

## СУЧАСНІ ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВНІ НАПРЯМКИ ДІАГНОСТИКИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТУ

Дядик О.О.<sup>1</sup>, Бекетова Ю.І.<sup>1</sup>, Мінцер О.П.<sup>2</sup>, Суханова О.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, кафедра патологічної та топографічної анатомії, м. Київ, Україна, ORCID ID: 0000-0002-9912-4286, ORCID ID: 0000-0001-8635-1802  
e-mail: alena0566@gmail.com

<sup>2</sup> Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, кафедра медичної інформатики, м. Київ, Україна, e-mail: o.mintser@gmail.com

**Резюме.** На основі аналізу 12 трепанобіоптатів печінки з ознаками НАСГ встановлено, що більш низька активність процесу та вираженість фіброзу (індекс гістологічної активності Knodell становив від 4 до 7 балів) відмічались у 7 випадках НАСГ. Жирова дистрофія у цих трепанобіоптатах визначалась не більше 1/3 об'єму біоптату. Запальні зміни були мінімальними, що супроводжувалось експресією  $\alpha$ -SMA в поодиноких міофібробластах. У 5 спостереженнях (індекс гістологічної активності Knodell становив від 8 до 12 балів) жирова дегенерація визначалась у 2/3 об'єму або ж у всьому біоптаті. Запальна інфільтрація мала більш виражений характер, а експресія  $\alpha$ -SMA спостерігалась у значній кількості міофібробластів навколо портальних трактив, внутрішносточково, в зонах клітинних інфільтратів, на окремих ділянках між гепатоцитів, що може бути предиктором ЕМТ.

**Ключові слова:** неалкогольний стеатогепатит, морфологічна діагностика, імуногістохімічне дослідження, інтегральна характеристика.

**Вступ.** Неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) – це форма метаболічного ураження печінки, при якому морфологічно жирові зміни (стеатоз) асоціюються з лобулярним запаленням (інтрачасточковим і/або перипортальним), пошкодженням гепатоцитів та/чи фіброзом. Це поняття охоплює патогенетичні ланки від неалкогольного стеатогепатозу до «криптогенного цирозу» [1, 2, 3, 4, 5].

«Золотим» стандартом встановлення діагнозу НАСГ є патоморфологічне дослідження трепанобіоптатів печінки [6]. Діагностика цієї патології неможлива лише за однією гістологічною ознакою і передбачає загальну оцінку декількох незалежних патоморфологічних змін, в тому числі й залучення гістохімічних та імуногістохімічних методів дослідження (ІГХД).

Загальноприйнятими мінімальними критеріями для діагностики НАСГ є наявність стеатозу щонайменше у 5% печінкових клітин, наявність балонної дегенерації гепатоцитів та лобулярного запалення [7,8,9,10]. Важливим критерієм при НАСГ є гепатоцелюлярне пошкодження з формуванням балонних змін, які характеризуються набряком і збільшенням гепатоцитів, що призводить до втрати їх нормальної гексагональної форми, а також цитоплазматичними змінами з можливим накопиченням тілець Маллорі-Денка, які можуть бути виявлені, як при загальному гістологічному забарвленні гематоксиліном та еозином, так і за допомогою маркерів p62 або ubiquitin [11]. Окрім цього, при НАСГ в клітинах з вираженими дегенеративними змінами в гепатоцитах відмічається втрата експресії цитокератину 18 [12].

Запальні клітинні інфільтрати, які локалізуються поміж гепатоцитів, складаються переважно з лімфо-

цитів та клітин Купфера. Останні нерідко пігментовані, збільшені у розмірах та розташовуються поодинокі або вогнищевими скупченнями навколо апоптично змінених гепатоцитів (bcl2-позитивних клітин), які можуть формувати мікрогранульоми або краплини жиру (ліпогранульоми) [13]. У більшості випадків НАСГ запальні зміни в портальних трактах мінімальні або ж незначні. Як зазначає Brunt, його більша інтенсивність може вказувати на прогресування хвороби [14,15]. При НАСГ фіброз розвивається з плином часу, спочатку в централобулярній зоні (центрочасточковій) як периклітинний/перивенулярний фіброз, який формує візерунок, що називається фіброзом у вигляді «курячого дроту», і в подальшому призводить до розвитку портально-центрочасточкового мостовидного фіброзу та в частині випадків й цирозу [16].

До додаткових мікроскопічних ознак НАСГ відносять наявність ацидофільних тілець, глікогенізації ядер гепатоцитів, пігментних макрофагів та формування обмежених скупчень гепатоцитів з ознаками жирової дегенерації – за типом так званих ліпогранульом [13].

