

# Дуктулярная реакция, или печеночный репаративный комплекс: иммуногистохимические особенности при циррозе печени у больных хроническим гепатитом

В. А. Туманский, С. В. Фень

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

**Ключевые слова:**

стеатогепатит,  
цирроз печени,  
биопсия.

**Патология.** – 2018. –  
Т. 15, № 1(42). –  
С. 18–28

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2018.1.129316

**E-mail:**  
Alchimik1989@  
gmail.com

До последнего времени среди патоморфологов и гепатологов продолжается дискуссия о механизмах развития и биологической роли дуктулярной реакции (ДР), развивающейся у больных хроническими заболеваниями печени.

**Цель работы** – с использованием иммуногистохимических (ИГХ) методик охарактеризовать в гепатобиоптатах патоморфологические особенности и значение ДР при циррозе печени у больных хроническим неалкогольным, алкогольным и вирусным гепатитом.

**Материалы и методы.** В биоптатах печени проведено гистологическое (ГЛ), гистохимическое (ГХ) и ИГХ исследование ДР при циррозе печени у 13 больных неалкогольным стеатогепатитом, 13 больных алкогольным стеатогепатитом, 10 больных хроническим вирусным гепатитом С, а также ГЛ и ГХ исследование ДР у 8 больных тяжелым билиостазом и 8 больных фокальной нодулярной гиперплазией печени.

**Результаты.** При циррозе печени у больных хроническим гепатитом ДР реакция установлена в активной фазе с максимальными, умеренными или слабыми проявлениями; у значительного числа больных отмечена фаза отдаленных последствий ДР печени. Активная фаза ДР характеризуется появлением на периферии печеночных долек в проекции каналов Геринга, в фиброзной портально-септальной и субкапсулярной ткани печени реактивных клеточных цепочек, клеточных скоплений и дуктул с клетками на разных стадиях дифференцировки: с иммunoфенотипом прогениторных клеток печени (c-kit CD117+, CD34+, CD56+, CD44 Std./NCAM+, α-FTP+, CK7-, CK19-, Негар-), промежуточных гепатобилиарных CK7+ клеток, клеток билиарной (CK7+, CK19+) и гепатоцитарной (Негар+, α-FTP+) дифференцировки. В клетках реактивных дуктул и клеточных цепочек отсутствуют фигуры митоза или повышенный уровень экспрессии Ki-67. В реактивных клеточных цепочках и дуктулах промежуточных и центральных зон печеночных долек доминируют клетки бифазной (билиарной (CK7+, CK19+), гепатоцитарной (Негар+)) дифференцировки и промежуточные гепатобилиарные CK7+ клетки. Гепатоцитарной дифференцировке прогениторных клеток способствует наличие ламинина в нишах прогениторных клеток и экспрессия ламинина перисинусоидальными звездчатыми клетками в дольках печени. В активной фазе ДР появляются новые печеночные псевдодольки, содержащие на периферии малочисленные промежуточные CK-7+ гепатоциты, без наличия центролобулярных вен и упорядоченных синусоидов. В фиброзной портально-септальной и субкапсулярной ткани среди коллагеновых волокон I, III, IV типа и отростков α-SMA+ миофибробластов также отмечено множество клеточных цепочек и дуктул из CK7+, CK19+ клеток, а также малочисленные цепочки с наличием Негар+ и α-FTP+ клеток. Когда площадь печеночных долек и псевдодолек при тяжелом микронодулярном циррозе печени становится равной или меньшей площади окружающего их фиброза, имеет место параллельное возрастание числа Ki-67+ клеток в портально-дольковых дуктулах и цепочках, а также числа Ki-67+ гепатоцитов в печеночных дольках и псевдодольках. Отдаленные последствия ДР при циррозе печени отражает наличие среди коллагеновых волокон фиброзной портально-септальной и субкапсулярной ткани множества сформированных из CK7+ эпителия дуктул, не содержащих желчи, а также наличие псевдодолек и нечетко очерченных очагов гиперплазии гепатоцитов без упорядоченно ориентированных синусоидов в дольках печени без реактивных клеточных цепочек и дуктул.

**Выводы.** ДР при циррозе печени у больных хроническим неалкогольным, алкогольным и вирусным гепатитом представляет собой процесс активации и эволюции репаративного комплекса печени, направленного на восполнение дефицита гепатоцитов и билиарных структур. Репаративный процесс при циррозе печени с глубоко нарушенным портально-дольковым межклеточным матриксом завершается образованием функционально малоценных гепатоцеллюлярных псевдодолек и избытка билиарных дуктул в полях портально-септального фиброза.

**Ключові слова:**

стеатогепатит,  
цирроз печінки,  
біопсія.

**Патологія.** – 2018. –  
Т. 15, № 1(42). –  
С. 18–28

**Дуктулярна реакція, або печінковий репаративний комплекс: імуногістохімічні особливості при цирозі печінки у хворих на хронічний гепатит**

В. О. Туманський, С. В. Фень

До останнього часу серед патоморфологів і гепатологів триває дискусія про механізми розвитку та біологічну роль дуктулярної реакції (ДР), що розвивається у хворих на хронічні захворювання печінки.

**Мета роботи** – з використанням імуногістохімічних (ІГХ) методик охарактеризувати в гепатобиоптатах патоморфологічні особливості та значення ДР реакції при цирозі печінки у хворих на хронічний неалкогольний, алкогольний і вірусний гепатит.

**Матеріали та методи.** У біоптатах печінки виконали гістологічне (ГЛ), гістохімічне (ГХ) і ІГХ дослідження ДР при цирозі печінки у 13 хворих на неалкогольний стеатогепатит, 13 хворих на алкогольний стеатогепатит, 10 хворих на хронічний вірусний гепатит С, а також ГЛ і ГХ дослідження ДР у 8 хворих на важкий біліостаз і 8 хворих на фокальну нодулярну гіперплазію печінки.

**Результати.** При цирозі печінки у хворих на хронічний гепатит ДР реакція встановлена в активній фазі з максимальними, помірними або слабкими проявами, у чималої кількості хворих виявлена фаза віддалених наслідків ДР печінки. Активна фаза ДР характеризується появою на периферії печінкових дольок у проекції канальців Герінга, у фіброзній портально-септальній і суб capsулярній тканині печінки реактивних клітинних ланцюжків, клітинних скупчень і дуктул із клітинами на різних стадіях диференціювання: з імунофенотипом прогеніторних клітин печінки (c-kit CD117+, CD34+, CD56+, CD44 Std./HCAM+, α-FTP+, CK7-, CK19-, Hepar-), проміжних гепатобіліарних CK7+ клітин, клітин біліарного (CK7+, CK19+) і гепатоцитарного (Hepar+, α-FTP+) диференціювання. У клітинах реактивних дуктул і клітинних ланцюжків відсутні фігури мітозу або підвищений рівень експресії Ki-67. У реактивних клітинних ланцюжках і дуктулах проміжних і центральних зон печінкових дольок домінують клітини біфазного (біліарного) (CK7+, CK19+), гепатоцитарного (Hepar+) диференціювання і проміжні гепатобіліарні CK7+ клітини. Гепатоцитарному диференціюванню прогеніторних клітин сприяє наявність ламініну в нішах прогеніторних клітин та експресія ламініну перисинусоїдальними зірчастими клітинами в дольках печінки. В активній фазі ДР з'являються нові печінкові псевдодольки, які містять на периферії проміжні CK7+ гепатоцити, без наявності центролобулярних вен та упорядкованих синусоїд. У фіброзній портально-септальній і суб capsулярній тканині серед колагенових волокон I, III, IV типу їх відростків α-SMA+ міофіробластів також визначили велику кількість клітинних ланцюжків і дуктул із CK7+, CK19+ клітин, а також нечисленні ланцюжки з наявністю Hepar+ і α-FTP+ клітин. Коли площа печінкових дольок і псевдодольок при тяжкому мікронодулярному цирозі печінки дорівнює або стає меншою за площу прилеглого до них фіброзу, відбувається паралельне збільшення кількості Ki-67+ клітин у портально-долькових дуктулах і ланцюжках, а також числа CK7+ гепатоцитів у печінкових дольках і псевдодольках. Віддалені наслідки ДР при цирозі печінки показують наявність серед колагенових волокон фіброзної портально-септальної, суб capsулярної тканини множинних, сформованих з CK7+ епітелію дуктул, що не містять жовчі, а також наявність псевдодольок і нечітко окресленіх вогнищ гіперплазії гепатоцитів без упорядковано орієнтованих синусоїд у дольках печінки без реактивних клітинних ланцюжків і дуктул.

**Висновки.** ДР при цирозі печінки у хворих на хронічний неалкогольний, алкогольний і вірусний гепатит є процесом активації та еволюції складного репаративного комплексу печінки, що спрямований на поповнення дефіциту гепатоцитів і біліарних структур. Репаративний процес при цирозі печінки з глибоко порушенням портально-дольковим міжклітинним матриксом завершується формуванням нових, функціонально малоцінних гепатоцелюлярних псевдодольок і надлишку біліарних дуктул у полях портально-септального фіброзу.

## Ductular reaction or hepatic reparative complex: immunohistochemical features in liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis

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

Until recently, a discussion about the mechanisms of development and the biological role of the ductular reaction, which develops in patients with chronic liver diseases continues among hepatologists and pathomorphologists.

**Purpose of the study.** To characterize the pathomorphological features and significance of the ductular response in liver cirrhosis in patients with chronic non-alcoholic, alcoholic and viral hepatitis in hepatobiotops with the use of immunohistochemical (IHC) techniques.

