

Патоморфология фиброза печени в трепанобиоптатах больных стеатогепатитом: основные типы, источники развития, особенности прогрессирования

В. А. Туманский, С. В. Фень

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Ключевые слова: стеатогепатит, звёздчатые клетки, фибробласты, цирроз печени, биопсия.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 244–256

DOI:
10.14739/2310-1237.
2017.3.118299

E-mail:
Alchimik1989@
gmail.com.

До последнего времени среди патологов, гепатологов и гастроэнтерологов продолжается дискуссия по морфогенезу и градации фиброза печени у больных неалкогольным (НАСГ) и алкогольным стеатогепатитом (АСГ).

Цель работы – изучить основные типы и источники фиброза печени у больных неалкогольным и алкогольным стеатогепатитом, обосновать градацию степени его тяжести с учетом количественной динамики фиброгенных клеток-продуцентов, относительной площади фиброза и депонирования коллагена I, III и IV типа в печени.

Материалы и методы. Гистологическое и гистохимическое исследование фиброза печени проведено у 198 больных НАСГ 18–79 лет и у 79 больных АСГ 47–63 лет. Иммуногистохимическое исследование с измерением площади экспрессии активированных α SMA+ перисинусоидальных звёздчатых клеток и α SMA+ портальных миофибробластов при F1 (легком), F2 (умеренном), F3 (тяжелом) фиброзе и F4 фиброзе/циррозе печени проведено в 80 трепанобиоптатах больных НАСГ (по 20 случаев в каждой группе), электронно-микроскопическое исследование печени – у 10 умерших больных, страдавших НАСГ.

Результаты. У больных НАСГ и АСГ прогрессируют два основных типа фиброза печени: перисинусоидально-перичеллюлярный и портально-Z3перисинусоидальный фиброз, источником развития которых являются новые поколения α SMA+ звездчатых клеток и α SMA+ портальных миофибробластов фиброгенного иммунофенотипа, с коэкспрессией ними фасцина, виментина и отсутствием экспрессии десмина. По мере прогрессирования перисинусоидально-перичеллюлярного фиброза от легкой F1 степени к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу перичеллюлярного типа в печени достоверно возрастает площадь Массон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнустого матрикса ($H = 88,70$; $p = 0,05$) и площадь α SMA+ коллаген-продуцирующих звездчатых клеток перисинусоидально-перичеллюлярной локализации ($H = 45,12$; $p = 0,05$). По данным фотоцифровой морфометрии, при возрастании степени тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза печени от F1 к F4 в зонах фиброза достоверно возрастает площадь Массон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнустого матрикса ($H = 76,56$; $p = 0,05$), а также площадь активированных α SMA+ коллаген-продуцирующих портальных миофибробластов и перисинусоидальных звездчатых клеток Z3 зон печеночных долек ($H = 43,18$; $p = 0,05$). Активация и увеличения числа CD-68+ макрофагов в очагах интенсивного стеатоза гепатоцитов, а также появление S100 (A4)+ макрофагов, которые активируют звездчатые клетки, дает основание предполагать, что феномен перичеллюлярности фиброза печени при НАСГ и АСГ обусловлен экзосомальным привлечением макрофагов в зоны баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, а также локальной экзосомально-цитокиновой активацией перисинусоидальных звездчатых клеток фиброгенного типа.

Выводы. По мере прогрессии фиброза от F1 до F4 степени в печени достоверно увеличивается площадь активированных α SMA+ фибробластов, а также площадь депонирования коллагена I, III и IV типа перисинусоидально-перичеллюлярной или портально-Z3перисинусоидальной локализации.

Ключові слова: стеатогепатит, зірчасті клітини, фібробласти, цироз печінки, біопсія.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 244–256

Патоморфологія фіброзу печінки в трепанобіоптатах хворих на стеатогепатит: основні типи, джерела розвитку, особливості прогресування

В. О. Туманський, С. В. Фень

До останнього часу серед патологів, гепатологів і гастроентерологів триває дискусія щодо морфогенезу та градації фіброзу печінки у хворих на неалкогольний (НАСГ) та алкогольний стеатогепатит (АСГ).

Мета роботи – вивчити основні типи та джерела фіброзу печінки у хворих на неалкогольний та алкогольний стеатогепатит, обґрунтувати градацию ступеня його тяжкості з урахуванням кількісної динаміки фіброгенних клітин-продуцентів, відносної площі фіброзу та депонування колагену I, III та IV типу в печінці.

Матеріали та методи. Гістологічне та гістохімічне дослідження фіброзу печінки здійснили у 198 хворих на НАСГ віком 18–79 років та у 79 хворих на АСГ віком 47–63 роки. Імуногістохімічне дослідження з вимірюванням площі експресії активованих α SMA+ перисинусоїдальних зірчастих клітин та α SMA+ портальних міофібробластів при F1 (легкому), F2 (помірному), F3 (важкому) фіброзі та F4 фіброзі/циррозі печінки здійснили у 80 трепанобіоптатах хворих на НАСГ (по 20 випадків у кожній групі), електронно-мікроскопічне дослідження печінки – в 10 померлих хворих, які страждали на НАСГ.

Результати. У хворих на НАСГ та АСГ прогресують два основні типи фіброзу печінки: перисинусоїдально-перичеллюлярний і портально-Z3перисинусоїдальний фіброз, джерелом розвитку яких є нові покоління α SMA+ зірчастих клітин та α SMA+ портальних міофібробластів фіброгенного імунофенотипу з коекспресією ними фасцина, виментина та відсутністю експресії десмину. З прогресуванням перисинусоїдально-перичеллюлярного фіброзу від легкого F1 ступеня до важкого F3 фіброзу та до край важкого F4 фіброзу/циррозу перичеллюлярного типу в печінці вірогідно зростає площа Массон-

позитивного позаклітинного молекулярно-волоконистого матриксу ($H = 88,70$; $p = 0,05$) і площа α SMA+ колаген-продукуючих зірчастих клітин перисинусоїдально-перичелюлярної локалізації ($H = 45,12$; $p = 0,05$). За даними фотоцифрової морфометрії, при зростанні ступеня тяжкості портально-ЗЗперисинусоїдального фіброзу печінки від F1 до F4 в зонах фіброзу вірогідно зростає площа Массон-позитивного позаклітинного молекулярно-волоконистого матриксу ($H = 76,56$; $p = 0,05$), а також площа активованих α SMA+ колаген-продукуючих портальних міофібробластів і перисинусоїдальних зірчастих клітин ЗЗ зон печінкових дольок ($H = 43,18$; $p = 0,05$). Активація та збільшення числа CD-68+ макрофагів у вогнищах інтенсивного стеатоза гепатоцитів, а також поява S100 (A4)+ макрофагів, що активують зірчасті клітини, дає підставу припускати: феномен перичелюлярного фіброзу печінки при НАСГ та АСГ зумовлений екзосомальним залученням макрофагів до зон балонного стеатонекрозу та некроптозу гепатоцитів, а також локальною екзосомально-цитокіновою активацією перисинусоїдальних зірчастих клітин фіброгенного типу.

Висновки. З прогресією фіброзу від F1 до F4 ступеня в печінці вірогідно збільшується площа активованих α SMA+ фібробластів, а також площа депонування колагену I, III та IV типу перисинусоїдально-перичелюлярної або портально-ЗЗперисинусоїдальної локалізації.

Pathomorphology of liver fibrosis in trepanbiopsates of patients with steatohepatitis: main types, sources of development, features of progression

V. A. Tumanskiy, S. V. Fen'

Until recently, among the pathologists, hepatologists and gastroenterologists, a discussion continues on the morphogenesis and gradation of liver fibrosis in non-alcoholic patients (NASH) and alcoholic steatohepatitis (ASH).

Purpose of the study. Studying the main types and sources of liver fibrosis in patients with nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis, justifying the gradation of its severity, taking into account the quantitative dynamics of fibrogenic producer cells, the relative area of fibrosis and the deposition of type I, III and IV collagen in the liver.

Material and methods. Histological and histochemical examination of liver fibrosis was performed in 198 patients with NASH of 18–79 years and in 79 patients with ASH of 47–63 years. Immunohistochemical study with measurement of the area of expression of activated α SMA+ perisinusoidal stellate cells and α SMA+ portal myofibroblasts with F1 (mild), F2 (moderate), F3 (severe) fibrosis and F4 fibrosis/cirrhosis was performed in 80 trepanbiopsates of patients with NASH (20 cases in each group), electron microscopic examination of the liver – in 10 deceased patients suffering from NASH.

Results. In patients with NASH and ASH, there are two major types of liver fibrosis progress: the perisinusoidal pericellular and portal-Z3 perisinusoidal fibrosis, the development of which is the new generation of α SMA+ star cells and α SMA+ portal myofibroblasts of the fibrogenic immunophenotype, with co-expression of fascin and vimentin and absence of desmine expression. As the perisinusoidal pericellular fibrosis progresses from the mild F1 degree, to the severe F3 fibrosis and to the extremely severe F4 fibrosis/cirrhosis of the pericellular type, the area of the Mason-positive extracellular molecular-fibrous matrix ($H = 88,70$; $P = 0,05$) and the area of α SMA+ collagen-producing stellate cells of perisinusoidal-pericellular localization ($H = 45,12$; $P = 0,05$). According to the data of photometric morphometry, with increasing severity of portal-Z3 perisinusoidal hepatic fibrosis from F1 to F4, the area of the Mason-positive extracellular molecular-fibrous matrix ($N = 76,56$; $P = 0,05$) in areas fibrofacitiously increases, as well as the area of activated α SMA+ collagen-producing portal myofibroblasts and perisinusoid stellate cells of Z3 zones of hepatic lobules ($H = 43,18$, $P = 0,05$). Activation and increase in the number of CD-68+ macrophages in the centers of intensive hepatocyte steatosis, as well as the appearance of S100 (A4)+ macrophages that activate stellate cells, suggests that the phenomenon of pericellularity of liver fibrosis in NASH and ASH is due to exosomal macrophage involvement in zone of balloon steatonecrosis and necroptosis of hepatocytes, as well as local exosomal-cytokine activation of perisinusoid stellate cells of fibrogenic type.

Conclusion. As the progression of fibrosis from F1 to F4 degree in the liver the area of activated α SMA+ fibroblasts, and the area of deposition of collagen I, III and IV type perisinusoidal pericellular or portal-Z3 perisinusoidal localization significantly increase.

Неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) і алкогольний стеатогепатит (АСГ) вместе с вирусными гепатитами В и С (ХВГВ, ХВГС), являются основными хроническими заболеваниями, неизбежно осложняющимися фиброзом печени [1]. До настоящего времени среди патологов, гепатологов и гастроэнтерологов продолжается дискуссия по морфогенезу и градации фиброза печени у больных НАСГ и АСГ. Мощным стимулом такой дискуссии стало стремление к молекулярно-клеточному обоснованию обратимости фиброза печени, а также разработка его таргетной терапии у больных стеатогепатитом [2–4]. Результаты исследований последних лет, суммированные в обзорах Ch. Trautwein et al., A. Takaki et al., F. Stickel et al. [2,5,6], показали, что развивающийся в гепатоцитах окислительный стресс, дисфункция митохондрий, стресс эндоплаз-

матической сети с внутриклеточным накоплением липидов (при НАСГ – из-за снижения эффективности антиоксидантной защиты, при АСГ – из-за токсического эффекта алкоголя и ацетальдегида) ведут к некроптозу и некрозу гепатоцитов с высвобождением свободных перекисных радикалов, продуктов перекисного окисления липидов и фрагментов ДНК в межклеточное пространство. Эти молекулы клеточного повреждения с участием провоспалительных цитокинов, выделяемых лимфоцитами, активированными макрофагами Купфера и моноцитарными макрофагами, вызывают трансформацию перисинусоидальных звездчатых клеток (ПЗК) и портальных фибробластов в фиброгенные миофибробласты (МФБ) печени, синтезирующие избыток коллагенов, нековалентных гликопротеинов, протеогликанов и гликозаминогликанов. В активации

Key words:

steatohepatitis, hepatic stellate cells, fibroblasts, liver cirrhosis, biopsy.

