



В. А. Туманский, М. Д. Зубко

Экспрессия маркеров прогрессирования опухоли в гепато- и холангиоцеллюлярном раке печени разной величины

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова:
опухоль печени,
гепатоцеллюлярный рак,
холангиоцеллюлярный рак,
маркеры опухолей.

С целью иммуногистохимической оценки экспрессии маркеров прогрессирования в гепатоцеллюлярном и холангиоцеллюлярном раке печени разной величины с учётом площади иммунопозитивных клеток проведено патогистологическое и иммуногистохимическое исследование трепанобиоптатов печени 94 больных, среди которых 55 пациентов страдали гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) и 39 – холангиоцеллюлярной карциномой (ХЦК) разной величины, измеренной при ультразвуковом исследовании печени. Фотоцифровой морфометрией определена площадь иммунопозитивных клеток, экспрессировавших Ki-67, p53, каспазу-3, E-кадгерин, β-катенин, MMP-9 и TIMP-1, в 21-й ГЦК и в 17-ти ХЦК диаметром до 5 см, а также в 34 ГЦК и в 22 ХЦК диаметром более 5 см. Установлено, что в ГЦК диаметром более 5 см площадь клеток, экспрессировавших p53, Ki-67, β-катенин и MMP-9, статистически достоверно выше (в 2; 1,4; 1,8 и 1,6 раза соответственно), чем в ГЦК диаметром менее 5 см, а площадь E-кадгерин-позитивных клеток в крупной опухоли в 1,8 раза меньше, чем в меньшей опухоли. В ХЦК диаметром более 5 см площадь клеток, экспрессировавших p53, Ki-67, β-катенин и MMP-9, статистически достоверно выше (в 1,8 раза, 1,4 раза, 1,7 и 1,3 раза соответственно), чем в ХЦК диаметром менее 5 см, а площадь E-кадгерин-позитивных клеток в крупной опухоли в 2 раза меньше, чем в малой опухоли. По данным сравнительного анализа, в ГЦК и ХЦК различного диаметра площади каспаза-3-позитивных и TIMP-1-позитивных клеток статистически достоверно не отличаются. Таким образом, увеличение размеров ГЦК и ХЦК сопровождается гиперэкспрессией ядерного онкопротеина p53, повышением уровня пролиферации опухолевых клеток, утратой опухолевыми клетками межклеточных адгезивных связей и возрастанием экспрессии металлопротеиназы-9, что в совокупности способствует быстрому агрессивному и инвазивному росту этих опухолей в печени.

Експресія маркерів прогресування пухлини в гепато- і холангіоцелюлярному раку печінки різної величини

В. О. Туманський, М. Д. Зубко

З метою імуногістохімічного оцінювання експресії маркерів прогресування в гепатоцелюлярному та холангіоцелюлярному раку печінки різної величини з урахуванням площі імунопозитивних клітин виконали патогістологічне й імуногістохімічне дослідження трепанобіоптатів печінки 94 хворих, серед них 55 пацієнтів страждали на гепатоцелюлярну карциному (ГЦК) і 39 – на холангіоцелюлярну карциному різної величини, що визначена при ультразвуковому дослідженні печінки. Фотоцифровою морфометрією встановлена площа імунопозитивних клітин з експресією Ki-67, p53, каспази-3, E-кадгерину, β-катеніну, MMP-9 і TIMP-1, у 21-й ГЦК і в 17-ти ХЦК діаметром до 5 см, а також в 34-х ГЦК і у 22-х ХЦК діаметром більше ніж 5 см. Встановили, що у ГЦК діаметром більше ніж 5 см площа клітин з експресією p53, Ki-67, β-катеніну та MMP-9 статистично вірогідно вища (у 2; 1,4; 1,8 і 1,6 раза відповідно), ніж у ГЦК діаметром менше ніж 5 см, а площа E-кадгерин-позитивних клітин у великій пухлині в 1,8 раза менша, ніж у малій. У ХЦК діаметром більше ніж 5 см площа клітин з експресією p53, Ki-67, β-катеніну і MMP-9, статистично достовірно вище (в 1,8 раза, 1,4 раза, 1,7 та 1,3 раза відповідно), ніж у ХЦК діаметром менше ніж 5 см, а площа E-кадгерин-позитивних клітин у великій пухлині вдвічі менша, ніж у малій. За даними порівняльного аналізу, у ГЦК і ХЦК різного діаметра площі каспаза-3-позитивних і TIMP-1-позитивних клітин статистично вірогідно не відрізняються. Отже, збільшення розмірів ГЦК і ХЦК супроводжується гіперекспресією ядерного онкопротеїну p53, підвищенням рівня проліферації пухлинних клітин, втратою пухлинними клітинами міжклітинних адгезивних зв'язків і зростанням експресії металлопротеїнази-9, що в сукупності сприяє швидкому агресивному й інвазивному росту цих пухлин у печінці.

