСГ (75,56%) ($p=0,0132$).

Ще одним з варіантів пошкодження/інфільтрації були перисептальні інфільтрати, які спостерігались на місці зруйнованої пограничної пластинки і

проникали на різну глибину всередину часточки. Найбільш вираженим такі зміни були при АСГ (68,89%) та ВГС (45,65%) і найменш вираженими при НАСГ (91,84%). Відмінності у частоті виявлення цих змін були значущими для всіх досліджуваних груп крім пари ВГС та ПЗ ($p=0,3733$).

Аналіз частоти септальних інфільтратів показав, що НАСГ значуще відрізняється від інших трьох груп: переважали мінімально виражені інфільтрати у сполучнотканинних септах (81,63%). Відмінності між АСГ та ПЗ були граничними ($p=0,0533$), а між АСГ та ВГС і ВГС і ПЗ незначущими ($p=0,2390$ та $p=0,3743$ відповідно).

Таким чином серед групи ознак, які описують прояви пошкодження/інфільтрації, значущі відмінності між всіма групами були виявлені щодо частоти балонних змін, інтралобулярних та перисептальних інфільтратів. При аналізі частоти септальних інфільтратів між деякими групами відмінності були незначущими.

Отже проведений аналіз показав наявність значущих відмінностей у переважаючому морфогенетичному варіанті, ступені реорганізації часточки і особливостях регресії змін, а також збереженні типових ознак пошкодження/інфільтрації на пізніх стадіях розвитку АСГ, НАСГ та ВГС.

Порівняння частоти виявлених показників дозволило визначити найбільш характерні ознаки досліджуваних захворювань. При АСГ значуще переважав СС 66,7% (95% ДІ 51-80%) ($p=0,03$) та дифузна ДР (88,89%, 95% ДІ 80,4-97,7%) ($p<0,01$) (рис.5.7). Значуще переважали великі вузли (82,22%; 95% ДІ 67,9-92%). Найчастіше спостерігалась наявність портопортальних та портоцентральных септ (без значущого переважання) – 66,7%. Переважали множинні інтра- та перисептальні судини (60%). Ознаки порушення організації тканинної структури, зумовлені регенерацією гепатоцитів, були мінімальними і обмежувались дисконкомплексцією балок у 40%, ознаки потовщення балок спостерігались дещо рідше (26,67%). Приблизно в третині випадків виявлялись гландулярні структури (33,33%). Але відмінності від інших груп за цією характеристикою не були значущими.



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

Рисунок 5.7 – Характерні патогістологічні прояви алкогольного стеатогепатиту

Ступінь вираженості стеатозу був найбільшим (>66% у 26,67%, а сумарно 33-100% у 51,1%). Локалізація ліпідних нагромаджень була переважно дифузною (46,%) або перивенулярною (40%). Найчастіше стеатоз мав змішаний характер з переважанням макровакуольних змін – до 56,7% випадків стеатозу. У більшості випадків ознаки пошкодження/інфільтрації займали менш, ніж половину часточки (73,33%). Поодинокі та множинні вогнища гепатоцитів з балонними змінами зустрічались з однаковою частотою (28,89%). Найвищою була частка змін, асоційованих з інфільтрацією нейтрофілами (42,22%), що значуще відрізнялось від інших груп. Переважали поодинокі інтралобулярні вогнища мононуклеарних клітин (переважання значуще, $p < 0,05$): 75,56% (95% ДІ). Спостерігалось переважання виражених перисептальних інфільтратів (68,89%). Кореляція

інтенсивності лобулярної та перисептальної інфільтрації була помірно позитивною (τ Кендала 0,27, $p < 0,01$).

Зміни при поєднанні АСГ з іншими захворюваннями представлені на рис.5.8.

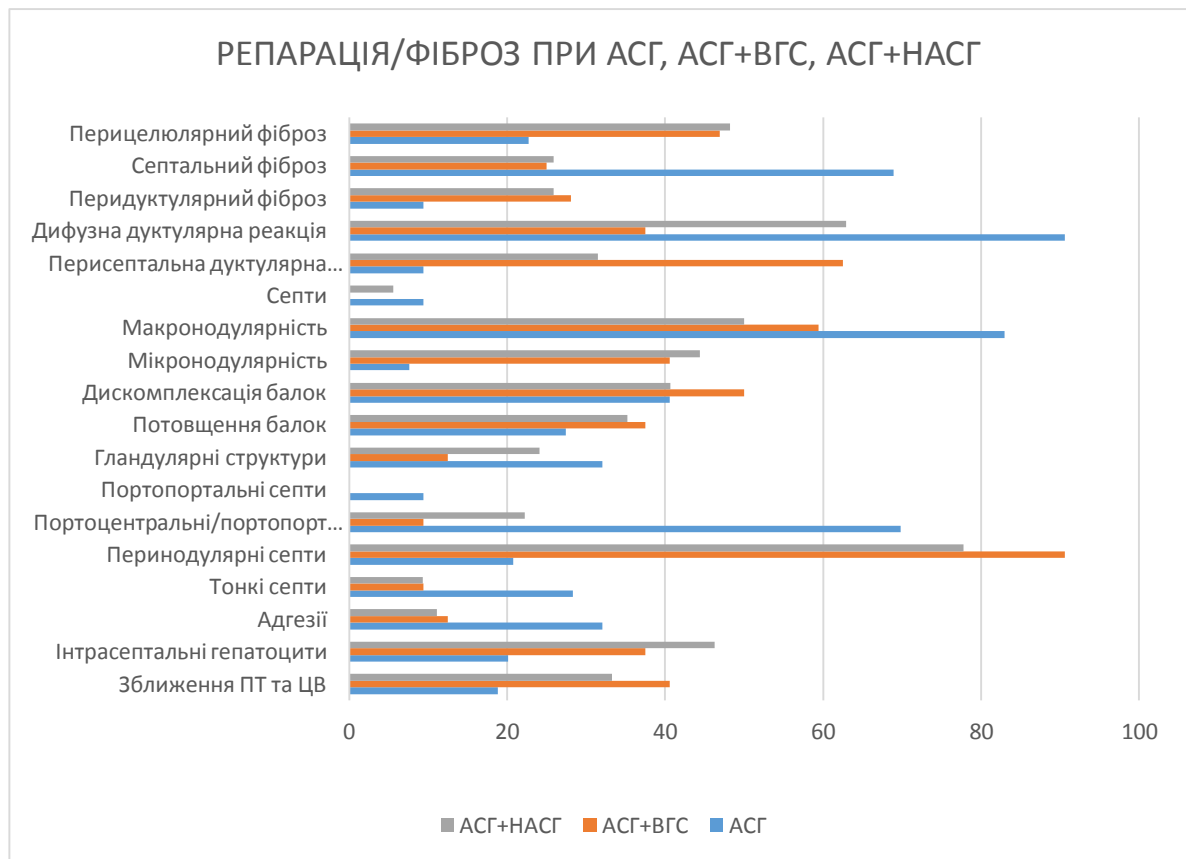


Рисунок 5.8 – Прояви репарації та фіброзу при алкогольному стеатогепатиті (АСГ) та поєднаних захворюваннях: алкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С (АСГ+ВГС), алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (АСГ+НАСГ)

При поєднанні АСГ та ВГС значуще змінювалось співвідношення між різними гістотопографічними формами фіброзу: перицелюлярний та перидуктуальний фіброз зустрічались частіше, ніж при АСГ (вдвічі і втричі відповідно), а перисептальний – в 2,8 разів рідше. Значущими були також відмінності щодо типу ДР: дифузної – 37,5% проти 90,6% при АСГ та перисептальної – 62,5% проти 9,4% при АСГ. В групі АСГ+ВГС частіше виявлялась мікронодулярність, портоцентральної та перинодулярні септи

($p < 0,05$). Відмінності щодо паренхіматозних змін не були значущими. З ознак регресії фіброзу адгезії та тонкі септи зустрічались рідше, а зближення ПТ та ЦВ і інтрасептальні гепатоцити – частіше, ніж при АСГ, але відмінності теж не були значущими. Частіше зустрічались поширені форми стеатозу (у 31,3% займали $>66\%$ площі), причому при АГС+ВГС переважали перисептальні ураження, хоча відмінності не були значущими (рис.5.9). Балонні зміни гепатоцитів зустрічались рідше – переважали поодинокі ураження (у 90,6% проти 27,6% при АСГ), а кількість інтралобулярних інфільтратів, особливо з апоптозними тільцями, які при АСГ взагалі не зустрічались, навпаки була більшою (56,3%). Відмінностей щодо перисептальних інфільтратів не відмічалось, а частота дифузних септальних інфільтратів була дещо вищою, ніж при АСГ 53,1% проти 33,9% при АСГ).

При поєднанні АСГ та НАСГ теж значуще змінювалось співвідношення між різними гістотопографічними формами фіброзу: перицелюлярний та перидуктальний фіброз зустрічались частіше, ніж при АСГ (в 2,1 і в 2,75 рази відповідно), а перисептальний – в 2,6 разів рідше. Значущими були також відмінності щодо типу ДР: дифузної – 62,9% проти 90,6% при АСГ та перисептальної – 31,5% проти 9,4% при АСГ. В групі АСГ+НАСГ частіше виявлялась мікронодулярність, портоцентральні та перинодулярні септи ($p < 0,05$), хоча відмінності були менш вираженими, ніж при порівнянні з АСГ+ВГС. Відмінності щодо паренхіматозних змін не були значущими. З ознак регресії фіброзу адгезії та тонкі септи зустрічались рідше, а зближення ПТ та ЦВ і інтрасептальні гепатоцити – частіше, ніж при АСГ, але відмінності теж не були значущими. Частіше зустрічались поширені форми стеатозу (33-66% площі у 31,5%) , причому при АГС+НАСГ переважали центральні ураження, хоча відмінності не були значущими. Балонні зміни гепатоцитів зустрічались рідше – переважали поодинокі ураження (у 61,1% проти 27,6% при АСГ), а кількість інтралобулярних інфільтратів, зокрема з апоптозними тільцями, які при АСГ взагалі не зустрічались, навпаки була помірною (20,4%).

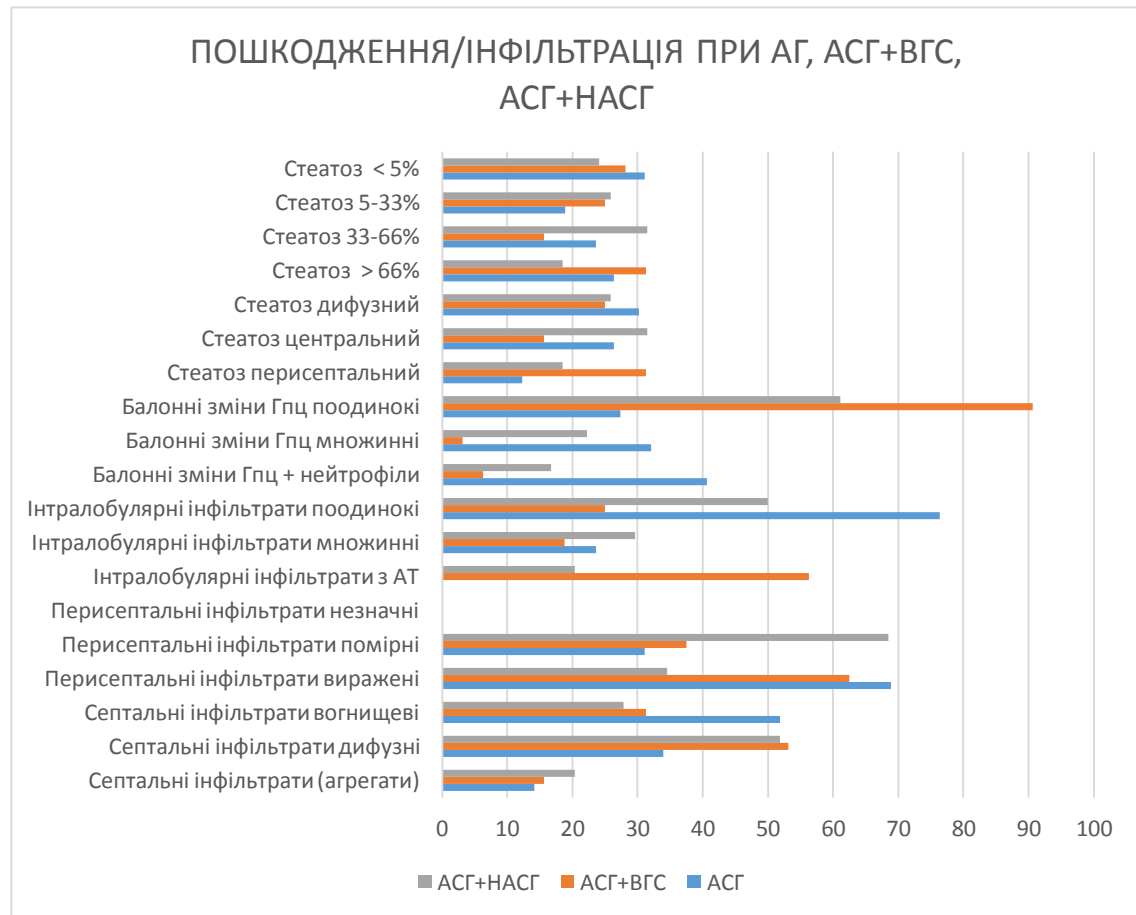
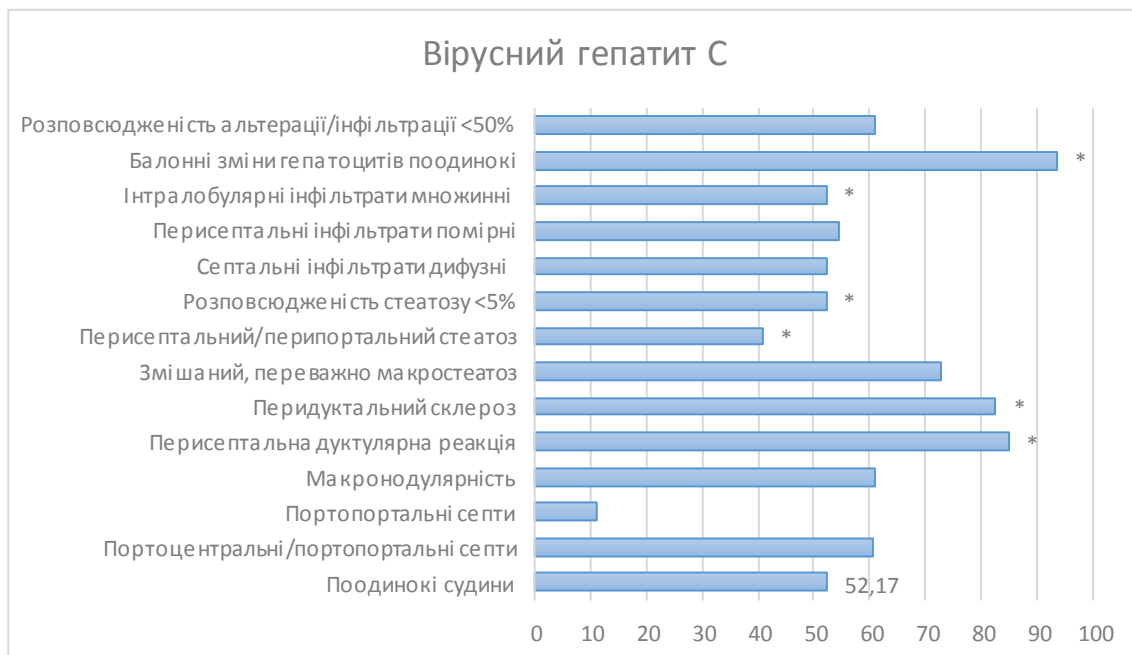


Рисунок 5.9 – Прояви пошкодження/інфільтрації при алкогольному стеатогепатиті (АСГ) та поєднаних захворюваннях: алкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С (АСГ+ВГС), алкогольному та неалкогольному стеатогепатиті (АСГ+НАСГ)

Серед перисептальних інфільтратів переважали помірні (при АСГ – виражені) не відмічалось, а частота дифузних септальних інфільтратів була дещо вищою, ніж при АСГ (53,9% проти 33,9% при АСГ).

При ВГС значуще переважав СДР 82,6% (95% ДІ 68,6-92,2%) ($p=0,02$) та перисептальна ДР (84,78%, 95% ДІ 71,1-93,7%). (рис.5.10). Близько у половині усіх випадків (переважання не значуще; $p>0,1$) спостерігались великі вузли (60,87%; 95% ДІ 45,4-74,9%). Найчастіше спостерігалась наявність портопортальних та портоцентральных септ (без значущого переважання) – та 50%.



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

Рисунок 5.10 – Характерні патогістологічні прояви вірусного гепатиту С

У більшості випадків виявлялись ознаки реорганізації МЦР, однак у 52,2% це були поодинокі інтра- та перисептальні судини. Найчастіше виявлялись ознаки потовщення балок (39,13%), але майже з такою ж частотою спостерігались лише прояви дисконфлексії балкових структур (36,96). Гландулярні структури визначались у 23,91% випадків. Але відмінності від інших груп за цією характеристикою не були значущими. Частота випадків, де стеатоз був фактично відсутнім сягала 52,17%, а стеатоз понад 66% – лише у 8,7%. У 40,9% випадків стеатозу ліпідні нагромадження розміщувались пери-септально/перипортально. Найчастіше стеатоз мав змішаний характер з переважанням макровакуольних змін – до 72,7% випадків стеатозу. У більшості випадків ознаки пошкодження/інфільтрації займали менш, ніж половину часточки (60,87%). Переважали множинні вогнища гепатоцитів з балонними змінами (93,8%), які не асоціювались з інфільтрацією нейтрофілами. Переважали поодинокі інтралобулярні вогнища

мононуклеарних клітин (переважання значуще, $p < 0,05$): 93,88% (95% ДІ). Перисептальна інфільтрація була помірного ступеня. Кореляція інтенсивності лобулярної та перисептальної інфільтрації була сильно позитивною (τ Кендала 0,723, $p < 0,001$).

При поєднанні ВГС з АСГ значно зростала частота перицелюлярного фіброзу (у 12 разів), натомість перидуктальний фіброз виявлявся рідше (у 3 рази), порівняно з ВГС (рис.5.11).

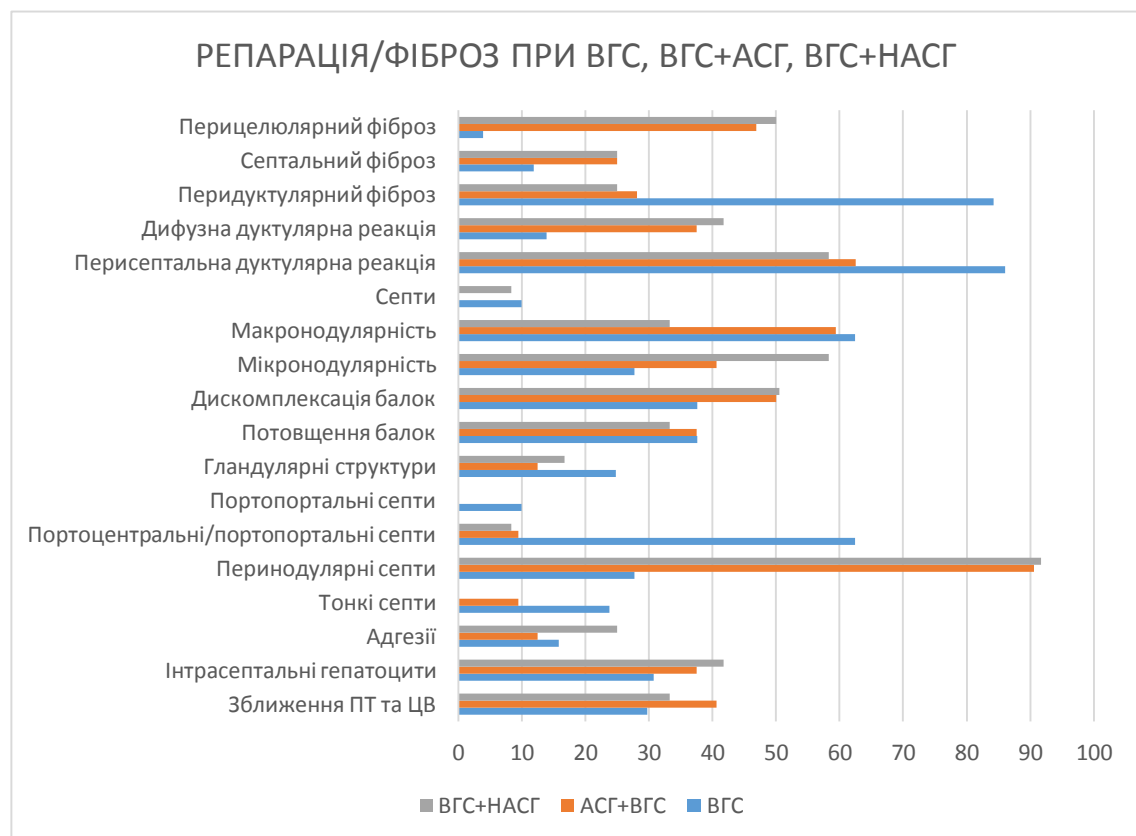


Рисунок 5.11 – Прояви репарації та фіброзу при вірусному гепатиті С (ВГС) та поєднаних захворюваннях: вірусному гепатиті С та алкогольному стеатогепатиті (ВГС+АСГ), вірусному гепатиті С та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+НАСГ)

Значуще зменшувалась частота перисептальної ДР (86,1% при ВГС і 62,5% при ВГС+АСГ). Частіше спостерігались мікронодулярність (у 40,6% проти 27,7% , $p > 0,05$) та перинодулярні септи (90,6% проти 27,7% при

ВГС). Із паренхімаотзних змін більшою була частота дисконкомплексації балок, але відмінності не були значущими. З ознак регресії фіброзу частіше, ніж при ВГС виявлялись інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ, але відмінності були незначущими. Значуще частіше спостерігався виражений (>66% площі) стеатоз у центральних та перисептальних відділах, на відміну від дифузних змін при ВГС ($p>0,05$) (рис.5.12).

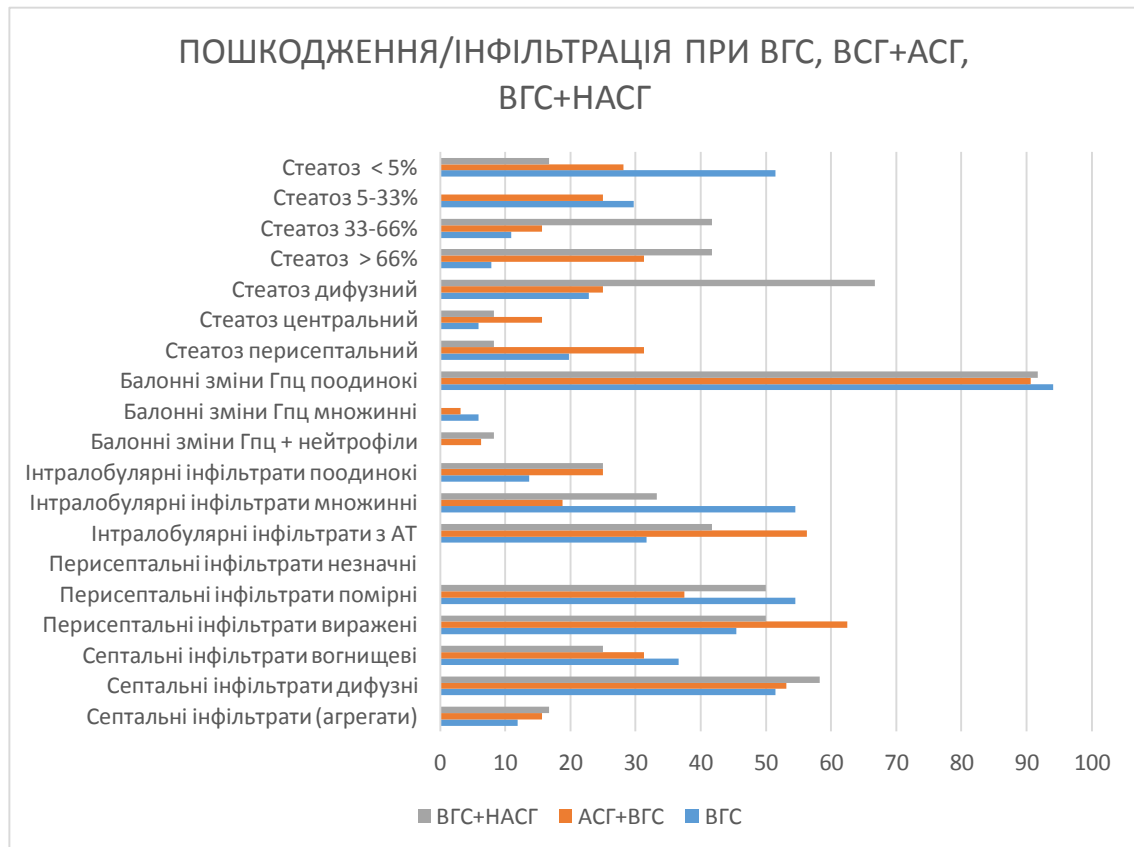


Рисунок 5.12 – Прояви пошкодження/інфільтрації при вірусному гепатиті С (ВГС) та поєднаних захворюваннях: вірусному гепатиті С та алкогольному стеатогепатиті (ВГС+АСГ), вірусному гепатиті С та неалкогольному стеатогепатиті (ВГС+НАСГ)

Переважаючі поодинокі балонні зміни гепатоцитів виявлялись з такою ж частотою, як і при ВГС, а інтралобулярні та перисептальні інфільтрати

були більш вираженими і спостерігались частіше. Серед септальних інфільтратів, як і при ВГС переважали дифузні.

При поєднанні ВГС з НАСГ перичелюлярний фіброз виявлявся найчастіше (у 12,8 разів частіше, ніж при ВГС), а частота септального та дуктулярного майже не відрізнялась. Значуще зменшувалась частота перисептальної ДР (86,2% при ВГС і 58,3% при НАСГ+ВГС). Переважали дрібні вузли (58,3% проти 27,7% при ВГС) та перинодулярні септи (91,7% проти 27,7% при НАСГ). Частота паренхімаотзних змін майже не відрізнялась від групи ВГС (частіше виявлялась дисконкомплексція балок ($p > 0,05$)). З ознак регресії фіброзу частіше, ніж при НАСГ виявлялись інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ, але відмінності були незначущими. Частіше спостерігався помірний та поширений (33-66% та $> 66\%$ площі) стеатоз ($p < 0,05$), який був переважно дифузним (66,7%, $p > 0,05$). Балонні зміни гепатоцитів, як і при ВГС були переважно поодинокими (91,7%) а інтралобулярні інфільтрати навпаки множинними з апоптозними тільцями ($p < 0,05$). Значуще частішими були також помірні та виражені перисептальні інфільтрати. Частота перисептальних та септальних інфільтратів була майже такою ж, як і при ВГС.

При НАСГ найчастіше спостерігався ПЦС, але переважання не було значущим 55,1% (95% ДІ 43,2-73,0%) $p > 0,1$. Дифузна ДР значуще переважала (91,84%, 95% ДІ 75,9-96,3%) ($p < 0,01$) (рис.5.13). Спостерігався переважно (переважання значуще, $p < 0,01$) неповний цироз з нечіткими вузлами (89,8%; 95% ДІ 77,8-96,6%). Сформовані вузли при цій патології виявлялись лише у 8,16% (великі) та у 2,04% (дрібні). Найчастіше (переважання значуще, $p < 0,01$) виявлялися тільки портопортальні септи (81,6%; 95% ДІ 68-91.2%).



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

Рисунок 5.13 – Характерні патогістологічні прояви неалкогольного стеатогепатиту

Структура МЦР була переважно збереженою (89,7%). Переважали мінімальні ознаки реорганізації паренхіми – дисконкомплексція балок (40,82%). Майже з однаковою частотою виявлялись потовщення балок (30,61%) та гландулярні структури (28,57%). Але відмінності від інших груп за цією характеристикою не були значущими. Ступінь вираженості жирової дистрофії посідав проміжне місце і у цій групі найчастіше траплялися випадки помірного стеатозу (5-33%). Дифузна жирова дистрофія виявлялась у 57,9% усіх випадків стеатозу, але досить значною була і частка перивенулярних ліпідних нагромаджень (39,5%). Макровакуольний стеатоз спостерігався більш ніж у половині випадків стеатозу (53,2%), що значуще відрізнялось від інших груп. У більшості випадків ознаки пошкодження/інфільтрації займали менш, ніж половину часточки (73,47%). Частота випадків з переважанням поодиноких вогнищ гепатоцитів з

балонними змінами (55,10%) була незначно вищою, ніж спостережень з множинними вогнищами (40,82%). Асоційовані інфільтрати нейтрофілів зустрічались рідко (4,08%). Переважали поодинокі інтралобулярні вогнища мононуклеарних клітин (переважання значуще, $p < 0,05$): 93,88% (95% ДІ). Незначна інфільтрація на межі між септою та паренхімою була майже у всіх випадках при НАСГ (91,84%), що значуще відрізнялось від інших груп. Кореляції між інтенсивністю лобулярної та перисептальної інфільтрації взагалі не було виявлено (τ Кендала -0,076, $p = 0,44$).

При поєднанні НАСГ з АСГ (рис.5.14) перицелюлярний фіброз

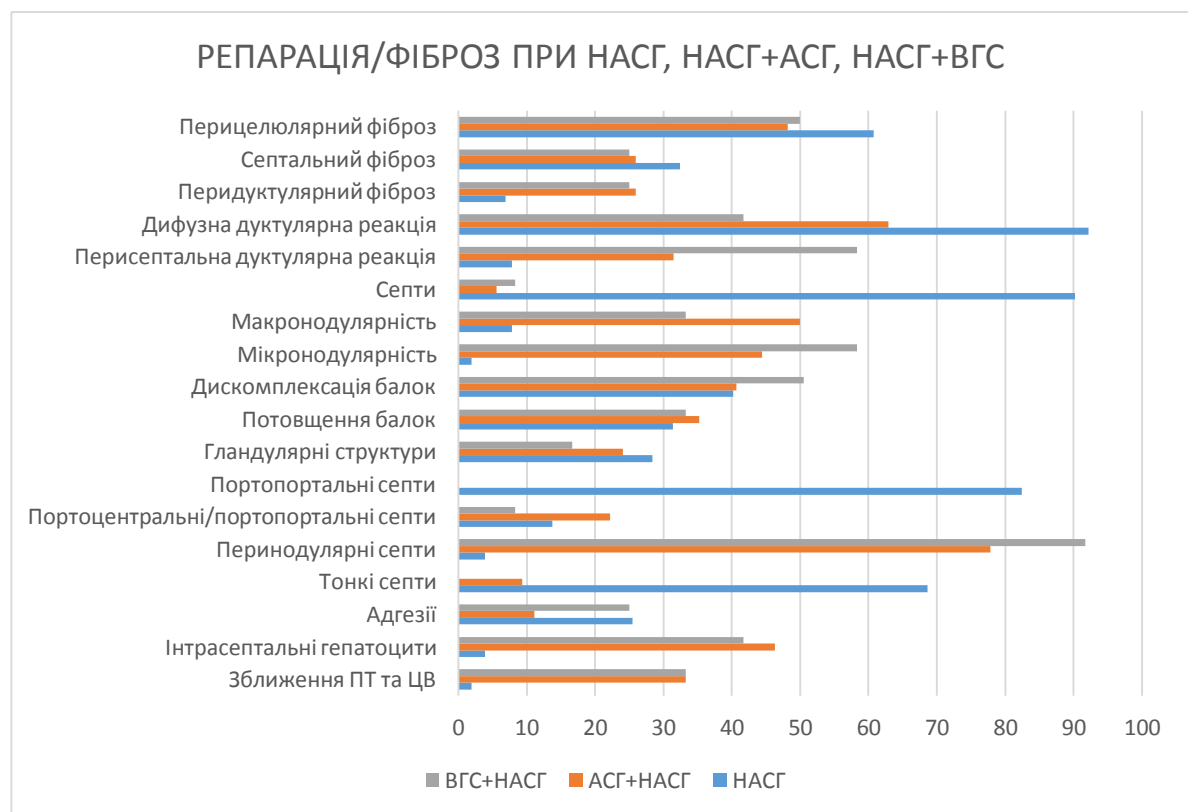


Рисунок 5.14 – Прояви репарації та фіброзу при неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях: неалкогольному та алкогольному стеатогепатиті (НАСГ+АСГ), неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С (НАСГ+ВГС)

виявлявся найчастіше (48,2%), хоча і рідше, ніж при НАСГ (60,8%), а частота септального та дуктулярного була однаковою (25,9%). Значуще

збільшувалась частота перисептальної ДР (7,8% при НАСГ і 31,5% при НАСГ+АСГ). Частіше спостерігались макро- та мікронодулярність (у 50% та 44,4% відповідно, $p < 0,05$) та перинодулярні септи (77,8% проти 3,9% при НАСГ). Частота паренхіматозних змін майже не відрізнялась від групи НАСГ. З ознак регресії фіброзу частіше, ніж при НАСГ виявлялись інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ, але відмінності були незначущими.

Частіше спостерігався помірний (33-66% площі) стеатоз у перисептальних відділах ($p > 0,05$) (рис.5.15).

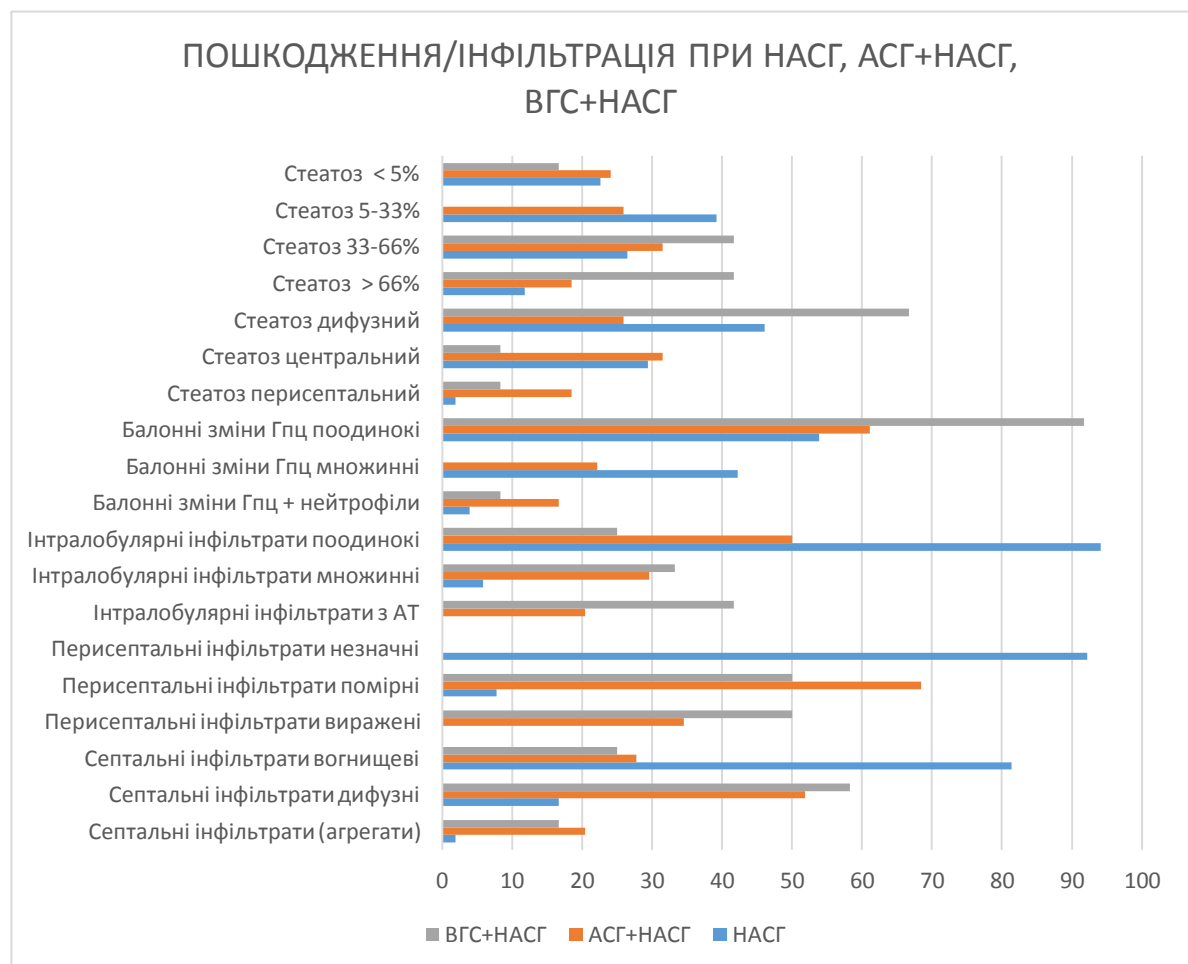


Рисунок 5.15 – Прояви пошкодження/інфільтрації при неалкогольному стеатогепатиті (НАСГ) та поєднаних захворюваннях: неалкогольному та алкогольному стеатогепатиті (НАСГ+АСГ), неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С (НАСГ+ВГС)

Значуще частішими були ознаки пошкодження: балонні зміни гепатоцитів та інтралобулярні інфільтрати, а також помірні та виражені перисептальні інфільтрати. Серед септальних інфільтратів переважали дифузні (52,9%) в той час, як при НАСГ – вогнищеві (81,4%).

При поєднанні НАСГ з ВГС перичелюлярний фіброз виявлявся найчастіше (50%), хоча і рідше, ніж при НАСГ (60,8%), а частота септального та дуктулярного була однаковою (25%). Значуще збільшувалась частота перисептальної ДР (7,8% при НАСГ і 58,3% при НАСГ+ВГС). Переважали дрібні вузли (58,3% проти 1,9% при НАСГ) та перинодулярні септи (91,7% проти 3,9% при НАСГ). Частота паренхімаотзних змін майже не відрізнялась від групи НАСГ (частіше виявлялась дисконкомплексція балок ($p>0,05$)). З ознак регресії фіброзу частіше, ніж при НАСГ виявлялись інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ, але відмінності були незначущими. Частіше спостерігався помірний та поширений (33-66% та $>66\%$ площі) стеатоз, який був переважно дифузним (66,7%, $p>0,05$). Балонні зміни гепатоцитів були переважно поодинокими (91,7% проти 53,9% при НАСГ) а інтралобулярні інфільтрати навпаки множинними з апоптозними тільцями (41,7% проти 0% при НАСГ). Значуще частішими були також помірні та виражені перисептальні інфільтрати. Серед септальних інфільтратів переважали дифузні (58,3%) в той час, як при НАСГ – вогнищеві (81,4%).

При ПЗ найчастіше спостерігався ПЩС, але переважання не було значущим 52,3% (95% ДІ 36,7-67,5%), ($p>0,1$) (рис.5.16). Обидва варіанти локалізації ДР виявлялись приблизно з однаковою частотою: дифузна – 56,72% (95% ДІ 41,0-71,7%), а перисептальна – 43,18% (значущого переважання немає $p>0,1$). Близько у половині усіх випадків (переважання не значуще; $p>0,1$) спостерігалась великі вузли (50%), однак дрібні вузли виявлялись майже з такою ж частотою (45,45%; 95% ДІ 34,6-65,4%), а неповний цироз був рідкісним (4,55%).



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

Рисунок 5.16 – Характерні патогістологічні прояви у групі поєднаних захворювань

Значуще домінували перинодулярні септи (86,4%; 95% ДІ 72,6-94,8%), $p < 0,01$. Переважали множинні інтра- та перисептальні судини (72,7%). Домінували мінімальні ознаки реорганізації паренхіми – дисконкомплексція балок (45,45%). Але відмінності від інших груп за цією характеристикою не були значущими. Ступінь вираженості стеатозу був високим (>66% у 22,73%, а сумарно 33-100% – у 50%). Дифузна жирова дистрофія виявлялась у 59,4% усіх випадків стеатозу, але досить значною була і частка перивенулярних ліпідних нагромаджень (25%). Найчастіше стеатоз мав змішаний характер з переважанням макровакуольних змін – до 66,7% випадків стеатозу. Частки випадків, в яких ознаки пошкодження/інфільтрації займали менш, ніж половину часточки, або були більш розповсюдженими, були майже однаковими (52,27% та 47,73% відповідно). Переважали множинні вогнища гепатоцитів з балонними змінами (75%). Переважали інтралобулярні інфільтрати у вигляді множинних вогнищ (54,55%).

Перисептальна інфільтрація була помірного ступеня. Кореляція інтенсивності лобулярної та перисептальної інфільтрації була сильно позитивною (τ Кендала 0,787, $p < 0,001$).

Згідно даних літератури та власних спостережень, нами було відібрано 12 ознак, які могли б виступати в ролі діагностичних критеріїв трьох нозологій: алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С.

Усі 12 ознак мали рангову шкалу, яка мала значення в діапазоні від двох (DR) до чотирьох (Steat v, Steat l, Rpr) одиниць, про що відображено в таблиці 5.14. Щодо діагнозів, то алкогольний стеатогепатит нами був закодований цифрою «1», неалкогольний стеатогепатит – «2», а вірусний гепатит С – «3».

Таблиця 5.14 – Ознаки, які були включені в аналіз для визначення діагностичних критеріїв трьох нозологій

№ з/п	Назва ознаки	Кількість рангів
1	Гістотопографічна форма фіброзу (Fibr t)	3
2	Поширеність стеатозу (Steat v)	4
3	Локалізація стеатозу (Steat l)	4
4	Балонні зміни гепатоцитів (Alt B)	3
5	Інтралобулярні інфільтрати (Alt A)	3
6	Перисептальні інфільтрати (Inf peri)	3
7	Інтрасептальні інфільтрати (Inf sp)	3
8	Тип септ (Scl spt)	3
9	Варіант нодулярності (NDL)	3
10	Дуктулярна реакція (DR)	2
11	Реорганізація паренхіми (Dsp)	3
12	Регресія фіброзу (Rpr)	4

Першочергово нами було проведено кореляційний аналіз щодо кодів кожної з ознаки та нашою умовною шкалою кодування діагнозів. Оскільки первинні дані були у вигляді рангованих шкал, то нами було застосовано ранговий метод кореляції Спірмена. Результати наведені в таблиці 5.15.

Таблиця 5.15 – Результати кореляційного аналізу поміж кодами ознак та кодами діагнозів

№ з/п	Назва ознаки	Коефіцієнт кореляції (Спірмена)
1	Дуктулярна реакція (DR)	0,65*
2	Балонні зміни гепатоцитів (Alt B)	-0,59*
3	Інтралобулярні інфільтрати (Alt A)	0,55*
4	Гістотопорафічна форма фіброзу (Fibr t)	0,48*
5	Поширеність стеатозу (Steat v)	0,26*
6	Перисептальний інфільтрат (Inf peri)	-0,14*
7	Локалізація стеатозу (Steat l)	-0,13*
8	Регресія фіброзу (Rpr)	0,11
9	Інтрасептальний інфільтрат (Inf spt)	0,10
10	Варіант нодулярності (NDL)	0,08
11	Тип септ (Scl spt)	0,02
12	Реорганізація паренхіми (Dsp)	-0,02

Примітка: * - коефіцієнт кореляції достовірний ($p < 0,05$)

Як засвідчують наведені результати, з-поміж 12-ти ознак у семи існує достовірний ($p < 0,05$) зв'язок поміж кодами ознаки та нашою умовною шкалою кодування діагнозів. Встановлено, що для вірусного гепатиту С (код «3») характерні високі коди таких ознак як DR, Alt A, Fibr t та Steat v (оскільки виявлено прямі кореляційні зв'язки), а також низькі коди таких ознак як Alt B, Inf peri та Steat l (оскільки виявлено зворотні кореляційні зв'язки). Водночас для алкогольного стеатогепатиту (код «1») навпаки характерні низькі коди таких ознак як DR, Alt A, Fibr t, Steat v та високі коди таких ознак як Alt B, Inf peri та Steat l. Для кращої деталізації нами на рисунку 5.17 відображено взаємозв'язок поміж аналізованими діагнозами та показниками Alt A і Alt B.

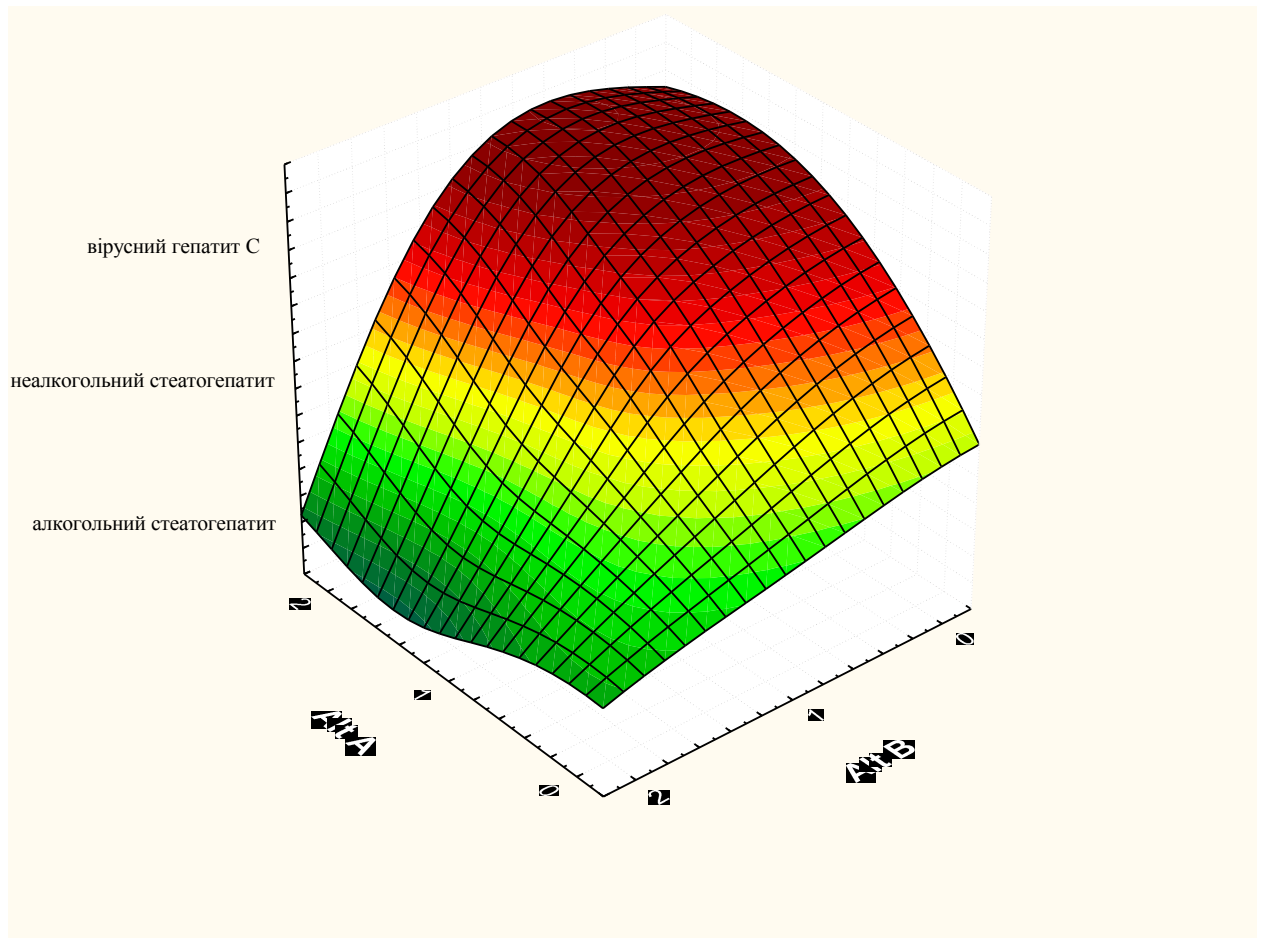


Рис. 5.17 Взаємозв'язок поміж аналізованими діагнозами та Alt A і Alt B.

Як засвідчують дані рисунку 5.17, для вірусного гепатиту С (червона зона) характерні коди 1 та 2 Alt A, що поєднуються з кодами 0 і 1 Alt B. Натомість для неалкогольного стеатогепатиту (жовта зона) характерні всі можливі комбінації Alt A та Alt B. Водночас для алкогольного стеатогепатиту (зелена зона) притаманні всі коди Alt A, що поєднуються з кодами 2 та 1 Alt B.

Враховуючи те, що деякі з ознак можуть взаємопов'язуватися поміж собою від впливу однієї із зазначених нозологій, нами застосовано метод множинної регресії для визначення тих ознак, які є достовірними діагностичними критеріями для кожного з аналізованих трьох діагнозів.

На першому етапі нами було включено в аналіз всі ознаки, для того щоб виокремити достовірні з них. Відтак було встановлено, що п'ять ознак

достовірно поєднуються для аналізованих діагнозів, а саме: Steat v, Alt B, Alt A, Inf peri та DR. В подальшому було проведено повторний аналогічний аналіз з включенням лише достовірних ознак – значення бета коефіцієнтів, їх достовірності та направленості наведено в таблиці 5.16.

Таблиця 5.16 – Бета – коефіцієнти достовірних діагностичних критеріїв трьох нозологій

Діагностичний критерій	Бета – коефіцієнт	t - критерій	P
Поширеність стеатозу	0,127475	3,65	0,0003
Балонні зміни гепатоцитів	-0,421991	-7,22	<0,00001
Інтралобулярні інфільтрати	0,460191	7,89	<0,00001
Перисептальні інфільтрати	-0,328519	-7,87	<0,00001
Дуктулярна реакція	0,703488	9,20	<0,00001
Константа	1,266195	12,13	<0,00001

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. Отримані результати дозволяють стверджувати, що Steat v, Alt B, Alt A, Inf peri та DR при поєднаній дії залежать від одного з аналізованих нами діагнозів.

Значення плюс або мінус бета-коефіцієнтів визначають приналежність визначених діагностичних критеріїв до аналізованих нозологій виходячи з нашого умовного кодування. Відтак більші коди Steat v, Alt A та DR (ознак, які мають позитивне значення бета-коефіцієнту) є більш притаманними для

вірусного гепатиту С (код «3»), а менші коди – для алкогольного стеатогепатиту (код «1»). Натомість більші коди Alt B та Inf peri (ознак, які мають негативне значення бета-коефіцієнту) є більш притаманними для алкогольного стеатогепатиту (код «1»), а менші коди – для вірусного гепатиту С (код «3»). Дані результати співпадають з висновками кореляційного аналізу.

Відтак результуючим рівнянням (1) нашої моделі у якому відображено яким чином відбувається поєднання кодів п'яти діагностичних критеріїв в залежності від діагнозу є:

$$0,127475 * \text{Steat v} - 0,421991 * \text{Alt B} + 0,460191 * \text{Alt A} - 0,328519 * \text{Inf peri} + 0,703488 * \text{DR} + 1,266195 = \text{діагноз} \quad (1)$$

Для кращого розуміння наводимо можна навести наступний приклад. У пацієнта (*№ 1 у базі алкогольний стеатогепатит*) були наступні показники: Steat v = 3, Alt B = 2, Alt A = 1, Inf peri = 2, DR = 1. Підставивши зазначені показники у регресійне рівняння (1) отримуємо:

$$0,127475 * 3 - 0,421991 * 2 + 0,460191 * 1 - 0,328519 * 2 + 0,703488 * 1 + 1,266195 = 1,31 \approx 1$$

Тобто зазначені параметри відповідають діагнозу «алкогольний стеатогепатит», який був закодований цифрою «1».

У подальшому нами було проведено ранжування максимальної зміни досліджуваних ознак в залежності від діагнозу (табл. 5.17). Даний аналіз тотожний з розрахунком коефіцієнта еластичності та являє собою добуток максимального рангу ознаки на модуль бета-коефіцієнта.