Pathologia

2017; 14 (3), 244–256

ПЗК также участвуют патогенные молекулы, поступающие из кишечника при его повышенной проницаемости [7] или при изменении микробиома у больных НАСГ и АСГ [8]. Допускается участие в развитии фиброза печени циркулирующих костномозговых фиброцитов [9].

Разработанные ранее патоморфологические классификации и градации фиброза печени при стеатогепатите, учитывающие зональную локализацию фиброза в дольках печени [10,11], не полностью приемлемы для патоморфологической диагностики трепанобиоптатов печени, которая в сравнении с диагностикой операционного и аутопсийного материала отличается ограниченным числом неупорядоченно ориентированных долек в срезах биоптата, а также значительным дефицитом клинических и лабораторных данных, уточняющих генез стеатогепатита. Поэтому некоторые патологи [12] градуируют фиброз печени при стеатогепатите на 4 степени тяжести (F1 – минимальный, F2 – умеренный, F3 – тяжелый и F4 – цирроз печени), по аналогии с давно применяющейся в патоморфологической практике градацией гепатофиброза METAVIR для хронического вирусного гепатита.

Учитывая определенные ограничения инвазивной биопсийной диагностики и градации фиброза печени (невозможность точного установления этиологии фиброза и его реальной распространенности в печени, редкость повторных инвазивных биопсий для оценки динамики фиброза), в последние годы широкое распространение получили неинвазивные методы: плазменные биомаркеры фиброза печени, дименсиональная ультразвуковая эластография с контролируемым сдвигом волн, 3-D магнитно-резонансная эластография, позитронно-эмиссионная визуализация специфических для фиброза клеток или рецепторов [2,13]. Однако в совместных рекомендациях Американской ассоциации по изучению печени и Американской гастроэнтерологической ассоциации 2012 года [14], а также в практическом руководстве Европейской и Латиноамериканской ассоциаций по изучению печени 2015 года [13] рекомендуется использовать как неинвазивные методы – для интегральной градации фиброза печени и оценки его динамики, так и трепанобиопсию печени – для выявления патологом морфологических признаков активности и прогностических перспектив этиологически определенного хронического заболевания печени, для градации фиброза печени и определения возможных мишеней его таргетной терапии, а также для раннего выявления карциномы печени.

Цель работы

Изучить основные типы и источники фиброза печени у больных неалкогольным и алкогольным стеатогепатитом, обосновать градацию степени его тяжести с учетом количественной динамики фиброгенных клеток-продуцентов, относительной площади фиброза и накопления в печени коллагена I, III и IV типа.

Материалы и методы исследования

Проведено гистологическое и гистохимическое исследование НАСГ в трепанобиоптатах печени 173 боль-

ных и в секционном материале 25 умерших больных (всего 198 больных НАСГ в возрасте от 18 до 79 лет), а также АСГ в трепанобиоптатах печени 12 больных и в секционном материале 67 умерших больных (всего 79 больных АСГ в возрасте от 47 до 63 лет). При АСГ легкий F1 фиброз печени диагностирован в 19 наблюдениях, умеренный F2 фиброз – в 20 случаях, тяжелый F3 фиброз – в 9 наблюдениях, F4 фиброз/цирроз печени выявлен в 31 наблюдении. При НАСГ F0 отсутствие фиброза выявлено в 24 случаях, легкий F1 фиброз печени диагностирован в 25 наблюдениях, умеренный F2 фиброз – в 49 случаях, тяжелый F3 фиброз – в 22 наблюдениях, F4 фиброз/цирроз печени выявлен в 53 наблюдениях. Выполнен ретроспективный анализ микроскопических и ГХ особенностей F1-F4 фиброза печени в биоптатах 154 больных ХВГС и 26 больных ХВГВ.

Для патоморфологического исследования биопсийный и секционный материал печени фиксировали в забуференном 10 % формалине и заливали в парафин. В парафиновых срезах, окрашенных методом Ван-Гизона и Масон-трихром, в соответствии с модифицированной градацией E. M. Brunt et al. [15] определяли преобладающий тип фиброза печени (перисинусоидально-перипортальный, портально-З3перисинусоидальный), а также степень его тяжести: легкий F1 фиброз, умеренный F2 фиброз, тяжелый F3 фиброз и крайне тяжелый F4 фиброз/цирроз печени (микрондулярного или перипортального типа).

Параллельное ГХ и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проведено в 80 трепанобиоптатах больных НАСГ: в группе 40 наблюдений перисинусоидально-перипортального фиброза (10 случаев – с F1 легким фиброзом; 10 случаев – с F2 умеренным фиброзом; 10 случаев – с F3 тяжелым фиброзом, 10 случаев – с F4 фиброзом/циррозом печени), а также в группе 40 наблюдений портально-З3перисинусоидального фиброза (10 случаев – с F1 легким фиброзом; 10 случаев – с F2 умеренным фиброзом; 10 случаев – с тяжелым F3 фиброзом и 10 случаев – с F4 фиброзом/циррозом печени). Группу условного контроля составили 10 трепанобиоптатов печени больных, не страдавших НАСГ и не имевших гистологических признаков фиброза и стеатоза печени.

ИГХ исследование проведено в парафиновых срезах печени непрямым иммунопероксидазным методом с использованием моноклональных антител и системы визуализации DAKO EnVision+ с диамибензидином («DAKO», Дания). Для выявления активированных коллаген-продуцирующих клеток использованы моноклональные антитела Mo a-Hu Alpha Smooth Muscle Actin (α -SMA), *Clone 1A4* («DAKO», Дания), Mo a-Hu Vimentin, *Clone V9, RTU* («DAKO», Дания), Mo a-Hu Desmin, *Clone D33, RTU* («DAKO», Дания); для выявления клеток Купфера и моноцитарных макрофагов применены моноклональные антитела Mo a-Hu CD68, *Clone PG-M1* («DAKO», Дания) и Rb a-Hu S100, *Clone A4* («NeoMarkers», США); для идентификации молекулярно-волоконистых компонентов фиброза печени использованы поликлональные антитела Rb Fibronectin, *RTU* («DAKO», Дания) и моноклональные антитела Mo a-Hu Fascin Ab1, *Clone FCN01* («NeoMarkers», США),

а также моноклональные антитела к коллагену I типа – Rb a-Hu Collagen type I, *clone RAH C11-0,1* («Имтек», Российская Федерация), к коллагену III типа – Rb a-Hu Collagen type III, *clone RAH C33* («Имтек», Российская Федерация) и к коллагену IV типа – Mo a-Hu Collagen type IV Ab-3, *clone CIV 22 + PHM 12* («Thermo Seientific», США).

Электронная микроскопия (ЭМ) выполнена в кусочках печени 10 умерших больных, страдавших НАСГ. Мелкие кусочки печени, взятые через час после смерти больных, фиксировали в 2,5 % глутаральдегиде на фосфатном буфере (pH 7,3) и в 1 % OsO₄, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации с дополнительным контрастированием 2,5 % уранилацетатом и 1 % раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты по Хэмптону, пропитывали и заливали в эпон-аралдитный компаунд. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме Reichert Om43, дополнительно контрастировали азотнокислым свинцом по Рейнольдсу, анализировали и фотографировали в электронном микроскопе ПЭМ-100-01 при ускоряющем напряжении 75 кВ.

В биоптатах печени больных НАСГ методом фотоцифровой морфометрии (ФЦММ) измеряли площадь экспрессии активированных αSMA+ ПЗК, αSMA+ портальных МФБ, коллаген I, III, IV типа при F1–F3 фиброзе и при F4 циррозе в стандартизованной площади гистологического среза печени (СПГСП), которой являлось фотоцифровое изображение среза печени в фотокамере «Olympus 3040» (Япония), сфотографированное в микроскопе Axioplan 2 «Carl Zeiss» (ФРГ) при увеличении x200. В каждом стекле фотографировали по 5 полей зрения с наличием в нем печеночной дольки и портального тракта. В программе ImageJ определяли площадь соответствующих иммунопозитивных клеток, которые представляли собой процентное соотношение числа пикселей цифрового изображения иммунопозитивного материала к общему числу пикселей в изображении.

Результаты количественных измерений оценивали с помощью статистического пакета Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., лицензия № AXXR712D833214FAN5), вычисляли медиану, нижний и верхний квартили, данные представляли в форме Me (Q1, Q3). Площадь экспрессии активированных αSMA+ перисинусоидальных звездчатых клеток и αSMA+ портальных миофибробластов при F1–F3 фиброзе и F4 циррозе печени у больных НАСГ сравнивали с применением непараметрического критерия Краскела–Уоллиса (H). Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % (p < 0,05).

Результаты и их обсуждение

Микроскопические, ГХ и ИГХ исследования 277 биоптатов печени и печени 92 умерших больных показали, что у больных НАСГ и АСГ развивается один из двух основных типов фиброза печени: или перисинусоидально-periцеллюлярный или портально-перисинусоидальный фиброз Z3 зон печеночных долек (портально-Z3перисинусоидальный фиброз). Установлено, что у больных НАСГ и АСГ перисинусо-

идально-periцеллюлярный и портально-Z3перисинусоидальный фиброз печени прогрессируют от легкой F1 степени, через среднюю F2 степень тяжести к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу печени periцеллюлярного типа. В какой-то мере сходная градация фиброза у больных неалкогольной жировой болезнью печени предложена в 2011 году E. M. Brunt et al. [15], которые выделяли фиброз 3 зоны печеночных долек, перисинусоидальный и портально-перисинусоидальный фиброз в нарастающих стадиях 1, 2, 3 и 4 (цирроз печени). В соответствии с примененной нами градацией прогрессии фиброза печени установлено, что по мере увеличения площади фиброза, определяемой в гепатотрениоптатах методом Масон-триколор, в печени возрастает площадь распространения αSMA-позитивных фиброгенных клеток, а также площадь коллагена I, III и IV типа, депонированного в зонах фиброза.

При перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе легкой F1 степени в некоторых перисинусоидальных пространствах печеночных долек при окраске Масон-триколор обнаруживаются короткие линейные фрагменты фиброза, которые в виде перпендикулярных коротких «зазубрин» кое-где проникают в базальные межклеточные пространства между гепатоцитами со стеатозом. Площадь перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза легкой F1 степени более чем в 10 раз превышает площадь фрагментарного фиброза, определяемого в перисинусоидальных пространствах печени у пациентов контрольной группы, не страдавших стеатогепатитом. По данным ФЦММ, медиана площади перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза легкой F1 степени составляет 12,05 (11,01; 13,97) % СПГСП (рис. 1). При умеренном F2 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе фрагменты фиброза имеют большую длину и обнаруживаются ориентировочно в 20–30 % перисинусоидальных пространств. Они напоминают изогнутые «проволочные» нити разной толщины и перпендикулярно проникают в пространства между гепатоцитами со стеатозом. Медиана площади умеренного F2 перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени составляет 17,50 (16,00; 20,65) % СПГСП (рис. 1). При тяжелом F3 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе в печеночных дольках обнаруживаются неправильной формы и разной площади островки фиброза, охватывающего фрагментарно утолщенные перисинусоидальные пространства и группы печеночных клеток со стеатозом. Медиана площади тяжелого F3 перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени составляет 23,54 (19,12; 26,47) % СПГСП (рис. 1). Обычно также обнаруживаются умеренно утолщенные из-за фиброза портальные тракты, нередко выявляются фрагменты умеренно утолщенных из-за фиброза междольковых пространств. При крайне тяжелом F4 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе или микронодулярном циррозе печени periцеллюлярного типа к умеренно утолщенным из-за фиброза портальным трактам прилежат обширные поля долькового фиброза, окружающего мелкие группы из двух-трех или более гепатоцитов со стеатозом. В остатках печеночных долек, определяемых по наличию центроло-

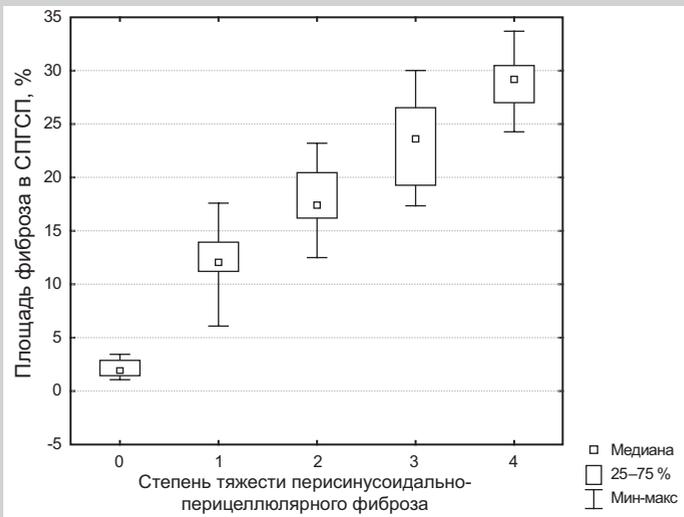


Рис. 1. Сравнение площади перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени, определяемого методом Массон-триколор в % СПГСП, при легком F1 фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 фиброзе и крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

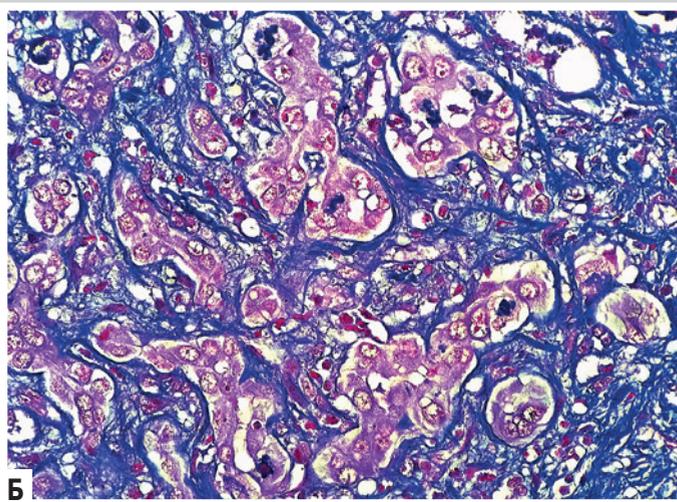
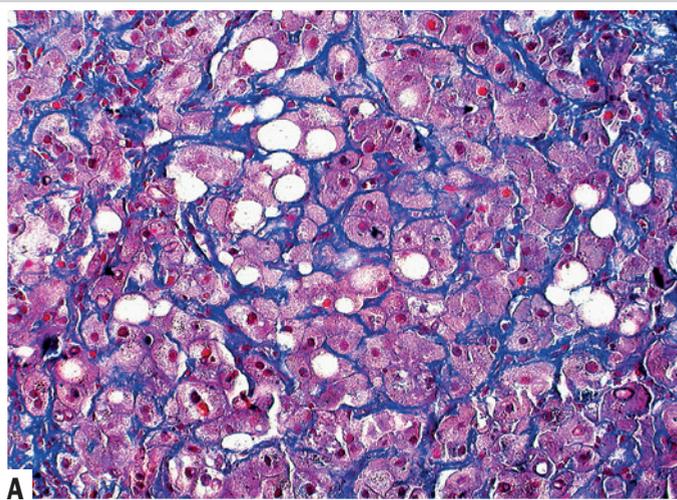


Рис. 2 (А, Б). А: тяжелый F3 periцеллюлярный фиброз печени при неалкогольном стеатогепатите; Б: крайне тяжелый F4 фиброз/цирроз печени periцеллюлярного типа при алкогольном стеатогепатите. А, Б: окраска Массон-триколор. Ув. А: $\times 200$, Б: $\times 600$.

булярной вены, определяются неправильной формы и разной площади островки тяжелого перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза с замурованными группами гепатоцитов со стеатозом. Определяемая ФЦММ медиана площади крайне тяжелого F4 перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени составляет 29,18 (26; 30,65) % СПГСП (рис. 1). Главным отличием от классического микронодулярного цирроза печени является наличие в псевдодольках полей тяжелого перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза с замурованными группами гепатоцитов со стеатозом. Эти структурные особенности позволяют отождествлять крайне тяжелый F4 перисинусоидально-periцеллюлярный фиброз с циррозом печени periцеллюлярного типа.

Результаты ФЦММ микропрепаратов, окрашенных методом Массон-триколор, показали, что увеличение площади перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени по мере возрастания степени его тяжести статистически достоверно (критерий Краскела–Уоллиса составил $H = 88,70$; $p = 0,05$).

Эволюция портально-Z3перисинусоидального фиброза печени имеет следующую динамику. При легком F1 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе при окраске Массон-триколор в печени обнаруживаются незначительно утолщенные портальные тракты, от которых радиально расходятся короткие, тонкие линейные фрагменты перисинусоидального фиброза, локализованные в Z3 зонах печеночных долек. Медиана площади незначительно утолщенных портальных трактов и перисинусоидальных пространств Z3 зон печеночных долек составляет 20,27 (18,49; 21,44) % СПГСП (рис. 3), что более чем на 60 % превышает аналогичные параметры у пациентов контрольной группы, не страдавших стеатогепатитом. При умеренном F2 и тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени отмечается дальнейшее постепенное нарастание фиброза с умеренным утолщением портальных трактов и перисинусоидальных пространств Z3 зон печеночных долек. Медиана площади умеренного F2 портально-Z3перисинусоидального фиброза составляет 22,31 (20,13; 23,47) % СПГСП, а тяжелого F3 аналогичного фиброза – 23,93 (20,96; 27,70) % СПГСП (рис. 3). Статистически достоверная разница между медианами умеренного F2 и тяжелого F3 портально-Z3перисинусоидального фиброза печени не установлена. При F4 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе/циррозе в печени обнаруживаются псевдодольки, которые формируют утолщенные из-за фиброза портальные тракты, междольковые и портально-дольковые септы. При окраске Массон-триколор в печени определяется неравномерный фиброз междольковых пространств, утолщенные из-за фиброза портальные тракты, к которым прилежат утолщенные из-за фиброза фрагменты перисинусоидальных пространств в Z3 зонах печеночных долек. Нередко утолщенные перисинусоидальные пространства в Z3 зонах печеночных долек сливаются между собой, окаймляя небольшие группы гепатоцитов со стеатозом, или формируют портально-дольковые септы. Медиана площади портально-Z3перисинусоидального фиброза возрастает и составляет 29,18 (26; 30,65) % СПГСП

(рис. 3). Сравнение площади портально-Z3перисинусоидального фиброза печени, определяемого методом Мэсон-триколор, в зависимости от степени тяжести такого фиброза отражено на рисунке 3.

По данным ФЦММ микропрепаратов, окрашенных методом Мэсон-триколор, увеличение площади портально-Z3перисинусоидального фиброза печени при возрастании степени его тяжести от F1 к F4 статистически достоверно (критерий Краскела–Уоллиса составил $N = 76,56$; $p = 0,05$).

Гистохимические, ИГХ и ЭМ исследования показали, что основными источниками развития перисинусоидально-перицеллюлярного фиброза печени являются активированные ПЗК печеночных долек, а источниками развития портально-Z3перисинусоидального фиброза печени являются, главным образом, активированные портальные МФБ, и в меньшей степени – активированные ПЗК Z3-зон печеночных долек. Основными продуцентами избытка внеклеточного молекулярно-волоконного матрикса при фиброзе печени у больных НАСГ и АСГ являются новые поколения активированных ПЗК печеночных долек и портальных МФБ, приобретающие так называемый фиброгенный иммунофенотип, о котором свидетельствует коэкспрессия ими α -изоформы гладкомышечного актина (α SMA), фасцина, виментина и отсутствие экспрессии десмина.

В соответствии с современными представлениями миофибробласты отсутствуют в нормальной печени и появляются при хронических заболеваниях печени из двух основных источников: из трансформированных ПЗК и из мезенхимных клеток портальных трактов [16]. В миофибробласты также могут активироваться клетки второго слоя вокруг центрoлобулярных вен печени, клетки среднего слоя сосудов печени и фибробласты капсулы Глиссона [17]. ПЗК в печени здорового человека экспрессируют нейронные маркеры: глиальный фибриллярный кислый пептид (GFAP), синаптофизин, рецепторы фактора роста нервов (NGF) p75 [18], а в печени лабораторных мышей и крыс – также десмин, синемин, нейротропный рецептор 75NTR, рецепторы трансформирующего фактора роста β (T β RI, -II, -III), клеточный ретинол-связывающий протеин 1 (CRBP-1), CD105/эндоглин и молекулы CD146 [19,20]. Покоящиеся ПЗК обеспечивают метаболизм ретиноидов, функции презентации антигенов и фагоцитоза [19], в культуре клеток печени мышей они характеризуются экспрессией генов Nr1d2, Adipor1, Adpf, Dbp, Prei4 и Foxj1 [21]. Активированные ПЗК приобретают высокую пролиферативную активность, утрачивают витамин А содержащие липидные капли, нейронные маркеры и трансформируются в звездчатые МФБ с экспрессией α SMA, фасцина, виментина, фибронектина, а у лабораторных животных – также десмина, матриксных металлопротеиназ (MMP)-2, -9, -14 и их тканевых ингибиторов, лизил-оксидазы, пуринергической CD39L1/нуклеозидтрифосфат-дифосфогидролазы-2, CD73/экто-5'-эктонуклеотидазы и β -рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGF β R) [20]. Для активированных звездчатых ПЗК печени мышей характерна экспрессия генов Crif1, Spp1, Lox, LoxL2, IL-17Ra, Fosl1 и Foir1 [21].

