

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ელზა აზმაიფარაშვილი

დუქტულური რეაქციის არსი და მექანიზმები
ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვიდან
აღრეულ ვადებზე ვირთაბვებში

წარღბენილია მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაკრვებლად

ხელმძღვანელი: პროფესორი დიმიტრი კორძაია

თსუ მედიცინის ფაკულტეტი

კლინიკური ანატომიის დეპარტამენტი



თბილისის
უნივერსიტეტის
გამომცემლობა

2011 წელი

შინაარსი:

შესავალი	3
აქტუალობა	3
მიზანი	8
ამოცანები	9
მეცნიერული სიახლე.	9
დაცვაზე გამოსათანი დებულებები.	9
ნაშრომის აპრობაცია	10
გამოქვეყნებული შრომები	10
ლიტერატურის მიმოხილვა	11
მასალა და მეთოდები	45
ექსპერიმენტული მოდელები	45
ჰისტოლოგია და იმუნოჰისტოქიმია	47
ელექტროფორეზი და იმუნობლოტინგი	53
სტატისტიკური ანალიზი	54
შედეგები	56
ჰისტოლოგია და იმუნოჰისტოქიმია	56
ელექტროფორეზი და იმუნობლოტინგი	69
ციტოკერატინების სპერთო რაოდენობა	71
ცალკეული (ინდივიდუური) ციტოკერატინები	71
ბანხილვა	73
დასკვნები	83
ლიტერატურა	84

დუქტულური რეაქციის არსი და მექანიზმები ნაღვლის საერთო სადინარის ბადაკვანძვიდან ადრეულ ვადებზე ვირთაბვებში

შესავალი

აქტუალურობა

ღვიძლის რეგენერაცია ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ შესწავლადი პროცესია. დადგენილია, რომ ღვიძლის უჯრედების გაძლიერებული პროლიფერაციით მიმდინარე ამ პროცესს დასაბამს აძლევს ღვიძლის დიდი მასის ერთბაშად დაკარგვა ან დაზიანება, მაგალითად პარციული ჰეპატექტომია (ღვიძლის რეზექცია), კარის ვენის ერთი ან რამოდენიმე წილოვანი ტოტის გადაკეტვა, CCl₄-ით მოწამვლა და სხვა (Bowen et al., 1996; Michalopoulos, DeFrances, 1997; Fausto, Campbell, 2003; Mitsuta et al., 2004).

დადასტურებულია, რომ პარციული ჰეპატექტომია ხდება ჰეპატოციტთა მძლავრი მიტოზური პროლიფერაციის ინიციატორი, რის შედეგადაც ინტერვენციიდან 1-2 კვირის თავზე ღვიძლი პრაქტიკულად სრულად აღიდგენს თავის მასას (Teresa, Sandgren, 2000; Michalopoulos, DeFrances, 1997; Hua-Sheng Xu et al., 1993; Zimmermann, 2002; Zhi Zhong et al., 2006; Drixler, 1991; Zhao et al., 2001; Fausto, Campbell, 2003; Tolentino et al., 2006; Ninomiya et al., 2004.)

დადგენილია, რომ მიტოზების გაშვება ხდება ადრეული პასუხის გენების (აპგ) აქტივაციის შედეგად მოგვიანებითი პასუხის გენების „ჩართვით“ (Luc Lambotte et al., 1997; Fausto, Laird, 1995; Zimmermann, 2002; Zhi hong Robert et al., 2006; Columbano, Hisashi Shinozuka, 1996; Mueller Lars et al., 2002; Sergio Laconi et al., 1999; Rudolph et al., 2000; Fausto et al., 2003; Chun-Ping Wang et al., 2006; Shubing Liu et al., 2002). მიხნეულია, რომ ეს პროცესი ვერ ხორციელდება ზრდის ფაქტორების გარეშე. ზრდის ფაქტორებისა და ადრეული პასუხის გენების აქტივაციის ურთიერთდამოკიდებულების ნატიფი მექანიზმები ბოლომდე არ არის დადგენილი, თუმცა მათი ორივესი ზეგავლენა მიტოზების ტალღის ინდუქციაზე დადასტურებულია (Takashi Niiya

et al., 1999; Weglarz, Sandgren, 2000; Michalopoulos, DeFrances, 1997; Zimmermann, 2002; Zhi Zhong et al., 2006; Columbano, Shinozuka Hisashi, 1996; Shinozuka Hisashi, Columbano, 1996; Mueller Lars et al., 2002; ; Zhao et al., 2001; Fausto, Campbell, 2003; Shubing Liu et al., 2002).

ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიით (ნსსო) გამოწვეული მწვავე ქოლესტაზიც ასევე იწვევს ღვიძლის ქსოვილში პროლიფერაციულ პროცესებს (Yoshioka et al., 2005; Rubin et al., 1995). მრავალი ნაშრომითაა დადასტურებული ქოლესტაზის პირობებში ნაღვლის სადინარების გამომფენი ეპითელიოციტებისა და თვით ამ სადინარების პროლიფერაცია, რაც თავს იჩენს ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიიდან უკვე მე-2-3 დღეს და გრძელდება რამოდენიმე კვირის განმავლობაში. (Alpini et al., 1988; Alpini et al., 1998; Mukaddes Esrefoglu et al., 2005; Padilloa Francisco et al., 2004; Gaudio et al., 1996; Yoshiya Ito et al., 2003; Murakami et al., 2001; Paku et al., 2001; Karsten Thomas et al., 1998; Margaritis et al., 2005; Masayuki Ohtsuka et al., 2000). ქოლანგიოციტების პროლიფერაცია აღინიშნება მსხვილი კალიბრის ნაღვლის სადინარებში მე-2-3 დღეს, ხოლო მცირე კალიბრის სადინარებში მე-5 დღეს (Alpini et al., 1998; LeSage, 2001; Glasser et al., 2009; Glasser et al., 2010). ბილიური ეპითელიოციტებისა და სადინარების პროლიფერაციის ტრიგერად მიჩნეულია ბილიური ჰიპერტენზია (Azmaifarashvili et al., 2009, Kordzaia, 2009, Glasser et al., 2010). ნსსო-ით განპირობებული ქოლესტაზი ასევე იწვევს პროლიფერაციული მედიატორების ტრანსკრიპციული აქტივობის მატებას, რასაც თან სდევს ჰეპატოციტების მკვეთრი პროლიფერაციაც პიკით მე-4 დღეს (Dzidziguri et al., 2004; Kordzaia, 2009).

ღვიძლში პროლიფერაციული პროცესების ერთ-ერთი, ამასთანავე ხშირად გამოვლინებადი ფორმაა დუქტულური რეაქცია (ductular reaction). ის თან ახლავს ადამიანის ღვიძლში მიმდინარე მრავალ მწვავე და ქრონიკულ დაავადებას და მღრღნელების ღვიძლის მრავალფეროვან ექსპერიმენტულ დაზიანებებს.

დუქტულური რეაქცია მორფოლოგიურად აისახება ღვიძლის ჰისტოლოგიურ ანათლებში ნაღვლის სადინარების პროფილების მატებით, რასაც ახლავს ნეიტროფილური ლეიკოციტებითა და მონონუკლეოციტებით ქსოვილის ინფილტრაცია და მზარდი ფიბროზი (Desmet, 1987; Gerber et al., 1983; Mac Sween, Burt 1989; Uchida, Peters, 1983).

გამოყოფენ სამი ტიპის დუქტულურ რეაქციას: “ტიპურს”, “ატიპიურს” და “ოვალური უჯრედების პროლიფერაციას” (Nakanuma, Ohta, 1986; Rubin et al., 1965; Tavoloni, 1987; Yamada et al., 1987; Farber, 1956; Fausto, 1994; Opie, 1944).

ტიპური დუქტულური რეაქცია აღმოცენდება მწვავე ბილიური ობსტრუქციის დროს (ადამიანებში) და ნაღვლის სადინრის ოკლუზიის პირობებში (ექსპერიმენტში) (Tavoloni, 1987; Yamada et al., 1987; Gall, Bhathal, 1990; Goldfarb et al., 1962; Slott et al., 1990; James et al., 1989; Nakanuma, Ohta, 1986; Sirica et al., 1992; Sirica et al., 1990; Van Eyken, Desmet, 1992).

ატიპიური დუქტულური რეაქცია ვლინდება ქრონიკული, მათ შორის ქრონიკული ქოლესტაზური დაავადებების დროს (Desmet, 1972; Desmet, 1985; Desmet, 1986; Desmet, 1987; Gerber et al., 1983; Uchida, Peters, 1983).

რაც შეეხება ოვალური უჯრედების პროლიფერაციას, ის წარმოადგენს ატიპიური დუქტულური რეაქციის ქვესახეობას, რომელიც ძირითადად აღწერილია მღრღნელებში ღვიძლის სხვადასხვა პათოლოგიის მოდელირებისას და ხასიათდება ისეთი დუქტულების წარმოქმნით, რომელშიც მონაწილეობას იღებს ოვალური უჯრედები (ე.წ. ღვიძლის “წინამორბედი” უჯრედები).

ამასთანავე, არ არის გამორიცხული სხვადასხვა მექანიზმების სინქრონული ან ასინქრონული თანხვედრა სხვადასხვა პათოლოგიის განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე, რაც დამოკიდებულია დაზიანების ფორმაზე, ხარისხზე და მოცულობაზე, უჯრედთა პროლიფერაციულ აქტივობასა და მათი ზრდის ფაქტორების მიმართ სენსიტიურობაზე (Desmet, 1986).

როგორც აღინიშნა, ადამიანებში ტიპური დუქტულური რეაქცია ვითარდება მწვავე ბილიური ობსტრუქციის დროს (James et al., 1989; Nakanuma, Ohta, 1986; Rubin et al., 1965; Sirica et al., 1992; Sirica et al., 1990; Slott et al., 1990; Tavoloni, 1987; Van Eyken, Desmet, 1992; Yamada et al., 1987), ხოლო მღრღნელებში მისი გამოწვევა ხდება ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიით, ძირითადად, გადაკვანძვით. ვირთაგვებში და თაგვებში ეს მეთოდი წარმოადგენს ფართოდ აღიარებულ პროტოკოლს (Johnstone, Lee, 1976; Miyoshi et al., 1999; Canbay et al., 2002; Gujral et al., 2004; Wang et

al.,2005; Bergheim et al., 2006; Fickert et al., 2002; Bataller et al., 2003; Yang et al., 2005; Isayama, Hines, 2006; Abe *et al.*, 2004; Georgiev et al., 2007).

ტიპური დუქტულური რეაქციის შემთხვევაში ახლად წარმოქმნილი დუქტულები ხასიათდება მკაფიოდ გამოხატული სანათურით, ფორმირებული ბაზალური მემბრანით. ისინი განლაგებულია პორტულ ტრაქტებში. მიჩნეულია, რომ ახლად წარმოქმნილი დუქტულები წარმოადგენს უკვე არსებული ნაღვლის სადინარების განტოტებებს და იმეორებს მათ სტრუქტურულ და ფუნქციურ მახასიათებლებს (Alpini et al., 1988; Alpini et al., 1989; Chou, Gibson, 1971; Gall, Bhathal, 1990; Goldfarb, Singer, 1962; Sirica et al., 1990; Slott et al.,1990; Sirica et al., 1985; Schaffner, Popper, 1961).

აღნიშნული მოსაზრების გამო ტიპურ დუქტულური რეაქციას, ზოგჯერ სადინარების გამრავლებასაც (bile duct proliferation) უწოდებენ. სადინარების აღნიშნული პროლიფერაცია, დამკვიდრებული შეხედულების თანახმად, წარმოადგენს მათი გამომფენი ეპითელიოციტების პროლიფერაციის შედეგს.

მრავალი ავტორი მიუთითებს, რომ ახალი დუქტულების თვალსაჩინო მატება აღინიშნება ნსსო-დან მე-3 დღეს, რაც დაკავშირებულია ბილიური ეპითელიუმის მიტოზური აქტივობის მატებასთან (Slott et al., 1990; Yoshioka et al., 2005). ეს მნიშვნელოვანი მორფოლოგიური ფენომენი ფასდება CK ანტისხეულის იმუნოექსპრესიით. CK პოზიტიური ნაღვლის სადინარების რიცხვის მატება ფიქსირდება ნსსო-დან მეორე დღიდან და თანდათანობით მატულობს მე-14 დღემდე.

მაგრამ ჩვენს მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ დუქტულური პროფილების მატება აღინიშნება ნსსო-დან უკვე 6 საათის შემდეგ (Azmaifarashvili et al., 2009). აღნიშნულ ვადაზე პერიპორტულ მიდამოში გვხვდება სადინარების პროფილის სტრუქტურები, რომლის წარმომქმნელი ეპითელიოციტებიც წარმოდგენილია ღია ფერის ციტოპლაზმით. ამასთანავე, ხაზგასმით უნდა აღინიშნოს, რომ არც ერთ ამ სტრუქტურაში მიტოზის ფიგურები არ იყო აღმოჩენილი. აღნიშნული ადასტურებს, რომ ნაღვლის საერთო სადინარში წნევის მატება უკვე პირველივე საათებში იწვევს „დუქტულურ რეაქციას“. ამასთანავე, მიუხედავად იმისა, თუ რა ივარაუდება ასეთი „ნეოდუქტულების“ წარმოქმნის მიზეზად, უკვე არსებული ქოლანგიოციტების თუ ღეროვანი (ოვალური) უჯრედების (Olynyk et al., 1998; Paku et al., 2001; Libbrechi, Roskams, 2002; Desmet, Roskams, 1995; Roskams et al., 2004; Buysen , 1962; Gouw et al.,

2001; Theise et al., 1999) (ან თუნდაც, სხვა უჯრედების) პროლიფერაცია/დიფერენციაცია, ნებისმიერ შემთხვევაში ასახსნელია მიტოზური ფიგურების არარსებობის ფაქტი.

საეჭვოა, რომ ასეთი ადრეული დუქტულური რეაქცია, განპირობებული იყოს უჯრედთა პროლიფერაციით, იქნება ეს უკვე არსებული ბილიური ეპითელიუმის მიტოზური აქტივობა - მასთან ასოცირებული ნაღვლის სადინარების პროლიფერაციით, თუ ოვალური უჯრედების პროლიფერაცია. ნაღვლის სადინარების პროლიფერაციის “მოსწრება” ძნელად სავარაუდოა ნსსო-დან არა თუ 6 საათში, არამედ 48 საათამდე დროის ინტერვალშიც (მიტოზის ციკლისათვის საჭირო დროის გათვალისწინებით). თუმცა ზოგი მკვლევარი მიუთითებს, რომ ნსსო-ის პირობებში ხდება ნაღვლის სადინარების არა დატოტვით, არამედ დაგრძელება-დაკლაკვით პროლიფერაცია (Slott et al., 1990); აღნიშნულის გათვალისწინებით, საფიქრებელია, რომ დუქტულური ფენოტიპის მატარებელი რეაქცია შესაძლოა მართლაც იყოს დუქტულური გენეზის. თუმცა ნეოდუქტულოგენეზის წყაროს ასევე შესაძლოა რომ წარმოადგენდეს ღეროვანი უჯრედები - ადგილობრივი (Xin Wang et al., 2003) ან მოცირკულაციე (ამ უკანასკნელის წყარო, როგორც წესი, ძვლის ტვინია [Petersen et al., 1999; Ying Zhang et al., 2003]), ან ჰეპატოციტების დუქტულური მეტაპლაზია (Sirica and Williams, 1992; Michalopoulos et al., 2005).

არ არის გამორიცხული, რომ ნსსო-დან პირველივე საათებში გამოვლენილ “ნეოდუქტულოგენეზში” მონაწილეობდეს სხვადასხვა ტიპის უჯრედები და მექანიზმები, რომლებიც ფართოდ არის წარმოჩენილი მრავალი მკვლევარის მიერ და დღესაც ინტენსიურად შეისწავლება. ასე, მაგალითად, ღვიძლის კანცეროგენეზის კვლევის მიზნით ჩატარებულ შედარებით ძველ ექსპერიმენტულ კვლევების შედეგების საფუძველზე ნავარაუდები იყო, რომ ჰეპატოციტულური კარცინომა წარმოიშობა ჰეპატოციტებიდან ან ოვალური უჯრედებიდან (Desmet, 1963). შემდგომმა იმუნოჰისტოქიმიურმა კვლევებმა უჩვენა, რომ ჰეპატოციტულური კარცინომების დაახლოებით 50% ავლენს ექსპრესიას ციტოკერატინების მიმართ, რაც სავარაუდოს ხდის, რომ ისინი წარმოიშობა ბილიური ეპითელიუმის ფენოტიპის მქონე უჯრედებისგან, კერძოდ - ოვალური უჯრედების ექვივალენტებისგან.

სხვა კვლევები, რომლებიც ჩატარებული იყო ადამიანის ღვიძლზე სხვადასხვა პათოლოგიის დროს, რეგენერაციის ადრეულ ფაზაში წარმოაჩინეს იზოლირებულ, მცირე ზომის უჯრედებს მწირი ციტოპლაზმით, რომლებიც ავლენს ექსპრესიას chromogranin A-ისა და CK19-ის მიმართ, რაც დიდი ალბათობით მიუთითებს ღეროვანი უჯრედების გააქტივებაზე. ამასთანავე, ნაჩვენებია, რომ რეგენერაციის გვიან ფაზებში რეაქციული ნაღვლის დუქტულების უჯრედები და პერიპორტული ჰეპატოციტების ჯგუფები ასევე ავლენენ ექსპრესიას chromogranin A-სა და CK19-ს მიმართ (Roskams et al., 1991).

B-ჰეპატიტის ვირუსთან ასოცირებული ჰეპატოცელულური კარცინომით დაავადებულ პაციენტების არანეოპლაზიურ ქსოვილში Hsia-მ და თანაავტორებმა აღმოაჩინეს ოვალური ტიპის უჯრედები, რომლებიც ავლენდა იმუნორეაქციულობას CK19-ს მიმართ (დუქტულური ფენოტიპი) და ჰეტეროგენულობას ალფა-ფეტოპროტეინისა და ალბუმინის მიმართ (ჰეპატოცელულური ფენოტიპი) (Hsia et al., 1992; Hsia et al., 1994).

ღვიძლის პათოლოგიების დროს, კერძოდ კი ბილიური ობსტრუქციის პირობებში აღმოცენებული დუქტულური რეაქციის გენეზში ღვიძლის სხვადასხვა უჯრედული პოპულაციების პროლიფერაციის, დიფერენციაციისა და ტრანსდიფერენციაციის ფაქტები (Desmet, 2011), ცხადია, ზრდის დუქტულური რეაქციის დეტალური კვლევების მნიშვნელობას. ასეთი კვლევების შედეგებს დიდი მნიშვნელობა ენიჭება არა მარტო ღვიძლის დაზიანების ხარისხის სწორად შეფასებისა და პროგნოზის განსაზღვრისათვის, არამედ ღვიძლის ნეოპლაზიების პათოგენეზის შემდგომი კვლევებისთვისაც.

ამ ფონზე აქტუალურობას იძენს ჩვენს მიერ ნსსო-დან ადრეულ ვადებზევე აღწერილი დუქტულური პროფილების მატების ჭეშმარიტი არსისა და მექანიზმების გამოკვლევა.

მიზანი

აღნიშნული კვლევის მიზანს წარმოადგენს ვირთაგებებში ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვის შემდგომ ადრეული დუქტულური რეაქციის წარმომავლობის და არსის გამოკვლევა.

ამოცანები:

1. ნსსო-ის შემდგომ ადრეულ ვადებში დუქტულური რეაქციის ჰისტოტოპოგრაფიული თავისებურებების დადგენა
2. ნსსო-ის შემდგომი ადრეული დუქტულური რეაქციის გენეზის დაგენა
3. ნსსო-ის შემდგომი ადრეული დუქტულური რეაქციის თანმხლები უჯრედთა პროლიფერაციის, დიფერენციაციისა და ტრანსდიფერენციაციის გამოკვლევა.

მეცნიერული სიახლე

ნაშრომში პირველად დადასტურებულია, რომ:

- დუქტულური რეაქცია იწყება ნსსო-დან რამოდენიმე საათში;
- ის წარმოადგენს უწვრილესი ნაღვლის სადინარების - ნაღვლის დუქტულების, ჰერინგის არხების და პერიპორტული ბილიური წნულის გაგანიერების და არა ამ სადინარებისა და მათი გამომფენი ეპითელიური უჯრედების პროლიფერაციის შედეგს;
- ნსსო-ს ადრეული ვადებიდანვე თან სდევს:
 - ბილიარული ეპითელიუმის უჯრედების ფორმის და ზომის ცვლილება
 - ჰეპატოციტების მიერ ციტოკერატინული პროფილის შეცვლა, რაც მათი დუქტულური ტრანსფორმაციის ინიციაციას წარმოადგენს.

დაცვაზე გამოსატანი დებულებები:

ნსსო-ის შემდგომ ადრეულ ვადებზე (3-24 საათში) განვითარებული დუქტულური რეაქცია წარმოადგენს არსებული უწვრილესი ნაღვლის სადინარების სისტემის ბილიური ჰიპერტენზიის გამო გაგანიერებისა და სინათლის მიკროსკოპში მათი “გამოვლინების” და არა პროლიფერაციული აქტივობის შედეგს.

ჰეპატოციტების ტრანსდიფერენციაცია დუქტულური ეპითელიოციტების მიმართულებით იწყება ნსსო-ის შემდგომ ადრეულ ვადებზე (12-24 საათი) და აისახება ჰეპატოციტების კერატინული პროფილის ცვლილებით (CK-პოზიტიურობით).

ნსსო შემდგომი დუქტულური რეაქცია წარმოადგენს თანდათანობით განვითარებად და მულტიკომპონენტულ ფენომენს, რომლის სრულად შეცნობისათვის საჭიროა პროცესების უწყვეტი დინამიკით გამოკვლევა ნაღვლის შეგუბების დაწყებისთანავე.

ნაშრომის აპრობაცია

ნაშრომის ფრაგმენტების აპრობაცია განხორციელდა თსუ მედიცინის ფაკულტეტის დოქტორანტთა სემინარზე და კოლოქვიუმზე (2009 და 2010) და მორფოლოგიის ინსტიტუტისა და თსუ კლინიკური ანატომიის დეპარტამენტების გაერთიანებულ სხდომაზე (2011)

გამოქვეყნებული შრომები

1. AZMAIPARASHVILI E, KORDZAIA D, DZIDZIGURI D. // **BILIARY HYPERTENSION AS THE CELL PROLIFERATION TRIGGER IN BILE DUCT LIGATED RATS. Georgian Med News 2009 Mar;(168):111-6.**
2. AZMAIPARASHVILI E., GELDIASHVILI M., CHKHAIDZE Z., KHODELI N., PILISHVILI O., TOMADZE G., JANGAVADZE M., PARTSAKHASHVILI J., KORDZAIA D. // **OPTIMIZATION OF VENOUS RETURN DURING THE ANHEPATIC PHASE OF EXPERIMENTAL LIVER TRANSPLANTATION. Journal Experimental and Clinical Medicine (Geo), 2010, 1, pp. 9-14**
3. ELZA AZMAIPARASHVILI, EKATERINE BERISHVILI, MIKHEIL JANGAVADZE, DIMITRI KORDZAIA // **REGARDING THE “NEWDUCTULES” APPEARED IN THE LIVER OF RATS IN SEVERAL HOURS AFTER COMMON BILE DUCT LIGATION. Acta Morphologica et Anthropologica, 2012 (accepted for publication)**
4. ELZA AZMAIPARASHVILI, EKATERINE BERISHVILI, ZURAB KAKABADZE, OTAR PILISHVILI, EKATERINE MIKAUTADZE, REVAZ SOLOMONIA, MIKHEIL JANGAVADZE, DIMITRI KORDZAIA // **DUCTULAR REACTION AT THE EARLY TERMS OF COMMON BILE DUCT LIGATION IN THE RATS. Acta Biologica Hungarica, 2012 (accepted for publication)**

ლიტერატურის მიმოხილვა

როგორც ადამიანებში ღვიძლის სხვადასხვა დაავადებების დროს, ასევე მღრღნელებში ღვიძლის პათოლოგიის მრავალფეროვან ექსპერიმენტულ მოდელებში დაფიქსირებულია ნაღვლის დუქტულების პროფილების მატება. ამასთანავე, ეს მატება თავდაპირველად აღინიშნება პორტული ტრაქტების პერიფერიაზე, შემდგომში კი წილაკების შიგნითაც. დუქტულური სტრუქტურების მატებას თან სდევს ნეიტროფილური ინფილტრაცია და პერიპორტული ფიბროზის განვითარება. აღნიშნულ ცვლილებებს “დუქტულური რეაქცია” ეწოდება (Desmet, 1987; Desmet, 1992; Gerber et al., 1983; MacSween, Burt 1989; Uchida, Peters, 1983).

ამ ჰისტოლოგიური ფენომენის პირველად აღწერის შემდეგ (Waldeyer, 1868) განხორციელდა მრავალი მცდელობა მისი ეტიოპათოგენეზის და პათოფიზიოლოგიური მნიშვნელობის დასადგენად. უკანასკნელ ხანებში შეინიშნება გარკვეული პროგრესი დუქტულური რეაქციის ჰისტოგენეზის და რეაქციული ნაღვლის სადინრების უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის გამოკვლევის მიმართულებით, თუმცა ბევრი რამ საკამათო რჩება.

როგორც ზემოთ უკვე აღინიშნა, გამოყოფენ სამი ტიპის დუქტულურ რეაქციას: “ტიპურს”, “ატიპიურს” და “ოვალური უჯრედების პროლიფერაციას”.

ტიპური დუქტულური რეაქცია აღმოცენდება მწვავე ბილიური ობსტრუქციის დროს (ადამიანებში) და ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიის ან ალფა-ნაფტილიზოთიოციანატით (ANIT) ინტოქსიკაციის პირობებში (ექსპერიმენტში) (Gall, Bhathal, 1990; James et al., 1989; Nakanuma, Ohta, 1986; Rubin et al., 1965; Goldfarb et al., 1962; Sirica et al., 1990; Slott et al., 1990; Yamada et al., 1987; Tavoloni, 1987; Van Eyken, Desmet, 1992; Sirica et al., 1992).

ათიპიური დუქტულური რეაქცია ადამიანებში ვლინდება ქრონიკული ქოლესტაზური დაავადებების დროს, ღვიძლის სუბმასიური ნეკროზის შემდგომი რეგენერაციის, ღვიძლის ალკოჰოლური დაავადების და ფოკალური ნოდულური ჰიპერპლაზიის დროს (Desmet, 1985; Desmet, 1986; Desmet, 1987; Gerber et al., 1983; Uchida, Peters, 1983).

ნადვლის სადინარების ატიპიური რეაქცია, რომელიც დაკავშირებულია ოვალური უჯრედების პროლიფერაციასთან, ძირითადად აღწერილია მღრღნელებში, ქიმიური ნაერთებით (D-გალაქტოზამინი და ნახშირის ტეტრაქლორიდი) გამოწვეული პარენქიმული დაზიანების შემდგომ (Lemire et al., 1991; Sirica, Williams, 1992; Tournier et al., 1988).

მიხნეულია, რომ დუქტულური რეაქცია შესაძლოა განვითარდეს სამი სხვადასხვა მექანიზმით:

1) უკვე არსებული სანადვლე სადინარების უჯრედების პროლიფერაციით (Goldfarb et al., 1962; Gall, Bhathal, 1990; Slott et al., 1990; Desmet, 2011).

2) ჰეპატოციტების დუქტულური მეტაპლაზიით (James et al., 1989; Van Eyken et al., 1989; Van Eyken et al., 1988; Sirica and Williams, 1992; Michalopoulos et al., 2005, Desmet, 2011).

3) ღვიძლის “ღეროვანი უჯრედების” ან ე.წ. “წინამორბედი” უჯრედების აქტივაციით, პროლიფერაციითა და დიფერენცირებით (Aterman, 1992, Desmet, 2011).

ამასთანავე, არ არის გამორიცხული სხვადასხვა მექანიზმების ერთდროულად არსებობა, ოღონდ დროის სხვადასხვა მონაკვეთზე მათი განსხვავებული ინტენსიფიკაციით (ქრონოლოგიური ასიმეტრიის პრინციპი), რაც დამოკიდებულია პათოლოგიაზე (ექსპერიმენტულ მოდელზე) და ამ დროს ინიცირებული უჯრედული და მოლეკულური რეაქციების ურთიერთზეგავლენაზე (Desmet, 2011).

“ტიპური” დუქტულური პროლიფერაციის დროს ახლადწარმოქმნილი დუქტულები ხასიათდება კარგად გაფორმებული სტრუქტურით და სანათურით და მდებარეობს პორტული ტრაქტის უშუალო სიახლოვეს. დადასტურებულადაა მიხნეული, რომ ტიპური დუქტულური რეაქცია უკვე არსებული ნადვლის სადინარების გამრავლების შედეგია. აღნიშნულ მოსაზრებას ამყარებს ის ფაქტი, რომ ვირთაგვების მოდელში ახლადწარმოქმნილი სადინარები ინარჩუნებს თავიანთი ნორმალური წინამორბედების იმუნოჰისტოქიმიურ (Sirica et al., 1990; Slott et al., 1990; Goldfarb et al., 1962; Alpini et al., 1989; Gall, Bhathal, 1990), ულტრასტრუქტურულ (Alpini et al., 1989; Sirica et al., 1985; Schaffner, Popper, 1961) და ფუნქციურ მახასიათებლებს (Alpini et al., 1989; Alpini et al., 1988). დადასტურებულადაა მიხნეული, რომ რეაქციული დუქტულები წარმოადგენს

ღვიძლშიდა ნაღვლის გზების უწვრილესი ტოტების "დატოტვითი" პროლიფერაციის შედეგს. ამ ტიპის დუქტულური რეაქცია ვითარდება მწვავე ქოლესტაზის დროს (ექსტრაჰეპატული ნაღვლის სადინარ(ებ)ის მწვავე ობსტრუქცია ადამიანებში და ნაღვლის საერთო სადინრის ოკლუზია ან ალფა-ნაფტილიზოთიოციანატი (ANIT) ინტოქსიკაცია ექსპერიმენტულ ცხოველებში – ძაღლებში, კატებში და მღრღნელებში) (James et al., 1989; Nakanuma, Ohta, 1986; Rubin et al., 1965; Sirica et al., 1990; Slott et al., 1990; Yamada et al., 1987; Tavoloni, 1987; Kordzaia, 1990; Van Eyken, Desmet, 1992; Sirica et al., 1992).

იმ მოსახრებას, რომ ტიპური დუქტულური რეაქცია უკვე არსებული ნაღვლის სადინარების გამრავლების შედეგია, ამყარებს ის ფაქტი, რომ ახლადწარმოქმნილი სადინარები ინარჩუნებს თავიანთი ნორმალური წინამორბედების იმუნოჰისტოქიმიურ (Sirica et al., 1990; Slott et al., 1990; Goldfarb et al., 1962; Alpini et al., 1989; Gall, Bhathal, 1990), ულტრასტრუქტურულ (Alpini et al., 1989; Sirica et al., 1985; Schaffner, Popper, 1961) და ფუნქციურ მახასიათებლებს (Alpini et al., 1989; Alpini et al., 1988). კვლევები, რომლებიც ემყარებოდა თიმიდინით მონიშვნას, ასევე ადასტურებს უკვე არსებული დუქტულების პროლიფერაციას (Grisham et al., 1964; Masuko et al., 1964; Alpini et al., 1989; Alpini et al., 1988; Gall, Bhathal, 1990; Slott et al., 1990). შემდგომ კვლევებში ნახვენებია, რომ ვირთაგვებში ბილიური ობსტრუქციის შემდეგ მიმდინარე ჰიპერპლაზია მოიცავს უკვე არსებული ნაღვლის სადინარების ზიგზაგისებურ დაგრძელებას. ამ პროცესის დაწყებას კი განაპირობებს ბილიური ჰიპერტენზია. ამასთანავე, მიჩნეულია, რომ ტიპური დუქტულური რეაქციის დროს, იმისდა მიუხედავად, თუ რა ტიპით მიმდინარეობს სადინარების პროლიფერაცია, არ ხდება ახალი "ნაღვლის კაპილარულ-დუქტულური კავშირების" წარმოქმნა (Kordzaia, 1990; Slott et al., 1990; Shibayama, 1990).

Alpini -სა და თანაავტორების (Alpini et al., 1988; Alpini et al., 1989) მიერ დადასტურებულია, რომ ANIT-ით ინტოქსიკაციის ან ნაღვლის სადინარის ოკლუზიის შემდეგ მოპროლიფერაციე ნაღვლის სადინარები აგრძელებს სეკრეციულ აქტივობას. იგივე ფენომენი დადასტურებული აქვს Kordzaia -საც (1990) ძაღლის ნაღვლის სადინარების გამომშრალი პრეპარატების

მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპით გამოკვლევის შედეგად, ცხოველების ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიიდან რამოდენიმე დღის შემდეგ, ამასთანავე, ნაჩვენებია, რომ ქოლანგიოციტები შეიწოვს ქოლესტაზის გამო ჰეპატოციტებში აკუმულირებულ ნაღვლის მჟავებს (Buscher et al., 1989), რის შედეგად უნდა გაიზარდოს ქოლესტატიური ბრუნვაც (Desmet, 1992).

ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ ყველა ჩამოთვლილი თავისებურება აღწერილია ძირითადად ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიიდან 1-4 კვირის პერიოდში.

ზოგიერთი ავტორის მიერ (James et al., 1989) აღამიანებში ექსტრაჰეპატული ბილიური ობსტრუქციის დროს ნაჩვენებია, რომ როგორც პარენქიმული, ასევე ნაღვლის სადინარის გამომფენი ეპითელიური უჯრედები საწყის ეტაპზე ინარჩუნებს ციტოკერატინების ექსპრესიის მისთვის ჩვეულ ("ნორმულ") პროფილს. თუმცა, ნაღვლის სადინარების ობსტრუქციის ხანგრძლივობის ზრდასთან ერთად დეიდლის აცინუსის I ზონის ჰეპატოციტები თანდათან იძენს ციტოკერატინ 7-ის ექსპრესიის უნარს, რაც დამახასიათებელია ნაღვლის სადინარების უჯრედებისათვის (Van Eyken et al., 1987). სავარაუდოდ, ეს ფაქტი შესაძლოა დაკავშირებული იყოს ჰეპატოციტების დუქტულური მეტაპლაზიის დაწყებასთან. ეს კი, თავის მხრივ არ გამორიცხავს ტიპური დუქტულური რეაქციის პარალელურად ატიპიური დუქტულური რეაქციის ინიციაციის აღბათობას. სავარაუდოს ხდის ტიპური დუქტულური რეაქციის პარალელურად, ატიპიური დუქტულური რეაქციის ინიციაციასაც.

ატიპიური დუქტულური რეაქცია წარმოდგენილია ნაღვლის სადინარების უწვრილესი პროფილებით, რომლებიც განთავსებულია წილაკის პარენქიმაში (მეტად, პორტული ტრაქტის სიახლოვეს). ანათლებზე ზოგჯერ ისინი ვლინდება მონანსტომოზე ფირფიტების სახით, სადაც განირჩევა სტრუქტურები ცუდად დიფერენცირებული სანათურით, რომელიც გამოფენილია მწირი ციტოპლაზმის მქონე უჯრედებით. დუქტულები შეესაბამება გაბრტყელებულ (flattened) ცილინდრებს, ხოლო მათი სამგანზომილებიანი ანატომიური სტრუქტურა ძალიან ჰგავს ჰეპატოციტების ფირფიტებს (Jorgensen, 1973, Desmet, 2011). ატიპიურ დუქტულურ რეაქციას ადგილი აქვს ქრონიკული ქოლესტაზური დაავადების (როგორცაა

პირველადი ბილიური ციროზი), პირველადი სკლეროზული ქოლანგიტების ან ხანგრძლივი ექსტრაჰეპატური ბილიური ობსტრუქციის დროს, სუბმასიური ნეკროზის შემდგომი ღვიძლის რეგენერაციისას, ღვიძლის ალკოჰოლური დაავადების და ფოკალური ნოდულური ჰიპერპლაზიის დროს (Gerber et al., 1983; Uchida, Peters, 1983; Desmet, 1985; Desmet, 1987; Desmet, 2011).

მრავალი ექსპერიმენტული მოდელით დადასტურებულია ღვიძლში ღეროვანი უჯრედების არსებობა. მეტიც, დადასტურებულია ამ ღეროვანი უჯრედების ექვივალენტების არსებობა ადამიანის ღვიძლში (ღეროვანი უჯრედების განთავსების ადგილად მიხნეულია უწვრილესი ნადვლის დუქტულები - ქოლანგიოლები, ჰერინგის მილაკები) (De Vos, Desmet, 1992; Gerber et al., 1983; Hsia et al., 1992; Roskams et al., 1991; Roskams et al., 2003).

ღეროვანი უჯრედების არსებობის დადასტურებამ ახალი ბიძგი მისცა დუქტულური რეაქციის ფენომენის კვლევას.

მღრღნელებში ატიპიური სადინარების მსგავსი სტრუქტურები, რომელიც ასოცირებულია ოვალური უჯრედების პროლიფერაციასთან, ვლინდება ქიმიური მოწამვლების (მაგ., D-გალაქტოზამინით და ნახშირის ტეტრაქლორიდით) შემდეგ (Lemire et al., 1991; Sirica, Williams, 1992; Tournier et al., 1988).

ტიპური დუქტულური რეაქციისაგან განსხვავებით, სადაც მოპროლიფერაციე უჯრედები ინარჩუნებს ნორმალურ მახასიათებლებს, ატიპიური დუქტულური რეაქციის დროს მრავალი კვლევის შედეგებით დასტურდება ტრანზიტორული (გარდამავალი) ანუ შუალედური უჯრედების არსებობა, რომლებიც ავლენს როგორც ჰეპატოციტების, ასევე ქოლანგიოციტების ფენოტიპებს (Alpini et al., 1992; Burt et al., 1987; Gall, Bhathal, 1990; Hillan et al., 1989; Phillips, Steiner, 1966; Thung, 1990; Van Eyken et al., 1989; Vanstapel et al., 1986; Gerber et al., 1983; Uchida, Peters, 1983; Sirica et al., 1990; Nakanuma, Ohta, 1986; Van Eyken et al., 1988; Van Eyken, Sciot, 1989).