**Обґрунтування дослідження.** На сьогодні морфологічна діагностика захворювань печінки є загальноприйнятим стандартом встановлення діагнозу. Незважаючи на довготривале (кілька десятиліть) вивчення НАСГ, як однієї з домінуючої патології печінки, для встановлення активності процесу та стадії фіброзу, тактики лікування та прогнозу, патологи і надалі застосовують напівкількісні методи оцінки, запропоновані Brunt, Knodell, Ischak, та шкалу Metavir. Однак, окрім існуючих напівкількісних шкал діагностики та оцінки змін у печінці, на сучасному етапі застосування ІГХД є обов'язковим для коректної інтерпретації змін, правильного прогнозування процесу та призначення адекватного лікування. Слід зазначити, що математичні підходи розпочали впроваджуватися лише в останні роки.

**Мета дослідження:** відокремити сучасні патоморфологічні критерії оцінки трепанобіоптатів у хворих на НАСГ, обґрунтувати технологію використання інтегральних характеристик патоморфологічних змін для прогнозування процесу та призначення адекватного лікування у хворих на НАСГ.

**Матеріали та методи.** У нашому дослідженні 12 пацієнтам із НАСГ було проведено трепанобіопсію печінки. Отриманий матеріал фіксували в 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну (pH 7,4) протягом 24-36 годин. Потім за стандартною методикою проводили процесінг, препарати заливали в парафін, з парафінових блоків на ротаційному мікротомі HM 325 (Thermo Shandon, Англія) виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 4-5 мкм, які потім забарвлювали гематоксиліном і еозином, ставились реакції за Ван-Гізеном, PAS-реакція [17,18].

У всіх випадках для визначення фенотипу клітинного інфільтрату, особливостей сполучної тканини та проявів/тенденції початкового фіброзу проводили ІГХД. Для проведення ІГХД зрізи поміщалися на адгезивні скельця Super Frost Plus (Menzel, Німеччина). Для високотемпературної обробки епітопів антигенів використовувались цитратний буфер з рН6, EDTA буфер з рН8. Для проведення дослідження використовували антитіла та систему детекції UltraVision Quanto HRP, хромоген ДАБ Quanto виробництва Thermo Fisher Scientific (США). Були використані наступні моноклональні антитіла (МАТ): мишачі антитіла до CD20 – В-лімфоцити (клон L26), до CD68/маркер макрофагів (клон KP1), CD138 Ab-2 – плазматичні клітини (клон M1 15), до  $\alpha$ -SMA – гладком'язові клітини (клон 1A4), до CK-18 – цитокератин (клон DC10), до bcl-2 $\alpha$  Ab-1 (клон 100/D5) – оцінка апоптозу/антиапоптотичний фактор, МАТ кролячі до CD3 – Т-лімфоцити (клон SP7). У всіх спостереженнях нами було оцінено ступінь активності процесу (гепатиту) за індексом Knodel [5, 21].

Мікроскопічне дослідження та фотоархівування препаратів проводили із використанням світлооптичних мікроскопів «Carl Zeiss» Primo Star з камерою AxioCam105 color, «Carl Zeiss» AX10 (Німеччина) та системи обробки даних «Axiovision» при збільшенні об'єктиву 10, 20, 40, біокулярної насадки 1,5 та окулярів 10. Для кількісного підходу до аналізу досліджуваних змін в трепанбіоптатах печінки нами було використано «гістоцитометрію на основі слайдів» [19] з використанням слайд-визуалізації Whole slide imaging (WSI) [20].

Статистичне оброблення отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері в програмі «STATISTICA 10 for Windows», (Copyright® StatSoft Inc., США, ліцензія № STA999K347156-W).

#### Результати досліджень та їх обговорення.

Нами встановлено, що у 7 випадках НАСГ ураження у вигляді вакуолей жиру в гепатоцитах визначалось до третини загального об'єму біоптату (30% гепатоцитів), у 3 випадках жирова дистрофія охоплювала від 30% до 60% печінкових клітин, та лише у 2 спостереженнях зміни спостерігались у всіх гепатоцитах (до 100%). У всіх досліджених випадках гепатоцити з жировими вакуолями переважно локалізувались у певних окремих зонах печінкової часточки – центрочасточково (навколо центральної вени часточки), перипортально (оточували портальні тракти) та інтермедіарно (розташовувались між двома вище описаними зонами). Ураження жировою дистрофією гепатоцитів усіх трьох зон печінкової часточки одночасно відмічалось лише у 2 випадках. У більшості біоптатах переважало макровакуольне внутрішньоклітинне накопичення ліпідів у гепатоцитах (великокраплинна жирова дистрофія) (8 випадків); мікровакуольна (дрібнокраплинна жирова дистрофія) (2 випадки) та змішана (поєднання макро- та мікровакуолей) жирова дегенерація гепатоцитів спостерігалось у 2 випадках (рис. 1).