Портальные фибробласты (или резидентные

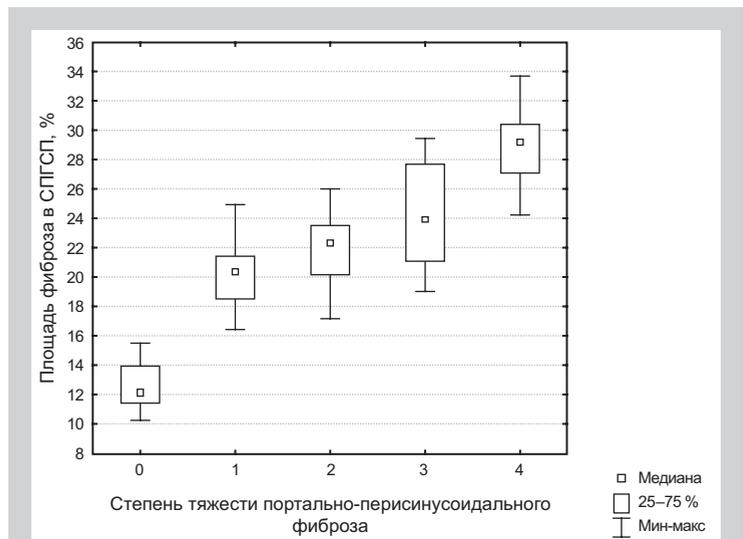


Рис. 3. Сравнение площади портально-Z3перисинусоидального фиброза печени, определяемого методом Мэсон-триколор в % СПГСР, при легком F1 фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 фиброзе и крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

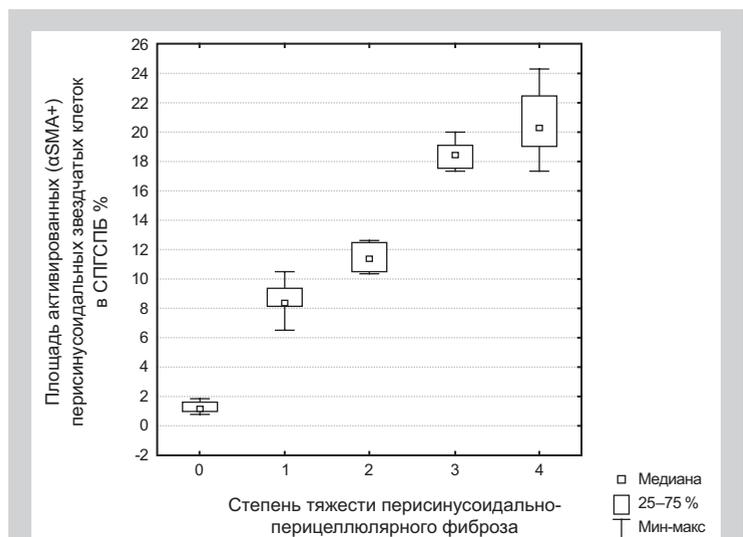


Рис. 4. Сравнение площади перисинусоидальных α SMA+ клеток печени в % СПГСР при легком F1 фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 фиброзе и крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

фибробласты портальных трактов) в небольшом количестве находятся вокруг желчных протоков и вокруг портальной вены, они поддерживают оптимальный состав межклеточного молекулярно-волоконного матрикса портальных трактов [22]. В состоянии покоя портальные фибробласты регулируют количество и функции эпителия желчных протоков путем экспрессии эктонуклеотидазы-2 (NTPDase2) и модуляции перилиарных нуклеотид-зависимых митогенных сигналов [19]. Типичными маркерами портальных фибробластов печени мышей считаются фибулин-2, IL-6, эластин и экто-энзим нуклеозидтрифосфат-дифосфогидролаза-2 (NTPD2) [23]. Активированные портальные МФБ обладают высокими пролиферативными возможностями [24], экспрессируют *de novo* α -SMA и TE-7 маркер

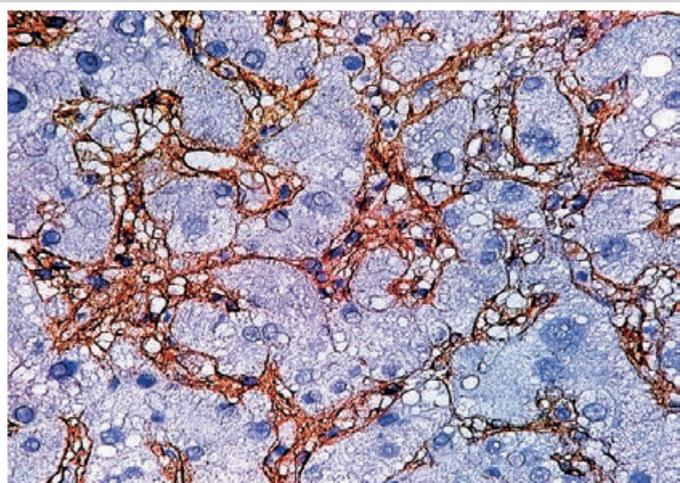


Рис. 5. Увеличенное количество α SMA+ активированных звездчатых клеток перисинусоидально-перипериллюлярной локализации при тяжелом F3 фиброзе печени. Мо а-Hu Alpha Smooth Muscle Actin (α -SMA), Clone 1A4. Ув.: $\times 600$.

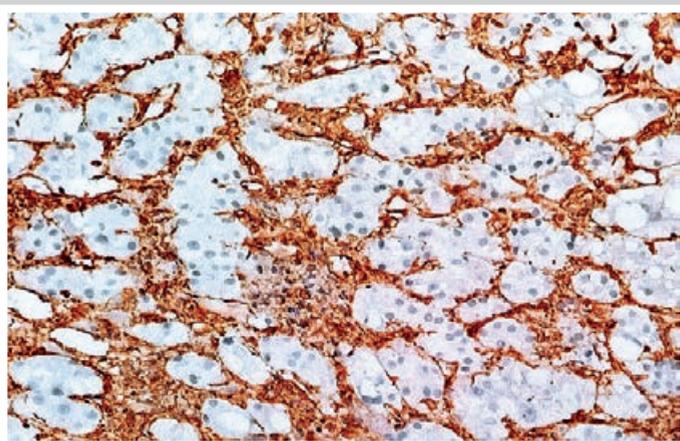


Рис. 6. Значительная экспрессия виментина в активированных звездчатых клетках и в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-перипериллюлярном матриксе печеночных долек. Мо а-Hu Vimentin, Clone V9. Ув.: $\times 200$.

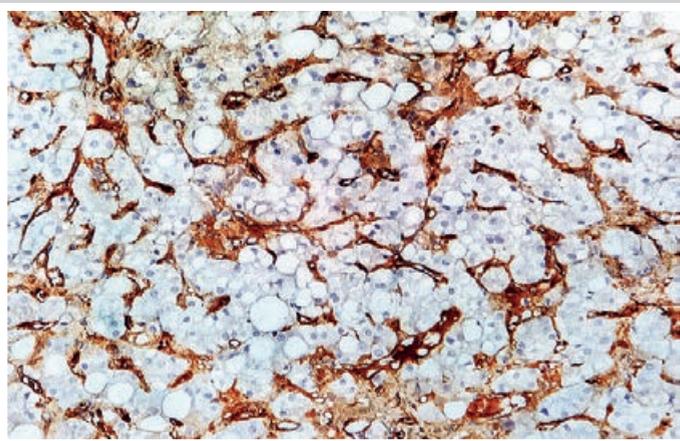


Рис. 7. Значительная экспрессия фасцина в активированных звездчатых клетках и в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-перипериллюлярном матриксе печеночных долек. Мо а-Hu Fascin Ab. Ув.: $\times 200$.

фибробластов [22], коллаген I типа [25], фибронектин, фибулин-2 и лизил-оксидазу [26].

Расширенные ИГХ исследования D. Karin et al. [18] позволили в 2016 году идентифицировать дифференциальные отличия активированных портальных МФБ и активированных ПЗК печени у экспериментальных мышей. Этими исследователями показано, что в активированных ПЗК печени мышей определяется экспрессия α SMA, эндоглина, CD73, CD146, GFAR, p75NTR, синемина и Lrat, а в активированных портальных МФБ – экспрессия α SMA, эндоглина, CD73, CD146, а также Thy1, Msln, фибулина-2, эластина, гремлина-1, аспорина. D. Karin et al. [18] постулировали положение о том, что активированные портальные МФБ синтезируют фибриллы и протеины межклеточного матрикса в портальных трактах для холангиоцитов и пролиферирующих холангиол, в то время как активированные ПЗК синтезируют фибриллы и другие молекулы межклеточного матрикса для гепатоцитов печеночных долек.

Таким образом, результаты многочисленных ИГХ исследований печени, приведенные выше, показали, что классическим и наиболее надежным маркером активированных ПЗК (звездчатых МФБ) и портальных МФБ является экспрессия ими α SMA. По данным выполненного нами ИГХ и ФЦММ анализа, у больных контрольной группы, не страдавших стеатогепатитом и фиброзом печени, единичные α SMA+ ПЗК занимали в печеночных дольках небольшую площадь, медиана которой составила 1,16 (0,92; 1,54) % СПГСП. У больных контрольной группы малочисленные портальные α SMA+ фибробласты занимали в портальных трактах печени также небольшую площадь, медиана которой составила 6,78 (5,99; 7,54) % СПГСП. Проведенные нами исследования показали, что по мере возрастания степени тяжести гепатофиброза от F1 до F4 в трепанобиоптатах печени больных стеатогепатитом не только увеличивалась площадь фиброза, но одновременно также возрастала площадь распространения α SMA-позитивных фиброгенных клеток. У больных НАСГ с перисинусоидально-перипериллюлярным фиброзом печени легкой F1 степени медиана площади α SMA+ ПЗК составляла 8,39 (7,96; 9,40) % СПГСП, при перисинусоидально-перипериллюлярном фиброзе умеренной F2 степени тяжести медиана площади α SMA+ ПЗК составляла 11,40 (10,44; 12,42) % СПГСП, при тяжелой F3 степени фиброза она возрастала до 18,46 (17,53; 19,22) % СПГСП, а в группе F4 фиброз/цирроз печени перисинусоидального типа медиана площади α SMA+ ПЗК достигала 19,79 (18,20; 21,07) % СПГСП (рис. 4). Таким образом, по мере прогрессирования степени тяжести перисинусоидально-перипериллюлярного фиброза от F1 до F4 наблюдалось достоверное увеличение площади, занимаемой в дольках α SMA+ ПЗК (значение критерия Краскела-Уоллиса $H = 45,12$; $p = 0,05$).

При умеренном F2 перисинусоидально-перипериллюлярном фиброзе печени при ЭМ в перисинусоидальных пространствах долек печени между эндотелиальными клетками и гепатоцитами обнаруживаются пучки коллагеновых волокон, которые распространяются между гепатоцитами и окружают гепатоциты с жировой дистрофией.

При тяжелом F3 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе печени при ИГХ исследованиях обнаруживается гиперплазия α SMA+ ПЗК перисинусоидально-periцеллюлярной локализации (рис. 5), а также значительная экспрессия виментина (рис. 6) и фасцина (рис. 7) в ПЗК и в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-periцеллюлярном матриксе печеночных долек.

В гепатобиоптатах печени больных НАСГ при портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени легкой F1 степени медиана площади портальных МФБ и α SMA+ ПЗК Z3 зон печеночных долек составляла 10,95 (10,09; 11,81) % СПГСП, при умеренной F2 степени – повышалась до 12,22 (11,41; 14,58) % СПГСП, при тяжелой F3 степени аналогичного фиброза печени – увеличивалась до 19,79 (18,44; 21,05) % СПГСП, а при крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени достигала 20,24 (18,64; 22,48) % СПГСП (рис. 8). Одновременно отмечалось увеличение площади экспрессии виментина и фасцина в клетках портальных трактов и перисинусоидальных пространствах Z3 зон печеночных долек. Эти данные свидетельствуют о том, что прогрессирование степени тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза печени от F1 до F4 у больных НАСГ происходит за счет активированных коллаген-продуцирующих портальных МФБ и ПЗК перипортальных Z3 зон печеночных долек, занимающих в этих структурах печени достоверно большую площадь (значение критерия Краскела–Уоллиса – $N = 43,18$; $p = 0,05$). Одновременно необходимо отметить отсутствие достоверной разницы между площадями, занимаемыми α SMA-позитивными фиброгенными клетками при F1 и F2 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени. Это может свидетельствовать о том, что при возрастании тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза от F1 до F2 не происходит достоверного увеличения числа активированных α SMA-позитивных клеток, а, вероятнее всего, имеет место усиление синтеза этими клетками коллагена и других молекул внеклеточного матрикса в зонах фиброза.

