

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 иммунофенотипом прогениторных клеток печени (c-kit CD117+, CD34+, CD56+, CD44 Std./HCAM+, α-FTP+, СК7-, СК19-, Нераг-), промежуточных гепатобилиарных СК7+ клеток, клеток билиарной (СК7+, СК19+) и гепатоцитарной (Нераг+, 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 (СК7+, СК19+), гепатоцитарной (Нераг+)) дифференцировки и промежуточные гепатобилиарные СК7+ 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 СК-7+ гепатоциты, без наличия централобулярных 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 СК7+, СК19+ клеток, а также малочисленные цепочки с наличием Нераг+ и α-FTP+ клеток. Когда площадь печеночных долек и псевдодоек 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 СК7+ эпителия дуктул, не содержащих желчи, а также наличие псевдодоек 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 псевдодоек и избытка билиарных дуктул в полях портально-септального фиброза.

Ключові слова:
стеатогепатит,
цироз 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 (ИГХ) 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 ИГХ 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 чималій кількості хворих виявлена фаза віддалених наслідків ДР печінки. Активна фаза ДР характеризується появою на периферії печінкових дольок у проекції каналців Герінга, у фіброзній портально-септальній і субкапсулярній 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+, СК7-, СК19-, Hepar-), проміжних гепатобіліарних СК7+ клітин, клітин біліарного (СК7+, СК19+) 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 (СК7+, СК19+), гепатоцитарного (Hepar+)) диференціювання і проміжні гепатобіліарні СК7+ 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, котрі містять на периферії проміжні СК7+ гепатоцити, без наявності центролобулярних вен та упорядкованих синусоїдів. У фіброзній портально-септальній і субкапсулярній тканині серед колагенових волокон I, III, IV типу й відростків α -SMA+ міофібробластів також визначили велику кількість клітинних ланцюжків і дуктул із СК7+, СК19+ 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 Ki-67+ гепатоцитів у печінкових дольках і псевдодольках. Віддалені наслідки ДР при цирозі печінки показує наявність серед колагенових волокон фіброзної портально-септальної, субкапсулярної тканини множинних, сформованих з СК7+ епітелію дуктул, що не містять жовчі, а також наявність псевдодольок і нечітко окреслених вогнищ гіперплазії гепатоцитів без впорядковано орієнтованих синусоїдів 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 порушеним 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 hepatobioptats 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 bilioistasis (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+ СК7-, СК19-, 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 (СК7+, СК19+) 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 (СК7+, СК19+), hepatocyte (Hepar+) differentiation and intermediate hepatobiliary СК7+ 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" СК7+ hepatocytes on the periphery. One-two-row chains and ductules from СК7+ and СК19+ 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 СК7+ 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 холангиол 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 морфофункционального 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, холангиопатиями 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 (СК-7, СК-8, СК-18, СК-19), некоторые экспрессируют α -фетопротейн незрелых фетальных гепатобластов, некоторые экспрессируют один или несколько маркеров стволовых клеток, таких как *kit*/CD117, CD34, Sca-1, Sox9 и Thy1/CD90. Эти клетки также экспрессируют молекулы адгезии нейронных клеток (NCAM), промиллин 1 (CD133), теломеразу и молекулы адгезии эпителиальных клеток (EPCAM) [9]. Клетки реактивных дуктул экспрессируют нейроэндокринные маркеры (хромогранин А, МЗ