Ключові слова: пухлини печінки, гепатоцелюлярний рак, холангіоцелюлярний рак, маркери пухлин.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2015. – № 2 (18). – С. 93–97

The expression of tumor progression markers in hepatocellular and cholangiocellular liver carcinomas of different sizes

V. A. Tumanskiy, M. D. Zubko

Aim. Histopathological and immunohistochemical study of trephine biopsy of the liver in 94 patients, including 55 patients who suffered from hepatocellular carcinoma (HCC) and 39 - cholangiocellular carcinoma (CCC) with various sizes determined by ultrasound of the liver were carried out.

Methods and results. The photo digital morphometry was used to estimate the area of immunopositive cells expressing Ki-67, p53, caspase-3, E-cadherin, β-catenin, MMP-9 and TIMP-1 in 21 HCC and 17 CCC up to 5 cm in diameter and in 34 HCC and 22 CCC more than 5 cm in diameter. It is found that in HCC more than 5 cm diameter area of cells expressing p53, Ki-67, β-catenin and MMP-9 was significantly higher (2, 1.4, 1.8 and 1.6 times, respectively) than in the HCC with diameter less than 5 cm, and the area of E-cadherin-positive cells in the large tumors was 1.8 times less than in small ones. In the CCC with diameter greater than 5 cm area of cells expressing p53, Ki-67, β-catenin and MMP-9 was significantly higher (1.8, 1.4, 1.7 and 1.3 times, respectively) than in CCC with diameter less than 5 cm, and the area of the E-cadherin-positive cells in large tumor was two times less than in small tumors. According

to the comparative analysis, in HCC and CCC of different diameters areas of caspase-3-positive and TIMP-1-positive cells were not significantly different.

Conclusion. Thus, increasing size of HCC and CCC is accompanied by the overexpression of nuclear oncoprotein p53, increased levels of tumor cell proliferation, tumor cell loss of intercellular adhesion bonds and an increase in the expression of metalloproteinase-9, all of which contribute to the rapid aggressive and invasive growth of tumors in the liver.

Key words: Liver Neoplasms, Hepatocellular Cancer, Cholangiocarcinoma, Tumor Markers.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2015; № 2 (18): 93–97

Гепатоцеллюлярный и холангиоцеллюлярный рак печени отличаются агрессивным течением и высоким уровнем смертности больных [1,2]. Согласно данным многофакторного анализа, выполненного М. Maluccio, А. Covey [3], выделены неблагоприятные прогностические факторы гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК): размер опухоли 5 см и более, наличие в печени 5 или более опухолевых узлов, а также внепечёночное распространение опухоли. По результатам ретроспективного анализа базы данных службы обеспечения донорскими органами (UNOS), продолжительность жизни больных с ГЦК размером 3–5 см и более была значительно меньшей, чем больных с опухолью меньших размеров [4]. Некоторые исследователи обнаруживают взаимосвязь между плохим прогнозом холангиоцеллюлярной карциномы (ХЦК) и ГЦК, уменьшением выживаемости больных и высокой экспрессией в этих опухолях таких иммуногистохимических маркеров прогрессирования, как онкопротеин p53, Ki-67, маркеров апоптоза, β-катенина, матриксных металлопротеиназ [5–8]. Однако такого рода исследования пока малочисленны и полученные в них результаты противоречивы.

Цель работы

Имуногистохимическая оценка экспрессии маркеров прогрессирования в гепатоцеллюлярном и холангиоцеллюлярном раке печени разной величины с учётом площади иммунопозитивных клеток.