При умеренном F2 и тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени при ЭМ в портальных трактах регистрируется повышенное количество миофибробластов, между которыми локализованы пучки коллагеновых волокон и участки аморфного межклеточного матрикса средней электронной плотности (рис. 9).

В зонах перисинусоидально-periцеллюлярного и в Z3 зонах портально-перисинусоидального фиброза печени F2, F3, F4 степени тяжести определяется экспрессия фибронектина, который синтезируется гепатоцитами и связывается с проколлагеновыми фибриллами, изменяя их структуру в periцеллюлярном матриксе. Исследования фибронектина в культуре портальных фибробластов и звездчатых клеток крыс при экспериментальном фиброзе печени показали, что внеклеточный домен-A фибронектина усиливает подвижность звездчатых клеток и не влияет на их дифференцировку в миофибробласты [27].

Опубликованные нами результаты ИГХ и ФЦММ исследований [28] показали, что у больных неалкогольным стеатогепатитом по мере возрастания фиброза

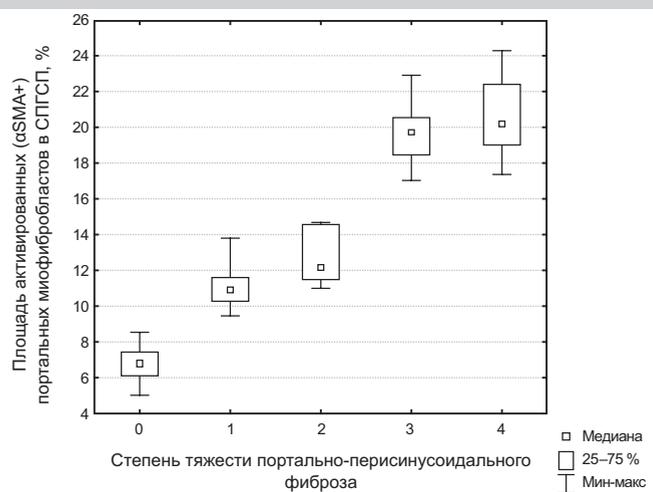


Рис. 8. Сравнение площади α SMA+ портальных миофибробластов и перисинусоидальных α SMA+ звездчатых клеток Z3 зон печеночных долек в % СПГСП при легком F1 перисинусоидально-Z3periцеллюлярном фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 и крайне тяжелом F4 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

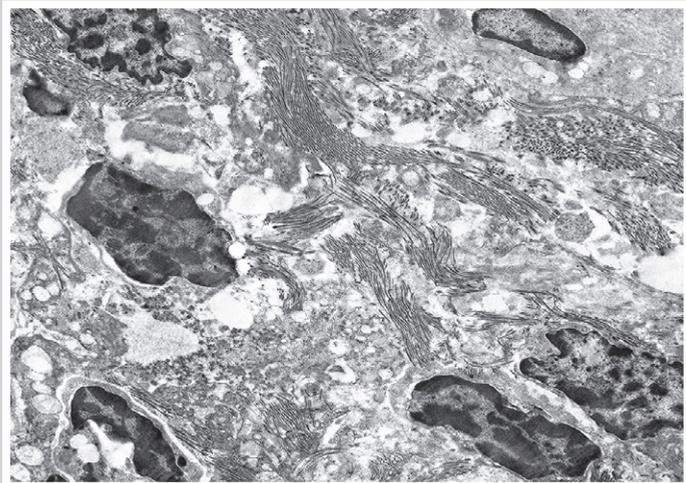


Рис. 9. Повышенное количество коллагеновых волокон и миофибробластов в портальном тракте при тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе при неалкогольном стеатогепатите. Ув.: $\times 3200$.

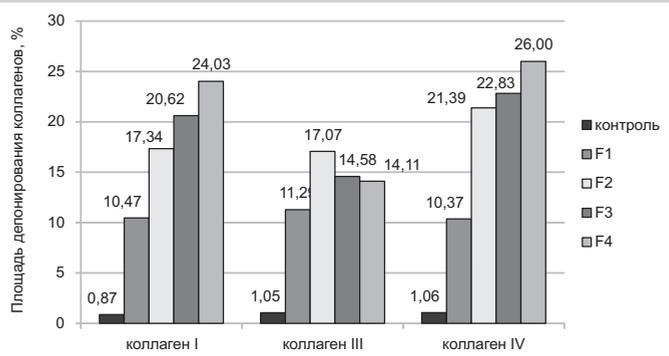


Рис. 10. Медиана площади депонирования коллагена I, III и IV типа в зависимости от степени тяжести перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

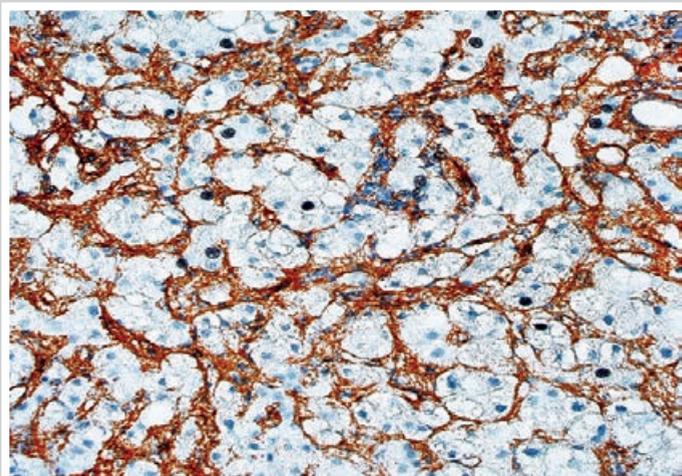


Рис. 11. Значительное депонирование коллагена IV типа при тяжелом F3 перисинусоидально-перицеллюлярном фиброзе печени у больного неалкогольным стеатогепатитом. Мо а-Hu Collagen type IV Ab-3, clone CIV 22 + PHM 12. Ув.: ×200.

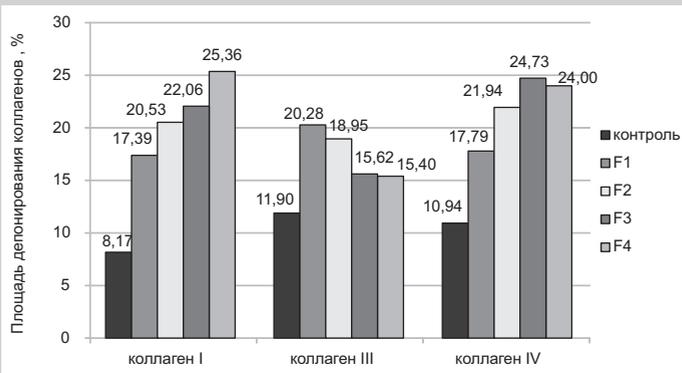


Рис. 12. Медиана площади депонирования коллагена I, III и IV типа в зависимости от степени тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

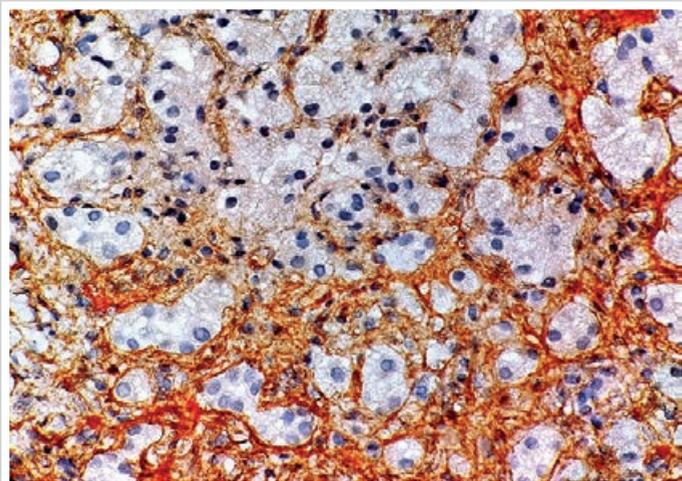


Рис. 13. Значительное депонирование коллагена IV типа в Z3 зоне печеночной дольки при тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени у больного алкогольным стеатогепатитом. Мо а-Hu Collagen type IV Ab-3, clone CIV 22 + PHM 12. Ув.: ×200.

печени от легкой F1 степени через среднюю F2 степень тяжести к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу печени, а также в зависимости от типа фиброза в печени статистически достоверно увеличиваются площади депонирования коллагена I, III и IV типа перисинусоидально-перицеллюлярной локализации или портально-Z3перисинусоидальной локализации (рис. 10).

При ИГХ исследовании значительное депонирование коллагена I, III и IV типа наблюдается в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-перицеллюлярном матриксе печеночных долек (рис. 11).

У больных НАСГ при F4 фиброзе/циррозе печени перицеллюлярного типа депонирование коллагена I и IV типа достигает максимума, при этом площадь депонирования фибриллярного коллагена I типа более чем на 50 % превышает площадь депонирования фибриллярного коллагена III типа.

По мере прогрессирования портально-Z3перисинусоидального фиброза от слабого (F1), к умеренному (F2) и тяжелому (F3) в зонах фиброза печени возрастает депонирование коллагена I и IV типа, площадь которых более чем в 2 раза превышает нормальные величины; при этом возрастание отложения коллагена III типа замедляется, оставаясь на 30 % повышенным в сравнении с нормальными величинами [28] (рис. 12).

При F4 фиброзе/циррозе печени портально- Z3перисинусоидального типа площадь депонирования коллагена I типа также достигает максимума, в то время как площадь депонирования коллагена III и IV типа стабилизируется на уровне тяжелого F3 фиброза печени (рис. 12). При ИГХ исследовании обнаруживается значительное депонирование коллагена I, III и IV типа в расширенных портальных трактах и в перипортальных Z3 зонах печеночных долек (рис. 13).

Чем же объяснить доминирование перицеллюлярного компонента в перисинусоидально-перицеллюлярном фиброзе печени при НАСГ и АСГ, отличающего его от фиброза печени при вирусном гепатите? При сравнительном ИГХ анализе фиброза печени у больных ХВГС и ХВГВ, а также фиброза печени у больных НАСГ и АСГ выяснено, что фиброз печени у больных НАСГ и АСГ отличается более значительная активация и значительно большее число активированных CD-68 позитивных макрофагов, накапливающихся в локусах максимально выраженного стеатоза, баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов (рис. 14А). Отростки активированных макрофагов охватывают гепатоциты, распадающиеся путем некроптоза и баллонного стеатонекроза. При стеатогепатите в дольках печени появляется множество S100 (клон А4) позитивных макрофагов (рис. 14Б), которые, по данным L Chen et al. [29], секретируют белок S100A4, активирующий ПЗК печени. Эти активирующие макрофаги, скорее всего, не соответствуют ни типу M1, ни типу M2 поляризации макрофагов в классификации P. J. Murray et al. [30]. Сведения о наличии широкого спектра активированных макрофагов, которые не соответствуют ни типу M1, ни типу M2, освещены также другими авторами [31].