ჯერ კიდევ 5 ათეული წლის წინ Wegmann -მა თანაავტორებთან ერთად (Wegmann et al., 1965) ფერმენტული ჰისტოქიმიის გამოყენებით შეისწავლა ატიპიური დუქტულური რეაქცია სხვადასხვა ეტიოლოგიის ადამიანის ციროზულ ღვიძლში. მათ აღმოაჩინეს მორფოლოგიურად ჰეპატოციტების მსგავსი უჯრედები, რომლებიც ჰისტოქიმიურად იღებებოდა ნადვლის

სადინარების უჯრედების მსგავსად და ნაღვლის სადინარის უჯრედები, რომლებიც ჰეპატოციტებისთვის დამახასიათებელ ჰისტოქიმიურ შედეგებს ავლენდა გლუკოზა-6-ფოსფატაზაზე.

გლიკოგენზე და გლუკოზა-6-ფოსფატაზაზე აქტივობა გამოვლინდა მოპროლიფერაციულ დუქტულულებშიც ღვიძლის ალკოჰოლური დაავადების დროს Uchida და Peters-ის მიერ (Uchida, Peters, 1983). რამოდენიმე კვლევაში ნაჩვენებია, რომ ადამიანის ღვიძლის დაავადებებისას განვითარებული ატიპიური დუქტულური რეაქციის დროს აცინუსის I ზონის ჰეპატოციტები ავლენს ექსპრესიას რამოდენიმე ისეთ ანტიგენზე, რომლებიც ნორმაში ექსპრესირებს ნაღვლის სადინარების უჯრედების მიერ. ასეთებია: ქსოვილური პოლიპეპტიდური ანტიგენი (Burt et al., 1987; Desmet, Callea, 1990), S 100 proteini (Vanstapel et al., 1986; Vanstapel et al., 1984), სისხლის ჯგუფის Le (a) და Le (b) ანტიგენები (Nakanuma, Sasaki, 1989), VLA 2,3,6 ინტეგრინები (Volpes et al., 1990; Volpes et al., 1991), 41კ ანტიგენი, რომელსაც ჰქვია 17-1A Ag (ის ასევე ექსპრესირებს ადამიანის ნაწლავის კარცინომის უჯრედებში (Sansanno, Dammacco, 1993), უცნობი ბილიური ანტიგენი, რომლის იდენტიფიკაცია ხდება კლონი 5 მონოკლონურ ანტისხეულთან და გლიკოლიზურ ფერმენტ ენოლაზას α -სუბერთეულთან რეაქციით (Fukuda et al., 1989).

გახანგრძლივებული ქოლესტაზის დროს აცინუსის I ზონის ჰეპატოციტები, რომლებიც იმყოფება ნაღვლის სადინარის უჯრედებთან უწყვეტ კავშირში, თანდათან იძენს იმუნორეაქტიულობას CK 7 და 19-ზე (Van Eyken et al., 1989; Van Eyken et al., 1989; James et al., 1989), რომლებიც ნორმაში ექსპრესირდება მხოლოდ ნაღვლის სადინარების უჯრედების მიერ (Van Eyken et al., 1987). ადამიანებში ქრონიკული ქოლესტაზური დაავადების დროს ულტრასტრუქტურულადაც იქნა ნანახი შუალედური უჯრედები ჰეპატოციტებსა და ნაღვლის გზების უჯრედებს შორის (Nagore et al., 1989; Roskams et al., 1990).

გარდამავალი უჯრედების არსებობა ამყარებს კონცეფციას, რომ ჰეპატოციტებს გააჩნიათ ნაღვლის სადინარის უჯრედებად ტრანსფორმირების ან “ტრანსდიფერენცირების” უნარი. აღნიშნულ ჰიპოთეზას ასევე მოიხსენიებენ “ჰეპატოციტების დუქტულურ მეტაპლაზიად”. ამ კონცეფციის სასარგებლოდ მეტყველებს კვლევები სამგანზომილებიანი რეკონტრუქციის

მეთოდის გამოყენებით (BuysSENS, 1962; Nagore et al., 1989; Yamada et al., 1987). მეტიც, ვირთაგვის ნაღვლის სადინარის ოკლუზიის პირობებში, იზოლირებული ჰეპატოციტების ელენთაში ტრანსპლანტაციის შედეგად ნაჩვენებია ამ ორგანოში ნაღვლის სადინარების მსგავსი სტრუქტურების განვითარება (Hillan et al., 1989). ასეთი მეტაპლაზია, სავარაუდოდ, ჰუმორული რეგულაციით არის განპირობებული. თუმცა, უნდა აღინიშნოს, რომ შუალედური ანუ ტრანზიტორული უჯრედების არსებობა შესაძლოა აიხსნას სხვა მიზეზითაც, მაგ., ადამიანის ღვიძლის “ღეროვანი უჯრედების” ან “წინამორბედი უჯრედების” დიფერენციაციით – ან “ჰეპატოციტების” ან “ბილიური ეპითელიოციტების” – მიმართულებით. ამასთანავე, ცხადია, რომ ასეთი დიფერენციაციის საბოლოო დასრულებამდე მოცემული უჯრედი ინარჩუნებს “საწინააღმდეგო” მიმართულების უჯრედის მახასიათებლებსაც.

ჯერ კიდევ დასადასტურებელია, ავლენს თუ არა ატიპური დუქტულების გამოჩენი უჯრედები ნორმალური ქოლანგიოციტების თვისებებს. ელექტრონულ-მიკროსკოპული შესწავლით სავარაუდოა მათი მონაწილეობა რეაბსორბციაში. დუქტულურ უჯრედებში ბილირუბინის და ლიპოფუსცინის არსებობა მიუთითებს ნაღვლის ინგრედიენტების რეაბსორბციაზე და, ისევე, როგორც ტიპური დუქტულური რეაქციის დროს, ღვიძლის პარენქიმის უჯრედების ამ გზით ნაღვლის მუაგების ჭარბი რაოდენობისგან განტვირთვის შესაძლებლობაზე (Desmet, 1992, Glaser et al., 2009, 2010).

დუქტულური რეაქცია ასევე მოიცავს ექსტრაცელულური მატრიქსის მატებას, რასაც თან სდევს პერიპორტული ფიბროზების განვითარება. მატრიქსის ჭარბ პროდუქციას განაპირობებს დუქტულური უჯრედების მიერ ბაზალური მემბრანის კომპონენტების (IV ტიპი კოლაგენის, ლამინინის) სეკრეცია და მეზენქიმური უჯრედების გააქტივება. აცინუსის I ზონაში ხდება კუპფერის უჯრედების პროლიფერაცია და მონოციტების მობილიზაცია. ამასთან ერთად, რეაქციული ნაღვლის დუქტულების ახლოს და აცინუსის I ზონაში ფიქსირდება იტო უჯრედების ტრანსფორმაცია მიოფიბრობლასტებად (Callea, Desmet, 1985; Callea et al., 1982). იმუნოელექტრონულმიკროსკოპული და in situ ჰიბრიდიზაციული კვლევებით დასტურდება, რომ მატრიქსული პროტეინები ძირითადად სწორედ ტრანსფორმირებული იტო უჯრედებიდან გამოიყოფა. იტო უჯრედების

პროლიფერაციას, ტრანსფორმაციას მიოფიბრობლასტებად და მათ მიერ მატრიქსის პროდუქციას აკონტროლებს ციტოკინები, კერძოდ, ტრანსფორმული ზრდის ფაქტორი ბეტა. დადგენილია, რომ ნაღვლის სადინარების უჯრედები ავლენენ ექსპრესიას ტრანსფორმულ ზრდის ფაქტორ ბეტა-2 –ის მიმართ (Milani et al., 1991) ამრიგად, ნაღვლის სადინარის უჯრედები მიხნეულია ფიბროზის განვითარების “პეისმეიკერებად”, რაც საბოლოოდ იწვევს ციროზის განვითარებას (მაგ. პირველადი ბილიარული ციროზის და პირველადი სკლეროზული ქოლანგიტების დროს) (Desmet, 1987, 2011). ამასთანავე, ქოლანგიოციტების, მეზენქიმური უჯრედების, მიმდებარე მატრიქსის და ზრდის ფაქტორების ურთიერთქმედების მექანიზმები ჯერ კიდევ დასახუსტებელია (Glaser et al., 2010).

ვირთაგვებში ღვიძლის რეგენერაციის ყველაზე გავრცელებული მოდელია პარციული (2/3) ჰეპატექტომია. იმის გამო, რომ ვირთაგვის ღვიძლი წილოვანი აგებულებისაა (შედგება ერთმანეთისაგან პრაქტიკულად სრულად განცალკევებული 6 წილისაგან), პარციული ჰეპატექტომიის (3-4 წილის მოცილების) შემდეგ დარჩენილი ღვიძლის ნაწილი პრაქტიკულად ინტაქტურია. ოპერაციიდან 1-2 კვირის თავზე ღვიძლი პრაქტიკულად სრულად აღიდგენს თავის მასას და ეს აღდგენა განპირობებულია ღვიძლის პარენქიმული და ნაღვლის სადინარების უჯრედების ჰიპერპლაზიით (Teresa, Sandgren, 2000; Marceau et al., 1989; Michalopoulos, DeFrances, 1997; Hua-Sheng Xu et al., 1993; Zimmermann, 2002; Zhi Zhong et al., 2006; Drixler, 1991; Zhao et al., 2001; Fausto, Campbell, 2003; Tolentino et al., 2006; Ninomiya et al., 2004). ამასთანავე, უჯრედების მძლავრი (ტაღლისებრი) რეპლიკაციით მიმდინარე ამ პროცესში დუქტულური რეაქცია დაფიქსირებული არ არის.

ჰეპატოციტების რეპლიკაცია ადამიანის ღვიძლში ყველაზე ხშირად ვითარდება ღვიძლის ქიმიური ან ვირუსული დაზიანების ან ანოქსიის დროს. ადამიანის ღვიძლის დაზიანებას პანლობულური ან მულტილობულური ნეკროზით თან სდევს ატიპიური დუქტულური რეაქცია, რომელიც ვლინდება ნეკროზული წილაკების პერიფერიაზე. ამ ტიპის რეაქციულ დუქტულებს ეწოდება ფსევდოსადინარები, ნეოქოლანგიოლები და დუქტულური ანუ ბილიური ჰეპატოციტები (Phillips, Poucell, 1981, Desmet, 2011). ისევე როგორც ქრონიკული ქოლესტაზური დაავადების დროს განვითარებული ატიპიური დუქტულები, ღვიძლის (სუბ)მასიური ნეკროზის შემდგომ წარმოქმნილი

დუქტულური სტრუქტურებიც შედგება ინტერმედიული უჯრედებისგან. ისინი ავლენს იმუნორეაქციულობას როგორც სეკრეციული კომპონენტის (Delacroix et al., 1984), კარცინომბრიონული ანტიგენის (Gerber et al., 1983) და ციტოკერატინების (Van Eyken et al., 1987), ასევე ჰეპატოციტებს მარკერის – ალფა-1-ანტიტრიპსინის მიმართ (Gerber et al., 1983). ელექტრონული მიკროსკოპიული კვლევებითაც დასტურდება, რომ რეაქციული დუქტულები შეიცავს შუალედურ უჯრედებს – გარდამავალ ფორმებს ჰეპატოციტებსა და ქოლანგიოციტებს შორის (Gerber et al., 1983; Roskams et al., 1991).

ამრიგად, უჯრედთა რეპლიკაციით მიმდინარე პროცესს შეიძლება ახლდეს ან არ ახლდეს დუქტულური რეაქცია. ეს დაკვირვება დამატებით სტიმულს ქმნის დუქტულური რეაქციის არსისა და მექანიზმების დამატებითი კვლევისათვის.

როგორც უკვე აღინიშნა, ინტერმედიული უჯრედები შესაძლოა სათავეს იღებდეს ჰერინგის დუქტულებში განლაგებული ფაკულტატური ღეროვანი უჯრედებისაგან. (სუბ)მასიური ნეკროზის შემდგომი რეგენერაციის ყველაზე ადრეულ ფაზაში, როდესაც ჯერ კიდევ არ შეინიშნება მკაფიოდ გამოხატული დუქტულური რეაქცია, პორტული ტრაქტების პერიფერიაზე და ნეკროზების მიმდებარედ აღინიშნება ცალკეული მცირე ზომის უჯრედების გაჩენა, რომელთაც აქვთ ოვალური ბირთვი და მწირი ციტოპლაზმა. ისინი ავლენს იმუნორეაქციულობას ნაღვლის სადინარების CK19-ისა და chromogranin A-ს მიმართ და შეიცავს ნეიროენდოკრინულ გრანულებს. შესაძლოა, აღნიშნული უჯრედები გამოიმუშავებდეს ნივთიერებებს, რომელიც ასრულებს მნიშვნელოვან როლს ღვიძლის უჯრედების ზრდასა და დიფერენცირებაში (Roskams et al., 1991). რეგენერაციის შემდგომ ფაზაში დუქტულური რეაქცია მკაფიოდაა გამოხატული და როგორც ქოლანგიოციტები, ასევე პერიფერიული ჰეპატოციტების კლასტერები პოზიტიურია CK19-ისა და chromogranin A-ს მიმართ. მოვლენათა ამგვარი ქრონოლოგიური თანმიმდევრობა სავარაუდოდ დაკავშირებული უნდა იყოს “მცირე უჯრედების” ან, როგორც მათ უწოდებენ – “მცირე ჰეპატოციტების” დიფერენციაციასთან ორივე მიმართულებით: ქოლანგიოციტებად და ჰეპატოციტებად (Roskams et al., 1991). ისევე როგორც ქრონიკული ქოლესტაზური დაავადებისას, მორეგენერაციე ღვიძლის რეაქციული

დუქტულებიც შეიცავს PTHrP, რაც არ აღინიშნება ნორმულ ნაღვლის სადინარების ეპითელიოციტებში (Roskams et al., 1993). PTHrP სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში, EGF -ისა და TGF -ის თანხლებით ასტიმულირებს დნმ-ის სინთეზს და ამ გზით მონაწილეობს ზრდის ფაქტორების მულტიფაქტორულ მიმოქცევაში (Centrella et al., 1989; Insogna et al., 1989).

ღვიძლის რეგენერაციაში განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია რამოდენიმე ზრდის ფაქტორი (Michalopoulos, 1990): პლაზმის ფაქტორები, როგორცაა EGF და HGF, როგორც ჰეპატოციტებში, ასევე ქოლანგიოციტებში იწვევს დნმ-ის სინთეზს (Joplin et al., 1992). ვირთაგვებში პარციალური ჰეპატექტომიის შემდგომ ღვიძლის რეგენერაციის პირველი ინდიკატორია პლაზმაში ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორის მკვეთრი მატება. ეს უკანასკნელი წარმოადგენს მოვლენათა კასკადის გამშვებ მექანიზმს, რაც გულისხმობს ადრეული გენების ექსპრესიას და ჰეპატოციტების და იტო უჯრედების მიერ სხვადასხვა ზრდის ფაქტორების ექსპრესიას (ჰეპატოციტებში – TGF- α და აციდური ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი (aFGF); იტო უჯრედებში - TGF- β და HGF). მეტიც, ვირთაგვებში როგორც ნაღვლის სადინარის უჯრედები, ასევე დუქტულური უჯრედები გამოიმუშავენ TGF- α -ს, (Burr et al., 1993; Collier et al., 1993; Hsia et al., 1994) რაც საფუძველს გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ეს უჯრედები შესაძლოა წარმოადგენდეს TGF- α -ს დეპოს, რომელიც უზრუნველყოფს მის გამოთავისუფლებას პარენქიმის პერიპორტულ ზონებში (Burr et al., 1993). მსგავსად ამისა, დუქტულური უჯრედების მიერ გამოიმუშავებული PTHrP სავარაუდოდ ჩართული უნდა იყოს ზრდის ფაქტორების კომპლექსში და შესაბამისად მონაწილეობას უნდა იღებდეს ღვიძლის დაზიანებით გამოწვეულ რეგენერაციაში (Roskams et al., 1993).

ადამიანის ღვიძლში ჰეპატოციტულური ნეკროზით მიმდინარე არცერთი ეს მდგომარეობა ექსპერიმენტულ მოდელში სრული სიზუსტით ვერ აისახება, თუმცა საცდელ ცხოველებში მრავალი ნეკროგენული და არანეკროგენული ქიმიური ნივთიერებებით გამოწვეული ღვიძლის დაზიანების შემდგომ დაფიქსირებულია ღვიძლის რეგენერაცია და დუქტულური რეაქცია. ყველაზე ხშირად გამოყენებული ნეკროგენული აგენტებია ნახშირის ტეტრაქლორიდი და D-გალაქტოზამინი. პარციული ჰეპატექტომიის მოდელისგან განსხვავებით, მასიური ქიმიური დაზიანების შემდგომ ჰეპატოციტები ვეღარ

უზრუნველყოფს საკმარის რეგენერაციას, სავარაუდოდ იმის გამო, რომ მათი დიდი რაოდენობა იკარგება, ან ტოქსიკური დაზიანება ჯერ კიდევ ბოლომდე გაურკვეველი მექანიზმით აინჰიბირებს მათ რეპლიკაციას. ასეთ სიტუაციაში აქტიურდება “სარეზერვო” უჯრედები. ეს ჰიპოთეზა ექსპერიმენტზე დაყრდნობით პირველად გამოთქვეს Wilson და Leduc-მა 1958 წელს. მათ უჩვენეს, რომ თაგვებში საკვებით მძიმე მოწამვლის შემდგომ აღდგენის ფაზაში ნაღვლის დუქტულები (ქოლანგიოლები) წარმოქმნის ჰეპატოციტებს. ავტორებმა გამოთქვეს მოსაზრება, რომ ნაღვლის დუქტულების უჯრედები წარმოქმნის სარეზერვო დეპოს, რომელსაც შეუძლია გააფართოვოს არეალი და წარმოქმნას ჰეპატოციტები ღვიძლის მძიმე დაზიანების, მაგრამ არა პარციული ჰეპატექტომიის შემდგომ. ეპითელური უჯრედების პორტული პოპულაცია (განლაგებული ინტრა- და ექსტრაპორტულ დუქტულებში და ჰერინგის მილაკებში), რომელიც პროლიფერირებს ღვიძლის ქიმიური დაზიანების შემდგომ, იწოდება ოვალურ უჯრედებად; ატარებს როგორც ჰეპატოციტების, ასევე ბილიური ეპითელიოციტების თვისებებს (Inaoka, 1967; Lemire et al., 1991; Lenzi et al., 1992; Novikoff et al., 1991; Petropoulos et al., 1983; Sell, 1978; Evarts et al., 1987). მათ შეუძლია დიფერენცირება როგორც ნორმალურ, ასევე ღვიძლის ნეოპლაზიურ უჯრედებად (Evarts et al., 1987).

ოვალური უჯრედები ითვლება ფაკულტატიური ღეროვანი უჯრედების შთამომავლებად (Desmet , 1963; Evarts et al., 1987; Fausto, 1990; Grisham, 1980; Marceau et al., 1989; Sell, 1990). “ფაკულტატიური ღეროვანი უჯრედების” ქვეშ იგულისხმება უჯრედების პოპულაცია, რომელიც ქსოვილის მოსვენებულ მდგომარეობაში ასრულებს ამ ქსოვილის დანიშნულებასთან ასოცირებულ სპეციფიურ ფუნქციას, მაგრამ იმავდროულად, აქვს სხვა ტიპის უჯრედებად ტრანსდიფერენციაციის უნარი და, შესაბამისად, აღადგენს ამ სხვა ტიპის უჯრედების პოპულაციას, თუკი მას თვითაღდგენის უნარი დაკარგული აქვს (Falkowski et al., 2003). ფაკულტატიური ღეროვანი უჯრედები კი, თავის მხრივ, ითვლება პლურიპოტენტურ უჯრედებად, რომლებიც გაყოფის შემდეგ წარმოქმნის ორ შვილეულ უჯრედს. ერთი შვილეული უჯრედი ფენოტიპურად რჩება ღეროვან უჯრედად, მეორე კი განსხვავებულ ფენოტიპს წარმოადგენს (Michalopoulos et al., 2007)..

მუდმივად განახლებად სისტემებში, როგორცაა კანი, ნაწლავის ეპითელიუმი და ჰემოპოეზური ძვლის ტვინი, პროგენიტორი ანუ ღეროვანი უჯრედები უწყვეტად იყოფა და წარმოქმნის ტრანზიტულ უჯრედებს, რომლებიც დიფერენციაციის საბოლოო ეტაპზე კარგავს პროლიფერაციული აქტივობის უნარს (Hall, 1992). ნორმულ მდგომარეობაში ღეროვანი უჯრედები ჩაანაცვლებს დაბერებულ უჯრედებს, ხოლო სხვადასხვა დაავადებების დროს აღადგენს დაზიანებულ ქსოვილს (Sell, 1990).

ღვიძლი ტრადიციულად განიხილება პირობითად განახლებად სისტემად. ნორმულ მდგომარეობაში უჯრედების გამრავლების უნარი დაბალია, დაზიანებაზე საპასუხოდ კი თითქმის სტაბილური ჰეპატოციტები იწყებენ სწრაფ გამრავლებას. მიხნეული იყო, რომ პირობითად განახლებადი სისტემები არ შეიცავენ ღეროვან უჯრედებს (Hall, 1992). თუმცა, დღეს ექსპერიმენტები ფართოდ ადასტურებს ღვიძლში ღეროვანი ან პროგენიტორი უჯრედების არსებობას. მაგალითად, უჯრედული კულტურების კვლევებით აღმოჩნდა, რომ ქიმიური ჰეპატოკანცეროგენების ან ქიმიური დაზიანების შემდგომ ღვიძლის რეგენერაციის დროს მცირე ზომის ეპითელური უჯრედების პერიპორტული პოპულაცია პროლიფერაციობს ჰეპატოციტებთან ალიანსში ან მათ გამრავლებამდე. სწორედ ამ უჯრედებს უწოდეს ოვალური უჯრედები მათი ფორმის გამო (Opie, 1944; Farber, 1956). დღეისათვის მიხნეულია, რომ ოვალური უჯრედები დაკავშირებულია ტერმინალურ ნაღვლის სადინარებთან, ე.წ. ჰერინგის არხებთან. ისინი წარმოადგენს არაპარენქიმული უჯრედების ჰეტეროგენულ პოპულაციას, რომელთა გარკვეული ნაწილი ავლენს როგორც უმწიფარი ჰეპატოციტების მარკერებს (როგორცაა ალფა-ფეტოპროტეინი), ასევე ნაღვლის სადინარის უჯრედების ფენოტიპს (Dabeva et al., 1993; Dabeva, Shafritz, 1993; Dunsford et al., 1989; Dunsford, Sell, 1989; Germain et al., 1985; Hixson, Allison, 1985).

ოვალური უჯრედების სულ მცირე ნაწილი მაინც პლურიპოტენტურია და გააჩნია ჰეპატოციტების, ქოლანგიოციტების, პანკრეასის და ნაწლავის ეპითელიუმის მიმართულებით დიფერენციაციის უნარი, ასევე, ჰეპატოციტულური ან ქოლანგიოციტულური კარცინომის წარმოქმნის უნარი (Desmet, 1963; Evarts et al., 1987; Germain et al., 1988; . Grisham, 1980; Lee et al., 1989; Sell, 1990; Tatematsu et al., 1985; Tsao et al., 1985).

ადრეულ ემბრიონულ პერიოდში ღვიძლი შედგება პროგენიტორი უჯრედებისგან (ჰეპატობლასტებისგან), რომლებიც წარმოქმნის მწიფე ჰეპატოციტებს და ნაღვლის სადინარის უჯრედებს. ვასკულური სივრცეების (მოზრდილის ღვიძლის პორტული ტრაქტების ექვივალენტი) ახლოს მდებარე ჰეპატობლასტები წარმოქმნიან პრიმიტიულ სადინროვან სტრუქტურებს, ე.წ. “სადინაროვან ფირფიტებს” (ductal plates). “სადინაროვანი ფირფიტები” ფენოტიპურად ოვალური უჯრედების ექვივალენტია და ავლენს ექსპრესიას როგორც ჰეპატოციტების (ალფა-ფეტოპროტეინი და ალბუმინი), ასევე ნაღვლის სადინარების უჯრედების მარკერების (ციტოკერატინი 7 და 19) მიმართ (Fausto et al., 1992; Shiokiri et al., 1991; Van Eyken et al., 1988; Desmet, 2011). სავარაუდოა, რომ პროგენიტორი უჯრედების მცირე რაოდენობა აგრძელებს არსებობას მოზრდილის ღვიძლშიც და ისინი, როგორც უკვე აღინიშნა, ლოკალიზებულია ნაღვლის გზების უწვრილეს ერთეულებში, პორტული ტრაქტისა და პარენქიმის მიჯნაზე.

კულტურებზე ჩატარებულმა კვლევებმა დაადასტურა, რომ ნორმალურ ჰეპატოციტებს არ გააჩნია კლონის წარმოქმნის უნარი და ღვიძლის ეპითელური უჯრედები, რომლებიც *in vitro* ავლენს ჰეპატოციტების მსგავს ფუნქციებს, სავარაუდოდ დეროვანი უჯრედებიდან უნდა იღებდეს სათავეს (Grisham, 1980; Tsao et al., 1984). მეტიც, Grisham -მა წარმოადგინა კონცეპცია, რომ ღვიძლის დეროვანი უჯრედები “ფაკულტატიური”: ისინი აქტიურდება და პროლიფერაციობს მხოლოდ მაშინ, როდესაც ჰეპატოციტების მძიმე და ხანგრძლივ დაზიანებას თან ერთვის მათი რეპლიკაციის ინჰიბირება. Wilson და Leduc-ის კვლევებიც ეთანხმება “ფაკულტატიური დეროვანი უჯრედების” თეორიას იმ გაგებით, რომ დეროვანი უჯრედები დაკავშირებულია ნაღვლის დუქტულებთან. Lemire –მ და თანაავტორებმა H-thymidine –ით მონიშვნით დუქტულური უჯრედების მეტაბოლიზმის შესწავლის შედეგად შეძლეს დაედგინათ ამ უჯრედების მსგავსება ოვალურ უჯრედებთან და მცირე ჰეპატოციტებთან. ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვისა და ნახშირის ტეტრაქლორიდით ზემოქმედების კომბინაცია ან ღვიძლის მძიმე დაზიანება ფურანით, ავლენს ქოლანგიოლების არსებობას, რომლებიც შეიცავს როგორც ნაღვლის სადინაროვან ეპითელურ უჯრედებს, ასევე დუქტულურ

ჰეპატოციტებს. ეს მოვლენა უზვენებს დუქტულური უჯრედებისგან ჰეპატოციტების წარმოქმნის შესაძლებლობას (Sirica, Williams, 1992).

ღვიძლის ტოქსიური დაზიანების შემდეგ დუქტულური უჯრედიდან ჰეპატოციტების წარმოქმნა დასტურდება არა მარტო ღვიძლში, არამედ პანკრეასშიც, რაც ამ ფენომენს უფრო უნივერსალურის სახეს აძლევს: 8-9 კვირის განმავლობაში ვირთაგვებს ამყოფებდნენ მეტალ-დეფიციტურ დიეტაზე, რაც იწვევდა ეგზოკრინული პანკრეასის მძიმე დაზიანებას. ცხოველების ნორმულ კვებაზე გადაყვანის შემდეგ ქსოვილში შემორჩენილი სადინაროვანი სტრუქტურები წარმოქმნიდა ფენოტიპურად და ბიოლოგიური თვისებებით ჰეპატოციტების, და არა პანკრეასის აცინური უჯრედების მსგავს უჯრედებს. აცინური სტრუქტურების შედარებით მსუბუქი დაზიანების დროს კი, ჰეპატოციტების წარმოქმნის ნაცვლად, აცინური სტრუქტურები იწყებდა რეგენერაციას და ორგანოს აღდგენას. ამრიგად, პანკრეასის და ღვიძლის სადინაროვანი სიტემები, რომელთაც გააჩნია საერთო ემბრიოგენური წარმომავლობა, ინარჩუნებს ჰეპატოციტების წარმოქმნის უნარს (Rao et al., 1988; Rao et al., 1989; Reddy et al., 1984; Reddy et al., 1991).

თიმიდინით მონიშნით ჩატარებულ ექსპერიმენტებში აუტორადიოგრაფიულ კვლევებზე დაყრდნობით, Zajicek–მ და თანაავტორებმა წამოაყენეს “გამდინარე ღვიძლის” (streaming liver) კონცეფცია (Zajicek et al., 1985). მათ ივარაუდეს, რომ ნორმულ მდგომარეობაშიც კი მუდმივად მიმდინარეობს ჰერინგის არხში ლოკალიზებული უმწიფარი ღეროვანი უჯრედების ნელი პროლიფერაცია და დიფერენციაცია ორი მწიფე ღეროვანი უჯრედის - ჰეპატოციტისა და ნაღვლის გუბის ეპითელური უჯრედის - მიმართულებით. პერიპორტული ჰეპატოციტები გადაადგილდება ცენტრალური ვენის მიმართულებით (აცინუსის პერიფერიისაკენ). მათ თან მისდევს ექსტრაცელულური მატრიქსი და არაპარენქიმული უჯრედები. პერივენურ მიდამოში ისინი განიცდიან აპოპტოზს. აქედან გამომდინარე, ღვიძლი შეიძლება განვიხილოთ მუდმივად ნელა განახლებად სისტემად, რომლის „ახალგაზრდული“ ნაწილი განლაგებულია პერიპორტულად, ხოლო „დაბერებული“ – ცენტრალური ვენების მიდამოში.

Sigal-ისა და თანაავტორების აზრით ღვიძლი “ღეროვანი უჯრედების და მათი შთამომავლების სისტემაა” სამი ნაწილით: 1) ღეროვანი უჯრედების ნაწილი, რომელშიც უჯრედები ატარებს ფეტალურ ფენოტიპს, უჯრედული

ციკლი ნელა მიმდინარეობს და დაზიანებას ნელა პასუხობს; 2) მეორე ნაწილი გაძლიერებული ფუნქციით (amplification compartment) რომლის უჯრედებიც ატარებს ინტერმედიულ ფენოტიპს და უფრო სწრაფად პასუხობენ დაზიანებას და 3) ტერმინალური დიფერენციაციის ნაწილი სწრაფად დიფერენცირებადი უჯრედებით, რომელთაც დაკარგული აქვთ გაყოფის უნარი. თითოეული ამ სამი ნაწილის უჯრედების ფენოტიპი უპირატესად განისაზღვრება მათი ასაკით. მიმდებარე მატრიქსის შემადგენლობა უნიფორმული არ არის, თუმცა უჯრედისა და მატრიქსის ურთიერთქმედებამ შესაძლოა დიფერენცირების გვიან ეტაპებზეც შეცვალოს ფენოტიპი (Sigal et al., 1992).

დეროვანი უჯრედების აქტივაციის ზუსტი მექანიზმები ჯერ კიდევ დგინდება. როგორც უკვე ავლინდნენ, ადამიანის ღვიძლში დეროვანი უჯრედების ლოკალიზაციად მიიჩნევა პერიპორტული რეგიონი. ადამიანის ნორმულ ემბრიონულ ღვიძლში პორტული ვენის განშტოებების და სადინარის ფირფიტის მიდამოში იმუნოჰისტოქიმიურად ვლინდება უჯრედული პოპულაციები, რომლებიც ფენოტიპურად იმეორებს როგორც ჰეპატოციტების, ასევე ნაღვლის სადინარის უჯრედების მახასიათებლებს. ადამიანის ფეტალურ და ნეონატალურ ღვიძლში სადინაროვანი ფირფიტები (ductal plates) და ინკორპორირებული ნაღვლის სადინარები ავლენს დადებით ექსპრესიას PTHrP –ის მიმართ. 4-5 წლის ასაკისთვის PTHrP ექსპრესია ქრება და მოზრდილის ღვიძლში ამ მარკერის ექსპრესია აღარ ვლინდება. რეაქციულ დუქტულებში PTHrP ხელახალი ექსპრესია ამყარებს ღვიძლის დეროვანი უჯრედების ნაღვლის დუქტულებში (ჰერინგის არხებში) (Roskams et al., 1993) არსებობის კონცეპციას: ღვიძლის სხვადასხვა სახის დაზიანების დროს bcl-2 პროტო-ონკოგენის პროტეინის გამოვლენა ხდება ადამიანის ნორმულ და პროლიფერირებად ნაღვლის დუქტულებში და მცირე ზომის სადინარებში (Charlotte et al., 1994).

ღვიძლის ქრონიკული ქოლესტაზური დაავადების დროს დუქტულური რეაქციის ულტრასტრუქტურული შესწავლით აღმოჩენილი იქნა ახალი ტიპის მცირე ზომის ეპითელური უჯრედი, (დეროვანი უჯრედი), რომელიც დიფერენცირდება პარენქიმულ ან ნაღვლის სადინაროვან უჯრედად (De Vos, Desmet, 1992).

ნადვლის სადინარების უწვრილეს განშტოებებში დეროვანი უჯრედების არსებობის მრავალმა ექსპერიმენტულმა დადასტურებამ ახალი შუქი მოჰფინა დუქტულური რეაქციის ფენომენს. ღვიძლში სხვადასხვა სახის უჯრედები, მათ შორის პოლიპოტენტური დეროვანი უჯრედები, დიფერენციაციის დროს ავლენს მნიშვნელოვან პლასტიკურობას. ჰეპატოციტები ავლენს ნადვლის სადინარის ეპითელურ უჯრედებად “ტრანსდიფერენციაციის” უნარს და პირიქით, ზოგიერთი ტიპის ნადვლის ეპითელური უჯრედი ავლენს უნარს შეიცვალოს დიფერენციაციის მიმართულება და წარმოქმნას ჰეპატოციტი.

ღლეისათვის ფენოტიპური დიფერენციაციის “გადართვის” მექანიზმები ჯერ კიდევ კვლევასა და დაზუსტებას მოითხოვს. ასევე დასაზუსტებელია დეროვანი უჯრედების ჰეპატოციტებად, ნადვლის გზების ეპითელიოციტებად დიფერენციაციის მარეგულირებელი ფაქტორები და მათით აღძრული მექანიზმების „ჩართვის“ ვადები და პირობები. სრულყოფილად არის გამოსაკვლევი ღვიძლის დაზიანების შემდგომ დეროვანი უჯრედების პროლიფერაციის გამწვები მექანიზმი. მართალია, ამ პროცესში განსაზღვრული როლი აკისრიათ ჰორმონებს და პლაზმურ ზრდის ფაქტორებს, მაგრამ აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ღვიძლის წილაკებში დუქტულური რეაქცია ვლინდება არა გენერალიზებულად, არამედ სხვადასხვა მოცულობით, რაც გამორიცხავს მოცირკულაციე პლაზმური ფაქტორების გადამწყვეტ მნიშვნელობას (Desmet, 2011).

ახლა განვიხილოთ ჰეპატოციტების დუქტულური პროლიფერაციის საკითხისადმი მიძღვნილი კვლევების ზოგიერთი შედეგი, რაც გასათვალისწინებელია ჩვენი კვლევების შედეგების ინტერპრეტაციისათვის.

ჰეპატოციტები და ბილიური ეპითელიუმის უჯრედები მოზრდილის ღვიძლში წარმოადგენს მწიფე უჯრედების ორ ტიპს. ისინი ემბრიოგენეზის პერიოდში წარმოიქმნება ჰეპატობლასტებიდან. პოსტნატალურ პერიოდში ღვიძლის დაზიანება, რომელიც შეუძლებელია ჰეპატოციტების პროლიფერაციის დაბლოკვასთან, იწვევს “ოვალური უჯრედების” პროლიფერაციას (მღრღნელებზე მოდელირებულ პათოლოგიებში); ეს უკანასკნელი გარდაიქმნება ჰეპატოციტებად და აღადგენს ღვიძლის პარენქიმის დაკარგულ ნაწილს (Alison et al., 1997; Evarts et al., 1987, 1989, 1996; Golding et al., 1995; Lazaro et al., 1998). აღამიანის დაავადებათა

ჰისტოპათოლოგიაში ამ უჯრედებს ეწოდება “დუქტულური ჰეპატოციტები” (Fiel et al., 1997; Haque et al., 1996; Haruna et al., 1996). აღნიშნული უჯრედები ავლენს როგორც ჰეპატოციტებთან, ასევე ბილიურ უჯრედებთან ასოცირებული გენების ექსპრესიას და გამოვლინდება მრავალი დაავადების დროს - მწვავე ჰეპატიტიდან პირველადი ბილიარული ციროზის ჩათვლით (Vandersteehoven et al., 1990; Crosby et al., 1998; Crosby, Hubscher, 1998).

მღრღნელებზე ჩატარებული მრავალი ექსპერიმენტით დადასტურებულია, რომ ოვალური უჯრედები წარმოიქმნება ბილიური ეპითელიუმის თვისებების მქონე ღეროვანი უჯრედებიდან (Paku et al., 2001; Paku et al., 2004). ოვალური უჯრედების წინამორბედების განთავსების ადგილად მიჩნეულია ჰერინგის არხები. ეს არხები წარმოადგენს ჰეპატოციტებში ახლადწარმოქმნილი ნაღვლის გამტარი დუქტულური სისტემის პირველ სტრუქტურულ ერთეულს, ბილიური ეპითელიუმით გამოფენილ მცირე დუქტულებს, რომლებიც აკავშირებს ნაღვლის კაპილარებს პორტული ტრაქტის ბილიურ დუქტულებთან. ამდენად, ჰერინგის არხები მჭიდრო კავშირშია ჰეპატოციტებთან. მოხერხდა ჰერინგის არხების სიგრძის და პარამეტრების განსაზღვრა და დადგინდა, რომ ეს არხები იჭრებიან წილაკის სიდრემში (Crawford, 2002; Falkowski et al., 2003; Saxena et al., 2004; Hytiroglou et al., 2004).