Окрім вище зазначених патоморфологічних змін, нами було у 7 випадках відмічено наявність так званих мікрокіст – оптично пустих порожнин, які утворюються за рахунок значного нагромадження жирових включень у цитоплазмі групи поруч з розташованими гепатоцитами, з наступною руйнацією печінкових клітин та злиттям вакуолей між собою.

Лише у 2 спостереженнях відмічено присутність сегментоядерних лейкоцитів навколо гепатоцитів центролобулярних зон, у цитоплазмі яких поблизу ядра, виявлялись еозинофільні включення у вигляді сітчастих мас або глибок неправильної форми з нечіткими контурами – тільця Малорі.

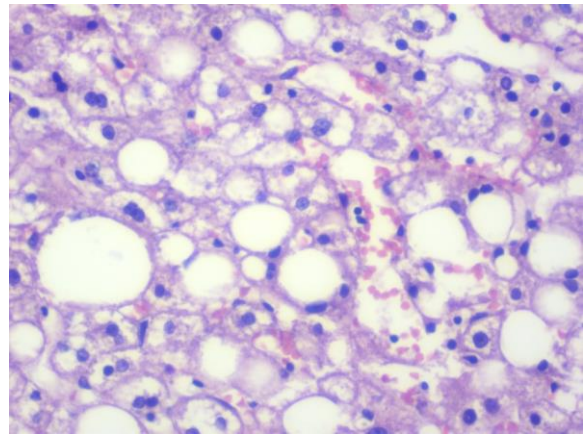


Рис. 1. Мікровакуольна та макровакуольна жирова дегенерація гепатоцитів, дрібні крововиливи, лімфоцити між клітинами, поодинокі клітини з ознаками апоптозу. Забарвлення гематоксилином та еозином, збільшення 400

Для виявлення вмісту та наявності глікогену в клітинах печінки нами було застосовано гістохімічну PAS-реакцію. Це дало змогу встановити, що вміст глікогену у всіх випадках або знижувався та/або був відсутній.

Нами проаналізовано фенотипічні властивості гепатоцитів за допомогою епітеліального маркера – цитокератину 18 (СК18). Слід зазначити, що у всіх випадках відмічалась відсутність та/або зниження інтенсивності забарвлення (експресії) даним МАТ. У 4 спостереженнях зниження експресії СК18 носило вогнищевий характер та зникнення її відмічалось в окремих нечисельних клітинах в трепанбіоптатах. У всіх інших випадках НАСГ виявлено значне зниження та в багатьох клітинах відсутність експресії СК18, у 3 спостереженнях до 90% об'єму біоптату (рис. 2).

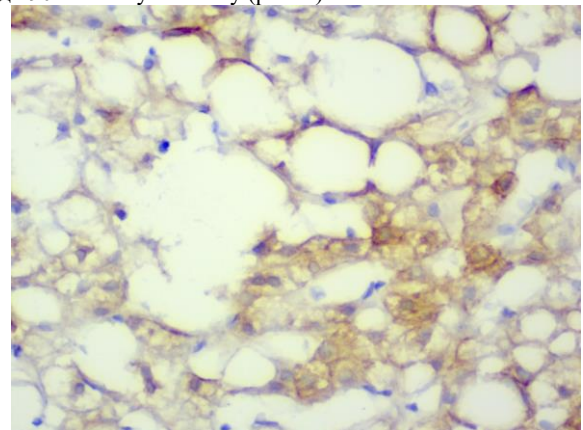
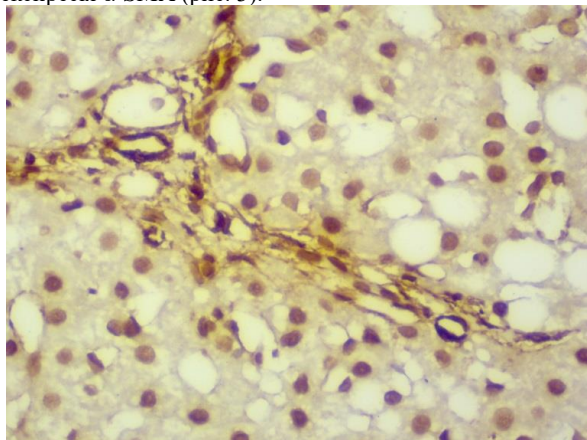