Ach-R, нейрогенный фактор роста, 1A/1B рецепторы серотонина, β 1/ β 2-адренэргические 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, TGF β 2, IGF-1), рецепторы (VEGFR-1, VEGFR-2, Tie-2, CXCR4, IGF1R, T β RII) и другие метаболически активные молекулы (Bcl-2, NO), которые временно экспрессируют клетки дуктуальной пластинки во время эмбрионального развития [3]. У людей прогениторные клетки печени, экспрессирующие EPCAM, NCAM, CXCR4 и CD44, способны к бипотенциальной 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 регрессировать 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 секретируют 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 тромбобитарного фактора роста, которые, в свою очередь, активируют портальные миофибробласты 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-перипортальном 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 («ДАКО», Дания). Для установления прогениторных клеток печени использовали поликлональные АТ Polyclonal Ra a-Hu CD 117, c-kit («ДАКО», 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 («ДАКО», 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 («ДАКО», Дания), Mo a-Hu Desmin, Clone D33, RTU («ДАКО», Дания). Для обнаружения молекулярно-волоконистых компонентов внеклеточного матрикса портальных трактов, фиброзных септ, долек и псевдодлек печени использовали поликлональные АТ к ламинину – 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, выстланные 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-нежнотоволокнистом межклеточном матриксе, содержащем одиночные макрофаги, лимфоциты, фибробласты (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-FITC+, CK7-, CK19-, Hepar-), а также одиночные клетки на разных стадиях гепатобилиарной дифференцировки: промежуточные гепатобилиарные CK7+ клетки бифазной билиарно-гепатоцитарной дифференцировки, клетки билиарной (CK7+, CK19+) и гепатоцитарной (Hepar+, α-FITC+) дифференцировки (рис. 2 А, Б, В, Г, 3 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 комплек-

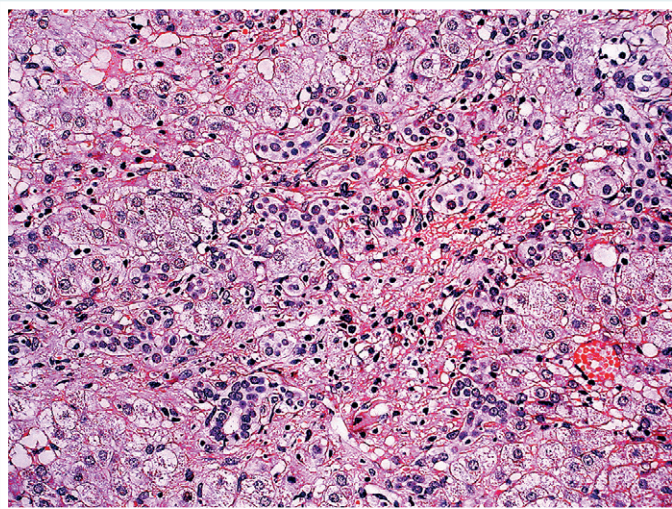


Рис. 1. Реактивные клеточные цепочки и дуктулы в нише прогениторных клеток при циррозе печени в активной фазе дуктулярной реакции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: $\times 600$.