ოვალური უჯრედების პროლიფერაციის გამოწვევის აღიარებული მოდელი გულისხმობს პარციულ ჰეპატექტომიას N-2-აცეტილ-ამინოფლურენით (AAF - N-2-acetyl-aminofluorene) გამოწვეულ ინტოქსიკაციასთან ერთად (Evarts et al., 1987). პარციული ჰეპატექტომია (PH(x)) ასტიმულირებს ჰეპატოციტების პროლიფერაციას, რაც წარმოადგენს ღვიძლის რეგენერაციის ნორმალური პროცესის ერთ-ერთ შემადგენელ ნაწილს. AAF იწვევს ჰეპატოციტების პროლიფერაციის ინჰიბიციას. PH(x) -ის შემდგომ 3-5 დღის განმავლობაში ღვიძლის წილაკის პერიპორტულ მიდამოში ვლინდება ოვალური უჯრედები. კვლევებმა, რომლებიც ეყრდნობოდა ამ ტიპის ექსპერიმენტულ მოდელს, გამოავლინა, რომ ჰერინგის არხების გამომფენი უჯრედების გარდა პორტული ნაღვლის დუქტულების ეპითელიური უჯრედებიც შესაძლოა ასევე წარმოადგენდეს ოვალური უჯრედების წყაროს. AAF + PH(x) -ის შემდგომ, 1-2 დღის განმავლობაში პორტული დუქტულების ბილიარული ეპითელიუმის ბირთვებში ხდება ჰეპატოციტებთან ასოცირებული

ტრანსკრიპციული ფაქტორების გამოვლენა, რაც სავარაუდოდ ოვალური უჯრედების წინამორბედ უჯრედებად აქტიური ტრანსდიფერენციაციით აიხსნება (Nagy et al., 1994).

დადასტურებულია, რომ მეთილენ დიანილინით (DAMP) ბილიური ეპითელიუმის წინასწარი დაზიანება, აინჰიბირებს ოვალური უჯრედების წარმოქმნას AAF + PH(x) შემდგომ (Petersen et al., 1997). ამ დაკვირვებამ დაადასტურა, რომ ოვალური უჯრედები წარმოიქმნება ბილიური წინამორბედებისგან. ოვალურ უჯრედებსა და ბილიურ ეპითელიუმს შორის მჭიდრო კავშირი დასტურდება სხვა მრავალი გამოკვლეებითაც. ასე, მაგალითად, Strain –ის და თანაავტორების კვლევებით ნაჩვენებია, რომ ოვალური უჯრედები ადამიანის ღვიძლის ბიოპტატებში ბილიარული მარკერების, Bcl-2 -ისა და ნეირონული ადჰეზიური მოლეკულის მიმართ (neural adhesion molecules) ავლენს კომპლექსურ ექსპრესიას (Strain et al., 2003).

PH(x) –ის შემდგომ 6-8 დღის განმავლობაში ოვალური უჯრედები გამოიმუშავენ α -ფეტოპროტეინს და გარდაიქმნება ალბუმინის და ჰეპატოციტებთან ასოცირებული სხვა მარკერების მოპროდუქციე მცირე ჰეპატოციტებად. მცირე ჰეპატოციტები ერთვება წილაკის ჰისტოლოგიურ არქიტექტონიკაში და ხელს უწყობს ღვიძლის დაკარგული მასის აღდგენას. ქიმიური დაზიანება, PH(x)-ისაგან განსხვავებით, მოგვიანებით ფაზაში იწვევს ოვალური უჯრედების ტრანსფორმაციას ჰეპატოციტებად (Petersen et al., 1998).

სხვადასხვა უჯრედული მექანიზმების ჩართვის ზუსტი სქემა და ალგორითმი ჯერჯერობით არ არის დადგენილი, თუმცა დადასტურებულია, რომ ისეთ ვითარებაში, როდესაც ღვიძლის მასის დაკარგვის შემდეგ ჰეპატოციტებს დაკარგული აქვს გამრავლების უნარი, ბილიური უჯრედები ფუნქციონირებს როგორც ფაკულტატიური დეროვანი უჯრედები და აღადგენს ღვიძლის მასას.

ამასთანავე, უნდა აღინიშნოს, რომ ზოგიერთ კვლევებში ნაჩვენებია იქნა ამის საწინააღმდეგო მექანიზმი - ჰეპატოციტების ტრანსდიფერენციაცია ბილიურ უჯრედებად. ბავშვის და მოზრდილი ადამიანის ღვიძლში მიმდინარე ნაღვლის გზების პათოლოგიური ცვლილებების (პირველადი ბილიური ციროზი ან პირველადი სკლეროზული ქოლანგიტი) დროს დამტკიცდა ოვალური უჯრედების მარკერის - OV-6 -ის არსებობა ჰეპატოციტებში.

ექსპერიმენტულ მოდელებში განხორციელებულმა კვლევებმა, ქოლინ-დეფიციტური დიეტისა და/ან ბილიარული ტოქსინის – ANIT -ის გამოყენების ფონზე, გამოავლინა ჰეპატოციტები, რომლებიც ახდენს ბილიარულ მარკერებზე ექსპრესიას. ტრანსგენურ თაგვებზე განხორციელებულ ღვიძლის დაზიანების მოდელებში ასევე გამოვლინდა, რომ ჰეპატოციტებმა შესაძლოა წარმოქმნას ოვალური უჯრედების თვისებების მქონე უჯრედები. ამ კვლევებში ნაჩვენებია, რომ ჰეპატოციტები ავლენს ექსპრესიას ქოლანგიოციტებთან ასოცირებულ მარკერებზე, რაც საფუძველს გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ მდრღნელებისა და ადამიანის ღვიძლში ჰეპატოციტებს აქვს ნაღვლის გზების ეპითელიურ უჯრედებად ტრანსდიფერენციაციის უნარი.

Strain –მა და თანაავტორებმა დაადასტურეს, რომ OV-6 მარკერი, რომელიც ნორმულად ექსპრესირებს მდრღნელების ოვალურ უჯრედებში, დუქტურ ფირფიტის უჯრედებსა და ადამიანის ჰეპატობლასტებში, ასევე ექსპრესირებს ადამიანის ჰეპატოციტების გროვებში ღვიძლის მრავალი დაავადების დროს, მათ შორის ისეთების, როგორცაა ბილიური ატრეზია, α -1 ანტიტრიპსინ დეფიციტი, პირველადი ბილიური ციროზი და პირველადი სკლეროზული ქოლანგიტი (Crosby et al., 1998; Crosby et al., 1998 Strain et al., 2003).

ასევე ნაჩვენებია, რომ ორგანულ კულტურებში შესაძლებელია ჰეპატოციტების გარდაქმნა ბილიურ უჯრედებად (Michalopoulos et al., 2007). ამ კვლევებში გამოყენებულ იქნა Fisher-ის ვირთაგვები ქიმერული ღვიძლით. ამგვარ ღვიძლში ჰეპატოციტების ნაწილი წარმოქმნილია დონორი დიპეპტიდილ პეპტიდაზა IV პოზიტიური (DPPIV) Fisher-ის ვირთაგვებისგან. ეს ჰეპატოციტები ავლენს ექსპრესიას ენზიმატურ მარკერ DPPIV -ზე. ეს მარკერი არ ექსპრესირდება (DPPIV)-ნეგატიურ Fisher-ის ვირთაგვების ჰეპატოციტებსა და ბილიური ეპითელიუმის უჯრედებში. ქიმერული ღვიძლის პისტოლოგია დაწვრილებით იქნა აღწერილი Laconi –ისა და თანაავტორების (Laconi et al., 1998) და Shafritz –ის და თანაავტორების (Dabeva et al., 1998; Oren et al., 1999) მიერ. ბილიური ეპითელიუმის უჯრედები, რომლებიც ავლენდა პოზიტიურ ექსპრესიას ჰეპატოციტების DPPIV მარკერზე, აღმოჩენილ იქნა ქიმერული ღვიძლის ორგანულ კულტურებში. ეს ფაქტი ადასტურებს ჰეპატოციტებიდან ბილიარული უჯრედების წარმოქმნის შესაძლებლობას.

მოგვიანებით, ასეთივე შესაძლებლობა დადასტურდა ცხოველებზე (in vivo) ექსპერიმენტებშიც: DPPIV-პოზიტიური Fisher-ის ვირთაგვებში ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვას მოსდევს ბილიური ეპითელიუმის უჯრედების გაძლიერებული პროლიფერაცია და პორტულ ტრაქტებში მრავლობითი დუქტულების წარმოქმნა (Sirica et al., 1992; Polimeno et al., 1995). მაგრამ, როდესაც ბილიური ეპითელიუმის უჯრედების პროლიფერაცია დათრგუნულია DAMP-ით ზემოქმედებით ვლინდება დიდი რაოდენობით ჰეპატოციტების გარდაქმნა ბილიურ უჯრედებად (Michalopoulos et al., 2007). ტრანზიტორული ცვლილებები აღინიშნებოდა პერიპორტული მიდამოს ჰეპატოციტებში, განსაკუთრებით კი პორტული ტრაქტების მომიჯნავე ჰეპატოციტებში. ეს უჯრედები ექსპერიმენტის ძალიან ადრეულ ფაზაშივე ავლენდნენ ექსპრესიას OV-6 მიმართ – DAMP-ის გამოყენებიდან 24 საათში. ბილიარული მარკერის - CK 7-ის ექსპრესია კი აღინიშნებოდა გვიან, ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვიდან მე-7 დღეს. ეს ცვლილებებიც შემოიფარგლებოდა პერიპორტული მიდამოთი. სავარაუდოა, რომ პერიპორტული მიდამოს ჰეპატოციტების ნაწილი განიცდის თანდათანობით, ნაწილი კი სწრაფ გარდაქმნას. პორტული ტრიადების ირგვლივ უჯრედების რკალის (ring) წარმოქმნა, რომელიც ფენოტიპურად ხასიათდება როგორც ჰეპატოციტების, ასევე ქოლანგიოციტების თვისებებით, გვაგონებს ემბრიოგენეზის პერიოდში გამოვლენილ სადინაროვან ფირფიტას (Haruna et al., 1996; Michalopoulos et al., 2007).

ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვიდან 30-ე დღეს, ჰემატოქსილინ-ეოზინით შეღებილ ჰისტოლოგიურ ანათლებზე აღინიშნებოდა მრავლობითი ნაღვლის დუქტულების შემცველი გაფართოებული პორტული ტრაქტები. მრავალი დუქტულა ავლენდა პოზიტიურობას DPPIV მიმართ.

ოვალური უჯრედები თავიანთი შესაძლებლობებით ყველაზე ახლოსაა ღვიძლის ღეროვან უჯრედებთან. DAMP ზემოქმედება თრგუნავს ოვალურ უჯრედებს (Petersenet al., 1997). ვინაიდან ოვალური უჯრედები და ქოლანგიოციტები ფენოტიპურად ჰგავს ერთმანეთს, დიდი ალბათობით DAMP მათზეც იგივე ზემოქმედებას ახდენს. DAMP ზემოქმედების შემდეგ DPPIV-პოზიტიური დუქტულების რიცხვის მკვეთრი ზრდა მკაფიოდ მიუთითებს, რომ

ისინი წარმოიქმნებიან ჰეპატოციტებისგან (ცნობილია, რომ ჰეპატოციტები რეზისტენტულია DAMP მიმართ) (Michalopoulos et al., 2007).

აქედან გამომდინარე გაკეთდა დასკვნა, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვის შემდგომ პროლიფერირებული დუქტულების ნაწილი ჰეპატოციტებიდან აღმოცენდება.

ამასთანავე, არაა ნაჩვენები, რომ მხოლოდ ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიის დროს (DAMP-ით ზემოქმედების გარეშე) ხდებოდეს ჰეპატოციტების ტრანსდიფერენციაცია ბილიურ ეპითელიოციტებად.

ამ ტიპის კვლევის შედეგები მნიშვნელოვანია ღვიძლის რეგენერაციული ბიოლოგიისათვის.

მიჩნეულია, რომ პროტოკოლი - *ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვა + DAMP*, რამდენადმე ჰგავს *PH(x)+AAF* პროტოკოლს, რომელიც გამოიყენება საწინააღმდეგო მიმართულებით განხორციელებული ცვლილებების ინდუქციისათვის, ანუ ქოლანგიოციტების ჰეპატოციტებად გარდაქმნისათვის (ოვალური უჯრედების “სტადიის” გავლით) (Michalopoulos et al., 2007).

თეორემა, რომ ღეროვანი უჯრედები საჭიროების შემთხვევაში აღადგენდნენ ჰეპატოციტებს ან ქოლანგიოციტებს, ჯერ კიდევ არ არის ქცეული აქსიომად. ამასთანავე, დადასტურებულია, რომ არასტანდარტული რეგენერაციის პირობებში ჰეპატოციტები და ქოლანგიოციტები წარმოადგენს ფაკულტატურ ღეროვან უჯრედებს ერთმანეთისათვის. ჰერინგის არხი წარმოადგენს ჰეპატოციტებისათვის ფაკულტატური ღეროვანი უჯრედების წყაროს. ჰერინგის არხი ასევე წარმოადგენს ქოლანგიოციტების ავანგარდს, რომლებიც მჭიდრო კავშირში იმყოფება ჰეპატოციტებთან და იჭრება წილაკის სიღრმეში (Crawford, 2002; Theise et al., 1999). ჰეპატოციტებსაც აქვს უნარი გამოავლინოს ფაკულტატური ღეროვანი უჯრედების თვისებები ქოლანგიოციტებისათვის. ასეთი ჰეპატოციტები ლოკალიზებული არიან პერიპორტულ მიდამოში, თუმცა არ არის გამორიცხული, რომ ამავე თვისებებს ავლენდეს სხვა, წილაკში უფრო ღრმად ლოკალიზებული ჰეპატოციტებიც (Michalopoulos et al., 2007).

ღვიძლის პარენქიმის დიდი მასის “დაკარგვისას” რაც შეიძლება გამოწვეული იყოს PH(x)-ით ან CCL4-ით გამოწვეული დაზიანებით, ღვიძლის რეგენერაცია მიმდინარეობს შედარებით დეტერმინირებულ უჯრედთა პროლიფერაციით: ჰეპატოციტები წარმოქმნის ჰეპატოციტებს და

ქოლანგიოციტები – ქოლანგიოციტებს და ა.შ. (Michalopoulos et al., 1997). რეგენერაციის პროცესის დასასრულს ხდება ღვიძლის მასის აღდგენა. მაგრამ, იმ შემთხვევებში, როდესაც ჰეპატოციტების პროლიფერაციული აქტივობა დათრგუნულია (მაგ., AAF, რეტრორზინის და ა. შ. გამოყენებისას), პერიპორტულ მიდამოში ჩნდება ოვალური უჯრედები, რომლებიც თანდათან დიფერენცირდება ჰეპატოციტებად. ყველა ეს ფაქტი მიუთითებს, რომ ოვალური უჯრედები წარმოიქმნება ნაღვლის გზებიდან. კერძოდ:

1. მცირე ჰეპატოციტებად გარდაქმნამდე ოვალური უჯრედები ავლენს ექსპრესიას ბილიურ მარკერებზე (Yin et al., 2002).

2. PH(x) + AAF ექსპერიმენტულ მოდელში ნაღვლის დუქტულებში სწრაფად ხდება ჰეპატოციტებთან ასოცირებული ტრანსკრიპციული ფაქტორების დონის მატება (Nagy et al., 1994).

3. PH(x) + AAF შემდგომ მყისვე ბილიური ტოქსინის DAMP -ის გამოყენება, გამოიწვევს ოვალური უჯრედების არსებობას (Petersen et al., 1997).

საკამათოდ რჩება ოვალური უჯრედების წინამორბედი უჯრედების ზუსტი ლოკალიზაციის საკითხი ნაღვლის გამომტან სტრუქტურებში (ჰერინგის არხი და/ან პორტული დუქტულები). პრობლემას ქმნის ისიც, რომ ჰერინგის არხი და ინტრაპორტული ნაღვლის დუქტულა განიხილება როგორც ერთმანეთისგან განსხვავებული, ექსკლუზიური ალტერნატივები (Nagy et al., 1994; Hixson et al., 1997; Yang et al., 1993; Faktor, Radaeva, 1992; Theise, Saxena, 1999).

აღნიშნული პრობლემის გამო, განსაკუთრებით კი დუქტულურ რეაქციასთან მიმართებით, მნიშვნელოვანია წვრილი კალიბრის ნაღვლის გზების – არხებისა და დუქტულების – კლასიფიკაციისა და ტერმინოლოგიის საკითხის განხილვა არსებული საერთაშორისო კონსენსუსის გათვალისწინებით.

საქმე იმაშია, რომ ნაღვლის გზების დისტალური განტოტებები კარგადაა განსაზღვრული: ნაღვლის საერთო სადინარი წარმოიქმნება ღვიძლის მარჯვენა და მარცხენა სადინარების შეერთებით. ისინი, თავის მხრივ, წარმოიქმნება სეგმენტური სადინარებისგან, ეს უკანასკნელნი კი დასაბამს იღებს რამოდენიმე სეპტური სადინარების შერწყმით. სეპტური სადინარები კი მიიღება მრავალი ინტერლობულური სადინარების შეერთებით (Ludwig et

al.,1998). ცნობილია, რომ ეს ინტერლობულური სადინარები წარმოიშვება ქოლანგიოციტებით გამოფენილი უფრო მცირე ზომის მილოვანი სტრუქტურებისგან, რომელთა სანათურიც, თავის მხრივ, გადადის ჰეპატოციტებით მოსაზღვრულ ნაღვლის კაპილარების სანათურში. ამასთანავე, ტერმინები, რომლებიც გამოიყენება ამ უმცირესი, ყველაზე პროქსიმალური ნაღვლის დუქტულების აღსანიშნავად, თხოულობს დაზუსტებასა და უნიფიცირებას.

სტრუქტურა, რომელიც ცნობილია ჰერინგის არხის სახელით, პირველად, თუმცა არასრულფასოვნად, აღწერეს იმ მკვლევარებმა, რომლებიც იყენებდნენ სხვადასხვა ძუძუმწოვრების მილოვან სისტემებში სადებავის ინიექციის მეთოდს. ევარდ ჰერინგმა 1867 წელს ბერლინის ლურჯის ექსკრეციის შემსწავლელი ექსპერიმენტის შედეგებში აღწერა კავშირი ჰეპატოციტების კანალიკულურ სისტემასა (შემდგომში მას ეწოდა “ღვიძლის კაპილარები”) და ნაღვლის სადინარს შორის (Hering, 1867). ამ პუბლიკაციაში მან ჩართო ნაღვლის არხების სტრუქტურის ილუსტრაცია, რომელიც გამოფენილი იყო ნაწილობრივ ჰეპატოციტებით და ნაწილობრივ ქოლანგიოციტებით. ეს სტრუქტურა გრძელდებოდა არხში, რომელიც მთლიანად ქოლანგიოციტებით იყო ამოფენილი. შემდგომში, თითქმის საუკუნენახევრის განმავლობაში, შედეგების სხვადასხვა მეთოდებით დამუშავებული და სინათლის მიკროსკოპით აღწერილი ამ სტრუქტურების სახელწოდებები ხშირად იცვლებოდა (Letulle, 1915; McIndoe, 1928; Clara, 1930; Elias, 1949). მათი აღმოჩენიდან დაახლოებით ასი წლის შემდეგ კი, წვრილი კალიბრის ნაღვლის სადინარებისა და ჰეპატოციტების კაპილარული სისტემის შეხების მიდამოს ელექტრონული მიკროსკოპით აღწერის (Daems, 1961; Jezequel, 1962; Albot, Jezequel, 1962; Steiner et al., 1965) შედეგად მოხდა შემდეგი დებულების ფორმულირება: „ნაღვლის კაპილარის გადასვლა ნაღვლის სადინარში ხდება პორტული ტრაქტის მიჯნაზე. ეს ორი სტრუქტურა ერთმანეთს უკავშირდება ჰერინგის არხით, რომლის სინონიმებია ქოლანგიოლა, კაპილარულ-დუქტულური კავშირი, შემაერთებული სადინარი, შუალედური სეგმენტი.

ჰერინგის არხი შედგება მოსაზღვრე ფირფიტის (limiting plate) ჰეპატოციტებისა და ბილიური უჯრედებისგან. ჰერინგის არხის სანათური ოდნავ ფართეა ვიდრე ნაღვლის კაპილარი. ზოგჯერ, შეიძლება ერთ

ჰერინგის მილაკში რამოდენიმე ნაღვლის კაპილარი ჩაერთოს (Kordzaia, 1990; Murakami et al.; Motta et al.). ჰეპატოციტებისა და ქოლანგიოციტების მიკროხაოები იჭრება მის სანათურში. ჰეპატოციტები და ნაღვლის დუქტულების უჯრედები ერთმანეთს უკავშირდებიან შემაერთებელი (junctional) კომპლექსებით. ბილიური უჯრედები მოსაზღვრულია ბაზალური მემბრანით (ბაზალური ფირფიტა) (Phillips et al., 1987). ეს აღწერილობა არასრულია. ავტორთა ნაწილი ვარაუდობს, რომ არხები, რომლებიც აკავშირებს ინტერლობულურ ნაღვლის დუქტულას და კაპილარებს, ეხება ღვიძლის პარენქიმას - მოსაზღვრე ფირფიტას (Elias, 1949; Daems, 1961; Takahashi-Iwanaga, Fujita, 1991), ან ჰეპატოციტებს წილაკის სიდრემში (McIndoe, 1928; Clara, 1930; Takahashi-Iwanaga, Fujita, 1991; Ekataksin, Wake, 1997; Elias, 1949; Buysens, 1962).

ამგვარად, შეიძლება განასხვაონ დუქტულები, რომლებიც განთავსებულია მხოლოდ პორტულ ველში და დუქტულები, რომლებიც მოიცავს პორტულ და ინტრალობულურ სეგმენტებს. ინტრალობულური დუქტულები შემოფარგლულია მეზენქიმური კომპონენტის თხელი შრით, ჩვეულებრივ, ბაზალური მემბრანით და მიკროსისხლძარღვებით, თუმცა ხანდახან გვხვდება მცირე რაოდენობით კოლაგენის ბოჭკოებიც (McIndoe, 1928; Ekataksin, Wake, 1997; Gouw et al., 2001).

ჰერინგის არხი, რომლის კედლებიც შექმნილია ნაწილობრივ ჰეპატოციტებით, ნაწილობრივ კი ქოლანგიოციტებით, იცვლება (ვარირებს) სიგრძეში. უკანასკნელი კვლევის შედეგები, რომელიც ეყრდნობა ნაღვლის გზების იმუნოჰისტოქიმიურ შედეგებს და ნორმული ღვიძლის სერიული ანათლების სამგანზომილებიან რეკონსტრუქციას, მკაფიოდ ცხადყოფს, რომ ჰერინგის არხი ხშირად არ წყდება პორტული ტრაქტის ჰეპატოციტებით შემოსაზღვრულ მოსაზღვრე ფირფიტასთან, არამედ იგი ვრცელდება წილაკის შიგნით და აკავშირებს წილაკშიდა ნაღვლის კაპილარულ სისტემას, პორტულ ტრაქტში განთავსებულ დუქტულებთან (Saxena et al., 1999; Theise et al., 1999). ნაღვლის გზების უნატიფესი სტრუქტურების ტერმინოლოგია მეტად ცვალებადობს და ხშირად კამათის მიზეზი ხდება.

ამასთანავე, ორგანზომილებიან ანათალში იმუნოჰისტოქიმიური შედეგებით ბილიური მარკერების ექსპრესიას ავლენს ცალკეული ან მცირე გროვების სახით წარმოდგენილი ქოლანგიოციტები, რომლებიც

განთავსებულია პორტული ტრაქტიდან სხვადასხვა დისტანციაზე. მაგრამ ეს უჯრედები ხშირად ქმნის სანათურებს, რომლებიც წარმოადგენს ბილიური ხის ყველაზე წვრილი განშტოების განივ ჭრილებს. იმუნოფენოტიპირების მეთოდმა კიდევ უფრო განამტკიცა ეს მოსაზრება (Van Den Heuvel et al., 2001; Roskams et al., 2003). ამავდროულად, სულ უფრო ღრმავდება ინტერესი ამ ერთი შესხედვით იზოლირებული უჯრედების მიმართ, რომლებიც უმცირესი ბილიარული განტოტებების შემადგენელს წარმოადგენს, და რომლებიც, სხვადასხვა ავტორის აზრით გაიგივებულია ღვიძლის ღეროვან უჯრედებთან (Theise et al., 1999; Roskams et al., 2003; Sell, 1998; Baumann et al., 1999).

ყოველივე ზემოთქმული ადასტურებს ისეთი ტერმინოლოგიური სიტემის შემუშავების აუცილებლობას, რომელიც ერთი მხრივ, ადეკვატურად, ხოლო მეორე მხრივ, ყველასათვის გასაგებად ასახავს სამეცნიერო კვლევების შედეგებს.

ავტორთა დიდმა ჯგუფმა, რომელიც სპეციალურად შეიქმნა საერთაშორისო კონსენსუსის მისაღწევად, გაითვალისწინა რა ნაღვლის სადინარების უწვრილესი სტრუქტურების თაობაზე ყველა თანამედროვე შესხედულება და მათი შემადგენელი ნაწილების აღსანიშნავად გამოყენებულ ყველა ტერმინი, მოაწოდა შეთანხმებული, ე.წ. კონსენსუს კლასიფიკაცია (Roskams, et al., 2004):

- ჰერინგის არხი არის არხი, რომელც გამოფენილია ნაწილობრივ ჰეპატოციტებით და ნაწილობრივ ქოლანგიოციტებით. ის წარმოადგენს ანატომიურ და ფიზიოლოგიურ კავშირს ინტრალობულურ ნაღვლის კაპილარულ სისტემასა და ნაღვლის სადინარებს შორის. უჯრედები, რომლებიც მორფოლოგიური და იმუნოფენოტიპური მახასიათებლების მიხედვით იკავებს შუალედურ ადგილს ჰეპატოციტებსა და ქოლანგიოციტებს შორის (“ინტერმედიული” (შუალედური) უჯრედები), ნორმულ ქსოვილში არ ვლინდება. ამასთანავე, ჰეპატოციტების ბილიურ ეპითელიოციტებში გადასვლის (ჰეპატოციტულურ-ბილიური კავშირები) ადგილი შეიძლება მდებარეობდეს არა “მოსაზღვრე ფირფიტაზე”, როგორც ადრე იყო მიხნეული, არამედ პორტული ტრაქტიდან მოშორებით, ჰერინგის არხის რადიალურად გაგრძელების არეში; ამ არეების პროექციები ვარსკვლავისებური ფორმის სტრუქტურას ქმნის პორტული ტრაქტების ირგვლივ.

- ჰერინგის არხს აგრძელებს დუქტულად წოდებული არხი, რომელიც მხოლოდ ქოლანგიოციტებითაა გამოფენილი. დუქტულებმა შეიძლება გადაკვეთოს მოსაზღვრე ფირფიტა და ამგვარად დაიყოს ორ პირობით სეგმენტად: ინტრალობულურ და ინტრაპორტულ სეგმენტებად.
- დუქტულები თავის მხრივ უკავშირდება უმცირეს ინტერლობულურ ნაღვლის სადინარებს.
- დუქტულამაც და ინტერლობულურმა ნაღვლის სადინარმაც შეიძლება განიცადოს განტოტვა თავიანთი კონტინიუმის ნებისმიერ ნაწილში.

გასათვალისწინებელია, რომ ქოლანგიოციტები უჯრედთა ჰეტეროგენული ჯგუფია (Alpini et al., 2002), რომელიც ასრულებს სხვადასხვა სტრუქტურულ და ფიზიოლოგიურ ფუნქციას: გამოფენს ნაღვლის გამომტან სისტემას (Saxena et al., 1999; Ros et al., 2003), ასინთეზებს და/ან გამოყოფს ნაღვლის კომპონენტებს და ცვლის ნაღვლის კონსისტენციასა და დინებას (Ros et al., 2003), წარმოადგენს ინტრაორგანული ფაკულტატური დეროვანი უჯრედების დეპოს (Theise et al., 1999; Roskams et al., 2003; Sell, 1998; Baumann et al., 1999), მონაწილეობს მატრიქსის სტაბილური კონსტრუქციის შენარჩუნებაში, ასევე ფიბროგენეზში (Roskams et al., 1996; Kiss et al., 2001; Hytiroglou et al., 1998).

შესაძლოა ქოლანგიოციტებს გააჩნდეს სხვა ფუნქციებიც, რომლებიც ჯერ ან სრულად ცნობილი არ არის. ამასთანავე, გაურკვეველია, რამდენი ფუნქციის შესრულება შეუძლია ქოლანგიოციტებს ერთდროულად. სპეციალიზირებული კვლევებით (იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვა ან ელექტრონული მიკროსკოპია) ტიპური სისქის (6 მიკრონზე ნაკლები) ანათლებში აღმოჩენილ ეპითელიოციტთა უმეტესობა წარმოადგენს დუქტულების განიკვეთის შემადგენელს, თუმცა, იშვიათად ისინი ვლინდება ცალკეული, “ინდივიდური” უჯრედების, მათი მცირე გროვების ან „კუბოიდური ჭიმების” სახით. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ზოგი ამ უჯრედთაგანი ღვიძლში ხვდება სისხლის ნაკადთან ერთად (ხშირად ეს უნდა ხდებოდეს ლიგანდ-რეცეპტორის სპეციფიური ურთიერთქმედების მექანიზმით). მაგრამ, მაშინაც კი, როცა ისინი ღვიძლში შემოდის გარედან, მაინც მჭიდრო კავშირშია ღვიძლის წილაკის არსებულ სტრუქტურებთან. ამასთანავე, ამ ჰიპოთეტური სტრუქტურის ერთიანი, სამგანზომილებიანი კონსტრუქციის დეტალური შესწავლის შედეგები ჯერ ცნობილი არ არის.

ფართოდ გაგრცელებული ტერმინოლოგიით “დუქტულური პროლიფერაცია” ეწოდება პათოლოგიურ მდგომარეობების დროს გამრავლებადი ეპითელური უჯრედების პოპულაციას, რომელიც აღინიშნება ჰეპატოციტებისა და პორტული ველების მიჯნაზე. ამასთანავე სიტყვათა ეს შეწყვილება ყოველთვის ადეკვატურად ვერ ასახავს ვითარებას, რადგანაც პროლიფერაციული რეაქცია შეიძლება აღმოცენდეს არა მხოლოდ უკვე არსებული ნაღვლის სადინარების უჯრედების, არამედ გააქტივებული და დიფერენცირებადი ღეროვანი უჯრედების, ან იმ უჯრედების მონაწილეობით, რომლებიც ღვიძლში აღმოჩნდნენ ცირკულაციის გზით და განიცადეს დიფერენცირება ღვიძლის უჯრედებად (Petersen et al., 1999; Theise et al., 2000).

იშვიათად, პროლიფერირებული უჯრედები შეიძლება წარმოადგენდეს ჰეპატოციტების ბილიარული მეტაპლაზიის შედეგს (Desmet et al., 1995).

1957 წ. Popper და თანაავტორთა მიერ (Popper et al., 1957) ჰეპატოლოგიურ ლიტერატურაში შემოტანილი იქნა ტერმინი “დუქტულური რეაქცია”. ის გულისხმობს რეაქციას დუქტულური ფენოტიპით, შესაძლო, მაგრამ არა აუცილებლად დუქტულური გენეზით. ეს წარმოადგენს თანამედროვე ონკოლოგიაში დამკვიდრებული პრაქტიკის ანალოგს (როდესაც ნეოპლაზიის სახელი ასახავს მის ფენოტიპს, ხოლო სიმსივნის უჯრედული გენეზი ყოველთვის ცნობილი არ არის). როგორც უკვე აღინიშნა, ღვიძლში დუქტულური რეაქციის ეპითელური კომპონენტის წყარო ხშირად დაუზუსტებელია: ის შესაძლოა იყოს ნაღვლის სადინარების უწვრილესი განტოტებები, ან ცირკულაციის გზით შემოსული უჯრედები (თითქმის ყოველთვის ძელის ტვინიდან) ან ჰეპატოციტების ბილიური მეტაპლაზია. თვით “რეაქცია” კი მოიცავს ეპითელური ფენოტიპის უჯრედების, ანთების უჯრედების და სტრომის კომპონენტების იმ კომპლექსურ ცვლილებებს, რომელიც ღვიძლში ვითარდება სხვადასხვა პათოლოგიური მდგომარეობების დროს და გამოიხატება დუქტულური კონსტრუქციების რაოდენობის მატებით.

აღსანიშნავია, რომ პირველად სწორედ დუქტულური რეაქციის დროს გამოვლინდა ეპითელური კომპონენტის უჯრედთა მსგავსება კარცინოგენეზში მონაწილე მდრღნელების “ოვალურ უჯრედებთან” (Farber, 1956; Gerber, Thung, 1992; Gerber, Thung, 1993; Roskams et al., 1998). ანალოგიურად, სხვადასხვა პათოლოგიის პირობებში ადამიანის ღვიძლის ქსოვილის კვლევის დროსაც ხშირად დგება ისეთი ტერმინების გამოყენების საჭიროება, როგორიცაა

“ოვალური უჯრედები” ან “ოვალურისმსგავსი უჯრედები” და მისი (Roskams, et al., 2004).

მართალია, არსებობს მსგავსება ადამიანის და მღრღნელების ღვიძლის ღეროვან უჯრედებს შორის, მაგრამ მღრღნელების სხვადასხვა ექსპერიმენტული მოდელები ზუსტად ვერ ასახავს ადამიანის ორგანიზმში მიმდინარე პროცესებს, რის გამოც ერთიდაიმავე ტერმინების გამოყენება ყოველთვის გამართლებული არ არის. მაგალითისათვის, მღრღნელების ღვიძლის დაზიანებისას ოვალური უჯრედების გამოკვეთილი თვისებებია α -ფეტოპროტეინის პროდუქცია, მაშინ როდესაც ადამიანის ღვიძლში დუქტულური რეაქციის დროს ამ მარკერის ექსპრესია თითქმის არ აღინიშნება. პრიმატებში პარციული ჰეპატექტომიის მოდელის კვლევა ასევე ადასტურებს ფუნდამენტური განსხვავებების არსებობას ადამიანისა და მღრღნელების რეგენერაციის ფენომენებს შორის (Gaglio et al., 2002). ამდენად, ადამიანის ღვიძლის მიმართ მიზანშეწონილად არ არის მიჩნეული ტერმინების: “ოვალური უჯრედები” და “ოვალურისმსგავსი უჯრედები” გამოყენება.

ადამიანებში ამ უჯრედებს უმჯობესია ეწოდოს შუალედური (ინტერმედიული) ჰეპატობილიური უჯრედები. მათი დიამეტრი აღემატება 6 მიკრონს ანუ ჰერინგის არხის ნორმალური უჯრედის, (მცირე ქოლანგიოციტის) საშუალო ზომას და ნაკლებია 40 მიკრონზე - ჰეპატოციტების ტიპურ ზომაზე. სხვა მახასიათებლები ასევე მოწმობს მათ ორმაგ ბუნებას (როგორც ჰეპატოციტების, ასევე ქოლანგიოციტების მსგავსს). ეს უპირველეს ყოვლისა გულისხმობს ბილიური (CK 19 და 7, OV-6) და ჰეპატოციტების (HepPar I, ალბუმინი, α -1-ანტიტრიპსინი, ბილიარული გლიკოპროტეინი-1, რომელიც ვლინდება პოლიკლონური ანტი-CEA-ის კანალიკულური შედეგით, იშვიათად α -ფეტოპროტეინი) ანტიგენების ერთდროულ ექსპრესიას.

ამასთანავე, ტერმინ “ოვალური უჯრედების” გამოყენება მიზანშეწონილადაა მიჩნეული მღრღნელებში ღვიძლის მორფოლოგიური კვლევების დროს. მღრღნელების ოვალური უჯრედები და ადამიანის ინტერმედიული ჰეპატობილიარული უჯრედები თუმცა მორფოლოგიურად და ფენოტიპურად მნიშვნელოვნად განსხვავდება, მსგავსია მრავალი ფიზიოლოგიური ფუნქციით.

ასევე მიზანშეუწონლადაა მიხნეული ტერმინ “დეროვანი უჯრედების” გამოყენება ჰისტოლოგიურ ანათლების კვლევისა და აღწერის დროს. ამ ფრაზას, რომელსაც იყენებენ უჯრედული ბიოლოგიის სპეციალისტები, აქვს განსაკუთრებული მნიშვნელობა და ქვეტექსტი, კერძოდ, მას იყენებენ მულტიპოტენტურ (ან ტოტოპოტენტურ) უჯრედთან მიმართებით, რომელსაც აქვს თვითგანახლების უნარი და დასაბამს აძლევს სხვა დიფერენცირებული რიგის უჯრედებს (სავარაუდოდ ასიმეტრიული გაყოფის გზით). ამავდროულად, ადამიანებში უჯრედების ამ თვისებების დემონსტრაცია რთულია და ამიტომაც ამ ტერმინების გამოყენება ბუნდოვანებას იწვევს. ის შეიძლება გამოვიყენოთ როგორც სათადარიგო ტერმინი, როგორც მღრღნელებში, ასევე ადამიანებში ისეთი ექსპერიმენტის დროს, სადაც ხერხდება უჯრედების სწორედ ამ ზემოაღნიშნული უნარის (თვისებების) დემონსტრაცია (Roskams et al., 2004).