Встановлено, що найбільш залежною ознакою від діагнозу є DR, яка на 25,36% детермінується первинним діагнозом. На другому та третьому місцях - Alt A та Alt B відповідно з показниками 24,88% та 22,81%. Inf peri максимально змінюється від діагнозу на 17,76%, а найбільш лабільною з аналізованих ознак є Steat v, яка лише на 9,19% залежить від первинного діагнозу.

Таблиця 5.17 – Значення можливої максимальної зміни ознак в залежності від діагнозу

Рейтингове місце	Ознака	%
1	Дуктулярна реакція	25,36
2	Інтралобулярні інфільтрати	24,88
3	Балонні зміни гепатоцитів	22,81
4	Перисептальні інфільтрати	17,76
5	Поширеність стеатозу	9,19

Встановлено, що найбільш залежною ознакою від діагнозу є DR, яка на 25,36% детермінується первинним діагнозом. На другому та третьому місцях - Alt A та Alt B відповідно з показниками 24,88% та 22,81%. Inf perі максимально змінюється від діагнозу на 17,76%, а найбільш лабільною з аналізованих ознак є Steat v, яка лише на 9,19% залежить від первинного діагнозу.

З метою визначення інформативності запропонованих моделей, нами було визначено точність, специфічність та чутливість, позитивне та негативне передбачувальне значення для кожного з математичних рівнянь (табл.5.18).

Таблиця 5.18 – Показники інформативності прогнозування алкогольного стеатогепатиту (АСГ), неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) та вірусного гепатиту С (ВГС)

Захворювання	Чутливість	Специфічність	Точність	Позитивне передбачувальне значення (PPV)	Негативне передбачувальне значення (NPV)
АСГ	65,09	97,04	86,08	92,00	84,19
НАСГ	86,27	65,70	72,49	55,35	90,67
ВГС	89,33	85,47	86,41	66,34	96,15

Встановлено, що ймовірність того, що математичне рівняння спрогнозує ризик стеатогепатиту при його наявності, тобто чутливість моделі становить 65,09%. Натомість ймовірність низького ризику при відсутності стеатогепатиту (у даному випадку наявності якоїсь іншої нозології з аналізованих трьох), тобто специфічність моделі становить 97,04%. Точність моделі (зважене середнє арифметичне поміж чутливістю та специфічністю) складає 86,08%. Ймовірність того, що у пацієнта є стеатогепатит при високому спрогнозованому ризику, тобто позитивне передбачувальне значення для даної моделі, складає 92,0%. Водночас, ймовірність того, що у пацієнта нема стеатогепатиту (у даному випадку є якась інша нозологія з аналізованих трьох) при низькому значення ризику, тобто негативне передбачувальне значення, становить 84,19%.

Аналогічно з'ясовано, що ймовірність того, що математичне рівняння спрогнозує ризик неалкогольного стеатогепатиту при його наявності, тобто чутливість моделі становить 86,27%. Натомість ймовірність низького ризику при відсутності неалкогольного стеатогепатиту, тобто специфічність моделі становить 65,70%. Точність моделі складає 72,49%. Ймовірність того, що у пацієнта є неалкогольний стеатогепатит при високому спрогнозованому ризику (PPV), складає 55,35%. Водночас, ймовірність того, що у пацієнта нема стеатогепатиту при низькому значення ризику (NPV) становить 90,67%.

Найкращими показники інформативності з-поміж отриманих моделей є для вірусного гепатиту С: чутливість моделі становить 89,33%, специфічність 85,47%, а точність – 86,41%. Ймовірність того, що у пацієнта є вірусний гепатит С при високому спрогнозованому ризику (PPV), складає 66,34%, а ймовірність того, що у пацієнта нема даного діагнозу при низькому значення ризику (NPV) становить 96,15%.

Коротке узагальнення

На основі комплексного підходу було виділено морфологічні прояви основних патологічних процесів, які переважають на пізніх стадіях розвитку

захворювань. Аналіз частоти напівкількісних показників дозволив виявити важливі особливості АСГ, НАСГ, ВГС та їх поєднань. При цьому акцент було зроблено на дослідженні особливостей репарації і фіброзу, реорганізації структури часточки, ознак регресії фіброзу/перебудови та проявів пошкодження/інфільтрації.

До діагностично важливих показників були віднесені: гістотопографічна форма фіброзу; тип дуктулярної реакції; варіант нодулярності, тип септ; ступінь реорганізації МЦР, ознаки регресії фіброзу/реорганізації, поширеність та локалізація стеатозу, балонні зміни гепатоцитів, вираженість перисептальних, інтралобулярних та септальних інфільтратів.

При АСГ переважав морфогенетичний варіант репарації 1 типу із перисептальним фіброзом (66,7%, $p < 0,05$) та дифузною ДР (88,9%, $p < 0,01$). Серед ознак тканинної реорганізації переважали великі вузли (82,2%, $p < 0,05$) асоційовані з портопортальними та портоцентральними септами з вираженою васкуляризацією. Із 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 (51,1%, вогнища гепатоцитів, асоційовані з інфільтрацією нейтрофілами (42,2%, $p < 0,05$). Крім того виявлялась виражена перисептальна інфільтрація (68,9%, $p < 0,05$).

Для НАСГ найбільш характерним був другий морфогенетичний варіант репарації, але при значущому переважанні дифузної ДР – 91,8%, $p < 0,01$ спостерігалась комбінація перицелюлярного (55,1%, $p > 0,1$) і септального () фіброзу. Тканинна перебудова обмежувалась септальним склерозом (89,8%, $p < 0,01$) з портоцентральними септами, а серед ознак регресії фіброзу/реорганізації значуще домінували тонкі перфоровані септи. Серед типових для НАСГ проявів пошкодження/інфільтрації виявлялись: помірний дифузний (57,9%, $p < 0,05$) або централобулярний (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.

При ВГС переважав морфогенетичний варіант репарації 3 типу (перидуктальний фіброз – 82,6%, $p < 0,05$ та перисептальна ДР – 84,78%, $p < 0,05$). Із 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. Із типових для ВГС ознак пошкодження/інфільтрації значуще частішою 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%, $p < 0,05$).

Оскільки результати проведеного дослідження показали статистично значущі відмінності у частоті виявлення описаних показників при АСГ, НАСГ та ВГС можна вважати, що запропоновані критерії дозволяють комплексно та повно описати морфологічні зміни, необхідні для визначення нозологічної форми, стадії розвитку та ступеня активності. За допомогою методу множинної регресії було встановлено, що найбільш залежною ознакою від діагнозу є тип дуктулярної реакції, який на 25,36% детермінується первинним діагнозом. На другому та третьому місцях - Alt A та Alt B відповідно з показниками 24,88% та 22,81%. Inf perі максимально змінюється від діагнозу на 17,76%, а найбільш лабільною з аналізованих ознак є Steat v, яка лише на 9,19% залежить від первинного діагнозу.

Досліджені нами морфологічні прояви процесів загоєння та репарації в поєднанні з ознаками пошкодження/інфільтрації можуть використовуватись для диференційної діагностики АСГ, ВГС, НАСГ та ПЗ на пізній стадії захворювання.

Матеріали даного розділу опубліковані у статтях [241-246, 248, 250] та апробовані на наукових форумах [240, 247, 249, 251].

РОЗДІЛ 6

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЇ КИСЛОТИ ТА ШОГЛІТАЗОНУ НА РОЗВИТОК ПРОЦЕСІВ ФІБРОЗУ ТА РЕПАРАЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

6.1 Морфологічні прояви пошкодження та загоєння при хронічному токсичному ураженні печінки в експерименті

Для дослідження процесів фіброзу та репарації в експерименті було обрано модель хронічного токсичного ураження печінки чотирьохокисом вуглецю, рекомендовану експертами Державного фармакологічного центру МОЗ України [211]. Такий вибір зумовлений перш за все тим, що на сьогодні вже описано на молекулярному рівні декілька важливих механізмів впливу CCl₄, які спричинюють патологічні зміни в тканині печінки. Крім того частина із цих механізмів задіяна у патогенезі таких захворювань як АСГ, НАСГ та ВГС. Зокрема це стосується таких внутрішньоклітинних процесів, як активація механізмів перекисного окислення ліпідів, утворення токсичних альдегідів з ВЖК, особливо 4-гідроксинонєналу, здатних приєднуватись до білків та впливати на їх активність, та впливу на деградацію мікросомального трансферного протеїну тригліцеридів. Крім того CCl₄ може мати опосередковані ефекти, регулюючи виділення таких важливих цитокінів, як TNF α , TGF α та β , NO, IL-6, IL-10. Крім того в дослідження було включено ще дві моделі хронічного гепатиту з раннім фіброзом, в яких застосовувався етанол [212,213].

Для підтвердження функціональних розладів у печінці було проведено вивчення вмісту ферментів у сироватці крові (аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, лужної фосфатази та γ -глутамілтранспептидази) у досліджуваних групах тварин. Встановлені зміни ферментної активності печінки свідчать про те, що у всіх досліджуваних моделях токсичного ураження печінки спостерігались порушення її функціонального стану.

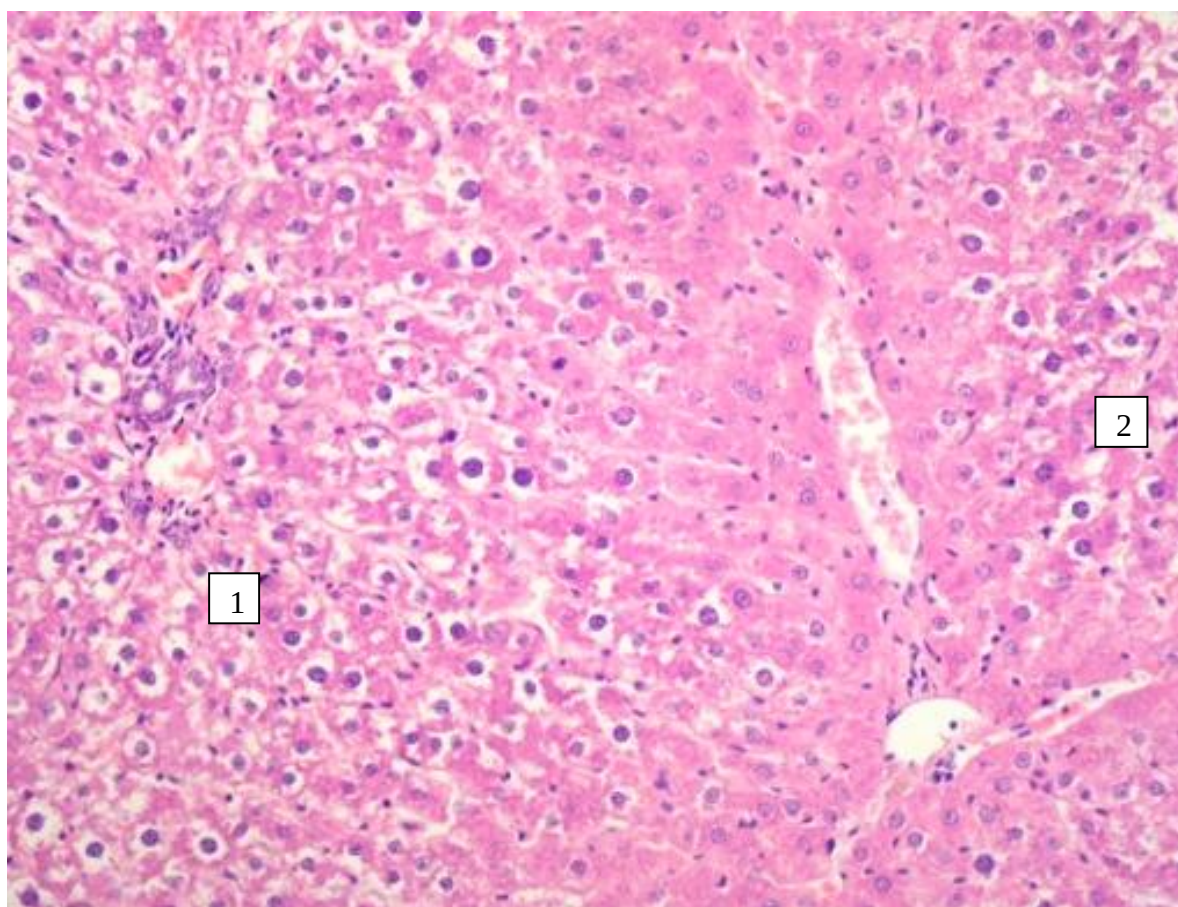
При дослідженні гістологічних змін у тканині печінки було виділено дві групи процесів – пошкодження та загоєння з ознаками фіброзу, ангиогенезу та регенерації. В кожній з досліджуваних моделей ці зміни оцінювались окремо і їх описи представлені у таблицях 6.1 і 6.2.

Таблиця 6.1 – Морфологічні прояви пошкодження в досліджуваних групах тварин

Групи тварин	Мікровакуольні зміни цитоплазми гепатоцитів	Макровакуольні зміни цитоплазми гепатоцитів	Загибель клітин (некроз, апоптоз гепатоцитів)
Контроль	Поодинокі	Відсутні	Відсутні
Тетрахлор-метан + етанол	Клітини з дрібними вакуолями у вигляді окремих вогнищ	Клітини з дрібними, великими вакуолями, гігантські гепатоцити з мультилокулярною цитоплазмою, дифузно розміщені у часточці	Множинні вогнищеві скупчення макрофагів на місці загиблих гепатоцитів, фігури апоптозу
Тетрахлор-метан	Невеликі групи клітин з дрібними вакуолями	Вогнища з 2-3 клітин, які містять одну велику вакуолу, що виповнює всю цитоплазму	Поодинокі вогнищеві скупчення макрофагів на місці загиблих гепатоцитів, фігури апоптозу
Етанол	Помірно виражене переважно у периферіальних ділянках	Відсутні	Поодинокі клітини з ознаками цитолізу та апоптозу

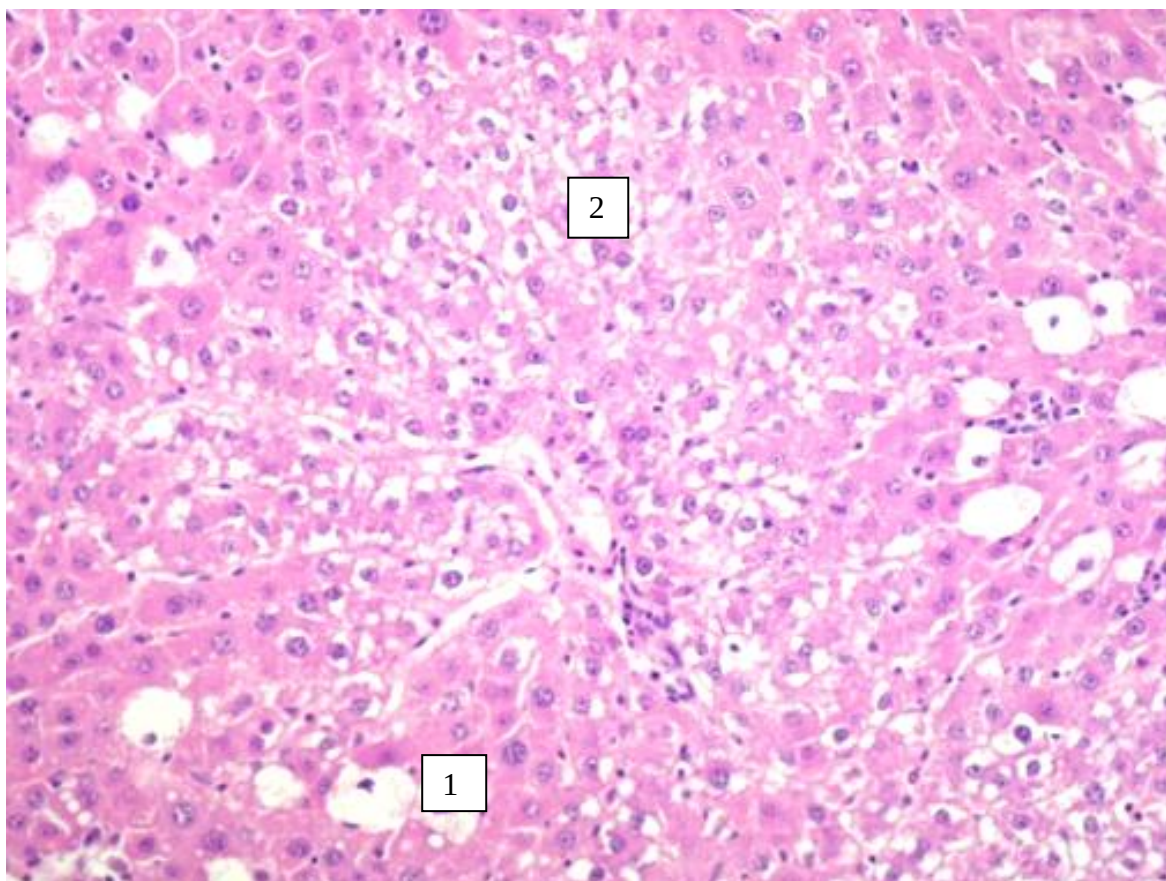
Частина виявлених морфологічних проявів була розцінена як ознаки та, можливо, ступені вираженості пошкодження (табл 6.4).

Наявність дрібних вакуолей в клітині, особливо у гепатоцитах перипортальних відділів часточки, імовірно асоціюється з незначним ступенем альтерації (рис.6.1).



- 1) мікровакуольні зміни гепатоцитів перипортальної зони;
 - 2) нерівномірне нагромадження глікогену у цитоплазмі гепатоцитів.
- Рисунок 6.1 – Прояви пошкодження (незначний ступінь). Тварина з групи 2 (тетрахлорметан). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10х20.

Формування таких вакуолей може бути зумовлено нагромадженням ліпідів, рідини або глікогену. Великовакуольні зміни із зміщенням ядра на периферію клітини та гігантські мультилокулярні гепатоцити з центрально розміщеним ядром відповідають помірним ураженням (рис.6.2).



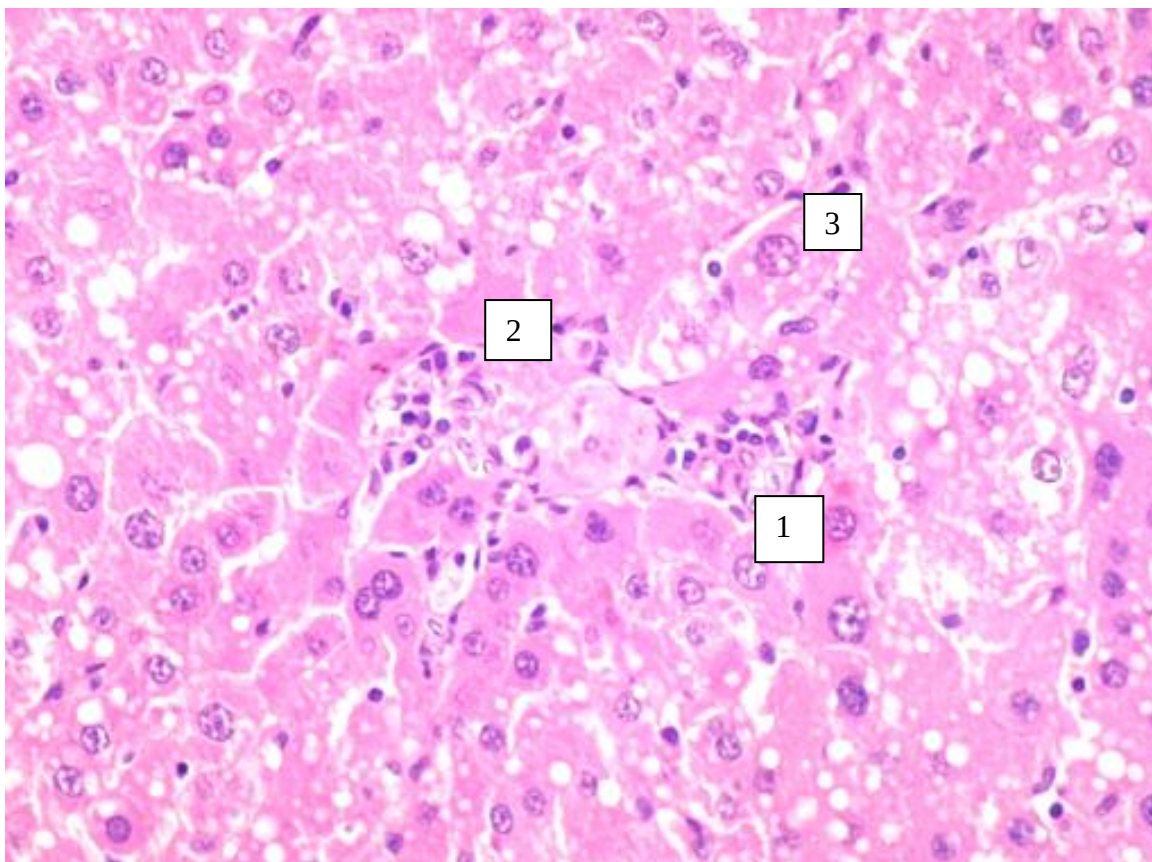
1) вогнища з 2-3 гігантських гепатоцитів з мультилокулярною цитоплазмою;

2) дрібні та великі вакуолі у цитоплазмі гепатоцитів.

Рисунок 6.2 – Прояви пошкодження (помірний ступінь). Тварина з групи 2 (тетрахлорметан). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10x20.

Наявність ознак загибелі клітин – вираженої еозинофілії цитоплазми з наступною фрагментацією клітини (апоптозу) або цитолізису та скупчення

макрофагів на місці загиблих гепатоцитів свідчить про значний ступінь вираженості пошкодження (рис.6.3).



1) вогнищеві скупчення макрофагів на місці загиблих гепатоцитів;

2) виражена еозинофілія та фрагментація окремих гепатоцитів
(апоптоз);

3) значний анізонуклеоз (ядра гепатоцитів різного розміру, з
множинними світлими включеннями та нрівномірним розподілом
хроматину).

Рисунок 6.3 – Прояви пошкодження (значний ступінь). Тварина з групи
2 (тетрахлорметан). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10x40.

Ознаки загибелі гепатоцитів асоціювались з різним ступенем макро- та мікровакуольних змін гепатоцитів, ознаками анізонуклеозу, наявністю

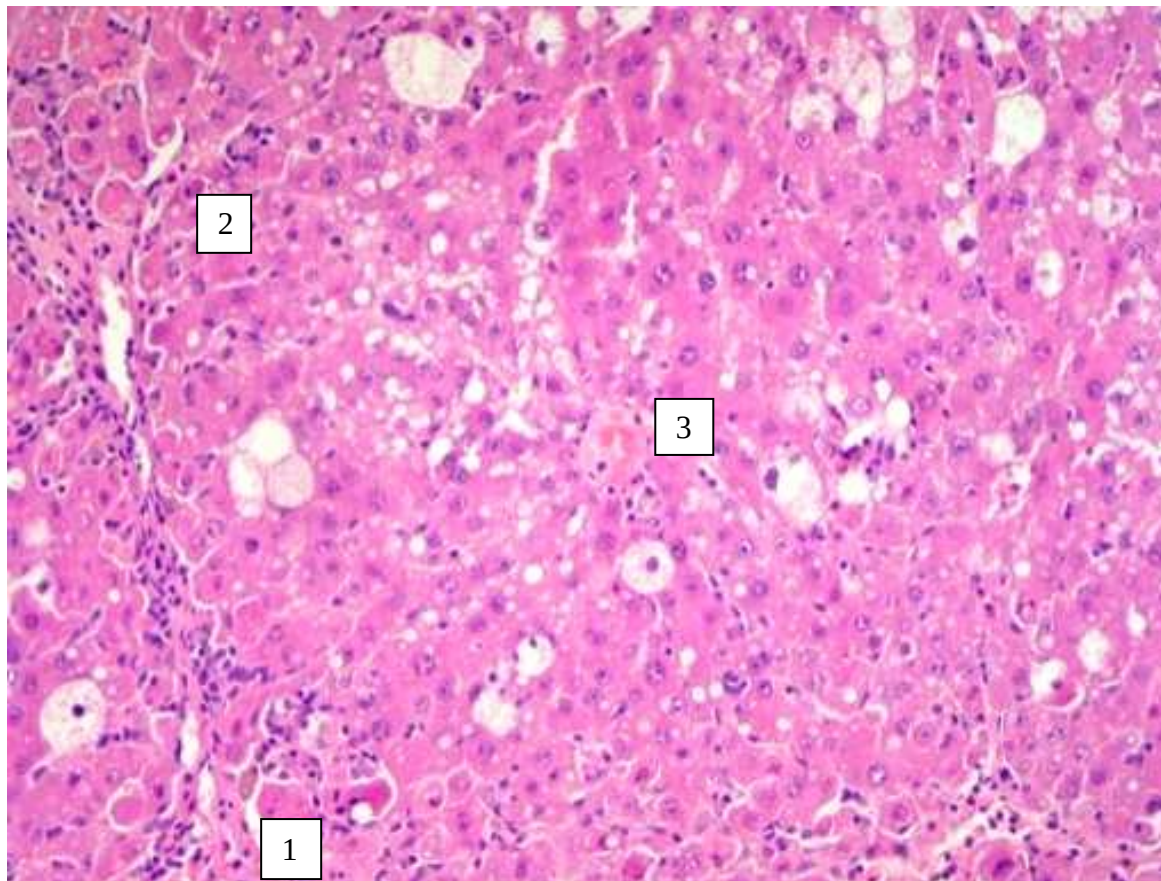
еозинофільних цитоплазматичних включень, а іноді з нагромадженням коричневого пігменту.

Таблиця 6.2 – Морфологічні прояви загоєння в досліджуваних групах тварин

Групи тварин	Склероз	Ангіогенез	Регенерація
Контроль	Відсутній	Відсутній	Відсутня
Тетрахлор-метан + етанол	Розширення портальних трактів та поодинокі короткі септи	Поодинокі судини в септах	Проліферати овальних клітин, біліарного епітелію, синусоїдних клітин
Тетрахлор-метан	Множинні септи, які з'єднують портальні тракти з формуванням псевдочасточок	Множинні судини у септах	Вогнищеві проліферати біліарного епітелію
Етанол	Поодинокі тонкі септи	Поодинокі судини в септах	Гіперплазія синусоїдних клітин та овальних клітин

Ознаки фіброзу та репарації (табл 6.5) включали прояви фіброгенезу з ангіогенезом та репаративної регенерації (проліферації паренхіматозних та синусоїдних клітин). Оскільки ці процеси в певному розумінні можна розцінювати як конкуруючі, кількісна оцінка проводилась окремо для кожного з них. Процеси фіброгенезу досліджені найбільш повно, тому їх можна легко оцінити кількісно (рис.6.4), використовуючи принцип уже відомих шкал (Rivera C.A., 2001) [259]. Шкали, які використовуються для оцінки фіброзу в експериментальних роботах, базуються на тому ж принципі, що і напівкількісні шкали для діагностики захворювань печінки у людини. А саме, акцент робиться на особливостях септоутворення: товщина, кількість

септ та їх локалізація. Максимальним ступенем вважається цироз, для характерним є утворення чітких вузлів, оточених перинодулярними септами.

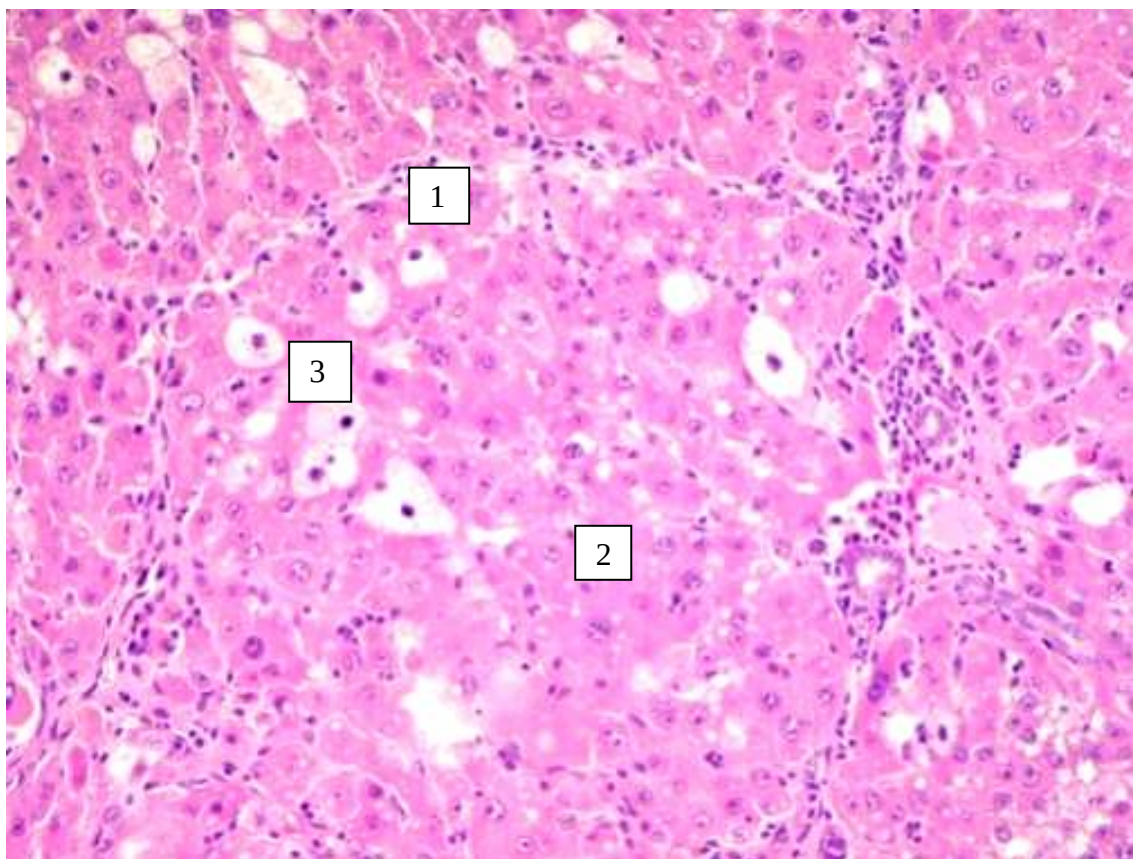


- 1) розширення портальних трактів;
- 2) утворення поодиноких тонких коротких септ;
- 3) збереження нормальної тканинної організації з центральною веною всередині часточки.

Рисунок 6.4 – Прояви фіброзу (незначний ступінь). Тварина з групи 2 (тетрахлорметан). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10x20.

В нашому дослідженні до уваги теж переважно брали локалізацію новоутвореної сполучної тканини (рис.6.5), товщину септ та їх співвідношення з основними структурними елементами часточки –

портальним трактом, центральною веною. При незначному ступені склерозу ці структури легко виявлялись при рутинному гістологічному дослідженні.

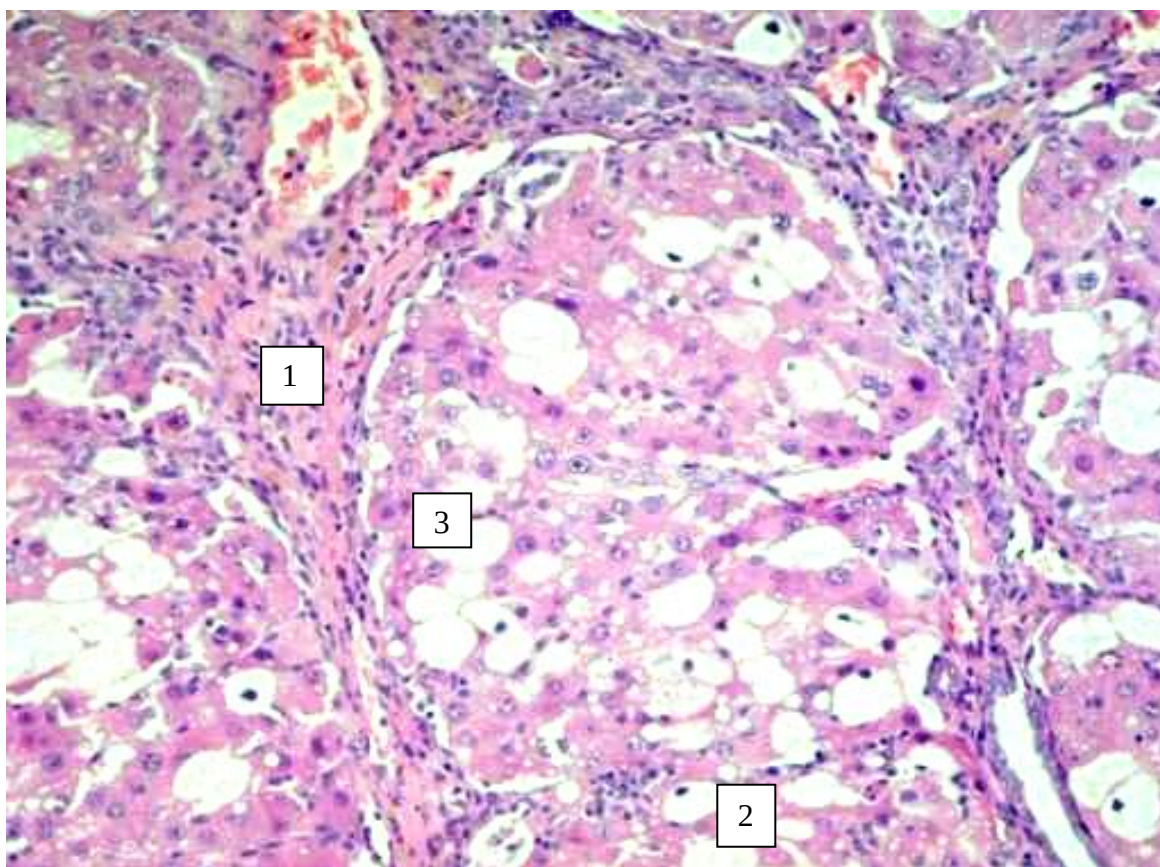


- 1) множинні тонкі септи;
- 2) формування нечітких псевдо часточок;
- 3) множинні гепатоцити з ознаками пошкодження, переважно у перисептальних відділах.

Рисунок 6.5 – Прояви фіброзу (помірний ступінь). Тварина з групи 2 (тетрахлорметан). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10x20.

При помірному ступені фіброзу септи були довгими і практично оточували новоутворені псевдо часточки. Їх товщина та ступінь асоційованої клітинної інфільтрації була різною. Цікаво, що гепатоцити з вираженими

ознаками пошкодження розміщувались переважно у перисептальних ділянках. У випадках значної тканинної реорганізації враховувався ступінь нодулярності (рис.6.6). При цьому увага зверталась на чіткість паренхіматозних вузликів, тобто наскільки повно вони оточені сполучнотканинною септою.



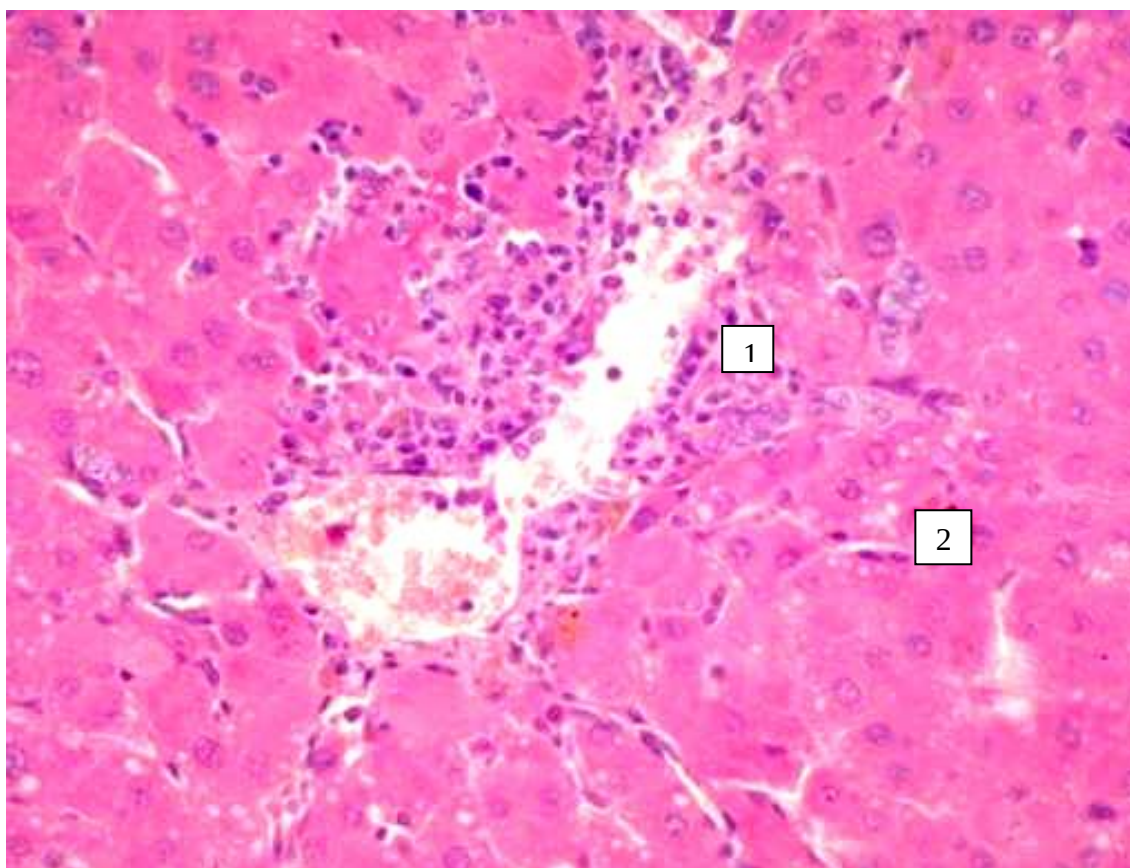
- 1) широкі септи, які обмежують чіткі псевдочасточки (цироз);
- 2) проникнення септ всередину паренхіматозних вузлів;
- 3) гепатоцити з ознаками пошкодження.

Рисунок 6.6 – Прояви фіброзу (значний ступінь). Тварина з групи 2 (тетрахлорметан). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10x20.

Важливо, що на відміну від досліджень, проведених на матеріалі людини, в експерименті на щурах можна достовірно оцінити ступінь нодулярності, оскільки декілька кусочків, взятих з різних ділянок,

представляли майже всі відділи печінки тварини. Тому діагноз цироз в таких випадках є достовірним.

Про регенерацію відомо найменше і ми спробували врахувати в шкалі не тільки кількісні характеристики, а й якісні - тип проліферуючих клітин – синусоїдних, овальних клітин, гепатоцитів та біліарних епітеліоцитів. При незначному ступені ознаки репарації з'являлись на межі з портальними трактами (рис.6.7).



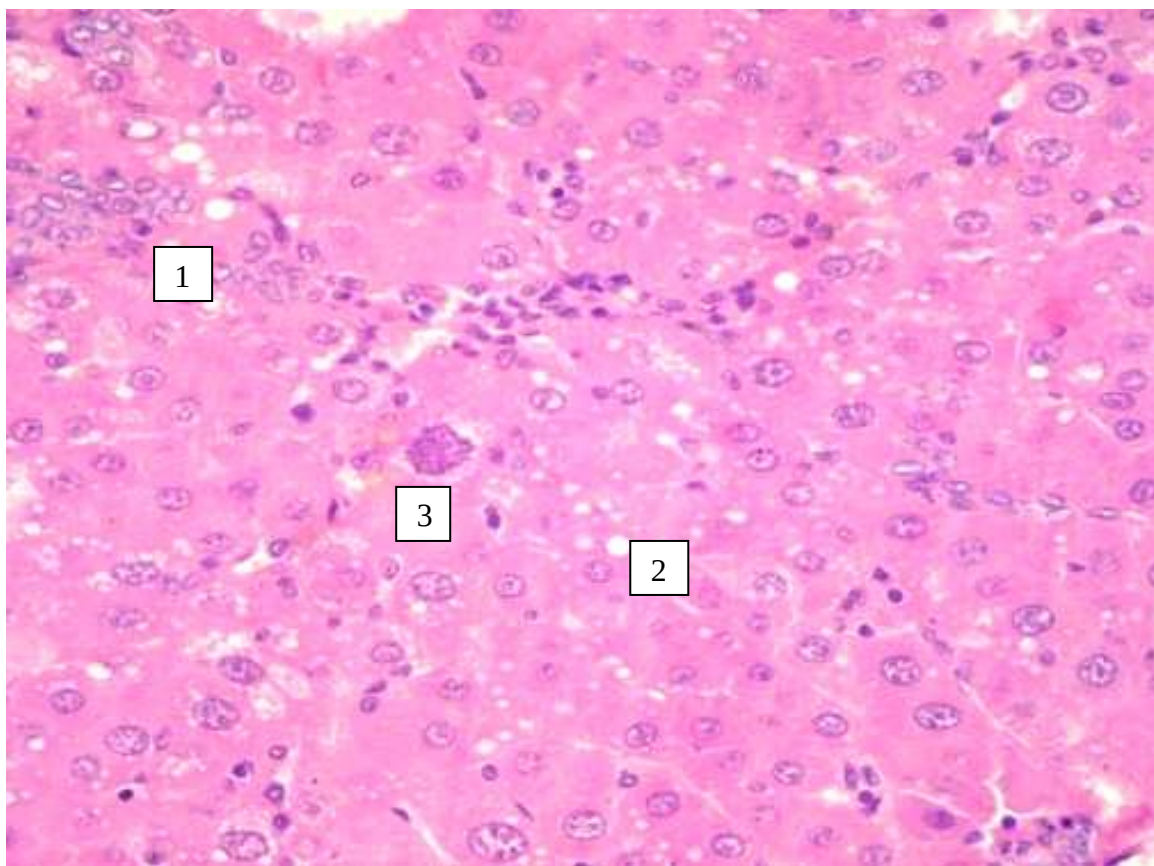
1) запальний інфільтрат та незначна гіперплазія овальних клітин на межі портального тракту;

2) фокальні мікровакуольні зміни гепатоцитів.

Рисунок 6.7 – Прояви регенерації (незначний ступінь). Тварина з групи 3 (тетрахлорметан+ алкоголь). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10x40

Такі скупчення були представлені невеликими групами овальних клітин. Найбільш імовірно це були похідні незрілих клітин-попередників (анлоги каналів Герінга у людини).

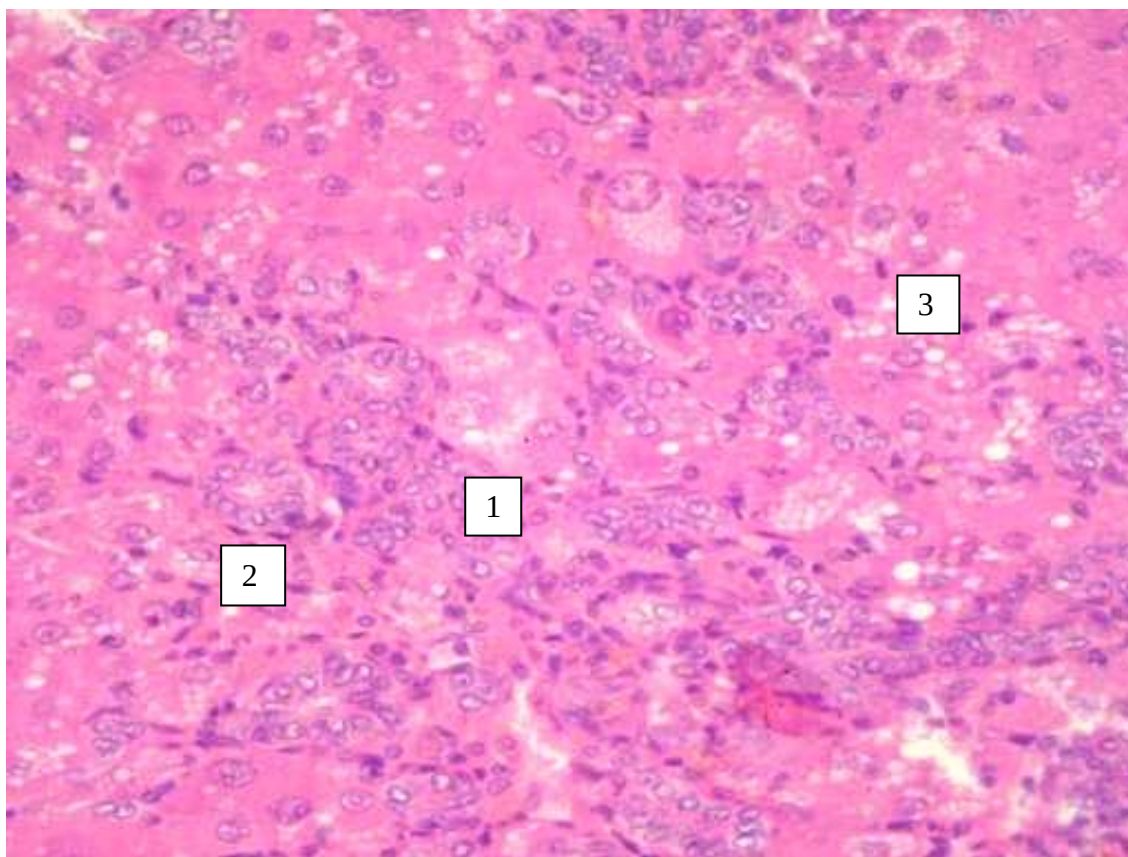
При більш вираженому ступені репаративних процесів групи овальних клітин спостерігались на відстані від ПТ і місцями формували просвіти (рис.6.8).



- 1) помірна гіперплазія овальних клітин та біліарного епітелію;
- 2) мікровакуольні зміни гепатоцитів;
- 3) загибель окремих гепатоцитів.

Рисунок 6.8 – Прояви регенерації (помірний ступінь). Тварина з групи 3 (тетрахлорметан+ алкоголь). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10x40.

При значному ступені вираженості процесів репарації виявлялись новоутворені жовчеві протоки, вистелені біліарним епітелієм, поруч з якими знаходились менш диференційовані групи овальних клітин (рис.6.9).



- 1) переважання гіперплазії біліарного епітелію;
- 2) утворенням просвітів всередині груп клітин з біліарним фенотипом;
- 3) мікро-та макровакуольні зміни гепатоцитів.

Рисунок 6.9 – Прояви регенерації (значний ступінь). Тварина з групи 3 (тетрахлорметан + алкоголь). Забарвлення ГЕ. Збільшення 10х40.

Ангіогенез до певної міри відображає тканинну реорганізацію та шунтування, тому ми вважали, що його потрібно описувати окремо, але виявлені прояви корелювали з фіброзом, імовірно відображаючи спільні патогенетичні механізми. Крім того, детальна оцінка ангіогенезу потребує

застосування додаткових методів забарвлення (виявлення маркерів ендотелію).

Для уніфікації підходів нами була розроблена шкала напівкількісних змін, яка дозволила об'єктивізувати морфологічні описи і оцінити ступінь їх вираженості (табл.6.3).

Таблиця 6.3 – Напівкількісна шкала для оцінки процесів пошкодження та загоєння при хронічних токсичних ураженнях печінки

Патологічний процес	I ступінь	II ступінь	III ступінь
Пошкодження	Дрібні інтрацитоплазматичні вакуолі переважно у гепатоцитах перипортальних відділах часточки	Великовакуольні зміни із зміщенням ядра на периферію клітини та гігантські мультилокулярні гепатоцити з центрально розміщеним ядром	Скупчення макрофагів на місці загиблих гепатоцитів, фігури апоптозу, гепатоцити з вираженим цитолізом
Фіброз	Розширення портальних трактів та поодинокі короткі септи з дрібними судинами	Множинні тонкі септи з дрібними судинами, що формують нечіткі псевдо часточки	Широкі септи, які з'єднують портальні тракти із значною кількістю судин; формуванням чітких псевдо часточок
Регенерація	Гіперплазія синусоїдних клітин та овальних клітин	Вогнищеві проліферати овальних клітин та біліарного епітелію	Значні проліферати синусоїдних, овальних клітин, біліарного епітелію з формуванням просвітів

Запропонована шкала передбачає виділення трьох ступенів вираженості кожного з досліджуваних патологічних процесів – пошкодження, фіброзу та регенерації. Важливо, що такий підхід дає змогу

оцінити кореляції між процесами пошкодження та різними патогенетичними варіантами загоєння. Це може мати значення при подальшому використанні запропонованих моделей [252,253].

Використання запропонованої шкали дозволяє оцінити досліджувані моделі наступним чином: у групі із одночасним застосуванням тетрахлорметану і етилового спирту активність процесу була помірно вираженою, а загоєння відбувалась переважно за рахунок процесів регенерації; у групі з введенням тетрахлорметану – активність, і особливо, пошкодження були значного ступеня вираженості, загоєння здійснювалось за рахунок вираженого фіброзу (стадія циротичної трансформації), в той час як регенераторна активність була незначною; в групі із тривалим застосуванням етилового спирту ступінь пошкодження була незначною процеси загоєння – теж незначно вираженими з рівномірним розвитком фіброзу та регенерації. Оскільки в останніх із запропонованих моделей ступінь вираженості морфологічних змін була незначною, використання її в подальших дослідженнях ми вважали недоцільним.

6.2 Вплив урсодезоксихолевої кислоти на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном

Аналіз вмісту ферментів у сироватці крові підтвердив наявність функціональних розладів у печінці та їх зміни (статистично значущі) при введенні УДХК.

При дослідженні гістологічних змін була використана шкала, розроблена авторами раніше, яка дозволяє напівкількісно (три ступеня вираженості) оцінити основні патологічні процеси, що спостерігаються при хронічному токсичному ураженні печінки – пошкодження (дистрофія, некроз/апоптоз, запальна інфільтрація) та загоєння (фіброз, ангіогенез, регенерація).

При гістологічному дослідженні у другій групі (тетрахлорметан) виявлені виражені ознаки пошкодження паренхіматозних елементів печінки (табл.6.4). Спостерігались групи клітин, цитоплазма яких виповнена однією великою або множинними дрібними, зливними вакуолями, з витісненням ядра на периферію; в деяких клітинах цитоплазма містила дрібні вакуолі. В частині гепатоцитів, особливо, в перипортальних та перисептальних ділянках, визначалось нерівномірне просвітлення цитоплазми (імовірно нагромадження глікогену). Крім того виявлялись ознаки загибелі печінкових клітин – фокальний лізис та фігури апоптозу, які розміщувались переважно вздовж сполучнотканинних прошарків (значний ступінь). Процеси загоєння морфологічно проявлялись утворенням довгих фіброзних септ нерівномірної товщини, які обмежували досить чіткі, невеликого розміру псевдочасточки - цироз (значний ступінь).

Таблиця 6.4 – Морфологічні зміни в досліджуваних групах тварин

Групи тварин	Процеси пошкодження та загоєння					
	І ступінь		II ступінь		III ступінь	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
1 група -контроль	5	83,3	1	16,7	-	-
2 група -тетрахлорметан	-	-	1*	16,7	5*	83,3
3 група -тетрахлорметан + УДХК	2**	33,7	4**	66,3	-	-

Примітки: * – вірогідна різниця в порівнянні з 1 групою (контроль)
 $p < 0,01$

** – вірогідна різниця в порівнянні з 2 групою
(тетрахлорметан) $p < 0,05$

Мікроскопічне дослідження у тварин 3 групи (тетрахлорметан + УДХК) дозволило виявити менш виражені зміни паренхіматозних елементів печінки. Великовакуольні ураження спостерігались з такою ж частотою, як і в попередній групі; дрібновакуольні зміни були дрібновогнищевими; а клітини з просвітленням цитоплазми практично не виявлялись. Незворотнє пошкодження клітин – моноцелюлярний лізис та апоптоз – були менш розповсюдженими (помірний ступінь вираженості). Виявлені ознаки загоєння – тонкі фіброзні септи різної довжини та формування нечітко обмежених псевдочасточок різного розміру були оцінені як циротична трансформація (помірний ступінь).