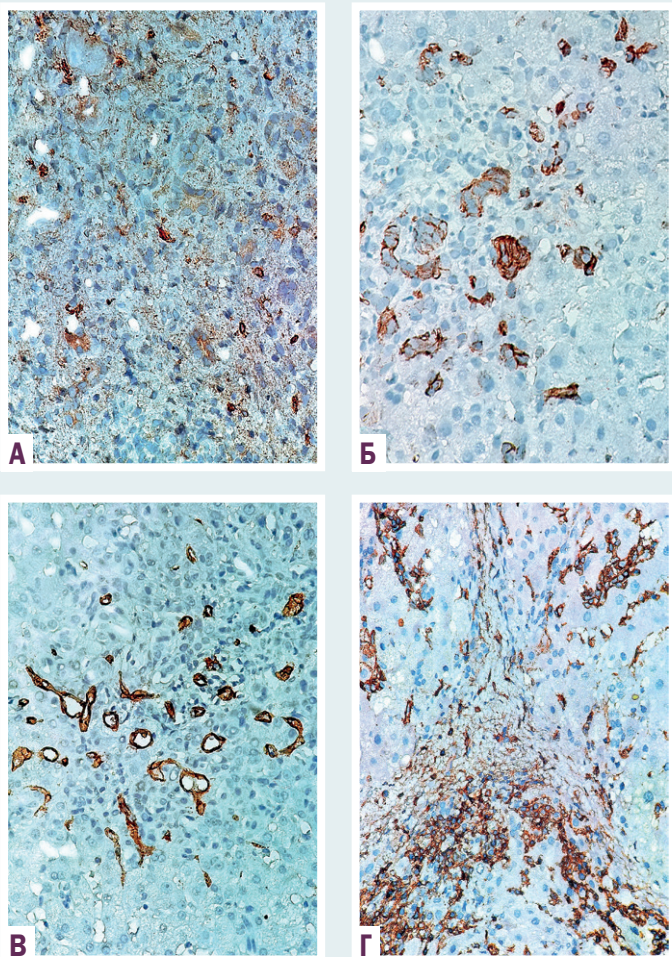


Рис. 2. А, Б, В, Г. Экспрессия в клетках реактивных дуктул и цепочек CD117_c-kit (А), CD56 (Б), CD34 (В) и CD44 Std./HCAM (Г) в активной фазе дуктулярной реакции печени.

А: 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 – $\times 300$, В, Г – $\times 200$.

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

В дольках печени фрагменты реактивных клеточных цепочек и дуктул обычно радиально ориентированы вдоль перисинусоидальных пространств по направлению к центрлобулярной вене. В клетках клеточных цепочек обращает внимание значительная мембранная экспрессия маркера межклеточной адгезии эпителиальных клеток CD44 Std./HCAM, свидетельствующая о значительной мобильности реактивных цепочечных структур. Вокруг большинства реактивных клеточных цепочек и дуктул 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 дуктулах промежуточных и центральных зон печеночных долек доминируют промежуточные гепатобилиарные клетки со слабой цитоплазматической экспрессией CK7, клетки бифазной билиарной (CK7+, CK19+) и гепатоцитарной (Heraг+, α -FTP-) дифференцировки, а также обнаруживают единичные CD56-позитивные клетки. Рядом с дуктулами 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 Т. А. 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, лишены 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 заболеваний печени – признак гепатоцеллюлярной дифференцировки печеночных прогениторных клеток [12].

Проведенные ИГХ исследования показали, что гепатоцитарной дифференцировке прогениторных клеток также способствует наличие ламинина в нишах прогениторных клеток и экспрессия ламинина перисинусоидальными звездчатыми клетками в дольках печени. При микронодулярном циррозе печени на периферии некоторых долек и псевдодоек в проекции каналов Геринга, в так называемых раскрывшихся нишах прогениторных клеток печени, определяются зоны внеклеточной экспрессии ламинина (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 ламинина. Нерегулярная экспрессия ламинина обнаруживается вокруг некоторых реактивных дуктулов 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 ламининовый 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 ламинина 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 ламинином культуральной чаше они устраиваются в долькоподобные структуры, напоминающие регенерирующую печень [20,21]. L. K. Kanninen et al. [22] обнаружили, что ламинин-511 и ламин-521 либо