**Material and methods of investigation.** Histological, histochemical and IHC study of the ductular liver reaction in liver biopsies of 52 patients aged 24 to 66 years with cirrhosis of the liver on the background of non-alcoholic steatohepatitis (13 patients), and alcoholic steatohepatitis (13 patients) and on the background of chronic viral hepatitis C (10 patients, 26–47 years), as well as those suffering from severe biliostasis (8 patients) and focal nodular liver hyperplasia (8 patients).

**Results.** The ductular reaction can be detected in the active phase with maximum manifestations in patients with liver cirrhosis on the background of chronic hepatitis, it may have an average or weak degree of severity; in a significant number of patients, the effects of the ductular reaction of the liver are revealed. Cellular chains and groups of cells with the immunophenotype of the progenitor cells of the liver appear in the active phase of the ductular reaction at the periphery of the hepatic lobules in the projection of the Goering canals, in the fibrotically altered portal tracts, in the subcapsular zone of the liver and in the thickened fibrosis septa (c-kit CD117+, CD34+, CD56+ CK7-, CK19-, Hepar-) without presence of figures of mitosis or increased level of expression of Ki-67 in them. In small ductules localized in the projection of the Goering canals, single cells with the expression of c-kit CD 117+, CD44 Std./HCAM+, CD34+, CD56+, expressing the markers of biliary (CK7+, CK19+) and hepatocyte (Hepar+, α-fetoprotein+) differentiation are revealed. Cellular chains and ductules in the intermediate zones of the hepatic lobules are represented by cells of biphasic differentiation: biliary (CK7+, CK19+), hepatocyte (Hepar+) differentiation and intermediate hepatobilious CK7+ cells. Hepatocyte differentiation of progenitor cells in lobules of the liver is facilitated by local expression of laminin by perisinusoidal stellate cells. New pseudolobes arise in the active phase of the ductular reaction in the lobes with perisinusoidal pericellular fibrosis from disorderly located large hepatocytes without linear perisinusoid spaces and centrolobular veins, with the presence of "intermediate" SC7+ hepatocytes on the periphery. One-two-row chains and ductules from SC7+ and CK19+ cells dominate in the fibro-altered portal tracts, septa and the subcapsular zone of the liver among the collagen fibers of I, III, IV type and the processes of α-SMA+ myofibroblasts, and small short chains from Hepar+ and α- fetoprotein-cells. When the severity of micronodular liver cirrhosis increases, when the area of hepatic lobules and pseudotypes becomes equal to or less than the area of the surrounding fibrosis, there is a parallel increase in the number of Ki-67+ cells in portal-lobular ductules and chains, as well as the number of Ki-67+ hepatocytes in hepatic lobules and pseudolobes. The long-term consequences of the ductular reaction in liver cirrhosis reflect the presence of the different number of bile-free ductules with CK7 + epithelium in the fibrous tissue of portal tracts, septa and under the liver capsule. In the lobules of the liver with perisinusoidal pericellular fibrosis, fuzzy outlines of hepatocyte hyperplasia without ordered sinusoids and liver-celled beams are found.

**Key words:**  
steatohepatitis,  
liver cirrhosis,  
biopsy.

**Pathologia**  
2018; 15 (1), 18-28

**Conclusions.** The ductular reaction in liver cirrhosis in patients with chronic non-alcohol, alcoholic and viral hepatitis is the process of activation and evolution of a complex liver repair complex aimed at replenishing the deficit of hepatocytes and biliary structures. The reparative process, activating by liver cirrhosis on the background of the disturbed portal-lobular intercellular matrix and the progressive deficit of hepatocytes, does not provide the reconstruction of full-fledged liver structures, it is discordant towards the creation of new, functionally low-value hepatocellular pseudolobes and the accumulation of biliary terminals in fields of portal-septal fibrosis.

Дуктулярная реакция (ДР) в печени человека, впервые описанная Н. Popper, G. Kent, R. Stein в 1957 г., – своеобразный ответ печени на дефицит гепатоцитов и холангiol при хроническом неалкогольном и алкогольном гепатите, хроническом вирусном гепатите, тяжелом билиостазе и циррозе печени [1]. Дуктулярная реакция представляет собой стереотипное гистологическое проявление генерации «печеночной репаративной системы» – динамичного многоклеточного морффункционального комплекса, в котором дуктулярные эпителиальные клетки, развивающиеся в виде цепочек вдоль краев портального тракта, приобретают реактивный фенотип, характеризующийся экспрессией de novo множества цитокинов, хемокинов, факторов роста и ангиогенных факторов в сочетании с богатым рецепторным оснащением [1,2]. «Печеночный репаративный комплекс» составляют прогениторные клетки печени, промежуточные гепатобилиарные клетки и реактивные дуктулярные клетки [3]. В изучении дуктулярной реакции преобладают экспериментальные исследования, выполненные на грызунах, моллюсках, аквариумных рыбках и в клеточных культурах, меньшую часть составляют патоморфологические исследования печени больных хроническими гепатитами, холангопатиями и некротическими поражениями печени [3–8].

Основными эффекторными клетками, которые реагируют на хроническое повреждение печени, являются прогениторные клетки печени и дуктулярные реактивные клетки [1]. Прогениторные клетки печени, локализованные в нише канальцев Геринга, представляют собой бипотенциальные клетки, способные амплифицироваться и дифференцироваться в клетки гепатоцеллюлярной или билиарной линии [5]. В нише печеночные прогениторные клетки тесно взаимосвязаны со звездчатыми клетками, макрофагами и внеклеточным матриксом.

Прогениторные клетки печени содержат смесь редких стволовых клеток, транзиторно амплифицированных эпителиальных клеток и дифференцированных клеток. В 2004 г. были выделены три эпителиальных фенотипа: печеночные прогениторные клетки, промежуточные гепатобилиарные клетки и реактивные дуктулярные клетки [4]. В популяции прогениторных клеток некоторые клетки экспрессируют маркеры билиарного эпителия (CK-7, CK-8, CK-18, CK-19), некоторые экспрессируют α-фетопротеин незрелых фетальных гепатобластов, некоторые экспрессируют один или несколько маркеров стволовых клеток, таких как ckit/CD117, CD34, Sca-1, Sox9 и Thy1/CD90. Эти клетки также экспрессируют молекулы адгезии нейронных клеток (NCAM), проминин 1 (CD133), теломеразу и молекулы адгезии эпителиальных клеток (EPCAM) [9]. Клетки реактивных дуктус экспрессируют нейроэндокринные маркеры (хромогринин A, M3

Ach-R, нейрогенный фактор роста, 1A/1B рецепторы серотонина, β1/β2-адренергические рецепторы), молекулы межклеточной адгезии (NCAM, ICAM-1, CD40, MHC-II), цитокины и хемокины (TNF-α, IL-6, IL-8, MCP-1, CINC, SDF-1), факторы роста (VEGF, angiopoietins, HGF, PDGF-BB, CTGF, ET1, TGFβ2, IGF-1), рецепторы (VEGFR-1, VEGFR-2, Tie-2, CXCR4, IGF1R, TβRII) и другие метаболически активные молекулы (Bcl-2, NO), которые временно экспрессируют клетки дуктальной пластины во время эмбрионального развития [3]. У людей прогениторные клетки печени, экспрессирующие EpCAM, NCAM, CXCR4 и CD44, способны к бипотенциальному дифференцировке в гепатоциты и в холангиоциты [5].

Установлено, что пролиферацию и активацию прогениторных клеток печени при прогрессировании неалкогольного стеатогепатита могут спровоцировать длительный апоптоз гепатоцитов и остановка клеточного цикла, вызванная окислительным стрессом [6]. В итоге клеточные компоненты «печеночного репаративного комплекса» созревают в дифференцированные билиарные протоки и в гепатоциты или могут регресировать апоптозом после прекращения повреждения печени [10]. С другой стороны, дуктулярная реакция и сопровождающая воспалительная реакция в печени играют важную роль в развитии портального и перипортального фиброза. Дуктулы продуцируют и секрецируют цитокины и хемокины, включая TNF α, IL-6, IL-8, хемотаксические белки-1 (MCP-1) и оксид азота (NO), которые потенцируют воспалительную реакцию и сопутствующий фиброз [11]. В процессе дуктулярной реакции активируется выделение трансформирующего фактора роста-β и тромбоцитарного фактора роста, которые, в свою очередь, активируют портальные миофибробlastы к синтезу коллагена 1 типа [12]. Центролобулярная дуктулярная реакция при неалкогольном стеатогепатите коррелирует со стадией прогрессии фиброза печени [8].

Поэтому взгляды патоморфологов и гепатологов на биологическую роль ДР печени разделились: одни исследователи считают ее репаративным процессом при хронических заболеваниях печени [10], другие – неспецифическим ответом терминалей билиарного дерева на хроническое повреждение печени с дифференцировкой печеночных прогениторных клеток в холангиоциты [13], третьи – предиктором билиарного фиброза и прогрессирования стеатогепатита [8].

### Цель работы

С использованием иммуногистохимических методик охарактеризовать в гепатобиоптатах патоморфологические особенности и значение дуктулярной реакции при циррозе печени у больных хроническим неалкогольным, алкогольным и вирусным гепатитом.

## Материалы и методы исследования

Проведено гистологическое (ГЛ), гистохимическое (ГХ) и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование дуктулярной реакции печени в лапароскопических биоптатах и трепанобиоптатах печени при микронодулярном портально-септальном и перисинусоидально-перицеллюлярном циррозе печени у 13 больных неалкогольным стеатогепатитом (45–66 лет), 13 больных алкогольным стеатогепатитом (32–66 лет) и 10 больных хроническим вирусным гепатитом С (26–47 лет), а также ГЛ и ГХ анализ биоптатов печени 272 больных циррозом печени, который развился на фоне хронического алкогольного, неалкогольного и вирусного гепатита. В группах сравнения изучены ГЛ и ГХ особенности дуктулярной реакции у 8 пациентов 24–52 лет, страдавших тяжелым билиостазом, и у 8 пациентов 39–55 лет с фокальной нодулярной гиперплазией печени.