Материалы и методы исследования

Средний возраст больных ГЦК составил $61,94 \pm 12,16$ года (26–81 год), ХЦК – $58,46 \pm 11,52$ года (33–83 года). С учётом размеров рака печени, определенных при ультразвуковом исследовании печени, выделены 2 группы больных с опухолью небольших размеров (диаметром до 5 см) и 2 группы больных с крупной (более 5 см в диаметре) опухолью либо с множественными узлами рака печени. Таким образом, патоморфологическими методами исследованы 21 ГЦК и 17 ХЦК диаметром до 5 см, а также 34 ГЦК и 22 ХЦК диаметром более чем 5 см. В контрольной группе исследовали биоптаты печени 5 умерших от соматических заболеваний без клинико-биохимических и морфологических признаков поражения печени.

Столбики трепанобиоптатов печени больных ГЦК и ХЦК фиксировали в забуференном 10% формалине и заливали в парафин. На ротационном микротоме HM-3600 (MICROM Laborgerate GmbH, ФРГ) изготавливали серийные срезы толщиной 4 мкм для их окраски гематоксилином и эозином, по Ван Гизон и Массон-триколор, а также для ИГХ исследований.

В соответствии со стандартизованными протоколами в парафиновых срезах ткани печени после температурного демаскирования антигенов и подавления активности эндогенной пероксидазы проведены ИГХ исследования с использованием соответствующих первичных антител и системы визуализации DAKO EnVision+ System («ДАКО», США) с диаминобензидином (DAB). Проллиферативную активность клеток ГЦК и ХЦК устанавливали непрямым иммунопероксидазным методом с использованием моноклональных антител Мо a-Hu Ki-67 Antigen, Clone MIB-1 («ДАКО», США). Уровень апоптоза клеток ГЦК и ХЦК определяли моноклональными антителами Мо a-Hu Caspase 3 Ab-3, Clone 3CSP03 («Thermo Fisher Scientific Inc.» – США) и Мо a-Hu p53 Protein, Clone DO-7 («ДАКО Cytomation», Дания). Экспрессию клетками E-кадгерина определяли с применением моноклональных антител Мо a-Hu E-Cadherin, Clone NCH-38 (DAKO, США), а экспрессию β-катенина – моноклональных антител Мо a-Hu Beta-Catenin, Clone E247β-Catenin-1 (DAKO, США). Экспрессию клетками печени металлопротеиназы-9 (MMP-9) и ее тканевого ингибитора TIMP-1 осуществляли с использованием поликлональных антител Rb a-Hu MMP-9 и моноклональных антител Мо a-Hu TIMP-1 Ab-2, Clone 102D1 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США). Проллиферативную активность клеток опухоли оценивали по ядерной экспрессии Ki-67, уровень апоптоза клеток – по цитоплазматической экспрессии каспазы-3 и ядерной экспрессии онкопротеина p53, уровень молекул межклеточной адгезии – по мембранной, цитоплазматической и ядерной экспрессии опухолевыми клетками E-кадгерина и β-катенина, баланс в опухоли матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов – по цитоплазматической экспрессии MMP-9 и TIMP-1.

Площадь Ki-67, p53, каспазы-3, E-кадгерина, β-катенина, MMP-9 и TIMP-1 иммунопозитивных клеток в опухоли определяли фотоцифровой морфометрией [9]. В каждом наблюдении микропрепараты рака печени с соответствующей иммунопозитивной реакцией фотографировали цифровой фотокамерой «Olympus 3040» (Япония) в микроскопе AxioPlan 2 («Carl Zeiss», ФРГ) при увеличении x200 в 5 полях зрения. В дальнейшем с использованием медицинской программы обработки цифровых изображений ImageJ [10] определяли суммарную площадь экспрессии каждого перечисленного маркера, которая представляла собой процентное соотношение числа пикселей иммунопозитивного цифрового изображения соответствующего маркера к общему числу пикселей в изображении, выраженному в %.

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере в программе «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., лицензия № AXXR712D833214FAN5). Вычисляли среднее значение (M), среднее квадратическое отклонение (σ), стандартную ошибку репрезентативности среднего значения (m), рассчитывали 95% доверительный интервал среднего значения.

Результаты и их обсуждение.