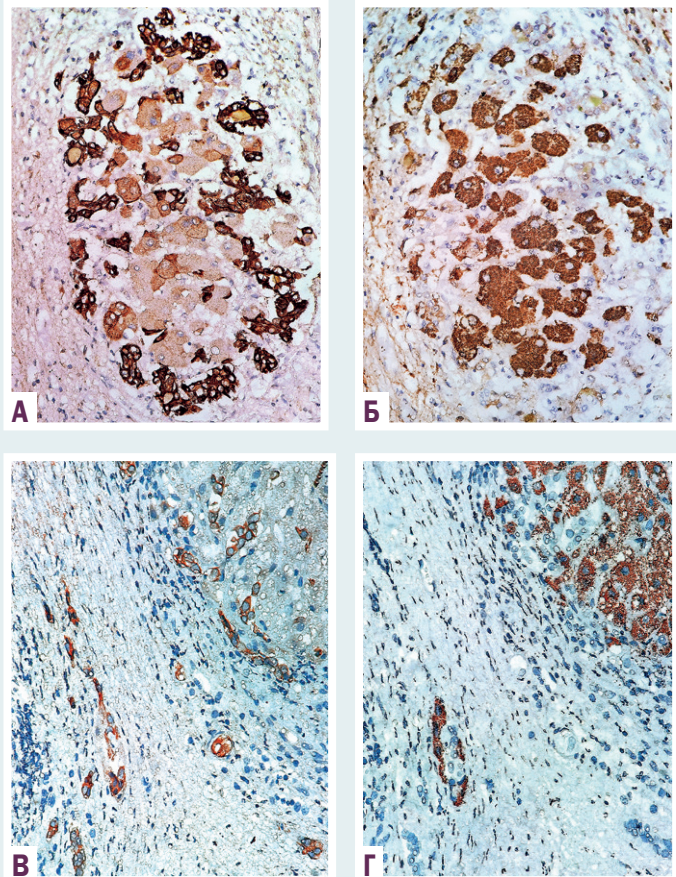


Рис.3. А, Б. Экспрессия СК7 (А) и HepPar-1 (Б) в дольках, а также экспрессия СК7 (В) и HepPar-1 (Г) в портально-дольковых клеточных цепочках и дуктулах в активной фазе дуктулярной реакции при циррозе печени.

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

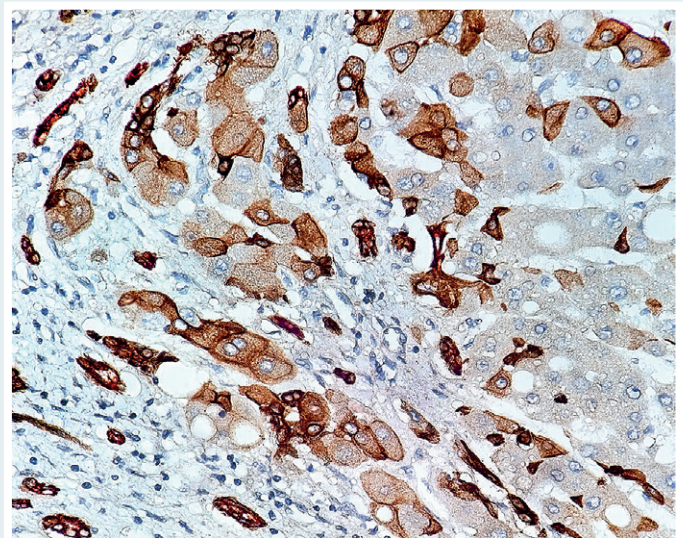


Рис. 4. Значительное число промежуточных СК7+ гепатобилиарных клеток рядом с реактивными дуктулами в дольке при циррозе печени в активной фазе дуктулярной реакции. Mo a-Hu Keratin 7, clone OV-TL 12/30. Ув.: $\times 600$.

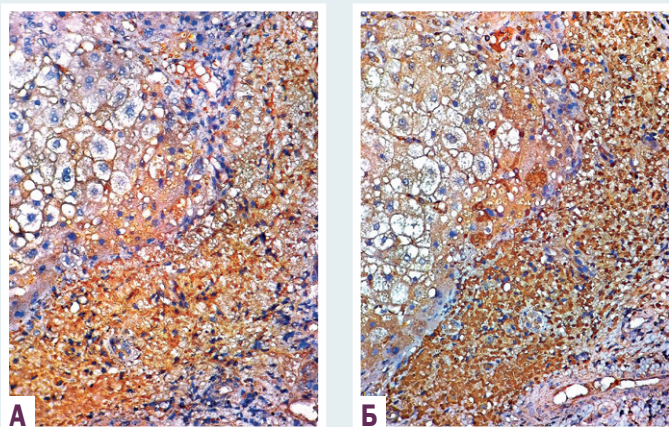


Рис.5. А, Б. Экспрессия ламинина (А) и значительной число α -FTP-позитивных клеток (Б) в нише прогениторных клеток в активной фазе дуктулярной реакции при циррозе печени.

А: Rb Laminin Ab-1. Б: Rb a-Hu Alpha-1-Fetoprotein. Ув.: А, Б – $\times 400$.