Для патоморфологического исследования биопсийный материал печени фиксировали в забуференном 10 % формалине и заливали в парафин. С учетом клинико-лабораторных данных в парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, методом Ван Гизона и Массон-трихром, диагностировали тип хронического гепатита (вирусный, неалкогольный, алкогольный) и цирроза печени, особенности дуктулярной реакции печени, а также наличие фокальной нодулярной гиперплазии печени и тяжелого внутрипеченочного билиостаза.

ИГХ-исследования выполняли в серийных парафиновых срезах печени непрямым иммунопероксидазным методом с использованием моноклональных антител (АТ) и системы визуализации DAKO EnVision+ с диаминбензидином («DAKO», Дания). Для установления прогениторных клеток печени использовали поликлональные АТ Polyclonal Ra a-Hu CD 117, c-kit («DAKO», Дания), моноклональные АТ Mo a-Hu CD34, Clone QBEnd/10 («Thermo Scientific», США) и Mo a-Hu CD44 Std./HCAM Ab-4, Clone 156-3C11 («Thermo Scientific», США), а также Mo a-Hu CD56, Clone T199 («NeoMarkers», США). Для идентификации билиарных клеток применяли моноклональные АТ Mo a-Hu Keratin 7, Clone OV-TL 12/30 («Thermo Scientific», США) и Mo a-Hu Cytokeratine 19, Clone RCK 108 («DAKO», США); для идентификации гепатоцитов – моноклональные АТ HepPar-1 Mo a-Hu Hepatocyte, Clone QBEnd/10 («Thermo Scientific», США) и поликлональные M Rb a-Hu Alpha-1-Fetoprotein («Thermo Scientific», США). Оценку пролиферативной активности эпителиальных клеток дуктулярной реакции и гепатоцитов печени проводили с применением моноклональных АТ Mo a-Hu Ki-67 Antigen, Clone SP6 («Thermo Scientific», США). Для идентификации активированных перисинусоидальных звездчатых клеток и портальных миофибробластов использовали моноклональные АТ Mo a-Hu Alpha Smooth Muscle Actin (α-SMA), Clone 1A4 («DAKO», Дания), Mo a-Hu Desmin, Clone D33, RTU («DAKO», Дания). Для обнаружения молекулярно-волокнистых компонентов внеклеточного матрикса портальных трактов, фиброзных септ, долек и псевдодолек печени использовали поликлональные АТ к ламиину – Rb Laminin Ab-1 («Thermo Scientific», США), моноклональные АТ к коллагену I типа – Rb a-Hu Collagen type I, clone RAH

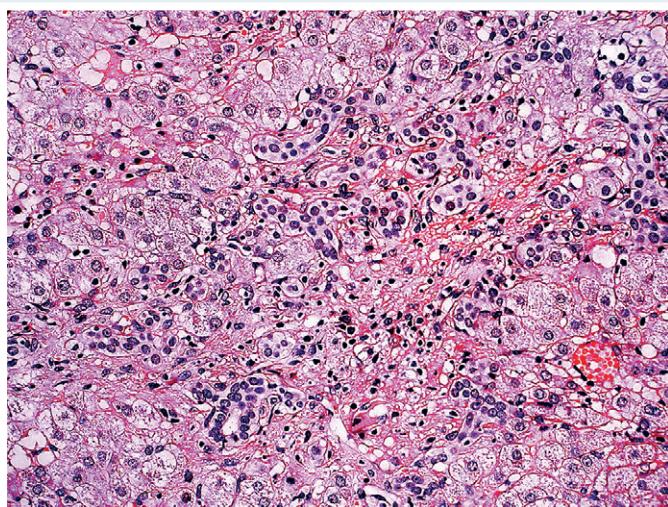
C11-0,1 («Имтек», РФ), к коллагену III типа – Rb a-Hu Collagen type III, clone RAH C33 («Имтек», РФ), к коллагену IV типа – Mo a-Hu Collagen type IV Ab-3, clone CIV 22 + PHM 12 («Thermo Scientific», США).

## Результаты и их обсуждение

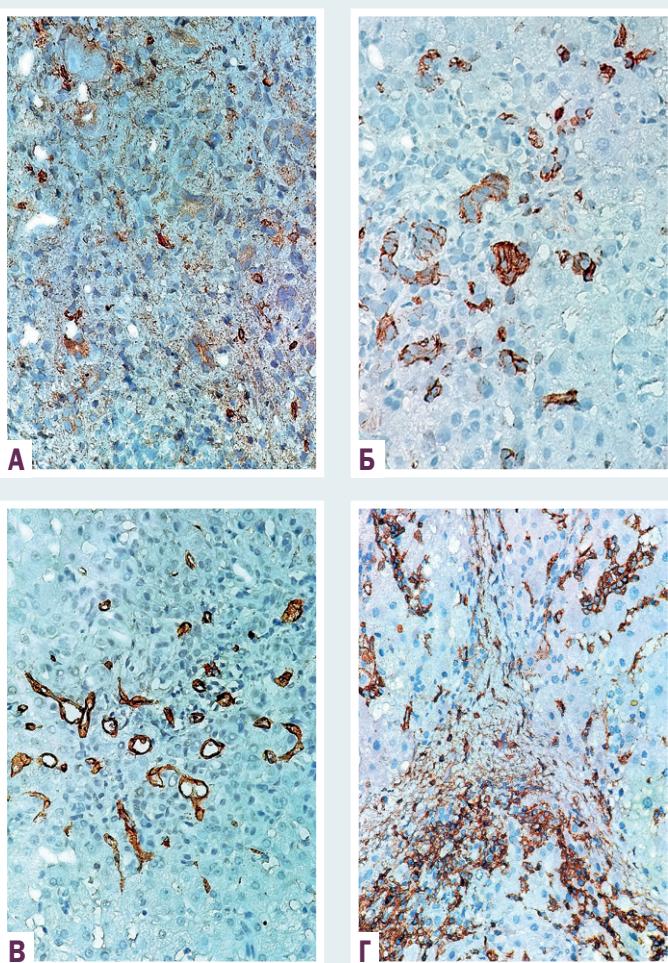
Проведенные ГЛ, ГХ и ИГХ исследования показали, что при микронодулярном циррозе печени у больных хроническим неалкогольным, алкогольным и вирусным гепатитом дуктулярная реакция в гепатобиоптатах может обнаруживаться в активной фазе с максимальными, умеренными и слабыми микроскопическими проявлениями. Кроме этого, у значительного числа больных отмечена фаза отдаленных последствий дуктулярной реакции печени.

Активная фаза ДР проявляется появлением на периферии печеночных долек в проекции канальцев Геринга ветвящихся цепочек из одного или двух рядов эпителиоподобных клеток размером до 8 мкм с овальными ядрами, переходящих в дуктулы с узким просветом, выстланые одним рядом аналогичных клеток. Рядом располагаются группы из 4–6 (иногда – более чем из 10) аналогичных клеток, которые в гистологических микропрепаратах наиболее вероятно представляют собой тангенциальные или поперечные срезы изгибов двухрядных клеточных цепочек и дуктул. Группы эпителиоподобных клеток, клеточные одно-двухрядные цепочки и дуктулы локализованы в аморфно-нежноволокнистом межклеточном матриксе, содержащем одиночные макрофаги, лимфоциты, фибробlastы (рис. 1), и, в совокупности, являются микроскопическим проявлением раскрывшегося репаративного комплекса печени, или раскрывшейся ниши прогениторных клеток печени. По данным ИГХ исследований, активная фаза ДР отличается тем, что клеточные цепочки, клеточные скопления и дуктулы любой локализации содержат малочисленные клетки с иммунофенотипом прогениторных клеток печени (c-kit CD117+, CD34+, CD56+, CD44 Std./HCAM+, α-FTP+, CK7-, CK19-, Непар-), а также одиночные клетки на разных стадиях гепатобилиарной дифференцировки: промежуточные гепатобилиарные CK7+ клетки бифазной билиарно-гепатоцитарной дифференцировки, клетки билиарной (CK7+, CK19+) и гепатоцитарной (Непар+, α-FTP+) дифференцировки (рис. 2 А,Б,В,Г, З А,Б).

Печеночные прогениторные клетки у людей и мышей или овальные клетки у крыс описаны как небольшие овальные клетки со слабо базофильной цитоплазмой и бледно-синим ядром. Они представляют собой гетерогенную популяцию клеток, которые активируются для пролиферации при разных патологических состояниях печени [9]. По данным M. Strazzabosco, L. Fabris [3], экспрессия c-kit CD 117+, CD44 Std./HCAM+, CD34+, CD56+ присуща клеткам со свойствами стволовых и прогениторных клеток печени. Одновременное наличие в ветвящихся клеточных цепочках и дуктулах прогениторных печеночных клеток, а также клеток на разных стадиях гепатобилиарной дифференцировки дает основание считать клеточные цепочки и дуктулы «реактивными» структурами активированного репаративного комплекса.



**Рис. 1.** Реактивные клеточные цепочки и дуктулы в нише прогениторных клеток при циррозе печени в активной фазе дуктулярной реакции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ×600.



**Рис. 2.** А, Б, Г. Экспрессия в клетках реактивных дуктус и цепочек CD117\_c-kit (А), CD56 (Б), CD34 (В) и CD44 Std./HCAM (Г) в активной фазе дуктулярной реакции печени.

**A:** Polyclonal Ra a-Human CD 117, c-kit. **Б:** Mo a-Hu CD56, clone T199.  
**В:** Mo a-Hu CD34, clone QBEnd/10. **Г:** Mo a-Hu CD44 Std./HCAM Ab-4, clone 156-3C11.  
 Ув.: А, Б – ×300, В, Г – ×200.