Рис. 2. В біоптаті великі мікрокісти, відсутність експресії СК18 в багатьох клітинах, в окремих гепатоцитах збереження експресії СК18, вогнищево зниження інтенсивності її. ІГХД з МАТ до СК18, збільшення 400

Нами було оцінено вираженість та розповсюдженість клітинного інфільтрату у стромі всіх біоптатів. Незначна вираженість запальних змін в портальних трактах (1 ступінь) відмічалась у 7 випадках – внутрішньочасточкові запальні інфільтрати локалізувались в/уздовж портальних трактів, вогнищево поодинокі клітини інтрачасточково, без тенденції до формування великовогнищевих скупчень, на окремих ділянках клітини інфільтрату були поміж окремими гепатоцитами. У вищеписаних спостереженнях нами було проаналізовано вплив клітинного інфільтрату на початок фіброзування та встановлено, що склеротичні зміни були мінімальними. Для підтвердження застосовувалось ІГХД з маркером до



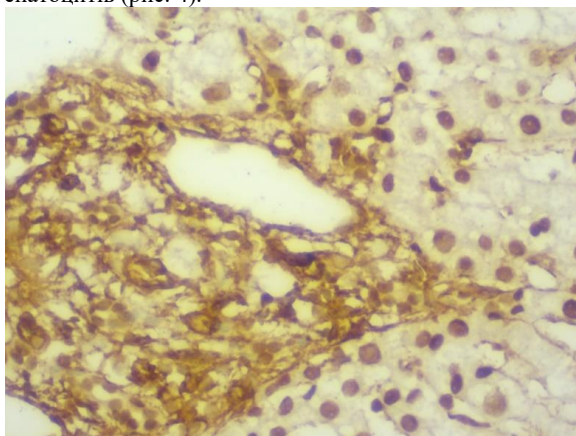
гладком'язового актину  $\alpha$ -SMA. Знайдено, що на окремих ділянках навколо портальних трактів, в зонах клітинних інфільтратів з'являлась експресія невеликої кількості міофібробластів переважно помірного ступеня вираженості, в окремих жовчних протоках вогнищева виражена експресія  $\alpha$ -SMA (рис. 3).



**Рис. 3.** Вогнищева експресія міофібробластів уздовж портальних трактів, в стінці жовчних протоків. ІХД з МАТ до  $\alpha$ -SMA, збільшення 400

У 5 пацієнтів клітинний інфільтрат був значно вираженим (2 ступінь) та локалізувався, як в портальних трактах, так і інтралобулярно з вираженою кількістю та щільністю вогнищ запалення, при цьому встановлена наявність клітин інфільтрату поміж гепатоцитів, що в свою чергу підтримує процеси дегенерації гепатоцитів, втрату ними епітеліальних властивостей, що було доведено ІХД – відсутністю експресії СК18.

Всі вищевказані зміни в подальшому «провокують» та стимулюють появу сполучної тканини на місці ушкодження, що може призводити до прогресування захворювання та розвитку фіброзу та цирозу печінки. Предиктором несприятливого розвитку та можливого фіброзування є збільшення експресії та нетипова локалізація гладком'язового актину ( $\alpha$ -SMA), яку було виявлено навколо портальних трактів, внутрічасточково, в зонах клітинних інфільтратів, на окремих ділянках між гепатоцитів (рис. 4).



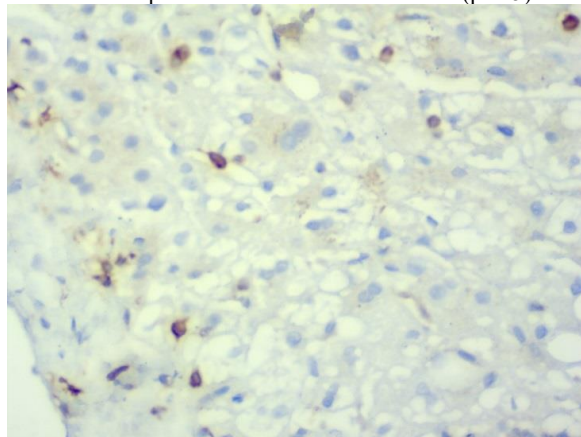
**Рис. 4.** Велика кількість міофібробластів в щільному клітинному інфільтраті з вираженою експресією, вогнищево поміж гепатоцитів. ІХД з МАТ до  $\alpha$ -SMA, збільшення 400

Отримані дані свідчать про зміну фенотипу клітин, появу проявів епітеліально-мезенхімальної трансформації (EMT). У свою чергу, EMT обумовлює втрату епітеліальних клітин, що сприяє деструкції паренхіми та ініціює вираженість фіброзу при НАСГ [22, 23].