პრობლემას წარმოადგენს ასევე ტერმინების “ტიპური-” და “ატიპიური დუქტულური პროლიფერაციის” ადეკვატური გამოყენება. ეს ტერმინები წარმოიშვა ადამიანებში ექსტრაჰეპატული და ინტრაჰეპატული ქოლესტაზის ჰისტოლოგიური დიფერენციაციის მცდელობის საფუძველზე (Rubin et al., 1965). მიხნეულია, რომ ტიპური დუქტულა წარმოიქმნება უკვე არსებული დუქტულის პროლიფერაციის შედეგად და გააჩნია კუბური უჯრედებით ამოფენილი მკაფიო სანათური (მაგალითად, ვირთაგვებში ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვის შემდგომ).

ადამიანებში დუქტულური რეაქციის ეს ტიპი ვლინდება მწვავე და ტოტალური ექსტრაჰეპატული ობსტრუქციის პირობებში, მაგალითად, ექსტრაჰეპატული ნაღვლის გზების ქვით ან სიმსივნური პროცესით სრული დახშობისას (Roskams, Desmet, 1998).

ატიპიური დუქტულები ვლინდება წვრილი, წაგრძელებული სტრუქტურების სახით, რომლებიც ვრცელდება წილაკებში ირეგულარულად, ამოფენილია გაბრტყელებული უჯრედებით და არ გააჩნია მკაფიოდ გამოსატული სანათური. ატიპიური დუქტულური რეაქცია მჭიდროდ უკავშირდება შუალედური უჯრედების გააქტივებას (მსგავსად ოვალური უჯრედების რეაქციისა მღრღნელებზე მოდელირებული პათოლოგიების დროს). ამ ტიპის დუქტულურ რეაქციას ადგილი აქვს ნეკროზის შემდგომი რეგენერაციის, ექსტრაჰეპატული ნაწილობრივი ობსტრუქციის და

“გაუჩინარებადი” (vanishing) ნაღვლის სადინარების სინდრომის დროს (Roskams, Desmet, 1998), თუმცა, დუქტულური რეაქციის ამ ორ ტიპს შორის მკაფიო საზღვრის გავლება დღემდე გაძნელებულია (Gardiol, 1962).

ღვიძლის და ნაღვლის გზების ვიზუალიზაციის მეთოდების დახვეწამ 1970-იანი წლებიდან შეამცირა ინტრა- და ექსტრაჰეპატული ქოლესტაზის ჰისტოლოგიური დიფერენციაციის საჭიროება. მეორე მხრივ, ნაწილობრივი ექსტრაჰეპატული ობსტრუქციის და “გაუჩინარებადი” ნაღვლის სადინარების სინდრომის დროს ჰისტოლოგიურ დიფერენციაციას ართულებს ჰეპატოციტული და ქოლანგიოციტური დაზიანება, რასაც შედეგად მოსდევს არა მხოლოდ ნაღვლის გზების ობსტრუქციული დაზიანება, არამედ შუალედური უჯრედების რეგენერაცია – უფრო მეტად დაზიანებული უჯრედული პოპულაციის “სასარგებლოდ” (საკომპენსაციოდ) (Gaglio et al., 2002).

ამასთანავე, ვინაიდან ტერმინი “ატიპიური” დიაგნოსტიკურ პათოჰისტოლოგიაში გამოიყენება (პრე)მალვიგნური პროცესების კონტექსტში, ამ ტერმინის გამოყენებაც გარკვეულ სიფრთხილეს საჭიროებს (Roskams, et al., 2004).

დუქტულური რეაქცია უნდა განსხვავდეს სადინაროვანი ფირფიტის განვითარების ანომალიისგან (მალფორმაციისგან). მალფორმაცია ვლინდება პათოლოგიური ნაღვლის სადინარების მსგავსი სტრუქტურების სახით; ისინი არ წარმოადგენს რეაქციულ ფენომენს (Desmet, 1992). სადინაროვანი ფირფიტის მალფორმაცია ვლინდება ღვიძლის ფიბროპოლიციტური დაავადების და ექსტრაჰეპატული ნაღვლის გზების ატრეზიის მქონე პაციენტების ქვეჯგუფში.

ყოველივე აღნიშნულის გათვალისწინებით საერთაშორისო ტერმინოლოგიურ კონსენსუსზე მომუშავე მკვლევართა ჯგუფის მიერ შემოთავაზებულია ქვემოთ ცხრილში მოტანილი კლასიფიკაცია და ტერმინები.

სტანდარტიზებული ტერმინოლოგიური სისტემა ხელსაყრელია ადამიანის ღვიძლის ახალი, თანამედროვე კვლევებისათვის. ის ასევე მეტ სიცხადეს შეიტანს მომავალი ექსპერიმენტული კვლევების სწორად გააზრებაშიც.

ჰისტოლოგიური კონსენსუს-ტერმინოლოგია შესაბამისი ძველი ტერმინების განმარტებებით
(მოტანილია Roskams –ისა და თანაავტორთა მიხედვით – Roskams, et al., 2004)

	თანამედროვე ტერმინოლოგია	განმარტება	ხმარებიდან ამოღებული ტერმინი
ნორმალური ღვიძლი	ჰერინგის არხი	უზრუნველყოფს ფიზიოლოგიურ კავშირს ჰეპატოციტებს შორის არსებულ ნაღვლის კაპილარებსა და ნაღვლის სადინარებს შორის. ნაწილობრივ გამოფენილია ჰეპატოციტებით და ნაწილობრივ – ქოლანგიოციტებით (და არა ინტერმედიული უჯრედებით, რომლებიც ნორმულ ღვიძლში არ ვლინდება).	
	ნაღვლის დუქტულა	აკავშირებს ჰერინგის არხს ინტერლობულურ ნაღვლის სადინართან. მთლიანად გამოფენილია ქოლანგიოციტებით, შესაძლოა სათავეს იღებდეს პორტული ტრაქტის სტრომის კიდესთან, ან კვეთდეს „მოსაზღვრე ფირფიტას“; ამ შემთხვევაში მას შეიძლება	

		გაანხდეს როგორც „ინტრალობულური“, ასევე „ინტრაპორტული“ სეგმენტები	
	ორგანზომილუ- ბიანი ქსოვილის ანათალში „იზოლირებული“ ქოლანგიოციტები ან პროგენიტორი უჯრედები	თითქმის ყოველთვის ეს უჯრედები წარმოადგენს ჰერინიგის არხის და ინტრალობულური ნადვლის დუქტულის განივ ჭრილს, რის გამოც არ არის აუცილებელი მათი “იზოლირებულად” გამოვლენა. მათი ზუსტი განსაზღვრის მიზნით საჭიროა იმუნოლოგიური მარკერების გამოყენება (CK19+, CK7 +, NCAM +). მათი როლი და ფუნქცია ჯერ კიდევ შესასწავლია („ქოლანგიოციტები“ თუ „დეროვანი („პროგენიტორი“ უჯრედები), თუმცა ისინი ერთმნიშვნელოვნად მრავალფუნქციური უჯრედებია.	ოვალური უჯრედები ოვალურის- მსგავსი უჯრედები დეროვანი უჯრედები
დაავადებუ- ლი ღვიძლი	დუქტულური რეაქცია	დუქტულური ფენოტიპის მატარებელი რეაქცია, რომელიც შესაძლოა იყოს დუქტულური გენეზის, ან სხვა წარმომავლობის,	„ტიპური“ ან „ატიპური“ დუქტულური პროლიფერა- ცია;

		<p>ვლინდება ღვიძლის მწვავე და ქრონიკული დაავადებების დროს. ამ მოვლენის აღმოცენების წყაროს შესაძლოა წარმოადგენდეს:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) ქოლანგიოციტების პროლიფერაცია; 2) ღეროვანი უჯრედები (ადგილობრივი და/ან მოციროკულირე, სავარაუდოდ ძეღის ტვინიდან); 3) იშვიათად ჰეპატოციტების მეტაპლაზია ქოლანგიოციტებად. 	<p>ნაწილობრივი ბილიური ნეკროზი;</p> <p>ოვალური უჯრედები;</p> <p>ოვალურის-მსგავსი უჯრედები</p>
	<p>ინტერმედიული ჰეპატობილიური უჯრედები</p>	<p>დუქტულური რეაქციის შემადგენელი უჯრედები, რომლებიც მორფოლოგიურად ან ფენოტიპურად იკავებს შუალედურ ადგილს ჰეპატოციტებსა და ქოლანგიოციტებს შორის: > 6 მიკრონზე და < 40 მიკრონზე, გააჩნია ორმაგი მახასიათებლები (იმუნოფენოტიპურად ან ელექტრონულ-მიკროსკოპულად)</p>	<p>დუქტულური პროლიფერაცია</p> <p>ნაწილობრივი ბილიარული ნეკროზი</p> <p>ოვალური უჯრედები</p> <p>ოვალურის-მსგავსი უჯრედები</p>

შენიშვნა: ადამიანის ღვიძლის იზოლირებული ქოლანგიოციტები/ღეროვანი უჯრედები, დუქტულური რეაქცია და ინტერმედიული ჰეპატობილიური უჯრედები წარმოადგენს მდრღნელებში ოვალური უჯრედების და ოვალური უჯრედების რეაქციის ექვივალენტს.

მიუხედავად ყოველივე ზემოაღნიშნულისა გამოსაკვლევი საკითხი კვლავ ბევრია. კიდევ უფრო დასახვეწია ჰერინგის არხის და დუქტულების შესახებ ცოდნა. ღრმად შესწავლას საჭიროებს ღვიძლის მიკროვასკულური სტრუქტურა და მისი კავშირი დუქტულურ სტრუქტურებთან. მრავალრიცხოვანი კვლევების მიუხედავად, კვლავ ფრაგმენტულია ცოდნა დუქტულების მიმდებარე მატრიქსის, ჰერინგის არხების და დუქტულური რეაქციის შესახებ. ბოლომდე გამოუკვლეველია, დუქტულების ეპითელური კომპონენტის, ჰეპატოციტების, ღეროვანი და სხვა უჯრედებისა და ანთების ურთიერთქმედების მექანიზმები (Crawford, Boyer, 1998; Lamireau et al., 1999; Gouw et al., 2001 ; Desmet, 2011);

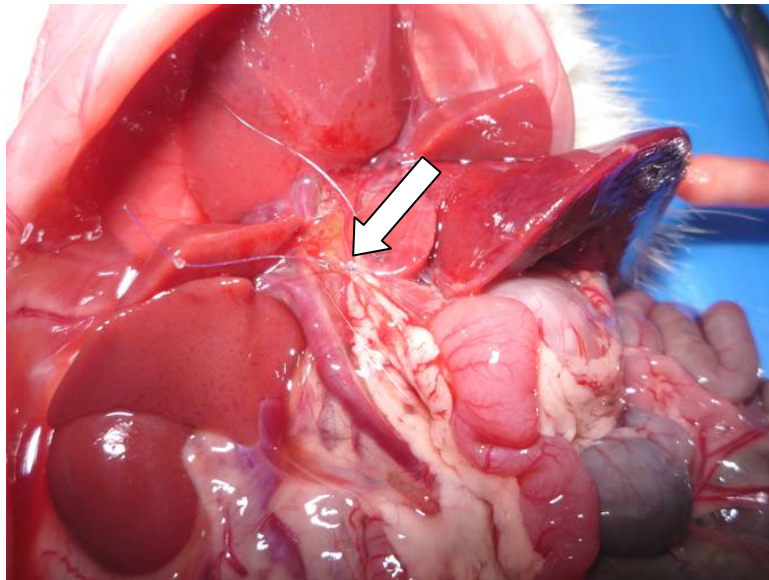
მასალა და მეთოდები

ექსპერიმენტული მოდელები

1. ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიით ნაღვლის შეგუბების მოდელირება

ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვა განხორციელდა 20 კვირის ასაკის Fisher-ის მამრ ვირთაგვებზე. ოპერაციამდე 1 კვირის განმავლობაში ყველა ვირთაგვა იმყოფებოდა კონტროლირებად პირობებში, საკვებთან და წყალთან სტანდარტული დაშვებით.

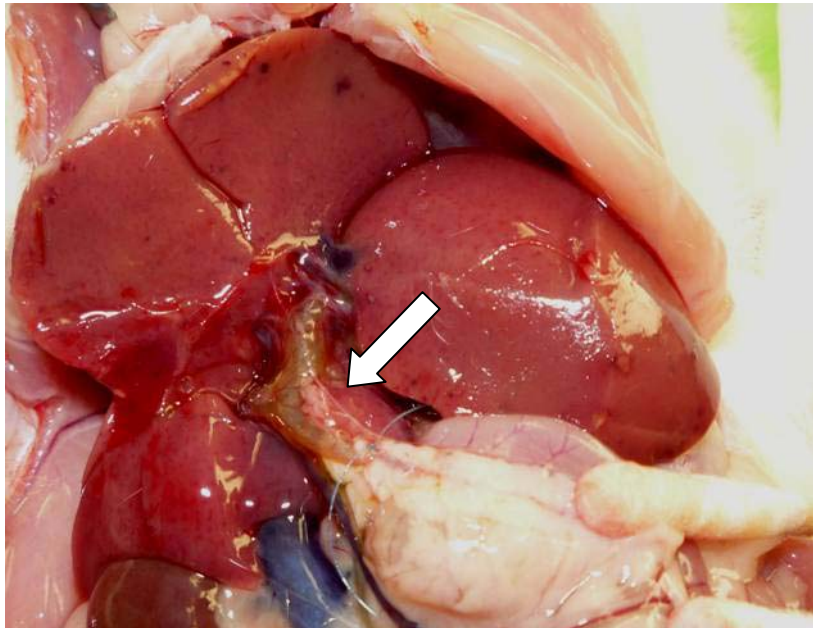
ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკვანძვა განხორციელდა სტანდარტულად, Lee –ის მეთოდის ადრე აღწერილი მოდიფიკაციით (Kordzaia, 1990), ეთერის ნარკოზის გამოყენებით. ზოგადი ნარკოზის პირობებში თეთრ საზზე განაკვეთით იხსნებოდა ვირთაგვების პერიტონეუმის ღრუ. პერიტონეუმის იმ ნაოჭის ორ ფურცელს შორის, რომელიც გადაჭიმულია ღვიძლის კარსა და წვრილი ნაწლავის საწყის სეგმენტს შორის, მოიძებნებოდა ნაღვლის საერთო სადინარი (ნსს) და გადაიკვანძებოდა. (სურ №1)



სურ.№1. ვირთაგვის ნაღვლის საერთო სადინარი გადაკვანძულია.

მუცლის ღრუ (პერიტონეუმის ღრუსთან ერთობლივად) იხურებოდა ყრუდ, კვანძოვანი ნაკერებით.

ვირთაგვების ცდიდან გამოყვანა ხდებოდა ნსსო-დან მე-3, მე-6, მე-12 და 24-ე საათზე ეთერის გაღრმავებული ნარკოზით. ექსპერიმენტის ადეკვატურობა დასტურდებოდა გაგანიერებული ნაღვლის სადინარის არსებობით. (სურ. №2)



სურ. №2. გაგანიერებული ნაღვლის სადინარი მისი გადაკვანძვიდან 24 საათის შემდეგ

თითოეულ დასახელებულ ვადაზე საკვლევ ჯგუფს შეადგენდა 6 ვირთაგვა. იკვეთებოდა ღვიძლი, რომლის ნაწილიც შემდგომი კვლევების სპეციფიკის გათვალისწინებით იყინებოდა -80°C ტემპერატურაზე, კიდევ ნაწილი - თხევადი აზოტის მეშვეობით, ნაწილი კი ფიქსირდებოდა 10%-იან ბუფერულ ფორმალინის ხსნარში (დამზადებული ფოსფატური ბუფერზე - Ph 7,2-7,3).

12 ვირთაგვაზე შესრულდა ე.წ. ცრუ ოპერაცია: პერიტონეუმის ღრუს გახსნისა და ნაღვლის საერთო სადინარის გამოყოფის შემდეგ არ მოხდა მისი გადაკვანძვა. თითოეულ ზემოაღნიშნულ ვადაზე გამოკვლეულ იქნა ორ-ორი ვირთაგვა, ხოლო ოპერაციიდან 24 საათის შემდეგ 6 ვირთაგვა.

გამოყენებული ვირთაგეგების რაოდენობა მიჩნეულ იქნა მინიმალურ რაოდენობად სტატისტიკური მონაცემების ადექვატური გაანალიზებისათვის.

ჰისტოლოგია და იმუნოჰისტოქიმია

10%-იან ბუფერულ ფორმალინში დაფიქსირებული/და ან გაყინული ღვიძლის ქსოვილის 4-5 მიკრონის სისქის ანათლები შესწავლილ იქნა სტანდარტული მიმოსილვითი ჰისტოლოგიური (ჰემატოქსილინ-ეოზინით შეღებილი) და იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდებით, ქვემოთ აღწერილი პროტოკოლის შესაბამისად:

იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევისთვის გამოყენებულ იქნა 3 მონოკლონური ანტისხეული: **AE1/AE3** (Mouse monoclonal [AE1+AE3] to pan Cytokeratin, prediluted (abcam(ab961)), **OV-6** (R&D Systems; Catalog Number: MAB2020) და **Ki-67** (abcam(ab16667)).

AE1/AE3 წარმოადგენს ანტისხეულების კოქტეილს, რომელიც მონიშნავს მუავა და ფუძე ციტოკერატინებს. იგი გამოიყენება თითქმის ყველა ტიპის ეპითელური უჯრედების ამოსაცნობად. მუავა ციტოკერატინების მოლეკულური წონაა 56,5, 55, 51, 50, 48, 46, 45 და 40 კდალტონი (kDa). ფუძე ციტოკერატინების მოლეკულური წონაა 65-67, 64, 59, 58, 56 და 52 კდალტონი (kDa).

პარაფინის ანათლებზე იმუნოჰისტოქიმიური რეაქციის წარმართვისათვის AE1/AE3 განზავება ცდაზე დამოკიდებულია. პარაფინზე რეაქციის დაწყებამდე საჭიროებს ანტიგენის აღდგენას. ანტიგენის ექსპრესიის გამოვლენა ციტოპლაზმურია.

რელევანტურობა: ციტოკერატინების ჯგუფი შედგება სულ მცირე 29 სხვადასხვა პროტეინისგან და ვლინდება ეპითელურ და ტრიქოციტურ უჯრედებზე. ციტოკერატინები 1, 4, 5, 6 და 8 მიეკუთვნება II ქვეტიპს (ნეიტრალური და ფუძემდე).

მონოკლონური ანტიციტოკერატინები წარმოადგენს ეპითელური დიფერენციაციის სპეციფიურ მარკერს და ფართოდ გამოიყენება სიმსივნეების იდენტიფიკაციასა და კლასიფიკაციაში. მონოკლონური ანტი-პანციტოკერატინები (კოქტეილი) ფართო სპექტრის რეაგენტებია, რომლებიც მონიშნავს ეპითელური ქსოვილის სხვადასხვა ეპიტოპებს. ის მონაწილეობს ნორმული, მეტაპლაზიური და ნეოპლაზიური უჯრედების ფენოტიპირებაში.

სხვადასხვა კომპონენტებს შორის სინერგიული ურთიერთქმედება განაპირობებს შედეგის გაძლიერებას, რაც უზრუნველყოფს ისეთი უჯრედების შეღებვასაც კი, რომლებიც შეიღებებოდა მხოლოდ მარგინალურად.

მოცემული AE1/AE3 იზოტიპია IgG1. გამოშვების ფორმა – ხსნარი.

AE1/AE3 იმუნოჰისტოქიმიური რეაქცია პარაფინის ანათლებზე:

1. პარაფინის ბლოკის დეპარაფინიზაცია და რეჰიდრატაცია
2. ფიქსაცია 4%-იან პარაფორმალდეჰიდში 10 წთ.
3. გარეცხვა PBS + ტრიტონი 2X2 წთ.
4. არაენდოგენური პეროქსიდაზას ბლოკი PBS + 5 %-იანი კურდღლის შრატის, 0,1 %-იანი ტრიტონ X-100 და 1 %-იანი BSA 45 წთ-ის განმავლობაში, ოთახის ტემპერატურაზე.
5. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.
6. პირველად ანტისხეულთან AE1/AE3 (Mouse monoclonal [AE1+AE3] to pan Cytokeratin, prediluted (abcam(ab961)) ინკუბაცია 18 სთ განმავლობაში 4°C ტემპერატურაზე -.
7. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.
8. მეორად ანტისხეულთან ინკუბაცია 1 სთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე, სიბნელეში. მეორად ანტისხეულად გამოყენებულია (Rabbit Serum 1:600 (abcam)).
9. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.
10. ABC-პეროქსიდაზის ხსნარი 30წთ-ის განმავლობაში.
11. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.
12. ანტიგენ-ანტისხეულის შეკავშირების ვიზუალიზაცია DAB ქრომოგენით (დიამინობენზიდინით). კონტრასტული შეღებვა Harris ჰემატოქსილინით 30 წმ.
13. გარეცხვა გამდინარე წყალში 2-5 წთ.
14. დეჰიდრატაცია 95 %-იან ეთანოლში 1 წთ-ის განმავლობაში, 100%-იან ეთანოლში 2X3 წთ-ის განმავლობაში.
15. ქსილოლი 2X5 წთ.
16. მაუნთინგი.

AE1/AE3 იმუნოჰისტოქიმიური რეაქცია გამყინავ ანათლებზე:

1. ფიქსაცია 4%-იან პარაფორმალდეჰიდში 10 წთ.
2. გარეცხვა PBS (ფოსფატის ბუფერული ხსნარი) 5 წთ.
3. ინკუბაცია კურდღლის შრატში 30წთ.
4. პირველად ანტისხეულთან AE1/AE3 (Mouse monoclonal [AE1+AE3] to pan Cytokeratin, prediluted (abcam(ab961)) ინკუბაცია 18 სთ, 4⁰ C ტემპერატურაზე
5. გარეცხვა PBS-ში 3X5 წთ.
6. მეორად ანტისხეულთან (Rabbit Serum (abcam)) ინკუბაცია 1 სთ, 1:600.
7. გარეცხვა PBS-ში.
8. დეჰიდრატაცია.
9. მაუნთინგი.

სამივე ანტისხეულზე (AE1/AE3, OV-6 და Ki-67) უარყოფითი კონტროლის სახით გამოყენებულ იქნა იგივე ქსოვილის სტანდარტული მეთოდით შეღებვა, გარდა პირველადი ანტისხეულისა. ეს უკანასკნელი ჩანაცვლებულ იქნა ნორმალური შრატით.

გამყინავი ანათლების მომზადება:

1. ქსოვილის ნაჭერს ვათავსებდით მეთილბუთანში და ყინულის ნაჭრებში. გაყინული ბლოკები ინახებოდა -80⁰ C ტემპერატურაზე.
2. გაყინული ბლოკები იჭრებოდა 5 მმ-ის სისქის ანათლებად -14⁰ C ტემპერატურაზე და ფიქსირდებოდა ქელატინით დაფარულ კორპის ნაჭრებზე. ხანმოკლე შენახვისათვის ბლოკები თავსდებოდა -20⁰ C ტემპერატურაზე.
3. შეღებვამდე ანათლები 30-60 წთ-ით მოვათავსეთ ოთახის ტემპერატურაზე და დავაფიქსირეთ აცეტონში 5-10 წთ-ით. ჰაერზე გაშრობა 30-60 წთ.
4. გარეცხვა PBS-ში სტანდარტული შეღებვის დაწყებამდე.

OV-6 ანტიგენი გამოიყენებოდა ოვალური უჯრედების და ღვიძლის ღეროვანი უჯრედების საიდენტიფიკაციოდ (რომელთაც აქვთ უნარი დიფერენცირდნენ სხვადასხვა სახის უჯრედებად).

სპეციფიურობა: OV-6 ანტისხეული გამოიყენება ადამიანის და ვირთაგვას OV-6 ანტიგენის გამოსავლენად იმუნოჰისტოქიმიური და გამდინარე ციტომეტრიული კვლევისთვის.

იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევაში ეს ანტისხეული კონცენტრაციით 10µg/mL გამოავლენს OV-6 ანტიგენს ღეროვანი უჯრედებიდან წარმოქმნილ ენდოდერმულ უჯრედებზე

Ig კლასი: mouse IgG1.

იმუნოჰისტოქიმიური რეაქციის მეთოდოლოგია

OV-6 ანტისხეული პარაფინის ანათლებზე:

1. პარაფინის ბლოკის დეპარაფინიზაცია და რეჰიდრატაცია.
2. ფიქსაცია 4%-იან პარაფორმალდეჰიდში 10 წთ.
3. გარეცხვა PBS + 0,1 % -იანი BSA.
4. არაენდოგენური პეროქსიდაზას ბლოკი PBS + 5 %-იანი თხის შრატის, 0,1 %-იანი ტრიტონ X-100 და 1 %-იანი BSA 45 წთ-ის განმავლობაში, ოთახის ტემპერატურაზე.
5. გარეცხვა PBS + 0,1 %-იანი BSA.
6. პირველად ანტისხეულთან (OV-6 (R&D Systems; Catalog Number: MAB2020) ინკუბაცია მთელი ღამის განმავლობაში 4⁰ C ტემპერატურაზე 1:10.
7. გარეცხვა PBS +0,1 %-იანი BSA.
8. მეორად ანტისხეულთან (Goat Serum (ab7481)) ინკუბაცია 60 წთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე, სიბნელეში.
9. გარეცხვა PBS + 0,1 %-იანი BSA.
10. ანტიგენ-ანტისხეულის შეკავშირების ვიზუალიზაცია DAB ქრომოგენით (დიამინობენზიდინით).
11. კონტრასტული შედეგება Harris ჰემატოქსილინით 30 წმ.
12. მაუნთინგი.

OV-6 ანტისხეული (გამყინავ ანათლებზე):

1. ფიქსაცია 4 %-იან პარაფორმალდეჰიდში 10 წთ.
2. გარეცხვა PBS 5 წთ.
3. ინკუბაცია თხის შრატში 30 წთ.

4. პირველად ანტისხეულთან ინკუბაცია 18 სთ. 4⁰ C ტემპერატურაზე OV-6 (R&D Systems; **Catalog Number:** MAB2020) 1:10.

5. გარეცხვა 3X5წთ, PBS-ში.

6. მეორად ანტისხეულთან (Goat Serum (ab7481)) ინკუბაცია 1 სთ, 1:600

7. გარეცხვა PBS-ში.

8. დეჰიდრატაცია.

9. მაუნთინგი.

Ki67 antibody [SP6] – პროლიფერაციის მარკერი (ab16667).

რელევანტურობა: Ki-67 ანტიგენი უჯრედის ციკლთან დაკავშირებული ბირთვული პროტეინის პროტოტიპია, რომელიც ექსპრესირებს მოპროლიფერაციე უჯრედებში უჯრედის ციკლის ყველა ფაზაში: G1, S, G2 და M. მოსვენებულ უჯრედებში (G0) Ki-67 ანტიგენი არ ვლინდება. Ki-67 ანტისხეული გამოიყენება სიმსივნურ პროცესებში უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის დასადგენად. სიმსივნურ ქსოვილებში Ki-67 ინდექსი პროგნოზულად უტოლდება თიმიდინით მონიშვნის ინდექსს. არსებობს მკაცრი კორელაცია დაბალ Ki-67 ინდექსსა და ჰისტოპათოლოგიურად Low Grade სიმსივნეებს შორის. Ki-67 რუტინულად გამოიყენება უჯრედის ციკლისა და პროლიფერაციის ნეირონულ მარკერად.

ექსპრესიის გამოვლენა: ბირთვული.

განზავება: იმუნოჰისტოქიმიკა პარაფინის ანათლებზე IHC-P: 1/100. გამყინავ ანათლებზე IHC-Fr: 1/1000.

იმუნოჰისტოქიმიური რეაქციის მეთოდოლოგია:

Ki-67 ანტისხეული (პარაფინის ანათლებზე):

1. პარაფინის ბლოკის დეპარაფინიზაცია და რეჰიდრატაცია.
2. ფიქსაცია 4%-იან პარაფორმალდეჰიდში 10 წთ.
3. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.
4. არაენდოგენური პეროქსიდაზას ბლოკი 2 სთ-ის განმავლობაში 22⁰ C ტემპერატურაზე 5 %-იან BSA-თან.
5. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.

6. პირველად ანტისხეულთან (Ki-67 ab16667)ინკუბაცია, PBS-T + 1% BSA, 18 სთ-ის განმავლობაში 4⁰ C ტემპერატურაზე, 1:500

7. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.

8. მეორად ანტისხეულთან (Rabbit Serum (abcam)) ინკუბაცია 1 სთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

9. გარეცხვა PBS + ტრიტონი.

10. ანტიგენ-ანტისხეულის შეკავშირების ვიზუალიზაცია DAB ქრომოგენით (დიამინობენზიდინით). კონტრასტული შეღებვა Harris ჰემატოქსილინით 30 წმ.

11. მაუნთინგი.

Ki-67 ანტისხეული (გამყინავ ანათლებზე):

1. ფიქსაცია 4 %-იან პარაფორმალდეჰიდში 10 წთ.

2. გარეცხვა PBS, 5 წთ.

3. ინკუბაცია კურდღლის შრატში, 30 წთ.

4. პირველად ანტისხეულთან (Ki-67 ab16667; 1:500) ინკუბაცია 18 სთ. 4⁰C ტემპერატურაზე.

5. გარეცხვა 3X5 წთ PBS-ში.

6. მეორად ანტისხეულთან (Rabbit Serum (abcam)) ინკუბაცია 1 სთ, 1:600

7. გარეცხვა PBS-ში.

8. დეჰიდრატაცია.

9. მაუნთინგი.

გაცივებული ღვიძლის ნიმუშების ანათლები მომზადდა კრიოსტატულ მიკროტომზე (Leica 800 Cryostat Microtome CM1800). განხორციელდა ჰემატოქსილინით. Ki67, OV6 და pan-Cytokeratin პოზიტიურობის რაოდენობრივი შეფასება ბილიური ეპითელიუმისა და ჰეპატოციტებისათვის განხორციელდა ცალ-ცალკე. თითოეული ნიმუშიდან დათვლილ იქნა მინიმუმ 500 ჰეპატოციტი. ბილიური ეპითელიუმის დათვლა განხორციელდა მხოლოდ დუქტულების განიკვეთებზე (cross-sectional profiles).

ნადვლის დუქტულების რაოდენობის შესაფასებლად ვიღებდით მათ საშუალო რაოდენობას თითოეული ნიმუშის 20 ველში, პერიპორტულად (ფართო და მცირე პორტული ტრაქტებში) და ინტრალობულურად.

ელექტროფორეზი და იმუნობლოტიინგი

ნსსო-დან 24 სთ-ის შემდგომ მიღებული ღვიძლის ქსოვილის ნიმუშები გაყინულ იქნა თხევად აზოტში და სწრაფად ჰომოგენიზდა 20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.32 M sucrose Semcvel buferSi, 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid, 0.5 mM ethylene glycol-bis(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid-ის შემცველ პროტეაზა ინჰიბიტორების კოქტეილში და დაცენტრიფუგდა 1000 ბრუნზე - 10 წუთის განმავლობაში.

შემდგომი ანალიზისათვის გამოყენებულ იქნა სუპერნატანტი (ბირთვებისგან თავისუფალი ჰომოგენატი).

საბოლოო 5%-იანი კონცენტრაციის მისაღებად ჰომოგენატის ფრაქციას დაემატა ნატრიუმის დოდაცილ სულფატის (SDS) კონცენტრირებული ხსნარი. ყველა ფრაქციაში ცილის კონცენტრაცია განისაზღვრებოდა როგორც მეოთხედი - micro bicinchoninic acid protein assay kit (Pierce) გამოყენებით. 30 გ ცილის შემცველი ალიქვოტები გამოყენებულ იქნა გელთან მიმართებაშიც. SDS-გელ ელექტროფორეზი და Western blotting წარიმართა ზემოთ აღწერილი მეთოდის გამოყენებით. ცილის ტრანსფერის შემდეგ ნიტროცელულოზის მემბრანაზე ხდებოდა მემბრანების შეღებვა Ponceau S solution მეშვეობით, ცილის ტრანსფერის და გელის უნოფორმული დატვირთვის დასადასტურებლად. შემდგომ მემბრანები ირეცხებოდა ფოსფატური ბუფერის ხსნარით + 0.05% Tween 20, შემდგომ ხდებოდა ინკუბაცია ხარის შრატის ალბუმინში და იღებებოდა პან-ციტოკერატინებზე Mouse monoclonal [AE1+AE3] (dilution 1:100 Abcam, ab961). აღნიშნული ანტისხეული წარმოადგენს მუავა და ფუძე ციტოკერატინების კოქტეილს.

სტანდარტული იმუნოქიმიური გამოკვლევები მიმდინარეობდა პეროქსიდაზა-მონიშნული მეორადი ინტისხეულების და SuperSignal West Pico Chemiluminescent substrate (Pierce) გამოყენებით. ბლოტები გადატანილ იქნა სიგნალის აღქმის გასაძლიერებლად წინასწარ Sensitize (Amersham) დასხივებულ რენტგენის ფირებზე. ციტოკერატინების საერთო ფრაქციის და

ასევე ცალკეული ციტოკერატინების ფრაქციების შესაბამისი ჯაჭვების ოპტიკური სიმკვრივე გაზომილ იქნა LabWorks 4.0 (UVP) გამოყენებით. აუტორადიოგრაფიული კალიბრაცია ხდებოდა თითოეულ გელში საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების ღვიძლის ჰომოგენატის შემცველი ოთხი სტანდარტის ჩართვით. თითოეული სტანდარტი შეიცავდა ცილის საერთო რაოდენობის 15-60 გრ-ს. ოპტიკური სიმკვრივე განისაზღვრებოდა ტოტალური ცილის და ცალკეული ციტოკერატინების რაოდენობის პროპორციულად (იხ. სურათი №26). ფოტოზე წარმოდგენილია მონაცემები, რომლებიც მიღებულია ექსპერიმენტული ნიმუშის ტოტალური პროტეინის ან ცალკეული (ინდივიდუალური) ციტოკერატინების ოპტიკური სიმკვრივის შეფარდებით (საკონტროლო ან ექსპერიმენტული ჯგუფის ვირთაგვის) ოპტიკურ სიმკვრივესთან, რომელიც იმავე აუტორადიოგრაფზე კალიბრაციით სტანდარტულად შეესაბამებოდა ტოტალური პროტეინის 30 გრ-ს.

ამგვარი მეთოდით მიღებული მონაცემები წარმოადგენს ტოტალური ციტოკერატინების ან ცალკეული (ინდივიდუალური) ციტოკერატინების “შეფარდებით რაოდენობას” (იხ. შედეგები). შემდგომ ხდებოდა ფილტრების გამოცალკეება და პროტეინის იდენტური რაოდენობით შევსება დასტურდებოდა მემბრანის აქტინით შეღებვით (antibodies from Santa Cruz Biotechnology Inc).

სტატისტიკური ანალიზი

ერთი ვირთაგვას ღვიძლიდან მზადდებოდა ერთი ნიმუში. ნიმუშის ზომა ემყარებოდა ადრეულ ექსპერიმენტებს.

დუქტულური პროფილების (განივკვეთების) საშუალო რაოდენობის დათვლა ხდებოდა თითოეული ნიმუშის 20 მხედველობის ველში: კარის ვენის პირობითად დიდი ($> 50 \mu\text{m}$) და მცირე კალიბრის ტოტების ($< 50 \mu\text{m}$) შესაბამის ფართო და მცირე პორტულ ველებში, ასევე ინტრალობულურად.

ციტოკერატინების საერთო რაოდენობის შეფასება ხდებოდა one-way ANOVA-მეთოდით.

დუქტულური პროფილების რაოდენობის, ციტოკერატინების საერთო რაოდენობის, ასევე ინდივიდუალური ციტოკერატინების რაოდენობრივი შედარება ხდებოდა t-ტესტის მეშვეობით. ციტოკერატინების საერთო

რაოდენობის სტატისტიკური ანალიზი ხორციელდებოდა ორ ფაქტორიანი (two tailed) t-ტესტით.

ვინაიდან ექსპერიმენტის შემდგომ მკვეთრად გაიზარდა იმუნოპისტოქიმიური მეთოდით ციტოკერატინებით მონიშნული უჯრედების რიცხვი, ისევე როგორც საერთო ციტოკერატინების რაოდენობა (იხ. შედეგები), ინდივიდუალური ციტოკერატინების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა ერთეტაპიანი t-ტესტი (one-tailed t-test).

ცხოველთა განაწილება ოპერაციებისა და კვლევის ვადების მიხედვით მოცემულია №1 ცხრილში

ექსპერიმენტული მოდელი ექსპერიმენტის ვადა	ნსსო (საკვლევი ჯგუფი)	“ცრუ” ოპერაცია საკონტროლო ჯგუფი)
ნსსო-დან მე-3 სთ	6	2
ნსსო-დან მე-6 სთ	6	2
ნსსო-დან მე-12 სთ	6	2
ნსსო-დან მე-24 სთ	6	6

ცხრილი №1

შედეგები

ჰისტოლოგია და იმუნოჰისტოქიმია

ნსსო იწვევს დუქტულური პროფილების რაოდენობის დროზე დამოკიდებულმატებას. კერძოდ, ფართო პორტული ველებისათვის - $F_{3,23}=182.94$, $P=0.00001$; მცირე პორტული ველებისათვის - $F_{3,23}=5.60$, $P=0.006$; ხოლო ინტრალობულური სივრცეებისათვის - $F_{3,23}=48.78$, $P=0.0001$.

ცრუდ ნაოპერაციებ ცხოველებში სტატისტიკური ანალიზით დუქტულური პროფილებისმატება არ გამოვლინდა არც ერთ დასახელებულ არეში. (ცხრილი №2).