Таким чином в експерименті на щурах УДХК в дозі 15 мг/кг маси тіла при одночасному хронічному застосуванні з тетрахлорметаном зменшує ступінь пошкодження паренхіматозних елементів та послаблює прояви фіброзу печінки [254].

6.3 Вплив піоглітазону на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном

У групі тварин, які одержували піоглітазон спостерігали статистично достовірне зниження активності АлАТ та АсАТ, рівня глюкози та тригліцеридів у сироватці крові у порівнянні із групою нелікованих тварин.

При дослідженні гістологічних змін була використана напівкількісна шкала, розроблена авторами і описана в попередніх розділах. Основні морфологічні зміни, виявлені при дослідженні тканини печінки представлені у таблиці 6.5.

У випадках введення тетрахлорметану (друга група) спостерігались виражені ознаки пошкодження: печінкові клітини з дрібними та великими вакуолями, гігантські гепатоцити з мультилокулярною цитоплазмою, дифузно розміщені у часточці; множинні вогнищеві скупчення лейкоцитів на місці загиблих гепатоцитів, фігури апоптозу. Процеси загоєння включали

наступні морфологічні прояви: множинні тонкі септи (місцями широкі) з дрібними судинами, що формують нечіткі псевдочасточки або добре окреслені вузлики, вогнищеві проліферати овальних клітин та біліарного епітелію [255].

Таблиця 6.5 – Морфологічні зміни в досліджуваних групах тварин

Групи тварин	Процеси пошкодження та загоєння					
	I ступінь		II ступінь		III ступінь	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
1 група -контроль	5	83,3	1	16,7	-	-
2 група -тетрахлорметан	-	-	-	-	6*	100
3 група -тетрахлорметан + піоглітазон	3**	50	3**	50	-	-

Примітки: * – вірогідна різниця в порівнянні з 1 групою (контроль)
 $p < 0,01$

** – вірогідна різниця в порівнянні з 2 групою
 (тетрахлорметан) $p < 0,05$

У випадках введення тетрахлорметану (друга група) спостерігались виражені ознаки пошкодження: печінкові клітини з дрібними та великими вакуолями, гігантські гепатоцити з мультилокулярною цитоплазмою, дифузно розміщені у часточці; множинні вогнищеві скупчення лейкоцитів на місці загиблих гепатоцитів, фігури апоптозу. Процеси загоєння включали наступні морфологічні прояви: множинні тонкі септи (місцями широкі) з дрібними судинами, що формують нечіткі псевдочасточки або добре окреслені вузлики, вогнищеві проліферати овальних клітин та біліарного епітелію.

У третій групі (введення тетрахлорметану та піоглітазону) процеси пошкодження були незначними: дрібні інтрацитоплазматичні вакуолі виявлялись переважно у гепатоцитах перипортальних відділів часточки, ознаки великовакуольної дистрофії, некрозу та апоптозу печінкових клітин були мінімальними. Скупчення лейкоцитів на місці загиблих гепатоцитів теж виявлялись у вигляді поодиноких дрібних вогнищ. Процеси загоєння в цілому теж можна було б оцінити як незначно виражені: переважали - розширення портальних трактів та поодинокі короткі септи з дрібними судинами, хоча місцями спостерігались тонкі порто-портальні септи. Прояви регенерації теж були більш вираженими і виявлялись у вигляді гіперплазії синусоїдних клітин та множинних вогнищ проліферації овальних клітин.

Таким чином препарат значно зменшує пошкодження паренхіматозних елементів тканини печінки (підтверджується переважанням мікровакуольної дистрофії та відсутністю ознак загибелі гепатоцитів). Вплив на процеси загоєння теж був вираженим і стосувався як ознак репаративної регенерації, так і фіброгенезу [255].

Коротке узагальнення

Оскільки більшість відомих експериментальних моделей не відтворює особливості перебігу таких захворювань, як АСГ, НАСГ та ВГС у людини, для вивчення процесів фіброзу та репарації було обрано добре відомі моделі хронічного токсичного ураження тканини печінки чотирьохокисом вуглецю та етанолом. При порівнянні трьох модифікацій цих моделей було виявлено, що досліджувані чинники – тетрахлорметан та алкоголь - при хронічному введенні у різних комбінаціях зумовлюють характерні варіанти ураження тканини печінки та наступного їх прогресування. Для аналізу особливостей процесів регенерації більш доцільно використовувати модель з комбінованим застосуванням тетрахлорметану та алкоголю. Модель із застосуванням лише тетрахлорметану, при якій спостерігалась циротична трансформація, більш придатна для вивчення фіброзу та ангіогенезу.

Запропонована напівкількісна шкала дозволяє об'єктивізувати оцінку морфологічних змін в досліджуваних моделях, виявити кореляцію між ступенем альтеративних змін та ознаками загоєння.

Фіброгенез є важливою складовою процесів фіброзу та репарації, тому механізми його ініціації, підтримки, регуляції є ключовими моментами у розробці нових методів лікування та діагностики. Оскільки при різних морфогенетичних варіантах процесів загоєння та репарації ці механізми відрізняються, для дослідження нами було обрано два з них – вплив окисного стресу та безпосередня активація ПЗК через PPAR γ рецептори.

Для вивчення особливостей фіброгенезу тваринам разом із тетрахлорметаном вводили речовини з відомим механізмом дії і порівнювали ступінь ураження з групою нелікованих тварин. В першому експерименті вводили піоглітазон – агоніст PPAR γ рецепторів, експресованих 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 ІР. Для впливу на фіброгенез в печінці більше значення має активація ПЗК. Одержані результати показали, що ступінь фіброзу у групі тварин, яким вводився тетрахлорметан разом з піоглітазоном був значуще меншим. У фармакологічних моделях, в яких ураження печінки виникає внаслідок дії токсичних речовин, переважають механізми регенерації за рахунок ПКП у СК нішах. Одним з важливих механізмів індукції проліферативної активності ПКП є вплив активованих ПЗК. При цьому «міофібробласти» виділяють цілий спектр цитокінів, які модулюють активність клітин у СК нішах. Ефекти такої регуляції є різноманітними і включають стимуляцію/пригнічення регенерації. Крім того активовані ПЗК посилюють фіброгенез, виділяючи протеїни ЕЦМ. Тому сполуки, які блокуються надмірний фіброгенез, можуть пригнічувати регенерацію.

У нашому дослідженні піоглітазон вводився паралельно з пошкоджуючим фактором (тетрахлорметаном) протягом тривалого часу (1

місяць). За таких умов спостерігався антифібротичний ефект (статистично значущий) та збереження/незначне посилення регенерації (статистично незначуще) за рахунок проліферації ПКП. рще меншим ($p < 0,05$).

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

Матеріали даного розділу опубліковані у статтях [252, 253, 254] та апробовані на науковому форумі [255].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

7.1 Поширеність хронічного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на основі аналізу автопсійного матеріалу

Оскільки цироз печінки асоціюється з цілою низкою медичних та соціальних проблем, епідеміологічні показники хронічних захворювань печінки на сьогодні є достатньо вивченими у розвинених країнах Європи, Азії та Америки [256-259]. Згідно статистичних даних, ЦП займає провідне місце серед причин смертності від захворювань органів травлення. ЦП та цироз-рак є причиною 90-95% летальних наслідків при хронічних захворюваннях печінки. Щорічно у світі від вірусних ЦП (переважно асоційованих з вірусами гепатитів В та С) і вірус-асоційованих гепатоцелюлярних карцином помирає біля 2 млн. чоловік. Показник смертності від ЦП внаслідок зловживання алкоголем у розвинених країнах близький до такого ж від вірусних ЦП [260-267]

Результати нашого ретроспективного дослідження автопсійних випадків показали, що цироз печінки спостерігався у 13,4% всіх випадків, причому ця частка протягом останніх десяти років змінювалась незначно, що співпадає з результатами подібних досліджень, проведених у інших медичних установах [2,5]. Ці результати відрізняються від даних епідеміологічних досліджень, проведених на основі клінічного матеріалу, згідно яких виявляється чітка тенденція зростання поширеності та смертності від цирозу печінки. Отже аналіз автопсійного матеріалу дозволяє тільки констатувати внутрішньостаціонарну летальність і не відображає тенденцій, що спостерігаються у загальній популяції.

Найчастішим етіологічним чинником цирозу та циротичної трансформації печінки було зловживання алкоголем (53%). Наступною за частотою була група ПП (20,5%). Порівняно з високою частотою

зустрічались випадки з неалкогольним стеатогепатитом (13,9%). Вірусний гепатит та інші ураження спостерігались рідше і становили 8,1% та 4,5% відповідно. Ці дані співпадають з результатами інших досліджень, проведених на значному автопсійному матеріалі. Одержані результати свідчать про важливу роль алкогольного та неалкогольного стеатогепатиту та вірусних уражень у розвитку цирозу печінки. Значна кількість випадків з ПП підкреслює значення проведення кваліфікованого клініко-морфологічного аналізу, а також про потребу подальшого вивчення патогенезу цирозу печінки різного походження.

Виявлена тенденція до зростання частки цирозів, зумовлених ВГС та ВГВ+С вірогідно, відображає як збільшення поширеності даної патології, так і покращення діагностичних можливостей, зокрема використання ПЛР для прижиттєвого виявлення відповідних маркерів.

Офіційна реєстрація переважно жовтяничних форм гострого гепатиту С проводиться в Україні з 2003 року. Фактичний матеріал про основні прояви епідемічного процесу, дійсні масштаби поширеності все ще знаходяться у стадії нагромадження [255]. Дотепер відсутні чіткі уявлення про закономірності та особливості розвитку епідемічного процесу хронічного ВГС, його співвідношення з гострими формами, що суттєво затруднює інтегральну оцінку епідемічного процесу. Тому наші дослідження, навіть з урахування специфіки автопсійного матеріалу, мають значення для розуміння існуючих тенденцій розвитку епідемічного процесу хронічного ВГС в Україні.

Виявлена висока частота НАСГ, яка з урахуванням випадків поєднання НАСГ із змінами, зумовленими хронічною венозною гіперемією та алкогольним ураженням сягає третини секцій із цирозом, свідчить про переваги комплексного морфологічного дослідження порівняно з клінічним обстеженням. До них можна віднести можливість детального дослідження всіх органів, проведення кореляцій між ознаками НАЖХП та змінами судинної стінки і паренхіми органів, порівняння ступеня уражень,

зумовлених різними компонентами МС. Розроблені морфологічні критерії метаболічного синдрому дозволяють з максимальною повнотою оцінити наслідки впливу основних чотирьох факторів ризику кластеру МС та роль кожного з них у конкретного хворого. На основі цього патоморфолог може виділяти у патологоанатомічному діагнозі симптомокомплекс метаболічних змін (або метаболічний синдром – по аналогії з гіпертензивним, тромбоемболічним та іншими) і визначати його повноту або ступінь вираженості.

Порівняння ступеня тканинної перебудови у різних патогенетичних групах, тобто розвитку НСЦП чи ЦП, та віку в якому у хворих формуються ці зміни дозволяє з певним наближенням оцінювати особливості прогресування процесу. Проведений аналіз показав, що у дослідженому матеріалі випадки ЦП переважали над випадками НСЦП. Найчастіше повний цироз спостерігався при АСГ, частота якого була найвищою серед усіх секцій (різниця значуща порівняно з усіма іншими нозологічними групами ($p < 0,05$)). Переважав він і при ВГ. Найрідше ПЦП виникав внаслідок НАСГ (різниця значуща порівняно з усіма іншими нозологічними групами, $p < 0,05$).

Важливо відмітити, що у більшості випадків із змінами, які після нашого перегляду були віднесені до групи НСЦП, був виставлений патологоанатомічний діагноз «цироз печінки» і тільки в незначній частині – «фіброз печінки». Термін «неповний септальний цироз», який є загальноприйнятим, не вживався взагалі. Це свідчить про труднощі формулювання заключення про стан тканини печінки на етапі структурної реорганізації, до яких можна віднести: (1) неоднорідність змін у різних частинах органу, (2) складності оцінки ступеня вираженості клінічних ускладнень та їх морфологічних еквівалентів, (3) недоліки у сучасних класифікаціях цирозу та хронічного гепатиту та різний ступінь 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.

7.2 Морфогенетичні варіанти репарації та фіброзу

За останні десятиліття стало зрозуміло, що при хронічних гепатитах будь-якого походження перебіг у значній мірі залежить від балансу між процесами репарації та фіброзу. Тому вивченню їх механізмів та морфологічних проявів на сьогодні приділяється значна увага у всьому світі. Більшість дослідників розвиток репаративних процесів пов'язують з активацією так званих СК ніш, які описані у всіх органах, включаючи печінку [268,269,270]. Для підтримки множинних функцій органу за умов постійного впливу пошкоджуючих факторів, регенерація у печінці відбувається у різних структурно-функціональних відділах. Тому у печінці описано декілька СК ніш – у ділянках каналів Герінга (перипортальна), по ходу синусоїдів (інтралобулярна) та навколо центральної вени (перивенулярна). Якщо загальні принципи функціонування СК ніш є однотипними, існують особливості, зумовлені задіяванням різних клітинних популяцій та компонентів ЕЦМ, різних індукуючих факторів та механізмів регуляції [271,272].

Одним із результатів активації СК ніші є утворення нових елементів ЕЦМ фіброгенними клітинами. В залежності від ступеня вираженості та типу новоутворених фібрилярних білків та асоційованих з ними молекул, результатом може бути відновлення структури інтерстицію або надмірне розростання фіброзної сполучної тканини. Прорив у розумінні механізмів фіброгенезу відбувся 30-40 років тому, коли почалося інтенсивне вивчення ПЗК, а потім і інших популяцій міофібробластів. Але, незважаючи на величезну кількість фактичного матеріалу, узагальнюючих положень, які б вплинули на розуміння особливостей фіброгенезу при окремих нозологічних формах і, тим більше, в конкретних випадках, та співвідношення їх з проявами репарації, немає.

Традиційно при діагностиці захворювань та їх стадії розвитку найбільша увага приділяється фіброзу, оскільки локалізацію новоутвореної

сполучної тканини, можна діагностувати при звичайному гістологічному дослідженні (гематоксилін-еозин). При цьому інші процеси, зокрема репаративна регенерація, ангиогенез, не мають таких чітких морфологічних ознак і, відповідно не враховуються у відомих діагностичних алгоритмах.

Згідно нашої гіпотези, механізми фіброзу та репарації тісно пов'язані між собою і відповідно повинні досліджуватись комплексно. Оскільки на сьогодні відомі різні механізми фіброзу, імовірно асоційовані з ними прояви репарації теж мають особливості і такі комбінації можуть бути описані у вигляді окремих морфогенетичних варіантів. Таким чином можна припустити існування комплексів морфологічних ознак (морфогенетичних паттернів), за якими складні для діагностики клітинно-матриксні взаємодії патогенетично пов'язані із значним нагромадженням позаклітинного матриксу, можливо розпізнати при рутинному гістологічному дослідженні.

На сьогодні у різних розділах патоморфології дуже поширеним є діагностичний підхід з використанням так званих «діагностичних патернів». Це пов'язано із складністю патології, частим поєднанням різних захворювань та іншими факторами, які затруднюють діагностичний процес. За таких умов розпізнавання окремих «комплексів патоморфологічних змін, об'єднаних спільними морфогенетичними механізмами – патернів» полегшує діагностику, дозволяє визначити стадію процесу та прогнозувати майбутній перебіг. Такий підхід є виправданим при дослідженні тканини печінки, про що свідчить виділення та відповідний опис окремих патогістологічних паттернів, розроблені різними групами дослідників. Але, якщо питання оцінки проявів альтерації, клітинної інфільтрації та фіброзу, є достатньо вивченими, паттерни, які б включали аналіз проявів репарації, відсутні. Тому у нашому дослідженні було поставлене завдання виділення морфогенетичних варіантів (паттернів) репарації та фіброзу, які визначають перебіг хвороби, на основі дослідження морфологічних змін тканини печінки при найбільш розповсюджених захворюваннях.

Вивчення репаративних процесів базувалось на дослідженні кількісних та гістотопографічних особливостей клітин, задіяних у активації СК ніші. Оскільки прояви репарації асоціювались з різними видами фіброзу, досліджувані показники порівнювались у трьох групах, відомих за даними літератури: з перицелюлярним, перисептальним та перидуктальним фіброзом.

Ці види фіброзу були вибрані, враховуючи наступні аргументи:

- Аналіз літературних джерел показав, що найбільш достовірною на сьогодні є концепція, запропонована у 2004 р., згідно якої виділяють чотири варіанти фіброзу: постнекротичний, перицелюлярний, біліарний та централобулярний, описані при різних захворюваннях, мають різні морфологічні прояви та патогенез, і в більшості випадків асоційовані з певними етіологічними чинниками.
- Згідно оригінальної гіпотези Pinzani та Rombouts (2010) [123], яка знайшла підтвердження у подальших дослідженнях, виділяють три основних профіброгенних механізма: хронічна активація загоснення, окисний стрес та порушення епітеліально-мезенхімальних взаємодій.
- При скринінговому аналізі власного матеріалу (тканини печінки на стадії неповного септального цирозу (F2-F3 за METAVIR) було виявлено переважання трьох форм фіброзу, які ми назвали перицелюлярним, перисептальним та перидуктальним фіброзом. Перицелюлярний фіброз відповідав класифікації та вірогідно асоціювався з переважаючим впливом окисного стресу. Портосептальний фіброз на нашу думку був продовженням постнекротичного (прогресування механізмів загоснення), але оскільки на стадії неповного септального цирозу прогресуюче розростання сполучної тканини спостерігалось не тільки в перипортальних (пограничний гепатит) ділянках, а і по ходу септ в різних зонах часточки і не завжди асоціювалось з клітинною інфільтрацією (проявами пошкодження/запалення), було вирішено замінити термін

«постнекротичний» на «портосептальний». Третій вид фіброзу був названий «перидуктальним», оскільки асоціювався з ДРЗ і вірогідно важливою ланкою у фіброгенезі були порушені епітеліально-мезенхімальні взаємодії. Але на відміну від загальноприйнятого «біліарного фіброзу» він зустрічався при захворюваннях, для яких нехарактерно первинне ураження біліарних шляхів.

При дослідженні процесів репарації основна увага була приділена маркерам клітин, задіяних у процесах фіброзу та репарації, а саме клітин фіброгенної популяції, ендотеліальних та епітеліальних клітин. Враховуючи важливість регуляторних механізмів, окремо оцінювались найважливіші з цієї точки зору клітини макрофагального ряду, а також мало вивчені на сьогодні телцити. Для аналізу даної гіпотези були поставлені наступні завдання:

Визначення кількісних та гістотопографічних відмінностей основних клітинних популяцій, задіяних у нішах регенерації

Виявлення особливостей кількості позаклітинного матриксу та активованих фіброгенних клітин

Виділення типових асоціацій досліджуваних ознак у вигляді морфогенетичних паттернів.

До найважливіших клітин СК ніші відносяться так звані печінкові клітини попередники, які одночасно є джерелом новоутворених паренхіматозних елементів та регуляторами цих складних механізмів. Ця популяція є гетерогенною і включає як елементи з властивостями стовбурових клітин, так і їх похідні, які диференціюються у напрямку гепатоцитів або холангіоцитів [273,274,275]. Проліферація та специфікація ПКП відбувається у СК нішах, де вони безпосередньо контактують з найближчим мікрооточенням – зрілими паренхіматозними та мезенхімальними клітинами та елементами позаклітинного матриксу [276]. Дослідження ПКП затруднене, оскільки потребують використання різних, нерідко поєднаних маркерів, тому залишається багато нев'яснених питань

щодо виявлення цих клітин. Це, зокрема, пов'язано з тим, що маркери ПКП у стані спокою ще залишаються недослідженими. Але все ж таки на даний час визначення деяких протеїнів або онкоактивації дозволяють відрізнити ПКП від оточуючих клітин: EpCAM-(Epithelial cell adhesion molecule, aka TRP1/ TACSTD1), Prom1- (Prominin1 aka CD133), MIC1-1C3 (macrophage inhibitory cytokine-1-1C3 та ознаки активації: efflux transporter activity (e.g. Side population technique) та альдегід дегідрогенази. Ще однією проблемою вивчення маркерів ПКП є те, що вони здебільшого експресуються також звичайним біліарним епітелієм. Але на сьогодні вже відомо, що після активації ПКП стають транзиторно ампліфікуючими клітинами та експресують маркери, які не виявляються у клітинах біліарного ряду: Fox11 (Forkhead Box 11), TACSTD2/Trop2 (Tumor associated calcium signal transducer 2), LGR5 (leucine-rich-repeat-containing G protein-coupled receptor 5) [276].

Походження ПКП залишається не до кінця зрозумілим. Оскільки ПКП мають багато спільних маркерів з біліарним епітелієм, можна вважати, що ПКП походять з біліарного дерева. До цього часу залишається відкритим питання чи всі холангіоцити чи їх субпопуляція є попередниками ПКП або існує популяція спеціалізованих клітин, які дають початок ПКП. Незважаючи на те, що такі місця як інтралобулярні жовчеві протоки та погранична пластинка (паренхіматозно-стромальна межа) описувались як ніші ПКП, більшість дослідників вважають нішею ПКП канали Герінга. Така локалізація має найбільше логічних аргументів, оскільки саме тут гепатоцити та холангіоцити розміщуються у безпосередній близькості.

При вивченні розвитку печінки на ранніх етапах (E9-11) були описані клітини – гепатобласти (Dlk1+, EpCAM+), здатні в майбутньому диференціюватись і у гепатоцити (EpCAM-/Dlk-/Alb+/CK19-), і у холангіоцити (EpCAM+/Dlk-/Alb-/CK19+).(Fausto, 2012, Tanaka, 2009). Тільки в одному дослідженні було виявлено можливість походження ПКП з клітин дуктальної пластинки.

Одним з універсальних імуногістохімічних маркерів ПКП є ЕрСАР, який експресується на клітинах різного ступеня та напрямку диференціювання [277]. Зокрема, ЕрСАР виявляється на клітинах з різним фенотипом: незрілих стовбурових, біліарного ряду та гепатоцитах. Відомо, що як під час ембріо-, фетогенезу, так і в подальшому у печінці спостерігається динаміка у експресії ЕрСАР: виявляється у незрілих клітинах та втрачається по мірі їх дозрівання у гепатоцити та холангіоцити. Невирішеним залишається питання щодо причин реекспресії ЕрСАР у печінці людини.

У нашому дослідженні було виявлено значуще переважання ЕрСАР+ клітин при ПДФ в порівнянні з групами ПЦФ та ПСФ і виявлялись вони переважно у перипортальних/перисептальних ділянках на межі строми та паренхіми. Ця локалізація відповідає розміщенню перипортальної СК ніші. За даними літератури у складі каналів Герінга завжди є певна кількість незрілих ПКП, які завдяки типовим властивостям стовбурових клітин (висока проліферативна активність та асиметричний характер реплікації) підтримують свій кількісний склад на стабільному рівні.

У ніші ПКП знаходяться у тісному взаємозв'язку з ангіобластами, попередниками ПЗК, ендотеліоцитами та макрофагами. Ці попередники виділяють паракринні фактори, що підтримують ПКП у стані спокою.

За умов впливу патологічних факторів клітини СК ніші виділяють фактори, що зумовлюють реакцію ПКП – експансію та диференціювання. Найбільш детально цей процес вивчений при гострому пошкодженні печінки і включає три етапи: ініціювання, прогресування та термінації [278]. На кожному із цих етапів задіюються відповідні сигнальні шляхи: цитокіновий сигнальний шлях (ініціація регенерації – активація ранніх генів), шляхи опосередковані факторами росту (регуляція проходження через клітинний цикл завдяки мітогенним сигналам), метаболічні шляхи (підтримка регенерації паралельно із збереженням функції, зокрема за рахунок впливу на трансляцію – основне місце інтеграції рівня продуктів метаболізму та

мітогенних сигналів), шляхи опосередковані мікроРНК. При хронічному пошкодженні макрофаги (та CXCR4+ Т-клітини) ініціюють TWEAK/Fn14 сигнальний каскад, що призводить до активації NF- κ B та наступної проліферації ПКП. Пошкоджені гепатоцити виділяють Hh-ліганди, а їх посилена експресія безпосередньо стимулює виділення ПКП прорегенераторних хемокінів. Thyl+ мезенхімальні клітини у перипортальних відділах виділяють FGF7 та стимулюють активацію ПКП. Завдяки цим складним впливам кількість активованих ПКП у ділянці каналів Герінга зростає, що в нашому дослідженні відповідало значній кількості EpCAM+ клітин у перипортальних/перисептальних ділянках.

Процеси репаративної регенерації відбуваються також у лобулярному компартменті, хоча на загал інтралобулярна СК ніша досліджена менше, порівняно з перипортальною. Є дані про те, що ПЗК за певних умов виявляють ознаки СК і беруть безпосередню участь у регенерації. Крім того у часточці можлива міграція ПКП з наступним дозріванням та адаптацією до відповідних метаболічних зон. При цьому клітини можуть рухатись у двох, часто протилежних напрямках: «гібридні» гепатоцити мігрують з ділянки пограничної пластинки до центру часточки, а перивенулярні α lin-2+ гепатоцити – із централобулярних відділів до портальних трактів. Результати наших досліджень показали низьку активність регенераторних процесів.

В подальшому відбувається диференціювання новоутворених ПКП, яке може відбуватись у двох напрямках: у гепатоцити та у холангіоцити. За даними літератури Мкф здатні активувати канонічний Wnt шлях у ПКП, зумовлюючи їх диференціювання у Гпц [279], а активовані ПЗК та Мфб можуть секретувати Jagged1 який активує Notch сигнальний шлях у прилягаючих ПКП та зумовлюють їх диференціювання у Хлц та виділення Kgl. Тому Wnt та Notch шляхи відіграють ключову роль у проліферації та диференціюванні ПКП. Новоутворені гепатоцити до моменту свого остаточного дозрівання експресують EpCAM, а клітини з «біліарним» фенотипом – SK19. Баланс між цими двома напрямками диференціювання

може бути важливим для оцінки функціональних можливостей новоутворених паренхіматозних елементів, а значить і ефективності репаративної регенерації.

Важливим результатом використання ЕрСАМ була можливість вивчення популяції новоутворених гепатоцитів. Ми виходили із даних декількох недавніх досліджень, в яких було продемонстровано наявність ЕрСАМ+ гепатоцитів при цирозі печінки та підтверджене їх потенційне походження з ПКП, а отже їх участь у репаративній регенерації [280,281].

Було виялене значуще переважання ЕрСАМ+ гепатоцитів в групі ПДФ в порівнянні з групами ПЦФ та ПСФ. При цьому клітини з позитивною експресією маркера розміщувались переважно у перисептально/перипортальних ділянках і формували великі комплекси. У групах ПЦФ та ПСФ вогнища ЕрСАМ+ гепатоцитів були меншими і виявлялись вони як всередині, так і по периферії часточок. Виявлені гістотопографічні особливості можна пов'язати з різними функціями, які може виконувати ЕрСАМ при активації репаративних процесів.

Однією з найбільш поширених є гіпотеза, згідно якої експресія ЕрСАМ є необхідною умовою для диференціювання клітин під час регенерації. При цьому це не стосується процесу утворення нових гепатоцитів шляхом поділу зрілих печінкових клітин. Так, L.Zhang із співавторами виявили, що при масивному некрозі печінки проявом репаративної регенерації була експансія ЕрСАМ+ ПКП при відсутності експресії даного маркера на всіх інших клітинних популяціях, включаючи гепатоцити. Натомість при біліарному цирозі репаративні процеси включали гепатобласти з мембранною експресією ЕрСАМ, яка корелювала з експансією ПКП [282].

Ці дані знайшли підтвердження і в інших роботах. Під час хронічного пошкодження при вірусних гепатитах (В та С), ЕрСАМ виявлявся на гепатоцитах, які недавно утворились із ранніх ПКП, і були відсутніми на клітинах, утворених внаслідок поділу зрілих гепатоцитів. При цьому

ErCAM+ гепатоцити розміщувались поблизу ділянок ДР і мали довші теломери, що підтверджує їх походження із повільноциркулюючих ПКП.

В деяких дослідженнях було запропоновано варіанти гіпотетичних функцій ErCAM під час репаративних процесів. Stueck A.E. та співавтори виявили, що паралельно із дозріванням клітин спостерігається розвиток МЦР, про що свідчила втрата експресії CD34 у центрі бруньки гепатоцитів по мірі їх диференціювання у синусоїд та збереження на периферії. Імовірно це свідчить про те, що ErCAM можна розцінювати як молекулярну платформу для скупчення CD34+ ендотеліоцитів, які забезпечують правильне диференціювання паренхіматозних клітин [283].

Однією з можливих функцій ErCAM під час репарації печінки може бути необхідність мембранної реекспресії маркера у ПКП для успішного диференціювання в напрямку гепатоцитів у відповідь на ініціюючі сигнали від інших компонентів ніші СК. І хоча мезенхімальні стромальні та клітинні компоненти ніші є основними регуляторами цих процесів, ErCAM може підтримувати здатність до трансляції сигналів, які ПКП отримують від мікрооточення, регулюючи стан рецепторів. В такій ситуації наявність ErCAM на плазматичній мембрані у недиференційованому гепатоциті буде сприяти Wnt-опосередкованому диференціюванню в напрямку гепатоцитів [284,285].

За останні роки з'явилися дані про те, що клітинна пластичність ErCAM може бути пов'язана не тільки з необхідністю регуляції репаративної регенерації, а і з іншими процесами. В декількох дослідженнях було продемонстровано, що одразу після пошкодження відбуваються значні зміни у метаболізмі печінки, які передують процесам репарації. Виявлення порушень метаболічних зон при пошкодженні печінки стало основою для гіпотези, згідно якої реекспресія ErCAM на зрілих гепатоцитах у лобулярній паренхімі у відповідь на пошкодження може бути адаптативною реакцією для компенсації печінкової недостатності шляхом зміни зон метаболізму [286,287].

Крім того реекспресія ЕрСМ може спостерігатись при канцерогенезі, наприклад, при гепатоцелюлярній карциномі ЕрСМ розцінюється як маркер незрілих пухлинних клітин. Дійсно, Yamashita з колегами показали, що ЕрСМ+/αFP+ пухлинні клітини мають ознаки, характерні для раку печінки, включаючи здатність до самовідтворення, диференціювання та індукування інвазивної гепатоцелюлярної карциноми у NOD/SCID мишей [288].

Домінування ЕрСМ+ гепатоцитів при ПДФ, виходячи з існуючих гіпотез, можна пояснити як переважанням механізму регенерації за рахунок експансії компонентів ніші в ділянці каналів Герінга, так і значним ступенем адаптативних змін у відповідь на пошкодження гепатоцитів. При ПЦФ та ПСФ репаративна регенерація на етапі помірного фіброзу/неповного септального цирозу імовірно відбувається переважно у інших нішах (центролобулярних), в яких домінують інші механізми, що не супроводжуються значною експресією ЕрСМ на новоутворених гепатоцитах. Ступінь пошкодження гепатоцитів в таких випадках теж може буде нижчим. Підтвердженням цього є дані, одержані іншими дослідниками. Так, зокрема при НАСГ G.Carpino із співавторами (2013) описує два механізми фіброзу та репарації, які розвиваються на різних стадіях захворювання: з переважним задіюванням центролобулярної або перипортальної ніш ПКП. При цьому автори вважають, що активація ПКП є компонентом адаптативної реакції у відповідь на окисний стрес при НАСГ [289,290].

До цього часу залишається багато відкритих питань щодо участі ПКП у відновленні популяції гепатоцитів [291,292]. Декілька авторів використовуючи в експерименті метод lineage tracing показали, що участь ПКП є можливою, але згідно їх результатів, лише 0.8-2.5% гепатоцитів походили з ПКП [293,294,295]. Дані інших дослідників не виявили участі ПКП у репопуляції печінкових клітин [279]. Такі протиріччя частково можна пояснити технічними складностями, зокрема використанням різних маркерів.

Альтернативною гіпотезою, яка частково може пояснити виявлені протиріччя полягає в тому, що репопуляція гепатоцитів за рахунок ПКП здійснюється в зоні гепато-біліарного з'єднання і не призводить до масивного збільшення числа гепатоцитів в органі в цілому [296,297]. Згідно такого сценарію пошкодження перибіліарних гепатоцитів, зв'язаних з прилягаючими дрібними холангіоцитами (імовірні стовбурові клітини) каналу Герінга ініціюють активацію та диференціювання у напрямку перибіліарних гепатоцитів. Такі гепатоцити повинні мати спеціалізовану поверхню, яка дозволяє їх приєднуватись до дрібних холангіоцитів за допомогою адгезивних молекул, які відрізняються від молекул, необхідних для контакту з іншими гепатоцитами [298]. За рахунок утворення таких клітин ПКП відновлюють зв'язок між каналцями гепатоцитів та біліарним деревом, забезпечуючи нормальний відток жовчі. Тому репопуляція гепатоцитів є низькою лише в порівнянні із загальною масою печінкових клітин. Якщо ж оцінювати перибіліарні гепатоцити, асоційовані з каналом Герінга, як спеціалізований субкомпартмент, то репопуляція може бути дуже значною [299].

Згідно ще однієї гіпотези, лінійна конверсія може призводити до формування зрілих гепатобіліарних клітин. Лінійна конверсія або трансдиференціювання – процес при якому один тип зрілих клітин дорослих трансформується у інший тип зрілих клітин [268]. Ця гіпотеза базується а результатах одержаних при дослідженні печінки людини: біліарні (CK19, HNF1 β , HNF3 α , HNF3 β) маркери виявлялись у гепатоцитах при декількох холангіопатіях.

На загал у сучасній літературі домінують дослідження на молекулярному рівні, присвячені тонким механізмам регенерації. При цьому більшість авторів розглядають механізми регенерації, як універсальний процес, розрізняючи лише два варіанти: при гострому пошкодженні – за рахунок проліферації зрілих гепатоцитів та при хронічному пошкодженні – за рахунок проліферації ПКП. Виявлені у нашому дослідженні відмінності у

експресії ЕрСАМ при різних варіантах фіброзу свідчать про важливу роль і інших, включаючи етіологічні, факторів при репаративних процесах, які зумовлюють додаткові особливості, зокрема з переважним задіюванням різних ніш ПКП або із домінуванням певного виду специфікації – у напрямку гепатоцитів або холангіоцитів. Але ці питання потребують подальших досліджень.

ЕрСАМ експресувався також на клітинах з «біліарним фенотипом», але оскільки технічно оцінити кількісні показники в таких ділянках було важко, для вивчення клітин, які диференціювались у холангіоцити було застосовано маркер СК19. СК19 – цитоплазматичний білок проміжних філаментів масою 40 kD з кислотними біохімічними властивостями (тип I), який спостерігається у так званому «простому» (одношаровому), більшості залозистих та частково в плоскому епітелії. У печінці гепатоцити дорослих експресують СК8 та 18; СК19 виявляється тільки під час ембріогенезу (до 10 тижня). При патологічних процесах (дистрофія, гіперплазія, трансдиференціювання) гепатоцити теж можуть експресувати СК19. Холангіоцити виявляють більш широкий спектр цитокінів – СК7,8,18 та 19. Ці ж маркери зберігаються при так званій «дуктулярній реакції», яка є типовою для хронічних захворювань печінки і включає представників популяції клітин-попередників [300-304].

Цікаво, що ступінь експресії СК19 залежить не тільки від переважання «біліарного» напрямку диференціювання, а ще і від стану клітини. Відомо, що кератини мають цитопротективну функцію, а їх мутації зумовлюють множинні захворювання. У експериментальному дослідженні Chen Y. та співавторів (2015) [305] було показано, що у тварин з нокаутом гену СК19 спостерігався перерозподіл компонентів сітки кератинів у холангіоцитах, який супроводжувався пригніченням ДР і проявлявся пониженою проліферацією дуктул та зменшенням кількості овальних клітин. На основі цього автори роблять висновок про безпосередню участь СК19 у репаративних процесах, що асоціюються з дуктулярною реакцією.

У нашому дослідженні експресія СК19 на гепатоцитах не виявлялась. СК19+ клітини розміщувались переважно в зоні дуктулярної реакції та у передіснуючих протоках.

ДР (в розумінні тканинної реакції) включає, крім проліферуючої популяції епітеліальних клітин, комплекс елементів ЕЦМ, клітинного інфільтрату, судин, мезенхімальних клітин, які необхідні для формування та підтримки ДР. Епітеліальні клітини являють собою гетерогенну популяцію, де переважають проміжні гепатобіліарні клітини: розміром від 6 мкм (дрібні холангіоцити) до 40 мкм (діаметр гепатоцита в нормі) з дещо різним фенотипом (гепатоцитоподібні переважають на межі з паренхімою, а холангіоцитоподібні на границі з ПТ) та біпотенціальними можливостями диференціювання; справжні СК зустрічаються рідко. Крім того серед клітин ДР виявляються гепатоцити з ознаками біліарної метаплазії, циркулюючі клітини-попередники, мезенхімальні клітини і ангіобласти.

При формуванні ДР описані стадії та молекулярні механізми, типові для реакцій у нішах СК: активація, проліферація, міграція, диференціювання. Активацію та проліферацію ініціюють: цитокіни, що діють через рецептор gp130 (IL-6, oncostatin-M, leukemia inhibitory factor), компоненти суперродини TNF (TNF- α , TWEAK, IFN- γ , hedgehog ligands, Epidermal GF, Fibroblast GF-1, Hepatocyte GF. Єдиним відомим специфічним фактором для клітин попередників серед наведених вище є TWEAK, оскільки взаємодіє з рецептором Fn14, експресованим на ПКП і відсутнім на зрілих Гпц. Додатковими факторами є нейроендокринні стимули та жовчеві солі. Внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, що активуються у фазі проліферації, включають: Wnt, hedgehog, NF- κ B, TGF- β \morphogenic protein, JAK/STAT. Диференціювання регулюється в залежності від напрямку: біліарне – Notch, гепатоцитарне – експозицією до фібронектину при відсутності Notch сигналів.

Більшість авторів вважають, що ДР являє собою динамічну багатоклітинну репаративну систему, що включає мезенхімальні клітини та

запальний інфільтрат, які супроводжують гетерогенну популяцію проліферуючих епітеліальних клітини (ПКП). Експансія компартменту ПКП є компенсаторним механізмом репарації печінки, який активується за умов пригнічення проліферації зрілих гепатоцитів в зв'язку із значним пошкодженням. ПКП є дрібними клітинами з неспецифічним фенотипом, які мають біпотенціальні можливості диференціювання – біліарне та гепатоцитарне. У ДР ПКП формують неправильні, сильно розгалужені дуктули без просвіту, які поширюються у паренхіму та вздовж ПТ. При цьому дуктулярні клітини експресують «реактивний» фенотип (дуктулярні реактивні клітини – ДРК) та набувають здатності виділяти цитокіни, хемокіни, фактори росту, ангіогенні фактори та експресувати значну кількість рецепторів, які зазвичай виявляються на клітинах дуктальної пластинки на ранніх стадіях розвитку печінки. Завдяки цьому зміненому фенотипу ДРК вступають у інтенсивні паракринні зв'язки з клітинами стромы, включаючи міофібробласти, запального інфільтрату, ендотелію, які зумовлюють функціональні наслідки ДР. Для ініціювання цього репаративного комплексу ДРК потребують значної клітинної пластичності. Тому ДРК спочатку зменшують силу міжклітинних та клітинно-матриксних контактів, а потім набувають мобільних функцій, які дозволяють їм мігрувати з СК ніші до ділянки пошкодження. При цьому шляхом взаємодії із мезенхімальними та запальними клітинами ДРК формують ДР. Основою для підтримки функції міграції ДРК є посилене виділення полісіалової кислоти – сильно поляризованого компоненту ЕЦМ, здатного формувати високоафінні зв'язки з NCAM, який зазвичай експресується ДРК. Полісіалова кислота змінює адгезивні властивості NCAM на антиадгезивні, завдяки розмірам множинних ланцюгів молекули та її гідрофільним властивостям. Цей процес є основним кроком у формуванні пластичності та міграції NCAM+ клітин при утворенні ДР.

ДРК не здатні секретувати такі компоненти ЕЦМ як колаген I та IV типу, але беруть участь у фіброгенезі шляхом кооперації з іншими

ефекторними клітинами, зокрема портальними міофібробластами. Ці клітини можуть бути похідними ПЗК, та, з меншою імовірністю, портальних фібробластів та мезенхімальних СК з кісткового мозку. Вони задіюються у процес завдяки паракринним сигналам від ДРК та інших клітин ДР. Чи можуть самі ДРК бути джерелом портальних міофібробластів завдяки ЕМТ, яке доведене у нирці та легенях, залишається неясним. Але у декількох дослідженнях продемонстровано експресію мезенхімальних маркерів ДРК.

Як гістологічний паттерн, ДР має особливості при різних захворюваннях. При гострій обструкції біліарних шляхів спостерігається мультиплікація дрібних протоків по периферії ПТ з вираженим набряком строми; анізону́клеоз Хлц, жовч у просвітах відсутня. При наявності жовчі в розширених протоках (*cholangitis lenta*, *ductular cholestasis*) слід думати про септице́мію, зумовлену холангі́том або з інших локалізацій. При хронічній обструкції біліарних шляхів ЕЦМ в ділянці ДР стає колагенізованим з наступним розвитком біліарного цирозу (при ПБЦ, ПСХ та атрезії позапечінкових шляхів) [306,307]. При гострій печінковій недостатності (фульмінантній) масивна ДР супроводжується незначним фіброзом та запальним інфільтратом. При холестатичній формі гепатитів В та С ДР проникає у часточку (*starburst*) і супроводжується значним стромальним компонентом. Розвиваються на пізніх стадіях і локалізуються на межі з паренхімою. При автоімунному гепатиті виявляється різний ступінь розвитку ДР (більш виражений, ніж при ВГС); характерні розетки у ДР, які містять клітини з проміжним фенотипом [308]. При стеатогепатиті на стадії стеатозу ДР можна виявити лише при застосуванні ІГ; на етапі гепатиту ДР корелює із фіброзом [309,310,311]. При ішемії спостерігається розвиток ДР у центролобулярних відділах. Оскільки фенотип структурних компонентів ДР є варіабельним було запропоновано декілька класифікації (Desmet V. (2011) Turanyı E. (2010)). Але на сьогодні ні одна з них не є загальноприйнятою.

В нашому дослідженні експресія СК19 розцінювалась як ознака «біліарного фенотипу» клітини. Звичайно, у популяцію СК19+ клітин

входили не тільки ПКП, які диференціювались у «біліарному» напрямку (ДРК), а і зрілі холангіоцити в складі попередньо існуючих або гіперплазованих дуктул. Тому при аналізі кількісних показників ми враховували лише відносні значення та їх співвідношення з іншими маркерами. Крім кількості СК19+ клітин, ми враховували їх гістотопографічні особливості, оскільки їх можна виявляти при рутинному дослідженні без використання імуногістохімічних методів.

Визначення експресії СК19 у трьох досліджуваних групах показало, що найвищі значення спостерігались при ПДФ. Зіставлення значень СК19 з маркерами інших процесів виявило значущу пряму кореляцію з більшістю загальних та септальних показників та обернену – щодо лобулярних. Крім визначення відносної площі, яку займали СК19+ клітини, була проаналізована локалізація цих клітин стосовно основних структурних елементів печінкової часточки. Було виявлено два варіанти: дифузне розміщення СК19+ клітин у септі та переважання їх у пограничній зоні – на межі між стромою та паренхімою. Дифузне розміщення спостерігалось при ПСФ та ПЦФ, а пограничне – при ПДФ. Крім того спостерігалась незначна інтралобулярна експресія СК19.

Гістотопографічні особливості можна пояснити різним генезом ДР. Так, дифузне інтрасептальне розміщення СК19+ клітин імовірно є наслідком гіперплазії передіснуючих дуктул. При цьому новоутворені дуктули містять зрілі холангіоцити, які формують чіткий просвіт. Перисептальна локалізація (анастомозуюча сітка або лінійні тяжі в зоні пограничної пластинки, сформовані клітинами з варіабельним фенотипом, без чітких просвітів) вірогідно є наслідком експансії ПКП, хоча є дані про можливість метаплазії або транзиції балки гепатоцитів у жовчеву дуктулу [312,313].

Такий механізм вивчався декількома групами науковців. Так, S-J.Lee із співавторами (2015 р.) провели вивчення подвійної експресії маркерів гепатоцитів (Нер-Par 1) та холангіоцитів (СК19) у одній клітині (клітини ДР та прилягаючі зрілі гепатоцити). Одержані результати стали підставою для

припущення про те, що фенотип зрілих гепатоцитів не є фіксованим і може змінитись на «біліарний». При цьому спостерігалась втрата маркерів гепатоцитів і набування маркерів холангіоцитів. Цей процес не асоціювався із реекспресією маркерів ПКП. На основі одержаних даних автори зробили висновок, що гепатоцитарний та біліарний фенотипи є пластичними [313].

Nishikava et al. ще у 1996 р. виявили в експерименті що гепатоцити можуть формувати дуктулоподібні структури на матриксі із колагенового гелю. Пізніше дослідники спостерігали трансдиференціювання гепатоцитів щурів у біліарні клітини (2005р.). У 2013 році науковці цієї групи показали, що прозапальні цитокіни мають вплив на диференціювання гепатоцитів. Зокрема, TNF- α значно пригнічує формування гепатоцитарного фенотипу та посилює дуктулярний морфогенез [314]. Одержані цими дослідниками результати, дозволяють припустити, що TNF- α впливає на диференційовані гепатоцити та стимулює їх трансформацію у клітини ДР.

Дуктулярну метаплазію (дедиференціювання) гепатоцитів описував також Desmet V. (2011). На його думку відносно перевантаження жовчевими кислотами може бути раннім тригером у дуктулярній метаплазії гепатоцитів, зумовлюючи первинні зміни у самих паренхіматозних клітинах, які в свою чергу впливають на ПЗК. Крім того відносна гіпоксія може призвести до порталізації синусоїда та ініціювання фіброгенного ефекту централобулярних ПЗК, які в свою чергу зумовлюють дуктулярну метаплазію (дедиференціювання) гепатоцитів: атрофічний фенотип та експресія СК7 $\rightarrow$ перетворення у дрібні клітини з примітивним фенотипом та експресією СК19 $\rightarrow$ формування тубулярної архітектури. Така метаплазія може активувати передіснуючі ПКП, експансія яких доповнює утворення ДР.

Репаративні процеси у СК нішах включають також реакцію клітин МЦР, які зазвичай описують як ангіогенез [315].

Утворення нових судин може бути результатом активації декількох механізмів. Перший є складовою звичайного ангіогенезу, який спостерігається при загоєнні – характеризується збільшенням експресії ФР,

цитокинів, металопротеїназ з відповідною проангіогенною активністю. При цьому новоутворені судини тісно зв'язані з передіснуючими елементами МЦР, які і є їх джерелом. Другий передбачає індукцію неоангіогенезу із ранніх судинних клітин-попередників, які є компонентами СК ніші або потрапляють у неї з циркулюючою кров'ю.

Але крім проявів неоангіогенезу, судинні зміни при ХЗП включають також ознаки компенсаторно-присотувальних механізмів, які розвиваються в зв'язку із значними гемодинамічними розладами [316]. На сьогодні немає єдиної думки щодо порушення співвідношення між артеріальним та портальним кровотоком при цирозі печінки. Більшість дослідників вважає, що при цирозі спостерігається відносно збереження артеріального притоку при значному зменшенні портальної складової, інші відмічають збільшення артеріальної васкуляризації та притоку крові, в частині досліджень спостерігали редукцію артеріального кровотоку паралельно із зменшенням плинності крові по воротній вені. Але, якщо щодо генезу цих змін на рівні печінкових артерій (які часто залежать від генетично обумовлених анатомічних варіантів) немає єдиної думки, на мікроциркуляторному рівні практично всі автори відмічають переважання артеріальної складової печінкового кровотоку над портальною. У патогенезі такої артеріалізації на думку більшості авторів відіграє ангіогенез, індукований хронічною гіпоксією, який призводить до формування нової сітки дрібних артерій та артеріол. Артеріалізація синусоїдної крові призводить до експозиції Гпц надмірно високій концентрації кисню. В подальшому прогресуюча капіляризація синусоїдів призводить до пониження дифузії кисню із синусоїдів до гепатоцитів з наступною активацією проангіогенних механізмів. При морфологічному дослідженні виявляються новоутворені розгалуження печінкової артерії, які не супроводжуються гілками портальної вени [317].

Синусоїдна модернізація включає ендотеліальну дисфункцію та капіляризацію синусоїдів [318]. При ендотеліальній дисфункції, яка

розцінюється як початковий етап розвитку портальної гіпертензії, спостерігається звуження просвітів синусоїдів за рахунку пригнічення ендотелійзалежного розслаблення у межах МЦР одиниці печінки, із констрикцією ендотеліоцитів, ПЗК та міофібробластів. Спостерігається скорочення фенестр СЕК, що зменшує обмін між синусоїдами та простором Діссе [319]. Капіляризація синусоїдів полягає у втраті порозності синусоїдних ЕК (дефенестрація) та формуванні субендотеліальної базальної мембрани.

Венозний неоангіогенез представлений формуванням шунтів та центральною порталізацією. Розширені венозні судини (анастомози) виявляються переважно у септах і являють собою шляхи, по яких кров безпосередньо поступає з портальної вени у печінкову вену. У останніх дослідженнях описується явище центральної порталізації – наявність судин та дуктулярної реакції у центролобулярних відділах [320,321]. Такі зміни виявлені при НАСГ та ВГС. Існує думка, що при хронічній гіпоксії за умов ремоделювання синусоїдів висока концентрація проангіогенних факторів у просторах Діссе зумовлює ангіогенез у центральних відділах часточок (імовірно з клітин-попередників), який асоціюється з проліферацією та диференціюванням епітеліальних клітин (СК7+ гепатобласти, СК19+ клітини, які формують дуктули) – інтралобулярна «ніша регенерації».

Морфологічні критерії реорганізації МЦР:

- Артеріалізація – наявність дрібних гілок печінкової артерії у центральних відділах (судинні просвіти вистелені CD34+ клітинами з м'язовим шаром);
- Капіляризація синусоїдів: групи CD34+ ендотеліальних клітин у синусоїдах без формування чіткого просвіту
- Центральна порталізація – наявність CD34+ судинних просвітів без ГМК, асоційовані з дуктулярною реакцією (СК7+ і СК19+) у центролобулярних зонах

- Шунтування – CD34+ судини з/без ГМК з розширеним просвітом у септах (ангіогенез та анастомози)

Для оцінки ангіогенезу ми використовували два судинні маркери, які за даним літератури мають деякі відмінності у експресії на ендотеліальних клітинах. CD31 - 130 kDa трансмембранний глікопротеїн, який ще називають platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) виявляється у ендотеліоцитах, мегакаріоцитах, тромбоцитах та деяких інших гемопоетичних елементах, зокрема макрофагах. У печінці CD31 експресується у ендотеліоцитах судин портальних трактів, центральної вени та у частині перипортальних синусоїдів. При фіброзі, який супроводжується посиленням ангіогенезом частина інтралобулярних синусоїдів також стає CD31 позитивною. CD34 - 110kd трансмембранний глікопротеїн, який був виявлений на гемопоетичних клітинах-попередниках (включаючи лімфоїдні та мієлоїдні елементи) та на судинному ендотелії, відіграє роль в процесах адгезії та сигнальної трансдукції. Маркер вважається індикатором судинного диференціювання.

Септальні показники, згідно нашої концепції, можна розцінювати як маркери шунтів (передіснуючих та новоутворених) та судин, які сформувались при утворенні сполучнотканинних септ. Позитивна експресія маркерів у лобулярному компартменті відповідає процесам артеріального та венозного неоангіогенезу за рахунок активації лобулярної СК ніші, а також адаптативного ремоделювання МЦР (артеріалізація, центральна порталізація та модернізація синусоїдів).