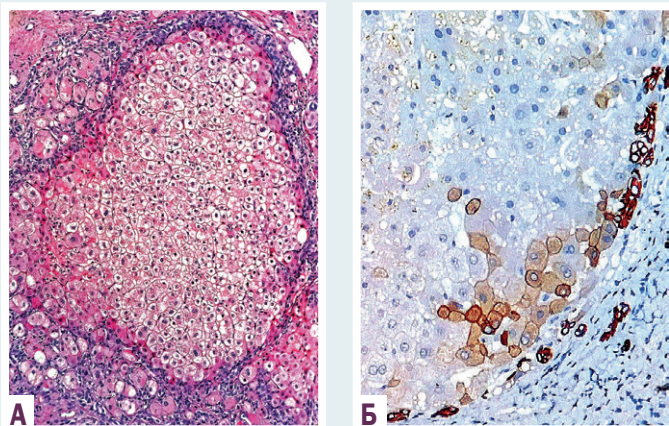


Рис.6. А, Б. А: новообразованная псевдодолька без наличия упорядоченных синусоидов и центролобулярной вены. Б: промежуточные CK7+ гепатобилиарные клетки на периферии новообразованной псевдодольки и CK7-позитивные дуктулы в портальной фиброзной ткани при циррозе печени.

А: окраска гематоксилином и эозином. Б: Mo a-Hu Keratin 7, clone OV-TL 12/30. Ув.: А – $\times 200$, Б – $\times 400$.

самостоятельно, либо в сочетании поддерживают печеночную дифференцировку человеческих плюрипотентных стволовых клеток.

При циррозе печени у больных хроническим гепатитом в активной фазе дуктулярной реакции также обнаруживаются микроскопические признаки образования новых псевдодоек в ранее бывших дольках с перисинусоидально-перицеллюлярным фиброзом (рис. 6А). Новообразованные псевдодольки составляют скопления неупорядоченно расположенных, крупных Нераг-позитивных и α -FTP-негативных гепатоцитов без наличия линейно ориентированных синусоидов, центролобулярных вен, а также перицеллюлярного фиброза. Новообразованные псевдодольки содержат на периферии немногочисленные промежуточные гепатобилиарные клетки со слабой цитоплазматической экспрессией СК-7 (рис. 6Б).

При циррозе печени в фиброзно измененных портальных трактах и субкапсулярной зоне печени в фиброзных септах реактивные клеточные цепочки и дуктулы с наличием клеток на разных стадиях дифференцировки обычно ориентированы вдоль коллагеновых волокон I, III, IV типа и отростков α -SMA-позитивных миофибробластов, как правило, не образующих вокруг дуктулярно-клеточных структур упорядоченных непрерывных базальных мембран (рис. 7). Вокруг клеточных цепочек и дуктул не обнаруживают ламинин. Кроме типичных реактивных клеточных цепочек и дуктул, среди коллагеновых волокон I, III, IV типа и отростков α -SMA+ миофибробластов наблюдают многочисленные клеточные цепочки и дуктулы из СК7+, СК19+ клеток, а также малочисленные цепочки с наличием Нераг+, α -FTP+ и α -FTP- клеток. Коллагеновые волокна I и III типа в зонах фиброза окружают такие дуктулы в виде муфт разной ширины и плотности. Однако однозначно ответить на вопрос, появились ли дуктулы в уже сформировавшемся тяжелом портальном фиброзе или же дуктулы формируют вокруг себя дополнительный коллагеновый матрикс, в однократно взятом гепатобиоптате не представляется возможным.

По данным специализированной литературы, дуктулярная реакция может стимулировать фиброгенез в поврежденной печени с помощью нескольких механизмов: клетки дуктулярной реакции способны продуцировать фиброгенные факторы TGF- β и PDGF, которые, в свою очередь, активируют портальные миофибробласты и звездчатые клетки печени к синтезу коллагена 1 типа, или клетки дуктулярной реакции могут подвергаться эпителиально-мезенхимальному переходу, способствующему созданию портального пула миофибробластов [12]. При неалкогольном стеатогепатите у взрослых больных доказано, что дуктулярная реакция сильно и независимо коррелирует с прогрессирующим портальным фиброзом, повышающим вероятность второго перипортального пути фиброгенеза, который не зависит от депонирования звездчатыми клетками перисинусоидального коллагена в 3 зоне печеночных долек. В неалкогольном стеатогепатите портальный фиброз представляет собой преобладающую форму фиброза и является признанным ключевым признаком прогрессирования заболевания [12].