	ფართო პე		მცირე პე		ინტრალობულური	
	ნსსო (M ±SD)	საკონტროლო (M ±SD)	ნსსო (M ±SD)	საკონტროლო (M ±SD)	ნსსო (M ±SD)	საკონტროლო (M ±SD)
3 საათი	4.93 ^{†‡} ±0.23	2.70* ±0.07	2.40 # ±0.17	1.38* ±0.04	1.47 ^{†‡} ±0.18	0.18* ±0.04
6 საათი	6.52 [§] ±0.16	2.68* ±0.04	2.50 # ±0.20	1.53* ±0.04	2.62 [§] ±0.22	0.18 * ±0.04
12 საათი	6.63 [§] ±0.13	2.60* ±0.07	2.58 # ±0.15	1.53* ±0.04	2.65 [§] ±0.25	0.08* ±0.04
24 საათი	6.97 ^{§†‡} ±0.13	2.64* ±0.23	2.76 ^{§†‡} ±0.09	1.61* ±0.17	2.79 [§] ±0.20	0.25 * ±0.08

M – საშუალო

SD –სტანდარტული გადახრა

* - მნიშვნელოვანი განსხვავება შესაბამისი ჯგუფის იმავე მონაცემებთან ($p<0.05$)

§ - მნიშვნელოვანი განსხვავება 3 საათის შემდგომ მონაცემებთან ($p<0.05$)

† - მნიშვნელოვანი განსხვავება 6 საათის შემდგომ მონაცემებთან ($p<0.05$)

‡ - მნიშვნელოვანი განსხვავება 12 საათის შემდგომ მონაცემებთან ($p<0.05$)

- მნიშვნელოვანი განსხვავება 24 საათის შემდგომ მონაცემებთან ($p<0.05$)

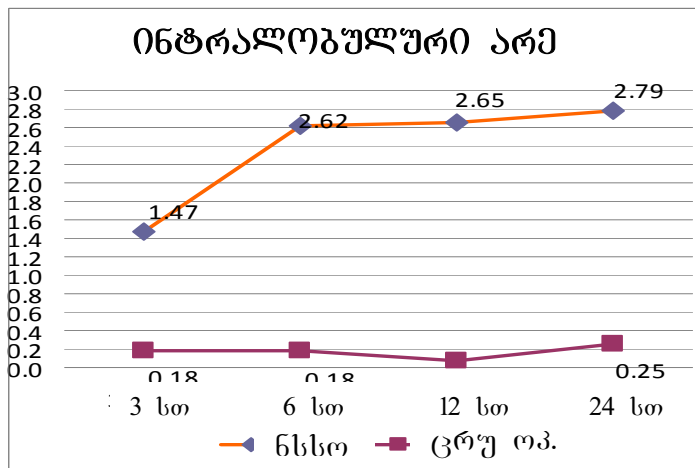
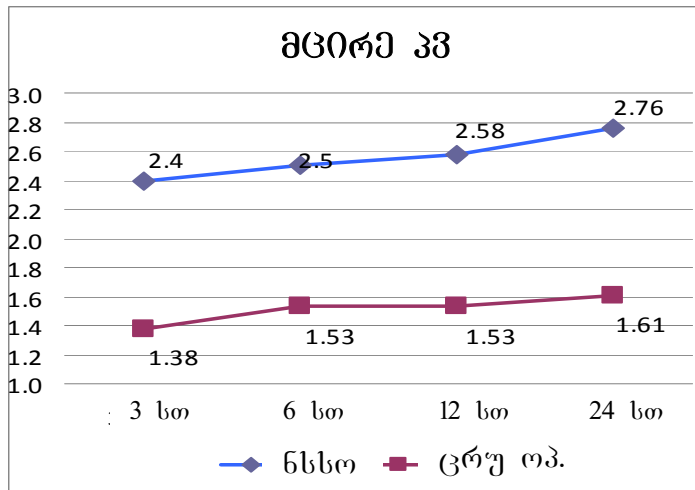
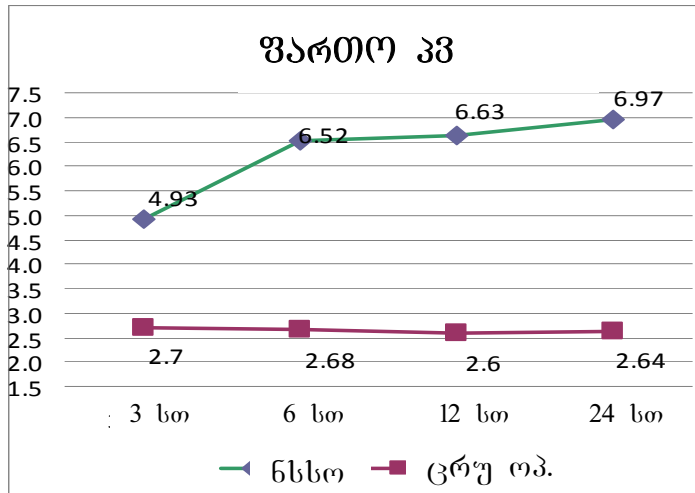
ცხრილი №2. დუქტულების რაოდენობა კარის ვენის პირობითად დიდი (> 50 μm) და მცირე კალიბრის ტოტების (< 50 μm) შესაბამის ფართო და მცირე პორტულ ველებში, ასევე ინტრალობულურად.

ბილიური ეპითელიოციტები და რეაქტიული ღუქტულების უჯრედები მკვეთრად პოზიტიური იყო CK-ისა და OV-6-ის მიმართ კვლევის ყველა ვადაზე, ჰეპატოციტების იმუნოჰისტოქიმიური პროფილი კი იცვლებოდა, კერძოდ: ჰეპატოციტები CK-ნეგატიური იყო ნორმულად და ნსსო-დან მე-3 და მე-6 საათებზე, მაგრამ ნსსო-დან მე-12 და 24-ე საათებზე ჰეპატოციტების ნაწილი ავლენდა CK-ის ექსპრესიას. ამასთანავე ჰეპატოციტები კვლევის ყველა ვადაზე OV-ნეგატიური იყო. Ki-67 –ით შეღებვამ ვერ გამოავლინა მოპროლიფერაციე უჯრედები. (ცხრილი №3).

მარკერი ვადა	CK			Ki-67			OV-6		
	ჰეპატოციტები	ქოლანგიოციტები	“რეაქტიული ღუქტულების” უჯრედები	ჰეპატოციტები	ქოლანგიოციტები	“რეაქტიული ღუქტულების” უჯრედები	ჰეპატოციტები	ქოლანგიოციტები	“რეაქტიული ღუქტულების” უჯრედები
ნორმა	-	+		-	-		-	+	
ნსსო-დან მე-3 საათზე	-	+	+	-	-	-	-	+	+
ნსსო-დან მე-6 საათზე	-	+	+	-	-	-	-	+	+
ნსსო-დან მე-12 საათზე	+/-	+	+	-	-	-	-	+	+
ნსსო-დან 24-ე საათზე	+/-	+	+	-	-	-	-	+	+

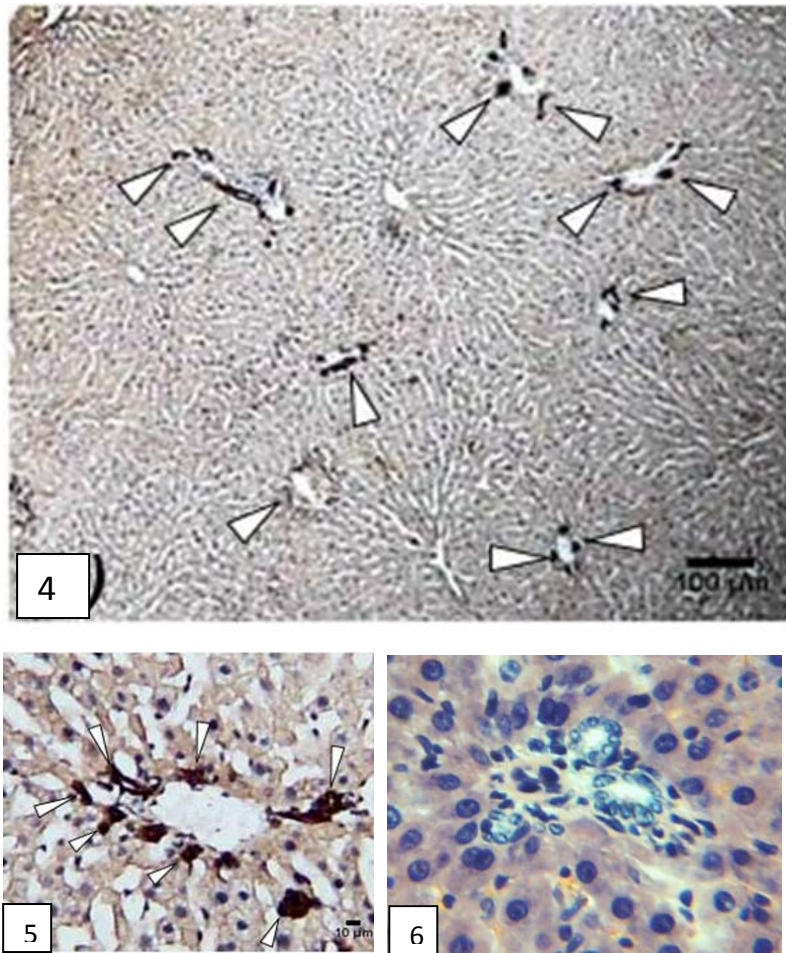
ცხრილი №3. იმუნოჰისტოქიმიური მარკერების ექსპრესია სხვადასხვა უჯრედული პოპულაციების მიერ – კვლევის ვადების მიხედვით

ღუქტულური პროფილების რაოდენობის სარწმუნო მომატებას ყველა გამოკვლეულ არეში ადგილი ჰქონდა ნსსო-დან უკვე სამი საათის შემდგომ, 24 საათის შემდეგ კი, მათი რიცხვი მაქსიმალურს აღწევდა. ამასთანავე, ფართო პორტულ ველებში და ინტრალობულურად ღუქტულების რაოდენობა მკვეთრად მატულობდა პირველი სამი საათის განმავლობაში, მაშინ როდესაც მცირე პორტულ ველებში ეს მატება თანდათანობით ხორციელდებოდა (სურ. №3).



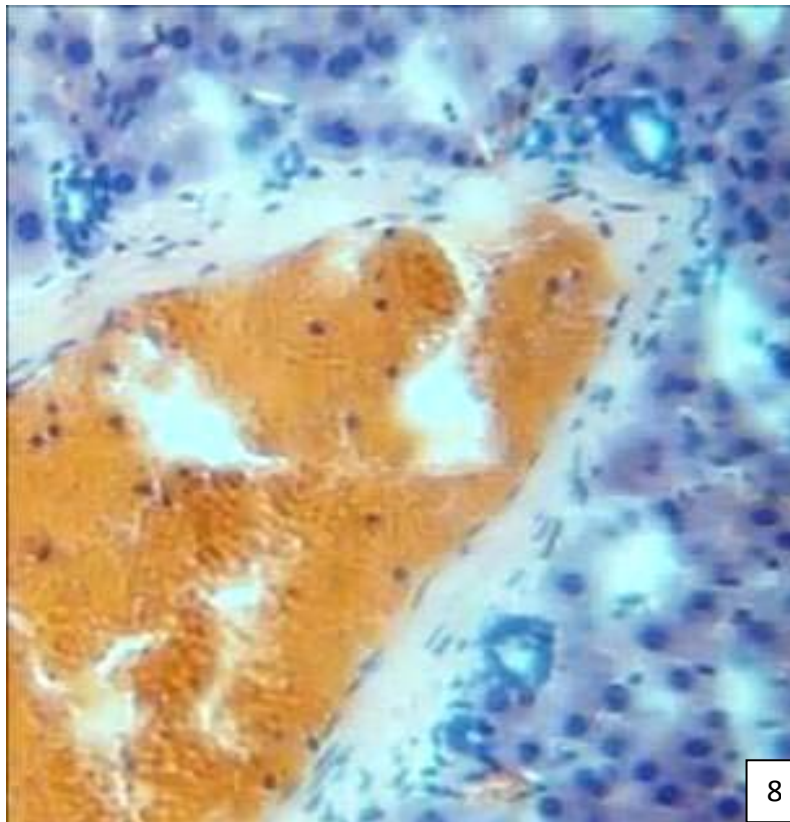
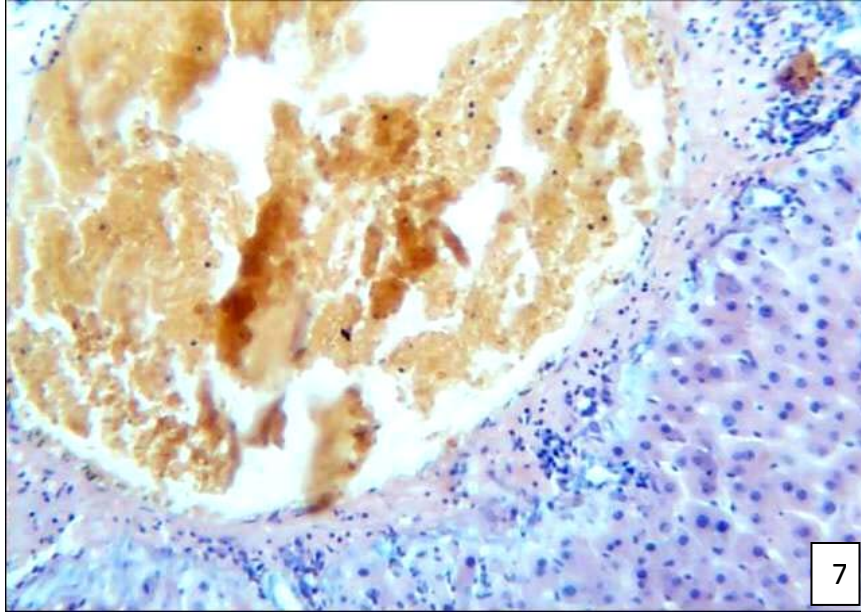
სურ. №3. დექლუური პროფილების რაოდენობის მატების დინამიკის გრაფიკი საკვლევი არეების და ექსპერიმენტის ვადების მიხედვით

ახალი დუქტულური პროფილები შეინიშნებოდა ყველა ზომის პორტული ტრაქტების მიდამოებში – ფართოდან უმცირესამდე (სურ. №5,6).



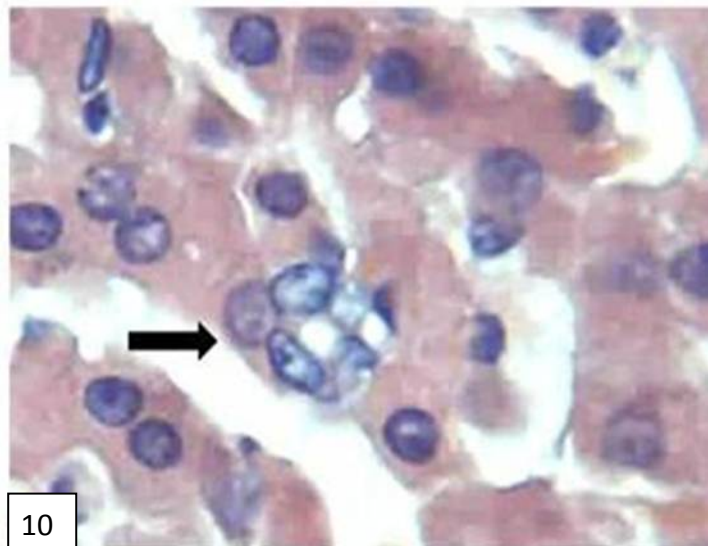
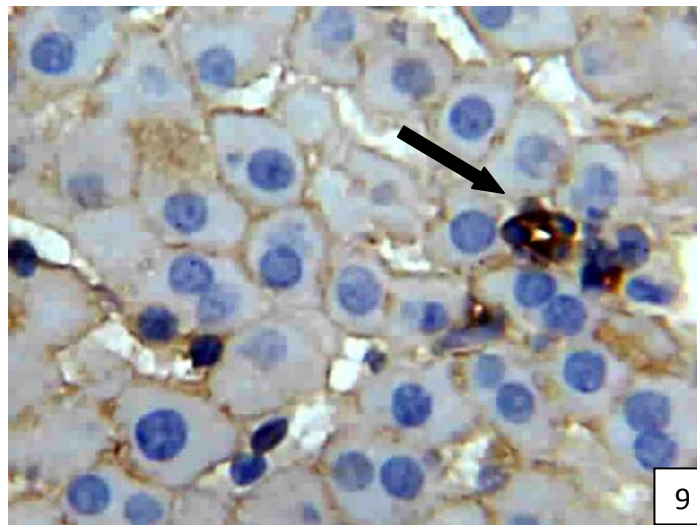
სურ. №4,5,6. 4 - სამკუთხა ისრებით მინიშნებულია დუქტულური პროფილები სხვადასხვა ზომის პორტულ ველებში ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, CK, X250; 5 - სამკუთხა ისრებით მინიშნებულია დუქტულური პროფილები საშუალო ზომის პორტულ ველში ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, CK, X400; 6 - დუქტულური პროფილები მცირე ზომის პორტული ველის მიმდებარედ ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, H&E, X400.

ფართო და საშუალო ზომის პორტულ ტრაქტებში დუქტულების მნიშვნელოვანი რაოდენობა განთავსებული იყო ძირითადი ნაღვლის სადინარის მოპირდაპირე მხარეს – შესაბამისი კარის ვენის სანათურის პერიმეტრის გასწვრივ (სურ. №7,8).

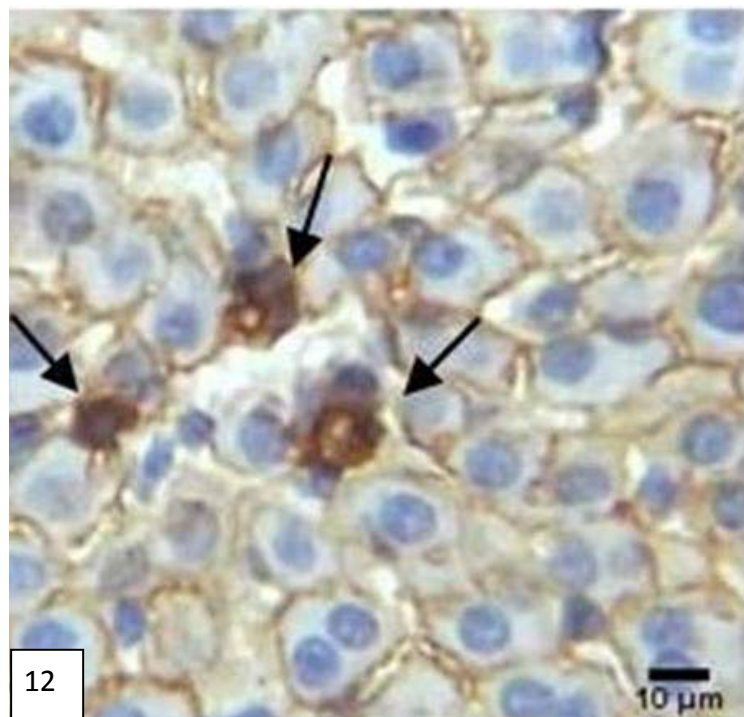
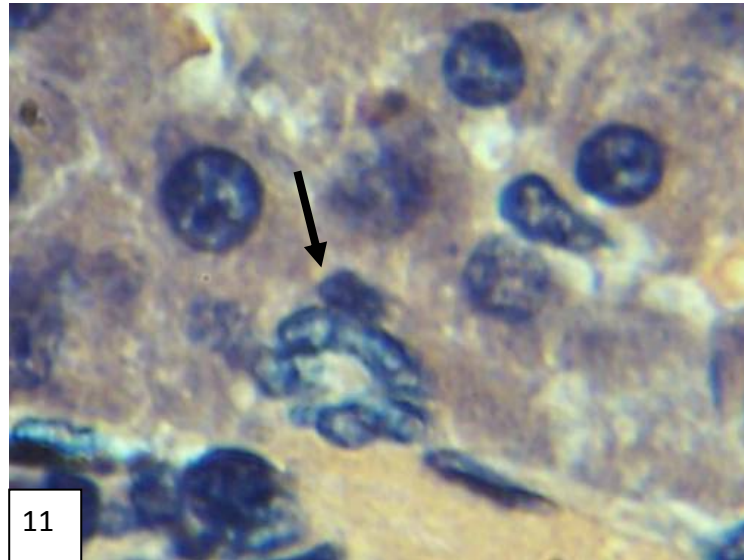


სურ. №7,8. დუქტულები განლაგებულია კარის ვენის პერიმეტრზე (ნაღვლის საღინარის საწინააღმდეგო მხარეს, X250; ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, X400, H&E.

დუქტულური რეაქცია გამოვლინდა ინტრალობულურადაც, მოსაზღვრე ფირფიტასა და ცენტრალურ ვენას შორის - პორტული ტრაქტიდან (ნაღვლის სადინარიდან) რამოდენიმე ასეული მიკრონის დაშორებით. აღნიშნული დუქტულები ლოკალიზებული იყო დისკუს სივრცეებში. საინტერესოა აღინიშნოს, რომ ამ “ნეოდუქტულების” მიმდებარე სინუსოიდები უფრო განიერი იყო, ვიდრე იმავე მიდამოს სხვა სინუსოიდები (სურ. №9,10,11,12,13,14).

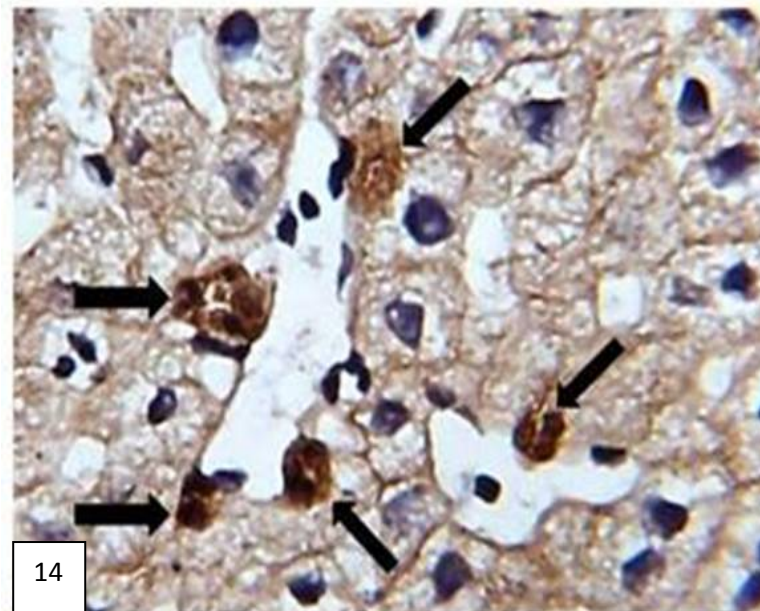
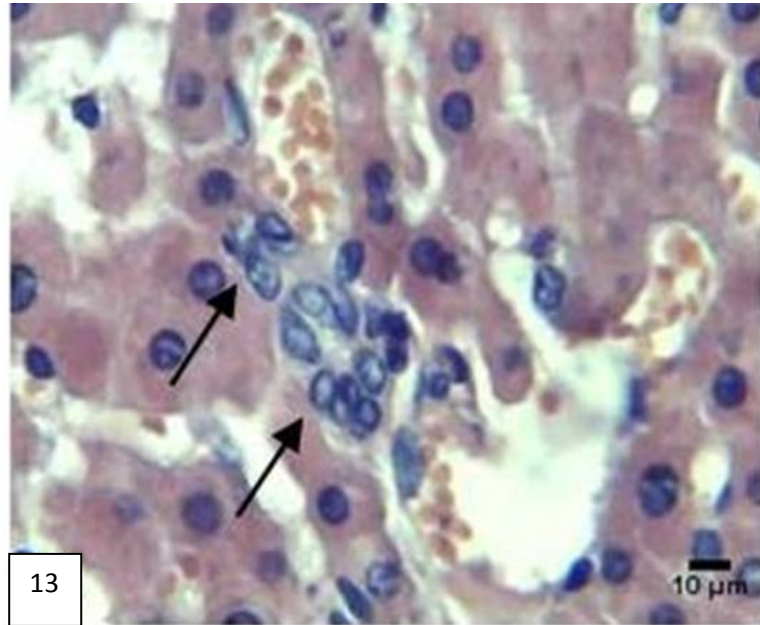


სურ. №9,10. 9 - ისრით მონიშნულია ინტრალობულური დუქტულა; ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, CK, X400; 10 - ისრით მონიშნულია ინტრალობულური დუქტულა; ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, X400, H&E.



სურ. №11,12. 11 - ისრით მონიშნულია ინტრალობულური დუქტულა დისკს სივრცეში; ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, X400, H&E; 12 - ისრებით

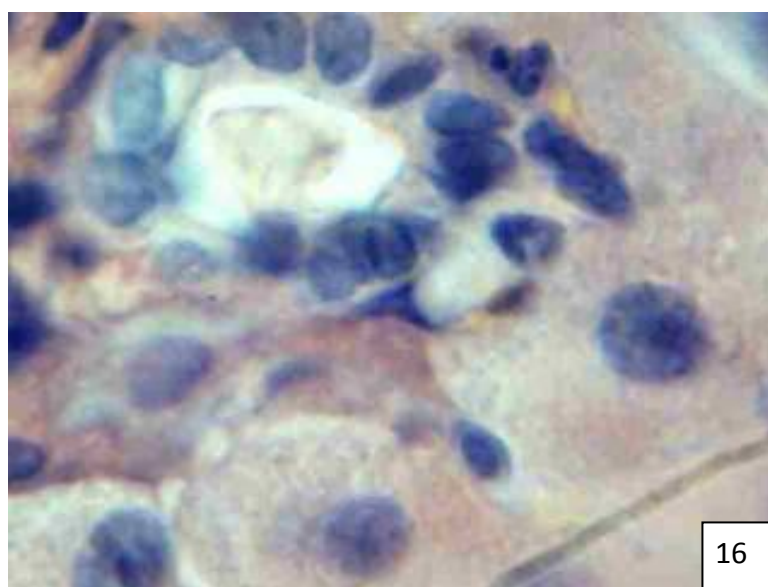
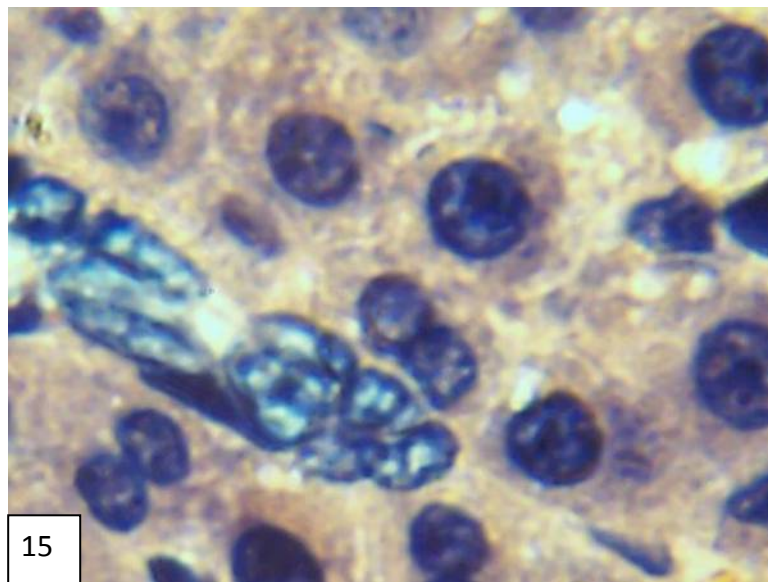
მონიშნულია ინტრალობულური დუქტულები დისეს სივრცეებში; ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, OV-6, X400.



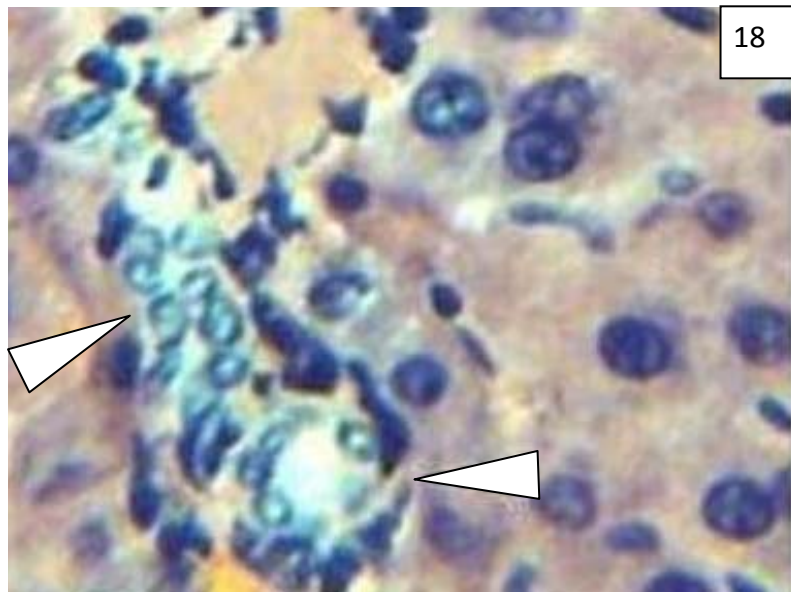
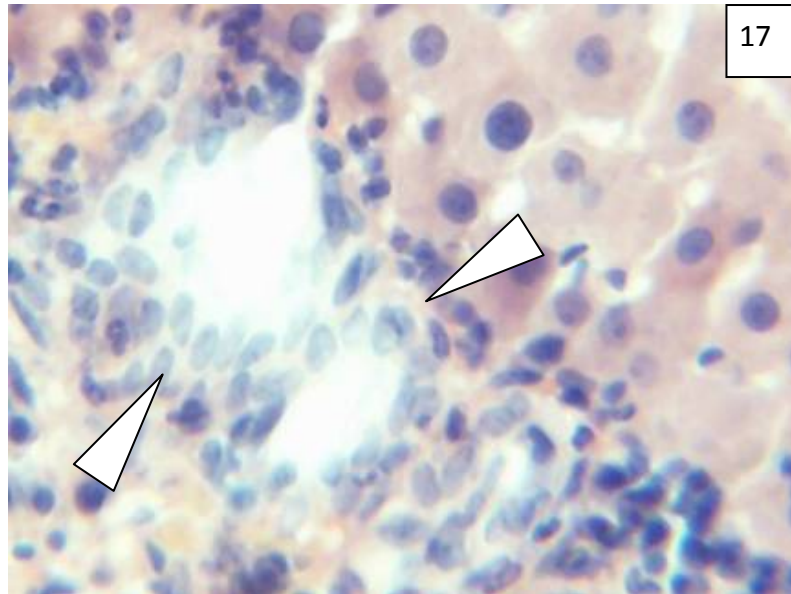
სურ. №13,14 13 - ისრებით მონიშნულია ინტრალობულური დუქტულები დისეს სივრცეებში; დისეს სივრცე გაგანიერებულია; ნსსო-დან 6 საათის

შემდეგ, X400, H&E; 14 - ისრებით მონიშნულია ინტრალობულური დუქტულები დისეს სივრცეში; დისეს სივრცე გაგანიერებულია; ნსსო-დან 12 საათის შემდეგ, CK, X400.

ნეოლუქტულების გამომფენი უჯრედები ჰეპატოციტებზე მცირე ზომისაა, მაგრამ წვრილი ნაღვლის სადინარების გამომფენ ქოლანგიოციტებზე რამდენადმე დიდი. ხასიათდება ოვალური, ზოგჯერ თითისტარა ფორმის ნათელი ბირთვებით და მწირი ციტოპლაზმით (სურ. № 15,16,17,18).

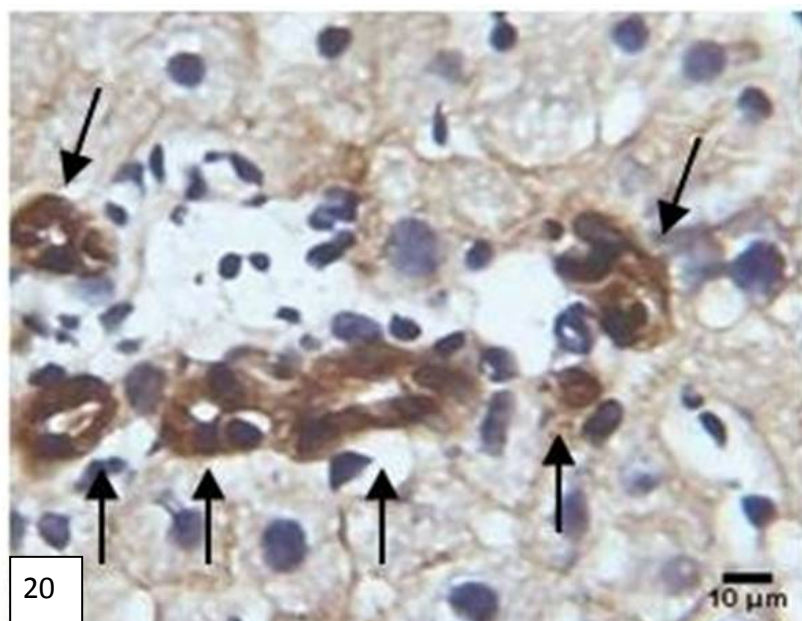
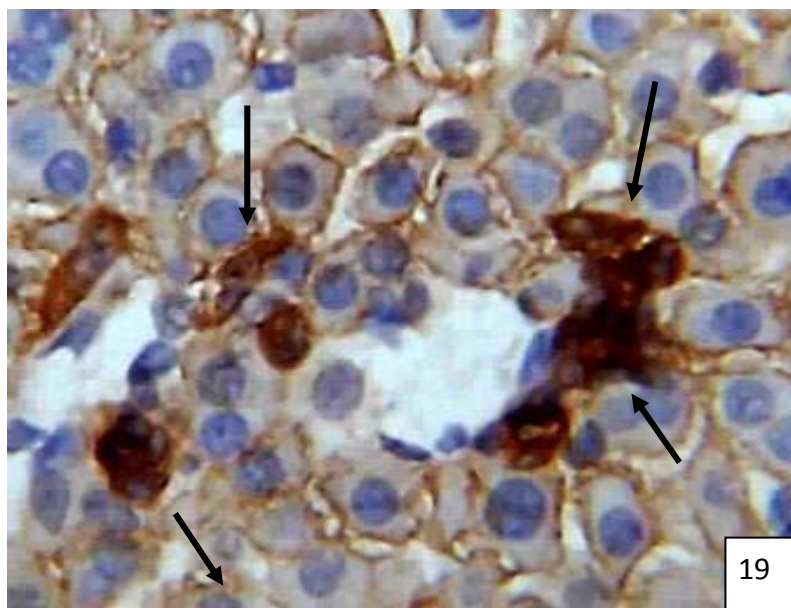


სურ. № 15,16. 15 – ნეოდუქტულები წილაკის სიღრმეში (დისეს სივრცეში),
ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, X400, H&E; 16 – ნეოდუქტულა მოსაზღვრე
ფირფიტის მიმდებარედ, ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, X400, H&E;
ზოგჯერ ისინი ქმნიან ორშრიან, სინციტიუმის მსგავს უჯრედების პლასტებს
(სურ. № 17)

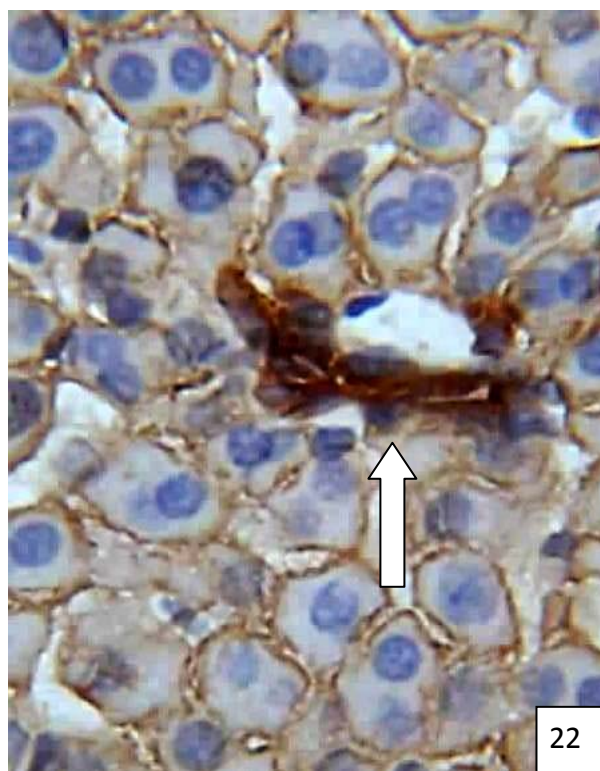
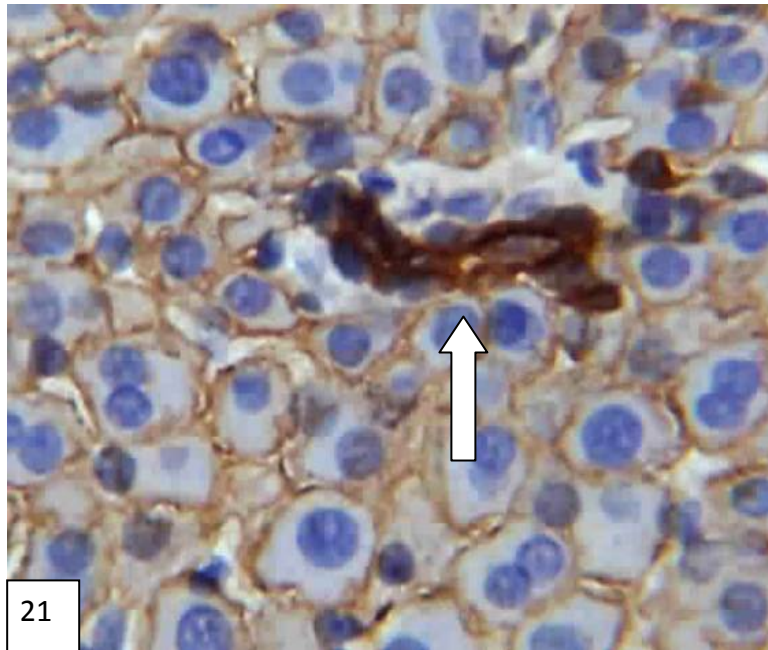


სურ. № 17,18. 17 – ისრებით მინიშნებულია ნეოღუქტულები მოსაზღვრე პირფიტის მიმდებარედ, ნსსო-დან 6 საათის შემდეგ, X400, H&E; 18 – ისრებით მინიშნებულია ნეოღუქტულები წილაკის სიღრმეში ნსსო-დან 12 საათის შემდეგ, X400, H&E;

აღნიშნული უჯრედები იმუნოგატიურია პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის, Ki-67 მიმართ, თუმცა თანაბრად ავლენს პოზიტიურ ექსპრესიას პან-ციტოკერატინების და OV-6 მიმართ (სურ. №19,20,21,22)

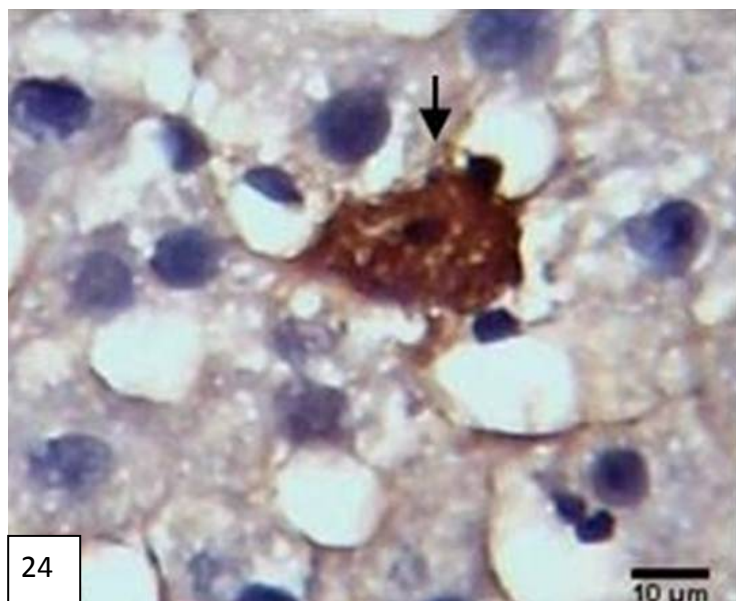
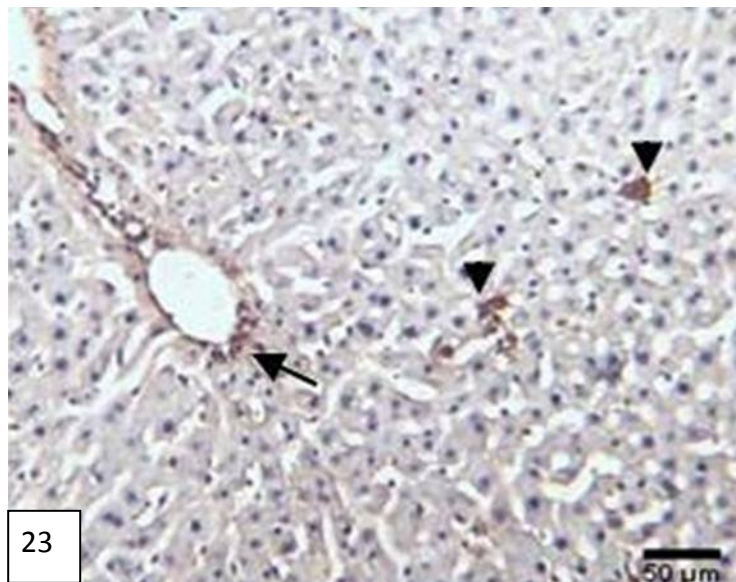


სურ. №19,20. 19 - ისრებით მინიშნებულია CK-პოზიტიური დუქტულები ნსსო-დან 12 საათის შემდეგ, X400; 20 - ისრებით მინიშნებულია OV-6-პოზიტიური დუქტულები ნსსო-დან 12 საათის შემდეგ, X400;

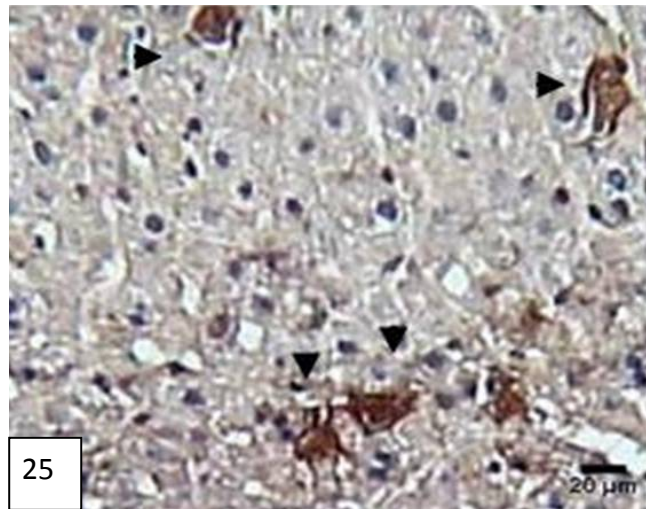


სურ. №21,22. 21 – ისრით მინიშნებულია CK-პოზიტიური დუქტულა ნსსო-დან 24 საათის შემდეგ, X400; 22 - ისრით მინიშნებულია OV-6-პოზიტიური დუქტულა ნსსო-დან 24 საათის შემდეგ, X400;

ნსსო-ის შემდგომ მე-3 და მე-6 საათზე ჰეპატოციტები ავლენდნენ ნეგატიურ ექსპრესიას ყველა ზემოთ აღნიშნული მარკერის მიმართ, მაგრამ მე-12 და 24-ე საათზე ჰეპატოციტების მნიშვნელოვანი რაოდენობა დადებით ექსპრესიას ავლენს პან-ციტოკერატინების მიმართ (სურათი № 23,24,25).