Одержані результати показали, що експресія маркеру CD34 була дещо вищою (статистично незначуще), порівняно з маркером CD31, що можна пояснити особливостями самих маркерів. Якщо CD31 експресується на ендотеліоцитах уже сформованих судин (судини портальних трактів та початкових відділів синусоїдів), то CD34 крім того виявляється на частково незрілих та/або функціонально змінених судинах. Загальний показник CD31 був найвищим при ПСФ, переважно за рахунок септального індекса, що

свідчить про переважання зрілих судинних елементів у складі сполучнотканинних септ. Лобулярний CD31 був найвищим при ПЦФ, що можна інтерпретувати як прояв тривалого ремоделювання МЦР печінкових часточок.

При вивченні експресії CD34 результати були іншими: загальний CD34 був найвищим при ПДФ переважно за рахунок септального показника, який в декілька разів перевищував CD34S у інших двох групах. Такі результати можна пояснити переважним задіюванням іншого механізму - утворення нових, частково незрілих судин внаслідок активації перипортальної СК ніші. CD34+ елементи виявлялись поруч із ДПК, які виявлялись у вигляді окремих груп або сформованих дуктул. Лобулярні показники згідно експресії CD34 теж були найвищими при ПЦФ. Вони імовірно відображали активацію лобулярної СК ніші (центральна порталізація) та ремоделювання синусоїдів.

При зіставленні експресії CD31 та CD34 кореляція була виявлена щодо лобулярних показників і була відсутньою для септальних процесів. Вивчення кореляції між процесами фіброгенезу та ангіогенезу теж виявили відмінності при дослідженні двох судинних маркерів. Для CD31 був виявлений паралелізм лобулярних змін та відсутність кореляції при зіставленні септального фіброгенезу та ангіогенезу. Лобулярна експресія CD34 теж корелювала з маркерами лобулярного фіброгенезу, але, крім того було виявлено позитивну кореляцію між септальними показниками фібро- та ангіогенезу. На основі цього можна зробити висновок про 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. В деяких роботах експресію CD34 пов'язують з так званою «артеріолізацією» судин МЦР, в тому числі

синусоїдів. Але для підтвердження цього необхідні додаткові дослідження, які на сьогодні відсутні. Високий показник септального CD34 при СДР можна пояснити формуванням великої популяції незрілих клітин в ділянках дуктулярної реакції та епітеліально-мезенхімальних трансформацій. Крім того, одержані результати свідчать про наявність патогенетичних відмінностей між лобулярними та септальними процесами фібро- та ангиогенезу у трьох досліджуваних групах.

Оскільки просеси ангиогенезу при ХЗП супроводжуються ремоделюванням МЦР та пошкодженням ендотеліоцитів [322] було проведено порівняння ультраструктурних змін СЕК на стадії стеатогепатиту та цирозу. У випадках із стеатогепатитом спостерігались ознаки дисфункції СЕК, що свідчить про неоднорідний функціональний стан цих клітин, серед яких деякі мають ознаки гіперфункції, а деякі знаходяться в стані спокою або пониженої функціональної активності. У хворих із цирозом спостерігались ознаки гіпофункції та глибокі альтеративні зміни СЕК, які асоціювались з вогнищевим нагромадженням колагенових фібрил у просторі Діссе. Таким чином на стадії циротичної трансформації у судинах МЦР виявляються множинні зміни, які відображають такі процеси як ангиогенез, структурно-функціональна реорганізація та пошкодження. Описані в нашій роботі особливості імунотипу та ультраструктурні прояви можуть використовуватись для комплексної оцінки порушень ангиоархітекτονіки на етапі циротичної трансформації.

Виявлені структурні зміни СЕК вірогідно мають безпосередній вплив на перебіг репаративних процесів [323,324]. Регенерація тканини печінки потребує відновлення не тільки популяції епітеліальних клітин, а і ендотеліальної вистилки синусоїдів. Тому зрозуміло, що ці процеси тісно пов'язані між собою. Було виявлено, що СЕК виконують роль своєрідних динамічних регуляторів завдяки ангиокринному та аутокринному впливу [325,326]. Згідно результатів досліджень, проведених за останні роки, реакція СЕК на пошкодження є критичною для регуляції репаративних процесів.

CEK незалежно від їх бар'єрної функції можуть розцінюватись як прорегенераторна та профіброгенна судинна ніша. Крім зрілих CEK у процесах ангіогенезу та фіброзу важливу роль відіграють ендотеліальні клітини попередники, які походять з кісткового мозку. Такі клітини мобілізуються з периферійної крові у відповідь на ішемічне або травматичне пошкодження та мігрують у ділянки пошкодженого ендотелію, де диференціюються у зрілі клітини. Ці дані знайшли підтвердження як в експерименті, так і в дослідженнях *in vivo* [327].

Одним із критичних регуляторних механізмів є взаємодія між CEK та гепатоцитами через підтримку динамічної рівноваги двох факторів: ангіопетину 2 (Ang2) та стромального фактору-1 (chemokine [C-X-C motif] ligand 12) і його рецепторів (CXCR) [328,329]. Просторово-часовий контроль стану та паракринної активності ендотеліоцитів є важливим модулятором різних фаз регенерації та співвідношення між фіброгенезом та регенерацією. Так, низький рівень Ang2 на ранніх етапах репарації посилює проліферацію Гпц. На пізній стадії підвищення кількості Ang2 є необхідним для неангіогенезу. Зміни у співвідношенні експресії рецепторів до CXCL (CXCR4/ CXCR7) в сторону активності CXCR7 сприяє регенерації за рахунок переключення прорегенераторних та профіброгенних сигналів. Таким чином CEK є важливим компонентом інтралобулярної ніші СК і від структурно-функціонального стану цих клітин залежить баланс між її прорегенераторною та профіброгенною активністю.

Фіброгенез залежить від клітин, здатних синтезувати елементи позаклітинного матриксу, які при активації експресують α -SMA. Ця гетерогенна популяція представлена здебільшого портальним/септальними фібробластиками, печінковими зірчастими клітинами та клітинами з проміжним фенотипом, які відрізняються за локалізацією у часточці, експресією певних молекул та функцією. Портальні/септальні фіброласти забезпечують процеси мостоподібного фіброзу з утворенням порто-центрального септ; ПЗК відіграють роль у

перисинусоїдному/periцелюлярному та, імовірно, при централобулярному фіброзі. Пограничні міофібробласти беруть участь у «дуктулярній реакції» забезпечуючи формування порто-портальних септ при біліарному фіброзі [330].

Своєрідним прототипом цієї групи можна вважати ПЗК. Важливі механізми, які ініціюються при активації цих клітин, інтенсивно вивчалися протягом останніх у багатьох лабораторіях і детально описані у відповідних оглядах [331,332,333]. Першим етапом є ініціація, яка включає найбільш ранні зміни, що виникають внаслідок паракринної стимуляції сусідніми клітинами – СЕК, КК, гепатоцитами та тромбоцитами. СЕК виділяють фібронектин, який активує ПЗК та конвертує латентну форму TGF- β у активну, профіброгенну. Тромбоцити виділяють групу факторів росту: TGF- β , PDGF, EGF. Клітини Купфера секретують TGF- β та реактивні метаболіти кисню/ ліпідні пероксиди. Вплив гепатоцитів зумовлений виділенням ліпідних пероксидів та апоптичними тільцями, що виникають після їх загибелі, та характеризуються профіброгенними властивостями. Інші фактори теж можуть індукувати зміну фенотипу ПЗК.

Наступний етап - підтримка активності - включає щонайменше сім варіантів зміни поведінки клітини, які забезпечують фіброгенез. Проліферація регулюється PDGF – найбільш сильним мітогеном, експресія рецепторів до якого посилюється, підвищуючи чутливість клітини [334-337].

ПЗК мігрують (хемотаксис) за градієнтом концентрації PDGF та інших хемоатрактантів. Фіброгенез включає утворення елементів ЕЦМ: синтез колагену 1 типу, клітинного фібронектину, протеогліканів, який регулюється TGF- β та ліпідними пероксидами. Експресія α -SMA відображає контрактильний потенціал клітин. Для формування рубцової тканини необхідне попереднє руйнування передіснуючого матриксу печінки (аналогічно при локальній інвазії та пухлинній десмоплазії). З іншої сторони резорбція надлишкового матриксу створює умови для зменшення печінкової дисфункції та портальної гіпертензії. Са-залежні матриксні металопротеїнази

(ММР) відіграють основну роль в цьому процесі. ПЗК є джерелом ММР-2,-9,-13 (аналог ММР-1 у гризунів) та стромелізинів [262,263]. При цирозі значно підвищується ММР-2. ММР-1, яка лізує колаген 1 і могла б бути найважливішою при лізисі рубцьової тканини підвищується незначно. ПЗК виділяють інгібітори металопротеїназ – TIMP-1 та -2 навіть в умовах пошкодження, що сприяє фіброзу, пригнічуючи деградацію. Втрата ретиноїдів асоціюється із зникненням ліпідних вакуолей, але її роль у активації клітини невияснена. Запальна інфільтрація, яка часто спостерігається біля активованих ПЗК, є наслідком високої концентрації відповідних хемоатрактантів.

Останнім етапом є резолюція активації клітини, для якої існує два можливих шляхи: повернення до латентного фенотипу або видалення клітини шляхом апоптозу. Перший механізм потребує подальшого дослідження. Механізми апоптозу достатньо вивчені. ПЗК є чутливими до CD95-L та TRAIL-опосередкованого апоптозу, який індукується НК-клітинами. Іншим шляхом є каспазо-9 та рецептор-взаємодіючий протеїн-залежний механізм, індукований активованими КК.

Виходячи із цих даних, ми вважали, що дослідження маркерів хоча б декількох із перерахованих функцій міофібробластів дозволить оцінити рівень фіброгенезу. Основна увага приділялась контрактильній, секреторній та проліферативній активності.

Скоротлива функція залежить від реорганізації елементів цитоскелету клітини та асоціюється з експресією маркера α -SMA, що являє собою α -ізоформу гладком'язового актину (45 kD) – контрактильного протеїну мікрофіламентів клітин з міогенним диференціюванням та клітин з ознаками міофібробластів та міоепітелію. Експресія α -SMA відноситься до ранніх ознак диференціювання ПЗК у міофібробласти і виявляється на початкових стадіях гепатиту, але згідно наших даних спостерігається і на стадії цирозу. Контрактильна функція ПЗК є важливою не тільки в зв'язку із зміною імунофенотипу клітини. Від неї залежить здатність клітини до міграції,

зокрема в напрямку пограничної пластинки часточки та приєднання до популяції пограничних міофібробластів. Крім того скорочення активованої ПЗК, яку часто порівнюють з перицитами капілярів інших органів, призводить до звуження просвіту синусоїда та наступних гемодинамічних розладів. Активовані ПЗК реагують на ендотелін-1 (вазоактивний) та окис азоту (релаксація).

Секреторну функцію можна оцінювати за рівнем відповідних ферментів та інших внутрішньоклітинних маркерів, але ми використовували непрямий показник – кількість новоутворених альціан+ волокон ЕЦМ. α -SMA+ міофібробласти здійснюють деградацію компонентів передіснуючого матриксу просторів Діссе, представлених переважно неупорядковано розміщеними складовими базальної мембрани, та синтез нових елементів ЕЦМ [338]. Новоутворені структури мають якісні відмінності, зокрема містять альціанпозитивні колагенові волокна, характерні для рубцьової тканини, та еластичні волокна, які за будовою відрізняються від волокон, розміщених у ПТ та септах, синтезованих портальними фібробластами. Кількісні та якісні особливості інших компонентів ЕЦМ (адгезивних молекул, протеогліканів та інших) на сьогодні лишаються вивченими недостатньо [339-342]. Так, частина дослідників, які займаються вивченням ЕЦМ, виділяє поняття «матрисома» - складний комплекс, що включає базові компоненти ЕЦМ (фібрилярні білки, глікопротеїни та протеоглікани) та додаткові структури (колаген-асоційовані протеїни, білки-регулятори (лізил оксидази, протеази) та фактори, що зв'язуються з ЕЦМ (TGF β та інші цитокіни). Згідно такої концепції ЕЦМ не тільки створює структурну основу для клітин та тканин, а і служить резервуаром для факторів росту та інших цитокінів, забезпечуючи механізми матрицелюїрних взаємодій [343,344].

Традиційно фіброз печінки пов'язують із нагромадженням колагену 1 типу, зокрема у просторах Діссе та навколо окремих або груп гепатоцитів. Але зміни у матрисомі набагато складніші, ніж трансформації колагенового матриксу. Так були отримані дані про пошкодження ламініну, фібронектину,

фібриногену, остеопонтину при фіброзі печінки. У декількох дослідженнях, що базуються на протеомному аналізі, була висловлена думка про розвиток реактивних змін у матрисомі, які виникають що до значного фіброзу у органі. Автори вважають, що такі зміни є динамічними, не мають чітких гістологічних ознак і відіграють регулюючу роль у загоєнні після гострого пошкодження. При хронічному ураженні вони створюють сприятливий фон для значної реорганізації тканини [345,346].

Елементи ЕЦМ відкладаються вздовж синусоїдів або навколо окремих та/або груп гепатоцитів, які розміщуються переважно по периферії часточки або паренхіматозного вузла.

α -SMA позитивні міофібробласти являють собою динамічну клітинну популяцію, кінетика якої залежить від процесів апоптозу, проліферації та старіння. На стадії гепатиту переважають Ki-67 позитивні клітини з високим проліферативним потенціалом. При розвитку цирозу виявляються ознаки апоптозу (Bcl-2 «+») та прояви старіння клітин [264]. Проліферативну активність міофібробластів ми оцінювали згідно експресії Ki 67 – ядерних негістонових протеїнів, які експресуються клітиною у фазі проліферації – G1, G2, M та S. Згідно даних літератури у печінці маркер може використовуватись для виявлення проліферуючих клітин – печінкових зірчастих клітин, гепатоцитів та холангіоцитів, задіяних у процесах репарації.

Для одержання кількісних показників визначалась відносна площа структурних елементів, які давали позитивну реакцію при використанні відповідного барвника. Порівняння значень досліджуваних маркерів активованих міофібробластів у групах з різними видами склерозу (періцелюлярний, септальний та перидуктальний) показало наявність спільних тенденцій для всіх трьох показників. Це означає, що скоротлива, секреторна та проліферативна функція α -SMA+ клітин на етапі циротичної трансформації змінюються паралельно і можуть розцінюватись як маркери фіброгенезу. При цьому паралельна оцінка трьох показників підвищувала достовірність одержаних результатів.

При порівнянні значень показників фіброгенезу з урахуванням локалізації (лобулярний, септальний та загальний) була виявлена протилежність вираженості процесу у різних компартментах у групах з перицелюлярним склерозом та перидуктальним склерозом. В групі септального склерозу показники займали проміжне положення. Таким чином досліджувані групи відрізняються не тільки за локалізацією ділянок склерозу, а й за кількісними показниками активації клітин фіброгенної популяції.

Макрофаги здійснюють складну регуляторну функцію процесів репарації та фіброзу і багато в чому зумовлюють індукцію та вираженість різних механізмів регенерації, ангіогенезу та фіброзу. Так, Мкф можуть посилювати пошкодження тканини виділяючи реактивні сполуки кисню та інші токсичні медіатори, які порушують клітинний метаболізм, індукують апоптоз та сприяють наростанню ішемії. Водночас вони продукують різноманітні фактор росту (IGH-1, VEGF- α , TGF- β) та Wnt протеїни, які регулюють проліферацію епітеліоцитів та ендотеліоцитів, активацію міофібробластів, диференціювання клітин-попередників та ангіогенез. Прорепаративні Мкф відновлюють тканинний гомеостаз виконуючи антизапальну функцію та виділяючи MMP, які регулюють обмін фібрину та колагену.

Мкф відіграють ключову роль у ініціації, підтримці та резолуції тканинної репарації. Найменші зміни їх функції зумовлюють порушення перебігу репаративних процесів внаслідок неконтрольованого виділення медіаторів запалення та факторів росту, незбалансованої міжклітинної взаємодії, прогресуючого пошкодження та посиленого фіброгенезу [347,348,349].

На сьогодні вже немає сумнівів щодо того, що популяція Мкф є пластичною [350]. В залежності від мікрооточення, концентрації та спектру медіаторів вони можуть диференціюватись у прозапальний (M1) та прорепаративний (M2) фенотипи. Історично поділ макрофагів на ці дві

популяції базувався на класифікації поляризованих Т-хелперів: Th1 виділяючи $IFN\gamma$ та $TNF\alpha$ активують класичний варіант поляризації макрофагів (M1- прозапальні, підтримують реакцію Th1, опосередковану IL12); Th2 виділяючи IL4 та IL10 пригнічують таку активацію, що розцінюється як альтернативне диференціювання (M2- протизапальні, прорепаративні підтримують реакцію Th2) [351,352].

M1 характеризується значною секрецією IL12 та низькою секрецією IL10. M2 навпаки - значною секрецією IL10 та низькою секрецією IL12, а також виділенням ферменту аргінази-1, яка пригнічує L-аргінін у конкуренції з iNOS за субстрат. Але комплексна активація M2 передбачає виділення ще додаткових трьох субпопуляцій, які індукуються різними стимулами з мікрооточення: M2a (CD163+, CD206+, IL1-, IL6-, $TNF\alpha$ -, $TGF\beta$ -) відноситься до профібrogenного фенотипу і стимулюється IL4 та IL13, M2b (CD163-, CD206-, IL1+, IL6+, $TNF\alpha$ +, $TGF\beta$ -) індукується комбінованим впливом імунних комплексів та TLR або агоністами IL1, M2c (CD163+, CD206+, IL1-, IL6-, $TNF\alpha$ -, $TGF\beta$ +) стимулюється IL10, $TGF\beta$ або глюкокортикоїдами і не тільки пригнічує запалення, а й стимулює неоваскуляризацію. Серед цих субпопуляцій M2c характеризується значною фіброгенною активністю. Крім особливостей фенотипу популяції макрофагів розрізняються на рівні метаболічних процесів. Так, у M1 при активації спостерігає високий рівень аеробного гліколізу із посиленням захоплення глюкози та індукція пентозофосфатного циклу. M2 використовують окислення жирних кислот [353,354,355].

Але представлена класифікація не відображає реальної динамічної пластичності даної клітинної популяції, яка спостерігається при різних патологічних станах. Тому була запропонована інший поділ, який базувався не на особливостях фенотипу, а на функціональних характеристиках. Mosser, Edwards (2000) запропонували замість відомих двох груп виділяти клітини, задіяні у захисних реакціях, загоєнні, імунних реакціях та інші, що відображає континуум трансформацій у популяції макрофагів і включає

варіанти, при яких спостерігається перекривання частини експресованих маркерів.

Ще одним неясним питанням є можливості зміни напрямку поляризації макрофагів в залежності від стадії запалення/загоєння. Незрозуміло, чи альтернативно активовані M2 макрофаги в зоні пошкодження на етапі репарації є похідними нових моноцитів, що мігрують з крові, або утворюються з вже існуючих класично активованих прозапальних M1 клітин. Щодо цього питання існує три гіпотези, запропоновані в останні роки. Згідно першої, специфічні підтипи моноцитів диференціюються у специфічні субпопуляції макрофагів. Друга гіпотеза передбачає хвилеподібну міграцію моноцитів, під час якої вони стикаються з різними сигналами з мікрооточення, що стимулює їх поляризацію у специфічні фенотипи, необхідні на різних стадіях запалення/загоєння. Згідно третьої концепції, в залежності від мікрооточення M1 можуть диференціюватись у M2 і навпаки. Такий погляд передбачає, що поляризація – процес швидкий і повністю оборотний, і відповідно клітини можуть брати участь у різних механізмах на різних етапах запалення/загоєння [356,357].

В останній час з'явилися дані про можливість трансдиференціювання макрофагів в інші клітинні типи. Так посилена експресія судинних ендотеліальних факторів росту (наприклад, плейотропіну) може індукувати трансдиференціювання макрофагів у ендотеліоцити. Але ці питання потребують подальших досліджень [356-359].

Оскільки макрофаги являють собою динамічну популяцію клітин з високою пластичністю, яка регулюється сигналами від найближчого мікрооточення, вплив факторів, специфічних для різних варіантів репаративних процесів теж не можна виключити [360,361]. Зважаючи на значний континуум фенотипових та функціональних особливостей (і відповідних субпопуляцій) макрофагів, ми не проводили диференціювання окремих видів цих клітин. Визначення експресії загального маркера CD68 у трьох групах виявило відмінності: при P1 та P3 показники були практично

однаковими ($1,09 \pm 0,08$ та $1,07 \pm 0,08$ відповідно), а при P2 – значуще меншим ($0,81 \pm 0,08$). Такі результати можна пояснити особливостями (якісними) спектру цитокінів при різних варіантах морфогенезу репаративних процесів або активністю цих процесів (кількісні). Але важливим є той факт, що найменша кількість макрофагів спостерігалась при P2 – паттерні, який характеризується проміжним ступенем як фіброзу, так і репаративної регенерації. Тому одержані результати опосередковано підтверджують наявність якісних особливостей морфогенезу у досліджуваних паттернах репарації.

На сьогодні вважається, що телоцити виконують функцію підтримки гомеостазу тканини за допомогою формування трьохвимірної сітки із відростків та міжклітинних контактів та відповідно беруть участь у процесах репарації та фіброзу за рахунок впливу на печінкові клітини попередники – компоненти «ніші стовбурових клітин» [362-365].

В нашому дослідженні CD117+ клітини виявлялись переважно у стромальному компартменті і часто асоціювались із ділянками дуктулярної реакції. Площа, яку займали телоцити, була найбільшою при P1 і найменшою при P3 (значущі відмінності). Показник CD117 при P2 займав проміжне значення і відмінність від такого ж при P1 була незначущою. Значуще менша кількість телоцитів при P3 може бути наслідком порівняно високого рівня фіброзу у цій групі (FG). Схожі дані отримали і інші дослідники. Так, Siyi Fu et al., (2015) [366] на основі вивчення біопсійного матеріалу хворих на хронічний гепатит різного генезу виявили зменшення кількості телоцитів при прогресуванні фіброзу печінки. Автори запропонували гіпотезу про потенційну роль телоцитів у фіброзі печінки, згідно якої імовірно є два механізми: (1) безпосередній вплив на активність фіброгенних клітин, зокрема печінкових зірчастих клітин, завдяки участі у трьохвимірній організації позаклітинного матриксу через міжклітинні зв'язки та паракринну секрецію; (2) сприяння фіброзу за рахунок взаємодії з печінковими клітинами-попередниками: виснаження «ніш стовбурових

клітин», пригнічення регенерації та замісне розростанням сполучної тканини.

Є дані про те, що телоцити можуть запобігати аномальній активації імунокомпетентних клітин та фіброblastів, а також впливати на змінену організацію ЕЦМ під час фіброгенезу [367,368].

Роль телоцитів у регенерації печінки вивчалась переважно в експериментальних роботах. Так, F.Wang, (2014) та співавтори [365] на основі дослідження печінки мишей після парціальної гепатектомії протягом 168 годин виявили зростання кількості телоцитів на момент максимальної проліферативної активності паренхіматозних клітин. Згідно наших результатів високий показник CD117 спостерігався при P1 і відповідно корелював з високими показниками активності інтралобулярної ніші СК. Але локалізація телоцитів у перипортально/перисептальному інтерстиційному компартменті не дозволяє робити висновки про безпосередню участь даної клітинної популяції у репаративній регенерації, хоча повністю виключити паракринний цитокіновий вплив теж не можна. Зокрема, Cretoiu D та співавтори у 2016 році висунули гіпотезу та знайшли її підтвердження у експерименті, згідно якої телоцити здатні виділяти позаклітинні везикули, що містять біологічно активні сполуки, здатні впливати на елементи мікрооточення [369,370].

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.

Одержані результати підтверджують участь телоцитів у репаративних процесах та можливі їх асоціації з певними морфогенетичними механізмами. Що ж до інтерпретації ролі цієї клітинної популяції у фіброгенезі, резорбції

фіброзованого матриксу або репаративній регенерації, питання залишається неясним і потребує подальших досліджень

При P1 репаративні процеси домінували у лобулярному компартменті і асоціювались з перицелюлярним фіброзом. Це можна пояснити переважаючою активацією інтралобулярної ніші СК (значуще вищий Ki67P), в якій провідну роль відіграють ПЗК. На загал ця структура є менш вивченою в порівнянні з перипортальною СК нішею і основною проблемою є невизначеність щодо клітин-попередників. Ще в 2009 році Savitsa et al. припустили, що джерелом епітеліальних клітин може бути ПЗК, яка при активації трансдиференціюється у ПКП. Крім того наявність ПКП у лобулярному компартменті може бути результатом міграції їх з інших ділянок, зокрема руху «гібридних» гепатоцитів з ділянки пограничної пластинки до центру часточки, та перивенулярних $\alpha\text{lin-2}^+$ гепатоцитів – із централобулярних відділів в напрямку портальних трактів. Ще одним джерелом ПКП можуть бути зрілі гепатоцити, які під впливом мікрооточення (інші компоненти СК ніші) здатні змінювати фенотип («диференціювання гепатоцитів»). Незрілі ПКП в наступному можуть диференціюватись у зрілі епітеліальні клітини, з переважанням трансформації у напрямку гепатоцитів. Окремі виявлені СК19+ клітини асоціювались із судинними елементами і можуть розцінюватись, згідно концепції Desmet, як учасники формування нових ПТ. Однак таке припущення потребує подальших досліджень. Значуще вищі судинні показники (CD31P та CD34P) теж підтверджують активні процеси центральної порталізації. Крім того вони можуть бути проявами капіляризації синусоїдів.

Основною фіброгенною клітиною у інтралобулярній ніші СК вважається ПЗК, яка після активації трансформується у міофібробласт і набуває відповідних функцій (секреторна, проліферативна). Активовані ПЗК секретують різні компоненти ЕЦМ, що дозволяє зруйнувати передіснуючий матрикс просторів Діссе та замістити його рубцьовою тканиною. Ці процеси вивчались багатьма дослідниками як *in vitro*, так і *in vivo* з акцентом на ті чи

інші компоненти ЕЦМ: колагени (фібрилярні та аморфні), еластин, віментин, фасцин, десмін, клітинний фібронектин, протеоглікани, матриксні металопротеїнази та їх інгібітори. Згідно наших даних кількість колагену 1 типу, який традиційно вважається основним показником рубцьової тканини, при P1 була найнижчою і локалізувався він переважно у лобулярному компартменті. Пояснити це можна припущенням про те, що інтралобулярна ніша задіюється на ранніх стадіях ХЗП, і в наших випадках з переважанням перицелюлярного фіброзу відмічався власне цей етап розвитку захворювання. При цьому ступінь фіброзу (основний критерій включення в досліджувану групу) при гістологічному аналізі міг розцінюватись як F2-F3 в зв'язку з нечіткістю критеріїв, які пропонують загальноприйняті шкали.

Септальні показники репарації та фіброгенезу (показники α -SMAS, Ki67S, CD31S та CD34S) при P1 були значуще нижчими порівняно із P2 та P3. Це імовірно зумовлено низькою активністю перипортальної ніші СК, індукція якої потребує іншого спектру патологічних чинників. СК19+ клітини розміщувались переважно інтрасептально, що свідчить про їх участь у компенсаторно-пристосувальних реакціях (ДР1 типу за класифікацією Desmet).

Макрофаги (CD68+) переважали незначуще порівняно з P2; у групі P3 відповідний кількісний показник практично не відрізнявся від такого ж у групі P1. На сьогодні думка про важливу участь макрофагів у регуляції репаративних процесів є загальноприйнятою, водночас інформація щодо механізмів, шляхів активації, диференціювання та взаємодії з іншими клітинами потребує узагальнення. Одним із можливих варіантів є механізм взаємодії з гепатоцитами через позаклітинні везикули (екзосоми), з наступним диференціюванням у прозапальний фенотип (M1). Але, оскільки за даними літератури популяція макрофагів включає клітини з профіброгенною активністю (M2) та інші варіанти (S100+(A4), їх особливості та роль у репаративних процесах була потребує подальшого вивчення. Виявлення значущого переважання CD117+ телцитів при P1, незважаючи

на їх локалізацію здебільшого у септальному компартменті, підтверджує роль цих клітин у регуляції репаративних процесів шляхом підтримки матрицелюлярних взаємодій та паракринної регуляції.

При P2 помірно виражені репаративні процеси асоціювались із септальним склерозом. Більшість показників мали проміжне значення порівняно із групами P1 та P3. При цьому показники репаративної регенерації та ангиогенезу EpCAMG, EpCAMH, CK19, CD31S, CD34S, CD34P були ближчими до значень цих показників у P1, хоча відмінності для більшості з них все ж були значущими. Виключення складають CD31S ($p=0,53$) та CD34S ($p=0,86$) та CK19 ($p=0,152$). Це свідчить про активні репаративні процеси у інтралобулярній ніші СК, в якій провідну роль відіграють ПЗК (Ki67P був ближче за значенням до такого ж у групі P3). Значуще вища активність репарації порівняно з групою P1 означає задіявання і інших клітин та механізмів. Не можна виключити роль ПК, які мігрують з різних відділів часточки (перипортальних та централобулярних), а також циркулюючих клітин-попередників. Значуще переважання EpCAMH та незначуще – CK19, порівняно з P1 можна пояснити домінуванням гепатоцитарного напрямку диференціювання ПКП та незначною участю ДРК у репаративній регенерації. ПЗК виконували також профіброгенну функцію, що підтверджується перицелюлярним розвитком сполучної тканини у лобулярному компартменті (значення FP наближалось до показника в групі P1). Крім активної інтралобулярної репарації, характерним для даної групи є виражений септальний фіброз (значення FG було ближчим до показника групи P3). Така ж тенденція спостерігається і для показників фіброгенезу (α -SMAG, α -SMAS, Ki67S) та неоангиогенезу (CD34G). Найважливіша роль, вірогідно при цьому належить портальним фібробластам та ендотеліоцитам, які після активації мігрують у часточки, де виявляються у складі септ. Характерно, що CK19+ ДРК розміщувались переважно інтрасептально, що свідчить про їх переважаюче значення у компенсаторно-пристосувальних процесах, а не у механізмах репаративної регенерації (ДР1 типу за

класифікацією Desmet). Своєрідне поєднання активної інтралобулярної репарації та вираженого септального фіброзу можна пов'язати з більш вираженим пошкодженням, яке індукує механізми фіброзу, що спостерігаються при рутинних процесах загоєння.

Щодо регулюючих клітин, кількість CD68+ макрофагів у P2 була найменшою, проте відмінності від P1 та P3 не були значущими. Площа, яку займали CD117+ клітини була проміжною (порівняно з P1 та P3).

При P3 репаративні процеси були найбільш вираженими і асоціювались із перидуктальним фіброзом. Загальна кількість незрілих попередників (ErCAMG) була найвищою серед трьох груп і гістотопографічно вони були пов'язані з перипортальною нішею СК. Тому, вірогідно, ця популяція включала переважно ПКП каналів Герінга, але могла поповнюватись і з інших джерел: «гібридні» гепатоцити з пограничної пластинки, «дедиференційовані» гепатоцити прилягаючих ділянок, циркулюючі ПКП.

Значну частку таких клітин складали ErCAM+ гепатоцити, кількість яких при P3 теж значуще переважала (ErCAMH). Крім того виявлялись вони у вигляді великих груп, прилягаючих до пограничної стромально-паренхіматозної зони.

Але найбільш виразною була відмінність значень показника SK19, 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. Одержані результати свідчать про високу активність репаративних процесів у перипортальній ніші СК, у яких провідну роль відіграють ДРК – гетерогенна популяція ПКП з «біліарним фенотипом», переважно у зоні ДР. В нашому дослідженні вони визначались як ErCAM+ та SK19+ клітини, які виявлялись у перипортальних ділянках і асоціювались із ДР3 типу за класифікацією Desmet.

Загальні та септальні показники ангіогенезу були значуще вищими, ніж в групах P1 та P2, але серед них вирізнявся CD34S, який був в 4,3 рази

вищий, ніж в групі P1. Щільні анатомічні асоціації між біліарними та судинними структурами та спільні медіатори свідчать про важливі авто- та паракринні впливи між цими клітинними популяціями, які були підтверджені у багатьох роботах. Так, ДПК здатні виділяти потужні ангіогенні фактори (VEGF, PDGF, ангіопоетини), які забезпечують виражене ремоделювання судинної сітки у перипортальній зоні: формування нових судин, переважно гілок печінкової артерії, та утворення множинних гетерогенних шунтів. Fabris L et al. показали, що ДПК виділяють VEGF-A, який діючи на ендотеліоцити, посилює васкулогенез артерій та судин перибіліарного сплетення. Гепатобласти секретують Ang-1, що індукує дозрівання новоутворених гілок печінкової артерії за рахунок приваблення перицитів.

Прояви репарації асоціювались із вираженим перидуктальним фіброзом (FG значуще вищий). Основною фіброгенною клітиною в даному варіанті репарації є портальний фібробласт, який після активації набуває всіх властивостей міофібробласта. Важливу роль у такій активації відіграють ДПК, які знаходяться у безпосередній близькості і виділяють потужні паракринні фактори (PDGF, CTGF, TGF β 2). Міофіброласти в свою чергу виділяють тенасцин та колаген ІУ типу, які відіграють роль у розвитку біліарних структур. Крім портальних фібробластів у фіброгенезі могли брати участь також циркулюючі фіброцити, ПЗК із периферії часточки та клітини, що утворились в результаті диференціювання незрілих мезенхімальних попередників або епітеліально-мезенхімальної транзиції.

Більшість показників лобулярного компартменту при P3 були значуще нижчими, порівняно з іншими двома групами, що свідчить про низьку активність лобулярної ніші СК. Розповсюдження новоутвореної сполучної тканини у паренхіматозному компартменті теж було мінімальним (FP значуще нижчий).

Кількість макрофагів була майже такою ж, як при P1, але меншою в порівнянні з P2. Особливо виразною була відмінність щодо телоцитів (CD117 у групі P1 переважав такий же показник у групі P3 вдвічі). Вірогідно роль

цих клітин при даному варіанті репарації є меншою, незважаючи на їх безпосередню близькість до основної клітинної популяції перипортальної ніші СК.

7.3 Морфологічні прояви алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії захворювання

Протягом останніх 30 років відбулись кардинальні зрушення у розумінні пато- та морфогенезу хронічного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С. Така увага до цих захворювань зумовлена існуючою значною поширеністю та тенденцією до подальшого зростання частоти даної патології. На сьогодні вже описані основні морфологічні прояви, особливо ті, що виявляються на ранніх етапах хвороби. Однак прояви репаративних процесів та фіброзу, які переважають на пізніх стадіях вивчені значно менше. Ще складнішим діагностичний процес стає при поєднанні цих нозологічних форм.

Традиційно морфологічні зміни ділять на прояви, що відображають активність процесу (стеатоз, пошкодження, клітинна інфільтрація) та процеси, що забезпечують прогресуючий перебіг захворювання (репаративна регенерація, фіброз, реорганізація часточки). Базуючись на результатах аналізу 417 випадків хронічного алкогольного та неалкогольного стеатогепатитів, вірусного гепатиту С та їх поєднань, а також на даних 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 направлена основна увага у даному дослідженні.

Репаративні процеси при рутинному мікроскопічному дослідженні тканини печінки оцінювати доволі складно. Найбільш чіткою ознакою є

дуктулярна реакція, але незважаючи на існування множинних описів та класифікацій, трактування виявлених змін не є однозначним [371]. Згідно сучасних уявлень ДР може бути проявом декількох патологічних процесів: адаптації, репаративної регенерації та хронічного пошкодження. Оскільки достовірних особливостей фенотипу біліарних клітин та тубулярних структур за даними літератури не описано, ми базувались на гістотопографічних відмінностях. Якщо дуктули виявлялись по всій товщі септи, вірогідно вони відображали процеси адаптації та/або пошкодження (ДР1 за Desmet). В нормі проліферація холангіоцитів у ПТ регулюється епітеліально-мезенхімальними взаємодіями між біліарним епітелієм та специфічними сполуками, які здатні пригнічувати проліферацію холангіоцитів шляхом експресії ектонуклеотидази NTDPase2 (нуклеозид трифосфат дифосфогідролази 2), яка блокує рецептори пуринергічної АТФ на холангіоцитах. Інтерлейкін 6 та холестази зумовлюють даунрегуляцію NTDPase2 що призводить до активації специфічних рецепторів на холангіоцитах та подальшої проліферації клітин. Проста проліферація не асоціюється з утворенням нових дуктуло-каналікулярних з'єднань. Видовження жовчевих шляхів збільшує загальну площу реабсорбції холангіоцитів і підвищує жовчно-печінкову циркуляцію жовчевих кислот. Крім того видовження, дилатація та розгалуження проток сприяє адаптації трьохвимірної структури дуктул до експансії портальної мезенхіми, яка спостерігається при набряку, запальній інфільтрації та склерозі. Холангіоцити та дуктули при цьому зберігають свій класичний фенотип. За нашими даними дифузна ДР значуще переважала при НАСГ та АСГ. Цікаво, що при поєднанні цих захворювань теж переважала дифузна ДР, але частка перисептальної ДР була значно вищою (38,1% при АСГ+НАСГ проти 7,8% при НАСГ та 9,;% при АСГ). Це можна пояснити більшим функціональним навантаженням на паренхіматозні елементи при АСГ+НАСГ, і відповідно більш вираженою адаптативною реакцією.

Якщо ж новоутворені дуктули розміщувались вздовж пограничної пластинки або по краю септи, ми вважали, що ДР була проявом репаративної регенерації (ДРЗ за Desmet). В більшості досліджень відмічається, що в результаті значних втрат паренхіми активується проліферація ПКП, розміщених в зоні каналів Герінга. Біпотенціальні ПКП можуть диференціюватись як в гепатоцити, так і в дуктулярні епітеліоцити. Напрямок диференціювання залежить від стану клітинних та гуморальних компонентів ніші регенерації. У випадку несприятливого прозапального мікрооточення диференціювання у напрямку гепатоцитів пригнічується і натомість супроводжується формуванням ДР та склерозом. Фенотип новоутворених біліарних клітин та дуктул дещо відрізняється від класичного. Клітини таких новоутворених дуктул в деяких дослідженнях в зв'язку з їх високою функціональною активністю називають дуктулярними реактивними клітинами. За даним нашого дослідження перисептальна ДР значуще переважала при ВГС. Відомо, що пограничний гепатит, типовий для цього захворювання, зумовлює фіброз у перипортальних ділянках на місці так званих «ступінчастих некрозів». Але, якщо фіброз описується практично у всіх дослідженнях і навіть оцінюється кількісно, розвиток ДР практично не відмічається. З нашої точки зору це важливо, оскільки наявність реактивних холангіоцитів підтверджує задіявання ще одного додаткового фіброгенного механізму. При поєднаних захворюваннях перисептальна ДР переважала за умови, що у комбінації був ВГС. Найвищою частота була в групі ВГС+АСГ+НАСГ, але відмінності від інших двох груп ВГС+АСГ та ВГС+НАСГ були незначущими.

В частині випадків (3 випадки з групи АСГ+ВГС) у перипортальних зонах спостерігались вогнища новоутворених дуктул, які формували складний лабіринт із анастомозуючих структур (мураліум), характерний для балок гепатоцитів. За даними літератури такий паттерн особливо чітко прослідковується при трьохвимірній реконструкції. Інтерпретуються описані зміни, як дуктулярна метаплазія гепатоцитів – зміна секреторної полярності з

горизонтальної (гепатоцитарної каналікулярної) на вертикальну (холангіоцитарну апіко-базальну), зумовлена нагромадженням холатів та змінами цитоскелету клітини (ДР2А за Desmet). Найкраще така метаплазія вивчена при холестатичних станах, хоча описється і при захворюваннях без виражених змін у біліарній системі. Зміна фенотипу супроводжується активацією гепатоцит-асоційованих ПЗК, які контактують за допомогою відростків з декількома гепатоцитами. Міофібробласти (активовані ПЗК) продукують компоненти ЕЦМ, зумовлюючи перичелюлярний фіброз, що в свою чергу сприяє порушенню функцій гепатоцитів. У всіх трьох випадках нашого дослідження, в яких виявлялась ДР2А, відмічався вплив алкоголю, який асоціюється з порушенням цитоскелету клітини. Імовірно цей механізм може відігравати роль у розвитку метапластичної зміни фенотипу печінкових клітин. Оскільки даний варіант ДР зустрічався дуже рідко, ми не враховували його при розробці діагностичних критеріїв.

Проліферати холангіоцитів, які на гістологічному рівні нагадують паттерн ДР2А, але розміщуються інтралобулярно/інтранодулярно (ДР2В за Desmet), описані при різних захворюваннях [372]. Згідно концепції Desmet V.J. за умов хронічної ішемії та гіпоксії розвивається перисинусоїдний фіброз та асоційоване з ним зменшення розміру гепатоцитів. Провідну роль при цьому відіграє індукція HIV-1 у скомпроментованих гепатоцитах, що призводить до виділення профіброгенних та вазоактивних медіаторів (PDGF-A, PDGF-B, PAI-1). У самих гепатоцитах змінюється фенотип, що супроводжується експресією нетипових маркерів (K7, K19) і на думку автора свідчить про дедиференціювання печінкових клітин. На гістологічному рівні такі клітини можуть виявлятися у вигляді невеликих груп або формувати дуктули і відрізнити їх від дуктул у складі септ, які проникають у паренхіму неможливо. Достовірним підтвердженням в такій ситуації може бути використання імуногістохімічних маркерів. Тому ми не вважали доцільним враховувати цей вид змін при диференційній діагностиці, яка базується на рутинному дослідженні тканини печінки.

Зміни у паренхіматозному компартменті досліджувати ще складніше. Гепатоцити, згідно сучасних уявлень, беруть активну участь у відновленні тканини печінки, але морфологічні критерії цього процесу не є надійними. Клітинні прояви проліферативної активності, до яких традиційно відносять фігури мітозів, двоядерні гепатоцити, гіперхромію ядер не є достовірними, оскільки можуть відображати як різноманітні фізіологічні реакції, так і пухлинну трансформацію. Виявлення недиференційованих печінкових клітин потребує імуногістохімічного дослідження. Тому в нашому дослідженні зупинились на змінах, що виявляються на тканинному рівні: дискомплексації балок, потовщенні балок та формуванні гландулярних структур. Дискомплексація балок, яка відображає дифузне нерівномірне потовщення балок гепатоцитів та, частково набряк інтерстицію, розцінювалась як мінімальний ступінь уражень. Цей вид змін спостерігався найчастіше з незначущими відмінностями між групами. Дещо рідшими були вогнищеві потовщення балок і ще рідшими гландулярні структури. Відсутність значущих відмінностей між досліджуваними критеріями у різних групах свідчить, що на гістологічному рівні при використанні рутинних методів оцінка проліферативної активності гепатоцитів не є достовірною і не може використовуватись як диференційно діагностична ознака.

Фіброз – морфологічний прояв, який найлегше виявити навіть при рутинному патогістологічному дослідженні і можна більш детально оцінити при гістохімічному забарвленні різних типів колагену. Але, незважаючи на це, результати опису і, особливо кількісного аналізу, часто не є однозначними. Ми враховували декілька ознак, які дозволяли максимально повно оцінити як особливості морфогенезу новоутвореної сполучної тканини, так і ступінь вираженості процесу.

Морфогенетичні особливості фіброзу найкраще відображає гістотопографія виявлених змін.

Перисинусоїдний/periцелюлярний фіброз розвивається інтралобулярно у різних відділах часточки. Супроводжується відкладанням

позаклітинного матриксу переважно у просторах Діссе довкола синусоїди або навколо груп гепатоцитів, що призводить до двох варіантів: капіляризації синусоїдів та формування сотової структури відповідно. Основними фіброгенними клітинами є активовані ПЗК або ПЗК/МФбл, які виявляються переважно у капіляризованих синусоїдах довкола розширених ПТ. Основним патогенетичним механізмом в такому випадку вважається окисний стрес. Реактивні сполуки кисню (РСК) виділяються пошкодженими гепатоцитами та клітинами запального інфільтрату. Разом з іншими медіаторами РСК модулюють поведінку ПЗК, МФбл та інших фіброгенних клітин. При цьому підвищується експресія критичних профіброгенних генів, включаючи про-колаген тип 1, TIMP-1 та MCP-1 імовірно за участю специфічних шляхів сигнальної трансдукції та факторів транскрипції (JNK, AP-1, NF- κ B). Крім того РСК які утворюються у ПЗК під впливом НАДФ-оксидази, здатні підтримувати профіброгенні сигнальні шляхи, що активуються у відповідь на стимуляцію профіброгенними медіаторами (PDGF β , ангіотензин, лептин). РСК також стимулюють проліферацію та орієнтовану міграцію ПЗК/МФбл. Рух клітин є можливим лише при значній інтрацелюлярній концентрації РСК, що може бути результатом активації різних механізмів: проникнення із хронічно реактивного мікрооточення, виділення із мітохондрій під впливом гіпоксії, активації НАДФ-оксидази. До епітопів протеїнів, модифікованих РСК, утворюються циркулюючі антитіла, титр яких корелює із важкістю перебігу таких захворювань, як АСГ, НАСГ та ВГС. ПЦФ значуще переважав при НАСГ, що співпадає із результатами інших досліджень. Досить високі показники ПЦФ виявлялись і при ПЗ, крім групи ВГС+АСГ+НАСГ. Такі результати свідчать про те, що роль гіпоксії при поєднаній патології є досить універсальною і пов'язаний з нею механізм фіброзу, якщо на початкових стадіях і не був провідним, пізніше набував все більшого значення.

Перидуктальний фіброз спостерігається при проліферації реактивних жовчевих протоків та перидуктулярних міофіброblastів, що відбувається на

межі між ПТ та паренхімою, з наступним розвитком порто-портальних септ – сценарій, який не передбачає анастомозів з потальною системою протягом тривалого часу. Спостерігається при проліферації реактивних жовчевих протоків та перидуктулярних міофібробластів, що відбувається на межі між ПТ та паренхімою, з наступним розвитком порто-портальних септ – сценарій, який не передбачає анастомозів з портальною системою протягом тривалого часу. Основну роль при цьому відіграють пограничні міофібробласти, які розміщуються на межі між фіброзною септою та оточуючою паренхімою; походять з активованих ПЗК (згідно антигенного профіля) і частково з попередників із КМ. Провідну роль у цитогенезі відіграють порушення епітеліально-мезенхімальних взаємодій. Класично цей механізм був описаний при холангіопатіях, де основними етапами процесу були: холестаз, некроз або апоптоз холангіоцитів, проліферація холангіоцитів, портальна/перипортальна інфільтрація та фіброз. Найбільш виразним патогістологічним проявом при цьому вважається ДР. Клітини проліферуючих дуктул контактують з портальними фібробластами та ПЗК, які знаходяться поблизу, в результаті чого виділяються цитокіни та прозапальні медіатори. Активовані холангіоцити секретують хемокіни (IL-6, 8, TNF β , MCP-1) та профіброгенні медіатори (PDGF β , ET-1, CTGF, TGF β 2) які ініціюють активацію диференціювання портальних фібробластів/ПЗК у міофібробласти, результатом чого є так званий біліарний фіброз. На користь такого провізорного профіброгенного механізму свідчить той факт, що майже такі ж хемокіни та профіброгенні поліпептиди можуть виділятися клітинами запального інфільтрату, імунокомпетентними та мезенхімальними клітинами. Більше того, є дані про те, що портальні фібробласти відіграють важливу роль у прогресуванні ХЗП іншої етіології і супроводжується мостодібним фіброзом. Отже, важливою є не специфічна етіологія, а взаємодія між активованими/пошкодженими холангіоцитами та портальні фібробласти, які диференціюються у міофібробласти. І дійсно, ДР описана також при хронічному ВГС та НАСГ. Ця концепція також співвідноситься з

результатами недавніх досліджень, які показали, що сигнальний шлях Notch регулює диференціювання ПКП у зоні каналів Герінга у гепатоцити або холангіоцити. Якщо мішенню хронічного пошкодження є холангіоцити, результатом їх взаємодії з оточуючими клітинами є індукція генерації прилягаючими міофібробластами Jagged-1, який в свою чергу зумовлює диференціювання ПКП у напрямку холангіоцитів, що теж відіграє роль у формуванні ДР. Якщо ж пошкодження захоплює гепатоцити, макрофаги/КК виділяють Wnt3a, що призводить до переключення Notch-сигнального шляху у ПКП і зумовлює диференціювання у напрямку гепатоцитів. Наші результати показали, що ПДФ найчастіше спостерігався при ВГС і асоціювався з вираженою перисептальною ДР. Визначити імовірну морфогенетичну послідовність виявлених змін в даному випадку важко. З однієї сторони постнекротичний фіброз сприяє компенсаторній регенерації клітин у ніші каналів Герінга, а з іншої – активовані, (можливо внаслідок пошкодження, описаного при ВГС) холангіоцити індукують експансію паренхіми. При ПЗ ПДФ спостерігався в 2,7 разів рідше, ніж при ВГС, але в 2,5 рази частіше, ніж при АСГ та НАСГ. При цьому відносно висока частота ПДФ при ПЗ зумовлена переважно значущим переважанням цього виду фіброзу в групі ВГС+АСГ+НАСГ, в якій спостерігається комбінація максимальної кількості патогенетичних факторів.

Портосептальний фіброз є результатом порто-центрального (венозного) мостоподібного некрозу з подальшим формуванням порто-центрального септ. Такий сценарій зазвичай асоціюється з ступінчастим некрозом (гепатитом), розвитком порто-портального септ та сліпих септ у паренхімі та раннім формуванням судинних з'єднань з портальною системою. Провідну роль у фіброгенезі відіграють портальні/септальні міофібробласти – клітини з однаковим набором антигенів, які виявляються у внутрішній частині фіброзної септи (септальні міофібробласти) або у розширених ПТ (портальні МФбл); походять переважно з портальних фібробластів і частково з попередників із КМ. До основних патогенетичних механізмів відноситься

хронічна активація процесів загоєння. Цей механізм спостерігається найчастіше і є можливим за умов персистенції хронічного пошкодження паренхіми (гепатоцитів та холангіоцитів), клітинного інфільтрату з переважанням макрофагів та лімфоцитів, активації профіброгенних клітин з наступною їх проліферацією, міграцією та секрецією елементів ЕЦМ, асоційованих з пониженням здатності ремоделювати/усувати фібрилярний колаген та спробами репопуляції паренхіми. До основних медіаторів, що регулюють процеси відносяться PDGF, TGF β 1, CTGF, ET-1, MCP1, CCL2, TNF α , адипокіни, VEGF-A, ангіопоетин1. Згідно наших даних ПСФ найчастіше виявлявся при АСГ і приблизно в 2,2-2.7 рази рідше при НАСГ та ПЗ відповідно. Вірогідно універсальні механізми загоєння нівелюються більш специфічними процесами при ВГС, оскільки в цій групі частота ПСФ була значуще нижчою. При ПЗ ПСФ спостерігався майже з однаковою частотою і тільки в групі ВГС+АСГ+НАСГ – значуще рідше.

Оскільки при прогресуванні фіброзу в більшості випадків спостерігається формування септ, на етапі помірних/виражених змін оцінювався тип септоутворення. Порто-портальні септи були переважно тонкими, нерідко короткими і асоціювались з незначним/помірним ступенем фіброзу, оскільки формувались по краю часточки і могли відображати не тільки лобулярну реорганізацію, а і формування нових печінкових ацинусів/часточок. Портоцентральні септи переважно були більш вираженими і більше впливали на структуру печінкової часточки, порушуючи нормальний плин крові. В зв'язку з цим вони розцінювались як більш значний ступінь фіброзу. Перинодулярні септи оточували більш або менш чітко сформовані паренхіматозні вузли і відображали трансформацію гепатиту у цироз. Порто-портальні септи значуще переважали при НАСГ і практично не виявлялись при ПЗ. Зміни при НАСГ можна пояснити високою частотою ПЦФ, який досить довго розвивається без формування септ, а також відносно нижчим ступенем вираженості фіброзу, порівняно з іншими групами. Протилежною була ситуація при ПЗ, де домінували перинодулярні

септи, переважно за рахунок високих показників у групах АСГ+ВГС та ВГС+АСГ+НАСГ. Частота виявлення різних септ в групах АСГ та ВГС майже не відрізнялась, що свідчить про більш високу вірогідність кореляції цієї ознаки із стадією розвитку захворювання, а не з етіологічними чинниками.