Сравнительный анализ морфогенеза фиброза печени при вирусном гепатите и при НАСГ и АСГ убеж-

дает в том, что в развитии фиброза печени при вирусном гепатите ведущую роль играет иммунноклеточная деструкция гепатоцитов и активация фиброгенных клеток цитокинами лимфоцитов. Прогрессирующий перисинусоидально-periцеллюлярный фиброз печени у больных стеатогепатитом отличается от прогрессирующего центрлобулярно-перисинусоидального фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом, описанного нами ранее [32], прежде всего динамичным возрастанием взаимосвязанного перисинусоидального и periцеллюлярного фиброза, а также отсутствием нарастания линейно-радиального перисинусоидального фиброза и циркулярного фиброза вокруг центрлобулярных вен. При НАСГ и АСГ, в дополнение к активации профиброгенных ПЗК и портальных МФБ, активными радикалами кислорода и продуктами перекисидации липидов, выделяемыми в межклеточное пространство гепатоцитами при оксидативном стрессе, стрессе эндоплазматической сети, а также при некроптозе и некрозе гепатоцитов [5], важнейшую роль играет экзосомальное привлечение макрофагов в зоны баллонного лизиса и некроптоза гепатоцитов [33,34], а также локальная экзосомально-цитокиновая активация перисинусоидальных звездчатых клеток.

Р. Hirsova et al. [35] обратили внимание на то, что при стеатогепатите гепатоциты и макрофаги могут взаимодействовать через внеклеточные везикулы, высвобождаемые гепатоцитами и активирующими макрофаги к продукции провоспалительных цитокинов.

Окаймленные мембраной внеклеточные везикулы служат в качестве челноков для мембранной и цитозольной взаимосвязи между клетками, они могут либо отшнуровываться от плазматической мембраны (микропузырьки), либо образовываться внутриклеточно в виде мультивезикулярной эндосомы, которая затем секретируется из клетки (экзосомы) [34]. Экзосомы содержат ферменты, белки мембранного транспорта, белки теплового шока (HSP60, HSP70, HSP90), белки главного комплекса гистосовместимости, сигнальные Wnt-белки, аннексины, антиапоптотические и ростовые факторы, цитокины, ДНК, матричные РНК, микроРНК, влияющие на экспрессию генов в клетках-мишенях, а также липиды, участвующие в реорганизации клеточ-

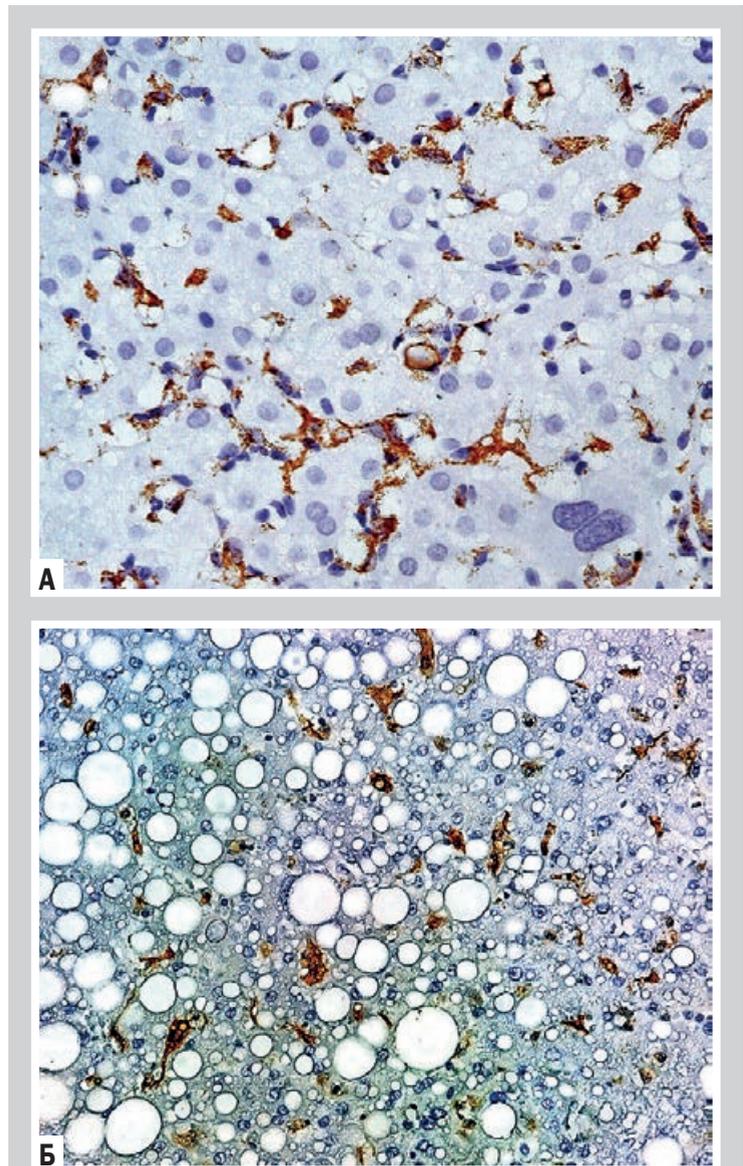


Рис. 14 (А, Б). А. Большое число активированных CD-68 позитивных макрофагов в зонах максимально выраженного стеатоза гепатоцитов у больного неалкогольным стеатогепатитом. Б. S100 (клон А4) позитивные макрофаги в дольке печени больного неалкогольным стеатогепатитом. А: *Mo a-Hu CD68, Clone PG-M1*. Б: *Rb a-Hu S100, Clone A4*. Ув. А: $\times 400$, Б: $\times 200$.

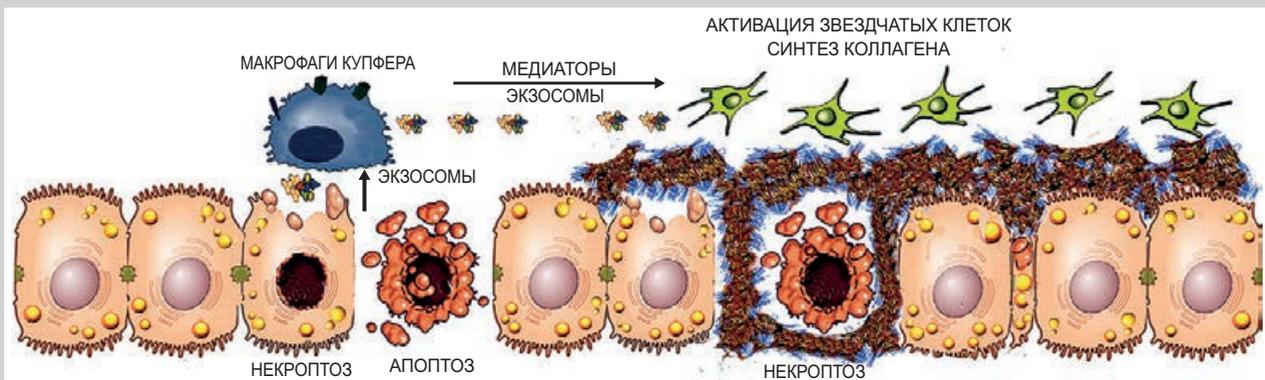


Рис. 15. Схема экзосомального привлечения макрофагов в локусы баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, а также локальной экзосомально-цитокиновой активации перисинусоидальных звездчатых клеток при алкогольном и неалкогольным стеатогепатите. Элементы графики из статьи М. А. Barnes et al. [47].

ных мембран и липиды-носители микроРНК [36]. При НАСГ и АСГ экзосомы освобождают в межклеточный сектор печени гепатоциты и макрофаги, а также в кровь – моноциты [37,38].

Экзосомы захватывают эндоцитозом различные типы клеток печени: макрофаги Купфера, моноцитарные макрофаги и перисинусоидальные звездчатые клетки [36]. Макрофаги Купфера (резидентные печеночные макрофаги) продуцируют реакционно-способные виды кислорода, провоспалительный туморонекротический фактор α (TNF- α) и макрофагальный воспалительный белок MIP-1, интерлейкины (IL-1 β , IL-6), а также профиброгенный TGF- β , под влиянием которых звездчатые клетки печени приобретают фиброгенный фенотип миофибробластов [2,5,39]. Одновременно с этим экзосомы опосредуют перенос между перисинусоидальными звездчатыми клетками фактора роста соединительной ткани (CCN2) [40] и микроРНК [41], которая вызывает эпигенетическую модуляцию синтеза звездчатыми клетками этого фактора роста соединительной ткани [42].

Макрофаги Купфера стимулируют фиброгенез не только путем активации звездчатых клеток печени, но и путем активации притока в печень (через цистеин-цистеиновые хемокиноподобные лиганды 2 и 5 (CCL2 и CCL5)) костномозговых моноцитов, которые в зависимости от молекулярно-клеточного микроокружения дифференцируются в моноцитарные провоспалительно-профиброгенные макрофаги Ly6C^{high}, участвующие в прогрессии фиброза, или противовоспалительно-фибролитические макрофаги Ly6C^{low}, участвующие в разрешении фиброза печени [43–45].

Таким образом, значительное увеличение числа активированных CD-68 позитивных макрофагов в очагах интенсивного стеатоза гепатоцитов и появление S100 (A4) позитивных макрофагов, которые активируют звездчатые клетки, а также данные других исследователей дают основание полагать, что феномен перичеллюлярности фиброза печени при НАСГ и АСГ обусловлен экзосомальным привлечением макрофагов в зоны баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, а также локальной экзосомально-цитокинной активацией ПЗК фиброгенного типа (*рис. 15*).

Феномен перичеллюлярности отличает оба типа фиброза печени у больных НАСГ и АСГ от фиброза печени у больных ХВГС и ХВГВ, для которых характерен перисинусоидально-центролобулярный или портально-септальный фиброз печени [32,46].

Выводы

1. У больных НАСГ и АСГ может развиваться и прогрессировать один из двух основных типов фиброза печени: перисинусоидально-перичеллюлярный и портально-ЗЗперисинусоидальный фиброз, источником развития которых являются новые поколения α SMA+ звездчатых клеток и α SMA+ портальных миофибробластов. О фиброгенном иммунофенотипе этих клеток свидетельствует коэкспрессия ими α -изоформы гладкомышечного актина (α SMA), фасцина, виментина и отсутствие экспрессии десмина.

2. По мере прогрессирования перисинусоидально-перичеллюлярного фиброза от легкой F1 степени, через среднюю F2 степень тяжести к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу перичеллюлярного типа в печени статистически достоверно возрастает площадь Мэсон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнутого матрикса (значение критерия Краскела-Уоллиса – $N = 88,70$; $p = 0,05$) и площадь α SMA+ коллаген-продуцирующих звездчатых клеток перисинусоидально-перичеллюлярной локализации (значение критерия Краскела-Уоллиса – $N = 45,12$; $p = 0,05$).

3. По данным фотоцифровой морфометрии, при возрастании степени тяжести портально-ЗЗперисинусоидального фиброза печени от F1 к F4 в зонах фиброза статистически достоверно возрастает площадь Мэсон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнутого матрикса (значение критерия Краскела-Уоллиса – $N = 76,56$; $p = 0,05$), а также площадь активированных α SMA+ коллаген-продуцирующих портальных миофибробластов и перисинусоидальных звездчатых клеток ЗЗ зон печеночных долек (значение критерия Краскела-Уоллиса – $N = 43,18$; $p = 0,05$).