За допомогою ІХД нами проаналізовано фенотип/склад клітинного інфільтрату у всіх спостереженнях. У 7 хворих з НАСГ в складі клітинного інфільтрату різної локалізації нами знайдено: помірна кількість макрофагів (CD68) в клітинних інфільтратах різної локалізації, всередині часточки, окремі позитивні гіпертрофовані Купферовські клітини; помірна кількість Т-лімфоцитів (CD3) в клітинних інфільтратах, від невеликої до помірної кількості поміж гепатоцитів та поодинокі В-лімфоцити (CD20); поодинокі позитивні плазматичні клітини (CD138) в ділянках навколо триад.

У 5 пацієнтів з НАСГ в складі клітинного інфільтрату різної локалізації нами знайдено: переважно помірна кількість макрофагів (CD68) в клітинних інфільтратах різної локалізації, всередині часточки позитивні гіпертрофовані Купферовські клітини; переважно велика кількість Т-лімфоцитів (CD3) в клітинних інфільтратах різної локалізації, в тому числі й внутрішньочасточково, від поодиноких до скупчень Т-лімфоцитів помірної кількості поміж гепатоцитів; вогнищево від невеликої кількості до значної (в 2 випадках) В-лімфоцитів (CD20); нерівномірна кількість позитивних плазматичних клітин (CD138) навколо портальних трактів, жовчних проток, в ділянках фіброзу. Враховуючи отримані дані стосовно фенотипу клітинного інфільтрату у хворих на НАСГ, встановлено схожість клітинного складу, як у портальних трактах, так й інтрачасточково. У склад клітинного інфільтрату входили переважно макрофаги, Т-, В- лімфоцити та плазматичні клітини.

У зв'язку зі швидкою елімінацією апоптотичних клітин нами було проведено дослідження антиапоптотичного фактору bcl-2 в паренхіматозних та непаренхіматозних клітинах біоптату для встановлення стану апоптозу в клітинах печінки у хворих НАСГ. Рівень апоптозу у досліджуваних випадках варіювався від 2-3% до 5-6% позитивних паренхіматозних клітин печінки (рис.5).



**Рис. 5.** Експресія антиапоптотичного маркера bcl-2 в частині гепатоцитів. ІХД з МАТ до bcl-2, збільшення 400

У стромі та в клітинних інфільтратах, в холангіоцитах позитивні bcl-2 клітини відмічались від 6-8% до 10-12% (рис.6).

Для уніфікації оцінки порушень часточково-балкової будови печінки та оцінки фіброзування (стану та наявності склеротичних змін) у всіх проаналізованих випадках оцінено індекс гістологічної активності гепатиту за шкалою Knodell [21]. У 7 хворих індекс гістологічної активності Knodell був від 4 до 7 балів, у 5 випадках НАСГ індекс гістологічної активності Knodell був від 8 до 12 балів.

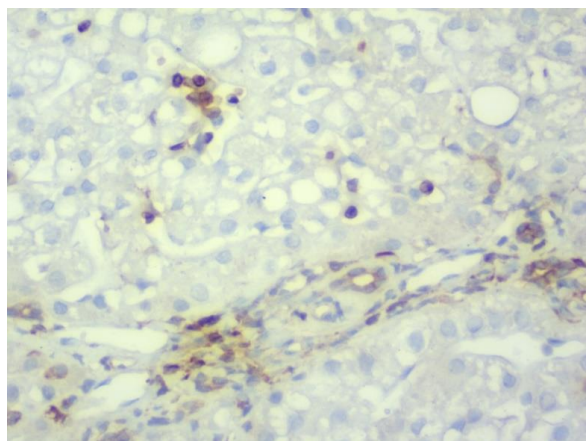


Рис. 6. Експресія антиапоптозного маркера bcl-2 в клітинному інфільтраті та біліарному епітелії. ІГХД з МАТ до bcl-2, збільшення 400

Нами розроблена спеціальна карта, яка не тільки відображає у формальному вигляді стан пацієнта, але й дозволяє скласти інтеграційну оцінку патоморфологічних змін, із залученням гістохімічних та імуногістохімічних методів дослідження для кількісної діагностики та оцінки змін у печінці хворих на НАСГ (табл.1).

**Обговорення результатів.** Проаналізувавши результати патоморфологічної картини трепанобіоптатів, ми виявили, що ступінь проявів (незначна/виражена) дегенеративних, запальних та склеротичних змін у пацієнтів розподіляється майже порівну. Так, у 7 випадках активність процесу та вираженість фіброзу були більш низькими. У цих спостереженнях індекс гістологічної активності Knodell становив від 4 до 7 балів. У вказаних трепанобіоптатах уражалось жировою дегенерацією не більше 1/3 гепатоцитів, а запальний інфільтрат, який складався з незначної кількості макрофагів, поодиноких Купферовських клітин, помірної кількості Т-лімфоцитів та незначної кількості В-лімфоцитів, носив вогнищевий характер з поодинокими клітинами запального інфільтрату поміж гепатоцитів.