Оскільки при хронічному перебігу захворювань печінки крім фіброгенезу відбувається і зворотній процес – видалення новоутвореної сполучної тканини та репопуляція паренхіми, важливо було оцінити прояви регресії фіброзу [374-382]. У 2000 році Wanless J.R. та співавтори ввели поняття «печінковий комплекс репарації», який відображав морфологічні прояви даних процесів [374]. Згідно цієї концепції регресія фіброзу і цирозу включає наступні етапи: (1) зближення портальних трактів та центральних вен внаслідок колапсу паренхіми та фіброгенезу, (2) утворення сполучнотканинних септ та коротких адгезій між портальними трактами та центральними венами, (3) видовження септ за рахунок гіперплазії прилягаючих клітин, (4) резорбція септ та адгезій. Основними морфологічними проявами є: перфоровані тонкі септи, ізольовані товсті колагенові пучки, тонкі короткі перипортальні септи, залишки печінкових вен з проласом гепатоцитів, наявність гепатоцитів у портальних трактах або розщеплених септах, дрібні регенераторні вузлики, аберантні перипортальні паренхіматозні судини, залишки портальних трактів (артерії або протоки без спроводжуючих структур), зменшення кількості колагену у портальних трактах. Базуючись на результатах первинного аналізу власного матеріалу, із описаного комплексу репарації проводилась оцінка чотирьох ознак: перфоровані тонкі септи, адгезії/ізольовані пучки колагену, інтрасептальні гепатоцити та зближення ПТ і ЦВ, які можна було достовірно виявити при рутинному патогістологічному дослідженні. Перфоровані тонкі септи переважали при НАСГ, що свідчить про високу ступінь резорбції сполучнотканинних тяжів, але іноді їх важко відрізнити від початкових проявів септоутворення. При АСГ та ВГС не відмічалось істотного

переважання якоїсь із ознак і відмінності між групами не були значущими. При ПЗ переважали інтрасептальні гепатоцити (особливо при АСГ+НАСГ+ВГС) та зближення ПТ і ЦВ (переважно при АСГ+ВГС), що можна пояснити значним колапсом паренхіми при поєднанні декількох захворювань.

Ступінь реорганізації печінкової часточки оцінювали, визначаючи нодулярність. Септальний склероз, при якому порто-портальні та портоцентральні септи порушують структуру часточки, але не призводять до повного обмеження ділянок паренхіми, розцінювався як мінімальний ступінь тканинної реорганізації. Великі вузли, які зазвичай були нечітко обмеженими та межували із збереженими часточками, трактувались як помірний ступінь перебудови тканини печінки. Наслідком проникнення септ всередину новоутворених вузлів відбувався їх поділ на дрібні часточки – формування дрібновузлового цирозу, який оцінювався як максимальний ступінь реорганізації тканини органу [383,384]. Мінімальне порушення гістоархітекτονіки печінки спостерігалось при НАСГ, що значуще відрізняло цю групу від інших. Максимальний ступінь перебудови – дрібні вузли найчастіше виявлялись при ПЗ і дещо рідше – при ВГС, але ці зміни не були переважаними. В цілому в групах АСГ, ВГС та ПЗ домінували великі вузли, які виявлялись поруч із незміненими часточками.

На всіх етапах розвитку стеатогепатиту та вірусного гепатиту С важливу роль відіграють процеси порушення метаболізму та імунного статусу печінки, які найчастіше проявляються стеатозом та появою мононуклеарного або змішаноклітинного інфільтрату на місці пошкодження. Такі зміни характерні для ранніх етапів розвитку захворювань, і описані у багатьох роботах. Ми включали прояви пошкодження/клітинної інфільтрації у наше дослідження, оскільки вони можуть асоціюватись із стадією загострення і сприяти або змінювати перебіг репарації/фіброзу. Крім того, оцінюючи загальний стан тканини печінки для кінцевого заключення,

визначення ступеня активності є необхідним компонентом діагностичного процесу.

Центральною ланкою в розвитку стеатозу печінки є порушення обміну ВЖК. Основними варіантами таких розладів є підвищене поступлення з крові, пониження β -окислення, зменшення утворення/виділення ЛПДНЩ, посилений синтез ЖК [293-297].

При цьому зміни в печінці проходять декілька етапів. Після вичерпання можливостей звичайного мітохондріального β -окислення ВЖК у клітині розвиваються своєрідні адаптативні (приспосувальні) реакції: надмірна кількість ВЖК депонується у вигляді відносно інертних тригліцеридів; активуються альтернативні шляхи метаболізму ЖК: β -окислення у пероксисомах та ω -окислення у мікросомах. В такому стані клітина може існувати певний час, але з'являється небезпека активації механізмів, які потенційно можуть привести до пошкодження. Таким чином клітина стає чутливою до різноманітних ендо- та екзогенних впливів і стеатоз може розцінюватись як фоновий стан для розвитку групи хронічних захворювань [385-387].

Незважаючи на те, що морфологічні прояви стеатозу є загальновідомими, деякі положення на сьогодні набули дещо іншого трактування. Ліпідні вакуолі вважаються цитоплазматичними органелами нагромадження, які містять гідрофобне ядро з тригліцеридів та ефірів холестерину. Ядро зв'язане з моношаром фосфоліпідів, склад яких є іншим, ніж у зернистому ендоплазматичному ретикулумі та у холестерол/сфінголіпідних доменах плазмолемі. Фосфоліпідний шар вкритий поверхневими білками, які виконують різноманітні функції, включаючи участь у метаболізмі ліпідів, внутрішньоклітинному транспорті та сигнальній трансдукції. Ліпідні вакуолі не є гомогенною популяцією органел і можуть відрізнятись за складом білків між окремими видами клітин та за впливом на стан метаболізму в клітині [388,389]. Імовірно існують окремі популяції ліпідних вакуолей з різними функціями [390-396].

При дослідженні стеатозу ми зупинились на двох важливих особливостях: розповсюдженість процесу у часточці та зональність змін. Поширеність вакуольних змін визначалась згідно загальноприйнятої схеми: <5%, 5-33%, 33-66%, >66% і на нашу думку відображала ступінь метаболічних розладів у гепатоцитах та імовірність розвитку у них альтеративних змін. Найбільше випадків без стеатозу спостерігалось при ВГС (більше половини) і найменше при НАСГ. В той же час при ВГС виявлялась максимальна кількість випадків із розповсюдженим стеатозом (>66%). При цьому кореляції із типом вірусу не спостерігалось, оскільки в нашому дослідженні кількість випадків з генотипом вірусу 3а була мінімальною (3,1%). При АСГ, НАСГ та ПЗ переважав помірний ступінь ліпідних нагромаджень, при цьому в групі НАСГ майже не спостерігались випадки із розповсюдженими змінами. Із поєднаних уражень в групі ВГС+НАСГ відмічалась значна кількість випадків з поширеним стеатозом. При вивченні зональності уражень відмічалось переважання змін у центрі часточки/вузла, по периферії часточки/вузла або дифузний характер процесу. За даними літератури ця ознака відображає патогенетичні особливості розвитку процесу на ранніх стадіях захворювань і тому використовується для диференційної діагностики. Ми, аналізуючи зональність змін на стадії помірно вираженого фіброзу, виявили, що особливості, характерні для окремих захворювань втрачаються. Так, найчастішим варіантом у всіх досліджуваних групах був дифузний стеатоз. При цьому все ж таки перисептальний стеатоз практично не зустрічався при НАСГ, а центральний – при ВГС. Серед ПЗ загальна тенденція була такою ж і максимальне переважання дифузного стеатозу спостерігалось при ВГС+НАСГ.

Крім стеатозу, який відображає метаболічні розлади у клітині, ще одним важливим варіантом ураження гепатоцитів є зміна цитоскелету клітини. Гепатоцити з балонними змінами описують як збільшені, округлої форми клітини, з просвітленням цитоплазми. Часто такі зміни асоціюються з макровезикулярним стеатозом, холестазом, скупченням гранулоцитів

(«сателітоз») та інтрацитоплазматичними включеннями – ТМД [310,311,312]. ТМД – щільні цитоплазматичні включення неправильної форми, різних розмірів, які містять: 1) кератини 8 та 18, секвестосоми 1/p62 (p62) та убіквітин – основні компоненти; 2) низько- та високомолекулярні heat shock proteins HSP 70 та HSP 25, білки системи деградації – другорядні компоненти. На сьогодні описані основні механізми задіяні в патогенезі ТМД: посилений окисний стрес, диспропорційна експресія K8/K18 разом з модифікацією кератинів ($K8 > K18$), дисфункція хаперонів, підвищений рівень p62, недостатній розпад протеїнів.

Цитоплазматичні нагромадження протеїнів можуть бути сприятливими, небезпечними або інертними. При багатьох станах агрегати можуть відігравати захисну роль, якщо перша лінія захисту, а саме рефолдінг та деградація є неефективними, і потенційно небезпечні протеїни секвеструються. З іншої сторони, великі агрегати протеїнів можуть бути небезпечними або в зв'язку з 1) механічним впливом на клітинні системи транспорту, 2) зменшенням кількості життєво важливих елементів, які агрегуються або коагредуються, переважанням/пригніченням можливостей системи хаперонів та/або системи деградації білків матеріалом, що не лізується. Імовірно роль включень залежить від багатьох факторів. На сьогодні не виявлено фактів, які б підтверджували негативний вплив ТМД на виживання гепатоцитів [397].

Крім того є дані і про інші варіанти ураження цитоскелету гепатоциту, зокрема при АСГ, які відіграють важливу роль у розвитку «балонних» змін. Цитоскелет гепатоцитів представлений переважно трьома основними сітками філаментів: мікротрубочки, актин та кератини. Всі вони уражуються етанолом. Вважається, що ацетальдегід утворює стабільні аддукти з високореактивною ϵ - аміногрупою залишків лізину, які містяться у β -тубуліні (основному білку мікротрубочок) та в актині. Щодо проміжних філаментів, які виявляються переважно у складі ТМД, незрозумілим залишається ступінь попереднього ураження цитокератинів

(посттрансляційних модифікацій), ще до появи ТМД. Можливо, порушується зв'язування з білками, асоційованими з проміжними філаментами при фосфорилуванні цитокератинів. Неясно, чи можуть бути цитокератини мішенями для аддукції метаболітів етанолу. Таким чином елементи сітки філаментів актину, мікротрубочок та кератину зазнають змін щодо розміщення, рівня експресії та ступеня посттрансляційних модифікацій після впливу етанолу. І хоча прямі механізми ще до кінця невияснені, імовірно описані ураження супроводжуються порушеннями функції гепатоцитів. У гепатоцитах з балонними змінами виявлявся також адіпофілін та окислений фосфатидилхолін (маркер окисного пошкодження) по краю ЛВ та цистерн ЕР. В частині клітин була коекспресія маркерів, але в найбільш пошкоджених клітинах переважав адіпофілін (можливо фосфатидилхолін лізується у адіпофілін+ гепатоцитах). Утворення дрібних вакуолей з експресією адіпофіліна асоціюється із окисним пошкодженням гепатоцитів (аналогічно пінисті макрофаги з наступним внутрішньоклітинною деградацією у лізосомах). На основі цих даних була запропонована гіпотеза [177], згідно якої експресія адіпофіліну у балонних гепатоцитах індукує клітинну захисну реакцію, яка дозволяє запобігти пошкодуючому впливу незрілих ЛВ та врятувати пошкоджені клітини.

До проявів максимального пошкодження клітини традиційно відносять два варіанти її загибелі: некроз та апоптоз [390]. Якщо раніше основна увага приділялась механізмам некрозу, то результати досліджень останніх років свідчать про важливу роль апоптозу у розвитку пошкодження тканини печінки. Апоптоз може ініціюватись з будь-якої мембрановмісної органели клітини. На сьогодні добре вивченими є механізми індукції апоптозу у мітохондріях, лізосомах, ендоплазматичному ретикулуї. Крім того індукція апоптозу може бути наслідком приєднання до рецепторів смерті, розміщених на плазматичній мембрані, відповідних ліганд, серед яких найважливішими є TNF- α , Fas ligand та TRAIL.

Часом одні і ті ж фактори за різних умов можуть зумовлювати як апоптоз, так і некроз. Наприклад, масивне виділення катепсину В при тотальній пермеабілізації мембрани лізосом веде до некрозу, а помірні дози асоціюються з апоптозом.

Прояви пошкодження здебільшого асоціюються з ознаками клітинної інфільтрації, що на сьогодні вже підтверджено виявленням молекулярної основи складних механізмів міжклітинних взаємодій [398].

Печінка постійно контактує з величезною кількістю антигенів з шлунково-кишкового тракту. Внутрішнє мікросередовище підтримується у стані спокою завдяки двом механізмам. Перший полягає в захопленні печінкою активованих CD8⁺ Т-клітин, де вони підлягають апоптозу. Антигенна презентація наївних CD8⁺ Лмф у органі є неповною, оскільки антиген-презентуючі клітини не містять костимулюючих молекул; тому в органі відбувається формування толерантності. Другий механізм передбачає те, що мікрооточення печінки зумовлює переключення CD4⁺Т-лімфоцити на шлях формування фенотипу Th-2. Переважно це зв'язано з виділенням СЕК ІІ-4 та ІІ-10. Ці два механізми запобігають непотрібним імунним реакціям на нешкідливі антигени, які поступають з шлунково-кишкового тракту. Важливо, що в нормі лімфоцити знаходяться у синусоїдах і не інфільтрують паренхіму, хоча повільний кровоплин, відсутність базальної мембрани та наявність фенестр у СЕК дозволяє лімфоцитам контактувати безпосередньо з СЕК, КК та навіть гепатоцитами. Останні також функціонують як антиген-презентуючі клітини, але не містять необхідних костимуляторів [399].

При пошкодженні паренхіми, зумовленим метаболічними розладами, інфікуванні вірусами та впливами інших факторів імунний статус органу порушується, що завжди супроводжується скупченням клітин гематогенного походження [400,401]. У інфільтратах переважають клітини лімфоїдного ряду (цитотоксичні CD8⁺ Е-лімфоцити, NK-клітини, NKT-клітини та CD4⁺ Т-лімфоцити), макрофагального ряду (КК, циркулюючі макрофаги, дендритні клітини) та гранулоцити. Їх співвідношення, функція та

локалізація залежать від особливостей основного захворювання, але всі вони можуть зумовлювати пошкодження [402-405].

Макрофаги переважно здійснюють безпосередню елімінацію патогенів та нерозчинних молекул. Виділяючи велику групу цитокінів вони беруть участь у регуляції імунних реакцій, запалення, репарації, фіброзу. Цитотоксичні CD8⁺ безпосередньо знищують інфіковані (та можливо неінфіковані) гепатоцити. Механізми вивчені недостатньо: частково це може бути взаємодією Fas – FasL або бути наслідком виділення TNF- α . NK-клітини зумовлюють пошкодження завдяки декільком механізмам. Активовані цитокінами NK-клітини знищують гепатоцити виділяючи TRAIL та/або гранзим В. Активація NK-клітин клітиною-мішенню, яка експресує збільшену кількість стимулюючих або зменшену кількість інгібіторних ліганд, зумовлює підвищену чутливість та наступну загибель гепатоцитів. Крім того активовані NK-клітини виділяють прозапальні цитокіни, які посилюють інші механізми. Основними механізмами пошкодження, зумовленого NKT-клітинами, є виділення прозапальних цитокінів (IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-13, TNF- α) та знищення гепатоцитів шляхом FasL. Рідше до складу інфільтратів входять нейтрофільні лейкоцити, скупчення яких зумовлюється наявністю специфічних хемоатрактантів.

Оскільки прояви пошкодження та інфільтрації мають спільний морфогенез, у нашій роботі вони описувались разом. При цьому було виділено декілька варіантів поєднань морфологічних ознак пошкодження/клітинної інфільтрації: балонні зміни гепатоцитів, інтралобулярні інфільтрати, перисептальні інфільтрати та інтрасептальні інфільтрати. Балонні зміни гепатоцитів зустрічались в поодиноких клітинах, в невеликих групах і часом асоціювались із скупченням нейтрофілів. Цей варіант уражень описується переважно при АСГ. Інтралобулярні інфільтрати містять імунокомпетентні клітини (макрофаги та лімфоцити) і виявляються на місці поодиноких або невеликих груп загиблих гепатоцитів. Іноді поруч виявляються апоптозні тільця (тільця Каунсільмена). Часом такі ж за складом

інфільтрати різного ступеня вираженості виявляються у перисептальних ділянках. Такі варіанти вважаються характерними для ВГС. Крім того у нашому матеріалі було виявлено скупчення моноклеарних клітин у складі сполучнотканинних септ, які не асоціювались з типовими проявами пошкодження. Їх роль не зовсім зрозуміла тому, що вони можуть мати значення не стільки для прогресування альтерації, скільки для регуляції репаративних процесів. Такі інтрасептальні інфільтрати описані при різних захворюваннях і іншими дослідниками, але однозначна інтерпретація на сьогодні відсутня. Зважаючи на це, було вирішено включити цей варіант змін до переліку діагностичних критеріїв. Базуючись на власних результатах, ми виділяли дифузні септальні інфільтрати, вогнищеві та з формуванням агрегатів із лімфоїдних клітин.

У нашому дослідженні балонні зміни гепатоцитів були переважно поодинокими, але при НАСГ та АСГ приблизно в третині випадків спостерігались множинні групи клітин з такими змінами. При АСГ, крім того досить часто балонні зміни гепатоцитів асоціювались із скупченням нейтрофілів, тобто пошкодження клітин відбувалось за класичним для цього захворювання сценарієм. При ВГС балонні зміни гепатоцитів виявлялись з найменшою частотою, що теж є типовим для даного захворювання. При ПЗ теж переважали поодинокі гепатоцити з балонними змінами, але при АСГ+ВГС та АСГ+НАСГ+ВГС частка множинних вогнищ, асоційованих з нейтрофілами була доволі високою. Інтралобулярні моноклеарні інфільтрати були переважно поодинокими при АСГ і НАСГ, натомість при ПЗ і, особливо, при ВГС частка множинних змін була вищою (більше половини при ВГС), а в третині випадків ці зміни асоціювались з наявністю апоптозних тілець, що є типовим варіантом пошкодження для даного захворювання. Серед ПЗ множинні лобулярні інфільтрати з апоптозними тільцями переважали у групі АСГ+ВГС. Перисептальні інфільтрати практично не виявлялись при НАСГ (переважно - поодинокі). При ВГС та ПЗ вони були майже в рівних частках помірими та вираженими, а при АСГ

кількість виражених перисептальних інфільтратів була найвищою. Серед ПЗ переважали виражені інфільтрати (крім групи АСГ+НАСГ, в якій найчастіше виявлявся помірний ступінь змін. Інтрасептальні інфільтрати при АСГ та НАСГ були переважно дифузними, а при ВГС та ПЗ – вогнищевими. Найбільша кількість вогнищевих інфільтратів із формуванням агрегатів спостерігалась при ПЗ, особливо при ВГС+АСГ+НАСГ, де частка сягала більше половини випадків.

На основі вивчення частоти виділених діагностичних критеріїв було виявлено особливості репаративної регенерації, фіброзу, тканинної реорганізації та асоційованих з ними пошкодження/інфільтрації при АСГ, НАСГ, ВГС та поєднанні цих захворювань (ПЗ). Основна увага при аналізі виявлених змін приділялась переважаючому варіанту репарації, реорганізації тканинної структури та регресії цих змін, а також збереженню характерних для окремих захворювань проявів пошкодження/інфільтрації.

При АСГ переважав септальний та перицелюлярний склероз. КК активовані алкоголем стимулюють проліферацію та активацію ПЗК через IL-6 та ROS-залежні механізми. Вважається, що при хронічному зловживанні алкоголем фіброз прогресує в зв'язку із пригніченням активності НК-клітин, а НКТ-клітини посилюють пошкодження печінки. За традиційною схемою фіброз при АСГ розпочинається у центролобулярних ділянках, а далі прогресує переважно як перицелюлярний/перисинусоїдний процес [406-410]. Пізніше на фоні прогресування регенерації та атрофії паренхіми групи гепатоцитів у сполучнотканинних прошарках зникають, в результаті чого формуються сполучнотканинні септи. За даними деяких авторів стадія фіброзу при АСГ вважається як незалежний предиктор подальшого прогресуючого перебігу. Внаслідок прогресування септального фіброзу великі вузли поступово трансформуються у дрібні. В нашому дослідженні в більшості випадків виявлялись великі вузли із септами, які проникали всередину паренхіми. Цікаво, що ознаки ремоделювання макровузлів у мікровузли не завжди корелюють з періодом абстиненції [411,412]. Fauerholdt

показали, що конверсія макронодулярного у мікронодулярний цироз розвивається у переважній більшості хворих, і період трансформації не залежить від того, продовжували вони зловживання чи ні. Автори роблять висновок, що така трансформація є компонентом, але не може прирівнюватись до регресії тканинної перебудови. При АСГ на відміну від інших захворювань проводилось вивчення проявів регресії змін, в тому числі ознак «печінкового комплексу репарації» [413,414]. На думку авторів, тонкі перфоровані септи, ізольовані товсті пучки колагену, залишки ПТ дозволяють думати про регресію змін, що співпадало з даними нашої роботи. Якщо фіброз та його особливості вивчались багатьма дослідниками, то проявам репарації приділялось значно менше уваги. За нашими даними дуктулярна реакція була дифузною; ознаки проліферації гепатоцитів (мітози, потовщення балок) переважно були відсутніми або асоціювались з формуванням гландулярних структур. Такі зміни можна трактувати як переважання адаптативних змін у септальному компартменті та низьку активність репаративної регенерації у напрямку холангіоцитів (реактивні дуктули у пораничних ділянках). Для оцінки участі гепатоцитів у репарації необхідні додаткові критерії [414-416].

При АСГ стеатоз переважно спостерігався дифузно або в центрі вузлів і займав більше 66% паренхіми. Крім того виявлялись групи Гпц з центрально розміщеним ядром та множинними дрібними ліпідними вакуолями (переважно у зоні 3). При тривалому зловживанні алкоголем зростає роль порушень внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів: підвищення активності фосфатидат фосфогідролази та диацилгліцерол ацилтрансферази; підвищення рівня протеїну, що зв'язує ЖК; пониження рівня виділення ліпопротеїнів дуже низької щільності з гепатоцитів; пониження рівня β -окислення внаслідок ураження мітохондрій; маніфестація генетичних особливостей (недостатність трифункціонального протеїну) [417-419]. Складні розлади метаболізму жирів зумовлюють наявність ліпідних вакуолей у цитоплазмі гепатоцитів на різних стадіях захворювання, включаючи цироз печінки.

Балонні зміни гепатоцитів були множинними та асоціювались з інфільтрацією нейтрофілами. Значну вираженість таких змін можна пояснити ураженнями цитоскелету клітини, оскільки описано, що елементи сітки філаментів актину, мікротрубочок та кератину зазнають змін щодо розміщення, рівня експресії та ступеня посттрансляційних модифікацій після впливу етанолу [420]. Загибель гепатоцитів шляхом апоптозу/некрозу зумовлюється різними механізмами. Ацетальдегід (продукт окислення етанолу) ковалентно зв'язується з білками, що веде до утворення аддуктів - білків з пониженою функцією та підвищеною антигенністю: гідрокси-етил радикал та кінцеві альдегідні продукти перекисного окислення ліпідів – малонілальдегід, 4-гідроксиноненал. Важливу роль відіграє окисний стрес (CYP2E1 при окисленні етанолу у мітохондріях), який зумовлює утворення прооксидантів (ROS) з наступною модифікацією білків (включаючи компоненти каскаду сигнальної трансдукції та апоптозу), підвищенням антигенності білків та утворенням продуктів перекисного окислення ліпідів та інших метаболітів. Серед інших механізмів пошкодження слід відмітити пониження антиоксидантних можливостей (глутатіон, вітамін E) та пригнічення функції 26S протеасоми з нагромадженням пошкоджених білків. Інтралобулярні інфільтрати на місці загиблих гепатоцитів були поодинокими і за складом відповідали структурі «ліпогранульоми». Септальний інфільтрат був незначним. Серед клітин інфільтрату за даними інших дослідників найважливішими є КК, НК-клітини та NKT-клітини. Прийом алкоголю посилює проникливість слизової кишки та поступлення ендотоксину/ліпополісахариду у портальну циркуляцію. КК активуються у відповідь на ліпополісахарид через TLR4 сигнальний каскад, що веде до виділення TNF- α , IL-1, IL-6 та ROS. Особливо важливу роль відіграє TNF- α . Крім того КК виділяють IL-8, IL-12 та IFN, які є хемоатрактантами для гранулоцитів. TLR4 експресуються не тільки на Мкф, а також на гепатоцитах, СЕК та ПЗК. КК є основним джерелом ROS. Супероксид кисню

утворюється за допомогою комплексу НАДФ оксидази, яка також активує TLR2 та TLR4 [421,422].

При поєднанні АСГ з ВГС або НАСГ спостерігалась спільна тенденція – значуще змінювалось співвідношення між різними гістотопографічними формами фіброзу: перицелюлярний та перидуктальний фіброз зустрічались частіше, ніж при АСГ (в 2,06-2,1 і в 3-2,75 рази відповідно), а перисептальний – в 2,6-2,8 разів рідше. Значущими були також відмінності щодо типу ДР: 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. Відмінності щодо паренхіматозних змін не були значущими. З ознак регресії фіброзу адгезії та тонкі септи зустрічались рідше, а зближення ПТ та ЦВ (особливо при АСГ+ВГС) і інтрасептальні гепатоцити (особливо при АСГ+НАСГ) – частіше, ніж при АСГ, але відмінності теж не були значущими. Частіше зустрічались поширені форми стеатозу (33-66% та $>66\%$ площі, причому при АСГ+ВГС переважали перисептальні, а при АСГ+НАСГ – центральні, хоча відмінності не були значущими. Балонні зміни гепатоцитів зустрічались рідше – переважали поодинокі ураження (особливо при АСГ+ВГС), а частота інтралобулярних інфільтратів, зокрема з апоптозними тільцями, які при АСГ взагалі не зустрічались, навпаки була більшою (20,4%). Серед перисептальних інфільтратів при АСГ+НАСГ переважали помірні, на відміну від АСГ та АСГ+ВГС, при яких найчастіше зустрічались виражені. Частота дифузних септальних інфільтратів в обох групах ПЗ була дещо вищою, ніж при АСГ.

В цілому гістологічні прояви НАСГ нагадують зміни при АСГ і, навіть, для визначення ступеня активності та стадії рекомендують користуватись тою самою шкалою. Це зумовлено перш за все тим, що патогенез цього захворювання багато в чому залишається нев'ясненим [423-428]. НАСГ

імовірно є гетерогенним процесом, оскільки, наприклад, типова перивенулярна зональність, характерна для дорослих, відрізняється від уражень у дітей, для яких (принаймні у частині випадків) типовими є перипортальні зміни. Іноді спостерігаються нетипові варіанти – позазональний синусоїдний фіброз [429-432]]. Все це дозволяє думати про задіювання принаймні декількох фіброгенних шляхів, а можливо, і репаративних механізмів. Так, останні дослідження показали, що перипортальний фіброз при НАСГ є результатом активації ПКП (морфологічно проявляється ДР), зумовленої пригніченням проліферації гепатоцитів [433-438]. Gadd із співавторами показали важливу роль інфільтрації ПТ, зокрема макрофагами, яка імовірно передуює ДР. Прогресування фіброзу асоціюється з артеріалізацією центральних відділів часточки та нагромадженням гемосидерину [439-446]. Згідно даних літератури склероз при НАЖХП прогресує повільно і зрідка призводить до тканинної перебудови [447,448]. У наших випадках НАСГ переважав перицелюлярний та септальний склероз. В більшості з них спостерігався неповний цироз з нечітко сформованими вузлами, дифузна дуктулярна реакція; ознаки реорганізації печінкових балок були відсутніми. Прояви регресії при НАСГ оцінювати ще важче, ніж при АСГ, оскільки ступінь реорганізації в принципі менший, а ефективного методу лікування на сьогодні немає. Зміна способу життя, яка включає перш за все регуляцію ваги та фізичної активності в частині випадків призводить до покращення гістологічних показників, включаючи регресію фіброзу (на один ступінь), що було підтверджено аналізом парни біопсій, але ці питання потребують подільшого вивчення.

При НАСГ стеатоз складав 5-33% паренхіми і розміщувався дифузно або всередині вузлів. Останні дані літератури вже дозволяють зрозуміти генез стеатозу при НАЖХП на молекулярному рівні [449-451]. У розвитку прогресуючого нагромадження тригліцеридів у печінці виділяють три основних механізми: підвищення поступлення ВЖК, пониження виділення

ліпідів та пониження β -окислення у мітохондріях пригнічується інсуліном. Стеатоз, що виникає внаслідок цих механізмів можна розглядати як своєрідну адаптацію клітини до нових умов існування, для якої є характерною активація прямих (з'єднання з транспортним білком L-FABP, β -окислення у мітохондріях) та альтернативних шляхів обміну ВЖК (β -окислення у пероксисомах, ω -окислення у мікросомах). Такий стан може служити фоном для наступного пошкодження паренхіматозних елементів.

З ознак пошкодження домінували множинні гепатоцити з балонними змінами та поодинокі інтралобулярні інфільтрати на місці загиблих гепатоцитів. У механізмах пошкодження при НАСГ основну роль відіграє цитотоксичний вплив ЖК, серед яких найважливішими є первинні неестерифіковані ЖК (включаючи дикарбоксильовані), продукти ПОЛ (гідропероксиди та альдегіди), ефіри, складні ліпіди. Ефекти цих сполук можуть бути зумовлені прямою токсичністю, порушенням регуляції ліпідного обміну (PPAR- α , SREBP-1c, ChREBP) та комплексними впливами (резистентність до інсуліну, апоптоз) [452,453].

Клітинна інфільтрація у септах була незначною. НАСГ не відноситься до класичного поляризованого Th-1/ Th-2 захворювання, але відносний дисбаланс (переважання Th-1) може відігравати роль у патогенезі, зумовлюючи активацію неспецифічних запальних реакцій. Важливе значення має збільшення кількості ВЖК (їжа, жирова клітковина, вплив бактерій шлунково-кишкового тракту), яке веде до їх приєднання до TLRs експресованих на клітинах імунної системи; вплив факторів жирової тканини теж ведуть до активації імунореактивних клітин [454-457].

При поєднанні НАСГ з АСГ або ВГС спостерігалась спільна тенденція – значуще змінювалось співвідношення між різними гістотопографічними формами фіброзу: 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). Значущими були також відмінності щодо типу ДР: 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%). В обох варіантах ПЗ частіше виявлялась мікронодулярність та перинодулярні септи (особливо при НАСГ+ВГС, $p<0,05$). Відмінності щодо паренхіматозних змін 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. Частіше зустрічались поширені форми стеатозу (33-66% та $>66\%$ площі, причому при НАСГ+ВГС переважали дифузні, а при АСГ+НАСГ – центральні, хоча відмінності не були значущими. Балонні зміни гепатоцитів зустрічались рідше – переважали поодинокі ураження (особливо при НАСГ+ВГС), а частота інтралобулярних інфільтратів, зокрема з апоптозними тільцями, які при АСГ взагалі не зустрічались, навпаки була більшою (41,7% при НАСГ+ВГС). Серед перисептальних інфільтратів при АСГ+НАСГ переважали помірні/виражені, на відміну від НАСГ, при якому вони взагалі не виявлялись. Частота дифузних септальних інфільтратів в обох групах ПЗ була дещо вищою, ніж при НАСГ, переважно за рахунок дифузних форм.

При ВГС прогресування захворювання вважається повільним, персистуючим і не є лінійним, що пояснюється залежністю від багатьох супутніх факторів, в тому числі алкоголю та ожиріння [458,459] та генотипу вірусу, який може провокувати безсимптомні сплески активності [460,461]. За допомогою морфометричного аналізу було виявлено значні ступені фіброзу на пізніх стадіях захворювання [462]. Традиційно на цьому етапі в тканині печінки спостерігаються розповсюджені множинні септи та дрібні вузли, схожі за розміром та формою.

При ВГС переважав ПДФ та ПСФ. Виявлялись великі вузли, дуктулярна реакція в більшості випадків була периферійною, спостерігались ознаки потовщення балок гепатоцитів.

На сьогодні можливою є ефективна ерадикація вірусу, після якої у більшості пацієнтів досягається стан «підтримуючої вірологічної відповіді». Тому вивчення регресії змін при ВГС у багатьох роботах проводилось на матеріалі парних біопсій (до і після лікування) і базувалось на оцінці ступеня фіброзу. Недоліки такого підходу на сьогодні вже добре відомі і описані в літературі [463]. За останній час з'явилися роботи, в яких проводилась більш комплексна оцінка регресії змін. Так, Ambrosio та співавтори показали, що на пізній стадії ВГС [464-466] у хворих із досягнутим станом «підтримуючої вірологічної відповіді» спостерігається регресія стадії захворювання, що проявляється редукцією колагену та витонченням фібрзних септ. Крім того, такі зміни асоціюються із зменшенням проявів пограничного та лобулярного гепатиту, відновленням метаболічної зональності та пригніченням реакції ПКП. Pattullo із співавторами показали, що стан «підтримуючої вірологічної відповіді» корелює із регресією фіброзу, застосувавши комбінований метод аналізу: напівкількісні показники фіброзу та якісні ознаки ремоделювання (компоненти «печінкового комплексу репарації») [467].

При ВГС стеатоз виявлявся у 5-33% паренхіми і розміщувався найчастіше дифузно або по периферії вузлів. Роль ліпідних нагромаджень при цьому захворюванні є найбільш дискусійною. Всі генотипи HCV є стеатогенними, але генотип 3a в три рази більш сильний стеатоген, що пояснюється особливостями структури ядерного протеїну [468-472].

Ядерний протеїн (та частково структурні протеїни NS5A та NS3) модулює дію факторів транскрипції MTP, що веде до пригнічення його активності та секреції ЛПДНЩ. Вважається, що стеатоз при ВГС є механізмом, який забезпечує стабільну реплікацію віріонів, особливо їх персистенцію при хронічному перебігу. При цьому вірус використовує клітинні механізми для проникнення (рецептори LDL-R для ЛПНЩ та SR-BI для ЛПВЩ), синтезу, формування (MTP у ендоплазматичному ретикулумі та ліпідних вакуолях) та виділення (MTP та apoB-протеїни зв'язані з тригліцеридами) віріонів з клітини.

Множинні вогнища гепатоцитів з балонними змінами виявлялись майже в половині випадків. Є дані про те, що вірусні протеїни (ВГС) регулюють апоптоз: ядерний протеїн сенсibiliзує TRAIL-резистентні Гпц та може індукувати TNF- α -зумовлений апоптоз; NS3 протеїн зумовлює активацію каспази 8 через Fas; Гпц можуть експресувати протеїни, які індукують апоптоз Т-клітин, що забезпечує механізм уникнення імунної реакції.

Спостерігались поодинокі інтралобулярні інфільтрати на місці загиблих гепатоцитів та виражені перисептальні інфільтрати. Інфільтрація у септах була помірною. Інфікування HCV змінює відносно стабільний в нормі імунний стан печінки та індукує набуті та вроджені імунні реакції. Нормальне протизапальне Th-2 цитокінове мікросередовище печінки змінюється на прозапальне Th-1-залежне. Основну роль відіграє клітинний імунітет: CD4⁺ Т хелпери регулюють антивірусну відповідь, а цитотоксичні CD8⁺ безпосередньо вбивають вірус-інфіковані клітини. Крім цитолітичної активності вони виділяють IFN- γ , IFN- α/β , TNF- α , які індукують антивірусний стан в клітинах макроорганізму. NK-клітини, активовані цитокінами, знищують гепатоцити виділяючи TRAIL та/або гранзим В. NKT-клітини впливають через виділення прозапальних цитокінів (IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-13, TNF- α) та знищення гепатоцитів шляхом FasL. Хоча NK-клітини та цитотоксичні лімфоцити є важливими для знищення інфікованих клітин, вони також можуть зумовлювати пошкодження неінфікованих, але із зміненою чутливістю гепатоцитів. Вважається, що противірусні імунні реакції при хронічному перебігу інфекції можуть бути занадто слабкими для елімінації HCV, але достатньо сильними для розвитку альтеративних змін у печінці.

При поєднанні ВГС з АСГ або НАСГ спостерігалась спільна тенденція – значуще змінювалось співвідношення між різними гістотопографічними формами фіброзу: 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). Значущими були також відмінності щодо типу ДР: 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, $p < 0,05$). Відмінності щодо паренхіматозних змін не були значущими, хоча частіше спостерігалась дисконкомплексція балок. З ознак регресії фіброзу адгезії та тонкі септи зустрічались рідше, а зближення ПТ та ЦВ і інтрасептальні гепатоцити (особливо при ВГС+НАСГ) – частіше, ніж при ВГС, але відмінності теж не були значущими. Частіше зустрічались поширені форми стеатозу (33-66% та $>66\%$ площі, причому при ВГС+НАСГ переважали дифузні, а при ВГС+АСГ – перисептальні, хоча відмінності не були значущими. Поодинокі балонні зміни гепатоцитів зустрічались практично з такою ж частотою, а частота інтралобулярних інфільтратів, зокрема з апоптозними тільцями, була дещо більшою ($p > 0,05$). Серед перисептальних інфільтратів при АСГ+НАСГ переважали помірні/виражені, на відміну від НАСГ, при якому вони взагалі не виявлялись. Частота перисептальних та септальних інфільтратів в обох групах ПЗ була дещо вищою, ніж при ВГС, але відмінності не були значущими.

Складність оцінки змін при ПЗ зумовлена задіяванням спільних патогенетичних механізмів та метаболічних розладів. Завдяки індукції декількох механізмів при різних комбінаціях АСГ, НАСГ та ВГС в більшості випадків спостерігаються більш виражені зміни тканини печінки, ніж при кожному окремо взятому захворюванні.

Одним з таких універсальних механізмів є формування інсулінорезистентності, яке традиційно описується при НАСГ, але виявляється і при інших нозологічних формах [473]. Основні механізми розвитку інсулінорезистентності зумовлені порушенням каскаду сигнальної трансдукції, ініційованої інсуліном [474]. Фосфорилування залишків серину замість тирозину (Ser фосфорилування) у субстратах інсулінового

рецептору IRS-1 (у ділянках 307, 612 та 632), IRS-2 та інших елементах шляхів сигнальної трансдукції - PI3-K, Akt призводить до неможливості їх активації інсуліном. Таке фосфорилювання може здійснювати TNF- α (у гепатоцитах), який виділяється макрофагами жирової тканини та ВЖК, які теж походять з жирової тканини (адіпоцити). При ВГС активація експресії протеїн фосфатази 2A через стресову відповідь ендоплазматичного ретикулуму веде до дефосфорилювання Akt/протеїн кінази B та зменшення її участі у процесах сигнальної трансдукції. Крім того задіюються протеїни SOCS (супресори цитокінових сигналів). Ці прозапальні медіатори включають групу білків, що регулюють центральні ефекти лептину та модулюють експресію генів, регулюючих фактори активації ліпогенезу [475]. Таким чином механізм інсулінорезистентності, який є провідним при розвитку НАСГ, задіюється і при ВГС, що сприяє прогресуванню захворювання та ускладнює морфологічну діагностику.

НАЖХП часто асоціюється з ожирінням. Крім загальновідомих механізмів, за допомогою яких ожиріння сприяє стеатозу (переважно через формування резистентності до інсуліну), бактерії асоційовані з ожирінням посилюють процеси інфільтрації тканини печінки імунокомпетентними клітинами. Надмірна проліферація бактерій, здатних виділяти етанол, у кишківнику хворих з ожирінням імовірно зумовлює підвищення рівня алкоголю у крові, що в свою чергу індукує експресію генів, які відповідають за катаболізм етанолу (алкогольдегідрогенази, цитохрому P4502E1). Підвищена активність алкогольдегідрогенази призводить до збільшення рівня НАДФ, що сприяє синтезу жирних кислот та запобігає їх руйнуванню. Підвищений рівень P450 2E1 індукує інфільтрацію тканини печінки імунокомпетентними клітинами. Таким чином при НАЖХП, асоційованій з ожирінням, важливу роль відіграють процеси аналогічні патогенетичним механізмам алкогольного ураження печінки. При поєднанні неалкогольного та алкогольного стеатогепатиту це може зумовлювати прискорене прогресування змін у печінці [476].

Найбільш спеціалізований та ефективний гомеостатичний контроль при ВГС здійснюється CD8+ ЦТТЛ. Вірусні протеїни порушують активацію імунної відповіді на різних етапах: презентація антигену, протеоліз під час процесінгу антигену, експресія молекул основного комплексу гістосумісності МНСІ та МНСІІ, активація антиген-презентуючих клітин. Етанол посилює ефекти вірусу ВГС, призводячи до супресії обох видів антигенної презентації (клас I та клас II), пригнічує активність протеасоми імовірно в зв'язку із сильним окисним стресом [477], посилює негативні впливи вірусу на дендритні клітини. IFN, які підтримують антигенну презентацію шляхом активації антигенпрезентуючої клітини та пептидаз, втрачають свої властивості в присутності вірусу ВГС та етанолу, оскільки обидва фактори поодиночі чи разом пригнічують сигнальний каскад IFN. Крім того синергічні ефекти алкоголю та вірусу гепатиту С зумовлені такими механізмами як посилення окисного стресу (індукція CYP2E1) та нагромадження в печінці заліза [478].

7.4 Критерії діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії захворювання

Протягом останніх 20-25 років багато зусиль було спрямовано на розробку морфологічних критеріїв для діагностики та оцінки стадії розвитку АСГ, НАСГ та ВГС. На сьогодні результати таких досліджень узагальнені у вигляді напівкількісних шкал, які переважно дозволяють оцінити активність процесу та стадію фіброзу. Для аналізу змін при НАСГ використовується шкала Brunt E.M. (модифікована у 2010р.) та/або Kleiner D.E (2005). Для оцінки ступеня активності враховується розповсюдженість стеатозу, вираженість та локалізація балонних змін та вираженість запалення у інтралобулярних ділянках. Портальні інфільтрати враховуються тільки в одній із шкал (Brunt E.M., 2010). Далі в залежності від шкали підраховується

сума балів та відповідний ступінь активності (Brunt E.M., 2010) або діагностується НАЖХП або НАСГ (Kleiner D.E., 2005).

Для АСГ подібні напівкількісні шкали відсутні і в переважній більшості робіт рекомендується використовувати шкали, розроблені для НАСГ. При цьому окремо відмічають зміни, які частіше виявляються при АСГ (щільний фіброз (переважно колаген III типу), множинні ТМД), при НАСГ (виражений стеатоз, глікогенізація ядер та ліпогранульоми) і зміни, поки що не описані при НАСГ: склерозуючий гіаліновий некроз (комбінація щільного перивенулярного фіброзу, скупчень ТМД та некрозу гепатоцитів у 3 зоні), вено-окклюзивні ураження, пінисті гепатоцити (мікровезикулярний стеатоз у 3 зоні) та холестази). Деякі автори рекомендують використовувати комплексні клініко-морфологічні критерії: імуногістохімічне виявлення рецептору інсуліну та протеїну тирозин фосфатази 1В (РТР1В) = інгібітора експресії рецептора інсуліну. При АСГ спостерігається низька експресія РТР1В; при НАСГ рецептор інсуліну виявляється частіше, ніж в нормі [376]. Другим критерієм є індекс ANI = середній корпускулярний об'єм, співвідношення АСТ/АЛТ, ІМТ, стать (при АСГ ANI > 0, при НАСГ ANI < 0) [377].

При дослідженні біопсій з діагностованим ВГС використовується шкала METAVIR, розроблена групою французьких дослідників та шкала Knodel, Isaak K.G. . Згідно шкали METAVIR індекс гістологічної активності визначається з урахуванням ступінчастих некрозів та лобулярного запалення. Стеатоз входить до групи додаткових ознак і тільки зазначається у описі разом з такими змінами, як лімфоїдні агрегати у портальних трактах, ланцюжки лімфоцитів у синусоїдах та ураження дрібних жовчевих протоків. Шкала Isaak K.G. передбачає більш детальний опис та враховує ступінчастий некроз, вогнищеві зливні некрози, вогнищеві точкові некрози та запалення у портальному тракті. До додаткових ознак, що не оцінюються кількісно відносяться запалення та пошкодження жовчевих протоків, лімфоїдні фолікули, стеатоз (незначний, помірний виражений), дисплазія гепатоцитів

(дрібно- та великоклітинна), аденоматозна гіперплазія, нагромадження заліза або міді, внутрішньоклітинні включення (PAS-позитивні глобули, тільця Малорі).

Ще більше складностей виникає при визначенні стадії захворювання, яка традиційно передбачає кількісну оцінку фіброзу та цирозу. У напівкількісних шкалах, якими користуються на даний час, ці поняття розцінюються як послідовні етапи прогресування хронічного захворювання, хоча в шкалах Knodel / Isaak K.G вживається термін «індекс архітектурних змін», тобто акцент робиться на процесах тканинної перебудови [378-381].

Оскільки фіброгенез є лише одним із компонентів складних механізмів, які забезпечують прогресування хронічних гепатитів, ступінь фіброзу повинен оцінюватись в комплексі з такими процесами, як ангіогенез та репарація. Хоча в деяких ситуаціях визначення кількості фібрилярних білків може мати самостійне значення. В частині робіт було запропоновано використання комп'ютерної морфометрії, що дозволило достовірно оцінювати кількість колагену у препараті або навіть в окремих його ділянках [382,385,386]. При цьому зазвичай підраховується відносна площа, яку займають волокна колагену. Такий показник може використовуватись як прогностичний фактор, оскільки було підтверджено, що він корелює з іншим відомим клінічним фактором – градієнтом печінкового венозного тиску який згідно багатьох досліджень може використовуватись для прогнозу клінічної декомпенсації гепатиту С (у хворих через 1 рік після трансплантації) та декомпенсації цирозу. Результати використання морфометричного показника фіброзу (відносної площі колагену) для прогнозу декомпенсації цирозу є навіть кращими, ніж при врахуванні стадії або градієнту печінкового венозного тиску [380].

Іншою ситуацією, при якій оцінка ступеня фіброзу має самостійне значення, є аналіз оборотності процесу, зокрема після проведеного лікування. Вивчення фіброгенезу – клітин, механізмів синтезу та руйнування позаклітинного матриксу - дозволило виявити дуже складну сітку

взаємодіючих клітин, цитокінів та хемокінів. На сьогодні немає сумнівів, що фіброз є оборотнім, і що регуляція цих механізмів залежить від багатьох факторів. Провідну роль у прогресуванні та оборотності фіброзу безумовно відіграють клітини фіброгенної популяції: ПЗК, портальні/септальні міофібробласти та пограничні міофібробласти. Можливості їх активації, старіння та апоптозу є визначальними, але багато в чому залежать від особливостей клітинного складу в найближчому мікрооточенні, доступності кисню та поживних речовин. Присутність мононуклеарних клітин та гранулоцитів, сітка новоутворених судин та рівень репаративних реакцій регулюють баланс між прогресією та регресією фіброзу. Вважається, що оборотність фіброзу залежить від: типу колагену та кількості поперечних зв'язків; щільності та кількості клітин у сполучній тканині; топографії септ (порто-центральної септи з судинними шунтами або порто-портальної і центральної септи); загальної кількості колагену та інших компонентів ЕЦМ, які створюють значну масу для літичних ферментів.

Але, незважаючи на складність механізмів фіброгенезу, навіть просте порівняння відносної площі, яку займає колаген, у повторних біопсіях, проведених до і після лікування, може служити критерієм ефективності проведеної терапії. Для визначення ступеня оборотності фіброзу в таких випадках патоморфолог повинен враховувати наступні моменти: необхідні повторні морфологічні дослідження (не менше 2) повинні проводитись з достатньо довгими проміжками між ними. Оскільки при регресії мікронодулярний цироз перетворюється у макронодулярний або неповний, біопсійне дослідження є недостатнім і повинно доповнюватись оглядом поверхні печінки (лапароскопія, ультразвукове дослідження). Крім того при дослідженні матеріалу необхідно враховувати додаткові дані: тонкі ретикулярні волокна, видимі при срібленні є менш стабільними, ніж грубі пучки, що фарбуються при трихромі Масона, Ван Гізона, аніліновим голубим (Малорі); різниця між оборотнім молодим та старим фіброзом (майже необоротнім) може відображати довший період утворення поперечних

зв'язків у колагені, що робить їх більш стійкими до ферментативного лізису; щільна безклітинна сполучна тканина є більш стійкою, ніж клітинна або із запальною інфільтрацією сполучна тканина; Тонкі тегше щезають, ніж грубі постнекротичні (особливо широкі порто-центральні адгезії з васкуляризацією)

Наступним важливим питанням, яке постає перед патоморфологом при аналізі біопсійного матеріалу, є діагностика цирозу та визначення його типу. В існуючих напівкількісних шкалах цироз оцінюється як остання (Knodell, METAVIR, Brunt E.M., Kleiner D.E) або передостання (Ishak) стадія захворювання (після фіброзу), хоча цей стан включає різні варіанти (повний/неповний, активний/неактивний, мікро/макронодулярний).

Оскільки на сьогодні цироз розцінюється як окрема нозологічна форма, доцільно розглядати цей стан окремо від вираженого фіброзу (прецирозу) та розрізняти його види та стадії. Проблеми, які постають при цьому, пов'язані з цілою низкою питань, які на даний момент лишаються невирішеними.

Складності виникають уже в зв'язку з неоднозначною термінологією. Такі терміни як оборотність, регресія (мінімальна, часткова, виражена, повна), циротична трансформація неоднозначні і мають бути уточнені або замінені. До основних діагностичних труднощів при дослідженні біопсій можна віднести наступні:

- Існує фундаментальна різниця між діагнозом “цироз” та ступенем його вираженості: низький ступінь не виключає наявності макронодулярного або неповного цирозу (септального склерозу). Тому діагноз може мати різний ступінь достовірності: імовірний, високо імовірний (вірогідний), достовірний; При цьому перші два (імовірний, високо імовірний) можуть базуватись переважно на архітектурній перебудові та судинних змінах при мінімальній вираженості фіброзу;
- Основним питанням, що виникає при використанні відомих напівкількісних шкал, полягає в тому, що останній рівень фіброзу порівнюється до цирозу (шкала Ishak є кращою, оскільки є F5 та F6).

При цьому враховується наявність вузлів та септ без додаткової деталізації. Попередній ступінь - септальний склероз може бути діагностований у випадках макронодулярного цирозу. Тому доцільніше наводити детальний опис з визначення порто-центральної адгезії, порушень часточкової будови та судинних змін. Питання опису та оцінки циротичних змін піднімались у багатьох роботах. На основі проведеного аналізу можна виділити основні принципи використання напівкількісних шкал: 1) більш прості шкали з меншою кількістю параметрів є менш інформативним (і неоднозначними); 2) напівкількісні шкали фіброзу не можуть використовуватись для оцінки ефективності лікування (регресії фіброзу)

- Макронодулярний цироз діагностувати важче, ніж мікронодулярний. Тому в складних випадках використовуються відносні критерії – фрагментація шматочка, порушення орієнтації ретикулярних волокон в результаті різних швидкості та типу росту у різних ділянках; близькість ПТ та ЦВ; надмірна кількість дренуючих вен по відношенню до кількості ПТ; гепатоцелюлярні зміни (регенераторна гіперплазія з потовщенням балок, наявність клітинних поліморфних популяцій та ділянки велико- або дрібноклітинної дисплазії).