По нашему мнению, с учетом динамично меняющихся сложных клеточно-матриксных взаимодействий и финала репарации (образование гепатоцитарных и билиарных структур), разворачивающиеся в печени процессы более полноценно отражает термин «активация репаративного комплекса печени» (модифицировано из М. Strazzabosco, L. Fabris [3] и М. Cadamuro, М. Strazzabosco, L. Fabris [1]), в то время как термин «дуктулярная реакция печени» акцентирует внимание лишь на части репаративного процесса – образовании реактивных дуктул. Термин «дуктулярная» подразумевает, что содержащиеся в нем клетки имеют дуктулярный фенотип, а термин «реакция» обозначает, что в реактивных изменениях эпителиальный компонент взаимосвязан с внеклеточным матриксом, а также с воспалительными, эндотелиальными и мезенхимальными клетками [23].

Важной характеристикой дуктулярной реакции печени, которая не описывается 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]. Проллиферацию 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 наблюдают; 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 дуктул 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 транзитивно 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 холангиодуктулярных 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 лейкоцитарного 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 α (TGF- α), факторы роста фибробластов 1 и 2 (FGF1 и FGF2) [25].

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

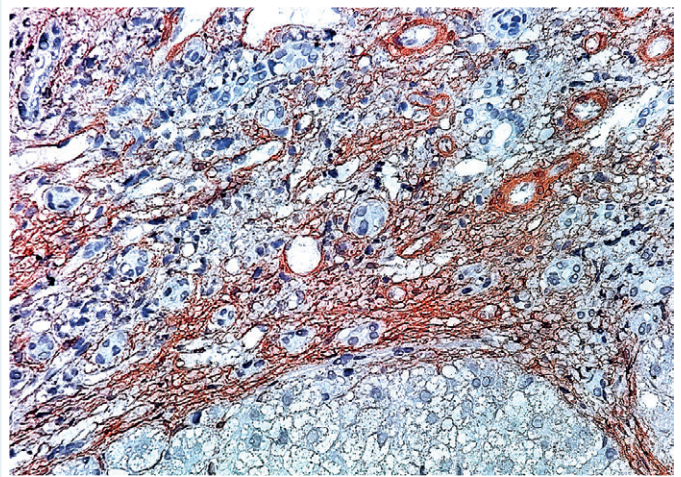


Рис. 7. Множество реактивных дуктул в портальном тракте (сверху) между α -SMA-позитивными волокнами при циррозе печени у большого алкогольного стеатогепатитом. Мо *a-Hu Alpha Smooth Muscle Actin, clone 1A4*. Ув.: $\times 600$.

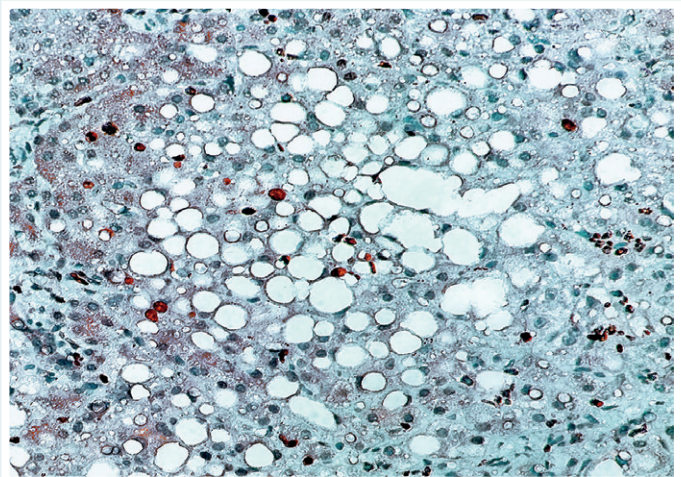


Рис. 8. Значительная экспрессия Ki-67 эпителием реактивных дуктул (справа) и гепатоцитами псевдодольки (в центре) при тяжелом микронодулярном циррозе печени у больного неалкогольным стеатогепатитом. Мо *a-Hu Ki-67 Antigen, clone SP6*. Ув.: $\times 400$.