4. В феномене перичеллюлярности фиброза печени у больных неалкогольным и алкогольным стеатогепатитом важную роль играют CD68+ и S100+ макрофаги в локусах максимального стеатоза, баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, локально активирующие перисинусоидальные звездчатые клетки фиброгенного типа.

Список литературы

- [1] Степанов Ю.М. Стеатоз і стеатогепатит – тригери печінкового фіброгенезу? / Ю.М. Степанов, О.Ю. Філіппова // Гастроентерологія. – 2013. – №2(48). – С. 97–106.
- [2] Hepatic fibrosis: Concept to treatment / Ch. Trautwein, S.L. Friedman, D. Schuppan et al. // J Hepatol. – 2015. – Vol. 62. – Suppl.1. – P. 15–24.
- [3] Schuppan D. Liver fibrosis: common mechanisms and antifibrotic therapies / D. Schuppan // Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 39. – Suppl.1. – P. 51–59.
- [4] Caligiuri A. Molecular Pathogenesis of NASH / A. Caligiuri, A. Gentilini, F. Marra // Int J Mol Sci. – 2016. – Vol. 17(1575). – P. 1–32.
- [5] Takaki A. Molecular mechanisms and new treatment strategies for nonalcoholic steatohepatitis (NASH) / A. Takaki, D. Kawai, K. Yamamoto // Int J Mol Sci. – 2014. – Vol. 15. – P. 7352–7379.
- [6] Pathophysiology and management of alcoholic liver disease: update 2016 / F. Stickel, C. Datz, J. Hampe et al. // Gut Liver. – 2017. – Vol. 11(2). – P. 173–188.
- [7] Intestinal permeability in non-alcoholic fatty liver disease: the gut-liver axis / E. Scarpellini, M. Luppo, C. Iegri et al. // Rev Recent Clin Trials. – 2014. – Vol. 9. – P. 141–147.
- [8] Fukui H. Gut Microbiota and host reaction in liver diseases / H. Fukui // Microorganisms. – 2015. – Vol. 3(4). – P. 759–791.
- [9] Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis / T. Kisseleva, H. Uchinami, N. Feirt et al. // J. Hepatol. – 2006. – Vol. 45(3). – P. 429–438.
- [10] Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions / E.M. Brunt, C.G. Janney, A.M. di Bisceglie et al. // Am J Gastroenterol. – 1999. – Vol. 94. – P. 2467–2474.
- [11] Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease / D.E. Kleiner, E.M. Brunt, M. Van Natta et al. // Hepatology. – 2005. – Vol. 41. – P. 1313–1321.
- [12] The Laennec staging system for histological sub-classification of cirrhosis is useful for stratification of prognosis in patients with liver cirrhosis / S.U. Kim, H.J. Oh, I.R. Wanless et al. // J Hepatol. – 2012. – Vol. 57(3). – P. 556–563.
- [13] EASL-ALEH Clinical practice guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis / L. Castera, H.L. Yuen Chan, M. Arrese, et al. // J Hepatol. – 2015. – Vol. 63(1). – P. 237–264.

- [14] The diagnosis and management of non-alcoholic liver disease: practice guidelines by the American association for the study of liver diseases, American college of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association / N. Chalaszi, Z. Younossi, J.E. Lavine, A.M. Diehl et al. // *Am J Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 7(6). – P. 811–826.
- [15] Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings / E.M. Brunt, D.E. Kleiner, L.A. Wilson et al. // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 53. – P. 810–820.
- [16] Origins and functions of liver myofibroblasts / S. Lemoine, A. Cadoret, H. el Mourabit et al. // *BBA.* – 2013. – Vol. 1832(7). – P. 948–954.
- [17] Lepreux S. Human liver myofibroblasts during development and diseases with a focus on portal (myo)fibroblasts / S. Lepreux, A. Desmoulière // *Front Physiol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 173.
- [18] The characteristics of activated portal fibroblasts/myofibroblasts in liver fibrosis / D. Karin, Yu. Koyama, D. Brenner et al. // *Dif.* – 2016. – Vol. 92. – Issue 3. – P. 84–92.
- [19] Fausther M. Contribution of myofibroblasts of different origins to liver fibrosis / M. Fausther, E.G. Lavoie, J.A. Dranoff // *Curr Pathobiol Rep.* – 2013. – Vol. 1(3). – P. 225–230.
- [20] The types of hepatic myofibroblasts contributing to liver fibrosis of different etiologies / J. Xu, X. Liu, Y. Koyama et al. // *Front Pharmacol.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 167.
- [21] Reversibility of liver fibrosis and inactivation of fibrogenic myofibroblasts / X. Liu, J. Xu, D.A. Brenner et al. // *Curr. Pathobiol. Rep.* – 2013. – Vol. 1. – P. 209–214.
- [22] Dranoff J.A. Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis / J.A. Dranoff, R.G. Wells // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 51(4). – P. 1438–1444.
- [23] Wells R.G. The portal fibroblast— not just a poor man's stellate cell / R.G. Wells // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 147(1). – P. 41–47.
- [24] Distinct proteomic features of two fibrogenic liver cell populations: hepatic stellate cells and portal myofibroblasts / N. Bosselut, C. Housset, P. Marcello et al. // *Proteomics.* – 2010. – Vol. 10(5). – P. 1017–1028.
- [25] Comparative proteomic analysis of rat hepatic stellate cell activation: a comprehensive view and suppressed immune response / J. Ji, F. Yu, Q. Ji, et al. // *Hepatology.* – 2012. – Vol. 56(1). – P. 332–349.
- [26] Hepatic stellate cells and portal fibroblasts are the major cellular sources of collagens and lysyl oxidases in normal liver and early after injury / M. Perepelyuk, M. Terajima, A.Y. Wang et al. // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2013. – Vol. 304(6). – P. 605–614.
- [27] Fibronectin extra domain-A promotes hepatic stellate cell motility but not differentiation into myofibroblasts / A.L. Olsen, B.K. Sackey, C. Marcinkiewicz et al. // *Gastroenterology.* – 2012. – Vol. 142(4). – P. 928–937.
- [28] Фень С.В. Иммуногистохимическая характеристика депонирования коллагена I, III, IV типа в динамике прогрессирования основных типов фиброза печени у больных неалкогольным стеатогепатитом / С.В. Фень // *Морфология.* – 2017. – Т. 11. – №3. – С. 29–38.
- [29] S100A4 promotes liver fibrosis via activation of hepatic stellate cells / L. Chen, J. Li, J. Zhang, et al. // *J Hepatol.* – 2015. – Vol. 62(1). – P. 156–164.
- [30] Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines / P.J. Murray, J.E. Allen, S.K. Biswas et al. // *Immunity.* – 2014. – Vol. 41(1). – P. 14–20.
- [31] Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation / J. Xue, S.V. Schmidt, J. Sander et al. // *Immunity.* – 2014. – Vol. 40(2). – P. 274–288.
- [32] Туманский В.А. Перисинусоидально-цетрлобулярный фиброз печени: особенности морфогенеза и параметры прогрессии / В.А. Туманский, Ю.А. Шебеко // *Патология.* – 2012. – №3. – С. 59–64.
- [33] Szabo G. Inflammasome activation and function in liver disease / G. Szabo, J. Petrasek // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2015. – Vol. 12. – P. 387–400.
- [34] Schattenberg J.M. Extracellular vesicles as messengers between hepatocytes and macrophages in nonalcoholic steatohepatitis / J.M. Schattenberg, M.S. Lee // *Gastroenterology.* – 2016. – Vol. 150(4). – P. 815–818.
- [35] Lipid-induced signaling causes release of inflammatory extracellular vesicles from hepatocytes / P. Hirsova, S.H. Ibrahim, A. Krishnan et al. // *Gastroenterology.* – 2016. – Vol. 150. – P. 956–967.
- [36] Exosomes in liver pathology / K. Sato, F. Meng, S. Glaser et al. // *J Hepatol.* – 2016. – Vol. 65(1). – P. 213–221.
- [37] Increased number of circulating exosomes and their microRNA cargos are potential novel biomarkers in alcoholic hepatitis / F. Momen-Heravi, B. Saha, K. Kodys, et al. // *J Transl Med.* – 2015. – Vol. 13(261). – P. 1–13.
- [38] Alcohol stimulates macrophage activation through caspase dependent hepatocyte derived release of CD40L containing extracellular vesicles / V.K. Verma, H. Li, R. Wang, et al. // *J Hepatol.* – 2016. – Vol. 64. – P. 651–660.
- [39] Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice / J.P. Pradere, J. Kluge, S. De Minicis, et al. // *Hepatology.* – 2013. – Vol. 58(4). – P. 1461–1473.
- [40] Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver / A. Charrier, R. Chen, L. Chen, et al. // *Surgery.* – 2014. – Vol. 156. – P. 548–555.
- [41] Chen L. Integrins and heparan sulfate proteoglycans on hepatic stellate cells (HSC) are novel receptors for HSC-derived exosomes / L. Chen, D.R. Brigstock // *FEBS Lett.* – 2016. – Vol. 590(23). – P. 4263–4274.
- [42] Epigenetic regulation of connective tissue growth factor by microRNA-214 delivery in exosomes from mouse or human hepatic stellate cells / L. Chen, A. Charrier, Y. Zhou, et al. // *Hepatology.* – 2014. – Vol. 59. – P. 1118–1129.
- [43] Marra F. Roles for chemokines in liver disease / F. Marra, F. Tack // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 147. – P. 577–594.
- [44] Tack F. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis / F. Tack, H.W. Zimmermann // *J Hepatol.* – 2014. – Vol. 60. – P. 1090–1096.
- [45] Hepatitis C virus-induced CCL5 secretion from macrophages activates hepatic stellate cells / R. Sasaki, P.B. Devhare, R. Steele et al. // *Hepatology.* – 2017. – Vol. 66(3). – P. 746–757.
- [46] Гаврилюк А.О. Гістологічні і імуногістохімічні ознаки ймовірного прогресування фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит В, С і В+С / А.О. Гаврилюк // *Світ медицини та біології.* – 2012. – №3. – С. 25–29.
- [47] Barnes M.A. Innate immunity and cell death in alcoholic liver disease: Role of cytochrome P4502E1 / M.A. Barnes, S. Roychowdhury, L.E. Nagy // *Redox Biology.* – 2014. – Vol. 2. – P. 929–993.