ИГХ и фотоцифровые исследования показали, что гепатоцеллюлярная и холангиоцеллюлярная карцинома печени характеризуется высоким уровнем митотической активности опухолевых клеток, определяемой по ядерной экспрессии Ki-67; гиперэкспрессией ядерного онкопротеина p53 и умеренным уровнем апоптоза, определяемого по цитоплазматической экспрессии каспазы-3. В ГЦК делящиеся Ki-67-иммунопозитивные опухолевые клетки занимали 57,18±15,92% площади среза опухоли, p53-иммунопозитивные опухолевые клетки составляли 53,12±33,29% площади рака, а каспаза-3-иммунопозитивные опухолевые клетки – 49,22±19,76% площади среза рака печени. В ХЦК Ki67-иммунопозитивные опухолевые клетки занимали 54,21±22,18% площади среза опухоли, p53-иммунопозитивные опухолевые клетки составляли 50,45±28,15% площади среза опухолевой ткани, а каспаза-3-иммунопозитивные опухолевые клетки – 45,74±20,15% площади среза холангиоцеллюлярного рака печени. Ранее проведенные нами исследования [11] показали, что MMP-9-иммунопозитивные клетки составляли 59,33±22,57% площади среза ткани ГЦК и 52,71±20,86% площади среза ткани ХЦК печени. В то же время TIMP-1-иммунопозитивные клетки составляли 21,94±6,27% площади среза ткани ГЦК и 33,05±13,85% площади среза ткани ХЦК печени.

При ИГХ исследовании ГЦК и ХЦК разной величины с фотоцифровой морфометрией площади иммунопозитивных клеток, экспрессировавших маркеры прогрессирования опухоли, получены результаты, изложенные в таблице 1. В ГЦК диаметром менее 5 см p53-иммунопозитивные клетки занимали 32,95±12,79% площади среза опухолевой ткани, а в ГЦК размером более 5 см – 65,36±21,03% площади среза опухоли. Площадь каспаза-3-иммунопозитивных клеток в ГЦК диаметром менее 5 см составляли 49,12±18,42% площади опухолевой ткани, а в ГЦК размером более 5 см – 50,91±17,74% площади среза опухоли. Ki-67-позитивные клетки в гепатоцеллюлярном раке печени

размером менее 5 см занимали 47,37±5,13% площади среза опухоли, а в ГЦК более 5 см в диаметре – 65,18±7,21% площади опухоли. В ГЦК диаметром менее 5 см MMP-9-позитивные клетки занимали 43,24±6,15% площади среза опухоли, в ГЦК более 5 см в диаметре – 70,17±11,82% площади опухолевой ткани. Площадь, занимаемая TIMP-1-иммунопозитивными клетками в ГЦК диаметром менее 5 см, составляла 21,47±3,54% среза опухоли, а в ГЦК более 5 см – 22,15±5,97% площади среза рака печени. Таким образом, проведенные исследования показали, что в крупной ГЦК диаметром более 5 см площадь иммунопозитивных клеток, экспрессировавших p53, Ki-67 и MMP-9, статистически достоверно выше (соответственно почти в 2 раза, 1,4 и 1,6 раза), чем в ГЦК диаметром менее 5 см (табл. 1). В то же время площади, занимаемые каспаза-3-позитивными и TIMP-1-позитивными клетками в ГЦК разных размеров, статистически достоверно не отличались.

Установлено, что в ХЦК диаметром до 5 см p53-иммунопозитивные клетки занимали площадь 35,23±12,94% среза опухоли, в ХЦК диаметром более 5 см – 62,57±16,02% площади среза рака печени. Площадь, занимаемая каспаза-3-иммунопозитивными клетками в ХЦК диаметром менее 5 см, составляла 46,49±21,15% среза опухолевой ткани, в ХЦК размером более 5 см – 48,11±17,54% среза опухоли. В ХЦК диаметром менее 5 см Ki-67-иммунопозитивные клетки занимали 45,03±12,17% площади среза опухоли, в ХЦК размером более 5 см – 64,87±11,51% площади среза ткани рака печени. Площадь, занимаемая MMP-9-позитивными клетками в ХЦК менее чем 5 см, составляла 47,85±15,12% среза опухоли, а в ХЦК диаметром более 5 см – 62,93±10,51% среза раковой ткани. В ХЦК диаметром менее 5 см площадь TIMP-1-позитивных клеток составляла 32,47±13,71% среза опухоли, а в ХЦК более 5 см – 33,12±12,86% площади среза рака печени (табл. 1). Результаты показали, что в крупной ХЦК диаметром более 5 см площадь иммунопозитивных клеток, экспрессировавших p53, Ki-67 и MMP-9, статистически достоверно выше (в 1,8 раза, 1,4 и 1,3 раза соответственно), чем в ХЦК диаметром менее чем 5 см (табл. 1). Сравнительный анализ показал, что в ХЦК разного диаметра площади, занимаемые каспаза-3-позитивными и TIMP-1-позитивными клетками, статистически достоверно не отличаются.