Таблиця 1.

Характеристика та інтегральна оцінка основних патоморфологічних змін при НАСГ

Метод дослідження	Показник	Розмірність та діапазон показників	Коефіцієнт валідності
Забарвлення гематоксилін-еозином	Об'єм ураження жировою дистрофією у трепанобіоптаті	0-30% 30-60% 60-100%	0,4
	Локалізація гепатоцитів із жировими вакуолями	1 зона: центрочасточкова/ перипортальна/ інтермедіарна 2 зони: центрочасточкова і перипортальна/ центрочасточкова і інтермедіарна/ інтермедіарна і перипортальна 3 зони одночасно: центрочасточкова і інтермедіарна і перипортальна	0,6
	Вид жирової дистрофії	Мікровакуольне (1) Макровакуольне (2) Змішане (макро- та мікровакуольне) (3)	0,3
	Наявність мікрокіст	Присутні (1) Відсутні (0)	0,7
	Наявність тілець Малорі	Присутні (1) Відсутні (0)	0,5
	Вираженість клітинного запального інфільтрату	Відсутня (0) 1 ступінь* 2 ступінь*	0,4
	Розповсюдженість клітинного запального інфільтрату	Перипортально та/або інтралобулярно (інтрачасточково)	0,7
PAS-реакція	Вміст глікогену у гепатоцитах	Збережений (0) Знижений (1) Відсутній (2)	0,8
Імуногістохімічна реакція	Фенотипічні властивості гепатоцитів (цитокератину 18 (CK18))	Збережений (0) Знижений (1) Відсутній (2)	0,5
	Експресії гладком'язового актину ( $\alpha$ -SMA)	Збережена в типовому місці (0) Збільшена в типовому місці (1) Поява $\alpha$ -SMA в нетиповому місці (2)	0,8
	Фенотип/склад клітинного інфільтрату Макрофаги (CD68) Т-лімфоцитів (CD3) В-лімфоцитів (CD20) Плазматичних клітин (CD138)	Відсутне (0)** Незначне (1) Помірне (2) Виражене (3)	0,9
	Антиапоптозичний фактор bcl-2	Відсутне (0)** Незначне (1) Помірне (2) Виражене (3)	0,8
	Індекс гістологічної активності гепатиту за шкалою Knodell	Від 1 до 4 балів – слаба активність Від 4 до 8 – помірна Від 8 до 12 – значна	0,8

\*1 ступінь – внутрішньочасточкові запальні інфільтрати локалізувались в/уздовж портальних трактів, вогнищево поодинокі клітини інтрачасточково, без тенденції до формування великовогнищевих скупчень, на окремих ділянках клітини інфільтрату були поміж окремими гепатоцитами; 2 ступінь – запальні інфільтрати локалізувались, як в портальних трактах, так і інтралобулярно з вираженою кількістю та щільністю вогнищ запалення. \*\* 0 – відсутні, 1 – 1 до 30%, 2 – 30 до 60%, 3 більше 60%

Експресія  $\alpha$ -SMA відмічалась в поодиноких міофібробластах. У 5 випадках індекс гістологічної активності Knodell становив від 8 до 12 балів. Жирова дегенерація визначалась у 2/3 об'єму або ж у всьому біопаті. Клітинна інфільтрація була більш виражена з тенденцією до формування великовогнищевих скупчень та складалась зі значної кількості макрофагів та вираженої кількості гіпертрофованих клітин Купфера, помірної або значної кількості Т- та В-лімфоцитів. Встановлено, що експресія  $\alpha$ -SMA спостерігалась у значній кількості міофібробластів навколо порталних трактів, внутрішасточно, в зонах клітинних інфільтратів, на окремих ділянках між гепатоцитів, що може бути предиктором ЕМТ.

**Висновки.** 1. Рекомендовано під час морфологічного дослідження проводити ПГХД, що дозволяє встановити наявність та фенотипувати клітинний запальний інфільтрат, а також виявити предиктори фіброзу. У свою чергу, виявлені дані при проведенні ПГХД, дозволять лікарю призначити коректну та доцільну патогенетичну терапію, у тому числі із застосуванням імунобіологічних препаратів.