са печени. Термин «реактивные» дуктулы и цепочки применяют и исследователи T. A. Roskams et al. [4], M. Cadamuro et al. [1]. Ветвящиеся клеточные цепочки и дуктулы проникают в портальные тракты и вглубь печеночных долек к их центролобулярным венам, поэтому при циррозе печени у больных хроническим гепатитом в активной фазе дуктулярной реакции клеточные цепочки, скопления эпителииоподобных клеток и дуктулы также обнаруживаются в фиброзно измененных портальных трактах и суб capsularной зоне печени, в утолщенных фиброзных септах (рис. 3 В, Г).

В дольках печени фрагменты реактивных клеточных цепочек и дуктус обычно радиально ориентированы вдоль перисинусоидальных пространств по направлению к центролобулярной вене. В клетках клеточных цепочек обращает внимание значительная мембранныя экспрессия маркера межклеточной адгезии эпителиальных клеток CD44 Std./HCAM, свидетельствующая о значительной мобильности реактивных цепочечных структур. Вокруг большинства реактивных клеточных цепочек и дуктус нет утолщенных базальных мембран из коллагеновых волокон IV типа и из α-SMA-позитивных волокон, однако в цитоплазме и отростках звездчатых клеток, сопровождающих дуктулы, определяется экспрессия α-SMA. В реактивных клеточных цепочках и дуктусах промежуточных и центральных зон печеночных долек доминируют промежуточные гепатобилиарные клетки со слабой цитоплазматической экспрессией CK7, клетки бифазной билиарной (CK7+, CK19+) и гепатоцитарной (Hepar+, α-FTP-) дифференцировки, а также обнаружают единичные CD56-позитивные клетки. Рядом с дуктусами нередко локализованы промежуточные гепатобилиарные клетки диаметром 8–30 микрон с умеренной цитоплазматической экспрессией CK7, структура которых в большей мере соответствует гепатоцитам (рис. 4). По данным T. A. Roskams et al. [4], промежуточные гепатобилиарные клетки имеют диаметр более 6 микрон (приблизительный размер нормального наименьшего холангиоцита канала Геринга), но менее 40 микрон (типичный размер гепатоцита). Промежуточные гепатобилиарные клетки характеризуются промежуточным фенотипом между холангиоцитами и гепатоцитами, лишенными экспрессии CK19, но положительными для CK7, который обычно отсутствует у зрелых гепатоцитов [3].

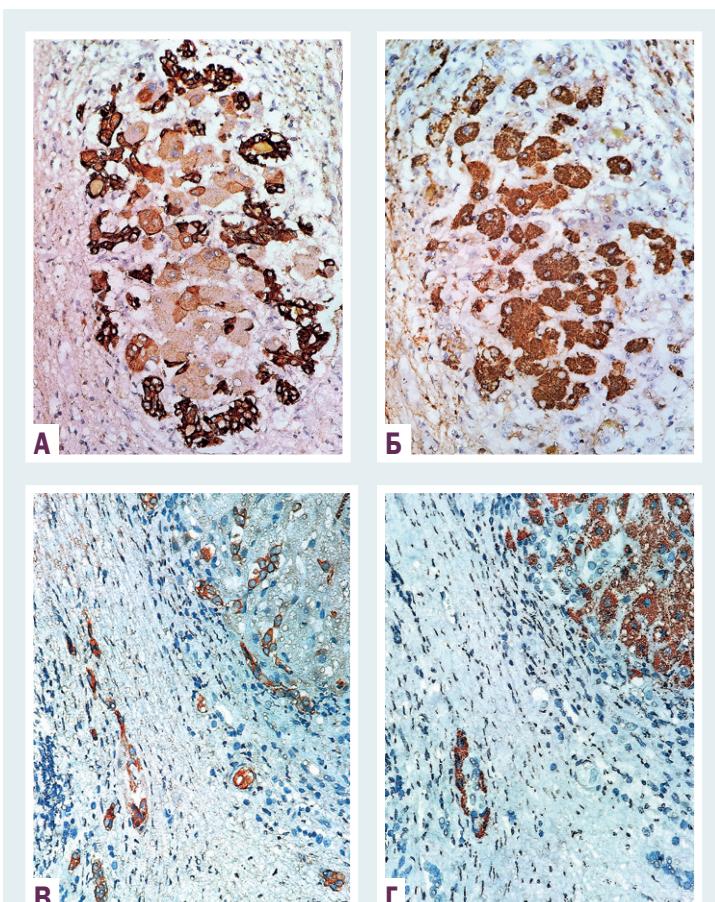
Установлено, что прогениторные клетки печени дифференцируются в гепатоциты через промежуточные гепатобилиарные клетки, тогда как дифференцировка в билиарные клетки происходит через генерацию реактивных дуктулярных клеток [14]. На дифференцировку прогениторных клеток влияет клеточно-клеточная сигнализация между прогениторными клетками, звездчатыми клетками и макрофагами через Wnt и Notch пути [15]. При билиарной дифференцировке экспрессия Jagged 1 миофибробластами усиливает Notch-сигнализацию в прогениторных клетках и их дифференцировку в холангиоциты; при снижении Notch сигналов и активации секреции Wnt3a макрофагами прогениторные клетки могут параллельно дифференцироваться в гепатоциты [12, 16]. Появление популяции промежуточных гепатоцитов при

острых и хронических заболеваниях печени – признак гепатоцеллюлярной дифференцировки печеночных прогениторных клеток [12].

Проведенные ИГХ исследования показали, что гепатоцитарной дифференцировке прогениторных клеток также способствует наличие ламинаина в нишах прогениторных клеток и экспрессия ламинаина перисинусоидальными звездчатыми клетками в дольках печени. При микронодулярном циррозе печени на периферии некоторых долек и псевдодолек в проекции каналов Геринга, в так называемых раскрывшихся нишах прогениторных клеток печени, определяются зоны внеклеточной экспрессии ламинаина (рис. 5А), в которых локализовано повышенное количество α-FTP-позитивных округлых клеток средней величины (рис. 5Б). В некоторых участках α-FTP-позитивные клетки в виде цепочек проникают в дольки и псевдодольки печени. Одновременно вокруг некоторых цепочек из клеток бифазной дифференцировки, локализованных в проекции каналов Геринга, обнаруживается фрагментарная экспрессия ламинаина. Нерегулярная экспрессия ламинаина обнаруживается вокруг некоторых реактивных дуктул в печеночных дольках, а также в отростках перисинусоидальных звездчатых клеток, сопровождающих дуктулы в печеночных дольках.

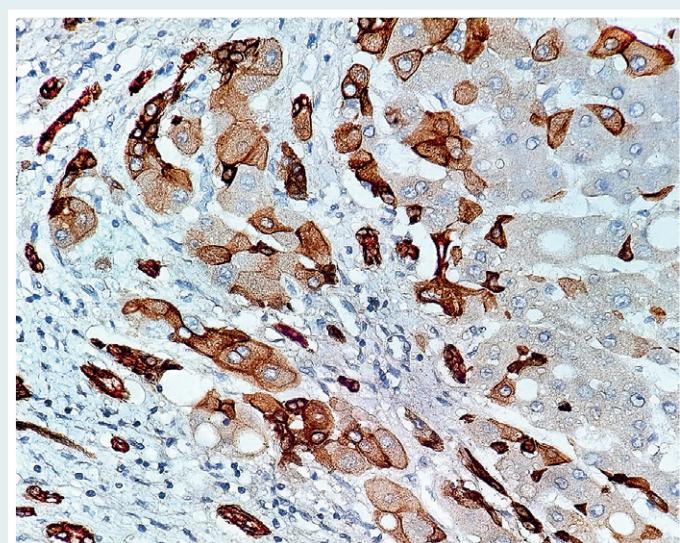
Ламинин – это большой гликопротеин (1000 кД), вырабатываемый в незначительных количествах звездчатыми и эндотелиальными клетками в нормальной печени, а также в увеличенных количествах звездчатыми клетками и гепатоцитами в пораженной печени [17]. При заболеваниях печени ламинин депонируется в пространствах Диссе и вместе с коллагеном IV типа самоорганизуется в две независимые супрамолекулярные сети, связанные с нидогеном и перлеканом, которые образуют морфологически различимую перисинусоидальную базальную мембрану [18]. В печени пожилых людей ламинин редко наблюдали при перисинусоидально-перицеллюлярном фиброзе, часто – при формировании септ, мостовидном фиброзе и циррозе [18].

Установлено, что ламиновый матрикс в нише прогениторных клеток печени поддерживает прогениторные клетки в недифференцированном фенотипе и подавляет их гепатоцитарную дифференцировку [19]. В то же время ламинин, который практически отсутствует в нормальных синусоидах печени, выполняет важную роль в направленности дифференцировки прогениторных клеток [15]. При использовании избирательных условий культивирования прогениторных клеток *in vitro* установлено: если прогениторные клетки культивировались в среде, содержащей смесь ламинаина и коллагена IV типа, то они приобретали гепатоцитарную дифференцировку; если прогениторные клетки культивировались в среде, содержащей коллаген I типа, то они приобретали билиарную дифференцировку [15]. Человеческие гепатоцитоподобные клетки, культивированные на рекомбинантном ламинине-521 и ламинине-111, рано проявляют гепатоцитоподобный внешний вид, в покрытой ламинаином культуральной чаше они устраивают в долькоподобные структуры, напоминающие регенерирующую печень [20,21]. L. K. Kanninen et al. [22] обнаружили, что ламинин-511 и ламин-521 либо

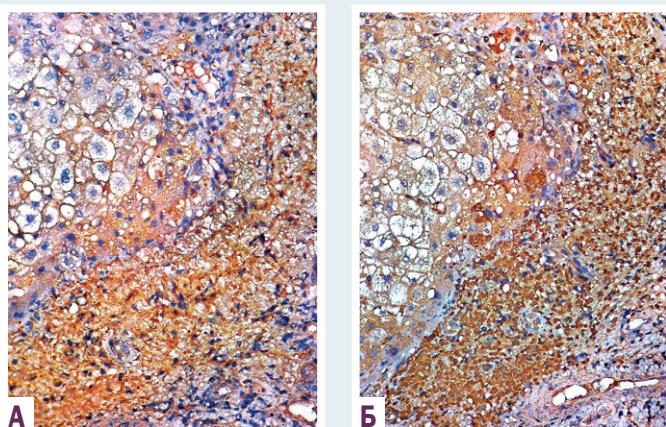


**Рис.3. А, Б.** Экспрессия CK7 (А) и HepPar-1 (Б) в дольках, а также экспрессия CK7 (В) и HepPar-1 (Г) в портально-дольковых клеточных цепочках и дуктулах в активной фазе дуктулярной реакции при циррозе печени.