- Для клініцистів важливо розрізняти компенсований та декомпенсований цироз (з ускладненнями - портальна гіпертензія, енцефалопатія та інші). Клінічні можливості передбачають для цього використання неінвазивних методів, які дозволяють визначати: прямі маркери фіброзу (гіалуронат сироватки, ІУ тип колагену, MMP1, TIMP-1, ламінін, TGF β); відносні показники на основі непрямих тестів (Fibro Test-Acti Test, APRI, Forns fibrosis index, enhanced liver fibrosis (ELF) score; щільність тканини на основі еластографії, (Fibroscan); градієнт печінкового венозного тиску. Але кореляції між цими даними та морфологічними змінами на сьогодні не вивчені.

Отже необхідно розрізняти декілька питань, які стоять перед патоморфологом при аналізі біопсійного матеріалу: 1) стадія фіброзу (кількість колагену у препараті або відносна площа, яку займають коллагенові волокна при морфометричному аналізі), і яка може мати самостійне прогностичне значення; 2) стадія захворювання, яка визначається процесами загоєння, репарації та відповідною реорганізацією тканинної структури і діагностується як цироз; 3) вид цирозу, який діагностується з урахуванням декількох класифікацій, що базуються на різних принципах.

Термін цироз, запропонований майже 200 років тому для опису дифузної перебудови тканини печінки, сьогодні у клінічному розумінні означає необоротній кінцевий етап розвитку захворювання. Але з'являється все більше даних про те, що термін цироз не відображає сучасного розуміння хронічних фіброгенних захворювань печінки, які потребують інтегрованої клініко-патологічної оцінки.

В результаті дискусії проведеної Міжнародною групою по вивченню захворювань печінки (Сан-Франциско, 2009 р. та Лондон, 2010 р.) було розроблено низку пропозицій, які пізніше були опубліковані в наукових виданнях [27,28]. Ключовою пропозицією є уникнення терміну цироз та впровадження більш раціонального та корисного для клініки підходу з визначенням різних етапів розвитку пізніх стадій ХЗП. При цьому роль патолога у діагностичному процесі полягає у визначенні: пізньої стадії ХЗП, етіології, ступеня активності, вірогідних ознак прогресування та регресії, наявності інших захворювань та факторів ризику розвитку пухлини. Ця пропозиція повністю співпадає із розумінням спільнотою гепатологів необхідності створення патофізіологічної класифікації цирозу. Дуже важливо, пропозиція від патологів виникла саме тоді, коли клініцисти стикнулись із наростаючими труднощами у категоризації пізніх стадій ХЗП після усвідомлення, що фіброз у циротичній печінці (і навіть ранні стадії самого цирозу) є хоча б частково оборотними після відповідного лікування.

Термін «цироз» вважають недоцільним оскільки: (1) Дуже поширеною є думка про те, що цироз є необоротним і такий діагноз означає одноznічно несприятливий прогноз для хворого, в той же час чисельні дослідження свідчать, що перебіг ХЗП навіть на пізніх стадіях не завжди є фатальним; (2) на сьогодні доведена можливість регресії фіброзу та покращення стану хворих, як з клінічної, так і з морфологічної точки зору, тому необхідно виділяти стадії розвитку захворювань навіть за умов наявності реорганізації тканини печінки; (3) ні в одній галузі медицини не вживається єдиний термін для позначення пізніх стадій розвитку різних захворювань, оскільки етіологічний фактор з точки зору лікувальної тактики залишається важливим незалежно від стадії. До певної міри в такій ситуації доцільним є використання терміну «неповний септальний цироз (стан, який незважаючи на назву не відповідає традиційному визначенню цирозу), оскільки частково допомагає діагностувати проміжну фазу. Це може бути дуже важливим, тому що такі хворі потребують не трансплантації органу, як в більшості випадків цирозу, а судинного шунтування [29,30].

Спектр клінічних проявів пізніх стадій ХЗП є дуже широким: від порівняно адекватного стану із збереженням звичайної активності (наприклад при НАСГ) до важкого стану з проявами портальної гіпертензії, енцефалопатії та гепатоцелюлярної карциноми. Різні захворювання характеризуються різними патернами фіброзу та репарації і мають відповідно різну швидкість прогресування. Більш того, кожне захворювання може мати свій ступінь та варіант тканинної перебудови та клінічні прояви, які дуже різняться між пацієнтами та залежать від перебігу. Морфологічні прояви вважаються більш універсальними і незалежно від етіології є результатом спільних патогенетичних механізмів: фіброгенезу зумовленого активацією ПЗК та портальних фібробластів, регенерації паренхіми завдяки проліферації гепатоцитів та ПКП, та регресії змін, що проявляються витонченням фіброзних септ навколо вузлів із частковим збереженням судинної реорганізації (шунти, облітерація портальної вени).

На сьогодні значна кількість зусиль направлена на виділення стадій цирозу, які в ідеалі, базуючись на клінічних, патогістологічних та гемодинамічних проявах, повинні відображати етапи патогенезу захворювання. Так, одним із важливих параметрів, який добре корелює із розвитком портальної гіпертензії є градієнт тиску у печінкових венах (HVPG). Але в зв'язку з тим, що це дослідження не є загальнодоступним, гістологічні еквіваленти цієї ознаки могли б мати велике прогностичне значення. За даними Kutami R, Nagula S, (2012) [29] дрібні вузли та потовщені септи корелюють з більш високими значенням HVPG.

Вживання терміну ХЗП має серйозну перевагу в порівнянні з терміном «цироз» оскільки усувається негативні асоціації з необоротністю та кінцевою стадією захворювання, традиційно пов'язані із цим терміном. Поєднання клінічних та патогістологічних досліджень є обов'язковим, оскільки тільки морфологічні зміни є недостатніми для діагностики потенційно необоротних уражень, а тільки клінічні дані не дозволяють диференціювати, наприклад, різні причини ПГ. Застосування нових клінічних методів (скринінг пухлинних маркерів на ранніх етапах) дозволить встановити ризик розвитку пухлини, який в значному ступені залежить від етіології. Розробка нових патогістологічних критеріїв може мати вагому роль у прогнозуванні подальшого прогресування або регресії змін.

Таким чином термін цироз пропонується замінити терміном «пізня стадія ХЗП». Цей термін включає випадки, які раніше розцінювались як цироз, а також ті, в яких виявлено виражений фіброз та тканинна реорганізація, але які не відповідають традиційному визначенню цирозу. Найважливішими питаннями для розуміння прогнозу та розробки лікувальної тактики в кожному випадку є визначення етіології та стадії захворювання. При цьому стадія повинна визначатись згідно схем, розроблених для конкретних захворювань. Існуючі на сьогодні напівкількісні шкали були створені 20-10 років тому і потребують модифікації в еру «регресії фіброзу». При виявленні ознак регресії (печінковий комплекс

репарації) необхідно зазначити «пізня стадія ХЗП із ознаками регресії». При наявності ускладнень, наприклад портальної гіпертензії, підтвердженою показниками $HVPG \geq 10$ to 12 mm Hg, рекомендується вживати термін «клінічно кінцева стадія ХЗП». Для адекватного лікування необхідно також враховувати ступінь активності процесу, оцінка якого теж потребує модифікованих етіоспецифічних критеріїв.

Однією з найскладніших проблем впровадження таких рекомендацій для клініцистів є центральна роль біопсії печінки у процесі визначення та класифікації пізньої стадії ХЗП в той час, як питання безпеки та необхідності біопсійного дослідження постійно ставляться під сумнів навіть на більш ранніх та проміжних стадіях. Іншими словами, якщо дані рекомендації можуть бути прийнятними для спеціалізованих центрів, значні труднощі можуть виникати при спробі переконати спільноту гепатологів в доцільності впровадження біопсійного дослідження у рутинну практику для хворих з пізньою стадією ХЗП, які ще довго будуть розцінюватись як «пацієнти з цирозом» і відповідно такі, що мають високий ризик постбіопсійних ускладнень.

Враховуючі наведені пропозиції та базуючись на результатах власного дослідження ми розробили схему діагностики на пізній стадії АСГ, НАСГ та ВГС [479-483]. На основі рутинного дослідження матеріалу (мікропрепарат, забарвлений гематоксилін-еозином) виявляють морфологічні показники провідних патологічних процесів, що визначають прогресування захворювань: фіброз, репарація, тканинна реорганізація, стеатоз, пошкодження/інфільтрація з урахуванням їх гістотопографії (табл. 7.1).

При аналізі стадії захворювання враховується наявність одного або декількох патернів репарації, а також ступінь реорганізації тканини печінки. При першій стадії (відповідає поняттю «неповний цироз печінки») спостерігається: переважання одного з варіантів репарації (periцелюлярний (2.5, 2.6, 2.7), перидуктальний (1.2, 1.4), перисептальний (4.2, 4.6), а з ознак реорганізації – портоцентральні септи та інтрасептальні судини

Таблиця 7.1 – Оціночна шкала диференціювання алкогольного стеатогепатиту (АСГ), неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) та вірусного гепатиту С (ВГС)

	Патогістологічні зміни у печінковій часточці	Захворювання		
		АСГ	НАСГ	ВГС
1	Перипортальні/перисептальні зміни			
1.1	Пограничний гепатит (1 – незначний, 2 – виражений)	0	0	1
1.2	Перипортальний фіброз (перидуктальний)	0	0	1
1.3	Перисептальна дуктулярна реакція	0	0	1
2	Інтралобулярні зміни			
2.1	Стеатоз фокальний (а – перивенулярний, в – перипортальний)	0-1	0-1	0-1
2.2	Стеатоз дифузний (більше 60%)	1	0	0
2.3	Балонні зміни гепатоцитів (1 – поодинокі, 2 – множинні)	1	0-1	0
2.4	Інтралобулярні інфільтрати (1 – поодинокі, 2 – множинні)	1	0	1
2.5	Перицелюлярний фіброз	1	1	0
2.6	Потовщення балок та поліморфізм гепатоцитів	0-1	0-1	0
2.7	Інтралобулярна дуктулярна реакція	0-1	0-1	0
2.8	Аберантні судини	1	1	0
3	Централобулярні зміни			
3.1	Залишки печінкових вен з пролапсом гепатоцитів	1	0-1	0
3.2	Перивенулярний фіброз	1	0-1	0
4	Порушення структури часточки			
4.1	Зближення портальних трактів/центральних вен	0-1	0	1
4.2	Септальний фіброз (портоцентральні септи)	1	0-1	0
4.3	Перинодулярні септи	1	0	1
4.4	Інтрасептальні судини (1 – поодинокі, 2 – множинні)	1	0-1	1
4.5	Інтрасептальні інфільтрати (1 – вогнищеві, 2 – дифузні)	1	0	1
4.6	Інтрасептальна дуктулярна реакція	1	0-1	1
4.7	Тонкі, перфоровані септи	0-1	1	0
4.8	Широкі адгезії	0-1	0	0-1
4.9	Групи гепатоцитів у портальних трактах або розщеплених септах	0	0	0-1
4.10	Великі вузли	1	0-1	0-1
4.11	Дрібні вузли	0-1	0	1

Примітка: 1 – постійна ознака, 0-1 – зустрічається не завжди, 0 – нехарактерна ознака.

Для другої стадії (імовірний цироз) характерним є поєднання декількох паттернів, а також портоцентральні та перинодулярні септи (4.2, 4.3), множинні інтрасептальні судини (4.4), перивенулярний фіброз (3.2), аберантні судини (2.8) та великі вузли (4.10). Третя стадія (достовірний цироз) діагностується при переважанні дрібних/великих вузлів (4.10, 4.11), перинодулярних септ (4.3) та вираженої перебудови МЦР (2.8, 3.2, 4.4).

Для визначення фази захворювання оцінюються прояви пошкодження/інфільтрації, фіброзу/репарації та регресії фіброзу. Мінімальна активність визначається при наявності фокального стеатозу (2.1) та вогнищового інтрасептального інфільтрату (4.5) і може виявлятися у стабільній фазі захворювання. Про фазу прогресування свідчить виявлення проявів пошкодження/інфільтрації у різних компартментах (1.1, 2.2, 2.3, 2.4) та прогресуючого фіброзу/репарації ((1.2, 1.3, 2.5, 2.6, 2.7, 4.2). Якщо ж виявляються прояви регресії фіброзу (3.1, 4.1, 4.7, 4.8, 4.9) при відсутності ознак активності, діагностують фазу регресії.

В ідеалі схема дослідження тканини печінки на пізній стадії ХЗП також повинна включати маркери потенційної пухлинної трансформації, але в нашому дослідженні вони не вивчалися і відповідно не були внесені до переліку змін. Слід відмітити, що запропонована нами діагностична схема в частині визначення стадії та фази захворювання потребує подальшого підтвердження з позицій доказової медицини, а також з точки зору кореляції з клінічними проявами.

7.5 Вплив урсодезоксихолевої кислоти та піоглітазону на процеси фіброзу та репарації в печінці при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном

Прогресування стеатогепатиту залежить від багатьох факторів і розвивається поетапно. При цьому складні механізми фіброгенезу, ангіогенезу та репарації, які домінують на пізніх стадіях захворювання,

постійно знаходяться під впливом основних етіологічних/патогенетичних чинників, які в залежності від інтенсивності, тривалості дії модулюють загальний перебіг захворювання. Для АСГ, НАСГ та ВГС можна виділити декілька вузлових патогенетичних механізмів, які є спільними або взаємоініціюючими. До них можна віднести розвиток ІР, часто асоційований з ожирінням, формування прозапального Th-1-залежного цитокінового мікросередовища у печінці, активацію механізмів апоптозу. Вивченню цих процесів присвячено багато робіт, які проводяться за допомогою різноманітних методів та методик. Для аналізу ролі окремих факторів патогенезу ми провели експериментальні дослідження для виявлення ролі окисного стресу та PPAR рецепторів на прогресування процесів загоєння та репарації.

Більшість розроблених на сьогодні моделей хронічного ураження печінки використовуються на гризунах і лише з певним обмеженням можуть застосовуватися для оцінки фіброгенезу в людей у зв'язку з міжвидовими відмінностями. Однак на даний час моделі *in vivo* залишаються незамінними при вивченні антифібротичних засобів, оскільки на відміну від експериментів *in vitro* вони дають можливість врахувати роль позаклітинного середовища, нервової системи та імунної відповіді в процесі фіброгенезу.

Метою нашого дослідження було проведення порівняльного аналізу трьох експериментальних моделей хронічного токсичного ураження печінки з подальшим вибором найбільш адекватної моделі фіброзу печінки.

Виявлені при морфологічному аналізі зміни дозволяють оцінити досліджувані моделі наступним чином: у I групі активність процесу була помірно вираженою, а загоєння відбувалось переважно за рахунок процесів регенерації; у II групі – активність, і особливо, пошкодження були значного ступеня вираженості, загоєння здійснювалось за рахунок вираженого фіброзу (стадія циротичної трансформації), в той час як регенераторна активність була незначною; в III групі ступінь пошкодження була незначною процесу загоєння - помірними з рівномірним розвитком склерозу та регенерації.

Таким чином різні комбінації етіологічних факторів зумовлюють характерні варіанти ураження тканини печінки та наступного прогресування цих змін. Для вивчення процесів фіброзу доцільно використовувати модель із введенням тетрахлорметану у вигляді 20% олійного розчину в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла два рази на тиждень впродовж 30 днів, при якій була виявлена циротична трансформація печінки, що супроводжувалась значним ступенем альтеративно-запальних змін.

УДХК на сьогодні є одним з основних засобів для лікування холестатичних розладів печінки. Її використовують для лікування первинного біліарного цирозу печінки, первинного склерозуючого холангіту, внутрішньопечінкового холестазу вагітних, ураження печінки при муковісцидозі, прогресуючому сімейному внутрішньопечінковому холестазі, ушкодженні печінки при реакції відторгнення трансплантату і холестазі, зумовленому парентеральним харчуванням [484,485]. В механізмі дії УДХК виділяють 3 основні аспекти: захист холангіоцитів та гепатоцитів від токсичних гідрофобних жовчних кислот; стимуляція гепатобіліарної секреції; пригнічення апоптозу клітин печінки [486,487].

Більш суперечливими є результати досліджень щодо ефективності урсодезоксихолевої кислоти при нехолестатичних ушкодженнях печінки як *in vivo* так і *in vitro*. Встановлено, що УДХК не викликає цитопротективного ефекту при ураженні печінки ацетамінофеном, α -нафтил-ізотіоціанатом та ішемічною реперфузією [488]. Водночас УДХК запобігає порушенням структури і функції мітохондрій при хронічній алкогольній інтоксикації [489], стабілізує мікросомальні мембрани і запобігає дефіциту есенціальних жирних кислот і простагландинів при алкогольному стеатозі, запобігає розвитку мітохондріальної дисфункції у щурів з алоксановим діабетом. УДХК справляє позитивний вплив на структуру органел гепатоцитів у щурів з хронічним ушкодженням печінки тетрахлометаном [490]. В дослідях на щурах застосування УДХК зменшувало морфологічний ступінь фіброзу,

рівень гідроксипроліну у печінці, знижувало рівень TIMP-1 і підвищувало MMP-13, посилювало апоптоз зірчастих клітин печінки після її хронічного ушкодження тетрахлорметаном. Впродовж останніх років встановлено ефективність УДХК у пацієнтів з НАСГ та НАЖХП [490,491]. На сьогодні вважають, що лікувальний ефект УДХК при нехолестатичних ушкодженнях печінки зумовлений в першу чергу її антиапоптозною, антиоксидантною та антифібротичною активністю. Однак багато аспектів механізму дії УДХК та її застосування у клінічній практиці на даний час залишаються нез'ясованими і потребують подальших експериментальних та клінічних досліджень [492,493].

Результати нашого дослідження показали, що препарат УДХК зумовлює виразний гепатопротективний ефект при хронічному токсичному ушкодженні печінки щурів тетрахлорметаном. При цьому він зменшує ступінь пошкодження паренхіматозних елементів та послаблює прояви фіброзу печінки. Зважаючи на описані механізми дії УДХК, імовірно, що антифіброгенний ефект зумовлений перш за все розвитком ОС, який супроводжується виділенням значної кількості ROS. Ці високо реактивні сполуки можуть безпосередньо впливати на активність фіброгенних клітин, посилюючи синтез елементів ЕЦМ. Крім того вони зумовлюють низку опосередкованих ефектів, які включають посилення апоптозу паренхіматозних елементів і зміну імунної відповіді у печінці з наступним прогресуючим перебігом та активацією фіброгенезу.

Останнім часом в літературі з'явилося багато даних, які свідчать про зворотність фібротичних змін у людей і лабораторних тварин. Перспективи фармакотерапевтичної корекції цього процесу стимулюють вчених до пошуку нових антифібротичних засобів. На експериментальних моделях показано, що введення синтетичних лігандів PPAR γ , таких як тіазолідиндіони, призводить до зниження інсулінорезистентності, підвищення продукції адипонектину, зниження рівня лептину, пригнічення фіброгенної активності ПЗК. Повідомляється, що піоглітазон та розиглітазон

виявляють антифібротичну активність при захворюваннях печінки асоційованих з інсулінорезистентністю і метаболічним синдромом [494].

PPAR є протеїнами розміром біля 56 кД які відносяться до суперродини стероїдних ядерних рецепторів. Відомі 3 ізоформи, які кодуються окремими генами [495,496,497]. PPAR діють шляхом модуляції різних функцій клітини, включаючи диференціювання адіпоцитів, метаболізм глюкози, окислення ЖК та пригнічення експресії прозапальних генів. Спостерігається різне тканинне поширення рецепторів. Так PPAR- α експресується переважно у тканинах, задіяних у метаболізмі ЖК (печінка, серце, бурий жир). Функції PPAR- β вивчені менше, імовірно вони відіграють роль у метаболізмі ЖК з іншим типом експресії (скелетні м'язи, серце, нервова тканина). Експресія PPAR- γ виявляється у білому та бурому жирі, і на нижчому рівні у селезінці, тонкій кишці, печінці та лімфовузлах. Приєднання ліганди до PPAR призводить до конформаційних змін та димеризації рецептора з формуванням гетеродимеру з 9-цис рецептором ретиноїдної кислоти – 9-cis retinoic acid receptor (RXR) що зумовлює його активацію. Активований рецептор взаємодіє з специфічними послідовностями у ДНК або peroxisome proliferator response elements (PPRE), який міститься у промотері гена-мішені. Процес ініціальної активації PPAR включає руйнування корецепторного комплексу та приваблення коактивуючих комплексів, що призводить до ап-регуляції експресії генів-мішеней.

Лігандами PPAR є ненасичені жири, окислені ЛПНЩ, ЛПДНЩ, метаболіти ліноєвої кислоти та ліки – фібрати, тiazолідінедіони.

PPAR- α у високій концентрації виявляється у печінці. Він відіграє провідну роль у регуляції окислення ЖК, модулюючи експресію генів, що кодують ферменти, задіяні у мітохондріальному, пероксисомальному та мікросомальному окисленні. Він також регулює експресію протеїнів, задіяних у приєднанні ЖК, естерифікації та експорту ЖК у складі ЛПНЩ. За нормальних умов пероксисомальний шлях є менш важливим, а при метаболічних розладах відбувається активація PPAR- α , яка призводить до

посилення захоплення жирних кислот на рівні мітохондрій та пероксисом [498-501].

PPAR- γ відіграє основну роль у контролі генів, задіяних у ліпогенних шляхах адіпоцита, посилюючи захоплення ЖК та диференціювання адіпоцитів з наступним збільшенням кількості тригліцеридів у клітинах та зменшенні поступлення ЖК до печінки. Він також зумовлює підвищення чутливості до інсуліну завдяки транскрипційній активації генів адіпонектину у адіпоцитах, посилюючи їх експресію [502,503]. PPAR- γ є молекулярною мішенню тіазолідиндіонів, які посилюють чутливість для інсуліну, підвищуючи рівень адіпонектину у плазмі. Тіазолідиндіони використовуються як анти-діабетичні засоби завдяки їх ефекту у печінці, скелетних м'язах та жировій тканині. Рівень мРНК PPAR- γ підвищується при гепатитах В та С та при ожирінні (PPAR- γ 2).

Роль PPAR у фіброзі печінки була встановлена у 2000 році, коли трьома незалежними групами дослідників була показана експресія PPAR- γ на ПЗК у стані спокою (ізолювані клітини з нормальної печінки) та зменшення експресії при активації ПЗК. Експресія PPAR- γ ПЗК в стані спокою є компонентом комплексу «адипогенного фенотипу» ПЗК, який включає крім того експресію ChREBP β і SREBP-1c, та здатність нагромаджувати ліпіди, кількість яких теж зменшуються під час активації. Впливи ТЗД на фіброз печінки вивчались на різних експериментальних моделях: токсична дія тетрахлорметану, перев'язка жовчевих шляхів та холін-дефіцитна дієта стеатогепатиту. Було виявлено, що одержані ефекти залежать від терміну призначення препаратів і не залежать від використаної моделі (крім холестатичної, де ефект був постійним). Це можна пояснити: 1) гетерогенністю міофібробластів, які можуть мати різну чутливість до PPAR γ ; 2) неможливістю препаратів приєднуватись до фіброгенних клітин (ліганди не розпізнають клітини-мішені, недостатня експресія PPAR γ); 3) переважанням на пізніх етапах інших (альтернативних) механізмів фіброгенезу.

В нашому експерименті на щурах вивчалась здатність піоглітазону запобігати розвитку патогістологічних змін та біохімічних розладів у печінці на фоні її хронічного ураження тетрахлорметаном (профілактичне введення препарату). Отримані результати свідчать про наявність гепатопротективного, антифіброгенного та прорегенераторного ефекту.

Зменшення вираженості процесів пошкодження (стеатоз та апоптоз) імовірно більше пов'язане з ефектами піоглітазону в жировій тканині та відповідно пониження впливу токсичних ЖК у паренхімі печінки. Виявлений антифіброгенний ефект можна пояснити порушенням активації ПЗК, які відіграють центральну роль у процесах фіброгенезу та репарації [504,505].

У фармакологічних моделях, в яких ураження печінки виникає внаслідок дії токсичних речовин, переважають механізми регенерації за рахунок ПКП у СК нішах. Одним з важливих механізмів індукції проліферативної активності ПКП є вплив активованих ПЗК. При цьому «міофібробласти» виділяють цілий спектр цитокінів, які модулюють активність клітин у СК нішах. Ефекти такої регуляції є різноманітними і включають стимуляцію/пригнічення регенерації. Крім того активовані ПЗК посилюють фіброгенез, виділяючи протеїни ЕЦМ. Тому сполуки, які блокуються надмірний фіброгенез, можуть пригнічувати регенерацію [506-508].

Піоглітазон підтримує високу експресію PPAR γ і тим самим запобігає активації ПЗК. Антифібротичний ефект, який при цьому розвивається описаний у багатьох роботах, правда щодо його молекулярних механізмів відомо мало. Впливи на регенерацію вивчені менше. Вважається, що активовані ПЗК пригнічують регенераторні процеси, але пониження проліферативної активності може компенсуватись іншими шляхами [509,510]:

- Метаболічна модель регенерації печінки: порушення метаболізму (1) гіпоглікемія, 2) системні порушення обміну ліпідів та їх нагромадження у печінці, 3) порушення захоплення та обміну амінокислот), які виникають внаслідок печінковоклітинної недостатності забезпечують енергією та

макромолекулярні попередники, необхідні для регенерації, а також генерують специфічні молекулярні сигнали, які ініціюють проліферацію печінкових клітин.

- 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

У нашому дослідженні піоглітазон вводився паралельно з пошкоджуючим фактором (тетрахлорметаном) протягом тривалого часу (1 місяць). За таких умов спостерігався антифібротичний ефект (статистично значущий) та збереження/незначне посилення регенерації (статистично незначуще) за рахунок проліферації ПКП.

Матеріали даного розділу апробовані на науковому форумі [479] та додатково відображені у інформаційному листі [480], патентах на корисну модель [481, 482] та у свідоцтві про реєстрацію авторського права на твір [483].

ВИСНОВКИ

1. Хронічний стеатогепатит та вірусний гепатит С відносяться до найбільш розповсюджених причин розвитку цирозу печінки, який на сьогодні займає десяте місце серед причини смертності у соціально розвинених країнах. Нагромадження даних про оборотність фіброзу та інших проявів загоєння зумовило активний пошук потенційних мішеней фармакокорекції на пізній стадії захворювання та підтвердило важливість морфологічної діагностики на цьому етапі захворювання. Тому, вивчення морфогенезу репарації та фіброзу, які зумовлюють хронічний перебіг стеатогепатиту та гепатиту С та розробка діагностичних критеріїв цих захворювань на пізній стадії захворювання є актуальною проблемою сучасної патоморфології та гепатології.

2. На основі аналізу автопсій, проведених за десять років, показано, що серед захворювань, які зумовили розвиток цирозу печінки, переважає алкогольне ураження (41,5 – 62,9%, середнє – 53,03%). Спостерігається тенденція до зростання частки вірусного гепатиту С. 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. Значна частка випадків гістологічно виявленого неповного септального цирозу печінки (36,5%) при попередньо діагностованому цирозі (клінічно та патологоанатомічно) свідчить про необхідність категоризації пізніх стадій хронічних захворювань печінки.

3. 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 CK19) перевищували лобулярні показники в 2-4 рази і гістологічно асоціювались переважно із дуктулярною реакцією та виражений септальний неоангіогенез (септальний CD34+ в чотири рази вищий) з утворенням анастомозів та розгалужень

печінкової артерії. У паренхіматозному компартменті (інтралобулярна ніша регенерації) виявлялись групи ЕрСАН+ незрілих печінкових клітин та поодинокі дуктули, які супроводжувались низькими показниками лобулярного ангіогенезу, що відповідають процесам центральної артеріалізації та порталізації.

4. При першому морфогенетичному варіанті репарації та фіброзу виявляється низька репаративна активність (ЕрСАН, ЕрСАНН та СК19 значуще нижчі), яка переважає у лобулярному компартменті з домінуючим напрямком диференціювання у гепатоцити (ЕрСАНН=0,122; $p<0,05$); перицелюлярний склероз, який асоціюється з високими лобулярними та низькими септальними показниками фібро- та ангіогенезу; виражені компенсаторно-приспосувальні реакції у септах (СК19) та максимальна експресія маркера телоцитів (CD117=9,12; $p<0,05$)

5. Для другого морфогенетичного варіанту репарації та фіброзу характерні помірна репаративна активність із задіяванням обох тканинних компартментів: маркери репаративної регенерації та ангіогенезу (ЕрСАНГ, ЕрСАНН, СК19, CD31S, CD34S, CD34P) є ближчими до значень цих показників в групі Р1, а значення α -SМАG, α -SМАС, Ki67S, Ki67P, CD34G наближаються до значень таких же показників при Р3; перисептальний склероз з проникненням у лобулярний компартмент; виражені септальні адаптативні реакції.

6. При третьому варіанті репарації та фіброзу висока репаративна активність (ЕрСАН, ЕрСАНН та СК19 значуще вищі) переважно у септальному компартменті з домінуючим напрямком диференціювання у холангіоцити (СК19) асоціюється з перидуктальним склерозом, високими септальними та мінімальними лобулярними маркерами фібро- та ангіогенезу та незначною експресією маркера телоцитів (CD117=9,12; $p<0,05$)

7. На основі аналізу частоти морфологічних проявів алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на етапі неповного септального цирозу виділено напівкількісні морфологічні

диференційно-діагностичні критерії (статистично значущі значущі відмінності $p < 0,05$), які дозволяють визначити переважаючий морфогенетичний варіант репарації, ступінь реорганізації тканини, регресії фіброзу/перебудови тканини та ступінь активності. Серед виділених критеріїв найбільше діагностичне значення мають: тип дуктулярної реакції (ознака на 25,6% детермінована діагнозом), вираженість лобулярних (на 24,8%) та перисептальних інфільтратів (на 17,8%) і поширеність стеатозу (на 9,2%).

8. При АСГ переважав морфогенетичний варіант репарації другого типу із перисептальним фіброзом (66,7%, $p < 0,05$) та дифузною ДР (88,9%, $p < 0,01$). Серед ознак тканинної реорганізації переважали великі вузли (82,2%, $p < 0,05$) асоційовані з портопортальними та портоцентральними септами з вираженою васкуляризацією. Із 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 (51,1%, вогнища гепатоцитів, асоційовані з інфільтрацією нейтрофілами (42,2%, $p < 0,05$). Крім того виявлялась виражена перисептальна інфільтрація (68,9%, $p < 0,05$).

9. Для НАСГ найбільш характерним був перший морфогенетичний варіант репарації, але при значущому переважанні дифузної ДР – 91,8%, $p < 0,01$ спостерігалась комбінація перицелюлярного (55,1%, $p > 0,1$) і септального () фіброзу. Тканинна перебудова обмежувалась септальним склерозом (89,8%, $p < 0,01$) з портоцентральними септами, а серед ознак регресії фіброзу/реорганізації значуще домінували тонкі перфоровані септи. Серед типових для НАСГ проявів пошкодження/інфільтрації виявлялись: помірний дифузний (57,9%, $p < 0,05$) або централобулярний (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.

10. При ВГС переважав морфогенетичний варіант репарації третього типу (перидуктальний фіброз – 82,6%, $p < 0,05$ та перисептальна ДР – 84,78%, $p < 0,05$). Із 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. Із типових для ВГС ознак пошкодження/інфільтрації значуще частішою 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%, $p < 0,05$).

11. При приєднанні до алкогольного стеатогепатиту, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С другого захворювання 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.

12. Експериментально встановлено, що урсодезоксихолева кислота в дозі 15 мг/кг маси тіла при хронічному профілактичному (разом з тетрахлорметаном) введенні щурам зменшує ступінь пошкодження та прояви фіброзу печінки ($p < 0,05$), послаблюючи рівень окисного стресу.

13. 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 PPAR- γ активації печінкових зірчастих клітин та має незначний прорегенераторний ефект ($p > 0,05$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Pimpin L, Cortez-Pinto H, Negro F, Corbould E, Lazarus JV, Webber L, et al. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *J Hepatol.* 2018 Sep;69(3):718-35.
2. Desai AP, Mohan P, Roubal AM, Bettencourt R, Loomba R. Geographic Variability in Liver Disease-Related Mortality Rates in the United States. *Am J Med.* 2018 Jul;131(7):728-34.
3. Andronescu CI, Purcarea MR, Babes PA. Nonalcoholic fatty liver disease: epidemiology, pathogenesis and therapeutic implications. *J Med Life.* 2018 Jan-Mar;11(1):20-23.
4. Popping S, El-Sayed M, Feld J, Hatzakis A, Hellard M, Lesi O, et al. Report from the International Viral Hepatitis Elimination Meeting (IVHEM), 17-18 November 2017, Amsterdam, the Netherlands: gaps and challenges in the WHO 2030 hepatitis C elimination framework. *J Virus Erad.* 2018;4(3):193–95.
5. Tomedi LE, Roeber J, Landen M. Alcohol Consumption and Chronic Liver Disease Mortality in New Mexico and the United States, 1999-2013. *Public Health Rep.* 2018 May/Jun;133(3):287-93.
6. Зайцев ІА, Потий ВВ, Кириєнко ВТ. Возможные стратегии реализации программы ВОЗ по элиминации гепатита С в Украине к 2030 году. *Гепатология.* 2017 Груд;4(38):6-13.
7. Фадєєнко ГД, Кушнір ІЕ, Нікіфорова ЯВ Діагностика неалкогольної жирової хвороби печінки: можливості і перспективи. *Сучасна гастроентерологія.* 2017 Груд;6(98):79-92.
8. Lanzoni G, Cardinale V, Carpino G. The hepatic, biliary, and pancreatic network of stem/progenitor cell niches in humans: A new reference frame for disease and regeneration. *Hepatology* 2016 Nov 02;64:277- 86.
9. Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, Durand F, Moreau R, Valla D, et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol.* 2017 Jan;66(1):212-27.

10. Novo E, Cannito S, Morello E, Paternostro C, Bocca C, Miglietta A, et al. Hepatic myofibroblasts and fibrogenic progression of chronic liver diseases. *Histol Histopathol*. 2015 Sep;30(9):1011-32.
11. Poole LG, Arteel GE. Transitional remodeling of the hepatic extracellular matrix in alcohol-induced liver injury. *Biomed Res Int*. 2016; 2016:3162670.
12. Hung TM, Yuan RH, Huang WP, Chen YH, Lin YC, Lin CW, et al. Increased Autophagy Markers Are Associated with Ductular Reaction during the Development of Cirrhosis. *Am J Pathol*. 2015 Sep;185(9):2454-67.
13. Tosello-Tramont A, Surette FA, Ewald SE, Hahn YC. Immunoregulatory Role of NK Cells in Tissue Inflammation and Regeneration. *Front Immunol*. 2017. March 20;8:301-10.
14. Abdullah Z, Knolle A. Liver macrophages in healthy and diseased liver. *Pflugers Arch*. 2017. Apr;469(3-4):553-60.
15. Szabo G, Petrasek J. Inflammasome activation and function in liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Jul; 12(7):387-400.
16. Шебеко ЮО. Особливості морфогенезу та прогресування фіброзу і цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит С. [дисертація]. Запоріжжя. Запоріз. держ. мед. ун-т; 2011. 22 с.
17. Туманский ВА, Шебеко ЮА, Громенко ЕА, Фень СВ. Морфогенез перицеллюлярного фіброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С, ассоциированным со стеатозом печени. *Патологія*. 2012. Бер; 2:33-35.
18. Гаврилюк АО. Морфологічна оцінка перебігу, прогресії та наслідків хронічних вірусних гепатитів [дисертація]. Запоріжжя. Запоріз. держ. мед. ун-т.; 2013. 40 с.
19. Skoien R, Richardson MM, Jonsson JR, Powell EE, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA, et al. Heterogeneity of fibrosis patterns in non-alcoholic fatty liver disease supports the presence of multiple fibrogenic pathways. *Liver Int*. 2013 Apr;33(4):624-32.

20. Фень СВ. Хронічний стеатогепатит: патоморфологічна характеристика перебігу та несприятливих наслідків [дисертація]. Запоріжжя. Запоріз. держ. мед. ун-т.; 2019. 20с.
21. Туманский ВА, Фень СВ. Патоморфология фиброза печени в трепанобиоптатах больных стеатогепатитом: основные типы, источники развития, особенности прорессирования. Патологія. 2017. Квіт;3(41): 244-57.
22. Alison MR, Lin WR. Regenerating the liver: not so simple after all? F1000Res. 2016; 2016: pii: F1000 Faculty Rev-1818.
23. Chen J, Chen L, Zern MA, Theise ND, Diehl AM, Liu P, et al. The diversity and plasticity of adult hepatic progenitor cells and their niche. Liver Int. 2017 Sep;37(9):1260-71.
24. Fabris L, Brivio S, Cadamuro M, Strazzabosco M. Revisiting Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Liver Fibrosis: Clues for a Better Understanding of the "Reactive" Biliary Epithelial Phenotype. Stem Cells Int. 2016; 2016:2953727.
25. Туманський ВО, Фень СВ. Дуктулярна реакція, або печінковий репаративний комплекс: імуногістохімічні особливості при цирозі печінки у хворих на хронічний гепатит. Патологія. 2018 Січ; 15(1):18-29.
26. Hytioglou P, Snover DC, Alves V, Balabaud C, Bhathal PS, Bioulac-Sage P, et al. Beyond "cirrhosis": a proposal from the International Liver Pathology Study Group. Am J Clin Pathol. 2012 Jan;137(1):5-9.
27. Pinzani M. Exploring Beyond Cirrhosis. Hepatology. 2012 Aug;56(2):778-80.
28. Saffioti F., Pinzani M. Development and Regression of Cirrhosis. Dig Dis. 2016;34(4):374-81.
29. Quaglia A, Alves VA, Balabaud C, Bhathal PS, Bioulac-Sage P, Crawford JM, et al. Role of aetiology in the progression, regression, and parenchymal remodelling of liver disease: implications for liver biopsy interpretation. Histopathology. 2016 Jun;68(7):953-67.
30. Jung YK, Yim HJ. Reversal of liver cirrhosis: current evidence and expectations. Korean J Intern Med. 2017 Mar;32(2):213-228.

31. Zhang F, Lu Y, Zheng S. Peroxisome proliferator activated receptor- γ cross regulation of signaling events implicated in liver fibrogenesis. *Cell Signal*. 2012 Mar;24(3):596-605.
32. Tailleux A., Wouters K., Staels B. Roles of PPARs in NAFLD: potential therapeutic targets. *Biochim Biophys Acta*. 2012 May;1821(5):809-18.
33. Гнатюк МС, Кузьмінчук ВМ, Бурак АС, Романюк ТВ, Боднар ПЯ, винахідники; ДУ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського» МОЗ України, патентовласник. Спосіб моделювання цирозу печінки з синдромом портальної гіпертензії. Патент України № 87633. 2014 Лют 10.
34. Просоленко КА. Механизмы участия PPAR α -рецепторов в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени и других компонентов метаболического синдрома. *Сучасна гастроентерологія*. 2015 Лют;2(82):111-18.
35. Потяженко ММ, Невойт ГВ, Кітура ОЄ. Плейотропні ефекти урсодезоксихолевої кислоти – додатковий аргумент на користь розширення клінічного застосування. *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Лют;2(94). С.78-94.
36. Marcellin P, Kutala BK. Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver Int*. 2018 Feb;38 Suppl 1:2-6.
37. Ward BW, Schiller JS, Goodman RA. Multiple chronic conditions among US adults: a 2012 update. *Prev Chronic Dis*. 2014 Apr 17;11:E62.
38. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Lond Engl*. 2017. Sept 16; 390:1211-59.
39. Рынгач НЛ. Смертность от болезней органов пищеварения в Украине: что изменилось? *Демоскоп*. 2013 Вер 29; 567–568:49-52.

40. Бабак ОЯ. Современная гепатология: достижения, проблемы и перспективы. Суч. гастроентеролог. 2013 Бер;70(2):12-20.
41. Чепелевська ЛА, Слабкий ВГ. Тенденції смертності населення України від хвороб органів травлення: регіональні особливості Україна. Здоров'я нації. 2016;4/1(41):225-30.
42. Ковальчук АЮ. Характеристика соціально-демографічної ситуації та соціально значущих захворювань в Україні. Український медичний часопис. 2014; 1(99): 29–33.
43. Шевчук ПС. Сучасні зрушення у регіональній диференціації смертності та тривалості життя в Україні. [Електронний ресурс]. Доступно: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/8719/03-Shevchuk.pdf?sequence=1>. Назва з екрана.
44. Scaglione S, Kliethermes S, Cao G, Shoham D, Durazo R, Luke A, et al. The Epidemiology of Cirrhosis in the United States: A Population-based Study. J Clin Gastroenterol. 2015 Sep;49(8):690-6.
45. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. Lancet. 2008 Mar 8;371(9615):838-51.
46. Хазанов АИ. Итоги длительного изучения (1946-2005) этиологии циррозов печени у стационарных больных. Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 2006 Мар;2:11-24.
47. Бобров АН, Павлов СВ, Плюснин СВ. Этиологический профиль циррозов печени с летальным исходом у стационарных больных. Рос. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 2006 Мар;2:19-23.
48. Боровик СП. V З'їзд гастроентерологів України: підведення підсумків та рух уперед. Український медичний часописю 2014 Сер;5(103)IX/X:24–26.
49. Arteel G, Marsano L, Mendez Ch. Advances in alcoholic liver disease. Best Practice Res. Clin. Gastroenterol. 2003 Sept;17(4):625-647.
50. Cojocariu CE, Trifan AV, Gîrleanu I, Stanciu C. Alcoholic liver disease – epidemiology and risk factors. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. 2014 Oct-Dec;118(4):910-7.

51. Delker E, Brown Q, Hasin DS. Alcohol Consumption in Demographic Subpopulations: An Epidemiologic Overview. *Alcohol Res.* 2016 Febr;38(1):7-15.
52. Sayiner M, Koenig A, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. *Clin Liver Dis.* 2016 May;20(2):205-14.
53. Gambino R, Cassader M, Pagano G. Metaanalysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of noninvasive tests for liver disease severity. *Ann. Med.* 2011 Oct;43:617-49.
54. Kabbany MN, Conjeevaram Selvakumar PK, Watt K, Lopez R, Akkas Z, Zein N, et al. Prevalence of Nonalcoholic Steatohepatitis-Associated Cirrhosis in the United States: An Analysis of National Health and Nutrition Examination Survey Data. *Am J Gastroenterol.* 2017 Apr;112(4):581-87.
55. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016 Jul;64(1):73-84.
56. Estes C, Razavi H, Loomba R, Younossi Z, Sanyal AJ. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. 2018 Jan;67(1):123-33.
57. Глобальный план действий по профилактике неинфекционных заболеваний и борьбе с ними на 2013–2020 гг. Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2013 [Электронный документ]. Режим доступа: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA66/A66_R10-ru.pdf, по состоянию на 10 декабря 2013 г. Название с экрана.
58. Perumpail BJ, Khan MA, Yoo ER, Cholankeril G, Kim D, Ahmed A. Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2017 Dec 21;23(47):8263-76.
59. Bruggmann P, Berg T, Øvrehus AL, Moreno C, Brandão Mello CE, Roudot-Thoraval F, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *J Viral Hepat.* 2014 May;21 Suppl 1:5-33.

60. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* 2009 Jan;29 Suppl 1:74-81.
61. Dore GJ, Ward J, Thursz M. Hepatitis C disease burden and strategies to manage the burden. *J Viral Hepat.* 2014 May;21 Suppl 1:1-4.
62. European mortality database (MDB), WHO/Europe [Electronic resource]. Access mode : <http://data.euro.who.int/hfamdb>. Title from screen.
63. Zaitsev IA, Potiĭ VV, Zaplotnaia AA, Demkovich OO. Epidemiology of viral hepatitis C in the Donetsk region. *Lik Sprava.* 2014 Nov;11:122-27.
64. Mühlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, Sroczynski G, Zeuzem S, Siebert U. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality *BMC Public Health.* 2009 Jan 22;9:34.
65. Itoh T, Miyajima A. Liver regeneration by stem/progenitor cells. *Hepatology.* 2014 Apr;59(4):1617-26.
66. Гаврилюк ОМ. Регенерація печінки: провідні та морфологічні прояви. *Гепатологія.* 2008 Бер;2:16-23.
67. Than NN, Newsome PN. Stem cells for liver regeneration. *QJM.* 2014 Jun;107(6):417-21
68. Riehle RJ, Dan YY, Campbell JS, Fausto N. New concepts in liver regeneration. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Jan;26 Suppl 1:203-12
69. Best J, Dollé L, Manka P, Coombes J, van Grunsven LA, Syn WK. Role of liver progenitors in acute liver injury. *Front Physiol.* 2013 Sep 26;4:258.
70. Michalopoulos GK. Principles of liver regeneration and growth homeostasis. *Compr Physiol.* 2013 Jan;3(1):485-513.
71. Kwon YJ, Lee KG, Choi D. Clinical implications of advances in liver regeneration. *Clin Mol Hepatol.* 2015 25 Mar 2015, 21(1):7-13.
72. Karidis N.P., Delladetsima I., Theocharis S. Hepatocyte Turnover in Chronic HCV-Induced Liver Injury and Cirrhosis. *Gastroenterol Res Pract.* 2015 Mar;2015:654105.
73. Moris D, Vernadakis S, Papalampros A, Vailas M, Dimitrokallis N, Petrou A, Dimitroulis D. Mechanistic insights of rapid liver regeneration after

associating liver partition and portal vein ligation for stage hepatectomy. *World J Gastroenterol*. 2016 Sep 7; 22(33): 7613–24.

74. Chan ACY, Chok K, Dai JWC, Lo CM. Impact of split completeness on future liver remnant hypertrophy in associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS) in hepatocellular carcinoma: Complete-ALPPS versus partial-ALPPS. *Surgery*. 2017 Feb;161(2):357-64.

75. Wei W, Dirsch O, Mclean AL, Zafarnia S, Schwier M, Dahmen U. Rodent models and imaging techniques to study liver regeneration. *Eur Surg Res*. 2015;54(3-4):97-113.

76. Mao SA, Glorioso JM, Nyberg SL. Liver regeneration. *Transl Res*. 2014 Apr;163(4):352-62.

77. Pu W, Zhang H, Huang X, Tian X, He L, Wang Y, et al. Mfsd2ap hepatocytes repopulate the liver during injury and regeneration. *Nature Communications*. 2016 Nov;7:13369.

78. Saito Y, Morine Y, Shimada M. Mechanism of impairment on liver regeneration in elderly patients: Role of hepatic stellate cell function. *Hepatol Res*. 2017 May;47(6):505-513.

79. Best J, Manka P, Syn WK, Dollé L, van Grunsven LA, Canbay A. Role of liver progenitors in liver regeneration *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2015 Feb;4(1):48-58.

80. Roskams TA, Theise ND, Balabaud C, Bhagat G, Bhathal PS, Bioulac-Sage P, et al. Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers. *Hepatology*. 2004 Jun;39(6):1739-45.

81. Verhulst S, Best J, van Grunsven LA, Dollé L. Advances in hepatic stem/progenitor cell biology. *EXCLI J*. 2015 Jan 6;14:33-47.

82. Katoonizadeh A, Poustchi H, Malekzadeh R. Hepatic progenitor cells in liver regeneration: current advances and clinical perspectives. *Liver Int*. 2014 Nov;34(10): 1464-1472.

83. Miyajima A, Tanaka M, Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming. *Cell Stem Cell*. 2014 May 1;14(5):561-74.
84. Tanaka M, Itoh T, Tanimizu N, Miyajima A. Liver stem/progenitor cells: their characteristics and regulatory mechanisms. *J Biochem*. 2011 Mar;149(3):231-9.
85. Tetteh PW, Farin HF, Clevers H. Plasticity within stem cell hierarchies in mammalian epithelia. *Trends Cell Biol*. 2015 Feb;25(2):100-8.
86. Kopp JL, Grompe M, Sander M. Stem cells versus plasticity in liver and pancreas regeneration. *Nat Cell Biol*. 2016 Mar;18(3):238-45.
87. Ceulemans A, Verhulst S, Van Haele M, Govaere O, Ventura JJ, van Grunsven LA, et al. RNA-sequencing-based comparative analysis of human hepatic progenitor cells and their niche from alcoholic steatohepatitis livers *Cell Death Dis*. 2017 Nov 2;8(11):e3164.
88. Desmet VJ. Ductal plates in hepatic ductular reactions. Hypothesis and implications. I. Types of ductular reaction reconsidered. *Virchows Arch*. 2011 Mar;458(3):251-9.
89. Desmet VJ. Ductal plates in hepatic ductular reactions. Hypothesis and implications. II. Ontogenic liver growth in childhood. *Virchows Arch*. 2011 Mar;458(3): 261-270.
90. Zhang X, Du G, Xu Y, Li X, Fan W, Chen J, et al. Inhibition of notch signaling pathway prevents cholestatic liver fibrosis by decreasing the differentiation of hepatic progenitor cells into cholangiocytes. *Lab Invest*. 2016 Mar;96(3):350-60.
91. Winkler S, Borkham-Kamphorst E, Stock P, Brückner S, Dollinger M, Weiskirchen R, et al. Human mesenchymal stem cells towards non-alcoholic steatohepatitis in an immunodeficient mouse model. *Exp Cell Res*. 2014 Aug 15;326(2):230-9.

92. Dubuquoy L, Louvet A, Lassailly G, Truant S, Boleslawski E, Artru F, et al. Progenitor cell expansion and impaired hepatocyte regeneration in explanted livers from alcoholic hepatitis. *Gut*. 2015 Dec;64(12):1949-60.
93. Wood MJ, Gadd VL, Powell LW, Ramm GA, Clouston AD. Ductular reaction in hereditary hemochromatosis: the link between hepatocyte senescence and fibrosis progression. *Hepatology*. 2014 Mar;59(3):848-57.
94. Kopp JL, Grompe M, Sander M. Stem cells versus plasticity in liver and pancreas regeneration. *Nat Cell Biol*. 2016 Mar;18(3):238-45.
95. Tsolaki E, Yannaki E. Stem cell-based regenerative opportunities for the liver: State of the art and beyond. *World J Gastroenterol*. 2015;21(43):12334-50.
96. Huebert RC, Rakela J. Cellular therapy for liver disease. *Mayo Clin Proc*. 2014 Mar;89(3):414-24.
97. Xue ZF., Wu XM, Liu M. Hepatic regeneration and the epithelial to mesenchymal transition. *World J Gastroenterol*. 2013 Mar 7;19(9):1380-6.
98. Xie G., Diehl A.M. Evidence for and against epithelial-to-mesenchymal transition in the liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013 Dec;305(12):G881-90.
99. Wu XB, Tao R. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2012;11:360–71.
100. Tennakoon AH, Izawa T, Kuwamura M, Yamate J. Pathogenesis of Type 2 Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) in Renal and Hepatic Fibrosis. *J Clin Med*. 2015;30(1):4-10.
101. Choi SS, Diehl AM. Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology*. 2009 Dec;50(6):2007-13.
102. Lee SJ, Kim KH, Park KK. Mechanisms of fibrogenesis in liver cirrhosis: The molecular aspects of epithelial-mesenchymal transition. *World J Hepatol*. 2014 Apr 27;6(4):207-16.