специфичные для гепатоцитов и холангиоцитов, и способны к быстрой пролиферации [30]. Кроме этого, у поздних мышинных 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 *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 уменьшающихся печеночных долек и псевдодоек становится равной или меньшей площади окружающего их коллагенизированного фиброза, имеет место параллельное возрастание числа Ki-67-позитивных клеток в портально-дольковых дуктулах и клеточных цепочках, а также в гепатоцитах мелких печеночных долек и псевдодоек (рис. 8). Это свидетельствует, что стимулом активации репаративной дуктулярной реакции является не только длительный апоптоз и подавление митотической активности дольковых гепатоцитов [6], но и другие, пока не выясненные причины.

Дуктулярная реакция умеренной или слабой степени выраженности при циррозе печени у больных хроническим гепатитом проявляется наличием в фиброзно измененных портальных трактах и септах, в дольках и псевдодольках небольшого или очень малого числа разрозненных фрагментов реактивных клеточных цепочек и дуктул. Редко обнаруживают клетки с ИГХ характеристиками прогениторных клеток. В реактивных клеточных цепочках и дуктулах клетки билиарной (СК7+, СК19+) дифференцировки чередуются с промежуточными гепатоцитоподобными СК7+ клетками и с клетками гепатоцитарной (Hepaг+) дифференцировки. На периферии долек печени с перисинусоидально-перипортальным фиброзом обнаруживают очаги гиперплазии гепатоцитов без перипортального фиброза, не имеющие упорядоченно ориентированных синусоидов, печеночноклеточных балок и центробилюлярных вен. Дуктулярную реакцию печени умеренной или слабой степени выраженности наблюдали при длительном, тяжелом билиостазе и при фокальной нодулярной гиперплазии печени. При фокальной нодулярной гиперплазии, рядом с фиброзными септами, обнаружены нечетко очерченные зоны гиперплазии гепатоцитов с плохо сформированными синусоидами и печеночноклеточными балками.

Анализ ГЛ и ГХ исследований биоптатов печени 308 больных циррозом печени, который развился на фоне хронического алкогольного, неалкогольного и вирусного гепатита, показал, что в гепатобиоптатах дуктулярную реакцию в активной фазе обнаруживают относительно редко: она диагностирована всего у 36 больных (т. е. у 12 % больных циррозом печени, возникшим на фоне хронического гепатита). Чаще всего в гепатобиоптатах больных циррозом печени, который развился на фоне хронического алкогольного, неалкогольного и вирусного гепатита, при патоморфологическом исследовании диагностируют последствия дуктулярной реакции в виде так называемой «гиперплазии мелких холангиол» в утолщенных из-за фиброза портальных трактах и септах.

Проведенные ГЛ и ИГХ исследования показали, что фазу отдаленных последствий дуктулярной реакции при циррозе печени у больных хроническим неалкогольным, алкогольным и вирусным гепатитом отражает наличие в фиброзно измененных портальных трактах и субкапсулярной зоне печени, а также в утолщенных портально-дольковых септах разного количества дуктул с узким просветом, не содержащим желчи. Дуктулы выстланы одним рядом кубовидного СК7-позитивного эпителия. На периферии долек и псевдодоек печени, не содержащих реактивных

клеточных цепочек или дуктул, могут обнаруживаться нечетко очерченные очаги гиперплазии гепатоцитов без упорядоченно ориентированных синусоидов и печеночно-клеточных балок. Число сформированных дуктул в фиброзно измененных портальных трактах печени варьирует от небольшого до очень значительного (иногда несколько десятков дуктул располагаются в большой по площади зоне портально-перипортального фиброза).