სურ. №23,24. 23 – ისრით მინიშნებულია CK-პოზიტიური დუქტულები პორტულ ველში, სამკუთხედებით მინიშნებულია CK-პოზიტიური ჰეპატოციტები, ნსსო-დან 12 საათის შემდეგ, X250; 24 - ისრით მინიშნებულია CK-პოზიტიური ჰეპატოციტი, ნსსო-დან 12 საათის შემდეგ, X400;



სურ. №25. სამკუთხედებით მინიშნებულია CK-პოზიტიური ჰეპატოციტები, ნსსო-დან 24 საათის შემდეგ, X250.

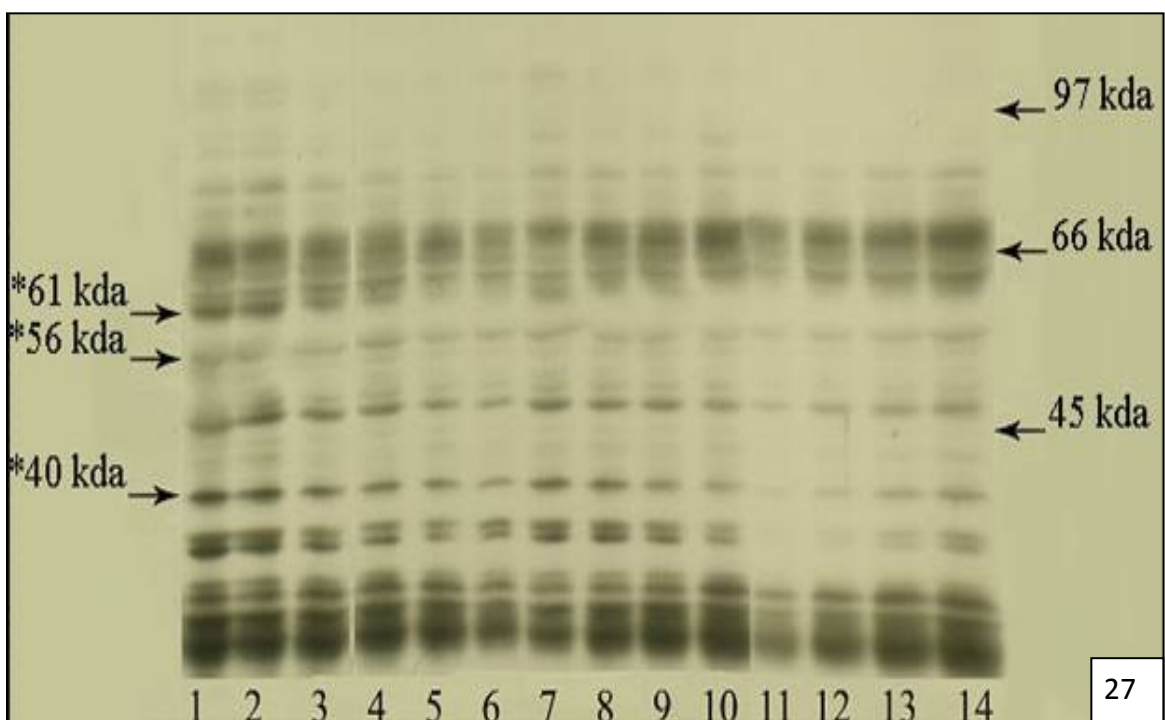
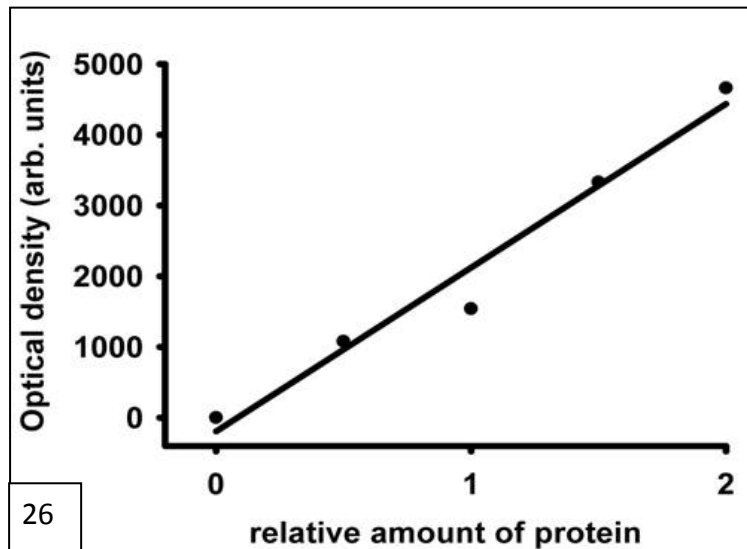
ელექტროფორეზი და იმუნობლოტიინგი

ნსსო-დან 24 საათის შემდეგ ვირთაგვების ღვიძლის ჰომოგენატის ფრაქციების Western blot აუტორადიოგრაფებზე (იხ. მეთოდები) ლაქები შეიღება თავის მონოკლონური [AE1+AE3] ანტი pan Cytokeratin-ული (Abcam, ab961) ანტისხეულებით. ზოლების მთლიანი ოპტიკური სიმკვრივის დამოკიდებულებას ჩატვირთული ცილების რაოდენობასთან ხაზოვანი დამოკიდებულება ჰქონდა (იხილეთ კალიბრაციის მრუდი (სურ. №26).

თითოეული ზოლი მიღებული იყო ერთი ნიმუშიდან. ზოლები 1-5 წარმოადგენს ნსსო-დან 24 საათის შემდეგ აღებულ ნიმუშებს, ზოლები 6-10 – ცრუდ ნაოპერაციები ვირთაგებიდან აღებულ ნიმუშებს. ზოლები 11-14 წარმოადგენს საკონტროლო ვირთაგვების ღვიძლის უბირთვო ჰომოგენატისაგან მიღებულ 4 სტანდარტულ ზოლს ჩატვირთული ცილების შემდეგი რაოდენობებით: 15 , 30, 45 და 60 μg - შესაბამისად. გელის მარჯვენა მხარეს

ისრებით ნაჩვენებია მოლეკულური წონის სტანდარტები. გელის მარცხენა მხარეს ისრებით ნაჩვენებია იმ ციტოკერატინების პოზიცია და მოლეკულური მასა, რომელთა რაოდენობამაც სარწმუნოდ მოიმატა (*) (სურ. №27).

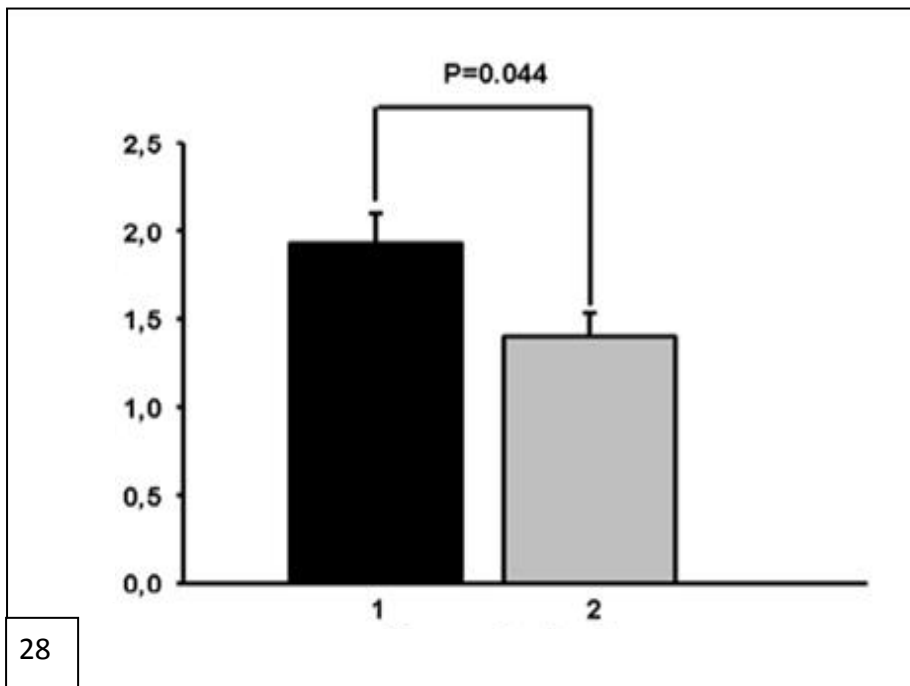
მონოკლონური ანტისხეულების კოქტეილი მუაგა და ფუძე ციტოკერატინების მიმართ შეუკავშირდა ორივე ჯგუფის (საკონტროლო და ნსსო-დან 24 სთ-ის შემდეგ) შემდეგი მოლეკულური მასის მქონე პროტეინურ ჯაჭვებს: 66-68 დუპლეტი, 65, 64, 56, 50, 44 და 40 KDa დუპლეტი. თუმცა, ნაღვლის შეგუბების მქონე ვირთაგვებში გამოვლინდა კიდევ ერთი დამატებითი 61 KDa მოლეკულური მასის პროტეინი. მონიშნული ჯაჭვების მოლეკულური მასა შეესაბამება ციტოკერატინების მასხასიათებლებს. ციტოკერატინების საერთო რაოდენობის ოპტიკური სიმკვრივე პროპორციული იყო ექსპერიმენტის შედეგად მიღებული პროტეინების რაოდენობისა.



სურ. №26,27 (აღწერილობა იხილეთ ტექსტში, გვ. 69-70)

ციტოკერატინების საერთო რაოდენობა

ექსპერიმენტის შედეგად ციტოკერატინების საერთო რაოდენობა მნიშვნელოვნად იცვლებოდა ($F_{1,9}=6.05$, $P=0.039$). საკვლევი ჯგუფში (ნსსო-დან 24 საათის შემდგომ) საერთო ციტოკერატინების საშუალო შეფარდებითი მოცულობა 37%-ით აღემატებოდა საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების მაჩვენებელს ($t=2.46$, $P=0.044$) (სურ. №28).



სურ №28. 24 საათიანი ექსპერიმენტის 2 ჯგუფის ვირთაგვის ღვიძლის მთლიანი პანციტოკერატინების საშუალო ფარდობითი რაოდენობა (იხ. მეთოდები). ცთომილების ხაზები გამოხატავს საშუალოების სტანდარტულ ცთომილებას: 1 – საკვლევი ჯგუფის ვირთაგვებში. 2 – ცრუდ ნაოპერაციებ ვირთაგვების ჯგუფში. ჯუფებს შორის გასხვავება სარწმუნოა ორ-კუდიანი t -test-ით ($P=0.044$).

ცალკეული (ინდივიდუური) ციტოკერატინები

SDS ელექტროფორეზის გამოყენებით საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებს შორის შედარდა ცალკეული ციტოკერატინების მაჩვენებლებიც. ვინაიდან დაფიქსირდა CK –პოზიტიური ღვიძლის უჯრედების რიცხვის და ციტოკერატინების საერთო რაოდენობის მნიშვნელოვანი მატება, ინდივიდური ციტოკერატინების შესაფასებლად გამოვიყენეთ ერთფაქტორიანი ტ-ტესტი (one-tailed t-test). ნაღვლის შეგუბების მქონე ვირთაგვებში დაფიქსირდა ციტოკერატინების ყველა ფრაქციის საშუალო რაოდენობის ზრდა საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, რაც ზოგადად მიუთითებს ციტოკერატინების რაოდენობრივ მატებაზე ნსსო-ს პირობებში. განსაკუთრებით მნიშვნელოვანი მატება დაფიქსირდა შემდეგი მოლეკულური მასის ციტოკერატინებისათვის: 61 KDa ($t=2.15$, $p=0.042$); 56 KDa ($t=2.20$, $p=0.038$) და 40 KDa ($t=1.99$, $p=0.047$) (იხ. სურ. №27).

ბანხილვა

ზოგადად მიხნეულია, რომ ნაღვლის სადინარების (მათი პროფილების) რაოდენობრივი მატება შესაძლოა დაკავშირებული იყოს:

ა) უკვე არსებული ნაღვლის სადინარების პროლიფერაციასთან; ამასთან, მოპროლიფერაციე დუქტულები ინარჩუნებენ ადრე არსებულ ნაღვლის სადინარებთან მსგავსებას;

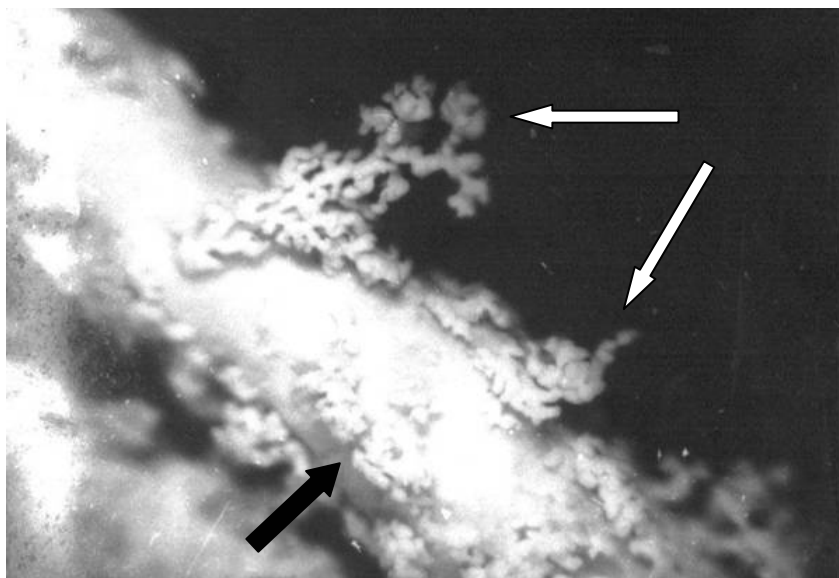
ბ) სხვა უჯრედების პროლიფერაციასთან (მათ შორის ღეროვანი უჯრედების)

გ) სხვა უჯრედების ქოლანგიოციტებად ან ქოლანგიოციტების მსგავს უჯრედებად ტრანსდიფერენციაციასთან (მაგალითად, ჰეპატოციტების გარდაქმნით დუქტულურ ეპითელიოციტებად).

დუქტულური რეაქციის ტიპებს - “ტიპურს” და “ატიპიურს” - განსაზღვრავს ყველა ჩამოთვლილი მექანიზმი, რომლებიც სხვადასხვა ინტენსივობით ვითარდება ღვიძლის სხვადასხვა პათოლოგიური მდგომარეობის დროს (Tavoloni, 1987; Yamada et al., 1987; Nakanuma, Ohta, 1986; Rubin et al., 1965). მეტიც, ნაჩვენებია რომ ნსსო-ის ექსპერიმენტულ მოდელშიც, პათოლოგიური მდგომარეობის განვითარების სხვადასხვა ვადაზე ხდება ზემოაღნიშნული სხვადასხვა მექანიზმების ასიმეტრიული ინტენსიფიკაცია. მაგალითად, მდრღნელების ღვიძლში ტიპური დუქტულური რეაქცია თვალსაჩინოა ნსსო-დან 3-7 დღის შემდეგ და უფრო გვიან ვადებზეც (Georgiev et al., 2008). ჩვენი ადრეული კვლევის შედეგებიც ადასტურებს ქოლანგიოციტების და ჰეპატოციტების მიტოზების გააქტივებას ქოლედოქუსის გადაკვანძვიდან მე-3-4 დღეს. მაგრამ ამასთანავე, ჩვენს მიერ დაფიქსირებული იყო დუქტულების (მათი პროფილების) რაოდენობის მატება ნსსო-დან უკვე რამოდენიმე საათის შემდგომ, როდესაც ღვიძლში ვერ აღმოვაჩინეთ მიტოზის ფიგურები. ამუამად ეს დასკვნა გადამოწმებული იქნა

პროლიფერაციული მარკერის Ki-67-ის გამოყენებით. ნსსო-დან 24 საათის განმავლობაში ჩვენ ვერ გამოვავლინეთ Ki-67 -პოზიტიური უჯრედები. ეს ფაქტი ამყარებს მოსაზრებას, რომ ნაღვლის დუქტულების რაოდენობის მატება ნსსო-დან მე-3, მე-6, მე-12 და 24-ე საათებზე, არ არის დაკავშირებული უჯრედების პროლიფერაციასთან.

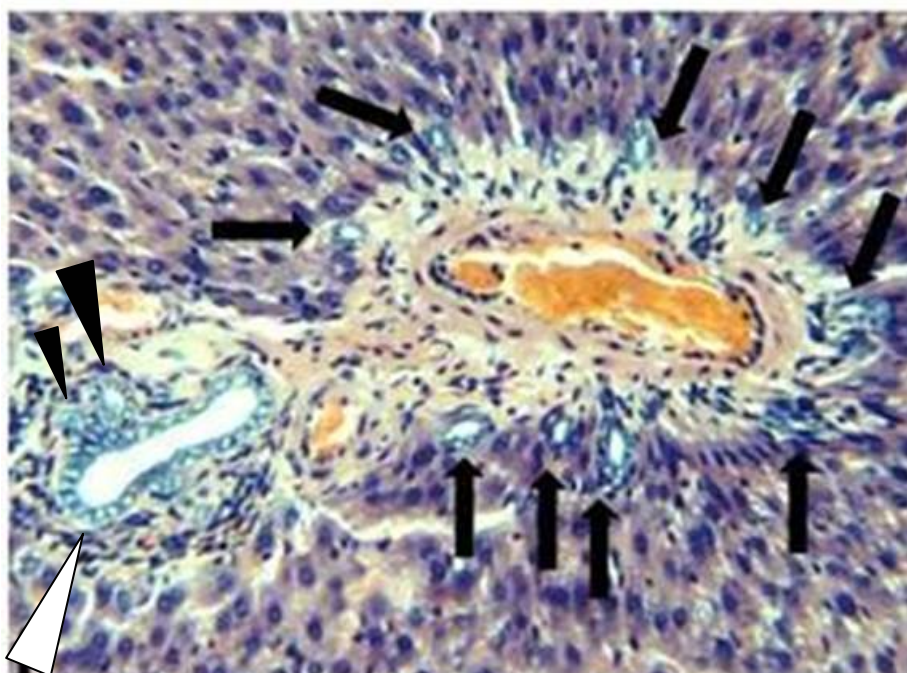
ერთ-ერთი შესაძლო წყარო დუქტულური პროფილების მატებისა შეიძლება იყოს სანაღველე ლორწოვანი ჯირკვლების (glandulae mukoze bilioze) სანათურები, რომლებიც განიერდება ნსსო-ით გამოწვეული ბილიური წნევის მატების გამო. ეს დებულება რომ უფრო ადვილად გასააზრებელი გახდეს, პროფ. კორძაიას ნებართვით მოვიტანთ რამოდენიმე ილუსტრაციას მისი არქივიდან:



ეს ილუსტრაციები წარმოადგენს ადამიანის და ძაღლის ღვიძლში ნაღვლის სადინარების კოროზიული პრეპარატების ფოტოებს, რომლებზეც კარგად ჩანს სანაღვლე ლორწოვანი ჯირკვლების ტვიფრებიც (მინიშნებულია ისრებით).

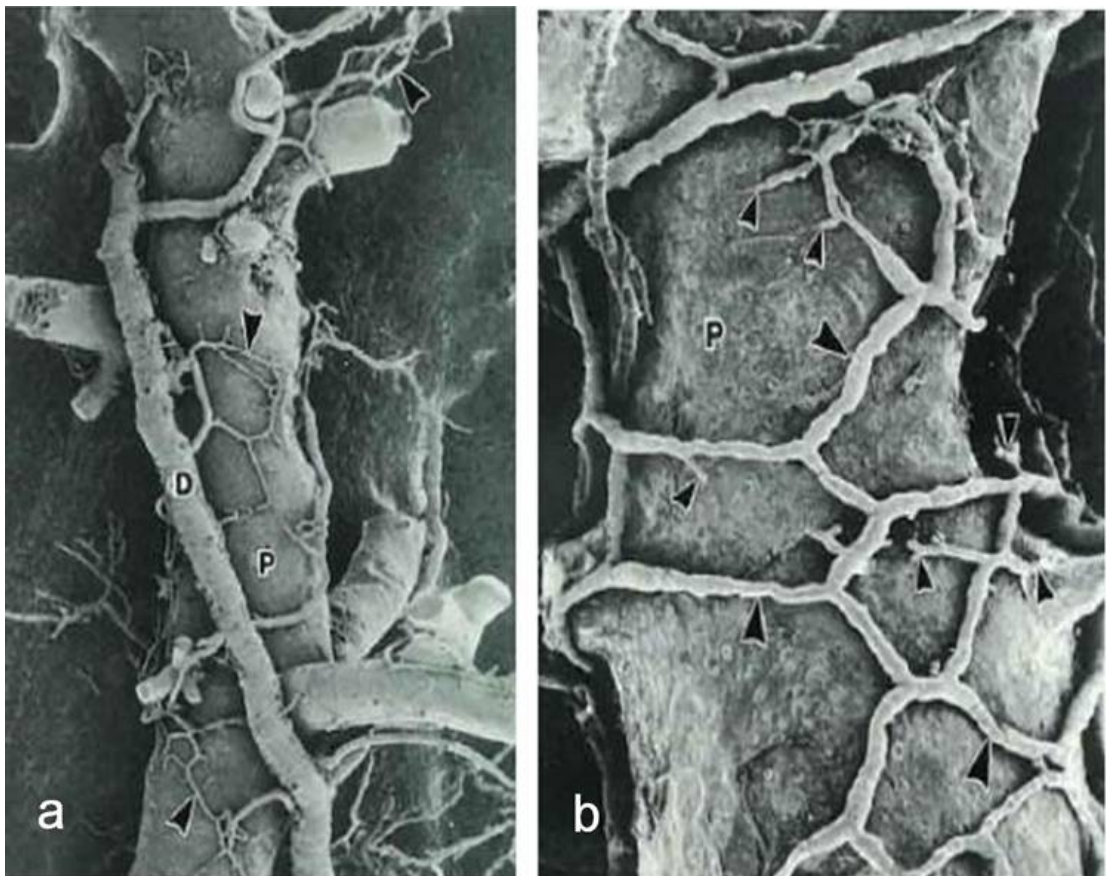
თუმცა საგულისხმოა, რომ ვირთაგვებს, განსხვავებით ადამიანებისაგან, ასევე ძაღლების, კატების, ზღვის გოჭების და სხვა ლაბორატორიული ცხოველებისაგან, გააჩნია სანაღვლე ლორწოვანი ჯირკვლების მცირე რაოდენობა. ამასთანავე, მათი უმეტესობა განლაგებულია ღვიძლგარეთა და არა ღვიძლში ნაღვლის სადინრებზე. ზოგადად მიჩნეულია, რომ ლორწოვანი ჯირკვლების რაოდენობა პირდაპირ კავშირშია ნაღვლის ბუშტის არსებობასთან და, შესაბამისად, ამ ჯირკვლების მუკოზურ-ბიკარბონატული სეკრეტით ნაღვლის ბუშტიდან გადმოსროლილი კონცენტრირებული ნაღვლის ტიტრაციის საჭიროებასთან.

ჩვენს მიერ ნსსო-ის შემდგომ უახლოეს ვადებზე აღმოჩენილი ახალი დუქტულური პროფილების სანაღვლე ლორწოვანი ჯირკვლების სანათურებთან გაიგივებას ასევე ნაკლებად სარწმუნოდ ხდის მათი ტოპოგრაფია. ჩვენ ვაჩვენებთ, რომ დუქტულური პროფილები განლაგებულია პორტული ვენის პერიმეტრზე, ნაღვლის სადინარებისაგან მნიშვნელოვანი დაცილებით, ხშირად მის საწინააღმდეგო მხარეს. ამგვარად, ნაკლებად სავარაუდოა, რომ დუქტულური რეაქცია დაკავშირებული იყოს სანაღვლე ლორწოვანი ჯირკვლების სანათურის გაგანიერებასთან.



წარმოდგენილი სურათი ჩვენს მიერ დაფიქსირებულია ნსსო-დან 24 საათის შემდეგ. თუ ნაღვლის სადინარის (მინიშნებულია თეთრი სამკუთხედით) მიმდებარე დუქტულური პროფილები (მინიშნებულია შავი სამკუთხედებით) კიდევ შეიძლება გაიგივებულ იქნას სანაღველე ლორწოვან ჯირკვლებთან, სადინარიდან დაშორებული დუქტულური პროფილებისათვის (მინიშნებულია შავი ისრებით) ასეთი დაშვება არარეალურია.

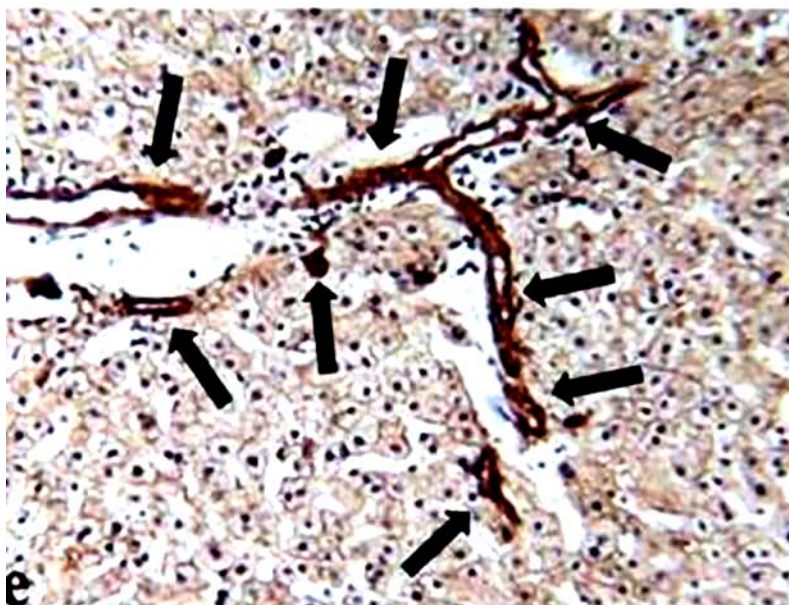
T. Murakami-მ თანაავტორებთან ერთად (2001) ვირთაგვების ნაღვლის გზების კოროზიული პრეპარატების მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპით შესწავლისას აღწერა პერიპორტული ბილიარული წნული (Murakami et al., 2001). ამ წნულებში ნაღვლის დუქტულები ერთმანეთს უკავშირდება წვრილი ანასტომოზების მეშვეობით, რომლებიც ქმნის ერთიან ბადისმაგვარ წნულს პორტული ვენის ტოტების ირგვლივ. ნაღვლის დუქტულების ეს სისტემა ქმნის უფრო მსხვილ დუქტულებს, რომლებიც პორტულ ტრაქტში ქმნის დვიძღშიდა ნაღვლის სადინარებს.



ა,ბ - კარის ვენის ტოტი (კ), ნაღვლის სადინარის ტოტი (დ), პერიპორტული ბილიური წნული (მინიშნებულია შავი სამკუთხედებით). ფოტო მოტანილია პროფესორ მურაკამის ნებართვით.

ვფიქრობთ, სწორედ პერიპორტული ბილიარული წნული წარმოადგენს იმ კონსტრუქციას, რომლის შემადგენელი დუქტულების გაფართოებაც განაპირობებს დუქტულურ რეაქციას - პერიპორტულად “ახალი” დუქტულური პროფილების გამოვლენას - ნაღვლის შეგუბებიდან უკვე რამოდენიმე საათში.

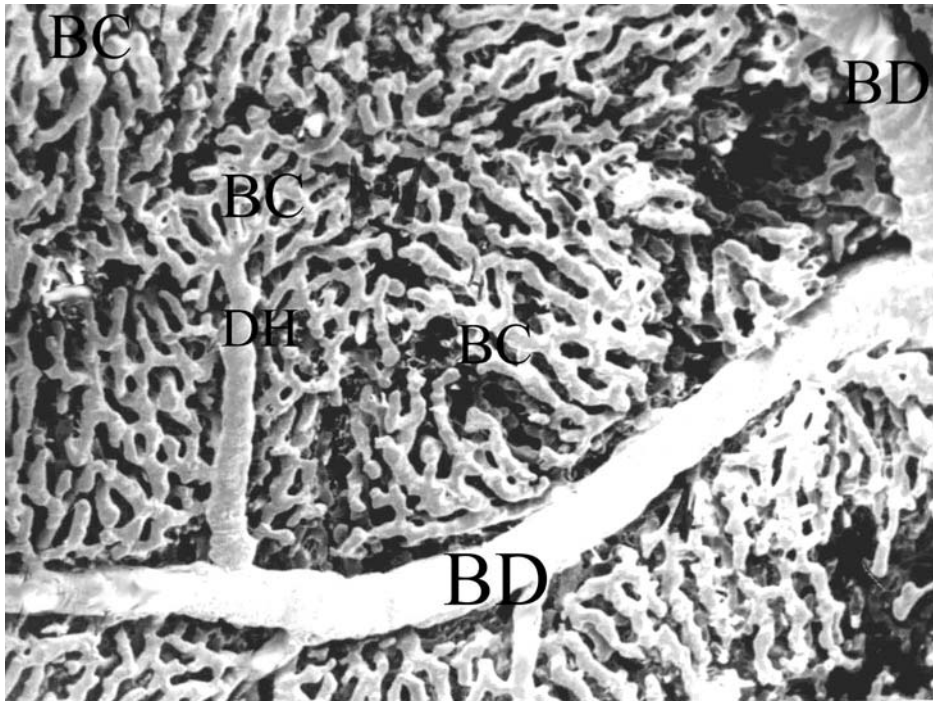
ჩვენს მიერ რამოდენიმეჯერ იქნა დაფიქსირებული CK-პოზიტიური კონსტრუქცია, რომელიც გარს ეხვეოდა კარის ვენის ტოტებს. ვფიქრობთ, სწორედ ასე უნდა გამოიყურებოდეს აღნიშნული პერიპორტული ბილიური წნული ჰისტოლოგიურ ანათლებზე;



ისრებით მინიშნებულია CK-პოზიტიური პერიპორტული ბილიური დუქტულების კონსტრუქციები, რომლებიც გარს ეხვევა კარის ვენის ტოტებს

თუმცა, როგორც ჩვენს მიერ იქნა ნაჩვენები, ნაღვლის დუქტულები ნსსო-დან 6 საათში ვლინდება ასევე წილაკის შიგნით, პორტული ტრაქტიდან საკმაოდ მოშორებით. ნათელია, რომ პერიპორტული ბილიური წნული არ

შეიძლება იყოს დაკავშირებული ამ სტრუქტურებთან. ამდენად, ისინი უნდა განვიხილოთ იმ უწვრილესი ნაღვლის დუქტულების, მათ შორის, ჰერინგის არხების განივ- და გასწვრივ ჭრილებად, რომლებიც, თანახმად საერთაშორისო კონსენსუსისა, გადაკვეთს მოსაზღვრე ფირფიტას და ვრცელდება საკმაოდ შორს, წილაკების სიღრმეში (Roskams, et al., 2004).



ვირთაგვის ნაღვლის გზების კოროზიული პრეპარატი, მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპია. BD – ნაღვლის სადინარი, DH – ჰერინგის მილაკი, BC – ნაღვლის კაპილარები. ფოტო მოტანილია პროფ. კორძაიას ნებართვით, მისი პირადი არქივიდან

დუქტულური რეაქციის შემადგენელი პროფილები შესაძლოა ასევე წარმოადგენდეს ნაღვლის სადინარების უწვრილეს ანასტომოზებს, რომელიც აღწერილი იქნა ვირთაგვის ნაღვლის გზების კოროზიული პრეპარატების მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპით შესწავლისას (Murakami et al., 2001).

რატომ არ ვლინდება ჩვენს მიერ ნსსო-დან აღრეულ ვადებზე აღწერილი დუქტულური პროფილები საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვებში?