А, Б: Mo a-Hu Keratin 7, clone OV-TL 12/30.  
Б, Г: HepPar-1 Mo a-Hu Hepatocyte, clone QBEnd/10.  
Ув.: А, Б – ×400; В, Г – ×200.

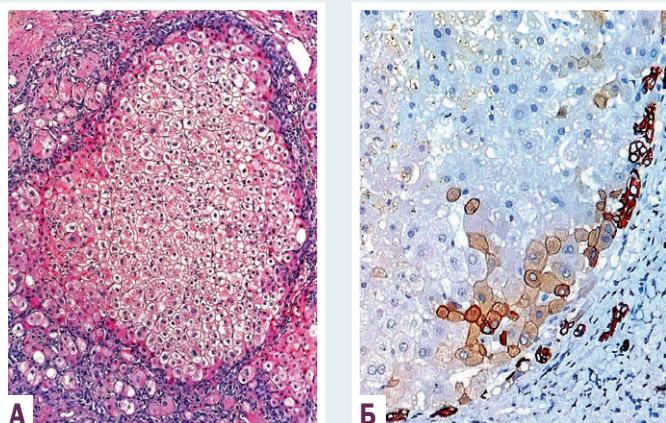


**Рис. 4.** Значительное число промежуточных CK7+ гепатобилиарных клеток рядом с реактивными дуктулами в дольке при циррозе печени в активной фазе дуктулярной реакции. Mo a-Hu Keratin 7, clone OV-TL 12/30. Ув.: ×600.



**Рис.5.** А, Б. Експресія ламініну (А) і значительний чисел а-FTP-позитивних клеток (Б) в нижніх прогеніторних клетках в активній фазі дуктулярної реакції при цирозі печінки.

А: Rb Laminin Ab-1. Б: Rb a-Hu Alpha-1-Fetoprotein. Ув.: А – ×400.



**Рис.6.** А, Б. А: новообразовання псевдодолька без наявності упорядочених синусоїд та центролобулярної вени. Б: промежуточні CK7+ гепатобіліарні клетки на периферії новообразованої псевдодольки та CK7-позитивні дуктули в портальній фіброзній тканині при цирозі печінки.

А: окраска гематоксиліном та зозином. Б: Mo a-Hu Keratin 7, clone OV-TL 12/30. Ув.: А – ×200, Б – ×400.

самостійно, либо в сочтанні підтримують печеночну дифференціацію чоловіческих плорипотентних стволових клеток.

При цирозі печінки у больних хронічним гепатитом в активній фазі дуктулярної реакції також обнаружаються мікроскопічні признаки формування нових псевдодольок в раніше бывших дольках з перisinusoїдально-перицеллюлярним фіброзом (рис. 6А). Новообразовані псевдодольки складають скоплення неупорядочено розташованих, великих Нераг-позитивних та а-FTP-негативних гепатоцитів без наявності лінійно орієнтованих синусоїд, центролобулярних вен, а також перицеллюлярного фіброза. Новообразовані псевдодольки містять на периферії немнохочисленні промежуточні гепатобіліарні клетки з слабкою цитоплазматичною експресією CK-7 (рис. 6Б).

При цирозі печінки в фіброзно змінених портальних трактах та субкапсулярній зоні печінки в фіброзних септах реактивні клеткові цепочки та дуктули з наличем клеток на різних стадіях дифференціації зазвичай орієнтовані вздовж колагенових волокон I, III, IV типу та відростків а-SMA-позитивних міофибробластів, як правило, не формуючи вколо дуктулярно-клеткових структур упорядочених непреривних базальних мембран (рис. 7). Вколо клеткових цепочек та дуктул не обнаружують ламінін. Крім типичних реактивних клеткових цепочек та дуктул, серед колагенових волокон I, III, IV типу та відростків а-SMA+ міофибробластів набувають багаточисленні клеткові цепочки та дуктули з CK7+, CK19+ клетками, а також малочисленні цепочки з наличем Hepar+, а-FTP+ та а-FTP- клеток. Колагенові волокна I та III типу в зонах фіброза оточують такі дуктули в виде муфт різної ширини та густоти. Однак однозначно відповісти на питання, з'явилися вже дуктули вже сформовані тяжелому портальному фіброзу чи ж дуктули формують вколо себе допоміжний колагеновий матрикс, в однократно взятому гепатобіоптаті не представляється можливим.

По даним спеціалізованої літератури, дуктулярна реакція може стимулювати фіброгенез в пошкодженої печінці з помідою кількох механізмів: клетки дуктулярної реакції здатні продукувати фіброгенальні фактори TGF-β та PDGF, які, в свою чергу, активують портальні міофибробlastы та зірчасті клетки печінки до синтезу колагена 1 типу, або клетки дуктулярної реакції можуть піддаватися епітеліально-мезенхимальному переходу, сприяючу тому створенню портального пул міофибробластів [12]. При неалкогольному стеатогепатиті у дорослих больних доказано, що дуктулярна реакція сильно та незалежно відповідає з прогресуючим портальним фіброзом, підвищуючи його вероятність другого перипортального пути фіброгенеза, який не залежить від депонування зірчастими клетками перisinusoїдального колагена в 3 зонах печеночних долек. В неалкогольному стеатогепатиті портальний фіброз представляє собою преобладаючу форму фіброза та є визнаним критичним признаком прогресуванням захворювання [12].

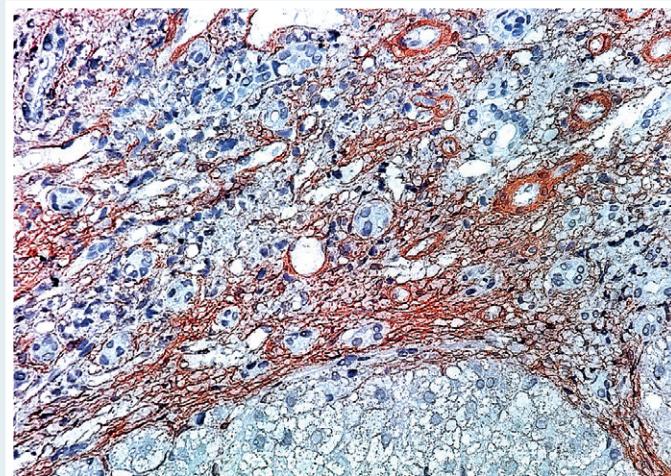
По нашому мненню, з урахуванням динамично змінюючихся сложних клеточно-матриксних взаємодействій та фінала репарації (образування гепатоцитарних та біліарних структур), розворачуючихся в печінці процеси більш повноценно відображають термін «активація репаративного комплекса печінки» (модифіковано з M. Strazzabosco, L. Fabris [3] та M. Cadamuro, M. Strazzabosco, L. Fabris [1]), в то часі як термін «дуктулярна реакція печінки» акцентує увагу лише на частині репаративного процеса – образуванні реактивних дуктул. Термін «дуктулярна» підразуміває, що містячі в ній клетки мають дуктулярний фенотип, а термін «реакція» обозначає, що в реактивних змінах епітеліальний компонент взаємосв'язаний з внеклеточним матриксом, а також з воспалительними, ендотеліальними та мезенхимальними клетками [23].

Важной характеристикой дуктулярной реакции печени, которая не освещается специалистами в этой области, является уровень пролиферации клеток в структурах дуктулярной реакции. Известно, что гепатоциты медленно самообновляются, но обладают высокой регенерационной способностью и способны восстанавливать потерю 70 % ткани печени в течение нескольких недель после травмы [24]. Восстановление массы гепатоцитов при незначительном повреждении печени опосредуется репликацией оставшихся здоровых гепатоцитов и холангиоцитов [25]. Пролиферацию гепатоцитов и холангиоцитов можно напрямую стимулировать без активации прогениторных клеток печени при экспериментальной частичной гепатэктомии и острой билиарной обструкции; при массивных повреждениях и хронических заболеваниях печени регенерация обусловлена активацией прогениторных клеток печени [3].