В предыдущих исследованиях [12] установили: площадь E-кадгерин-иммунопозитивных клеток в ГЦК диа-

Таблица 1
Характеристика площади иммунопозитивных клеток, экспрессировавших p53, каспазу-3, Ki-67, MMP-9 и TIMP-1 в гепатоцеллюлярном и холангиоцеллюлярном раке печени разного диаметра, (M±m)

Основные параметры экспрессии маркеров в опухоли	Площадь иммунопозитивных клеток в опухоли, % (M±m)				
	p53	каспаза-3	Ki-67	MMP-9	TIMP-1
Гепатоцеллюлярный рак печени d до 5 см (А)	32,95±12,79	49,12±18,42	47,37±5,13	43,24±6,15	21,47±3,54,
Гепатоцеллюлярный рак печени d более 5 см (В)	65,36±21,03*	50,91±17,74	65,18±7,21*	70,17±11,82*	22,15±5,97
Холангиоцеллюлярный рак печени d до 5 см (С)	35,23±12,94	46,49±21,15	45,03±12,17	47,85±15,12	33,12±12,86
Холангиоцеллюлярный рак печени d более 5 см (D)	62,57±16,02#	48,11±17,54	64,87±11,51#	62,93±10,51#	32,47±13,71

Примечания: * – достоверная разница (p<0,05) в сравнении с А; # – достоверная разница (p<0,05) в сравнении с С.

метром до 5 см составляла $53,22 \pm 5,75\%$ среза опухоли, а в ГЦК размером более 5 см – $28,18 \pm 1,12\%$ площади среза опухолевой ткани, что статистически достоверно более чем в 1,8 раза меньше, чем в более мелкой ГЦК. Площадь Е-кадгерин-иммунопозитивных клеток в ХЦК диаметром менее 5 см составила $45,28 \pm 5,25\%$ среза опухоли, а в ХЦК диаметром более 5 см – $20,12 \pm 2,12\%$ среза опухолевой ткани, что статистически достоверно более чем в 2 раза меньше по сравнению с мелкой ХЦК. Площадь β -катенин-иммунопозитивных клеток в ГЦК диаметром более 5 см достигала $70,19 \pm 9,97\%$ среза опухоли, что статистически достоверно почти в 1,8 раза больше, чем в более мелкой ГЦК, в которой площадь β -катенин-позитивных клеток составляла $40,29 \pm 11,21\%$ среза опухоли. Одновременно установлено: площадь β -катенин-позитивных клеток в ХЦК диаметром более 5 см статистически достоверно почти в 1,7 раза больше, чем в ХЦК диаметром менее 5 см.

На основании проведённых исследований некоторые авторы [6–8, 13–15] также относят к прогностически неблагоприятным факторам развития ГЦК и ХЦК, проявляющимся ранним инвазивным ростом и метастазированием этих опухолей, такие параметры, как высокий уровень ядерной экспрессии p53, снижение уровня апоптоза опухолевых клеток и одновременно – повышение уровня их пролиферации, утрату Е-кадгерина и повышенную экспрессию опухолевыми клетками β -катенина, а также превышение уровня экспрессии матриксных металлопротеиназ над уровнем экспрессии их тканевых ингибиторов.

Выводы

1. В крупных гепатоцеллюлярных карциномах диаметром более 5 см в сравнении с меньшими аналогичными опухолями диаметром до 5 см статистически достоверно большую площадь занимают иммунопозитивные клетки, экспрессирующие p53, Ki-67, β -катенин, ММР-9, и статистически достоверно меньшую площадь занимают Е-кадгерин-позитивные клетки.

2. В крупных холангиоцеллюлярных карциномах печени диаметром более 5 см в сравнении с меньшими аналогичными раками диаметром до 5 см статистически достоверно большую площадь занимают иммунопозитивные клетки, экспрессирующие p53, Ki-67, β -катенин, ММР-9, и статистически достоверно меньшую площадь занимают Е-кадгерин-позитивные клетки.

3. В гепатоцеллюлярных и холангиоцеллюлярных карциномах печени разного диаметра площади, занимаемые каспаза-3-позитивными и ТИМР-1-позитивными клетками, статистически достоверно не отличаются.