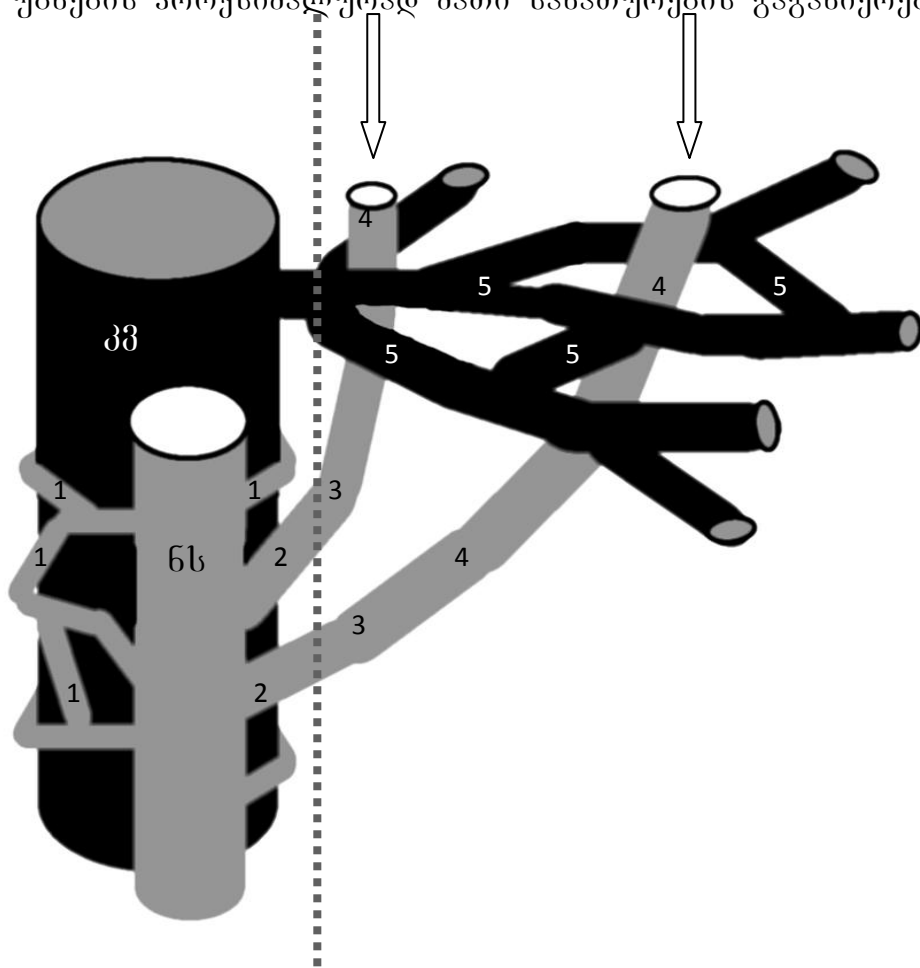
მიჩნეულია, რომ ნორმულად, ნაღვლის ნორმული წნევის პირობებში ინტრალობულური ნაღვლის დუქტულების და ჰერინგის არხების დიამეტრი იმდენად მცირეა, რომ სინათლის მიკროსკოპით მათი ვიზუალიზაცია ძალიან იშვიათად ხერხდება (Roskams, et al., 2004)

დუქტულების გამოჩენა ინტრალობულურად შესაძლოა აიხსნას ბილიური ჰიპერტენზიით, რაც იწვევს ნაღვლის სადინარების სისტემის გაგანიერებას და მათ “გამომჟღავნებას”. აღნიშნული “ნეოდუქტულები” ლოკალიზებულია დისსეს სივრცეებში, რაც ადასტურებს ამ მოსაზრებას, ვინაიდან პერისინუსოიდური სივრცე ერთადერთი შესაძლო ადგილია, სადაც შესაძლებელია ნაღვლის დუქტულებისა და ჰერინგის არხების, ანდა უწვრილესი ბილიური ანასტომოზების განთავსება. უწვრილესი დუქტულების ამგვარი ლოკალიზაციით და ნაღვლის შეგუბების დროს მათი გაგანიერებითა და, შედეგად გამოწვეული სინუსოიდების კომპრესიით შეიძლება აიხსნას ჩვენს მიერ ზემოთ აღწერილი სინუსოიდური კაპილარების გაგანიერება (რასაც უპირატესად ადგილი უნდა ჰქონდეს კომპრესიის მიდამოების პროქსიმალურ სეგმენტებში) (იხ. სურ. №13,14,19).

პროფესორ შალვა თოიძისა და მისი მოწაფეების მიერ ღვიძლის მილოვანი სტრუქტურების სისტემური კვლევის შედეგად მიჩნეულია, რომ კარის ვენის, ნაღვლის სადინარისა და ღვიძლის არტერიის დატოტიანებისას წვრილი ტოტების გამოყოფის (სადინარის შემთხვევაში კი – ჩართვის) კუთხეები განსხვავებულია. კერძოდ, ღვიძლის არტერიისა და ნაღვლის სადინარის ღვიძლშიდა მონაკვეთების წვრილი განტოტებები უფრო მახვილი კუთხით გამოეყოფიან ან უკავშირდებიან შესაბამის ტოტებს, ვიდრე კარის ვენის განტოტებები. ასევე სავარაუდოა (და ეს ირიბად დასტურდება ღვიძლის მილოვანი სტრუქტურების კოროზიული პრეპარატების მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპით გამოკვლევის შედეგების გაანალიზებით – Motta, et al., 1978, Kordzaia, 1990), რომ ყველაზე წვრილი პორტული ვენებიდან სინუსოიდების განშტოებების კუთხეები განსხვავდება ინტერლობულურ ნაღვლის სადინარებთან უწვრილესი დუქტულების ჩართვის კუთხისგან.

ქვემოთ მოგვყავს ჩვენს მიერ შექმნილი სქემატური სურათი, რომელიც წარმოადგენს აღნიშნული დებულების ილუსტრაციას.

აღნიშნული სქემა კარგად უჩვენებს ინტრალობულურად აღმოჩენილი დუქტულური პროფილების კავშირს ინტერლობულურ ნაღვლის სადინარებთან. ასევე თვალსაჩინო ხდება, რომ ნსსო-ის შემდეგ განვითარებული ბილიური ჰიპერტენზიის გამო გაგანიერებულ ინტრალობულურ დუქტულებს (მათ შორის, ჰერინგის მილაკებს) “შესაძლებლობა აქვთ” მოახდინონ მიმდებარე სინუსოიდების კომპრესია მოცემული უბნების პროქსიმალურად მათი სანათურების გაგანიერებით.



სქემა: კვ - კარის ვენა, ნს - ნაღვლის სადინარი, 1 - პერიპორტული ბილიური წნული, 2 - ნაღვლის დუქტულის ინტრაპორტული სეგმენტი, 3 - ნაღვლის დუქტულის ინტრალობულური სეგმენტი, 4 - ჰერინგის დუქტულა, 5 - სისხლის სინუსოიდური კაპილარი, - მოსაზღვრე ფირფიტის საპროექციო ხაზი, ⇔ - დუქტულური პროფილები

აღსანიშნავია, რომ ნაღვლის დუქტულების გაგანიერების პარალელურად ვითარდება მათი გამომფენი ეპითელიოციტების ჰიპერტროფიაც.

“ნეოდუქტულების” შემადგენელი უჯრედები ხასიათდება ნათელი, ოვალური, ზოგჯერ თითისტარა ფორმის ბირთვებით და მწირი ციტოპლაზმით. ისინი უფრო დიდია, ვიდრე ნორმული დუქტულების გამომფენი კუბური ეპითელიუმის უჯრედები და უფრო მცირე – ვიდრე ჰეპატოციტები. მაღალი ბირთვულ-ციტოპლაზმური ინდექსი, ბირთვების ნათელი ფერი და “აგრეგაციული” განლაგება ადასტურებს ამ უჯრედების მაღალ რეაქციულობასა და უმწიფრობას. საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით აღნიშნულ უჯრედთა ზომაში მატება (როგორც აღინიშნა, საკონტროლო ჯგუფში მათი აღმოჩენა ვერ ხერხდება მცირე ზომების გამო) მიუთითებს, რომ ბილიური ჰიპერტენზია და მისი თანმხლები მულტიპროფილური მექანიზმები ნსსო-დან უკვე რამოდენიმე საათში იწვევს უჯრედების ტრანსფორმაციის ინიციაციას.

ჩვენი კვლევის მონაცემებით ასევე დასტურდება ჰეპატოციტების გარკვეული ნაწილის ტრანსფორმაცია ნსსო-დან 12 და 24 სთ-ის შემდეგ. ეს უჯრედები იცვლის ციტოკერატინ-ნეგატიურ პროფილს და ავლენს პოზიტიურ ექსპრესიას პან-ციტოკერატინული მარკერის მიმართ.

აღნიშნულ მოსაზრებას ადასტურებს იმუნობლოტინგის შედეგებიც. ნსსო-დან 24 სთ-ის შემდეგ გამოვლინდა საერთო ციტოკერატინების რაოდენობის საგნობი მატება (37%-მდე). საერთო ციტოკერატინების ასეთი მატება არ შეიძლება აიხსნას მხოლოდ “დუქტულური რეაქციით”. ვფიქრობთ, ახლად სინთეზირებული ციტოკერატინების ძირითად წყაროს უნდა წარმოადგენდეს ჰეპატოციტები. ინდივიდური ციტოკერატინების იმუნორეაქციულობის გაანალიზებამ ცხადყო, რომ მათ შორის ყველაზე მნიშვნელოვნად გაიზარდა CK7 (56 KDa) და CK19 (40 KDa) რაოდენობა. CK7 ცნობილია როგორც ღვიძლის ღეროვანი უჯრედების მარკერი და მისი ექსპრესია ვლინდება როგორც ოვალურ უჯრედებში, ასევე ქოლანგიოციტებში. მაგრამ ღვიძლის სხვადასხვა პათოლოგიური მდგომარეობების დროს ის ასევე შეიძლება გამოვლინდეს ჰეპატოციტებშიც (Libbrecht, 2000).

ჩვენს ექსპერიმენტში CK7 მნიშვნელოვანი რაოდენობრივი მატება დაკავშირებული უნდა იყოს სწორედ ჰეპატოციტებთან. ჩვენს მასალაზე დადასტურებულია ჰეპატოციტების მიერ CK მარკერის ექსპრესია, ამასთანავე

არ აღინიშნება OV-6-პოზიტიური (ოვალური უჯრედების) რიცხვის მატება, რაც გამორიცხავს ჩვენს მიერ შედეგების შეცდომით ინტერპრეტაციას.

ლიტერატურულ წყაროთა მიმოხილვისას ჩვენ გავარჩიეთ მრავალი მონაცემი ჰეპატოციტების დუქტულური ტრანსდიფერენციაციის შესახებ. ჩვენი მონაცემები კი მიუთითებს, რომ ასეთივე დუქტულური ტრანსდიფერენციაცია შეიძლება იწყებოდეს ნსსო-ის ადრეულ ვადებზევე. ამის დამატებითი არგუმენტი (თუმცა ირიბი) შეიძლება იყოს ისიც, რომ ჩვენს ექსპერიმენტებში ნსსო-დან 24 სთ-ის შემდეგ საგრძნობლად მოიმატა CK19-ის რაოდენობამაც. ნორმაში მისი დადებითი ექსპრესია აღინიშნება მხოლოდ ბილიურ ეპითელიუმსა და ოვალურ უჯრედებში. ამასთანავე, მისი ექსპრესია ნაჩვენებია სხვადასხვა ექსპერიმენტულ მოდელებში და ღვიძლის პათოლოგიების დროსაც, მათ შორის (და რაც ჩვენთვის განსაკუთრებით საყურადღებოა), ჰეპატოციტების ტრანსდიფერენციაციის პროცესშიც.

ამდენად, ჩვენი ექსპერიმენტის შედეგები ადასტურებს ჰიპოთეზას, რომ ნსსო ხელს უწყობს ჰეპატოციტების დუქტულურ ტრანსდიფერენციაციას ბილიური ეპითელიოციტების მიმართულებით. აღნიშნული მექანიზმით ხსნიან ღვიძლის პარენქიმის სხვადასხვა პათოლოგიის დროს განვითარებული ატიპიური დუქტულური რეაქციის პათოგენეზს.

ამასთანავე, ჰეპატოციტების ტრანსდიფერენციაციის ინიციაციას ნაღვლის შეგუბების ასე ადრეულ ვადებზე, როგორც ეს ჩვენ ვაჩვენეთ, ლიტერატურაში ანალოგი არ მოეძებნება.

დასკვნები

დუქტულური რეაქცია იწყება ნსსო-დან რამოდენიმე საათში;

ის წარმოადგენს უწვრილესი ნაღვლის სადინრების - სანაღველე დუქტულების, ჰერინგის არხების და პერიპორტული ბილიური წნულის გაგანიერების და არა ნაღვლის სადინრების (და მათი გამომფენი ეპითელიური უჯრედების) პროლიფერაციის შედეგს;

ნსსო-ს ადრეული ვადებიდანვე თან სდევს ბილიარული ეპითელიუმის უჯრედების ფორმის და ზომის ცვლილება და ჰეპატოციტების მიერ ციტოკერატინული პროფილის შეცვლა, რაც მათი დუქტულური ტრანსფორმაციის ინიციაციას წარმოადგენს;

ნსსო შემდგომი დუქტულური რეაქცია წარმოადგენს თანდათანობით განვითარებად და მულტიკომპონენტულ ფენომენს, რომლის სრულად შეცნობისათვის საჭიროა პროცესების უწყვეტი დინამიკით გამოკვლევა ნაღვლის შეგუბების დაწყებისთანავე.

ნაშრომის შესრულებაში გაწეული დიდი დახმარებისათვის მაღლობას ვუსდი მედიცინის დოქტორს, მიხეილ ჯანგაპაძეს, ბიოლოგიურ მეცნიერებათა დოქტორს, პროფესორ რევაზ სოლომონიას, მედიცინის დოქტორს ეკა ბერიშვილს და ოთარ ფილიშვილს

ლიტერატურა

1. Abe, T., T. Arai, A. Ogawa, T. Hiromatsu, A. Masuda, T. Matsuguchi, Y. Nimura and Y. Yoshikai (2004). "Kupffer cell-derived interleukin 10 is responsible for impaired bacterial clearance in bile duct-ligated mice." *Hepatology* **40**(2): 414-423.
2. Albot, G. and A. M. Jezequel (1962). "Le passage entre les canalicules biliaires trabeculaires et les canaux biliaires interlobulaires chez l'homme." *Presse Med* **70**: 1495-1498.
3. Alison, M., M. Golding, E. N. Lalani, P. Nagy, S. Thorgeirsson and C. Sarraf (1997). "Wholesale hepatocytic differentiation in the rat from ductular oval cells, the progeny of biliary stem cells." *J Hepatol* **26**(2): 343-352.
4. Alpini, G., E. Aragona, M. Dabeva, R. Salvi, D. A. Shafritz and N. Tavoloni (1992). "Distribution of albumin and alpha-fetoprotein mRNAs in normal, hyperplastic, and preneoplastic rat liver." *Am J Pathol* **141**(3): 623-632.
5. Alpini, G., S. S. Glaser, Y. Ueno, L. Pham, P. V. Podila, A. Caligiuri, G. LeSage and N. F. LaRusso (1998). "Heterogeneity of the proliferative capacity of rat cholangiocytes after bile duct ligation." *Am J Physiol* **274**(4 Pt 1): G767-775.
6. Alpini, G., R. Lenzi, L. Sarkozi and N. Tavoloni (1988). "Biliary physiology in rats with bile ductular cell hyperplasia. Evidence for a secretory function of proliferated bile ductules." *J Clin Invest* **81**(2): 569-578.

7. Alpini, G., R. Lenzi, W. R. Zhai, P. A. Slott, M. H. Liu, L. Sarkozi and N. Tavoloni (1989). "Bile secretory function of intrahepatic biliary epithelium in the rat." Am J Physiol **257**(1 Pt 1): G124-133.
8. Alpini, G., J. M. McGill and N. F. Larusso (2002). "The pathobiology of biliary epithelia." Hepatology **35**(5): 1256-1268.
9. Aslamazishvili, T., D. Kordzaya, G. Shaishmelashvili, J. Pharcakhashvili and I. Kureli (2007). "Proliferation of biliary epithelial cells in early stage of cholestasis." Experimental and Clinical Medicine **4**(37): 4.
10. Aterman, K. (1992). "The stem cells of the liver--a selective review." J Cancer Res Clin Oncol **118**(2): 87-115.
11. Azmaiparashvili, E., D. Kordzaia and D. Dzidziguri (2009). "Biliary hypertension as the cell proliferation trigger in bile duct ligated rats." Georgian Med News(168): 111-116.
12. Bataller, R., R. F. Schwabe, Y. H. Choi, L. Yang, Y. H. Paik, J. Lindquist, T. Qian, R. Schoonhoven, C. H. Hagedorn, J. J. Lemasters and D. A. Brenner (2003). "NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis." J Clin Invest **112**(9): 1383-1394.
13. Baumann, U., H. A. Crosby, P. Ramani, D. A. Kelly and A. J. Strain (1999). "Expression of the stem cell factor receptor c-kit in normal and diseased pediatric liver: identification of a human hepatic progenitor cell?" Hepatology **30**(1): 112-117.
14. Benedetti, A., C. Bassotti, K. Rapino, L. Marucci and A. M. Jezequel (1996). "A morphometric study of the epithelium lining the rat intrahepatic biliary tree." J Hepatol **24**(3): 335-342.
15. Bergheim, I., L. Guo, M. A. Davis, I. Dubeau and G. E. Arteel (2006). "Critical role of plasminogen activator inhibitor-1 in cholestatic liver injury and fibrosis." J Pharmacol Exp Ther **316**(2): 592-600.
16. Braun, K. M. and E. P. Sandgren (2000). "Cellular origin of regenerating parenchyma in a mouse model of severe hepatic injury." Am J Pathol **157**(2): 561-569.
17. Burr, A. W., M. R. Carpenter, J. E. Hines, W. J. Gullick and A. D. Burt (1993). "Intrahepatic distribution of transforming growth factor-alpha (TGF alpha) during liver regeneration following carbon tetrachloride-induced necrosis." J Pathol **170**(1): 95-100.
18. Burt, A. D. and R. N. MacSween (1993). "Bile duct proliferation--its true significance?" Histopathology **23**(6): 599-602.

19. Burt, A. D., J. A. Stewart, M. Aitchison and R. N. MacSween (1987). "Expression of tissue polypeptide antigen (TPA) in fetal and adult liver: changes in liver disease." J Clin Pathol **40**(7): 719-724.
20. Buscher, H. P., C. Miltenberger, S. MacNelly and W. Gerok (1989). "The histoautoradiographic localization of taurocholate in rat liver after bile duct ligation. Evidence for ongoing secretion and reabsorption processes." J Hepatol **8**(2): 181-191.
21. Buysens, N. (1962). "La prolifération des canaux biliaires et la formation de structures tubulaires au cours des affections hépatiques en pathologie humaine et expérimentale." Rev Belge Pathol **29**: 7-115.
22. Buysens, N. (1962). "La prolifération des canaux biliaires et la formation de structures tubulaires au cours des affections hépatiques en pathologie humaine et expérimentale. ." Rev Belge Pathol **29**(7): 2.
23. Callea, F. and V. Desmet (1985). "Transformation of fat storing cells (ITO cells) to myofibroblasts." J Hepatol **1**, **Supplement 2**(0): S206-S206.
24. Callea, F., J. Mebis and V. J. Desmet (1982). "Myofibroblasts in focal nodular hyperplasia of the liver." Virchows Arch A Pathol Anat Histol **396**(2): 155-166.
25. Canbay, A., H. Higuchi, S. F. Bronk, M. Tanai, T. J. Sebo and G. J. Gores (2002). "Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis." Gastroenterology **123**(4): 1323-1330.
26. Centrella, M., E. Canalis, T. L. McCarthy, A. F. Stewart, J. J. Orloff and K. L. Insogna (1989). "Parathyroid hormone-related protein modulates the effect of transforming growth factor-beta on deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in fetal rat bone cells." Endocrinology **125**(1): 199-208.
27. Chanukvadze I. & Archvadze V. (2003) [Surgical anatomy of main intrahepatic portal tracts]. Zentralblatt für Chirurgie **128**, 958-962.
28. Charlotte, F., A. L'Hermine, N. Martin, Y. Geleyn, M. Nollet, P. Gaulard and E. S. Zafrani (1994). "Immunohistochemical detection of bcl-2 protein in normal and pathological human liver." Am J Pathol **144**(3): 460-465.
29. Chou, S. T. and J. B. Gibson (1971). "A histochemical study of the bile ducts in long-term biliary obstruction in the rat." J Pathol **103**(3): 163-175.
30. Clara, M. (1930). "Untersuchungen an der menschlichen Leber. I. Teil. ueber den Uebergang der Gallenkapillaren in die Gallengaenge." Z Mikrosk Anat Forsch **20**: 23.

31. Collier, J. D., K. Guo, W. J. Gullick, M. F. Bassendine and A. D. Burt (1993). "Expression of transforming growth factor alpha in human hepatocellular carcinoma." Liver **13**(3): 151-155.
32. Columbano, A. and H. Shinozuka (1996). "Liver regeneration versus direct hyperplasia." FASEB J **10**(10): 1118-1128.
33. Crawford, J. M. (2002). "Development of the intrahepatic biliary tree." Semin Liver Dis **22**(3): 213-226.
34. Crawford, J. M. and J. L. Boyer (1998). "Clinicopathology conferences: inflammation-induced cholestasis." Hepatology **28**(1): 253-260.
35. Crosby, H. A., S. Hubscher, L. Fabris, R. Joplin, S. Sell, D. Kelly and A. J. Strain (1998). "Immunolocalization of putative human liver progenitor cells in livers from patients with end-stage primary biliary cirrhosis and sclerosing cholangitis using the monoclonal antibody OV-6." Am J Pathol **152**(3): 771-779.
36. Crosby, H. A., S. G. Hubscher, R. E. Joplin, D. A. Kelly and A. J. Strain (1998). "Immunolocalization of OV-6, a putative progenitor cell marker in human fetal and diseased pediatric liver." Hepatology **28**(4): 980-985.
37. Dabeva, M. D., G. Alpini, E. Hurston and D. A. Shafritz (1993). "Models for hepatic progenitor cell activation." Proc Soc Exp Biol Med **204**(3): 242-252.
38. Dabeva, M. D., E. Laconi, R. Oren, P. M. Petkov, E. Hurston and D. A. Shafritz (1998). "Liver regeneration and alpha-fetoprotein messenger RNA expression in the retrorsine model for hepatocyte transplantation." Cancer Res **58**(24): 5825-5834.
39. Dabeva, M. D. and D. A. Shafritz (1993). "Activation, proliferation, and differentiation of progenitor cells into hepatocytes in the D-galactosamine model of liver regeneration." Am J Pathol **143**(6): 1606-1620.
40. Daems, W. T. (1961). "The micro-anatomy of the smallest biliary pathways in mouse liver tissue." Acta Anat (Basel) **46**: 1-24.
41. De Vos, R. and V. Desmet (1992). "Ultrastructural characteristics of novel epithelial cell types identified in human pathologic liver specimens with chronic ductular reaction." Am J Pathol **140**(6): 1441-1450.
42. Delacroix, D. L., P. J. Courtoy, J. Rahier, M. Reynaert, J. P. Vaerman and C. Dive (1984). "Localization and serum concentration of secretory component during massive necrosis of human liver." Gastroenterology **86**(3): 521-531.
43. Demetris, A. J., T. Sakamoto, Z. Liu, S. Yokomuro, T. Ezure, N. Murase and K. Blakolmer (1999). The ductular reaction in liver disease – emphasis on a type I response.

- Normal and Malignant Liver Cell Growth. E. F. Wolfgang. Dordrecht ; Boston, Kluwer Academic: 156-170.
44. Desmet, V. (1963). "Histochemische Studie bij de Experimentele Levercarcinogenese." Arscia, Brussels: 25.
 45. Desmet, V. (1987). Cholestasis: extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis. Pathology of the Liver. R. MacSween, P. Anthony and P. Scheuer. Edinburgh, Churchill Livingstone: 364-423.
 46. Desmet, V. (1987). Cirrhosis: aetiology and pathogenesis: cholestasis. Liver Cirrhosis. J. Boyer and L. Bianchi. Lancaster, MTP Press: 101-118.
 47. Desmet, V. (1987). Modulation of biliary epithelium. . Modulation of Liver Cell Expression. W. Reutter, H. Popper, I. Ariaset al. Lancaster, England., M.T.P. Press Limited. Kluwer Academic Publishers Group.: 195-214.
 48. Desmet, V. and F. Callea (1990). Cholestatic syndroms of infancy and childhood. . Hepatology. A Textbook of Liver disease. D. Zakim and T. Boyer. Philadelphia, W.B. Saunders: 1355-1395.
 49. Desmet, V., T. Roskams and P. Van Eyken (1995). "Ductular reaction in the liver." Pathol Res Pract **191**(6): 513-524.
 50. Desmet, V. J. (1972). "Morphologic and histochemical aspects of cholestasis." Prog Liver Dis **4**: 97-132.
 51. Desmet, V. J. (1985). "Intrahepatic bile ducts under the lens." J Hepatol **1**(5): 545-559.
 52. Desmet, V. J. (1986). "Current problems in diagnosis of biliary disease and cholestasis." Semin Liver Dis **6**(3): 233-245.
 53. Desmet, V. J. (1992). "Congenital diseases of intrahepatic bile ducts: variations on the theme "ductal plate malformation"." Hepatology **16**(4): 1069-1083.
 54. Desmet, V. J. (1992). "Modulation of the liver in cholestasis." J Gastroenterol Hepatol **7**(3): 313-323.
 55. Desmet, V. J. (2011). "Ductal plates in hepatic ductular reactions. Hypothesis and implications. I. Types of ductular reaction reconsidered." Virchows Arch **458**(3): 251-259.
 56. Dirlik, M., H. Canbaz, D. Dusmez Apa, M. Caglikulekci, F. Yaylak, E. Balli, L. Tamer, A. Kanik and S. Aydin (2009). "The monitoring of progress in apoptosis of liver cells in bile duct-ligated rats." Turk J Gastroenterol **20**(4): 247-256.
 57. Dittmer, A. and J. Dittmer (2006). "Beta-actin is not a reliable loading control in Western blot analysis." Electrophoresis **27**(14): 2844-2845.

58. Drixler, T. A., M. J. Vogten, E. D. Ritchie, T. J. van Vroonhoven, M. F. Gebbink, E. E. Voest and I. H. Borel Rinkes (2002). "Liver regeneration is an angiogenesis- associated phenomenon." Ann Surg **236**(6): 703-711; discussion 711-702.
59. Dunsford, H. A., C. Karnasuta, J. M. Hunt and S. Sell (1989). "Different lineages of chemically induced hepatocellular carcinoma in rats defined by monoclonal antibodies." Cancer Res **49**(17): 4894-4900.
60. Dunsford, H. A. and S. Sell (1989). "Production of monoclonal antibodies to preneoplastic liver cell populations induced by chemical carcinogens in rats and to transplantable Morris hepatomas." Cancer Res **49**(17): 4887-4893.
61. Dutra, R. A., J. S. Dos Santos, W. M. de Araujo, M. V. Simoes, A. N. de Paixao-Becker and L. Neder (2008). "Evaluation of hepatobiliary excretion and enterobiliary reflux in rats with biliary obstruction submitted to bilioduodenal or biliojejunal anastomosis." Dig Dis Sci **53**(4): 1138-1145.
62. Elias, H. (1949). "A re-examination of the structure of the mammalian liver; parenchymal architecture." Am J Anat **84**(2): 311-333.
63. Elias, H. (1949). "A re-examination of the structure of the mammalian liver; the hepatic lobule and its relation to the vascular and biliary systems." Am J Anat **85**(3): 379-456, 315 pl.
64. Esrefoglu, M., M. Gul, M. H. Emre, A. Polat and M. A. Selimoglu (2005). "Protective effect of low dose of melatonin against cholestatic oxidative stress after common bile duct ligation in rats." World J Gastroenterol **11**(13): 1951-1956.
65. Evarts, R. P., Z. Hu, N. Omori, M. Omori, E. R. Marsden and S. S. Thorgeirsson (1996). "Precursor-product relationship between oval cells and hepatocytes: comparison between tritiated thymidine and bromodeoxyuridine as tracers." Carcinogenesis **17**(10): 2143-2151.
66. Evarts, R. P., P. Nagy, E. Marsden and S. S. Thorgeirsson (1987). "A precursor-product relationship exists between oval cells and hepatocytes in rat liver." Carcinogenesis **8**(11): 1737-1740.
67. Evarts, R. P., P. Nagy, H. Nakatsukasa, E. Marsden and S. S. Thorgeirsson (1989). "In vivo differentiation of rat liver oval cells into hepatocytes." Cancer Res **49**(6): 1541-1547.
68. Faktor, V. M. and S. A. Radaeva (1992). "[The formation of oval-cell ducts during hepatic carcinogenesis in mice. Its relationship to the pre-existing canals of Hering]." Ontogenez **23**(4): 407-418.

69. Falkowski, O., H. J. An, I. A. Ianus, L. Chiriboga, H. Yee, A. B. West and N. D. Theise (2003). "Regeneration of hepatocyte 'buds' in cirrhosis from intrabiliary stem cells." J Hepatol **39**(3): 357-364.
70. Farber, E. (1956). "Similarities in the sequence of early histological changes induced in the liver of the rat by ethionine, 2-acetyl-amino-fluorene, and 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene." Cancer Res **16**(2): 142-148.
71. Fausto, N. (1990). "Hepatocyte differentiation and liver progenitor cells." Curr Opin Cell Biol **2**(6): 1036-1042.
72. Fausto, N. (1994). Liver stem cells. The Liver: Biology and Pathobiology I. Arias, J. Boyer, N. Fausto et al. New York, Raven Press: 1501-1518.
73. Fausto, N. and J. S. Campbell (2003). "The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation." Mech Dev **120**(1): 117-130.
74. Fausto, N., A. D. Laird and E. M. Webber (1995). "Liver regeneration. 2. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration." FASEB J **9**(15): 1527-1536.
75. Fausto, N., J. Lemire and N. Shiojiri (1992). Oval cells in liver carcinogenesis: Cell Lineages in hepatic development and the identification of facultative stem cells in normal liver. The role of Cell Types in Hepatocarcinogenesis. A. Sirica. Boca Raton, CRC Rpress: 89-109.
76. Fickert, P., G. Zollner, A. Fuchsbichler, C. Stumptner, A. H. Weiglein, F. Lammert, H. U. Marschall, O. Tsybrovskyy, K. Zatloukal, H. Denk and M. Trauner (2002). "Ursodeoxycholic acid aggravates bile infarcts in bile duct-ligated and Mdr2 knockout mice via disruption of cholangioles." Gastroenterology **123**(4): 1238-1251.
77. Fiel, M. I., L. B. Antonio, M. A. Nalesnik, S. N. Thung and M. A. Gerber (1997). "Characterization of ductular hepatocytes in primary liver allograft failure." Mod Pathol **10**(4): 348-353.
78. Fukuda, Y., Y. Miyazawa, M. Imoto, Y. Koyama, I. Nakano, H. Nagura and K. Kato (1989). "In situ distribution of enolase isozymes in chronic liver disease." Am J Gastroenterol **84**(6): 601-605.
79. Gaglio, P. J., H. Liu, S. Dash, S. Cheng, B. Dunne, M. Ratterree, G. Baskin, J. Blanchard, R. Bohm, Jr., N. D. Theise and D. LaBrecque (2002). "Liver regeneration investigated in a non-human primate model (Macaca mulatta)." J Hepatol **37**(5): 625-632.
80. Gall, J. A. and P. S. Bhathal (1990). "Origin and involution of hyperplastic bile ductules following total biliary obstruction." Liver **10**(2): 106-115.

81. Gall, J. A. and P. S. Bhathal (1990). "A quantitative analysis of the liver following ligation of the common bile duct." Liver **10**(2): 116-125.
82. Gardiol, D. (1962). "[Chronic hepatitis. Histopathological study]." Schweiz Med Wochenschr **92**: 935-940 contd.
83. Gaudio, E., P. Onori, L. Pannarale and D. Alvaro (1996). "Hepatic microcirculation and peribiliary plexus in experimental biliary cirrhosis: a morphological study." Gastroenterology **111**(4): 1118-1124.
84. Georgiev, P., W. Jochum, S. Heinrich, J. H. Jang, A. Nocito, F. Dahm and P. A. Clavien (2008). "Characterization of time-related changes after experimental bile duct ligation." Br J Surg **95**(5): 646-656.
85. Georgiev, P., A. A. Navarini, J. J. Eloranta, K. S. Lang, G. A. Kullak-Ublick, A. Nocito, F. Dahm, W. Jochum, R. Graf and P. A. Clavien (2007). "Cholestasis protects the liver from ischaemic injury and post-ischaemic inflammation in the mouse." Gut **56**(1): 121-128.
86. Gerber, M. and S. Thung (1992). Cell lineages in human liver development, regeneration and transformation. Boca Raton FL, CRC Press.
87. Gerber, M. A. and S. N. Thung (1993). "Liver stem cells and development." Lab Invest **68**(3): 253-254.
88. Gerber, M. A., S. N. Thung, S. Shen, F. W. Stromeyer and K. G. Ishak (1983). "Phenotypic characterization of hepatic proliferation. Antigenic expression by proliferating epithelial cells in fetal liver, massive hepatic necrosis, and nodular transformation of the liver." Am J Pathol **110**(1): 70-74.
89. Germain, L., R. Goyette and N. Marceau (1985). "Differential cytokeratin and alpha-fetoprotein expression in morphologically distinct epithelial cells emerging at the early stage of rat hepatocarcinogenesis." Cancer Res **45**(2): 673-681.
90. Germain, L., M. Noel, H. Gourdeau and N. Marceau (1988). "Promotion of growth and differentiation of rat ductular oval cells in primary culture." Cancer Res **48**(2): 368-378.
91. Glaser, S. S., E. Gaudio, T. Miller, D. Alvaro and G. Alpini (2009). "Cholangiocyte proliferation and liver fibrosis." Expert Rev Mol Med **11**: e7.
92. Glaser, S. S., P. Onori, C. Wise, F. Yang, M. Marzioni, D. Alvaro, A. Franchitto, R. Mancinelli, G. Alpini, M. K. Munshi and E. Gaudio (2010). "Recent advances in the regulation of cholangiocyte proliferation and function during extrahepatic cholestasis." Dig Liver Dis **42**(4): 245-252.

93. Goldfarb, S., E. J. Singer and H. Popper (1962). "Experimental cholangitis due to alpha-naphthyl-isothiocyanate (ANIT)." Am J Pathol **40**: 685-698.
94. Golding, M., C. E. Sarraf, E. N. Lalani, T. V. Anilkumar, R. J. Edwards, P. Nagy, S. S. Thorgeirsson and M. R. Alison (1995). "Oval cell differentiation into hepatocytes in the acetylaminofluorene-treated regenerating rat liver." Hepatology **22**(4 Pt 1): 1243-1253.
95. Gouw, A. S., M. C. van den Heuvel, M. Boot, M. J. Slooff, S. Poppema and K. P. de Jong (2006). "Dynamics of the vascular profile of the finer branches of the biliary tree in normal and diseased human livers." J Hepatol **45**(3): 393-400.
96. Greenbaum, L. E. and R. G. Wells (2011). "The role of stem cells in liver repair and fibrosis." Int J Biochem Cell Biol **43**(2): 222-229.
97. Grisham, J. W. (1980). "Cell types in long-term propagable cultures of rat liver." Ann N Y Acad Sci **349**: 128-137.
98. Grisham, J. W. and E. A. Porta (1964). "Origin and Fate of Proliferated Hepatic Ductal Cells in the Rat: Electron Microscopic and Autoradiographic Studies." Exp Mol Pathol **86**: 242-261.
99. Gujral, J. S., J. Liu, A. Farhood and H. Jaeschke (2004). "Reduced oncotic necrosis in Fas receptor-deficient C57BL/6J-lpr mice after bile duct ligation." Hepatology **40**(4): 998-1007.
100. Hall, P. A. (1992). Differentiation, stem cells and tumour histogenesis. Recent advances in Histopathology. P. P. Anthony and R. N. M. MacSween. Edinburgh, Churchill Livingstone. **15**: 1-17.
101. Haque, S., Y. Haruna, K. Saito, M. A. Nalesnik, E. Atillasoy, S. N. Thung and M. A. Gerber (1996). "Identification of bipotential progenitor cells in human liver regeneration." Lab Invest **75**(5): 699-705.
102. Haruna, Y., K. Saito, S. Spaulding, M. A. Nalesnik and M. A. Gerber (1996). "Identification of bipotential progenitor cells in human liver development." Hepatology **23**(3): 476-481.
103. Hering, E. (1867). "Ueber den Bau der Wirbelthierleber." Archiv für Mikroskopische Anatomie **3**(1): 88-114.
104. Higgins, G. and R. Anderson (1931). " Experimental pathology of the liver, 1: Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal." Arch Pathol **12**: 17.

105. Hillan, K. J., A. D. Burt, W. D. George, R. N. MacSween, M. R. Griffiths and J. A. Bradley (1989). "Intrasplenic hepatocyte transplantation in rats with experimental liver injury: morphological and morphometric studies." J Pathol **159**(1): 67-73.
106. Hixson, D. C. and J. P. Allison (1985). "Monoclonal antibodies recognizing oval cells induced in the liver of rats by N-2-fluorenylacetamide or ethionine in a choline-deficient diet." Cancer Res **45**(8): 3750-3760.
107. Hixson, D. C., L. Chapman, A. McBride, R. Faris and L. Yang (1997). "Antigenic phenotypes common to rat oval cells, primary hepatocellular carcinomas and developing bile ducts." Carcinogenesis **18**(6): 1169-1175.
108. Hsia, C. C., R. P. Evarts, H. Nakatsukasa, E. R. Marsden and S. S. Thorgeirsson (1992). "Occurrence of oval-type cells in hepatitis B virus-associated human hepatocarcinogenesis." Hepatology **16**(6): 1327-1333.
109. Hsia, C. C., S. S. Thorgeirsson and E. Tabor (1994). "Expression of hepatitis B surface and core antigens and transforming growth factor-alpha in "oval cells" of the liver in patients with hepatocellular carcinoma." J Med Virol **43**(3): 216-221.
110. Hytioglou, P., H. Tobias, M. Abramidou, R. Saxena, C. Papadimitriou and N. Theise (1998). "The canals of Hering may represent the primary target of methotrexate hepatic toxicity." Hepatology **28**: 1.
111. Hytioglou, P., H. Tobias, R. Saxena, M. Abramidou, C. S. Papadimitriou and N. D. Theise (2004). "The canals of hering might represent a target of methotrexate hepatic toxicity." Am J Clin Pathol **121**(3): 324-329.
112. Inaoka, Y. (1967). "Significance of the so-called oval cell proliferation during azo-dye hepatocarcinogenesis." Gann **58**(4): 355-366.
113. Insogna, K. L., A. F. Stewart, C. A. Morris, L. M. Hough, L. M. Milstone and M. Centrella (1989). "Native and a synthetic analogue of the malignancy-associated parathyroid hormone-like protein have in vitro transforming growth factor-like properties." J Clin Invest **83**(3): 1057-1060.
114. Isayama, F., I. N. Hines, M. Kremer, R. J. Milton, C. L. Byrd, A. W. Perry, S. E. McKim, C. Parsons, R. A. Rippe and M. D. Wheeler (2006). "LPS signaling enhances hepatic fibrogenesis caused by experimental cholestasis in mice." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **290**(6): G1318-1328.
115. Izraelashvili M. & Toidze Sh S. (1982) [Balloon catheter for portal triad occlusion]. Klin Khir, 63.