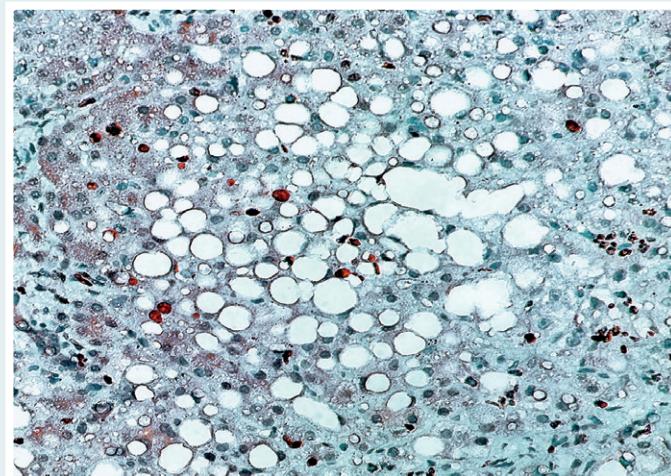
Проведенные ГЛ и ИГХ исследования показали, что при циррозе печени у большинства больных хроническим гепатитом в активной фазе ДР фигуры митоза в реактивных клеточных цепочках, клеточных скоплениях и дуктулах не наблюдаются; Ki-67-позитивные клетки составляют 2–4 % всех клеток печеночных долек, а также фиброзно измененной портально-септальной и субкапсулярной ткани печени (содержащей реактивные клеточные цепочки и дуктулы, а также миофибробласты и лимфоциты). Редко в поперечном или продольном срезе дуктус обнаруживают одну Ki-67-позитивную эпителиальную клетку. Поэтому реактивные клеточные группы и цепочки нельзя назвать клеточными пролифератами. Чтобы как-то выйти из этой неопределенной ситуации, предложено обтекаемое определение, что «дуктулярная реакция представляет собой пролиферацию холангиоцитов на фоне экспансии транзиторно амплифицированных печеночных прогениторных клеток и дифференцировки бипотенциальных печеночных прогениторных клеток в холангиоциты» [13]. Это обусловлено тем, что до настоящего времени не выяснены источники дуктулярной реакции, которая, предположительно, может возникать из-за пролиферации ранее существовавших холангидуктулярных клеток, из-за пролиферации печеночных прогениторных клеток или из-за билиарной метаплазии гепатоцитов [26].

Считается, что прогениторные клетки печени не генерируют гепатоциты, пока сохраняется их пролиферативная способность [27], независимо от характера повреждения, регенерация гепатоцитов происходит путем саморепликации [28]. Предполагается, что пролиферация и дифференциация прогениторных клеток печени, по-видимому, обусловлена активностью определенных генов, таких как ген *LGR5* (богатого лейцином рецептора 5, связанного с G-белком) [29], а также уникальным сочетанием митогенных факторов роста, таких как гепатоцитарный фактор роста (HGF), эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующий фактор роста  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), факторы роста фибробластов 1 и 2 (FGF1 и FGF2) [25].

Недавно в мышьной модели хронического повреждения печени показано, что новые гепатоциты происходят из так называемых гибридных перипортальных гепатоцитов, которые экспрессируют гены,



**Рис. 7.** Множество реактивных дуктус в портальном тракте (сверху) между  $\alpha$ -SMA-позитивными волокнами при циррозе печени у больного алкогольным стеатогепатитом. Mo a-Hu Alpha Smooth Muscle Actin, clone 1A4. Ув.:  $\times 600$ .



**Рис. 8.** Значительная экспрессия Ki-67 эпителием реактивных дуктус (справа) и гепатоцитами псевдодольки (в центре) при тяжелом микронодулярном циррозе печени у больного неалкогольным стеатогепатитом. Mo a-Hu Ki-67 Antigen, clone SP6. Ув.:  $\times 400$ .

специфичные для гепатоцитов и холангиоцитов, и способны к быстрой пролиферации [30]. Кроме этого, у поздних мышьных плодов и родившихся щенков описаны CD45-TER119-CD31-EpCAM-ICAM-1+ резидентные прогениторные клетки, отличные от обычных овальных прогениторных клеток печени, которые дифференцируются в зрелые гепатоциты *in vitro* [31]. Описанные экспериментальные исследования по регенерации печени проводились только у мышей и щенков, и их пока рано экстраполировать на человека. Продолжаются экспериментальные исследования по возможности трансформации в гепатоциты *in vitro* нулевых клеток, происходящих из циркулирующих в крови костномозговых гемопоэтических стволовых клеток и мезенхимальных стволовых клеток, которые могут проникать в печень гематогенным путем [25].

Мы установили, что по мере нарастания степени тяжести микронодулярного цирроза печени, когда пло-

щадь уменьшаючихся печеночних долек і псевдодолек становиться рівною або меншою площини оточуючого їх коллагенізованого фіброза, має місце паралельне зростання числа Ki-67-позитивних клеток в портально-долькових дуктулах і клеточних цепочках, а також в гепатоцитах мелких печеночних долек і псевдодолек (рис. 8). Це свідчить, що стимулом активування репараторної дуктулярної реакції є не тільки довготривалий апоптоз і подавлення мітотичної активності долькових гепатоцитів [6], але і інші, поки ще невяснені причини.

Дуктулярна реакція умереної або слабої ступені вираженості при цирозі печінки у великих хроніческих гепатитах проявляється наявністю в фіброзно змінених портальних трактах і септах, в дольках і псевдодольках небольшого або дуже малого числа розрізних фрагментів реактивних клеточних цепочок і дуктул. Редко обнаружують клетки з ІГХ характеристиками прогеніторних клеток. В реактивних клеточних цепочках і дуктулах клетки билиарної (CK7+, CK19+) дифференціюються з промежуточними гепатоцитоподібними CK7+ клетками і з клетками гепатоцитарної (Hepag+) дифференціюються. На периферії долек печінки з перисинусоїдально-перицеллюлярним фіброзом обнаружують очаги гіперплазії гепатоцитів без перицеллюлярного фіброза, не маючи упорядочено орієнтованих синусоїд, печеночноклеточних балок і центролобулярних вен. Дуктулярну реакцію печінки умереної або слабої ступені вираженості спостерігають при довготривалому, тяжелому билиостазі і при фокальній нодулярній гіперплазії печінки. При фокальній нодулярній гіперплазії, поряд з фіброзними септами, обнаружені нечетко очерчені зони гіперплазії гепатоцитів з площею сформованіми синусоїдами і печеночноклеточними балками.

Аналіз ГЛ і ГХ дослідженій біоптатів печінки 308 больних цирозом печінки, який розвинувся на фоні хронічного алкогольного, неалкогольного і вірусного гепатита, показав, що в гепатобіоптатах дуктулярну реакцію в активній фазі обнаружують відносно редко: вона діагностована всього у 36 больних (т. е. у 12 % больних цирозом печінки, виникшими на фоні хронічного гепатита). Чаще всіго в гепатобіоптатах больних цирозом печінки, який розвинувся на фоні хронічного алкогольного, неалкогольного і вірусного гепатита, при патоморфологічному досліджені діагностують наслідства дуктулярної реакції в виде так называемої «гіперплазії мелких холангіол» в утолщених из-за фіброза портальних трактах і септах.

Проведені ГЛ і ІГХ дослідження показали, що фазу віддалених наслідств дуктулярної реакції при цирозі печінки у великих хроніческих неалкогольних, алкогольних і вірусних гепатитах відображає наявність в фіброзно змінених портальних трактах і субкапсулярної зони печінки, а також в утолщених портально-долькових септах різного кількості дуктул з узким просвітом, не містящими желчи. Дуктули вистлані одним рядом кубовидного CK7-позитивного епітеля. На периферії долек і псевдодолек печінки, не містячими реактивних

клеточних цепочок або дуктул, можуть обнаружуватися нечетко очерчені очаги гіперплазії гепатоцитів без упорядочено орієнтованих синусоїд і печеночно-клеточних балок. Число сформованіх дуктул в фіброзно змінених портальних трактах печінки варіюється від небольшого до дуже значительного (іноді декілька десятків дуктул розташовані в великої площині зоні портально-перипортального фіброза).

Таким чином, дослідження показали, що з'явлення в проекції каналів Геринга печінки реактивних клеточних цепочок і дуктул з клеток з імуногістохімічними характеристиками прогеніторних клеток, а також з клеток біфазної билиарно-гепатоцитарної дифференціації, формування нових псевдодолек і билиарних дуктул в портальних трактах печінки – фрагменти одного, динамічно розвиваючогося репараторного процесу. Репараторний процес, починаючись з активування ниши стволових/прогеніторних клеток печінки, продовжується складною гепатоцитарною і билиарною дифференціацією їх нових клеточних поколінь, що відбувається в тесному взаємодействі з компонентами внеклеточного матрикса. Репараторний комплекс, активуючись при цирозі печінки на фоні тяжело нарушеної портально-долькової межклеточного матрикса і прогресуючого дефіциту гепатоцитів, не обезпечує восстановлення полноцінних долькових і портально-билиарних структур, асоційованих з спеціалізованою архітектонікою гемомікроциркуляції печінки. Репараторний процес при цирозі печінки у великих хроніческих гепатитах дискоординован в сторону створення нових, функціонально малоцінних гепатоцеллюлярних псевдодолек і накопичення не містячих желчи дуктул в фіброзно змінених портальних трактах і фіброзних септах з переважанням депонованого колагена I, III і IV типів.

### Висновки

1. Дуктулярна реакція при цирозі печінки у великих хроніческих неалкогольних, алкогольних і вірусних гепатитах представляє собою процес активування і еволюції складного репараторного комплекса печінки, направленого на восполнение дефіциту гепатоцитів і билиарних структур. При мікроскопії в біоптатах печінки дифференціується активна фаза і фаза віддалених наслідств дуктулярної реакції.

2. Активна фаза дуктулярної реакції характеризується з'явленням на периферії печеночних долек, в проекції каналів Геринга, реактивних клеточних цепочок і дуктул, що складаються з клеток з імунофенотипом прогеніторних клеток печінки (c-kit CD117+, CD34+, CD56+, CD44 Std./NCAM+, α-FTP+, CK7-, CK19-, Hepag-), а також з клеток, що знаходяться на різних стадіях гепато-билиарної дифференціації: промежуточних гепатобилиарних CK7+ клеток, клеток билиарної (CK7+, CK19+) і гепатоцитарної (Hepag+, α-FTP+) дифференціації. При цирозі печінки у великих хроніческих гепатитах реактивні дуктули, клеточні цепочки і скоплення клеток також обнаружуються в фіброзно змінених портальних трактах і субкапсулярної тканині, в фіброзних септах.