References

- [1] Stepanov, Yu. M., & Filippova, O. Yu. (2013) Steatoz i steatohepatyt – tryhery pechinkovoho fibrohenezu? [Are steatosis and steatohepatitis triggers of hepatic fibrogenesis?]. *Hastroenterolohiia*, 2(48), 97–106. [in Ukrainian].
- [2] Trautwein, Ch., Friedman, S. L., Schuppan, D., & Pinzani, M. (2015) Hepatic fibrosis: Concept to treatment. *J Hepatol.* 62(1), 15–24. doi: 10.1016/j.jhep.2015.02.039.
- [3] Schuppan, D. (2015) Liver fibrosis: common mechanisms and antifibrotic therapies. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 39(1), 51–59. doi: 10.1016/j.clinre.2015.05.005.
- [4] Caligiuri, A., Gentilini, A., & Marra, F. (2016) Molecular Pathogenesis of NASH. *Int J Mol Sci*, 17(1575), 1–32. doi: 10.3390/ijms17091575.
- [5] Takaki, A., Kawai, D., & Yamamoto, K. (2014) Molecular mechanisms and new treatment strategies for nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*, 15, 7352–7379. doi: 10.3390/ijms15057352.
- [6] Stickel, F., Datz, C., Hampe, J., & Bataller, R. (2017) Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut Liver*, 11(2), 173–188. doi: 10.5009/gnl16477.
- [7] Scarpellini, E., Lupo, M., Iegri, C., Gasbarrini, A., De Santis, A., & Tack, J. (2014) Intestinal permeability in non-alcoholic fatty liver disease: the gut-liver axis. *Rev Recent Clin Trials*, 9, 141–147. doi: 10.2174/1574887109666141216104334.
- [8] Fukui, H. (2015) Gut Microbiota and Host Reaction in Liver Diseases. *Microorganism*, 3(4), 759–791. doi: 10.3390/microorganisms3040759.
- [9] Kisseleva, T., Uchinami, H., Feirt, N., Quintana-Bustamante, O., Segovia, J. C., Schwabe, R.F., & Brenner, D. A. (2006) Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol*, 45(3), 429–438. doi: 10.1016/j.jhep.2006.04.014.
- [10] Brunt, E. M., Janney, C. G., Di Bisceglie, A. M., Neuschwander-Tetri, B. A., & Bacon, B. R. (1999) Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 94, 2467–2474. doi: 10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x.
- [11] Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., et al. (2005) Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 41, 1313–1321. doi: 10.1002/hep.20701.
- [12] Kim, S. U., Oh, H. J., Wanless, I. R., Lee, S., Han, K. -H., & Park, Y. N. (2012) The Laennec staging system for histological sub-classification of cirrhosis is useful for stratification of prognosis in patients with liver cirrhosis. *J Hepatol*, 57(3), 556–563. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.029.
- [13] Castera, L., Yuen Chan, H. L., Arrese, M., Afdhal, N., Bedossa, P., Friedrich-Rust, M., et al. (2015) EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*, 63(1), 237–264. doi: 10.1016/j.jhep.2015.04.006.
- [14] Chalaszi, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., et al. (2012) The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Liver Disease: Practice Guidelines by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol*, 7(6), 811–826. doi: 10.1038/ajg.2012.128.
- [15] Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Wilson, L. A., Belt, P., & Neuschwander-Tetri, B. A. (2011) Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*, 53, 810–820. doi: 10.1002/hep.24127.

- [16] Lemoine, S., Cadoret, A., El Mourabit, H., Thabut, D., & Housset, Ch. (2013) Origins and functions of liver myofibroblasts. *BBA*, 1832(7), 948–954. doi: 10.1016/j.bbdis.2013.02.019.
- [17] Lepreux, S., & Desmoulière, A. (2015) Human liver myofibroblasts during development and diseases with a focus on portal (myo)fibroblasts. *Front Physiol*, 6, 173. doi: 10.3389/fphys.2015.00173.
- [18] Karin, D., Koyama, Yu, Brenner, D., & Kisseleva, T. (2016) The characteristics of activated portal fibroblasts/myofibroblasts in liver fibrosis. *Differentiation*, 92(3), 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.diff.2016.07.001>.
- [19] Fausther, M., Lavoie, E. G., & Dranoff, J. A. (2013) Contribution of Myofibroblasts of Different Origins to Liver Fibrosis. *Curr Pathobiol Rep*, 1(3), 225–230. doi: 10.1007/s40139-013-0020-0.
- [20] Xu, J., Liu, X., Koyama, Y., Wang, P., Lan, T., Kim, I-G., et al. (2014) The types of hepatic myofibroblasts contributing to liver fibrosis of different etiologies. *Front Pharmacol*, 5, 167. doi: 10.3389/fphar.2014.00167.
- [21] Liu, X., Xu, J., Brenner, D. A., & Kisseleva, T. (2013) Reversibility of Liver Fibrosis and Inactivation of Fibrogenic Myofibroblasts. *Curr Pathobiol Rep*, 1, 209–214. doi: 10.1007/s40139-013-0018-7.
- [22] Dranoff, J. A., & Wells, R. G. (2010) Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis. *Hepatology*, 51(4), 1438–1444. doi: 10.1002/hep.23405.
- [23] Wells, R. G. (2014) The Portal Fibroblast – Not Just a Poor Man's Stellate Cell. *Gastroenterology*, 147(1), 41–47. doi: 10.1053/j.gastro.2014.05.001.
- [24] Bosselut, N., Housset, C., Marcello, P., Rey, C., Burmester, T., Vinh, J., et al. (2010) Distinct proteomic features of two fibrogenic liver cell populations: hepatic stellate cells and portal myofibroblasts. *Proteomics*, 10(5), 1017–1028. doi: 10.1002/pmic.200900257.
- [25] Ji, J., Yu, F., Ji, Q., Li, Z., Wang, K., Zhang, J., et al. (2012) Comparative proteomic analysis of rat hepatic stellate cell activation: a comprehensive view and suppressed immune response. *Hepatology*, 56(1), 332–349. doi: 10.1002/hep.25650.
- [26] Perepelyuk, M., Terajima, M., Wang, A. Y., Georges, P. C., Janmey, P. A., Yamauchi, M., & Wells, R. G. (2013) Hepatic stellate cells and portal fibroblasts are the major cellular sources of collagens and lysyl oxidases in normal liver and early after injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 304(6), 605–614. doi: 10.1152/ajpgi.00222.2012.
- [27] Olsen, A. L., Sackey, B. K., Marcinkiewicz, C., Boettiger, D., & Wells, R. G. (2012) Fibronectin extra domain-A promotes hepatic stellate cell motility but not differentiation into myofibroblasts. *Gastroenterology*, 142(4), 928–937. e3. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.038.
- [28] Fen', S. V. (2017) Immunogistokhimicheskaya kharakteristika deponirovaniya kollagena I, III, IV tipa v dinamike progressirovaniya osnovnykh tipov fibroza pecheni u bol'nykh nealkogol'nym steatogepatitisom [Immunohistochemical characteristics of collagen I, III, IV type deposition in the dynamics of progressing of the basic types of liver fibrosis in patients with non-alcohol steatohepatitis]. *Morphologiya*, 11(3), 29–38. [in Russian].
- [29] Chen, L., Li, J., Zhang, J., Dai, C., Liu, X., Wang, J., et al. (2015) S100A4 promotes liver fibrosis via activation of hepatic stellate cells. *J Hepatol*, 62(1), 156–164. doi: 10.1016/j.jhep.2014.07.035.
- [30] Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdt, S., et al. (2014) Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 41(1), 14–20. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
- [31] Xue, J., Schmidt, S. V., Sander, J., Draffehn, A., Krebs, W., Quester, I., et al. (2014) Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation. *Immunity*, 40(2), 274–288. doi: 10.1016/j.immuni.2014.01.006.
- [32] Tumansky, V. A., & Shebeko, Yu. A. (2012) Perisinusoidal/centrolobuljarnyj fibroz pecheni: osobennosti morfogeneza i parametry progressii [Perisinusoidal-centrolobular liver fibrosis: features of morphogenesis and progression parameters]. *Pathologia*, 3, 59–64. [in Russian].
- [33] Szabo, G., & Petrasek, J. (2015) Inflammation activation and function in liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 12, 387–400. doi: 10.1038/nrgastro.2015.94.
- [34] Schattenberg, J. M., & Lee, M. S. (2016) Extracellular Vesicles as Messengers Between Hepatocytes and Macrophages in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*, 150(4), 815–818. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.064>.
- [35] Hirsova, P., Ibrahim, S. H., Krishnan, A., Verma, V. K., Bronk, S. F., Werneburg, N. W., et al. (2016) Lipid-induced signaling causes release of inflammatory extracellular vesicles from hepatocytes. *Gastroenterology*, 150, 956–967. doi: 10.1053/j.gastro.2015.12.037.
- [36] Sato, K., Meng, F., Glaser, S., & Alpini, G. (2016) Exosomes in liver pathology. *J Hepatol*, 65(1), 213–221. doi: 10.1016/j.jhep.2016.03.004.
- [37] Momen-Heravi, F., Saha, B., Kody, K., Catalano, D., Satishchandra, A., & Szabo, G. (2015) Increased number of circulating exosomes and their microRNA cargos are potential novel biomarkers in alcoholic hepatitis. *J Transl Med*, 13(261), 1–13. doi: 10.1186/s12967-015-0623-9.
- [38] Verma, V. K., Li, H., Wang, R., Hirsova, P., Mushref, M., Liu, Y., et al. (2016) Alcohol stimulates macrophage activation through caspase dependent hepatocyte derived release of CD40L containing extracellular vesicles. *J Hepatol*, 64, 651–660. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.020.
- [39] Pradere, J. P., Kluwe, J., De Minicis, S., Jiao, J. J., Gwak, G. Y., Dapito, D. H., et al. (2013) Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice. *Hepatology*, 58(4), 1461–1473. doi: 10.1002/hep.26429.
- [40] Charrier, A., Chen, R., Chen, L., Kemper, S., Hattori, T., Takigawa, M., & Brigstock, D. R. (2014) Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver. *Surgery*, 156, 548–555. doi: 10.1016/j.surg.2014.04.014.
- [41] Chen, L., & Brigstock, D. R. (2016) Integrins and heparan sulfate proteoglycans on hepatic stellate cells (HSC) are novel receptors for HSC-derived exosomes. *FEBS Lett*, 590(23), 4263–4274. doi: 10.1002/1873-3468.12448.
- [42] Chen, L., Charrier, A., Zhou, Y., Chen, R., Yu, B., Agarwal, K., et al. (2014) Epigenetic regulation of connective tissue growth factor by microRNA-214 delivery in exosomes from mouse or human hepatic stellate cells. *Hepatology*, 59, 1118–1129. doi: 10.1002/hep.26768.
- [43] Marra, F., & Tacke, F. (2014) Roles for chemokines in liver disease. *Gastroenterology*, 147, 577–594. doi: 10.1053/j.gastro.2014.06.043.
- [44] Tacke, F., & Zimmermann, H. W. (2014) Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol*, 60, 1090–1096. doi: 10.1016/j.jhep.2013.12.025.
- [45] Sasaki, R., Devhare, P. B., Steele, R., Ray, R., & Ray, R. B. (2017) Hepatitis C virus-induced CCL5 secretion from macrophages activates hepatic stellate cells. *Hepatology*, 66(3), 746–757. doi: 10.1002/hep.29170.
- [46] Havryliuk, A. O. (2012) Histoholichni i imunohistohimichni oznaki ymovirnogo prohresuvannia fibrozu pechinky u khvorykh na khronichnyi virusnyi hepatyt B, C i B+C [Histologic and immunohistochemical signs of probable progression of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis B, C and B + C]. *Svit medytsyny ta biologii*, 3, 25–29. [in Ukrainian].
- [47] Barnes, M. A., Roychowdhury, S., & Nagy, L. E. (2014) Innate immunity and cell death in alcoholic liver disease: Role of cytochrome P450E1. *Redox Biology*, 2, 929–993. doi.org/10.1016/j.redox.2014.07.007.

Сведения об авторах:

Туманский В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, директор Института клинической патологии человека, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Фень С. В., аспирант каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Відомості про авторів:

Туманський В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, директор Інституту клінічної патології людини, заслужений діяч науки і техніки України.

Фень С. В., аспірант каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about authors:

Tumansky V. A., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Director of Human Clinical Pathology Institute, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

Fen' S. V., Postgraduate Student, Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфликт интересов: отсутствует.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшло до редакції / Received: 05.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 11.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 23.10.2017