Заключение. Сравнение экспрессии маркеров пролиферации и апоптоза, маркеров межклеточной адгезии и уровня ферментов, расщепляющих межклеточный матрикс, в опухолях разных размеров показывает, что увеличение размеров гепатоцеллюлярного и холангиоцеллюлярного рака сопровождается гиперэкспрессией ядерного онкопротеина p53, повышением уровня пролиферации опухолевых клеток, утратой опухолевыми клетками межклеточных адгезивных связей и возрастанием экспрессии металлопротеиназы-9, что в совокупности способствует быстрому агрессивному и инвазивному росту этих опухолей в печени.

Список литературы

1. Колосов А.Е. Рак печени и прогноз для больных / А.Е. Колосов, В.А. Журавлев. – СПб., 2002. – 144 с.
2. Хирургическое лечение первичного рака печени / Ю.И. Патютко, И.В. Сагайдак, Е.С. Чучуев и др. // Практическая онкология. – 2008. – Т. 9. – №4(36). – С. 197–201.
3. Maluccio M. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma / M. Maluccio, A. Covey // CA Cancer J Clin. – 2012. – Vol. 62(6). – P. 394–399.
4. Ioannou G.N. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: impact of the MELD allocation system and predictors of survival / G.N. Ioannou, J.D. Perkins, R.L. Carithers // Gastroenterology. – 2008. – Vol. 134(5). – P. 1342–1351.
5. Results of resection for hilar cholangiocarcinoma with analysis of prognostic factors / R. Havlik, E. Sbisà, A. Tullo et al. // Hepatogastroenterology. – 2000. – Vol. 47(34). – P. 927–931.
6. Prognostic Significance of E-Cadherin Expression in Hepatocellular Carcinoma / J. Chen, J. Zhao, R. Ma et al. // A Meta-Analysis // PLoS One. – 2014. – Vol. 9(8). – P. 1–8.
7. Association of E-cadherin, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitors of metalloproteinases with the progression and metastasis of hepatocellular carcinoma / Z.H. Gao, M.S. Tretiakova, W.H. Liu et al. // Mod Pathol. – 2006. – Vol. 19(4). – P. 533–540.
8. Increased extracellular matrix remodeling is associated with tumor progression in human hepatocellular carcinomas / N. Theret, O. Musso, B. Turlin et al. // Hepatology. – 2001. – Vol. 34(1). – P. 82–88.
9. Пат 99314 Україна, МПК 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 Спосіб фотоцифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів / В.О. Туманський, А.В. Євсєєв, І.С. Коваленко, М.Д. Зубко – заявник і патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т.; заявл. 29.12.14.; опубл. 25.05.15 // Бюл. №10.
10. Rasband W.S. National Institutes of Health / W.S. Rasband, J. Image. – Bethesda, Maryland USA – Retrieved from <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997–2012.
11. Туманский В.А. Характеристика уровня экспрессии ММР-9 и ТИМР-1 в гепатоцеллюлярном и холангиоцеллюлярном раке печени / В.А. Туманский, М.Д. Зубко // Патология. – 2015. – №1(33). – С. 20–25.
12. Зубко М.Д. Характеристика уровня экспрессии Е-кадгерина и β -катенина в гепатоцеллюлярном и холангиоцеллюлярном раке печени / М.Д. Зубко // Патология. – 2015. – №2(34). – С. 64–70.
13. Лазаревич Н.Л. Молекулярные механизмы прогрессии опухолей печени / Н.Л. Лазаревич // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 44. – С. 365–418.
14. Hepatic expression of the proliferative marker Ki-67 and p53 protein in HBV or HCV cirrhosis in relation to dysplastic liver cell changes and hepatocellular carcinoma / J. Koskinas, K. Petraki, N. Kavantzias et al. // Viral Hepatitis. – 2005. – №12(6). – P. 635–641.
15. Mutations of p53 tumor suppressor gene, apoptosis, and proliferation in intrahepatic cholangiocellular carcinoma of the liver / A. Tannapfel, L. Weinans, F. Geissler et al. // Digestive Diseases and Sciences. – 2000. – Vol. 45(2). – P. 317–324.