3. В реактивных клеточных цепочках и дуктулах промежуточных и центральных зон печеночных долек доминируют клетки бифазной (билиарной (CK7+, CK19+), гепатоцитарной (Hepar+) дифференцировки и промежуточные гепатобилиарные CK7+ клетки; в фиброзной портально-септальной и субкапсулярной ткани среди коллагеновых волокон I, III, IV типа и отростков α-SMA+ миофибробластов, наряду с реактивными дуктами и цепочками, наблюдают клеточные цепочки и дуктулы из CK7+, CK19+ клеток, а также малочисленные цепочки с наличием Hepar+, α-FTP+ и α-FTP-клеток.

4. Гепатоцитарной дифференцировке прогениторных клеток способствует наличие ламина в нишах прогениторных клеток и экспрессия ламина перисинусоидальными звездчатыми клетками в дольках и псевдодольках печени. В активной фазе дуктулярной реакции появляются новые печеночные псевдодольки, содержащие на периферии малочисленные промежуточные CK-7+ гепатоциты, без наличия центролобулярных вен и упорядоченных синусоид.

5. В активной фазе дуктулярной реакции печени в клетках реактивных дуктус и клеточных цепочек не определяют фигуры митоза или повышенный уровень экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67. При тяжелом микронодулярном циррозе печени, когда площадь печеночных долек и псевдодолек становится равной или меньшей площади окружающего их фиброза, имеет место параллельное возрастание числа Ki-67+ клеток в портально-дольковых дуктулах и цепочках, а также числа Ki-67+ гепатоцитов в печеночных дольках и псевдодольках.

6. При циррозе печени отдаленные последствия дуктулярной реакции отражает наличие среди коллагеновых волокон фиброзно измененной портально-септальной и субкапсулярной ткани множества не содержащих желчи дуктус, сформированных из CK7-позитивного эпителия, а также наличие в дольках печени, не содержащих реактивных клеточных цепочек и дуктус, псевдодолек и нечетко очерченных очагов гиперплазии гепатоцитов без упорядоченно ориентированных синусоидов.

**Перспективы дальнейших исследований.** Реальные перспективы решения проблемы полноценной регенерации печени у больных хроническим неалкогольным, алкогольным и вирусным гепатитом лежат в поиске путей раннего подавления перицеллюлярно-перисинусоидального и портально-септального фиброза, ведущего к циррозу печени. Сохраненный специализированный волокнисто-молекулярный матрикс является главной предпосылкой нормальной реализации репаративных возможностей печени и своевременного восстановления утраченных гепатоцитарно-билиарных структур.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

#### 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., ассистент 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., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### Information about authors:

Tumanskiy 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., Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 01.03.2018

Після доопрацювання / Revised: 05.03.2018

Прийнято до друку / Accepted: 07.03.2018

#### Список літератури

- [1] The Multitasking Behavior of Cholangiocytes in the Reaction to Liver Damage / M. Cadamuro, M. Strazzabosco, L. Fabris // J. Liver Clin Res. – 2015. – Vol. 2(3). – P. 1017(1–6).
- [2] Strazzabosco M. Neural Cell Adhesion Molecule and Polysialic Acid in Ductular Reaction: The Puzzle Is Far From Completed, But the Picture Is Becoming More Clear / M. Strazzabosco, L. Fabris // Hepatology. – 2014. – Vol. 60(5). – P. 1469–1472.
- [3] Strazzabosco M. Development of the Bile Ducts: Essentials for the Clinical Hepatologist / M. Strazzabosco, L. Fabris // J. Hepatol. – 2012. – Vol. 56(5). – P. 1159–1170.
- [4] Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers / T.A. Roskams, N.D. Theise, C. Balabaud, et al. // Hepatology. – 2004. – Vol. 39. – P. 1739–1745.
- [5] Multipotent stem/progenitor cells in human biliary tree give rise to hepatocytes, cholangiocytes, and pancreatic islets / V. Cardinale, Y. Wang, G. Carpinò, et al. // Hepatology. – 2011. – Vol. 54(6). – P. 2159–2172.
- [6] Hepatic progenitor cells activation, fibrosis and adipokines production in pediatric nonalcoholic fatty liver disease / V. Nobili, G. Carpinò, A. Alisi, et al. // Hepatology. – 2012. – Vol. 56. – P. 2142–2153.
- [7] Гаврилюк О.М. Особливості дуктулярної реакції при алкогольному, неалкогольному стеатогепатиті та вірусному гепатиті С за результатами имуногістохімічного дослідження / О.М. Гаврилюк // Патологія. – 2014. – №1. – С. 41–44.
- [8] Centrilobular ductular reaction correlates with fibrosis stage and fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis / L. Zhao, M. Westerhoff, R.K. Pai, et al. // Modern Pathology advance online publication. – 2017. – Vol. 31(1). – P. 150–159.
- [9] Kaur S. Hepatic Progenitor Cells in Action. Liver Regeneration or Fibrosis? / S. Kaur, H. Siddiqui, M.H. Bhat // Am. J. Pathol. – 2015. – Vol. 185. – P. 2342–2350.
- [10] Emerging concepts in biliary repair and fibrosis / L. Fabris, C. Spirli, M. Cadamuro, et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol. – 2017. – Vol. 313(2). – P. 102–116.
- [11] Nakanuma Y. Diseases of the bile ducts / Y. Nakanuma, Y. Zen, B.C. Portmann // Burt A.D. MacSween's Pathology of the Liver / A.D. Burt, B.C. Portmann, L.D. Ferrell. – 6th edn. – Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier, 2012. – Ch. 10. – P. 491–562.
- [12] Role of Hepatic Progenitor Cells in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Development: Cellular Cross-Talks and Molecular Networks / G. Carpinò, A. Renzi, P. Onori, et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – Vol. 14. – P. 20112–20130.
- [13] CCN1 induces hepatic ductular reaction through integrin alphavbeta(5)-mediated activation of NF-kappaB / K.H. Kim, C.C. Chen, G. Alpini, et al. // J. Clin. Invest. – 2015. – Vol. 125. – P. 1886–1900.
- [14] Morell C.M. Liver repair mechanisms in non alcoholic steatohepatitis (NASH): defining the role of hepatic progenitor cells, ductular reaction and Notch signaling / C.M. Morell // PhD program in translation and molecular medicine. XXVII cycle academic year 2014. – P. 1–169.
- [15] Links Between Hepatic Fibrosis, Ductular Reaction, and Progenitor Cell Expansion / M.J. Williams, A.D. Clouston, S.J. Forbes, et.al. // Gastroenterology. – 2014. – Vol. 146. – P. 349–356.