2. Використання слайд-візуалізації Whole slide imaging (WSI) дозволяє створити алгоритм аналізу отриманої інформації, що обіцяє поліпшити точність, надійність, чутливість і специфічність методики.

#### References:

- J. Ludwig, T.R. Viggino, D.B. McGill, B.J. Oh (1980). Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980; 55:434-438.
- Ivashkin V.T., Shulpekova Yu.O. (2000). Nealkogolnyj steatogepatit. *Bolezni organov pishhevarenija.* 2000; 2(2): 41-45.
- Fadeenko G.D. (2003). "Zhirovaya pechen" : etipatogenez, diagnostika, lechenie. *Suchasna gastroenterologiya.* 2003; 3: 9-17.
- Shet S.G., Gordon F.D., Chopra S. (1998). Nealkogolnyj steatogepatit. *Mezhdunarodnyj zhurnal medicinskoj praktiki* 1998; 1: 30-39.
- Chajka Yu.I. (2006). Nealkogolnyj steatogepatyt: patogenez i kliniko-morfologichni oznaky. *Ekspyrymentalna ta klinichna fiziologiya i bioximiya.* 2006; 3: 90-95.
- G.E. Rojtborg, L.B. Lazebnik, L.A. Zvenigorodskaya, O.O. Sharhun [i dr.] (2013). Neinvazivnye metody v diagnostike steatoza i fibroza pri nealkogolnoj zhirovoj bolezni pečeni. *Ekspyrymentalnaya i klinicheskaya gastroenotologiya.* 2013; 7:3-9.
- P. Bedossa, C. Poitou, N. Veyrie [et al.] (2012). Histopathological Algorithm and Scoring System for Evaluation of Liver Lesions in Morbidly Obese Patients. *Hepatology.* 2012; 56:1751-1759.
- Yeh M.M., Brunt E.M. (2007). Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Pathol.* 2007; 128: 837-847.
- D.E. Kleiner, E.M. Brunt, M. Van Natta [et al.] (2005). Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005; 41: 1313-1321.
- Pospishil Yu.O., Gavrylyuk O.M., Chajka Yu.I. (2007). Nealkogolnyj steatogepatoz: morfologichni oznaky, faktory ryzyku. *Zdobutky klinichnoyi i ekspyrymentalnoyi medycyny.* 2007; 2: 134-137.
- C.A. Matteoni, Z.M. Younossi, T. Gramlich (1999). Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology.* 1999; 116(6): 1413-1419.
- C. Lackner, M. Gogg-Kamerer, K. Zatloukal [et al.] (2008). Ballooned hepatocytes in steatohepatitis: the value of keratin immunohistochemistry for diagnosis. *J Hepatol.* 2008; 48: 821-828.
- Brunt E.M. (2016). Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pros and Cons of Histologic Systems of Evaluation. *Int J Mol Sci.* 2016; 17: 97.
- E.M. Brunt, D.E. Kleiner, L.A. Wilson [et al.] (2009). Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology.* 2009; 49:809-820.
- V. Giorgio, F. Prono, F. Graziano, V. Nobili (2013). Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets. *BMC Pediatr.*; 2013; 13: 40.
- Brunt E.M. (2017). Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Ongoing Role of Liver Biopsy Evaluation. *Hepatology Communications.* 2017; 1 (5): 370-378.
- J. Rosai. Elsevier Inc (2011), Rosai and Ackerman's Surgical Pathology Seven edition. Mosby Elsevier; 2011. 2636.
- Markovskiy V.D., Tumanskyj V.O. za redakcieyu (2015) *Patomorfologiya: nacz. Pidruchnyk.* VSV «Medycyna». Kiyv; 2015: 935.
- Feldman M.D. (2008). Beyond morphology: whole slide imaging, computer-aided detection, and other techniques. *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132: 758-763.
- Liron Pantanowitz (2010). Digital images and the future of digital pathology. *J Pathol Inform.* 2010;1:15.
- R.G. Knodell, K.G. Ishak, W.C. Black [et al.] (1981). Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology.* 1981; 1: 431-435.
- Dyadyk A.I., Vasilenko I.V., Dyadyk E.A. [i dr.] (2005). Mesto morfologicheskikh pokazatelej, harakterizuyushih aktivnye i hronicheskie porazheniya pochechnyh struktur, v vyrobotte lechebnyh rezhimov pri volchanochnom glomerulonefrite i v prognozirovanii ego techeniya. *Zaporozh. med. Zhurn.* 2005; 1: 8-12.
- Dyadyk O.O., Ivanova M.D., Xmara O.V., Shatoxina T.V. (2009). Epitelialno-mezenximalna transdyferencijovka u rozvytku interstycialnogo fibrozu pry riznyx formax glomerulonefrytiv. *Zdobutky klinichnoyi ta ekspyrymentalnoyi medycyny: zbirn. mater. nauk.-prakt. konf. Ternopil.* 2009:16.