103. Bi WR, Yang CQ, Shi Q. Transforming growth factor- β 1 induced epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis. *Hepatogastroenterology*. 2012 Sep;59(118):1960-3.
104. Park JH, Yoon J, Lee KY, Park B. Effects of geniposide on hepatocytes undergoing epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis by targeting TGF β /Smad and ERK-MAPK signaling pathways 2015 Jun;113:26-34.
105. Thabut D, Shah V. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: new targets for the treatment of portal hypertension? *J Hepatol*. 2010 Nov;53(5):976-80.
106. Fabris L, Cadamuro M, Libbrecht L, Raynaud P, Spirli C, Fiorotto R, et al. Epithelial expression of angiogenic growth factors modulate arterial vasculogenesis in human liver development *Hepatology*. 2008 Feb;47(2):719-28.
107. Fernández M, Semela D, Bruix J, Colle I, Pinzani M, Bosch J. Angiogenesis in liver disease. *J Hepatol*. 2009 Mar;50(3):604-20.
108. Coulon S, Heindryckx F, Geerts A. Angiogenesis in chronic liver disease and its complications *Liver Int*. 2011;31(2):146-62.
109. Paternostro C, David E, Novo E, Parola M. Hypoxia, angiogenesis and liver fibrogenesis in the progression of chronic liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2010 Jan 21;16(3):281-8.
110. Rosmorduc O, Housset C. Hypoxia: a link between fibrogenesis, angiogenesis, and carcinogenesis in liver disease. *Semin Liver Dis*. 2010 Aug;30(3):258-70.
111. Cast AE, Walter TJ, Huppert SS. Vascular patterning sets the stage for macro and micro hepatic architecture. *Dev Dyn*. 2015 Mar;244(3):497-506.
112. Johnson A, DiPietro LA. Apoptosis and angiogenesis: an evolving mechanism for fibrosis. *Faseb J*. 2013 Oct;27(10):3893-901.
113. Kaur S, Anita K. Angiogenesis in liver regeneration and fibrosis: "a double-edged sword". *Hepatol Int*. 2013;7(4):959-68.
114. Garg M, Kaur S, Banik A, Kumar V, Rastogi A, Sarin SK, et al. Bone marrow endothelial progenitor cells activate hepatic stellate cells and aggravate

carbon tetrachloride induced liver fibrosis in mice via paracrine factors. *Cell Prolif.* 2017 Aug;50(4):257-65.

115. Breitkopf-Heinlein K, Meyer C, König C, Gaitantzi H, Addante A, Thomas Herrera B, et al. BMP-9 interferes with liver regeneration and promotes liver fibrosis. *Gut.* 2017 May;66(5):939-54.

116. Kitade M, Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kaji K, Shirai Y, et al. Crosstalk between angiogenesis, cytokeratin-18, and insulin resistance in the progression of nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol.* 2009 Nov 7;15(41):5193-9.

117. Duarte S, Baber J, Fujii T, Coito AJ. Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis. *Matrix Biol.* 2015 May-Jul;44-46:147-56.

118. Amalinei C, Caruntu I, Giusca SE, Balan RA. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Romanian J. Morphol. Embryol.* 2010;51(2):215-28.

119. Yang JJ, Tao H, Deng ZY, Lu C, Li J. Non-coding RNA-mediated epigenetic regulation of liver fibrosis. *Metabolism.* 2015 Nov;64(11):1386-94.

120. Xu F, Liu C, Zhou D, Zhang L. TGF- β /SMAD Pathway and Its Regulation in Hepatic Fibrosis. *J Histochem Cytochem.* 2016 Mar;64(3):157-67.

121. Ni MM, Wang YR, Wu WW, Xia CC, Zhang YH, Xu J, et al. Novel Insights on Notch signaling pathways in liver fibrosis. *Eur J Pharmacol.* 2018 May 5;826:66-74.

122. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterol.* 2008 May; 134(6): 1655–69.

123. Henderson NC, Forbes SJ. Hepatic fibrogenesis: from within and outwith. *Toxicol.* 2008;254(3):130-35.

124. Wallace K, Burt AD., Wright MC. Liver fibrosis. *Biochem J.* 2008;411(1):1-18.

125. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.* 2008;214(2):199-210.

126. Novo E, Cannito S, Paternostro C. Cellular and molecular mechanisms in liver fibrogenesis. *Arch Biochem Biophys*. 2014;15(548):20-23.
127. Eslam M, Hashem AM, Romero-Gomez M, Berg T, Dore GJ, Mangia A, et al. FibroGENE: A gene-based model for staging liver fibrosis. International Liver Disease Genetics Consortium (ILDGC). *J Hepatol*. 2016 Feb;64(2):390-98.
128. Ismail M, Pinzani M. Reversal of liver fibrosis Saudi. *J. Gastroenterol*. 2009;15(1):72-79.
129. Parola M, Marra F, Pinzani M. Myofibroblast – like cells and liver fibrogenesis: emerging concepts in a rapidly moving scenario. *Molec. Aspec Med*. 2008;29;58-66.
130. Thannickal VJ, Zhou Y, Gaggar A, Duncan SR. Fibrosis: ultimate and proximate causes. *J Clin Inves*. 2014;124(11):4673-77.
131. Туманский ВА, Шебеко ЮА, Громенко ЕА, Фень СВ Морфогенез перицеллюлярного фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С, ассоциированным со стеатозом печени. *Патологія*. 2012;2:33-35.
132. Skoien R, Richardson MM, Jonsson JR, Powell EE, Brunt EM. Heterogeneity of fibrosis patterns in non-alcoholic fatty liver disease supports the presence of multiple fibrogenic pathways. *Liver Int*. 2013 Apr;33(4):624-32.
133. Bataller R, Gao B. Liver fibrosis in alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis*. 2015 May;35(2):146-56
134. Sebastiani G, Gkouvatsos K, Pantopoulos K. Chronic hepatitis C and liver fibrosis.// *World J Gastroenterol*. 2014 Aug 28;20(32):11033-53.
135. Vestentoft PS. Development and molecular composition of the hepatic progenitor cell niche. *Dan Med J*. 2013 May;60(5):B4640.
136. Kordes C, Häussinger D. Hepatic stem cell niches. *J Clin Invest*. 2013 May;123(5):1874-80.
137. Lorenzini S, Bird TG, Boulter L, Bellamy C, Samuel K, Aucott R, et al. Characterisation of a stereotypical cellular and extracellular adult liver progenitor cell niche in rodents and diseased human liver. *Gut*. 2010 May;59(5):645-54.

138. Carpino G, Renzi A, Franchitto A, Cardinale V, Onori P, Reid L. Stem/Progenitor Cell Niches Involved in Hepatic and Biliary Regeneration. *Stem Cells*. 2016;2016:3658013-25.
139. Katoonizadeh A, Poustchi H. Adult Hepatic Progenitor Cell Niche: How it affects the Progenitor Cell Fate. *Middle East J Dig Dis* 2014;6:57-64.
140. Overi D, Carpino G, Cardinale V, Franchitto A, Safarikia S, Onori P, et al. Contribution of Resident Stem Cells to Liver and Biliary Tree Regeneration in Human Diseases. *Int J Mol Sci*. 2018 Sep 25;19(10). pii: E2917.
141. Ku NO, Strnad P, Bantel H, Omary MB. Keratins: Biomarkers and modulators of apoptotic and necrotic cell death in the liver *Hepatology*. 2016 Sep;64(3):966-76.
142. Guldiken N, Usachov V, Levada K. Keratins 8 and 18 are type II acute-phase responsive genes overexpressed in human liver disease. *Liver Int*. 2015;35(4):1203-12.
143. Omary MB. Intermediate filament proteins of digestive organs: physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017;312(6):628-34.
144. Kamimoto K, Kaneko K, Kok CY. Heterogeneity and stochastic growth regulation of biliary epithelial cells dictate dynamic epithelial tissue remodeling. *Elife*. 2016 Jul 19;5:pii: e15034.
145. Turányi E, Dezső K, Csomor J, Schaff Z, Paku S, Nagy P. Immunohistochemical classification of ductular reactions in human liver. *Histopathology*. 2010 Oct;57(4):607-14.
146. Lee SJ, Park JB, Kim KH, Lee WR, Kim JY, An HJ, et al. Immunohistochemical study for the origin of ductular reaction in chronic liver diseases *Int J Clin Exp Pathol*. 2014 Jun 15;7(7):4076-85.
147. Desmet V.J. Ductal plates in hepatic ductular reactions. Hypothesis and implications. III. Implications for liver pathology. *Virchows Arch*. 2011 Mar;458(3):271-9.

148. Poisson J, Lemoinne S, Boulanger C, Durand F, Moreau R, Valla D, et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases / J. Poisson, S. Lemoinne, C. Boulanger et al. *J Hepatol*. 2017 Jan;66(1):212-27.
149. Greuter T, Shah VH. Hepatic sinusoids in liver injury, inflammation, and fibrosis: new pathophysiological insights. *J Gastroenterol*. 2016 Oct;1(6):511-19.
150. Xu M, Wang X, Zou Y, Zhong Y. Key role of liver sinusoidal endothelial cells in liver fibrosis. *Biosci Trends*. 2017 May 23;11(2):163-68.
151. Natarajan V, Harris EN, Kidambi S. SECs (Sinusoidal Endothelial Cells), Liver Microenvironment, and Fibrosis. *Biomed Res Int* 2017;2017:4097205-14.
152. Puche J.E., Saiman Y., Friedman S.L. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol*. 2013 Oct;3(4):1473-92.
153. Sandulescu L, Rogoveanu I, Ciurea T. Immunohistochemical study of stellate cells in patients with chronic viral hepatitis C genotype 1. *Rom. J. Morphol. Embryol*. 2011 Jan;52(1):137-43.
154. Lemoinne S, Cadoret A, El Mourabit H, Thabut D, Housset C. Origins and functions of liver myofibroblasts. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Jul;1832(7):948-54.
155. Chazaud B. Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration. *Immunobiology*. 2014 Mar;219(3):172-8.
156. Wan J, Benkdane M, Teixeira-Clerc F, Bonnafous S, Louvet A, Lafdil F, et al. M2 Kupffer Cells Promote M1 Kupffer Cell Apoptosis: A Protective Mechanism Against Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):130-42.
157. Gao B, Radaeva S, Park O. Liver natural killer and natural killer T cells: immunobiology and emerging roles in liver diseases. *J. Leukoc. Biol*. 2009;86:513-28.
158. Zimmermann HW, Mueller JR, Seidler S, Luedde T, Trautwein C, Tacke F. Frequency and Phenotype of Human Circulating and Intrahepatic Natural Killer

Cell Subsets Is Differentially Regulated according to Stage of Chronic Liver Disease. *Digestion*. 2013;88(1):1-16.

159. Moretta A, Marcenaro E, Parolini S, Ferlazzo G, Moretta L. NK cells at the interface between innate and adaptive immunity. *Cell Death Differ*. 2008 Feb;15(2):226-33.

160. Fasbender F, Widera A, Hengstler JG, Watzl C. Natural Killer Cells and Liver Fibrosis / F. Fasbender, A. Widera, J.G. Hengstler, C. Watzl. *Front Immunol*. 2016 Jan;29(7):19-25.

161. Li N., Hua J. Immune cells in liver regeneration. *Oncotarget*. 2017 Jan 10;8(2):3628-39.

162. Qin SY, Lu DH, Guo XY. A deleterious role for Th9/IL-9 in hepatic fibrogenesis. *Sci Rep*. 2016 Jul;5(6):18694-99.

163. Lu DH, Guo XY, Qin SY, Luo W, Huang XL, Chen M, et al. Interleukin-22 ameliorates liver fibrogenesis by attenuating hepatic stellate cell activation and downregulating the levels of inflammatory cytokines. *World J Gastroenterol*. 2015 Feb 7;21(5):1531-45.

164. Гаврилюк ОМ. Клітини, задіяні у процесах репарації при хронічних захворюваннях печінки: морфофункціональні особливості та методи виявлення. *Гепатологія*. 2010 Вер;4:17-25.

165. Shepard B.D., Tuma P.L. Alcohol-induced alterations of the hepatocyte cytoskeleton. *World J Gastroenterol*. 2010 March 21; 16(11): 1358-65.

166. Ding WX. Induction of Autophagy, a Promising Approach for Treating Liver Injury. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):340-3.

167. Byun JS, Jeong W. Involvement of hepatic innate immunity in alcoholic liver disease. *Immune Netw*. 2010 Dec;10(6):181-7.

168. Ji C. Mechanisms of alcohol-induced endoplasmic reticulum stress and organ injuries. *Biochemistr. Res. Int*. 2012 Feb;34:246-51.

169. Suh YG., Jeong WS. Hepatic stellate cells and innate immunity in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2011;17(20):2543-51.

170. Thabut D, Shah V. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: new targets for the treatment of portal hypertension. *J Hepatol.* 2010 Nov;53(5):976-80.
171. Mallat A, Lodder J, Teixeira-Clerc F, Moreau R, Codogno P, Lotersztajn S. Autophagy: A Multifaceted Partner in Liver Fibrosis. *Biomed Res Int.* 2014;2014:869390.
172. Dowman JK, Tomlison JW, Newsome PN. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Q I Med.* 2010;103:71-83.
173. Iou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 200 Oct;28:170-79.
174. Mirandola S, Bowman D, Hussain MM, Alberti A. Hepatic steatosis in hepatitis C is a storage disease due to HCV interaction with microsomal triglyceride transfer protein (MTP). *Nutrit. Metabolism.* 2010 Feb 23;7:13.
175. Brenner C, Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation. *J Hepatol.* 2013 Sep;59(3):583-94.
176. Лук'янова ОМ, Задорожна ТД, Березенко ВС. Роль клітинної смерті у прогресуванні хронічних вірусних гепатитів у дітей. *Журн. АМН України.* 2009 Трав;15(4):670-84.
177. Pereira Tde A, Witek RP, Syn WK, Choi SS, Bradrick S, Karaca GF, et al. Viral factors induce Hedgehog pathway activation in humans with viral hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma *Lab Invest.* 2010 Dec;90(12):1690-703.
178. Basaranoglu M, Basaranoglu G. Pathophysiology of insulin resistance and steatosis in patients with chronic viral hepatitis. *World J Gastroenterol.* 2011;17(36):4055-62.
179. Гаврилюк ОМ, Грицко РЮ. Значення вірусної інфекції для прогресування хронічних захворювань печінки, асоційованих із стеатозом. *Інфекційні хвороби.* 2010;3:75-79ю
180. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing

histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431–35.

181. Shiha G, Sarin SK, Ibrahim AE, Groote J, Desmet VJ, Gedigk P, et al. Liver fibrosis: consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL). *Hepatology*. 2009 Jun;3(2):323-33.

182. Germani G, Burroughs AK, Dhillon AP. The relationship between liver disease stage and liver fibrosis: a tangled web. *Histopathol.* 2010 Dec;57(6):773-84.

183. Туманський ВО, Шебеко ЮО. Клініко-морфологічне обґрунтування градації фіброзу в біопсіях печінки. *Патологія*. 2009;2:54-59.

184. Bedossa P, Poynard T. and The French METAVIR Cooperative Study Group An algorithm for grading activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996 Aug;24(2):289-93.

185. Brunt EM, Janney CG , Di Bisceglie AM. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am. J. Gastroenterol.* 1999;94:2467-77.

186. Brunt ME, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2010 Nov 14; 16(42): 5286–96.

187. Theise ND. Liver biopsy assessment in chronic viral hepatitis. *Modern Pathol.* 2007 Feb;20(1):3-14.

188. Vertemati M, Minola E, Goffredi M. Computerized morphometry of the cirrhotic liver: comparative analysis of primary biliary cirrhosis, alcoholic cirrhosis, and posthepatitic cirrhosis. *Microsc Res Tech.* 2004 Oct;65(3):113-21.

189. Vizotto L, Vertemati M, Gambacorta M. Analysis of histological and immunohistochemical patterns of the liver in posthepatitic and alcoholic cirrhosis by computerized morphometry. *Modern Pathol.* 2002 Nov;15(8):798-806.

190. Caballero T, Pérez-Milena A, Masseroli M, O'Valle F, Salmerón FJ, Del Moral RM, et al. Liver fibrosis assessment with semiquantitative indexes and image analysis quantification in sustained-responder and non-responder interferon-treated patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2001 May;34(5):740-7.

191. Бісярін ЮВ, Гаврилюк ОМ, Киселик І, Чайка ЮІ. Біопсії печінки: клінічні та патоморфологічні аспекти. Гепатологія. 2009 Бер;1:16-27.
192. Leroy V, Monier F, Bottary S. Circulating matrix metalloproteinases 1,2,9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am. J. Gastroenterol.* 2004;23:271-79.
193. Пентюк НО. Біохімічні маркери фіброзу печінки у хворих на хронічні гепатити та їхня діагностична цінність. Суч. гастроентерол. 2011 Січ;1:58-63.
194. Leclercq A, Sempoux C, Starkel P, Horsmans Y. Limited therapeutic efficacy of pioglitazone on progression of hepatic fibrosis in rats. *Gut.* 2006 Jul;55(7):1020-9.
195. George J, Rao KR, Stern R, Chandrakasan G. Dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats: The early deposition of collagen / J. George, K.R.Rao, R.Stern et al. *Toxicol.* 2001;156:129-38.
196. Jonker AM, Dijkhuis FW, Hardonk MJ, Moerkerk P, Kate JT, Grond J. Immunohistochemical study of hepatic fibrosis induced in rats by multiple galactosamine injections / A.M. Jonker, F.W. Dijkhuis, P.Moerkerk et al. *J Hepatol.* 1994;19:775–81.
197. Müller A, Machnik F, Zimmermann T, Schubert H. Thioacetamide-induced cirrhosis-like lesions in rats - Usefulness and reliability of this animal model. *Exp Pathol.* 1988;34(4):229-36.
198. French SW. Intragastric ethanol infusion model for cellular and molecular studies of alcoholic liver disease. *J Biomed Sci.* 2001 Jan;8(1):20-27.
199. Carthew P, Dorman BM, Edwards RE, Francis JE, Smith AG. Unique rodent model for both the cardiotoxic and hepatotoxic effects of prolonged iron overload. *Lab Invest.* 1993 Aug;69(2):217-22.
200. Hinz S, Franke H, Machnik G, Muller A, Dargel R. Histological and biochemical changes induced by total bile duct ligation in the rat. *Exp Toxicol Pathol.* 1997 Aug;49(3-4):281-88.

201. George J, Pera N, Phung N, Leclercq I, Yun Hou J, Farrell G. Lipid peroxidation, stellate cell activation and hepatic fibrogenesis in a rat model of chronic steatohepatitis. *J Hepatol* 2003;39:756–64.
202. Ueberham E, Löw R, Ueberham U, Schönig K, Bujard H. Conditional tetracycline-regulated expression of TGF- α 1 in liver of transgenic mice leads to reversible intermediary fibrosis. *Hepatology*. 2003;37:1067-78.
203. Xu Z, Chen L, Leung L, Yen TS, Lee C, Chan JY. .Liver-specific inactivation of the Nrf1 gene in adult mouse leads to nonalcoholic steatohepatitis and hepatic neoplasia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102: 4120-25.
204. Hammel P. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. *N Engl J Med*. 2001; 344:418-23.
205. Dunn MA, Rojkind M, Warren KS, Hait PK, Rifas L, Seifter S. Liver collagen synthesis in murine Schistosomiasis. *J Clin Invest*. 1977 Apr;59(4):666-74.
206. Rivera CA, Bradford BU, Hunt KJ, Adachi Y, Schrum LW, Koop DR. .Attenuation of CCl₄-induced hepatic fibrosis by GdCl₃ treatment or dietary glycine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2001;281:200-07.
207. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*. 2003;33(2):105-36.
208. Fujii T, Fuchs BC, Yamada S. Mouse model of carbon tetrachloride induced liver fibrosis: histopathological changes and expression of CD133 and epidermal growth factor. *Gastroenterol*. 2010 Jul;10:79-91.
209. Pan X, Hussain FN, Iqbal J, Feuerman MH, Hussain MM. Inhibiting proteasomal degradation of microsomal triglyceride transfer protein prevents CCl₄-induced steatosis. *J Biol Chem*. 2007 Jun 8;282(23):17078-89.
210. Dabbs D. Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and genomic application. 3rd ed. New-York: Saunders Elsevier; 2010. 941p.

211. Стефанов ОВ, редактор. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). Київ: Авіцена; 2001. 528 с.
212. Дорошенко ЕМ, Нефёдов ЛИ, Смирнов ВЮ. Влияние смеси аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, таурина и триптофана на структуру печени и фонд свободных аминокислот у крыс при хронической алкогольной интоксикации и синдроме отмены алкоголя. Режим доступа: http://www.nil.grsu.by/docs/uchlit/stat_vesBPA.doc.
213. Гаврилюк ОМ. Етіологічні фактори цирозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2009 Бер;2:22-25.
214. Гаврилюк ОМ. Частота цирозу печінки за даними автопсійного матеріалу Львівського патологоанатомічного бюро. Практична медицина. 2009 Лют;XV(1):55-59.
215. Гаврилюк ОМ. Поширеність хронічного стеатогепатиту та вірусного гепатиту (на базі аналізу автопсійного матеріалу). Львівський медичний часопис. 2013 Бер;XIX(2):34-38.
216. 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.
217. Англо-український ілюстрований медичний словник Дорланда. У 2-х томах. Львів: Наутілус; 2002. 2688 с.
218. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 9th ed. New-York: Elsevier Saunder; 2015. 1450 p.
219. Струков АІ, Серов ВВ. Патологічна анатомія. 4-е вид.: Пер. з рос. Харків: Факт; 2004. 864 с.
220. Гаврилюк ОМ. Особливості популяції ЕрСАН+ гепатоцитів при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія. 2017;2:26-33.
221. Гаврилюк ОМ. Особливості дуктулярної реакції при алкогольному, неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С за результатами імуногістохімічного дослідження. Патологія. 2014;1:41-44.

222. Гаврилюк ЕМ. Экспрессия цитокератина 19 при хроническом стеатогепатите и вирусном гепатите С. Здравоохранение. 2014;7:39-42.
223. Гаврилюк ОМ. Особливості «дуктулярної реакції» при цирозі печінки, зумовленому неалкогольним стеатогепатитом та вірусним гепатитом С. Гепатологія. 2012;3:41-45.
224. Гаврилюк ОМ. Особливості експресії імуногістохімічних маркерів клітин печінки, задіяних у репаративних процесах, на біопсійному та автопсійному матеріалі. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2011;3:40-44.
225. Гаврилюк ОМ. Особливості експресії маркера активації фіброгенних клітин α -SMA на різних стадіях розвитку хронічного гепатиту С. Гепатологія. 2012;1:50-55.
226. 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):163-65.
227. Гаврилюк ОМ. Септальний та перисинусоїдний фіброз печінки при цирозах різного походження. Вісник проблем біології і медицини. 2011;2(3):203-205.
228. Гаврилюк ОМ. Морфологічні прояви фіброгенезу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія. 2013;1:31-39.
229. 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.
230. Гаврилюк ОМ. Особливості експресії судинного маркера CD34 при цирозах печінки різного походження. Гепатологія. 2011;3:45-50.
231. Гаврилюк ОМ. Особливості ангіогенезу при алкогольному, неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С за результатами імуногістохімічного дослідження. Морфологія. 2013;7(4):18-22.

232. Гаврилюк ОМ. Особливості ангиогенезу 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.
233. Gavrilyuk OM. Interrelation between fibrosis, angiogenesis and ductular reaction in progression of chronic steatohepatitis (alcoholic and non-alcoholic) and hepatitis C virus infection. *Pathologia*. 2014;2:66-69.
234. Бісярін ЮВ, Гаврилюк ОМ, Абрагамович МО. Ультраструктурні зміни синусоїдних ендотеліоцитів при хронічному стеатогепатиті та цирозі печінки. *Гепатологія*. 2011;4:29-34.
235. Гаврилюк ОМ. CD117-позитивні клітини/телоцити при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С: гістотопографічні та кількісні особливості *Морфологія*. 2016;30(4):18-22.
236. Гаврилюк ОМ. Особливості стромально-паренхіматозних співвідношень при цирозах печінки різної етіології. *Патологія*. 2011;8(1):83-86.
237. 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;3:103.
238. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості склерозу і дуктулярної реакції при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. В: Матеріали ІХ конгресу патологів України «Актуальні проблеми патології»; 2013 Тра 15-17; Луганськ. *Український медичний альманах*. 2013;16(3):167-168.
239. 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.

240. 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 Тра 19-20; Тернопіль; 2011. С. 8-9.
241. Gavrilyuk OM. Interrelation between fibrosis, angiogenesis and ductular reaction in progression of chronic steatohepatitis (alcoholic and non-alcoholic) and hepatitis C virus infection. *Pathologia*. 2014;2:66-69.
242. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості прогресування та регресії проявів тканинної реорганізації при хронічному неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. *Гепатологія*. 2016;1:39-47.
243. Гаврилюк ОМ. Особливості фіброзу, репарації та тканинної реорганізації печінки при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. *Вісник проблем біології і медицини*. 2013;2(1):283-87.
244. Гаврилюк ОМ, Буфан ММ. Патогістологічні прояви стеатозу при вірусному гепатиті С. *Практична медицина* 2013;19(1):102-107.
245. Гаврилюк ОМ. Морфологічні прояви стеатозу при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. *Гепатологія*. 2013;2:60-66.
246. Гаврилюк ОМ, Поспішіль ЮО. Морфологічні особливості ліпідних нагромаджень при неалкогольному та алкогольному стеатогепатиті. *Вісник проблем біології і медицини*. 2012;2(2):220-24.
247. 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.
248. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості клітинної інфільтрації тканини печінки при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. *Медицина транспорту України*. 2014;2:23-28.

249. 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.
250. 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.
251. 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.
252. Гаврилюк ІМ, Гаврилюк ОМ, Чикайло ІП, Нектегаєв ІО. 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.
253. Гаврилюк ОМ, Гаврилюк ІМ, Чикайло ІП. Морфологічні прояви пошкодження та загоєння при хронічному токсичному ураженні печінки в експерименті. Патологія. 2010;7(2):90-94.
254. Гаврилюк ОМ, Гаврилюк ІМ, Чикайло ІП. Вплив урсодезоксихолевої кислоти на морфо-функціональні зміни печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлоретаном. Гепатологія. 2009;4:54-58.
255. Чикайло ІП, Гаврилюк ІМ, Гаврилюк ОМ, Нектегаєв ІО. Вплив піоглару на морфофункціональний стан печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном. В: Матеріали ІУ Національного з'їзду фармакологів України; 2011 Гру 10-12; Київ. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2011;5:344-45.
256. Andronesu CI, Purcarea MR, Babes PA. Nonalcoholic fatty liver disease: epidemiology, pathogenesis and therapeutic implications. J Med Life. 2018 Jan-Mar;11(1):20-23.

257. Araújo AR, Rosso N, Bedogni G, Tiribelli C, Bellentani S. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: What we need in the future. *Liver Int.* 2018 Feb;38 Suppl 1:47-51.
258. Alexander M, Loomis AK, Fairburn-Beech J, van der Lei J, Ansell D, Pasqua A, et al. Real-world data reveal a diagnostic gap in non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med.* 2018 Aug 13;16(1):130.
259. Tomedi LE, Roeber J, Landen M. Alcohol Consumption and Chronic Liver Disease Mortality in New Mexico and the United States, 1999-2013. *Public Health Rep.* 2018. May/Jun;133(3):287-93.
260. Zakrzewska K, Stępień M, Szmulik K, Rosińska M. Hepatitis C in Poland in 2016. *Przegl Epidemiol.* 2018;72(2):157-67.
261. Papatheodoridis GV, Hatzakis A, Cholongitas E, Baptista-Leite R, Baskozos I, Chhatwal J, et al. Hepatitis C: The beginning of the end-key elements for successful European and national strategies to eliminate HCV in Europe. *J Viral Hepat.* 2018 Mar;25 Suppl 1:6-17.
262. Чепелевська ЛА, Дзюба ОМ, Кручаниця ВВ. Регіональні особливості смертності населення України від фіброзу і цирозу печінки та алкогольної хвороби печінки. *Україна. Здоров'я нації.* 2016;4/1(41):218-24.
263. Бочар О. М. Особливості перебігу та оптимізація терапії у пацієнтів з артеріальною гіпертензією, поєднаною з ожирінням та неалкогольною жировою хворобою печінки [дисертація]. Івано-Франківськ, Івано-Фр. нац. мед. ун-т; 2018. 22с.
264. Зайцев ИА, Потий ВВ, Кириенко ВТ. Эффективный скрининг как необходимое условие реализации программы ВОЗ по элиминации вирусных гепатитов в Украине. *Гепатологія.* 2018;39:6-11.
265. Шостакович-Корецька ЛР, Шевченко-Макаренко ОП, Штепа ОП, Кисельов ДА, Кузьменко ОВ. Поширеність HCV-інфекції в Дніпропетровському регіоні. *Гепатологія.* 2018 Трав;39:23-29.

266. Голубовская ОА. Международные усилия в преодолении эпидемии гепатита С и место Украины в глобальной стратегии ВОЗ по элиминации гепатитов в Европе. Гепатология. 2018 Груд;41:15-24.
267. Потій ВВ. Природний перебіг та можливі стратегії елімінації вірусного гепатиту С [дисертація]. Вінниця, Він. нац. мед. ун-т; 2018. 21 с.
268. Michalopoulos GK. Hepatostat: Liver regeneration and normal liver tissue maintenance. Hepatology. 2017 Apr;65(4):1384-92.
269. Rudnick DA, Davidson NO. Functional Relationships between Lipid Metabolism and Liver Regeneration. 2012;2012:549241.
270. Li HM, Ye ZH. Microenvironment of liver regeneration in liver cancer. Clin J Integr Med. 2017 Jul;23(7):555-60.
271. Liu M, Chen P. Proliferation-inhibiting pathways in liver regeneration (Review). Mol Med Rep. 2017 Jul;16(1):23-35
272. Kholodenko IV, Yarygin KN. Cellular Mechanisms of Liver Regeneration and Cell-Based Therapies of Liver Diseases. Biomed Res Int. 2017;2017:8910821.
273. Morell CM, Fiorotto R, Meroni M, Raizner A, Torsello B, Cadamuro M, et al. Notch signaling and progenitor/ductular reaction in steatohepatitis. PLoS One. 2017 Nov 15;12(11):e0187384.
274. Kaneko K. Analysis for Remodeling of Hepatic Tissue Structures in 3D During Regeneration. Methods Mol Biol. 2019;1905:187-98.
275. Mao SA, Glorioso JM, Nyberg SL. Liver regeneration. Transl Res. 2014 Apr;163(4):352-62.
276. Riehle KJ, Dan YY, Campbell JS, Fausto N. New concepts in liver regeneration. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Jan;26 Suppl 1:203-12.
277. Hugh M, Dolle L, The plastic cellular states of liver cells: are EpCAM and Lgr5 fit for purpose? Hepatology. 2016 Aug;64(2):652-62.
278. Vestentoft PS, Development and molecular composition of the hepatic progenitor cell niche. Dan Med J. 2013 Jul;60(5):1-17.

279. Tanimizu N, Mitaka T. Re-evaluation of liver stem/progenitor cells. *Organogenesis*. 2014 Apr-Jun;10(2):208-15.
280. Dollé L, Theise ND, Schmelzer E, Boulter L, Gires O, van Grunsven LA. EpCAM and the biology of hepatic stem/progenitor cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2015 Feb 15;308(4):G233-50.
281. Yoon SM, Gerasimidou D, Kuwahara R, Hytioglou P, Yoo JE, Park YN, et al. Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) marks hepatocytes newly derived from stem/progenitor cells in humans. *Hepatology*. 2011;53:964-73.
282. Zhang L, Theise N, Chua M, Reid LM. The stem cell niche of human livers: symmetry between development and regeneration. *Hepatology*. 2008;48:1598-607.
283. Stueck AE, Wanless I. Hepatocyte buds derived from progenitor cells repopulate regions of parenchymal extinction in human cirrhosis. *Hepatology*. 2015;61:1696-707.
284. Boulter L, Govaere O, Bird TG, Radulescu S, Ramachandran P, Pellicoro A et al. Macrophage-derived WNT opposes Notch signaling to specify hepatic progenitor cell fate in chronic liver disease. *Nat Med*. 2012;18(4), 572-79.
285. Lu H, Mo J, Yono Y, EpCAM is an endoderm-specific Wnt depressor that licenses hepatic development. *Dev Cell*. 2013;24:543-53.
286. Gebhardt R, Matz-Soya M. Liver zonation: novel aspects of its regulation and its impact on homeostasis. *World J Gastroenterol*. 2014;20:491-504.
287. Huang J, Rudnick DA, Elucidating the metabolic regulation of liver regeneration. *Am J Pathol*. 2014 Feb;184(2):309-21
288. Yamashita T, Ji J, Budhu A, Forgues M, Yang W, Wang HY, et al. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features. *Gastroenterology* 2009;136 (3):1012–24.
289. Carpino G, Renzi A, Onori P, Gaudio E. Role of hepatic progenitor cells in nonalcoholic fatty liver disease development: cellular cross-talks and molecular networks. *Int. J. Mol. Sci*. 2013, 14(10), 20112-30.

290. Fan H, Zhang H, Pascuzzi PE, Andrisani O. Hepatitis B virus X protein induces EpCAM expression via active DNA demethylation directed by RelA in complex with EZH2 and TET2. *Oncogene*. 2016 Feb 11;35(6):715-26.
291. Sekiya S, Suzuki A. Hepatocytes, rather than cholangiocytes, can be the major source of primitive ductules in the chronically injured mouse liver. *Am J Pathol*. 2014 May;184(5):1468-78
292. Dianat N, Dubois-Pot-Schneider H, Steichen C, Desterke C, Leclerc P. Generation of functional cholangiocyte-like cells from human pluripotent stem cells and HepaRG cells. *Hepatology*. 2014 Aug;60(2):700-14.
293. Morell CM, Fabris L, Strazzabosco M. Vascular biology of the biliary epithelium. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(1):26-32.
294. Kaur S, Siddiqui H, Bhat MH. Hepatic Progenitor Cells in Action: Liver Regeneration or Fibrosis? *Am J Pathol*. 2015 Sep;185(9):2342-50.
295. Kordes C, Sawitza I, Götze S. Beyond fibrosis: stellate cells as liver stem cells. *Z Gastroenterol*. 2015 Dec;53(12):1425-31.
296. Rodrigo-Torres D, Affò S, Coll M, Morales-Ibanez O, Millán C, Blaya D, et al. The biliary epithelium gives rise to liver progenitor cells. *Hepatology*. 2014;60(4): 1367-77.
297. Raven A, Lu WY, Man TY, Ferreira-Gonzalez S, O'Duibhir E. Cholangiocytes act as facultative liver stem cells during impaired hepatocyte regeneration. *Nature*. 2017 Jul 20;547(7663):350-54
298. Overi D, Carpino G, Cardinale V, Franchitto A, Safarikia S. Contribution of Resident Stem Cells to Liver and Biliary Tree Regeneration in Human Diseases. *Int J Mol Sci*. 2018 Sep 25;19(10). pii: E2917.
299. Cao W, Chen K, Bolkestein M, Yin Y, Verstegen MMA, Bijvelds MJC. Dynamics of Proliferative and Quiescent Stem Cells in Liver Homeostasis and Injury *Gastroenterology*. 2017 Oct;153(4):1133-47.
300. Han Y, Glaser S, Meng F, Francis H, Marzioni M, McDaniel K, et al. Recent advances in the morphological and functional heterogeneity of the biliary epithelium. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2013 May;238(5):549-65.

301. Govaere O, Cockell S, Van Haele M, Wouters J, Van Delm. High-throughput sequencing identifies aetiology-dependent differences in ductular reaction in human chronic liver disease. *J Pathol*. 2019 May;248(1):66-76.
302. Aguilar-Bravo B, Rodrigo-Torres D, Ariño S, Coll M, Pose E, Blaya N. Ductular reaction cells display an inflammatory profile and recruit neutrophils in alcoholic hepatitis. *Hepatology*. 2019 May;69(5):2180-95.
303. Miura Y, Matsui S, Miyata N, Harada K, Kikkawa Y, Ohmuraya M, et al. Differential expression of Lutheran/BCAM regulates biliary tissue remodeling in ductular reaction during liver regeneration. *Elife* 2018 Jul 30;7. pii: e36572.
304. Okada H, Yamada M, Kamimoto K, Kok CY, Kaneko K, Ema E. The transcription factor Klf5 is essential for intrahepatic biliary epithelial tissue remodeling after cholestatic liver injury. *J Biol Chem*. 2018 Apr 27;293(17):6214-29.
305. Chen Y, Guldiken N, Spurny M, Mohammed HH, Haybaeck J, Pollheimer MJ, et al. Loss of keratin 19 favours the development of cholestatic liver disease through decreased ductular reaction *J Pathol*. 2015 Nov;237(3):343-54.
306. Guldiken N, Kobazi Ensari G, Lahiri P, Couchy G. Keratin 23 is a stress-inducible marker of mouse and human ductular reaction in liver disease. *J Hepatol*. 2016 Sep;65(3):552-9.
307. Kok CY, Miyajima A, Itoh T. Adaptive remodeling of the biliary tree: the essence of liver progenitor cell expansion. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2015 Jul;22(7):546-50.
308. Verdonk RC, Lozano MF, van den Berg AP, Gouw AS. Bile ductal injury and ductular reaction are frequent phenomena with different significance in autoimmune hepatitis. *Liver Int*. 2016 Sep;36(9):1362-9.
309. Fabris L, Spirli C, Cadamuro M, Fiorotto R, Strazzabosco M. Emerging concepts in biliary repair and fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017 Aug 1;313(2):G102-G116

310. O'Hara SP, Tabibian JH, Splinter PL, LaRusso NF. The dynamic biliary epithelia: molecules, pathways, and disease. *J Hepatol*. 2013 Mar;58(3):575-82.
311. Carpino G, Pastori D, Baratta F, Overi D, Labbadia G, Polimeni L. PNPLA3 variant and portal/periportal histological pattern in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a possible role for oxidative stress. *Sci Rep*. 2017 Nov 17;7(1):15756.
312. Zhao L, Westerhoff M, Pai RK, Choi WT, Gao ZH, Hart J. Centrilobular ductular reaction correlates with fibrosis stage and fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *Mod Pathol*. 2018 Jan;31(1):150-59.
313. Rókusz A, Veres D, Szücs A, Bugyik E, Mózes M, Paku S, et al. Ductular reaction correlates with fibrogenesis but does not contribute to liver regeneration in experimental fibrosis models. *PLoS One*. 2017 Apr 26;12(4):e0176518.
314. Zagory JA, Dietz W, Park A, Fenlon M, Xu J, Utley S, et al. Notch signaling promotes ductular reactions in biliary atresia. *J Surg Res*. 2017 Jul;215:250-56.
315. Manavski Y, Boon AR, Dimmeler S. Vascular Niche Controls Organ Regeneration. *Circ Res*. 2014;114:1077-79.
316. Garbuzenko DV. Morphofunctional rearrangement of the hepatic vasculature in the pathogenesis of portal hypertension in liver cirrhosis. *Ter Arch*. 2014;86(2):90-95.
317. Morelli CM, Fabris L, Strazzabosco M. Vascular biology of the biliary epithelium. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Aug;28 Suppl 1:26-32
318. Kostallari E, Shah VH. Angiocrine signaling in the hepatic sinusoids in health and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016 Aug 1;311(2):G246-51
319. Marrone G, Shah VH, Gracia-Sancho J. Sinusoidal communication in liver fibrosis and regeneration. *J Hepatol*. 2016 Sep;65(3):608-17.

320. Lee CH, Ainechi S, Dresser K, Kurian EM. Central portalization correlates with fibrosis but not with risk factors for nonalcoholic steatohepatitis in steatotic chronic hepatitis. *Int J Hepatol*. 2014 Nov;2014:329297.
321. Gill RM, Belt P, Wilson L. Centrizonal arteries and microvessels in non-alcoholic steatohepatitis. *Am J Surg Pathol*. 2011Nov;35(9):1400-404.
322. Huebert RC, Shah VH. Sinusoidal endothelial cells direct traffic at the intersection of regeneration and fibrosis. *Hepatology*. 2014 Jan;60(2):754-56.
323. Kantari-Mimoun C, Castells M, Klose R, Meinecke AK. Resolution of liver fibrosis requires myeloid cell-driven sinusoidal angiogenesis. *Hepatology*. 2015 Jun;61(6):2042-55.
324. Yang L, Kwon J, Popov Y, Gajdos GB, Ordog T, Brekken K. Vascular endothelial growth factor promotes fibrosis resolution and repair in mice. *Gastroenerology*. 2014 May;146(5):1339-50.
325. Ding BS, Cao Z, Lis R, Nolan DJ, Guo P, Simons M, et al. Divergent angiocrine signals from vascular niche balance liver regeneration and fibrosis. *Nature*. 2014 Jan 2;505(7481):97-102.
326. DeLeve LD. Liver sinusoidal endothelial cells and liver regeneration. *J Clin Invest*. 2013 May;123(5):1861-6
327. Park S, Kim JW, Kim JH, Lim CW, Kim B. Differential Roles of Angiogenesis in the Induction of Fibrogenesis and the Resolution of Fibrosis in Liver. *Biol Pharm Bull*. 2015;38(7):980-5.
328. Hu J, Srivastava K, Wieland M, Runge A, Mogler C, Besemfelder E. et al. Endothelial Cell-Derived Angiopoietin-2 Controls Liver Regeneration as a Spatiotemporal Rheostat. *Science*. 2014 Jan 24;343(6169):416-9.
329. Xing Y, Zhao T, Gao X, Wu Y. Liver X receptor α is essential for the capillarization of liver sinusoidal endothelial cells in liverinjury. *Sci Rep*. 2016 Aug;18(6):21309.
330. Lepreux S, Desmouliere A. Human liver myofibroblasts during development and diseases with a focus on portal (myo)fibroblasts. *Front Physiol*. 2015 Jul;6:173-81.

331. Wells RG. The portal fibroblast: not just a poor man's stellate cell. *Gastroenterology*. 2014 Jan;47:41-47.
332. Kocabayoglu P, Friedman SL. Cellular basis of hepatic fibrosis and its role in inflammation and cancer. *Front Biosc*. 2013;1(5):217-30.
333. Friedman SL. Hepatic Fibrosis: Emerging Therapies. *Dig Dis*. 2015;33(4):504-7.
334. Elpek GÖ. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7260-76.
335. Seki E, Brenner DA. Recent advancement of molecular mechanisms of liver fibrosis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2015;22(7):512-18.
336. Novo E, Cannito S, Paternostro C, Bocca C, Miglietta A, Parola M. Cellular and molecular mechanisms in liver fibrogenesis. *Arch Biochem Biophys*. 2014 Apr 15;548:20-37.
337. Weiskirchen R, Weiskirchen S, Tacke F. Recent advances in understanding liver fibrosis: bridging basic science and individualized treatment concepts. *F1000Res*. 2018 Jun 27;7:921.
338. Baghy K, Tátrai P, Regős E, Kovalszky I. Proteoglycans in liver cancer *World J Gastroenterol*. 2016 Jan 7; 22(1): 379–93.
339. Halper J. Proteoglycans and diseases of soft tissues. *Adv Exp Med Biol*. 2014;802: 49-58.
340. Tanimizu N, Kikkawa Y, Mitaka T, Miyajima A. α 1- and α 5-containing laminins regulate the development of bile ducts via β 1 integrin signals. *J Biol Chem*. 2012;287(34):28586-97.
341. Carvalho SN, Lira DC, Oliveira GP, Thole AA, Stumbo AC, Caetano CE. Decreased collagen types I and IV, laminin, CK-19 and α -SMA expression after bone marrow cell transplantation in rats with liver fibrosis *Histochem Cell Biol*. 2010 Nov;134(5):493-502.
342. Lorenzini S, Bird TG, Boulter L, Bellamy C, Samuel K, Aucott R, et al. Characterisation of a stereotypical cellular and extracellular adult liver progenitor cell niche in rodents and diseased human liver. *Gut*. 2010 May;59(5):645-54.

343. Kallis YN, Robson AJ, Fallowfield JA, Thomas HC, Alison MR, Wright NA, et al. Remodelling of extracellular matrix is a requirement for the hepatic progenitor cell response. *Gut*. 2011 Apr;60(4):525-33.
344. Pellicoro A, Aucott RL, Ramachandran P, Robson AJ, Fallowfield JA, Snowdon A, et al. Elastin accumulation is regulated at the level of degradation by macrophage metalloelastase (MMP-12) during experimental liver fibrosis. *Hepatology*. 2012 Jun;55(6):1965-75.
345. Mak KM, Yi C, Ping M, Lee DJ. Type V Collagen in Health, Disease and Fibrosis. *Anat Rec (Hoboken)*. 2016 Jul;299(5):613-29.
346. Naba A, Clauser KR, Ding H, Whittaker CA, Carr SA, Hynes RO. The extracellular matrix: tools and insights for the ‘omics’ era. *Matrix Biol*. 2016 Jan;49:10-24.
347. Adhyatmika A, Putri KS, Beljaars L, Melgert BN. The Elusive Antifibrotic Macrophage. *Front Med (Lausanne)*. 2015 Nov;2:81-92.
348. Vannella KM, Wynn TA. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. *Annu Rev Physiol*. 2017 Feb 10;79:593-617.
349. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*. 2016 Mar 15;44(3):450-62.
350. Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol*. 2014 May;60(5):1090-6.
351. Das A, Sinha M, Datta S, Abas M, Chaffee S, Sen CK. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. *Am J Pathol*. 2015 Oct;185(10):2596-606.
352. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014 Feb;41(1):14-20.
353. Zhou D, Yang K, Chen L, Zhang W, Xu Z, Jian K, et al. Promising landscape for regulating macrophage polarization: epigenetic viewpoint. *Oncotarget*. 2017 Apr 11;8(34):57693-706.

354. Zhou D, Chen L, Yang K, Jiang H, Xu W, Luan J. SOCS molecules: the growing players in macrophage polarization and function. *Oncotarget*. 2017 Aug 4;8(36):60710-22.
355. Li C, Xu MM, Wang K, Adler AJ, Vella AT, Zhou B. Macrophage polarization and meta-inflammation. *Transl Res*. 2018 Jan;191:29-44.
356. Krenkel O, Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol*. 2017 May;17(5):306-21.
357. Schattenberg JM, Lee MS. Extracellular vesicles as messengers between hepatocytes and macrophages in alcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2016 Jul;150(4):815-18.
358. Sasaki R, Devhare PV, Steele R. Hepatitis C virus-induced CCL5 secretion from macrophages activates hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2017;66(3):746-57.
359. Venna VK, Li H, Wang R. Alcohol stimulates macrophage activation through caspase dependent hepatocyte derived release of CD40L containing extracellular vesicles. *J Hepatol*. 2016;64:651-60.
360. Davies L.C., Taylor P.R. Tissue-resident macrophages: then and now. *Immunology*. 2015 Apr;144(4):541-8.
361. Amit I, Winter DR, Jung S. The role of the local environment and epigenetics in shaping macrophage identity and their effect on tissue homeostasis. *Nat Immunol*. 2016 Jan;17(1):18-25.
362. Hepatic Telocytes. Y. Zhao, X. Chen, F. Wang[et al. *Adv Exp Med Biol*. 2016 Nov;913:425-32.
363. Ibba-Manneschi L, Rosa I, Manetti M. Telocyte implications in human pathology: An overview. *Semin Cell Dev Biol* 2016 Jul;55:62-9.
364. El Maadawi ZM. A Tale of Two Cells: Telocyte and Stem Cell Unique Relationship. *Adv Exp Med Biol*. 2016 Nov;913:359-76.
365. Wang J, Jin M, Ma WH. The History of Telocyte Discovery and Understanding. *Adv Exp Med Biol*. 2016 Nov;913:1-21.
366. Fu S, Wang F, Cao Y, Huang Q, Xiao J, Yang C, et al. Telocytes in human liver fibrosis. *J Cell Mol Med* 2015 Mar;19(3):676-83.

367. Cretoiu D, Xu J, Xiao J. Telocytes and Their Extracellular Vesicles- Evidence and Hypotheses. *Int J Mol Sci.* 2016 Aug;17(8):1322.
368. Liu J, Cao Y, Song Y, Huang Q, Wang F, Yang W, et al. Telocytes in Liver. *Curr Stem Cell Re Ther* 2016;11(5):415-9.
369. Cretoiu SM, Popescu LM. Telocytes revisited. *Biomol Concepts* 2014 Oct;5(5):353-69.
370. Xiao J, Wang F, Liu Z, Yang C. Telocytes in liver: electron microscopic and immunofluorescent evidence. *J Cell Mol Med* 2013 Dec;17(12):1537-42.
371. Williams MJ, Clouston AD, Forbes SJ. Links between hepatic fibrosis, ductular reaction, and progenitor cell expansion. *Gastroenterology.* 2014 Feb;146(2):349-56.
372. Kitade M, Kaji K, Yoshiji H. Relationship between hepatic progenitor cell-mediated liver regeneration and non-parenchymal cells. *Hepatol Res.* 2016 Nov;46(12):1187-93.
373. Helal TS, Ehsan NA, Radwan NA, Abdelsameea E. Relationship between hepatic progenitor cells and stellate cells in chronic hepatitis C genotype 4. *APMIS.* 2018 Jan;126(1):14-20
374. Wanless IR, Nakashima E, Sherman M. Regression of human cirrhosis. Morphologic features and the genesis of incomplete septal cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Nov;124(11):1585-6;
375. Hansen T, Christensen E. Cirrhosis and liver fibrosis are potentially reversible. *Ugeskr Laequer.* 2015 Dec;177(48):06150527.
376. Van der Meer AJ, Sonneveld M, Schouten JN, Janssen HL. Reversibility of hepatic fibrosis. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2014;158:6790.
377. Sohrabpour AA, Mohamadnejad M, Malekzadeh R. Review article: the reversibility of cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;36(9):824-32.
378. Ramachandran P, Iredale JP. Liver fibrosis: a bidirectional model of fibrogenesis and resolution. *QJM.* 2012 Sep;105(9):813-7
379. Bedossa P. Reversibility of hepatitis B virus cirrhosis after therapy: who and why? *Liver Int.* 2015 Jan;35 Suppl 1:78-81.

380. Brown A, Goodman Z. Hepatitis B-associated fibrosis and fibrosis/cirrhosis regression with nucleoside and nucleotide analogs. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012 Apr;6(2):187-98.
381. Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2012 Jan;5(1):26-34.
382. Saffioti F, Pinzani M. Development and Regression of Cirrhosis. *Dig Dis*. 2016;34(4):374-81.
383. Priester S, Wise C, Glaser SS. Involvement of cholangiocyte proliferation in biliary fibrosis. *World J Gastroenterol Pathophysiol*. 2010 Feb;1(2):30-7.
384. Glaser SS, Gaudio E, Miller T, Alvaro D, Alpini G. Cholangiocyte proliferation and liver fibrosis. *Expert Rev Mol Med*. 2009 Feb 25;11:e7.
385. Cartwright BR, Binns DD, Hilton CL, Han S, Gao Q, Goodman JM, et al. Seipin performs dissectible functions in promoting lipid droplet biogenesis and regulating droplet morphology. *Mol Biol Cell*. 2015 Feb 15;26(4):726-39.
386. Allaire M, Gilgenkrantz H. The impact of steatosis on liver regeneration. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2018. Nov 21. pii: /j/hmbci.ahead-of-print/hmbci-2018-0050/hmbci-2018-0050.xml.
387. Collin de l'Hortet A, Zerrad-Saadi A, Prip-Buus C, Fauveau V, Helmy N, Zioli M, et al. GH administration rescues fatty liver regeneration impairment by restoring GH/EGFR pathway deficiency 2014 Jul;155(7):2545-54.
388. Loizides-Mangold U, Clément S, Alfonso-Garcia A, Branche E, Conzelmann S. HCV 3a Core Protein Increases Lipid Droplet Cholesteryl Ester Content via a Mechanism Dependent on Sphingolipid Biosynthesis *PLoS One*. 2014 Dec 18;9(12):e115309.
389. Carr RM, Peralta G, Yin X, Ahima RS. Absence of perilipin 2 prevents hepatic steatosis, glucose intolerance and ceramide accumulation in alcohol-fed. *PLoS One*. 2014 May 15;9(5):e97118.
390. Pawella LM, Hashani M, Eiteneuer E, Renner M, Bartenschlager R, Schirmacher P, et al. Perilipin discerns chronic from acute hepatocellular steatosis. *J Hepatol*. 2014 Mar;60(3):633-42.