- [16] Strazzabosco M. The balance between Notch/Wnt signaling regulates progenitor cells commitment during liver repair: mystery solved? / M. Strazzabosco, L. Fabris // J. Hepatol. – 2013. – Vol. 58(1). – P. 181–183.
- [17] Burt A.D. MacSween's Pathology of the Liver / A.D. Burt, B.C. Portmann, L.D. Ferrell. – 6th edn. – Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier, 2012. – 1032 p.
- [18] Mak K.M. Basement Membrane Type IV Collagen and Laminin: An Overview of Their Biology and Value as Fibrosis Biomarkers of Liver Disease / K.M. Mak, R. Mei // Anat Rec (Hoboken). – 2017. – Vol. 300(8). – P. 1371–1390.
- [19] Mak K.M. Immunohistochemical Characterization of Hepatic Progenitor Cell Niche in Liver Fibrosis of Elderly Cadavers / K.M. Mak, S. Chiu // FASEB. – 2017. – Vol. 31(suppl 1).
- [20] Recombinant Laminins Drive the Differentiation and Self-Organization of hESC-Derived Hepatocytes / K. Cameron, R. Tan, W. Schmidt-Heck, et al. // Stem Cell Reports. – 2015. – Vol. 5(6). – P. 1250–1262.
- [21] Defined and Scalable Generation of Hepatocyte-like Cells from Human Pluripotent Stem Cells / Y. Wang, S. Alhaque, K. Cameron, et al. // J. Vis. Exp. – 2017. – Vol. 121. – P. 553–555.
- [22] Laminin-511 and laminin-521-based matrices for efficient hepatic specification of human pluripotent stem cells / L.K. Kanninen, R. Harjumäki, P. Peltoniemi, et al. // Biomaterials. – 2016. – Vol. 103. – P. 86–100.
- [23] Increased Autophagy Markers Are Associated with Ductular Reaction during the Development of Cirrhosis / T.M. Hung, R.H. Yuan, W.P. Huang, et al. // Am. J. Pathology. – 2015. – Vol. 185(9). – P. 2454–2467.
- [24] Alwahsh S.M. Liver cell therapy: is this the end of the beginning? / S.M. Alwahsh, H. Rashidi, D.C. Hay // Cell. Mol. Life Sci. – 2018. – Vol. 75(8). – P. 1307–1324.
- [25] Kholodenko I.V. Cellular Mechanisms of Liver Regeneration and Cell-Based Therapies of Liver Diseases / I.V. Kholodenko, K.N. Yarygin // Biomed Res Int. – 2017. – Vol. 2017. – 17 p.
- [26] Gouw A.H. Ductular reactions in human liver: diversity at the interface / A.H. Gouw, A.D. Clouston, N.D. Theise // Hepatology. – 2011. – Vol. 54(5). – P. 1853–1863.
- [27] Evidence against a stem cell origin of new hepatocytes in a common mouse model of chronic liver injury / J.R. Schaub, Y. Malato, C. Gormond, et al. // Cell reports. – 2014. – Vol. 8(4). – P. 933–939.
- [28] Adult hepatocytes are generated by self-duplication rather than stem cell differentiation / K. Yang, D. Knigin, Y. Zong, et al. // Cell stem cell. – 2014. – Vol. 15(3). – P. 340–349.
- [29] Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver / M. Huch, H. Gehart, R. van Boxtel, et al. // Cell. – 2015. – Vol. 160(1–2). – P. 299–312.
- [30] Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer / J. Font-Burgada, S. Shalapour, S. Ramaswamy, et al. // Cell. – 2015. – Vol. 162(4). – P. 766–779.
- [31] Liver progenitors isolated from adult healthy mouse liver efficiently differentiate to functional hepatocytes in vitro and repopulate liver tissue / N. Tanimizu, N. Ichinobe, M. Ishii, et al. // Stem Cells. – 2016. – Vol. 34(12). – P. 2889–2901.
- References**
- [1] Cadamuro, M., Strazzabosco, M., & Fabris, L. (2015) The Multitasking Behavior of Cholangiocytes in the Reaction to Liver Damage. *J. Liver Clin Res.*, 2(3), 1017(1–6).
- [2] Strazzabosco M., & Fabris L. (2014) Neural Cell Adhesion Molecule and Polyisialic Acid in Ductular Reaction: The Puzzle Is Far From Completed, But the Picture Is Becoming More Clear. *Hepatology*, 60(5), 1469–1472. doi: 10.1002/hep.27291.
- [3] Strazzabosco M., & Fabris L. (2012) Development of the Bile Ducts: Essentials for the Clinical Hepatologist. *J. Hepatol.*, 56(5), 1159–1170. doi: 10.1016/j.jhep.2011.09.022.
- [4] Roskams, T. A., Theise, N. D., Balabaud, C., Bhagat, G., Bhatthal, P. S., Bioulac-Sage, P., et al. (2004) Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers. *Hepatology*, 39, 1739–1745. doi: 10.1002/hep.20130.
- [5] Cardinale V., Wang Y., Carpino G., Cui C. B., Gatto, M., Rossi, M., et al. (2011) Multipotent stem/progenitor cells in human biliary tree give rise to hepatocytes, cholangiocytes, and pancreatic islets. *Hepatology*, 54(6), 2159–2172. doi: 10.1002/hep.24590.
- [6] Nobili, V., Carpino, G., Alisi, A., Franchitto, A., Alpini, G., de Vito, R., et al. (2012) Hepatic progenitor cell activation, fibrosis and adipokines production in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 56, 2142–2153. doi: 10.1002/hep.25742.
- [7] Gavrilyuk, O. M. (2014) Osoblyvosti duktularnoi reaktsii pry alkoholnomu, nealkoholnomu steatohepatytu ta virusnomu hepatyl S za rezultatamy imunohistokhimichnoho doslidzhennia [Ductular reaction in alcoholic steatohepatitis, nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C virus infection (immunohistochemical study)]. *Pathologia*, 1, 41–44. [in Ukrainian] doi: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2014.1.25694>.
- [8] Zhao, L., Westerhoff, M., Pai, R. K., Choi, W.-T., Gao, Z.-H., & Hart, J. (2017) Centrilobular ductular reaction correlates with fibrosis stage and fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *Modern Pathology*, 31(1), 150–159. doi:10.1038/modpathol.2017.115.
- [9] Kaur, S., Siddiqui, H., & Bhat, M. H. (2015) Hepatic Progenitor Cells in Action. Liver Regeneration or Fibrosis? *Am. J. Pathol.*, 185, 2342–2350. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.06.004.
- [10] Fabris, L., Spirli, C., Cadamuro, M., Fiorotto, R., & Strazzabosco, M. (2017) Emerging concepts in biliary repair and fibrosis. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.*, 313(2), 102–116. doi: 10.1152/ajpgi.00452.2016.
- [11] Nakanuma, Y., Zen, Y., & Portmann, B. C. (2012) Diseases of the bile ducts. Burt, A. D., Portmann, B. C., & Ferrell, L. D. *MacSween's Pathology of the Liver*. (Ch. 10), (P. 491–562). Edinburgh: Churchill livingstone Elsevier.
- [12] Carpino, G., Renzi, A., Onori, P., & Gaudio, E. (2013) Role of Hepatic Progenitor Cells in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Development: Cellular Cross-Talks and Molecular Networks. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 20112–20130. doi: 10.3390/ijms141020112.
- [13] Kim, K. H., Chen, C. C., Alpini, G., & Lau, L. F. (2015) CCN1 induces hepatic ductular reaction through integrin alphavbeta(5)-mediated activation of NF-kappaB. *J. Clin. Invest.*, 125, 1886–1900. doi: 10.1172/JCI79327.
- [14] Morell, C. M. (2014) Liver repair mechanisms in non alcoholic steatohepatitis (NASH): defining the role of hepatic progenitor cells, ductular reaction and Notch signaling. *DIMET. PhD program in translation and molecular medicine. XXVII cycle academic year*, 1–169.
- [15] Williams, M. J., Clouston, A. D., & Forbes, S. J. (2014) Links Between Hepatic Fibrosis, Ductular Reaction, and Progenitor Cell Expansion. *Gastroenterology*, 146, 349–356. doi: 10.1053/j.gastro.2013.11.034.
- [16] Strazzabosco, M., & Fabris, L. (2013) The balance between Notch/Wnt signaling regulates progenitor cells commitment during liver repair: mystery solved? *J. Hepatol.*, 58(1), 181–183. doi: 10.1016/j.jhep.2012.08.006.
- [17] Burt, A. D., Portmann, B. C., & Ferrell, L. D. (2012) *MacSween's Pathology of the Liver*. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier.
- [18] Mak, K. M., & Mei, R. (2017) Basement Membrane Type IV Collagen and Laminin: An Overview of Their Biology and Value as Fibrosis Biomarkers of Liver Disease. *Anat Rec (Hoboken)*, 300(8), 1371–1390. doi: 10.1002/ar.23567.
- [19] Mak, K. M., & Chiu, S. (2017) Immunohistochemical Characterization of Hepatic Progenitor Cell Niche in Liver Fibrosis of Elderly Cadavers. *FASEB*, 31(1).
- [20] Cameron, K., Tan, R., Schmidt-Heck, W., Campos, G., Lyall, M. J., Wang, Y., et al (2015) Recombinant Laminins Drive the Differentiation and Self-Organization of hESC-Derived Hepatocytes. *Stem Cell Reports*, 5(6), 1250–1262. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.10.016.
- [21] Wang, Y., Alhaque, S., Cameron, K., Meseguer-Ripolles, J., Lucendo-Villarin, B., Rashidi, H., & Hay, D. C. (2017) Defined and Scalable Generation of Hepatocyte-like Cells from Human Pluripotent Stem Cells. *J. Vis. Exp.*, 121, 553–555. doi: 10.3791/55355.
- [22] Kanninen, L. K., Harjumäki, R., Peltoniemi, P., Bogacheva, M. S., Salmi, T., Porola, P., et al. (2016) Laminin-511 and laminin-521-based matrices for efficient hepatic specification of human pluripotent stem cells. *Biomaterials*, 103, 86–100. doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.06.054.
- [23] Hung, T. M., Yuan, R. H., Huang, W. P., Chen, Y. H., Lin, Y. C., Lin, C. W., et al. (2015) Increased Autophagy Markers Are Associated with Ductular Reaction during the Development of Cirrhosis. *Am. J. Pathology*, 185(9), 2454–2467. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.05.010.
- [24] Alwahsh, S. M., Rashidi, H., & Hay, D. C. (2018) Liver cell therapy: is this the end of the beginning? *Cell Mol Life Sci.*, 75(8), 1307–1324. doi: 10.1007/s00018-017-2713-8.
- [25] Kholodenko, I. V., & Yarygin, K. N. (2017) Cellular Mechanisms of Liver Regeneration and Cell-Based Therapies of Liver Diseases. *Biomed Res Int*, 2017, 17. doi: 10.1155/2017/8910821.
- [26] Gouw, A. S. H., Clouston, A. D., & Theise, N. D. (2011) Ductular reactions in human liver: diversity at the interface. *Hepatology*, 54(5), 1853–1863. doi: 10.1002/hep.24613.
- [27] Schaub, J. R., Malato, Y., Gormond, C., & Willenbring, H. (2014) Evidence against a stem cell origin of new hepatocytes in a common mouse model of chronic liver injury. *Cell reports*, 8(4), 933–939. doi: 10.1016/j.cell.2014.07.003.
- [28] Yanger, K., Knigin, D., Zong, Y., Maggs, L., Gu, G., Akiyama, H., et al. (2014) Adult hepatocytes are generated by self-duplication rather than stem cell differentiation. *Cell stem cell*, 15(3), 340–349. doi: 10.1016/j.stem.2014.06.003.
- [29] Huch, M., Gehart, H., van Boxtel, R., Hamer, K., Blokzijl, F., Versteegen, M. M., et al. (2015) Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. *Cell*, 160(1–2), 299–312. doi: 10.1016/j.cell.2014.11.050.
- [30] Font-Burgada, J., Shalapour, S., Ramaswamy, S., Hsueh, B., Rossell, D., Umemura, A., et al. (2015) Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer. *Cell*, 162(4), 766–779. doi: 10.1016/j.cell.2015.07.026.
- [31] Tanimizu, N., Ichinobe, N., Ishii, M., Kino, J., Mizuguchi, T., Hirata, K., & Mitaka, T. (2016) Liver progenitors isolated from adult healthy mouse liver efficiently differentiate to functional hepatocytes in vitro and repopulate liver tissue. *Stem Cells*, 34(12), 2889–2901. doi: 10.1002/stem.2457.