УДК 616.36-003.826-07-091.8

## СОВРЕМЕННЫЕ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И НАПРАВЛЕНИЯ ДИАГНОСТИКИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА

Дядык Е.А.<sup>1</sup>, Бекетова Ю.И.<sup>1</sup>, Минцер О.П.<sup>2</sup>, Суханова О.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, кафедра патологической и топографической анатомии, г. Киев, Украина, ORCID ID: 0000-0002-9912-4286, ORCID ID: 0000-0001-8635-1802*  
e-mail: alena0566@gmail.com

<sup>2</sup> *Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, кафедра медицинской информатики, г. Киев, Украина, e-mail: o.mintser@gmail.com*

**Резюме.** На основе анализа 12 трепанобиоптатов печени с признаками НАСГ, установлено, что более



низкая активность процесса и выраженность фиброза (индекс гистологической активности Knodell составлял от 4 до 7 баллов) отмечались в 7 случаях. Жировая дистрофия в этих трепанобиоптатах определялась не более 1/3 объема биоптата. Воспалительные изменения были минимальными, что сопровождалось экспрессией  $\alpha$ -SMA в единичных миофибробластах. В 5 наблюдениях (индекс гистологической активности Knodell составлял от 8 до 12 баллов) жировая дегенерация определялась в 2/3 объема или во всем биоптате. Воспалительная инфильтрация имела более выраженный характер экспрессии  $\alpha$ -SMA, которая наблюдалась в большом количестве миофибробластов вокруг портальных трактов, внутривенно-портально, в зонах клеточных инфильтратов, на отдельных участках между гепатоцитами, что может быть предиктором EMT.

**Ключевые слова:** неалкогольный стеатогепатит, морфологическая диагностика, иммуногистохимическое исследование, интегральная характеристика.

UDC 616.36-003.826-07-091.8

## MODERN PATHOMORPHOLOGICAL FEATURES AND PROSPECTIVE DIRECTIONS OF NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS DIAGNOSTICS

O.O. Dyadyk<sup>1</sup>, Yu.I. Beketova<sup>1</sup>, O.P. Mintser<sup>2</sup>,  
O.O. Sukhanova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Pathologic and Topographic Anatomy department, Kyiv, Ukraine, ORCID ID: 0000-0002-9912-4286, ORCID ID: 0000-0001-8635-1802  
e-mail: alena0566@gmail.com

<sup>2</sup> Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Department of Medical Informatics, Kyiv, Ukraine, e-mail: o.mintser@gmail.com

**Abstract.** Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is a form of metabolic liver damage where morphological fatty

changes (steatosis) are associated with lobular inflammation (interlobular and/or periportal), hepatocyte damage and/or fibrosis. The term covers pathogenetic links, ranging from non-alcoholic steatohepatitis to 'cryptogenic' cirrhosis.

A pathomorphological study of 12 core biopsy samples revealed that the (high/low) intensity of degenerative, inflammatory and sclerotic changes was almost the same for all patients. Both the activity of the process and the fibrosis appeared to be less intensive in seven cases. The Knodell Histology Activity Index was observed to range from four to seven. In these samples, no more than 1/3 of hepatocytes were affected by fatty degeneration, and the inflammatory infiltrate (consisting of a small number of macrophages, solitary Kupffer cells, and a moderate amount of T-lymphocytes) was focal, with some inflammatory infiltrate cells found among the hepatocytes.  $\alpha$ -SMA expression was observed in some myofibroblasts. The Knodell Histology Activity Index ranged from 8 to 12 in five cases. Fatty degeneration was found in 2/3 of the hepatocytes in the biopsy or in all of them. The cellular infiltration was more evident, with a tendency to form dense focal accumulations, and consisted of a large number of macrophages, a prominent amount of hypertrophic Kupffer cells, and moderate or large quantities of T- and B-lymphocytes.  $\alpha$ -SMA expression was found in a high number of myofibroblasts close to portal tracts, in interlobular sections, zones of cellular infiltration, and certain areas between hepatocytes, which can be a predicting sign of EMT.

In addition, we developed a special map that not only represents patient's condition in a formal way, but also allows one to come up with an integration assessment of pathomorphological changes, based on histochemical and immunohistochemical staining used for the quantification and assessment of changes in the liver of NASH patients.

**Keywords:** non-alcoholic steatohepatitis, morphological diagnostics, immunohistochemical staining, integral characteristics.

Стаття надійшла до редакції 26.06.2018 р.