391. Straub BK, Gyoengyoesi B, Koenig M, Hashani M, Pawella LM. Adipophilin/perilipin-2 as a lipid droplet-specific marker for metabolically active cells and diseases associated with metabolic dysregulation. *Histopathology*. 2013 Mar;62(4):617-31.
392. Straub BK, Stoeffel P, Heid H, Zimbelmann R, Schirmacher P. Differential pattern of lipid droplet-associated proteins and de novo perilipin expression in hepatocyte steatogenesis. *Hepatology*. 2008 Jun;47(6):1936-46.
393. Okumura T. Role of lipid droplet proteins in liver steatosis. *J Physiol Biochem*. 2011 Dec;67(4):629-36.
394. Matsusue K. Novel mechanism for hepatic lipid accumulation: a physiological role for hepatic PPAR γ -fsp27 signal. *Yakuquaku Zasshi*. 2012 Jun;132(7):823-29.
395. Fujii H, Ikura Y, Arimoto J, Sugioka K, Iezzoni JC, Park SH, et al. Expression of perilipin and adipophilin in nonalcoholic fatty liver disease; relevance to oxidative injury and hepatocyte ballooning. *J Atheroscler Thromb*. 2009;16(6):893-901.
396. Trauner M, Claudel T, Fickert P, Moustafa T, Wagner M. Bile acids as regulators of hepatic lipid and glucose metabolism. *Dig Dis*. 2010;28(1):220-4.
397. Brenner C, Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation. *J Hepatol*. 2013 Sep;59(3):583-94.
398. Qin SY, Lu DH, Guo XY, Luo W, Hu BL, Huang XL, et al. A deleterious role for Th9/IL-9 in hepatic fibrogenesis. *Sci Rep*. 2016 Jan 5;6:18694-703.
399. Lu DH, Guo XY, Qin SY, Luo W, Huang XL, Chen M, et al. Interleukin-22 ameliorates liver fibrogenesis by attenuating hepatic stellate cell activation and downregulating the levels of inflammatory cytokines. *World J Gastroenterol*. 2015 Feb 7;21(5):1531-45.
400. Elliott MR, Koster KM, Murphy PS. Efferocytosis Signaling in the Regulation of Macrophage Inflammatory Responses. *J Immunol*. 2017 Feb 15;198(4):1387-94.

401. Köhn-Gaone J, Dwyer BJ, Grzelak CA, Miller G, Shackel NA, Ramm GA. Divergent Inflammatory, Fibrogenic, and Liver Progenitor Cell Dynamics in Two Common Mouse Models of Chronic Liver Injury. *Am J Pathol* 186(7): 1762-74.
402. Futosi K, Fodor S, Mócsai A. Neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. *Int Immunopharmacol*. 2013 Nov;17(3):638-50.
403. Futosi K, Fodor S, Mócsai A. Reprint of Neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. *Int Immunopharmacol*. 2013 Dec;17(4): 1185-97.
404. Vespasiani-Gentilucci U, Carotti S, Perrone G, Mazzei C, Galati G, Onetti-Muda A, et al. Hepatic toll-like receptor 4 expression is associated with portal inflammation and fibrosis in patients with NAFLD. *Liver Int*. 2015 Feb;35(2):569-81.
405. Mann JP, De Vito R, Mosca A, Alisi A, Armstrong MJ, Raponi M. Portal inflammation is independently associated with fibrosis and metabolic syndrome in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2016 Mar;63(3):745-53.
406. Ceni E, Mello T, Galli A. Pathogenesis of alcoholic liver disease: Role of oxidative metabolism. *World J Gastroenterol*. 2014 Dec 21;20(47):17756-72.
407. Міщук ВГ, Скоропад КМ. Рівень колагену IV типу і непрямих маркерів фіброзу у хворих з поєднанням хронічного алкогольного панкреатиту та цирозу печінки класу А та В за класифікацією Чайльда - П'ю. *Сучасна гастроентерологія*. 2015 Черв;3(83):15-21.
408. Самогальська ОЄ, Лобанець НВ, Сидорівський АМ, Куліковський ЛЛ. Клініко-гемодинамічні аспекти алкогольного цирозу печінки. *Сучасна гастроентерологія*. 2015 Лют;2(82):37-41.
409. Louvet A, Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Apr;12(4):231-42.
410. Fujii H, Kawada N. Fibrogenesis in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov;20(25):8048-54.

411. McDaniel K, Herrera L, Zhou T, Francis H, Han Y, Levine P, et al. The functional role of microRNAs in alcoholic liver injury. *J Cell Mol Med*. 2014 Feb;18(2):197-207.
412. Bruha R, Dvorak K, Petrtyl J. Alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2012 Mar;4(3):81-90.
413. Kim W, Kim DJ. Severe alcoholic hepatitis-current concepts, diagnosis and treatment options. *World J Gastroenterol*. 2014 Oct;6(10):688-95.
414. Levine P, McDaniel K, Francis H, Kennedy L, Alpini G, Meng F. Molecular mechanisms of stem cell therapy in alcoholic liver disease. *Dig Liver Dis*. 2014 May;46(5):391-7.
415. Altamirano J, Miquel R, Katoonizadeh A, Abraldes JG, Bruguera M, Bañares R, et al. A histologic scoring system for prognosis of patients with alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*. 2014 May;146(5):1156-8.
416. Sakhuja P. Pathology of alcoholic liver disease, can it be differentiated from nonalcoholic steatohepatitis? *World J Gastroenterol*. 2014 Nov;20(44):16474-479.
417. Cerović I, Mladenović D, Ješić R, Naumović T, Branković M, Vučević. Alcoholic liver disease/nonalcoholic fatty liver disease index: distinguishing alcoholic from nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Aug;25(8):899-904.
418. Torruellas C, French SW, Medici V. Diagnosis of alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Sep;20(33):11684-99.
419. Wang ZG, Dou XB, Zhou ZX, Song ZY. Adipose tissue-liver axis in alcoholic liver disease. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2016 Feb;7(1):17-26.
420. Stickel F, Datz C, Hampe J, Bataller R. Pathophysiology and management of alcoholic liver disease: update 2016. *Gut Liver*. 2017 Mar 15;11(2):173-88.
421. Castera L, Chan HL, Arrese M, Afdhal N, Bedossa P. EASL-ALEH Clinical practice guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*. 2015 Jul;63(1):237-64.

422. Shoreibah M, Raff E, Bloomer J, Kakati D, Rasheed K, Kuo YF, et al. Alcoholic liver disease presents at advanced stage and progresses faster compared to non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol*. 2016 Mar-Apr;15(2):183-9.
423. Ikura Y. Transitions of histopathologic criteria for diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease during the last three decades. *World J Gastroenterol*. 2014 Dec;6(12):894-900.
424. Чернова ВМ. Багатофакторність патогенезу неалкогольної жирової хвороби печінки. *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Груд;6:7-11.
425. Фадєєнко ГД, Кушнір ІЕ, Нікіфорова ЯВ. Діагностика неалкогольної жирової хвороби печінки: можливості і перспективи. *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Груд;6:11-23.
426. Соломенцева ТА. Неалкогольна жирова хвороба печінки та метаболічні порушення: що первинно? *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Груд;6:51-57.
427. Просоленко КО, Молодан ВІ, Ситник КО. Вплив неалкогольної жирової хвороби печінки на стан ниркової функції у пацієнтів з гіпертонічною хворобою. *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Черв;3(95):18-24.
428. Колеснікова ОВ. Клінічні дилеми неалкогольної і алкогольної хвороби печінки. *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Черв;3(95):30-40.
429. Шипулін ВП, Неверовський АВ. Метаболічний синдром: стан проблеми та підходи до терапії. *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Лют;2(94):61-65.
430. Свінціцький АС, Соловійова ГА, Динник НВ. Неінвазивна діагностика ступеня стеатозу та фіброзу печінки при неалкогольній жировій хворобі печінки. *Сучасна гастроентерологія*. 2016 Лют;2(88):106-13.
431. Ткач СМ, Чеверда ТЛ, Казнодий АВ. Роль кишечно-печеночной ассоциации и кишечной микробиоты в развитии неалкогольной жировой болезни печени. *Сучасна гастроентерологія*. 2015 Жовт;5(85):96-109.
432. Kurinna OH. Chronic systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Сучасна гастроентерологія*. 2015 Сер;4(84):7-14.

433. Liang W, Menke AL, Driessen A, Koek GH, Lindeman JH, Stoop R, et al. Establishment of a General NAFLD Scoring System for Rodent Models and Comparison to Human Liver Pathology. *Plos One*. 2014 Dec 23;9(12):e115922.
434. Meli R, Raso GS, Calignano A. Role of Innate Immune Response in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Metabolic Complications and Therapeutic Tools. *Front Immunol*. 2014 Apr;5:177-91.
435. Kleiner D.E., Brunt E.M. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathologic Patterns and Biopsy Evaluation in Clinical Research. *Semin Liver Dis*. 2012 Feb;32(1):3-13.
436. Nalbantoglu IL, Brunt EM. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul;20(27):9026-37.
437. Yeh MM, Brunt EM. Pathological features of fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2014 Oct;147(4):754-64.
438. Gadd VL, Skoien R, Powell EE, Fagan KJ, Winterford C, Horsfall L, et al. The portal inflammatory infiltrate and ductular reaction in human nonalcoholic fatty liver disease. 2014 Apr;59(4):1393-405.
439. Povero D, Feldstein AE. Novel Molecular Mechanisms in the Development of Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Diabetes Metab J*. 2016 Feb;40(1):1-11.
440. Takahashi Y, Fukusato T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov;20(42):15539-48.
441. Higuera-de la Tijera F, Servín-Caamaño AI. Pathophysiological mechanisms involved in non-alcoholic steatohepatitis and novel potential therapeutic targets. *World J Hepatol*. 2015 Oct;7(10):1297-301.
442. Santiago-Rolón A, Purcell D, Rosado K, Toro DH, Mosca A, Fintini D, et al. A Comparison of Brunt's Criteria, the Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Activity Score (NAS), and a Proposed NAS Scoring that Includes Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Staging. *P R Heath Sci J*. 2015 Dec;34(4):189-94.

443. Carotti S, Vespasiani-Gentilucci U, Perrone G, Picardi A, Morini S. Portal inflammation during NAFLD is frequent and associated with the early phases of putative hepatic progenitor cell activation. *J Clin Pathol*. 2015 Nov;68(11):883-90.
444. Du Plessis J, van Pelt J, Korf H, Mathieu C, van der Naylor S, van der Merwe T, et al. Association of Adipose Tissue Inflammation With Histologic Severity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015 Sep;149(3):635-48.
445. Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, Yeh MM, Johnson CD, Van Rooyen. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice. *J Hepatol*. 2017 May;66(5):1037-46.
446. Xiao J, Tipoe GL. Inflammasomes in non-alcoholic fatty liver disease. *Front Biosci*. 2016 Jan;1(21):683-95.
447. Cannito S, Morello E, Bocca C, Foglia B, Benetti E, Novo E, et al. Microvesicles released from fat-laden cells promote activation of hepatocellular NLRP3 inflammasome: A pro-inflammatory link between lipotoxicity and non-alcoholic steatohepatitis. *PLoS One*. 2017 Mar 1;12(3):e0172575.
448. Boland ML, Oldham S, Boland BB, Will S, Lapointe JM. Nonalcoholic steatohepatitis severity is defined by a failure in compensatory antioxidant capacity in the setting of mitochondrial dysfunction. *World J Gastroenterol*. 2018 Apr 28;24(16):1748-65.
449. Neuman MG, French SW, Zakhari S, Malnick S, Seitz HK. Alcohol, microbiome, life style influence alcohol and non-alcoholic organ damage. *Exp Mol Pathol*. 2017 Feb;102(1):162-80.
450. Brunt EM, Wong VW, Nobili V, Day CP, Sookoian S, Maher JJ. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Dec 17;1:15080.
451. Carpino G, Pastori D, Baratta F, Overi D, Labbadia G, Polimeni L, et al. PNPLA3 variant and portal/periportal histological pattern in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a possible role for oxidative stress. *Sci Rep*. 2017 Nov 17;7(1):15756.

452. Kim MY. The Progression of Liver Fibrosis in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Korean J Gastroenterol*. 2017 Dec;69(6):341-47.
453. Takahashi Y, Fukusato T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov;20(42):15539-48.
454. Kleiner DE, Makhlouf HR. Histology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in Adults and Children. *Clin Liver Dis*. 2016 Feb;20(2):293-312.
455. Brown GT, Kleiner DE. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Metabolism*. 2016 Aug;65(8):1080-86.
456. Yeh MM, Brunt EM. Pathological features of fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2014 Apr;147(4):754-64.
457. Nalbantoglu IL, Brunt EM. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul;20(27):9026-37.
458. Lin J, Wu JF, Zhang Q, Zhang HW, Cao GW. Virus-related liver cirrhosis: molecular basis and therapeutic options. *World J Gastroenterol*. 2014 Jun;20(21):6457-69.
459. Рябоконь ВВ, Туманський ВО, Рябоконь ЮЮ, Фурик ОО. Патогенетична роль генотипу HCV та інсулінорезистентності в розвитку стеатозу та фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С. *Гепатологія*. 2016 Жов;34:21-30.
460. Дубинська ГМ, Сизова ЛМ, Коваль ТІ, Ізюмська ОМ. Вплив поліморфізму генів TLR4 та TLR7 на швидкість прогресування фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С. *Гепатологія*. 2016 Трав;31:23-31.
461. Янченко ВІ, Гомоляко ІВ, Швадчин ІО, Клочкова НЄ. Дослідження зв'язків між морфологічними характеристиками печінки, генотипами ВГС і вірусним навантаженням у хворих на хронічний гепатит С. *Гепатологія*. 2015 Вер;29: 14-22.

462. Козько ВМ, Анциферова НВ, Соломенник ГО. Діагностика фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С: сучасний стан проблеми та перспективи. Гепатологія. 2015 Лют;27:21-32.
463. Муртузаоглы СА, Голубовская ОА, Буггиш П. Расширяя возможности лечения гепатита. Здоров'я України. 2017 Сер;3:14-15.
464. Yu ML, Chuang WL. Treatment of chronic hepatitis C in Asia: when East meets West. J Gastroenterol Hepatol. 2009 Mar;24(3):336-45.
465. Grassi G, Di Caprio G, Fimia GM, Ippolito G, Tripodi M, Alonzi T, et al. Hepatitis C virus relies on lipoproteins for its life cycle. World J Gastroenterol. 2016 Feb 14;22(6):1953-65.
466. Cacoub P, Comarmond C, Domont F, Savey L, Desbois AC, Saadoun D, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. Ther Adv Infect Dis. 2016 Feb;3(1):3-14.
467. Petrescu CF, Petrescu OI, Taisescu CI. Histopathological aspects described in patients with chronic hepatitis. J Morphol Embriol. 2015 Feb;56(2):439-444.
468. Ansaldi F, Orsi A, Sticchi L, Bruzzzone B, Icardi G. Hepatitis C virus in the new era: perspectives in epidemiology, prevention, diagnostics and predictors of response to therapy. World J Gastroenterol. 2014 Aug 7;20(29):9633-52.
469. Gordon SC, Trudeau S, Li J, Zhou Y, Rupp LB, Holmberg SD, et al. Race, Age, and Geography Impact Hepatitis C Genotype Distribution in the United. J Clin Gastroenterol. 2019 Jan;53(1):40-50.
470. Molyvdas A, Georgopoulou U, Lazaridis N, Hytioglou P, Dimitriadis A, Foka P, et al. The role of the NLRP3 inflammasome and the activation of IL-1 β in the pathogenesis of chronic viral hepatic inflammation. Cytokine. 2018 Oct;110:389-96.
471. Poortahmasebi V, Emami Aleagha MS, Amiri M, Qorbani M, Farahmand M, Asayesh H, et al. Prevalence of hepatic steatosis and associated factors in Iranian patients with chronic hepatitis C. Med J Islam Repub Iran 2016 (7 February). Vol. 30:322.

472. Nouredin M, Wong MM, Todo T, Lu SC, Sanyal AJ, Mena EA. Fatty liver in hepatitis C patients post-sustained virological response with direct-acting antivirals. *World J Gastroenterol*. 2018 Mar;24(11):1269-77.
473. Gallotta A, Paneghetti L, Mrázová V. Development of a novel diagnostic algorithm to predict NASH in HCV-positive patients. *Int J Biol Markers*. 2018 Feb;33(2):231-36.
474. Muga R, Sanvisens A, Jarrin I, Fuster D, Bolao F, Tor J, et al. Hepatitis C infection substantially reduces survival of alcohol-dependent patients. *Clin Epidemiol*. 2018 Aug 1;10:897-905.
475. Novo-Veleiro I, Alvela-Suárez L, Chamorro AJ. Alcoholic liver disease and hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2016 Jan 28; 22(4): 1411–20.
476. Szabo G, Wands JR, Eken A, Osna NA, Weinman SA, Machida K, et al. Alcohol and hepatitis C virus--interactions in immune dysfunctions and liver damage. *Alcoh Clin Exp.Res*. 2010 Oct;34(10):1675-86.
477. Біловол ОМ, Боброннікова ЛР. Предиктори ранньої діагностики фіброзу при поєднаному перебігу хронічного гепатиту С та неалкогольної жирової хвороби печінки. *Сучасна гастроентерологія*. 2017 Вер;3(95):6-11.
478. Самогальська ОЄ, Мерецький ВМ, Баб'як ОВ. Особливості перебігу поєднаної алкогольної та неалкогольної жирової хвороби печінки. *Гепатологія*. 2015 Січ;27:57-64.
479. Гаврилюк ОМ, Шип ТВ. Препечінкова портальна гіпертензія (опис випадку). Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії. В: Матеріали науково-практичної конференції; 2017 Квіт 26-27; Київ; Київ; 2017. С. 23-25.
480. 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.
481. 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.
482. 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.
483. Гаврилюк ОМ. Основні патоморфологічні критерії диференційної діагностики вірусного гепатиту С, алкогольного і неалкогольного стеатогепатитів на етапі циротичної трансформації, наукова робота. Свідectvo про реєстрацію авторського права на твір № 73932. 2017 Вер 25.
484. Chen YS, Liu HM, Lee TY. Ursodeoxycholic Acid Regulates Hepatic Energy Homeostasis and White Adipose Tissue Macrophages Polarization in Leptin-Deficiency Obese Mice. *Cells*. 2019 Aug;8(3):pii: E253.
485. Steinacher D, Claudel T, Trauner M. Therapeutic Mechanisms of Bile Acids and Nor-Ursodeoxycholic Acid in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis*. 2017 Mar;35(3):282-87.
486. Mueller M, Thorell A, Claudel T. Ursodeoxycholic acid exerts farnesoid X receptor-antagonistic effects on bile acid and lipid metabolism in morbid obesity. *J Hepatol*. 2015 Jun;62(6):1398-404.
487. Fujita K, Iguchi Y, Une M, Watanabe S. Ursodeoxycholic Acid Suppresses Lipogenesis in Mouse Liver: Possible Role of the Decrease in β -Muricholic Acid, a Farnesoid X Receptor Antagonist. *Lipids*. 2017 Apr;52(4):335-44.
488. Ding L, Yang L, Wang Z, Huang W. Bile acid nuclear receptor FXR and digestive system diseases. *Acta Pharm Sin B*. 2015 Mar;5(2):135-44.
489. Manley S, Ding W. Role of farnesoid X receptor and bile acids in alcoholic liver disease. *Acta Pharm Sin B*. 2015 Mar;5(2):158-67.
490. Neuschwander-Tetri BA. Pharmacologic Management of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2018 Oct;14(10):582-89.

491. Sayiner M, Lam B, Golabi P, Younossi ZM. Advances and challenges in the management of advanced fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis *Therap Adv Gastroenterol*. 2018 Nov 15;11:1756284818811508.
492. Traussnigg S, Kienbacher C, Halilbasic E, Rechling C, Kazemi-Shirazi L, Hofer H, et al. Challenges and Management of Liver Cirrhosis: Practical Issues in the Therapy of Patients with Cirrhosis due to NAFLD and NASH. *Dig Dis*. 2015;33(4):598-607.
493. Oseini AM, Sanyal AJ. Therapies in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Liver Int*. 2017 Jan;37(1):97-103.
494. Daniels SJ, Leeming DJ, Detlefsen S, Bruun MF, Hjuler ST, Henriksen MI, et al. Biochemical and histological characterisation of an experimental rodent model of non-alcoholic steatohepatitis - Effects of a peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) agonist and a glucagon-like peptide-1 analogue. *Biomed Pharmacotherap*. 2019 Mar;111:926-33.
495. Abd El-Haleim EA, Bahgat AK, Saleh S. Effects of combined PPAR- γ and PPAR- α agonist therapy on fructose induced NASH in rats: Modulation of gene expression. *Eur J Pharmacol*. 2016 Jul;773:59-70.
496. Zhang Y, Cui Y, Wang XL, Shang X, Qi ZG, Xue J, et al. PPAR α/γ agonists and antagonists differently affect hepatic lipid metabolism, oxidative stress and inflammatory cytokine production in steatohepatitic rats. *Cytokine*. 2015 Sep;75(1):127-35.
497. Zhao X, Wang F, Zhou R, Zhu Z, Xie M. PPAR α/γ antagonists reverse the ameliorative effects of osthole on hepatic lipid metabolism and inflammatory response in steatohepatitic rats. *Immunopharmacology*. 2018 Apr;26(2):425-33.
498. Bougarne N, Weyers B, Desmet SJ, Deckers J, Ray DW, Staels B, et al. Molecular Actions of PPAR α in Lipid Metabolism and Inflammation. *Endocr Rev*. 2018 Oct 1;39(5):760-802.
499. Kersten S, Stienstra R. The role and regulation of the peroxisome proliferator activated receptor alpha in human liver. *Biochimie*. 2017 Mar;136:75-84.

500. Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. Molecular mechanism of PPAR α action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2015 April;62(3):720-33.
501. Francque S, Verrijken A, Caron S. PPAR α gene expression correlates with severity and histological treatment response in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2015 Jan;63(1):164-73.
502. Li TT, Tan TB, Hou HQ, Zhao XY. Changes in peroxisome proliferator-activated receptor alpha target gene expression in peripheral blood mononuclear cells associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2018 Nov 14;17(1):256-64.
503. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Sanyal AJ, Neuschwander-Tetri BA. Improvements in Histologic Features and Diagnosis Associated With Improvement in Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis: Results From the Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network Treatment Trials *Hepatology.* 2019 Aug;70(2):522-31.
504. Allaire M, Gilgenkrantz H. The impact of steatosis on liver regeneration // *Horn Mol Biol Clin Investig.* 2018. Nov 21. pii: /j/hmbci.ahead-of-print/hmbci-2018-0050/hmbci-2018-0050.xml.
505. Li S, Ghoshal S, Sojoodi M, Arora G, Masia R, Erstad DJ, et al. Pioglitazone Reduces Hepatocellular Carcinoma Development in Two Rodent Models of Cirrhosis. *J Gastrointest Surg.* 2019 Jan;23(1):101-11.
506. Leoni S, Tovoli F, Napoli L, Serio I, Ferri S, Bolondi L. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. *World J Gastroenterol.* 2018 Aug 14;24(30):3361-73.
507. Lonardo A, Nascimbeni F, Maurantonio M, Marrazzo A, Rinaldi L, Adinolfi LE. Nonalcoholic fatty liver disease: Evolving paradigms. *World J Gastroenterol.* 2017 Sep 28;23(36):6571-92.
508. Musso G, Cassader M, Paschetta E, Gambino R. Thiazolidinediones and Advanced Liver Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis: A Meta-analysis *JAMA Intern Med.* 2017 May 1;177(5):633-40.

509. Deng W, Meng Z, Sun A, Yang Z. Pioglitazone suppresses inflammation and fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease by down-regulating PDGF and TIMP-2: Evidence from in vitro study. *Cancer Biomark*. 2017 Dec 6;20(4):411-15.
510. Athyros VG, Alexandrides TK, Biliou H, Cholongitas E, Doulas M, Ganotakis ES, et al. The use of statins alone, or in combination with pioglitazone and other drugs, for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis and related cardiovascular risk. An Expert Panel Statement *Metabolism*. 2017 Jun;71:17-32.

Додаток А

УКРАЇНА



СВІДОЦТВО
про реєстрацію авторського права на твір

№ 73932

Науковий твір "Основні патоморфологічні критерії диференційної діагностики вірусного гепатиту С, алкогольного і неалкогольного стеатогепатитів на етапі циротичної трансформації"

(вид, назва твору)

Автор(и) Гаврилюк Олена Михайлівна

(повне ім'я, псевдонім (за наявності))

Дата реєстрації 25.09.2017

Державний секретар Міністерства економічного розвитку і торгівлі України **О. Ю. Перевезенцев**



ПІК «Україна». Зам. 17-2005. 2017 р. III кв.

Додаток Б

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СИСТЕМІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 158 - 2010

Випуск 2 з проблеми
«Патологічна анатомія»
Підстава: Рішення ПК
«Патологічна анатомія»
Протокол №2 від 29.06.2010 р.

ГОЛОВНОМУ СПЕЦІАЛІСТУ ЗІ
СПЕЦІАЛЬНОСТІ «ПАТОЛОГІЧНА
АНАТОМІЯ»
МОЗ АР КРИМ, УПРАВЛІННЯ ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я ОБЛАСНИХ, СЕВАСТОПОЛЬСЬКОЇ
ТА КИЇВСЬКОЇ МІСЬКИХ ДЕРЖАВНИХ
АДМІНІСТРАЦІЙ

ОЦІНКА ЗМІН ПЕЧІНКИ З ОЗНАКАМИ СТЕАТОЗУ

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

д.м.н., проф. ПОСПІШЛІ Ю.О.,
к.м.н., доц. ГАВРИЛЮК О.М.,
ЧАЙКА Ю.І.

м. Київ

Додаток В



Додаток Д



Додаток Е

Акти впровадження

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар Закарпатської обласної
клінічної лікарні імені Андрія Новака
Яцина Ю.Ю.



« 15 » _____ 2012р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи

доцента кафедри патологічної анатомії та судової медицини

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Гаврилюк Олени Михайлівни на тему:

«Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному
гепатиті С»

1. Найменування пропозиції для впровадження: пропозиції щодо дослідження септального та перисинусоїдного фіброзу печінки при цирозах різного походження.
2. Установа, що пропонує впровадження, поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора впровадження: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, вул. Пекарська, 69, 79010, Україна, Гаврилюк Олена Михайлівна.
3. Джерело інформації: Гаврилюк О.М. Септальний та перисинусоїдний фіброз печінки при цирозах різного походження / О.М. Гаврилюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, Т. 3 (86). – С. 203-205.

4. Впроваджено у Централізованій патологоанатомічній лабораторії Закарпатської обласної клінічної лікарні імені Андрія Новака.
5. Термін впровадження: з 01.09.2011 р. по 01.09.2012 року.
6. Загальна кількість спостережень – 40.
7. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелі інформації про впровадження: виявлення при гістологічному дослідженні особливостей септального та перисинусоїдного фіброзу печінки при цирозах різного походження
8. Зауваження, пропозиції: зауважень і пропозицій немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач централізованої ПАЛ

« 10 » жовтня 2012р.



Токач Н.Г.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Начальник Державного
патологоанатомічного центру України
м. Хмельницький
Андрєєв М.Д. 
« 16 » жовтня 2012

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи

доцента кафедри патологічної анатомії та судової медицини

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Гаврилюк Олени Михайлівни на тему:

«Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті та
вірусному гепатиті С»

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** пропозиції щодо дослідження стромально-паренхіматозних співвідношень при цирозах печінки різної етіології.
- 2. Установа, що пропонує впровадження, поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, вул. Пекарська, 69, 79010, Україна, Гаврилюк Олена Михайлівна.
- 3. Джерело інформації:** Гаврилюк О.М. Особливості стромально-паренхіматозних співвідношень при цирозах печінки різної етіології / О.М. Гаврилюк // Патологія. - 2011. - Т.8, №1. - С.83-86.
- 4. Впроваджено у Державному патологоанатомічному центрі України м. Хмельницький.**
- 5. Термін впровадження:** з 01.09.2011р. по 01.09.2012р.

6.Загальна кількість спостережень – 40.

7.Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелі інформації про впровадження: проведення оцінки стромально-паренхіматозних співвідношень при патогістологічному дослідженні у випадках цирозів печінки різного походження.

8.Зауваження, пропозиції: зауважень та пропозицій немає.

Відповідальний за впровадження



Коблик М.С.

« 16 » жовтня 2012

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар
Івано-Франківської обласної
клінічної лікарні
к.м.н. Гришук О.І.

« 30 »

2012р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи

доцента кафедри патологічної анатомії та судової медицини

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Гаврилюк Олени Михайлівни на тему:

«Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному
гепатиті С»

1. Найменування пропозиції для впровадження: пропозиції щодо дослідження септального та перисинуоїдного фіброзу печінки при цирозах різного походження.
2. Установа, що пропонує впровадження, поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора впровадження: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, вул. Пекарська, 69, 79010, Україна, Гаврилюк Олена Михайлівна.
3. Джерело інформації: Гаврилюк О.М. Септальний та перисинуоїдний фіброз печінки при цирозах різного походження / О.М. Гаврилюк

//Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип.2, Т.3 (86). – С.203-205.

4. Впроваджено у патологоанатомічному відділенні Івано-Франківської обласної клінічної лікарні.
5. Термін впровадження: з 01.09.2011 р. по 01.09.2012 року.
6. Загальна кількість спостережень – 40.
7. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелі інформації про впровадження: виявлення при гістологічному дослідженні особливостей септального та перисинусоїдного фіброзу печінки при цирозах різного походження
8. Зауваження, пропозиції: зауважень і пропозицій немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач патологоанатомічного

відділення



Левандовський В.І.

« 30 » жовтня 2012р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар Рівненської обласної
клінічної лікарні
Кисіль В.М.

« // »



2012р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи

доцента кафедри патологічної анатомії та судової медицини

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Гаврилюк Олени Михайлівни на тему:

«Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному
гепатиті С»

1. Найменування пропозиції для впровадження: пропозиції щодо дослідження септального та перисинусоїдного фіброзу печінки при цирозах різного походження.
2. Установа, що пропонує впровадження, поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора впровадження: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, вул. Пекарська, 69, 79010, Україна, Гаврилюк Олена Михайлівна.
3. Джерело інформації: Гаврилюк О.М. Септальний та перисинусоїдний фіброз печінки при цирозах різного походження / О.М. Гаврилюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, Т. 3 (86). – С. 203-205.
4. Впроваджено у патологоанатомічному відділенні Рівненської обласної клінічної лікарні.
5. Термін впровадження: з 01.09.2011 р. по 01.09.2012 року.

6. Загальна кількість спостережень – 40.
7. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелі інформації про впровадження: виявлення при гістологічному дослідженні особливостей септального та перисинусоїдного фіброзу печінки при цирозах різного походження
8. Зауваження, пропозиції: зауважень і пропозицій немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач патологоанатомічного

відділення



Богуславець Б.І.

« 11 » травня 2012р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Начальник КУТОР
 «Тернопільське обласне патологоанатомічне бюро»
 Москальчук Є.Ю.



Акт впровадження

- Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С.
- Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної анатомії та судової медицини.
- Джерела інформації:** Пат. №109581 МПК G01N33/48 Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С / заявник і патентовласник Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – u 201602468; заявл.14.03.2016; опубл.25.08.2016.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** КУТОР «Тернопільське обласне патологоанатомічне бюро», відділення інфекційної патології.
- Форма впровадження:** впроваджено у роботу патологоанатомічної лабораторії відділення інфекційної патології КУТОР «Тернопільське обласне патологоанатомічне бюро».
- Термін впровадження:** з 2016 до цього часу.
- Загальна кількість спостережень** – 29.
- Оцінка науково-технічної розробки згідно зі «Шкалою градації доказів і сили рекомендацій»:** 2+С

Показники	За даними	
	Розроблювачів	Організації, що впровадила
Деталізація стадії захворювання дозволяє оцінити оборотність/необоротність процесу та визначити провідний механізм репарації, що в свою чергу є важливим для розробки лікувальної тактики	80%	73%

9. **Зауваження, пропозиції:** немає, доцільне подальше впровадження в практику

«03» 03 2017р.

Відповідальний за впровадження
 завідувач відділення інфекційної патології
 КУТОР

«Тернопільське обласне патологоанатомічне бюро»

 Менджул І.В.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Київської міської
клінічної лікарні № 4
Мостепан Т.В.

« 08 » 02 2017 р.

Акт впровадження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної анатомії та судової медицини.
3. **Джерела інформації:** Пат. №109581 МПК G01N33/48 Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С / заявник і патентовласник Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – и 201602468; заявл.14.03.2016; опубл.25.08.2016.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** КМКЛ №4.
5. **Форма впровадження:** впроваджено у патологоанатомічне відділення.
6. **Термін впровадження:** з 2016 до цього часу.
7. **Загальна кількість спостережень** – 30.
8. **Оцінка науково-технічної розробки згідно зі «Шкалою градації доказів і сили рекомендацій»:** 2+С

Показники	За даними	
	Розроблювачів	Організації, що впровадила
Деталізація стадії захворювання дозволяє оцінити оборотність/необоротність процесу та визначити провідний механізм репарації, що в свою чергу є важливим для розробки лікувальної тактики	80%	75%

9. **Зауваження, пропозиції:** немає, доцільне подальше впровадження в практику

« 06 » 02 2017 р.

Відповідальний за впровадження
Завідувач патологоанатомічним відділенням

Березовська Є.М.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Начальник Чернівецької обласної комунальної
 Медичної установи «Патологоанатомічне бюро»,

 Беседінський В.І. _____
 «03» _____ 2017 р.

Акт впровадження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної анатомії та судової медицини.
3. **Джерела інформації:** Пат. №109581 МПК G01N33/48 Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С / заявник і патентовласник Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – у 201602468; заявл.14.03.2016; опубл.25.08.2016.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Чернівецька обласна комунальна медична установа «Патологоанатомічне бюро»
5. **Форма впровадження:** впроваджено у патологоанатомічну лабораторію Чернівецького ОКМУ «Патологоанатомічне бюро»
6. **Термін впровадження:** з 2016 р. до цього часу.
7. **Загальна кількість спостережень** – 26.
8. **Оцінка науково-технічної розробки згідно зі «Шкалою градації доказів і сили рекомендацій»:** 2+С

Показники	За даними	
	Розроблювачів	Організації, що впровадила
Деталізація стадії захворювання дозволяє оцінити оборотність/необоротність процесу та визначити провідний механізм репарації, що в свою чергу є важливим для розробки лікувальної тактики	80%	75%

9. **Зауваження, пропозиції:** немає, доцільне подальше впровадження в практику



Відповідальний за впровадження

В.І.Бесединський

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар
Київської міської
клінічної лікарні №1
Іванько О.В.



« 10 » 2017 р.

Акт впровадження

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С.
- 2. Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної анатомії та судової медицини.
- 3. Джерела інформації:** Пат. №109581 МПК G01N33/48 Спосіб морфологічної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С / заявник і патентовласник Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – u 201602468; заявл.14.03.2016; опубл.25.08.2016.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** КМКЛ №1.
- 5. Форма впровадження:** впроваджено у роботу Центру лабораторних досліджень та відділ якості медичної допомоги та експертизи тимчасової непрацездатності.
- 6. Термін впровадження:** з 2016 до цього часу.
- 7. Загальна кількість спостережень – 35.**
- 8. Оцінка науково-технічної розробки згідно зі «Шкалою градації доказів і сили рекомендацій»:** 2+С

Показники	За даними	
	Розроблювачів	Організації, що впровадила
Деталізація стадії захворювання дозволяє оцінити оборотність/необоротність процесу та визначити провідний механізм репарації, що в свою чергу є важливим для розробки лікувальної тактики	80%	76%

- 9. Зауваження, пропозиції:** немає, доцільне подальше впровадження в практику

« 15 » 03 2017 р.

Відповідальний за впровадження
Завідувач відділом якості медичної допомоги та ЕТН

Луголобі Р.Д.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Тернопільського державного
медичного університету
імені І.Я.Горбачевського
професор Марценюк В.П.

«18» жовтня 2012р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
результатів дисертаційної роботи
доцента кафедри патологічної анатомії та судової медицини
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
Гаврилюк Олени Михайлівни на тему:
«Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному
гепатиті С»

Ми, що нижче підписалися, члени комісії: завідувач кафедри, професор Боднар Я.Я., доцент Головата Т.К., доцент Волошин В.Д., склали даний акт про те, що на кафедрі патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського у 2011-2012 р.р. впроваджені в навчальний процес результати дисертаційної роботи доцента Гаврилюк Олени Михайлівни.

У курс лекцій та практичних занять для студентів третього курсу медичного факультету впроваджено дані про особливості морфологічних проявів та ланки патогенезу процесів фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному гепатиті С.

Голова комісії
Члени комісії

професор Боднар Я.Я.
доцент Головата Т.К.
доцент Волошин В.Д.

«15» жовтня 2012р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Івано-Франківський національний
медичний університет»
професор Вакалюк І.П.

«30» травня 2012р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
результатів дисертаційної роботи
доцента кафедри патологічної анатомії та судової медицини
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
Гаврилюк Олени Михайлівни на тему:
«Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному
гепатиті С»

Ми, що нижче підписалися, члени комісії: завідувач кафедри, професор Михайлюк І.О., доцент Ключініський І.Д., доцент Кіндратів Е.О., склали даний акт про те, що на кафедрі патоморфології та судової медицини ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» у 2011-2012 р.р. впроваджені в навчальний процес результати дисертаційної роботи доцента Гаврилюк Олени Михайлівни.

У курс лекцій та практичних занять для студентів третього курсу медичного факультету впроваджено дані про особливості морфологічних проявів та ланки патогенезу процесів фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному гепатиті С.

Голова комісії
Члени комісії

професор Михайлюк І.О.
доцент Ключініський І.Д.
доцент Кіндратів Е.О.

«29» травня 2012р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Буковинського державного
медичного університету
професор Івашук О.І.



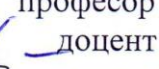
24 листопада 2012р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
результатів дисертаційної роботи
доцента кафедри патологічної анатомії та судової медицини
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
Гаврилюк Олени Михайлівни на тему:
«Морфогенез фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному
гепатиті С»

Ми, що нижче підписалися, члени комісії: завідувач кафедри, професор Давиденко І.С., доцент Курченко І.Ф., доцент Тюленєва О.А., склали даний акт про те, що на кафедрі патоморфології Буковинського державного медичного університету у 2011-2012 р.р. впроваджені в навчальний процес результати дисертаційної роботи доцента Гаврилюк Олени Михайлівни.

У курс лекцій та практичних занять для студентів третього курсу медичного факультету впроваджено дані про морфогенез та окремі ланки патогенезу процесів фіброзу та репарації при хронічному стеатогепатиті і вірусному гепатиті С.

Голова комісії
Члени комісії

 професор Давиденко І.С.
 доцент Курченко І.Ф.
 доцент Тюленєва О.А.

« 24 » листопада 2012р.

Додаток Ж

Відомості про апробацію дисертації

1. XIII конгрес світової федерації українських лікарських товариств (Львів, Україна 2010 р.) – публікація тез.
2. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю і пленум Асоціації інфекціоністів України «Труднощі діагностики і терапії інфекційних хвороб» (Суми, Україна, 2011р.) – публікація тез.
3. Науково-практична конференція «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології» (Тернопіль, Україна, 2011р.) – публікація тез.
4. Всеукраїнська науково-практична конференція інфекціоністів «Природно-осередкові інфекції» (Тернопіль, Україна, 2012р.) – публікація тез.
5. ІV Національний з'їзд фармакологів України (Київ, Україна, 2011р.) – публікація тез.
6. XIV конгрес світової федерації українських лікарських товариств (Донецьк, Україна, 2012р.) – публікація тез.
7. 4th International scientific Conference “Advances in pharmacology & pathology of the digestive tract” (Kiev, Ukraine, 2012) – публікація тез.
8. Науково-практична конференція «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, Україна, 2012р.) – публікація тез.
9. ІХ конгрес патологів України «Актуальні проблеми патології» Луганськ, Україна, 2013р.) – публікація тез.
10. XVI конгрес світової федерації українських лікарських товариств (Берлін-Київ, 2016р.) – публікація тез.
11. Науково-практична конференція «Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії». (Київ, Україна, 2017р.) – публікація тез.
12. X конгрес патологів України «Актуальні проблеми патології» (Івано-Франківськ-Яремче, Україна, 2018р.) – публікація тез.
13. XVII конгресу світової федерації українських лікарських товариств (Тернопіль, Україна, 2018р.) – публікація тез.

Додаток И

НАУКОВІ ПРАЦІ, ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСТЕРТАЦІЇ Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Гаврилюк ОМ. Етіологічні фактори цирозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2009;2:22-25.
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 із 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(10):17-25.
5. Гаврилюк ОМ, Гаврилюк ІМ, Чикайло ІП. Морфологічні прояви пошкодження та загоснення при хронічному токсичному ураженні печінки в експерименті. Патологія. 2010;7(2):90-94. *(Здобувач провела морфологічне дослідження печінки, описала та оцінила виявлені гістологічні зміни, разом зі співавторами проаналізувала та узагальнила одержані результати).*
6. Гаврилюк ОМ, Грицко РЮ. Значення вірусної інфекції для прогресування хронічних захворювань печінки, асоційованих із стеатозом. Інфекційні хвороби. 2010;3(61):75-79. *(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;3:40-44.
8. Гаврилюк ОМ. Особливості стромально-паренхіматозних співвідношень при цирозах печінки різної етіології. Патологія. 2011;8(1):83-86.
9. Гаврилюк ОМ. Септальний та перисинусоїдний фіброз печінки при цирозах різного походження. Вісник проблем біології і медицини. 2011;2(3):203-205.
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):50-55.
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):163-165.
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):220-224. *(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(19):31-39.
18. Гаврилюк ОМ. Поширеність хронічного стеатогепатиту та вірусного гепатиту (на базі аналізу автопсійного матеріалу). Львівський медичний часопис. 2013;19(2):34-38.
19. Гаврилюк ОМ, Буфан ММ. Патогістологічні прояви стеатозу при вірусному гепатиті С. Практична медицина. 2013;19(1):102-107. *(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):283-287.
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):41-44.
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. Здравоохранение. 2014;7:39-42.
26. Gavrilyuk 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):66-69.
27. Гаврилюк ОМ. Морфологічні особливості прогресування та регресії проявів тканинної реорганізації при хронічному неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С. Гепатологія. 2016;1:39-47.
28. Гаврилюк ОМ. CD117-позитивні клітини/телоцити при хронічному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С: гістотопографічні та кількісні особливості Морфологія. * 2016;30(4):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).*

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

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 «Груднощі 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 ангиогенезу 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 Ю. Вплив піоглару на морфофункціональний стан печінки при її хронічному ушкодженні тетрахлорметаном. В: Матеріали ІV 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 зі 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;3:103.
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 портальна 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.

Праці, які додатково відображають наукові результати дисертації

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 співавторами оформлено патент).*

47. *Гаврилюк ОМ.* Основні патоморфологічні критерії диференційної діагностики вірусного гепатиту С, алкогольного і неалкогольного стеатогепатитів на етапі циротичної трансформації, наукова робота. Свідectvo 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).*

Додаток К

Карта 1. Перелік гістологічних змін, які оцінювались для опису проявів найважливіших патологічних процесів та діагностики захворювання (первинний скринінг)

Пошкодження гепатоцитів	
<i>Нагромадження:</i>	
Ліпіди (стеатоз)	Макровезикулярний стеатоз (>5%) Мікровезикулярний стеатоз
Тільця Малорі-Денка	Еозинофільні інтрацитоплазматичні включення, які розміщуються біля ядра Гпц з балонними змінами у 3 зоні, часто у ділянках перисинусоїдного фіброзу; ІГ: СК8 та 18+, убіквітин, heat shock proteins, p62
Мегамітохондрії	Округлі або голкоподібні, еозинофільні інтрацитоплазматичні включення, що найчастіше виявляються у Гпц з мікровезикулярним стеатозом; зональність не характерна; = результат перекисного окислення ліпідів (адаптивна реакція)
Залізо	Сидероз у перипортальних Гпц та/або панацинарний у синусоїдних клітинах
Білірубін (+ інтракапілярний холестаз)	Жовтяво-коричневі включення у цитоплазмі гепатоцитів
Холати	«Пір'їста» цитоплазма гепатоцитів
Глікоген у ядрах	Вакуолізація ядер перипортальних Гпц
<i>Загибель клітин:</i>	
Балонні зміни	Збільшений Гпц з набряклою, розрідженою, блідою цитоплазмою та великим, гіперхромним ядром, часто з чітким ядерцем = результат пошкодження проміжних філаментів цитоскелету та/або мікровезикулярний стеатоз;
Ацидофільні тільця/апоптоз	Еозинофільні глобули у просторі Діссе; ІГ: фрагменти СК18+;
Емперіполез	Лімфоцити проникають у пошкоджені гепатоцити
Точкові/зливні некрози	Множинні вогнища балонних змін або точкових некрозів (випадіння гепатоцитів із скупченням лімфоцитів, плазмоцитів та КК) переважно у 3 зоні
Запалення/імунна реакція	
Портальна	Скупчення лімфоцитів та плазматичних клітин
	Лімфоїдні агрегати або фолікули з гермінативними центрами (мантійна зона оточена тонким шаром Т-лімфоцитів)
	Кристали тальку у портальних макрофагах (наркомани) – поляризаційна мікроскопія
Перипортальна (ступінчасті ураження)	Скупчення лімфоцитів та плазматичних клітин на межі паренхіми та сполучної тканини ПТ на місці загинувших гепатоцитів = нерівна погранична пластинка з проникненням лімфоцитів у паренхіму (незначний, помірний виражений)

Лобулярна	Сателітоз = ПМЯ навколо Гпц з балонними змінами;
	Лімфоцити + еозинофіли + нейтрофіли;
	Переважають лімфоцити; часом формують ряди вздовж синусоїдів = «Indian files»
	Скупчення КК = мікрогранульоми
	Ліпогранульоми
Внутрішньосудинна (ендотеліт)	
Гіпертрофія /гіперплазія КК	
Біліарні зміни	
Пошкодження жовчевих проток	Біліарний епітелій псевдостратифікований, клітини з вакуолізацією, набуханням цитоплазми, деформованим ядром; БМ місцями зруйнована із скупченням лімфоцитів, поодиноким плазмочайцям, іноді – нейтрофілів (на відміну від ПБЦ відсутність протоків внаслідок повного руйнування – рідко)
Дуктулярна реакція	Утворення нових дуктул на межі з ПТ, які формуються з клітин-попередників перипортальних ділянок та супроводжується скупченням нейтрофілів і стромальними змінами
Дуктопенія	Відсутність жовчевих проток у портальних трактах
Фіброз	
Кількість сполучної тканини	
Локалізація	
Портальні тракти	
Перисинусоїдний	Скупчення фібрил білків ЕЦМ вздовж синусоїдів та навколо клітин 3 зони («chicken wire»)
Перивенулярний	Щільний фіброз + скупчення тілець Малорі-Денка + некроз Гпц 3 зони = <i>склерозуючий гіаліновий некроз</i>
Септи	Утворення трьохмірних васкуляризованих сполучнотканинних прошарків, які проникають у паренхіму печінки, порушуючи її тканинну організацію
	Порто-портальні: прогресування перисинусоїдного та перипортального фіброзу на місці ступінчастих некрозів із заміщенням 1 зони
	Центро-портальні (іноді центрально-центрально): внаслідок множинних зливних некрозів у зоні 3
	Перинодулярні: оточують сформовані паренхіматозні вузлики
Регенерація	
	Мітози та множинні дво- та трьохядерні гепатоцити
	Потовщення пластинок (2-3 клітини) у перипортальних та перисептальних ділянках
Нодулярність	Скорочення новоутвореної сполучної тканини у септах веде до деформації паренхіми
	Аденоматозна гіперплазія, дисплазія гепатоцитів (дрібно- та великоклітинна)

Додаток Л

Карта 2. Оцінка ступеня активності та стадії тканинної реорганізації при хронічному гепатиті різного походження на етапі формування досліджуваних груп

Ступені	Стеатоз	Балонні зміни	Клітинний інфільтрат (у 20 п/з)	
			Лобулярний	Перисептальний
	1: $\leq 33\%$	Зона	0 – відсутнє	0 – відсутнє
	2: 33-66%	вираженість	1: < 2	1 – незначне
	3: $\geq 66\%$	Мінімальні	2: 2-4	2 – помірне
		Наявні	3: > 4 вогнищ	3 – виражене
		виражені		
1 (незначний)	1-2	зона 3, мінімальні	L = 1-2	P = 0-1
2 (помірний)	2-3	зона 3, наявні	L = 1-2	P = 1-2
3 (виражений)	2-3	переважно зона 3, виражені	L = 3	P = 1-2
Стадії тканинної реорганізації				
1	Перицелюлярний у 3 зоні та перипортальний фіброз, вогнищевий або розповсюджений			
2	Порто-портальні та порто-центральні септи			
3	Цироз, можливий або наявний			

Додаток М

Карта 3. Перелік критеріїв для дослідження показників репаративної регенерації, ангіогенезу та фіброгенезу на основі виявлення імуногістохімічних маркерів та морфометричного аналізу (1-ий етап дослідження).

Процес	Клітинна популяція	Маркер
Репаративна регенерація	Печінкові клітини попередники (ПКП)	ErCAM
	ПКП з ознаками диференціювання у гепатоцити	ErCAMH
	ПКП з ознаками диференціювання у холангіоцити	CK 19
Фіброгенез	Фіброгенна популяція	α -SMAG
		α -SMAS
		α -SMA ^P
		Ki67S
		Ki67P
		FG
		FP
Ангіогенез	Ендотелій портальних судин та синусоїди	CD31G
		CD31S
		CD31P
		CD34G
		CD34S
		CD34P
Клітини-регулятори	Клітини макрофагального ряду	CD68
	Телоцити	CD117

Додаток Н

Карта 4. Перелік гістологічних змін, які оцінювались для опису проявів найважливіших патологічних процесів та диференційної діагностики алкогольного, неалкогольного стеатогепатиту та вірусного гепатиту С на пізній стадії захворювання (2-ий етап дослідження)

№	Патоморфологічні критерії
1	Зміни у 1 зоні (перипортальні)
1.1	Пограничний гепатит
1.2	Фіброз портальних трактів
1.3	Дуктулярна реакція інтрасептальна
1.4	Дуктулярна реакція перисептальна
2	Зміни у 2 зоні (інтралобулярні)
2.1	Фокальний стеатоз
2.2	Дифузний стеатоз
2.3	Мікроезидулярний стеатоз
2.4	Балонні зміни гепатоцитів
2.5	Інтралобулярні інфільтрати (лімфоцити, макрофаги)
2.6	Інтралобулярні інфільтрати (нейтрофіли)
2.7	Перицелюлярний фіброз
2.8	Потовщення балок та поліморфізм гепатоцитів
2.9	Дуктулярна реакція інтралобулярна
2.10	Аберантні судини
3	Зміни у 3 зоні (центролобулярні)
3.1	Склероз стінок центральної вени
4	Порушення структури часточки
4.1	Зближення портальних трактів та центральних вен
4.2	Портопортальні септи
4.3	Портопортальні та портоцентральні септи
4.4	Перинодулярні септи
4.5	Тонкі, перфоровані септи
4.6	Широкі адгезії
4.7	Великі вузли
4.8	Дрібні вузли