Таким образом, исследования показали, что появление в проекции каналов Геринга печени реактивных клеточных цепочек и дуктул из клеток с иммуногистохимическими характеристиками прогениторных клеток, а также из клеток бифазной билиарно-гепатоцитарной дифференцировки, формирование новых псевдодоек и билиарных дуктул в портальных трактах печени – фрагменты единого, динамично развивающегося репаративного процесса. Репаративный процесс, начинающийся с активации ниши стволовых/прогениторных клеток печени, продолжается сложной гепатоцитарной и билиарной дифференцировкой их новых клеточных поколений, происходящей в тесном взаимодействии с компонентами внеклеточного матрикса. Репаративный комплекс, активирующийся при циррозе печени на фоне тяжело нарушенного портально-долькового межклеточного матрикса и прогрессирующего дефицита гепатоцитов, не обеспечивает воссоздание полноценных дольковых и портально-билиарных структур, ассоциированных со специализированной архитектурой гемомикроциркуляции печени. Репаративный процесс при циррозе печени у больных хроническим гепатитом дискоординирован в сторону создания новых, функционально малоценных гепатоцеллюлярных псевдодоек и накопления не содержащих желчи дуктул в фиброзно измененных портальных трактах и фиброзных септах с избытком депонированного коллагена I, III и IV типа.

Выводы

1. Дуктулярная реакция при циррозе печени у больных хроническим неалкогольным, алкогольным и вирусным гепатитом представляет собой процесс активации и эволюции сложного репаративного комплекса печени, направленного на восполнение дефицита гепатоцитов и билиарных структур. При микроскопии в биоптатах печени дифференцируется активная фаза и фаза отдаленных последствий дуктулярной реакции.

2. Активная фаза дуктулярной реакции характеризуется появлением на периферии печеночных долек, в проекции каналов Геринга, реактивных клеточных цепочек и дуктул, состоящих из клеток с иммунофенотипом прогениторных клеток печени (c-kit CD117+, CD34+, CD56+, CD44 Std./HCAM+, α-FTP+, СК7-, СК19-, Hepaг-), а также из клеток, находящихся на разных стадиях гепато-билиарной дифференцировки: промежуточных гепатобилиарных СК7+ клеток, клеток билиарной (СК7+, СК19+) и гепатоцитарной (Hepaг+, α-FTP+) дифференцировки. При циррозе печени у больных хроническим гепатитом реактивные дуктулы, клеточные цепочки и скопления клеток также обнаруживаются в фиброзно измененных портальных трактах и субкапсулярной ткани, в фиброзных септах.

3. В реактивных клеточных цепочках и дуктулах промежуточных и центральных зон печеночных долек доминируют клетки бифазной (билиарной (СК7+, СК19+), гепатоцитарной (Нераг+)) дифференцировки и промежуточные гепатобилиарные СК7+ клетки; в фиброзной портально-септальной и субкапсулярной ткани среди коллагеновых волокон I, III, IV типа и отростков α -SMA+ миофибробластов, наряду с реактивными дуктулами и цепочками, наблюдают клеточные цепочки и дуктулы из СК7+, СК19+ клеток, а также малочисленные цепочки с наличием Нераг+, α -FTP+ и α -FTP-клеток.

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

5. В активной фазе дуктулярной реакции печени в клетках реактивных дуктул 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 псевдодольек 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 дуктул, сформированных из СК7-позитивного эпителия, а также наличие в дольках печени, не содержащих реактивных клеточных цепочек и дуктул, псевдодольек 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 перичеллюлярно-перисинусоидального и портально-септального фиброза, ведущего к циррозу печени. Сохранный 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., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

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 литературы

- [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. Carpino, 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. Carpino, 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 імуногістохімічного дослідження / О.М. Гаврилюк // *Патологія.* – 2014. – №1. – С. 41–44.
- [8] Centriobular 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. Carpino, 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. Yanger, 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. Shalpour, 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. Ichinohe, M. Ishii, et al. // *Stem Cells*. – 2016. – Vol. 34(12). – P. 2889–2901.
- [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., Spirili, 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 α v β 5-mediated activation of NF- κ B. *J. Clin. Invest.*, 125, 1886–1900. doi: 10.1172/JCI179327.
- [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/s00108-017-2713-8.
- [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.celrep.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., Versteeg, 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., Shalpour, 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., Ichinohe, 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.

References