References

1. Kolosov, A. E., & Zhuravlev, V. A. (2002) *Rak pecheni i prognoz dlya bol'nykh [Liver cancer and the prognosis for patients]*. Saint Petersburg [in Russian].
2. Patyutko, Yu. I., Sagajdak, I. V., Chuchuev, E. S., Gakhramanov, A. D., & Ivanov, A. A. (2008) Hirurgicheskoe lechenie pervichnogo raka pecheni [Surgical treatment of primary liver cancer]. *Prakticheskaya onkologiya*, 9(4), 197–201. [in Russian].
3. Maluccio, M., & Covey, A. (2012) Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma. *CA Cancer J Clin*, 62(6), 394–399. doi: 10.3322/caac.21161.
4. Ioannou, G. N., Perkins, J. D., & Carithers, R. L. (2008) Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: impact of the MELD allocation system and predictors of survival. *Gastroenterology*, 134(5), 1342–1351. doi: 10.1053/j.gastro.2008.02.013.
5. Havlik, R., Sbisà, E., Tullo, A., et al. (2000) Results of resection for hilar cholangiocarcinoma with analysis of prognostic factors. *Hepatogastroenterology*, 47(34), 927–931.
6. Chen, J., Zhao, J., Ma R., Lin, H., Liang, X., & Cai, X. (2014) Prognostic Significance of E-Cadherin Expression in Hepatocellular Carcinoma. *A Meta-Analysis / PLoS One*, 9(8), 1–8. doi: 10.1371/journal.pone.0103952.
7. Gao, Z. H., Tretiakova, M. S., Liu, W. H., Gong, C., Farris, P. D., & Hart, J. (2006) Association of E-cadherin, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitors of metalloproteinases with the progression and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol*, 19(4), 533–540.
8. Theret, N., Musso, O., Turlin, B., Lotrian, D., Bioulac-Sage, P., Campion, J. P., et al. (2001) Increased extracellular matrix remodeling is associated with tumor progression in human hepatocellular carcinomas. *Hepatology*, 34(1), 82–88.
10. Tumanskiy, V. O., Yevsieiev, A. V., Kovalenko, I. S., Zubko, M. D. (2015) Patent Ukrainy 99314, MPK 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 Sposib fototsyfrovoi morfometrii imunohistohimichnykh preparativ [Method fototsyvrovoyi immunohistochemical morphometry drugs]. *Biul.*, 10. [in Ukrainian].
11. Rasband, W. S., & Image, J. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA Retrieved from <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997–2012.
12. Tumanskij, V. A., & Zubko, M. D. (2015) Kharakteristika urovnya e`kspresii MMR-9 i TIMP-1 v gepatocellyulyarnom i kholangiocellyulyarnom rake pecheni [Characteristics of the expression level of MMP-9 and TIMP-1 in hepatocellular and cholangiocellular liver carcinoma]. *Patolohiia*, 1(33), 20–25. [in Ukrainian].
13. Zubko, M. D. (2015) Kharakteristika urovnya e`kspresii E-kadgerina i β -katenina v gepatocellyulyarnom i kholangiocellyulyarnom rake pecheni. *Patolohiia*, 2(34), 64–70. [in Ukrainian].
14. Lazarevich, N. L. (2004) Molekulyarnye mekhanizmy progressii opukholej pecheni [Molecular mechanisms of the progression of liver tumors]. *Uspekhi biologicheskoy khimii*, 44, 365–418. [in Russian].
15. Koskinas, J., Petraki, K., Kavantzias, N., Rapti, I., Kountouras, D., & Hadziyannis, S. (2005) Hepatic expression of the proliferative marker Ki-67 and p53 protein in HBV or HCV cirrhosis in relation to dysplastic liver cell changes and hepatocellular carcinoma. *Viral Hepatitis*, 12(6), 635–641. doi: 10.1111/j.1365-2893.2005.00635.x.
16. Tannapfel, A., Weinans, L., Geissler, F., Schütz, A., Katalinic, A., Köckerling, F., et al. (2000) Mutations of p53 tumor suppressor gene, apoptosis, and proliferation in intrahepatic cholangiocellular carcinoma of the liver. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(2), 317–324.

Сведения об авторах:

Туманский В. А., д. мед. н., профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, E_mail: tumanskiy@zsmu.zp.ua.

Зубко М. Д., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет.

Відомості про авторів:

Туманський В. О., д. мед. н., професор, зав. каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, E_mail: tumanskiy@zsmu.zp.ua.

Зубко М. Д., асистент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет.

Information about authors:

Tumanskiy V. A., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, E_mail: tumanskiy@zsmu.zp.ua.

Zubko M. D., Assistant of the Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University.

Надійшла в редакцію 15.06.2015 р.