116. Ito, Y., N. W. Bethea, G. L. Baker, M. K. McCuskey, R. Urbaschek and R. S. McCuskey (2003). "Hepatic microcirculatory dysfunction during cholestatic liver injury in rats." Microcirculation **10**(5): 421-432.
117. James, J., N. J. Lygidakis, P. van Eyken, A. K. Tanka, K. S. Bosch, F. C. Ramaekers and V. Desmer (1989). "Application of keratin immunocytochemistry and sirius red staining in evaluating intrahepatic changes with acute extrahepatic cholestasis due to hepatic duct carcinoma." Hepatogastroenterology **36**(3): 151-155.
118. Jeong, J. Y., D. Y. Kang and S. M. Noh "A Morphologic Study on the Bile Duct Changes Induced by Common Bile Duct Ligation in Rats." The Korean Journal of Pathology **27**(6): 618-629.
119. Jezequel, A. M. (1962). "Microscopie electronique du foie normal." Path Biol (Paris) **10**: 501-501.
120. Johnstone, J. M. and E. G. Lee (1976). "A quantitative assessment of the structural changes the rat's liver following obstruction of the common bile duct." Br J Exp Pathol **57**(1): 85-94.
121. Joplin, R., T. Hishida, H. Tsubouchi, Y. Daikuhara, R. Ayres, J. M. Neuberger and A. J. Strain (1992). "Human intrahepatic biliary epithelial cells proliferate in vitro in response to human hepatocyte growth factor." J Clin Invest **90**(4): 1284-1289.
122. Jorgensen, M. (1973). "A stereological study of intrahepatic bile ducts. 2. Bile duct proliferation in some pathological conditions." Acta Pathol Microbiol Scand A **81**(5): 663-669.
123. Karran, S. and C. Eagles (1979). Regeneration. Part 1. Physical aspects. London. Liver and Biliary Disease. R. Wright, K. Alberti, S. Karran and G. Millward-Sadler, WB Saunders Co: 197-210.
124. Karsten, T. M., T. M. van Gulik, L. Spanjaard, A. Bosma, M. A. van der Bergh Weerman, K. P. Dingemans, J. Dankert and D. J. Gouma (1998). "Bacterial translocation from the biliary tract to blood and lymph in rats with obstructive jaundice." J Surg Res **74**(2): 125-130.
125. Kiss, A., J. Schnur, Z. Szabo and P. Nagy (2001). "Immunohistochemical analysis of atypical ductular reaction in the human liver, with special emphasis on the presence of growth factors and their receptors." Liver **21**(4): 237-246.
126. Kordzaia, D. (1990). Extrahepatic cholestasis. Tbilisi, Georgia, Ganatleba.

127. Laconi, E., R. Oren, D. K. Mukhopadhyay, E. Hurston, S. Laconi, P. Pani, M. D. Dabeva and D. A. Shafritz (1998). "Long-term, near-total liver replacement by transplantation of isolated hepatocytes in rats treated with retrorsine." Am J Pathol **153**(1): 319-329.
128. Laconi, S., F. Curreli, S. Diana, D. Pasciu, G. De Filippo, D. S. Sarma, P. Pani and E. Laconi (1999). "Liver regeneration in response to partial hepatectomy in rats treated with retrorsine: a kinetic study." J Hepatol **31**(6): 1069-1074.
129. Laconi, S., F. Curreli, S. Diana, D. Pasciu, G. D. Filippo, D. S. R. Sarma, P. Pani and E. Laconi (1999). "Liver regeneration in response to partial hepatectomy in rats treated with retrorsine: a kinetic study." J Hepatol **31**(6): 1069-1074.
130. Lambotte, L., A. Saliez, S. Triest, E. M. Tagliaferri, A. P. Barker and A. G. Baranski (1997). "Control of rate and extent of the proliferative response after partial hepatectomy." Am J Physiol **273**(4 Pt 1): G905-912.
131. Lamireau, T., B. Le Bail, L. Boussarie, M. Fabre, P. Vergnes, O. Bernard, F. Gautier, P. Bioulac-Sage and J. Rosenbaum (1999). "Expression of collagens type I and IV, osteonectin and transforming growth factor beta-1 (TGFbeta1) in biliary atresia and paucity of intrahepatic bile ducts during infancy." J Hepatol **31**(2): 248-255.
132. Lazaro, C. A., J. A. Rhim, Y. Yamada and N. Fausto (1998). "Generation of hepatocytes from oval cell precursors in culture." Cancer Res **58**(23): 5514-5522.
133. Lee, B. C., J. D. Hendricks and G. S. Bailey (1989). "Metaplastic pancreatic cells in liver tumors induced by diethylnitrosamine." Exp Mol Pathol **50**(1): 104-113.
134. Lee, J. H., H. J. Tschai, S. C. Lee and Y. C. Tu (1981). "Liver Histologic Changes in Bile Ligated Rats." Med Sci **4**(2): 1179-1187.
135. Lemire, J. M., N. Shiojiri and N. Fausto (1991). "Oval cell proliferation and the origin of small hepatocytes in liver injury induced by D-galactosamine." Am J Pathol **139**(3): 535-552.
136. Lenzi, R., M. H. Liu, F. Tarsetti, P. A. Slott, G. Alpini, W. R. Zhai, F. Paronetto, R. Lenzen and N. Tavoloni (1992). "Histogenesis of bile duct-like cells proliferating during ethionine hepatocarcinogenesis. Evidence for a biliary epithelial nature of oval cells." Lab Invest **66**(3): 390-402.
137. Letulle, M. (1915). "Les capillicules biliaires du foie humain, leur repartition a l'interieur du lobule hepatique, leurs modes d'abouchement dans les canaux perilobulaires." J Physiol Pathol Gen **16**: 12.

138. Libbrecht, L., V. Desmet, B. Van Damme and T. Roskams (2000). "The immunohistochemical phenotype of dysplastic foci in human liver: correlation with putative progenitor cells." J Hepatol **33**(1): 76-84.
139. Libbrecht, L. and T. Roskams (2002). "Hepatic progenitor cells in human liver diseases." Semin Cell Dev Biol **13**(6): 389-396.
140. Liu, S., D. J. Gallo, A. M. Green, D. L. Williams, X. Gong, R. A. Shapiro, A. A. Gambotto, E. L. Humphris, Y. Vodovotz and T. R. Billiar (2002). "Role of toll-like receptors in changes in gene expression and NF-kappa B activation in mouse hepatocytes stimulated with lipopolysaccharide." Infect Immun **70**(7): 3433-3442.
141. Liu, Z., T. Sakamoto, T. Ezure, S. Yokomuro, N. Murase, G. Michalopoulos and A. J. Demetris (1998). "Interleukin-6, hepatocyte growth factor, and their receptors in biliary epithelial cells during a type I ductular reaction in mice: interactions between the periductal inflammatory and stromal cells and the biliary epithelium." Hepatology **28**(5): 1260-1268.
142. Ludwig, J., E. L. Ritman, N. F. LaRusso, P. F. Sheedy and G. Zumpe (1998). "Anatomy of the human biliary system studied by quantitative computer-aided three-dimensional imaging techniques." Hepatology **27**(4): 893-899.
143. MacSween, R. and A. Burt (1989). Pathology of the intrahepatic bile ducts. Recent Advances in Histopathology. P. Anthony and R. MacSween. Edinburgh, Churchill Livingstone. **14**: 161-183.
144. Mancinelli, R., P. Onori, E. Gaudio, S. DeMorrow, A. Franchitto, H. Francis, S. Glaser, G. Carpino, J. Venter, D. Alvaro, S. Kopriva, M. White, A. Kossie, J. Savage and G. Alpini (2009). "Follicle-stimulating hormone increases cholangiocyte proliferation by an autocrine mechanism via cAMP-dependent phosphorylation of ERK1/2 and Elk-1." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **297**(1): G11-26.
145. Marceau, N., M. J. Blouin, L. Germain and M. Noel (1989). "Role of different epithelial cell types in liver ontogenesis, regeneration and neoplasia." In Vitro Cell Dev Biol **25**(4): 336-341.
146. Margaritis, V. G., K. S. Filos, M. A. Michalaki, C. D. Scopa, I. Spiliopoulou, V. N. Nikolopoulou and C. E. Vagianos (2005). "Effect of oral glutamine administration on bacterial translocation, endotoxemia, liver and ileal morphology, and apoptosis in rats with obstructive jaundice." World J Surg **29**(10): 1329-1334.

147. Marucci, L., G. S. Baroni, R. Mancini, A. Benedetti, A. M. Jezequel and F. Orlandi (1993). "Cell proliferation following extrahepatic biliary obstruction. Evaluation by immunohistochemical methods." J Hepatol **17**(2): 163-169.
148. Masuko, K., E. Rubin and H. Popper (1964). "Proliferation of Bile Ducts in Cirrhosis." Arch Pathol **78**: 421-431.
149. McIndoe, A. H. (1928). "The structure and arrangement of the bile canaliculi." Arch Pathol **6**: 598-614.
150. Michalopoulos, G. K. (1990). "Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control." FASEB J **4**(2): 176-187.
151. Michalopoulos, G. K., L. Barua and W. C. Bowen (2005). "Transdifferentiation of rat hepatocytes into biliary cells after bile duct ligation and toxic biliary injury." Hepatology **41**(3): 535-544.
152. Michalopoulos, G. K., W. C. Bowen, K. Mule, J. C. Lopez-Talavera and W. Mars (2002). "Hepatocytes undergo phenotypic transformation to biliary epithelium in organoid cultures." Hepatology **36**(2): 278-283.
153. Michalopoulos, G. K., W. C. Bowen, K. Mule and D. B. Stolz (2001). "Histological organization in hepatocyte organoid cultures." Am J Pathol **159**(5): 1877-1887.
154. Michalopoulos, G. K. and M. C. DeFrances (1997). "Liver regeneration." Science **276**(5309): 60-66.
155. Milani, S., H. Herbst, D. Schuppan, H. Stein and C. Surrenti (1991). "Transforming growth factors beta 1 and beta 2 are differentially expressed in fibrotic liver disease." Am J Pathol **139**(6): 1221-1229.
156. Mitsuta, H., H. Ohdan, K. Mizunuma, T. Itamoto and T. Asahara (2004). "Near-infrared spectroscopic analysis of hepatic hemodynamics and oxygen metabolism after extensive hepatectomy." Med Sci Monit **10**(10): BR356-361.
157. Miyoshi, H., C. Rust, P. J. Roberts, L. J. Burgart and G. J. Gores (1999). "Hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in the mouse involves Fas." Gastroenterology **117**(3): 669-677.
158. Motta, P. M., M. Muto and T. Fujita (1978). The liver: an atlas of scanning electron microscopy, Igaku-Shoin.
159. Mueller, L., D. C. Broering, J. Meyer, Y. Vashist, J. Goettsche, C. Wilms and X. Rogiers (2002). "The induction of the immediate-early-genes Egr-1, PAI-1 and PRL-1 during liver regeneration in surgical models is related to increased portal flow." J Hepatol **37**(5): 606-612.

160. Murakami, T., H. Sato, S. Nakatani, T. Taguchi and A. Ohtsuka (2001). "Biliary tract of the rat as observed by scanning electron microscopy of cast samples." Arch Histol Cytol **64**(4): 439-447.
161. Nagore, N., S. Howe, L. Boxer and P. J. Scheuer (1989). "Liver cell rosettes: structural differences in cholestasis and hepatitis." Liver **9**(1): 43-51.
162. Nagy, P., H. C. Bisgaard and S. S. Thorgeirsson (1994). "Expression of hepatic transcription factors during liver development and oval cell differentiation." J Cell Biol **126**(1): 223-233.
163. Nakano, S., J. Haratake and H. Hashimoto (1995). "Alterations in bile ducts and peribiliary microcirculation in rats after common bile duct ligation." Hepatology **21**(5): 1380-1386.
164. Nakanuma, Y. and G. Ohta (1986). "Immunohistochemical study on bile ductular proliferation in various hepatobiliary diseases." Liver **6**(4): 205-211.
165. Nakanuma, Y. and M. Sasaki (1989). "Expression of blood group-related antigens in the intrahepatic biliary tree and hepatocytes in normal livers and various hepatobiliary diseases." Hepatology **10**(2): 174-178.
166. Niiya, T., M. Murakami, T. Aoki, N. Murai, Y. Shimizu and M. Kusano (1999). "Immediate increase of portal pressure, reflecting sinusoidal shear stress, induced liver regeneration after partial hepatectomy." J Hepatobiliary Pancreat Surg **6**(3): 275-280.
167. Ninomiya, M., M. Shimada, T. Terashi, H. Ijichi, Y. Yonemura, N. Harada, Y. Soejima, T. Suehiro and Y. Maehara (2004). "Sustained spatial disturbance of bile canalicular networks during regeneration of the steatotic rat liver." Transplantation **77**(3): 373-379.
168. Nishikawa, Y., Y. Doi, H. Watanabe, T. Tokairin, Y. Omori, M. Su, T. Yoshioka and K. Enomoto (2005). "Transdifferentiation of mature rat hepatocytes into bile duct-like cells in vitro." Am J Pathol **166**(4): 1077-1088.
169. Novikoff, P. M., T. Ikeda, D. C. Hixson and A. Yam (1991). "Characterizations of and interactions between bile ductule cells and hepatocytes in early stages of rat hepatocarcinogenesis induced by ethionine." Am J Pathol **139**(6): 1351-1368.
170. Ogawa, K., T. Minase and T. Onhoe (1974). "Demonstration of glucose 6-phosphatase activity in the oval cells of rat liver and the significance of the oval cells in azo dye carcinogenesis." Cancer Res **34**(12): 3379-3386.
171. Ohtsuka, M., M. Miyazaki, H. Kubosawa, Y. Kondo, H. Ito, H. Shimizu, Y. Shimizu, S. Nozawa, S. Furuya and N. Nakajima (2000). "Role of neutrophils in sinusoidal

- endothelial cell injury after extensive hepatectomy in cholestatic rats." J Gastroenterol Hepatol **15**(8): 880-886.
172. Olynyk, J. K., G. C. Yeoh, G. A. Ramm, S. L. Clarke, P. M. Hall, R. S. Britton, B. R. Bacon and T. F. Tracy (1998). "Gadolinium chloride suppresses hepatic oval cell proliferation in rats with biliary obstruction." Am J Pathol **152**(2): 347-352.
 173. Opie, E. L. (1944). "The Pathogenesis of Tumors of the Liver Produced by Butter Yellow." J Exp Med **80**(3): 231-246.
 174. Oren, R., M. D. Dabeva, P. M. Petkov, E. Hurston, E. Laconi and D. A. Shafritz (1999). "Restoration of serum albumin levels in nagase analbuminemic rats by hepatocyte transplantation." Hepatology **29**(1): 75-81.
 175. Padillo, F. J., A. Cruz, C. Navarrete, I. Bujalance, J. Briceno, J. I. Gallardo, T. Marchal, R. Caballero, I. Tunez, J. Muntane, P. Montilla and C. Pera-Madrazo (2004). "Melatonin prevents oxidative stress and hepatocyte cell death induced by experimental cholestasis." Free Radic Res **38**(7): 697-704.
 176. Paku, S., P. Nagy, L. Kopper and S. S. Thorgeirsson (2004). "2-acetylaminofluorene dose-dependent differentiation of rat oval cells into hepatocytes: confocal and electron microscopic studies." Hepatology **39**(5): 1353-1361.
 177. Paku, S., J. Schnur, P. Nagy and S. S. Thorgeirsson (2001). "Origin and structural evolution of the early proliferating oval cells in rat liver." Am J Pathol **158**(4): 1313-1323.
 178. Petersen, B. E., W. C. Bowen, K. D. Patrene, W. M. Mars, A. K. Sullivan, N. Murase, S. S. Boggs, J. S. Greenberger and J. P. Goff (1999). "Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells." Science **284**(5417): 1168-1170.
 179. Petersen, B. E., V. F. Zajac and G. K. Michalopoulos (1997). "Bile ductular damage induced by methylene dianiline inhibits oval cell activation." Am J Pathol **151**(4): 905-909.
 180. Petersen, B. E., V. F. Zajac and G. K. Michalopoulos (1998). "Hepatic oval cell activation in response to injury following chemically induced periportal or pericentral damage in rats." Hepatology **27**(4): 1030-1038.
 181. Petropoulos, C., G. Andrews, T. Tamaoki and N. Fausto (1983). "alpha-Fetoprotein and albumin mRNA levels in liver regeneration and carcinogenesis." J Biol Chem **258**(8): 4901-4906.
 182. Phillips, M., S. Poucell, J. Patterson and P. Valencia (1987). The liver. An Atlas and Text of Ultrastructural Pathology, New York: Raven Press.

183. Phillips, M. J. and S. Poucell (1981). "Modern aspects of the morphology of viral hepatitis." Hum Pathol **12**(12): 1060-1084.
184. Phillips, M. J. and J. W. Steiner (1966). "Electron microscopy of cirrhotic nodule Tubularization of the parenchyma by biliary hepatocytes." Lab Invest **15**(5): 801-817.
185. Polimeno, L., A. Azzarone, Q. H. Zeng, C. Panella, V. Subbotin, B. Carr, B. Bouzahzah, A. Francavilla and T. E. Starzl (1995). "Cell proliferation and oncogene expression after bile duct ligation in the rat: evidence of a specific growth effect on bile duct cells." Hepatology **21**(4): 1070-1078.
186. Popper, H., G. Kent and R. Stein (1957). "Ductular cell reaction in the liver in hepatic injury." J Mt Sinai Hosp N Y **24**(5): 551-556.
187. Priester, S., C. Wise and S. S. Glaser (2010). "Involvement of cholangiocyte proliferation in biliary fibrosis." World J Gastrointest Pathophysiol **1**(2): 30-37.
188. Racanelli, V. and B. Rehermann (2006). "The liver as an immunological organ." Hepatology **43**(2 Suppl 1): S54-62.
189. Rao, M. S., R. S. Dwivedi, V. Subbarao, M. I. Usman, D. G. Scarpelli, M. R. Nemali, A. Yeldandi, S. Thangada, S. Kumar and J. K. Reddy (1988). "Almost total conversion of pancreas to liver in the adult rat: a reliable model to study transdifferentiation." Biochem Biophys Res Commun **156**(1): 131-136.
190. Rao, M. S., R. S. Dwivedi, A. V. Yeldandi, V. Subbarao, X. D. Tan, M. I. Usman, S. Thangada, M. R. Nemali, S. Kumar, D. G. Scarpelli and et al. (1989). "Role of periductal and ductular epithelial cells of the adult rat pancreas in pancreatic hepatocyte lineage. A change in the differentiation commitment." Am J Pathol **134**(5): 1069-1086.
191. Reddy, J. K., M. S. Rao, S. A. Qureshi, M. K. Reddy, D. G. Scarpelli and N. D. Lalwani (1984). "Induction and origin of hepatocytes in rat pancreas." J Cell Biol **98**(6): 2082-2090.
192. Reddy, J. K., M. S. Rao, A. V. Yeldandi, X. D. Tan and R. S. Dwivedi (1991). "Pancreatic hepatocytes. An in vivo model for cell lineage in pancreas of adult rat." Dig Dis Sci **36**(4): 502-509.
193. Ros, J. E., L. Libbrecht, M. Geuken, P. L. Jansen and T. A. Roskams (2003). "High expression of MDR1, MRP1, and MRP3 in the hepatic progenitor cell compartment and hepatocytes in severe human liver disease." J Pathol **200**(5): 553-560.
194. Roskams, T., R. V. Campos, D. J. Drucker and V. J. Desmet (1993). "Reactive human bile ductules express parathyroid hormone-related peptide." Histopathology **23**(1): 11-19.

195. Roskams, T., R. De Vos, J. J. van den Oord and V. Desmet (1991). "Cells with neuroendocrine features in regenerating human liver." APMIS Suppl **23**: 32-39.
196. Roskams, T., R. De Vos, P. Van Eyken, H. Myazaki, B. Van Damme and V. Desmet (1998). "Hepatic OV-6 expression in human liver disease and rat experiments: evidence for hepatic progenitor cells in man." J Hepatol **29**(3): 455-463.
197. Roskams, T. and V. Desmet (1998). "Ductular reaction and its diagnostic significance." Semin Diagn Pathol **15**(4): 259-269.
198. Roskams, T., J. Rosenbaum, R. De Vos, G. David and V. Desmet (1996). "Heparan sulfate proteoglycan expression in chronic cholestatic human liver diseases." Hepatology **24**(3): 524-532.
199. Roskams, T., J. J. van den Oord, R. De Vos and V. J. Desmet (1990). "Neuroendocrine features of reactive bile ductules in cholestatic liver disease." Am J Pathol **137**(5): 1019-1025.
200. Roskams, T. A., L. Libbrecht and V. J. Desmet (2003). "Progenitor cells in diseased human liver." Semin Liver Dis **23**(4): 385-396.
201. Roskams, T. A., N. D. Theise, C. Balabaud, G. Bhagat, P. S. Bhathal, P. Bioulac-Sage, E. M. Brunt, J. M. Crawford, H. A. Crosby, V. Desmet, M. J. Finegold, S. A. Geller, A. S. Gouw, P. Hytioglou, A. S. Knisely, M. Kojiro, J. H. Lefkowitz, Y. Nakanuma, J. K. Olynyk, Y. N. Park, B. Portmann, R. Saxena, P. J. Scheuer, A. J. Strain, S. N. Thung, I. R. Wanless and A. B. West (2004). "Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers." Hepatology **39**(6): 1739-1745.
202. Rubin, E., F. Schaffner and H. Popper (1965). "Primary Biliary Cirrhosis. Chronic Non-Suppurative Destructive Cholangitis." Am J Pathol **46**: 387-407.
203. Rudolph, K. L., S. Chang, M. Millard, N. Schreiber-Agus and R. A. DePinho (2000). "Inhibition of experimental liver cirrhosis in mice by telomerase gene delivery." Science **287**(5456): 1253-1258.
204. Sansonno, D. and F. Dammacco (1993). "Expression and distribution of a human colon-carcinoma-associated antigen in normal and diseased liver tissue." Pathobiology **61**(3-4): 193-196.
205. Saxena, R. and N. Theise (2004). "Canals of Hering: recent insights and current knowledge." Semin Liver Dis **24**(1): 43-48.
206. Saxena, R., N. D. Theise and J. M. Crawford (1999). "Microanatomy of the human liver-exploring the hidden interfaces." Hepatology **30**(6): 1339-1346.

207. Schaffner, F. and H. Popper (1961). "Electron microscopic studies of normal and proliferated bile ductules." Am J Pathol **38**: 393-410.
208. Sell, S. (1978). "Distribution of alpha-fetoprotein- and albumin-containing cells in the livers of Fischer rats fed four cycles of N-2-fluorenylacetamide." Cancer Res **38**(9): 3107-3113.
209. Sell, S. (1990). "Is there a liver stem cell?" Cancer Res **50**(13): 3811-3815.
210. Sell, S. (1998). "Comparison of liver progenitor cells in human atypical ductular reactions with those seen in experimental models of liver injury." Hepatology **27**(2): 317-331.
211. Shibayama, Y. (1990). "Factors producing bile infarction and bile duct proliferation in biliary obstruction." J Pathol **160**(1): 57-62.
212. Shiojiri, N., J. M. Lemire and N. Fausto (1991). "Cell lineages and oval cell progenitors in rat liver development." Cancer Res **51**(10): 2611-2620.
213. Sigal, S. H., S. Brill, A. S. Fiorino and L. M. Reid (1992). "The liver as a stem cell and lineage system." Am J Physiol **263**(2 Pt 1): G139-148.
214. Sirica, A., L. Elmore, T. Williams and S. Cole (1992). Differentiation potential of hyperplastic bile ductular epithelial cells in rat models of hepatic injury and cholangiocarcinogenesis. The role of Cell Types in Hepatocarcinogenesis. A. Sirica, CRC Press, Boca Raton: 183-208.
215. Sirica, A. E., T. W. Gainey, M. B. Harrell and N. Caran (1997). Cholangiocarcinogenesis and biliary adaptation responses in hepatic injury Biliary and Pancreatic Ductal Epithelia: Pathobiology and Pathophysiology. A. Sirica and L. DS, New York, Marcel Dekker: 229-290.
216. Sirica, A. E., G. A. Mathis, N. Sano and L. W. Elmore (1990). "Isolation, culture, and transplantation of intrahepatic biliary epithelial cells and oval cells." Pathobiology **58**(1): 44-64.
217. Sirica, A. E., C. A. Sattler and H. P. Cihla (1985). "Characterization of a primary bile ductular cell culture from the livers of rats during extrahepatic cholestasis." Am J Pathol **120**(1): 67-78.
218. Sirica, A. E. and T. W. Williams (1992). "Appearance of ductular hepatocytes in rat liver after bile duct ligation and subsequent zone 3 necrosis by carbon tetrachloride." Am J Pathol **140**(1): 129-136.
219. Slott, P. A., M. H. Liu and N. Tavoloni (1990). "Origin, pattern, and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat." Gastroenterology **99**(2): 466-477.

220. Solomonias, R. O., D. Apkhazava, M. Nozadze, A. P. Jackson, B. J. McCabe and G. Horn (2008). "Different forms of MARCKS protein are involved in memory formation in the learning process of imprinting." Exp Brain Res **188**(2): 323-330.
221. Steiner, J., A. Jezequel, M. Phillips, K. Miyai and K. Arakawa (1965). Some aspects of the ultrastructural pathology of the liver. Progress in Liver Disease. H. Popper and F. Schaffner, New York: Grune and Stratton. **2**: 303–372.
222. Strain, A. J., H. A. Crosby, S. Nijjar, D. A. Kelly and S. G. Hubscher (2003). "Human liver-derived stem cells." Semin Liver Dis **23**(4): 373-384.
223. Takahashi-Iwanaga, H. and T. Fujita (1991). "A scanning electron microscopic study of the intercalated portion of the biliary system in the rat liver." Arch Histol Cytol **54**(4): 455-464.
224. Tatematsu, M., T. Kaku, A. Medline and E. Farber (1985). "Intestinal metaplasia as a common option of oval cells in relation to cholangiofibrosis in liver of rats exposed to 2-acetylaminofluorene." Lab Invest **52**(4): 354-362.
225. Tavoloni, N. (1987). "The intrahepatic biliary epithelium: an area of growing interest in hepatology." Semin Liver Dis **7**(4): 280-292.
226. Theise, N. D., M. Nimmakayalu, R. Gardner, P. B. Illei, G. Morgan, L. Teperman, O. Henegariu and D. S. Krause (2000). "Liver from bone marrow in humans." Hepatology **32**(1): 11-16.
227. Theise, N. D., R. Saxena, B. C. Portmann, S. N. Thung, H. Yee, L. Chiriboga, A. Kumar and J. M. Crawford (1999). "The canals of Hering and hepatic stem cells in humans." Hepatology **30**(6): 1425-1433.
228. Thung, S. N. (1990). "The development of proliferating ductular structures in liver disease. An immunohistochemical study." Arch Pathol Lab Med **114**(4): 407-411.
229. Tolentino, E. C., O. Castro e Silva, S. Zucoloto, M. E. Souza, M. C. Gomes, A. K. Sankarankutty, G. R. Oliveira and O. Feres (2006). "Effect of hyperbaric oxygen on liver regeneration in a rat model." Transplant Proc **38**(6): 1947-1952.
230. Tournier, I., L. Legres, D. Schoevaert, G. Feldmann and D. Bernuau (1988). "Cellular analysis of alpha-fetoprotein gene activation during carbon tetrachloride and D-galactosamine-induced acute liver injury in rats." Lab Invest **59**(5): 657-665.
231. Tsao, M. S., J. W. Grisham and K. G. Nelson (1985). "Clonal analysis of tumorigenicity and paratumorigenic phenotypes in rat liver epithelial cells chemically transformed in vitro." Cancer Res **45**(10): 5139-5144.

232. Tsao, M. S., J. D. Smith, K. G. Nelson and J. W. Grisham (1984). "A diploid epithelial cell line from normal adult rat liver with phenotypic properties of 'oval' cells." Exp Cell Res **154**(1): 38-52.
233. Uchida, T. and R. L. Peters (1983). "The nature and origin of proliferated bile ductules in alcoholic liver disease." Am J Clin Pathol **79**(3): 326-333.
234. Van Den Heuvel, M. C., M. J. Slooff, L. Visser, M. Muller, K. P. De Jong, S. Poppema and A. S. Gouw (2001). "Expression of anti-OV6 antibody and anti-N-CAM antibody along the biliary line of normal and diseased human livers." Hepatology **33**(6): 1387-1393.
235. Van Eyken, P. and V. Desmet (1992). Development of intrahepatic bile ducts, ductular metaplasia of hepatocytes, and cytokeratin patterns in various types of human hepatic neoplasms. The Role of cell types in hepatocarcinogenesis. A. E. Sirica. Boca Raton, CRC Press: 227-263.
236. van Eyken, P., R. Sciot, F. Callea and V. J. Desmet (1989). "A cytokeratin-immunohistochemical study of focal nodular hyperplasia of the liver: further evidence that ductular metaplasia of hepatocytes contributes to ductular "proliferation"." Liver **9**(6): 372-377.
237. Van Eyken, P., R. Sciot, F. Callea, K. Van der Steen, P. Moerman and V. J. Desmet (1988). "The development of the intrahepatic bile ducts in man: a keratin-immunohistochemical study." Hepatology **8**(6): 1586-1595.
238. Van Eyken, P., R. Sciot and V. Desmet (1987). "Ductular proliferation in extrahepatic biliary obstruction and massive hepatic necrosis: a comparative immunohistochemical study." Hepatology **7**: 1.
239. Van Eyken, P., R. Sciot and V. Desmet (1988). "Intrahepatic bile duct development in the rat: a cytokeratin-immunohistochemical study." Lab Invest **59**(1): 52-59.
240. Van Eyken, P., R. Sciot and V. J. Desmet (1988). "A cytokeratin immunohistochemical study of alcoholic liver disease: evidence that hepatocytes can express 'bile duct-type' cytokeratins." Histopathology **13**(6): 605-617.
241. Van Eyken, P., R. Sciot and V. J. Desmet (1989). "A cytokeratin immunohistochemical study of cholestatic liver disease: evidence that hepatocytes can express 'bile duct-type' cytokeratins." Histopathology **15**(2): 125-135.
242. Van Eyken, P., R. Sciot, A. Paterson, F. Callea, M. C. Kew and V. J. Desmet (1988). "Cytokeratin expression in hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study." Hum Pathol **19**(5): 562-568.

243. van Eyken, P., R. Sciote, B. van Damme, C. de Wolf-Peeters and V. J. Desmet (1987). "Keratin immunohistochemistry in normal human liver. Cytokeratin pattern of hepatocytes, bile ducts and acinar gradient." Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol **412**(1): 63-72.
244. Van Thiel, D. H., J. S. Gavalier, I. Kam, A. Francavilla, L. Polimeno, R. R. Schade, J. Smith, W. Diven, R. J. Penkrot and T. E. Starzl (1987). "Rapid growth of an intact human liver transplanted into a recipient larger than the donor." Gastroenterology **93**(6): 1414-1419.
245. Vandersteenhoven, A. M., J. Burchette and G. Michalopoulos (1990). "Characterization of ductular hepatocytes in end-stage cirrhosis." Arch Pathol Lab Med **114**(4): 403-406.
246. Vanstapel, M., D. Mason and V. Desmet (1984). "Immunohistochemical detection of S-100 protein in hepatocyte derived proliferating bile ducts." Hepatology **4**: 1.
247. Vanstapel, M. J., K. C. Gatter, C. de Wolf-Peeters, D. Y. Mason and V. D. Desmet (1986). "New sites of human S-100 immunoreactivity detected with monoclonal antibodies." Am J Clin Pathol **85**(2): 160-168.
248. Volpes, R., J. J. van den Oord and V. J. Desmet (1990). "Expression of VLA adhesion molecules in normal and pathological human liver tissue." J Hepatol **11**: S65.
249. Volpes, R., J. J. van den Oord and V. J. Desmet (1991). "Distribution of the VLA family of integrins in normal and pathological human liver tissue." Gastroenterology **101**(1): 200-206.
250. Waldeyer (1868). "Bacteriencolonien mit Pseudomelanose in der Leber. (Acute Atrophie)." Virchows Archiv **43**(4): 533-540.
251. Wang, C. P., L. Zhou, S. H. Su, Y. Chen, Y. Y. Lu, F. Wang, H. J. Jia, Y. Y. Feng and Y. P. Yang (2006). "Augmenter of liver regeneration promotes hepatocyte proliferation induced by Kupffer cells." World J Gastroenterol **12**(30): 4859-4865.
252. Wang, H., B. P. Vohra, Y. Zhang and R. O. Heuckeroth (2005). "Transcriptional profiling after bile duct ligation identifies PAI-1 as a contributor to cholestatic injury in mice." Hepatology **42**(5): 1099-1108.
253. Weglarz, T. C. and E. P. Sandgren (2000). "Timing of hepatocyte entry into DNA synthesis after partial hepatectomy is cell autonomous." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(23): 12595-12600.
254. Wegmann, R., V. Corcos and J. Caroli (1965). "[Histoenzymology of the Biliary Ductules in the Normal Human Embryo and in Cirrhosis in Humans]." Arch Mal Appar Dig Mal Nutr **54**: 215-228.

255. Wright, J. E. and J. L. Braithwaite (1964). "The Effects of Interruption of a Lobar Bile Duct in the Rat." J Anat **98**: 219-225.
256. Wright, J. E. and J. L. Braithwaite (1964). "The Effects of Ligation of the Common Bile Duct in the Rat." J Anat **98**: 227-233.
257. Xu, H. S., L. K. Rosenlof and R. S. Jones (1993). "Bile secretion and liver regeneration in partially hepatectomized rats." Ann Surg **218**(2): 176-182.
258. Yamada, S., S. Howe and P. J. Scheuer (1987). "Three-dimensional reconstruction of biliary pathways in primary biliary cirrhosis: a computer-assisted study." J Pathol **152**(4): 317-323.
259. Yamamoto, K., M. M. Fisher and M. J. Phillips (1985). "Hilar biliary plexus in human liver. A comparative study of the intrahepatic bile ducts in man and animals." Lab Invest **52**(1): 103-106.
260. Yang, L., R. Bataller, J. Dulyx, T. M. Coffman, P. Gines, R. A. Rippe and D. A. Brenner (2005). "Attenuated hepatic inflammation and fibrosis in angiotensin type 1a receptor deficient mice." J Hepatol **43**(2): 317-323.
261. Yang, L., R. A. Faris and D. C. Hixson (1993). "Phenotypic heterogeneity within clonogenic ductal cell populations isolated from normal adult rat liver." Proc Soc Exp Biol Med **204**(3): 280-288.
262. Yin, L., D. Lynch, Z. Ilic and S. Sell (2002). "Proliferation and differentiation of ductular progenitor cells and littoral cells during the regeneration of the rat liver to CCl₄/2-AAF injury." Histol Histopathol **17**(1): 65-81.
263. Yin, L., M. Sun, Z. Ilic, H. L. Leffert and S. Sell (2002). "Derivation, characterization, and phenotypic variation of hepatic progenitor cell lines isolated from adult rats." Hepatology **35**(2): 315-324.
264. Yoshida, K., M. Yasuda, T. Nasu and T. Murakami (2010). "Scanning electron microscopic study of vascular and biliary casts in chicken and duck liver." J Vet Med Sci **72**(7): 925-928.
265. Yoshioka, K., A. Mori, K. Taniguchi and K. Mutoh (2005). "Cell proliferation activity of proliferating bile duct after bile duct ligation in rats." Vet Pathol **42**(3): 382-385.
266. Zajicek, G., R. Oren and M. Weinreb, Jr. (1985). "The streaming liver." Liver **5**(6): 293-300.
267. Zhao, L., T. Hashimoto, T. Suzuki and T. Manabe (2001). "Liver regeneration following partial hepatectomy in the subtotal pancreatic duct ligation rat model." Nagoya Med J **44**(4): 193-205.

268. Zhong, Z., R. F. Schwabe, Y. Kai, L. He, L. Yang, H. Bunzendahl, D. A. Brenner and J. J. Lemasters (2006). "Liver regeneration is suppressed in small-for-size liver grafts after transplantation: involvement of c-Jun N-terminal kinase, cyclin D1, and defective energy supply." Transplantation **82**(2): 241-250.
269. Zimmermann, A. (2002). "Liver regeneration: the emergence of new pathways." Med Sci Monit **8**(3): RA53-63.

Elza Azmaiparashvili

**THE ESSENCE AND MECHANISMS OF DUCTULAR
REACTION AT THE EARLY TERMS OF BILE DUCT LIGATION
IN THE RATS**

The PhD Thesis

Department of Clinical Anatomy

Faculty of Medicine, Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

Tbilisi - 2011

The essence and mechanisms of ductular reaction at the early terms of bile duct ligation in the rats

INTRODUCTION

Ductular reaction (DR) is well-known phenomenon in many acute and chronic human liver diseases as well as in different experimental conditions in rodents (Desmet, 1992, Desmet, 2011, Liu, *et al.*, 1998, Roskams, *et al.*, 2003). Histologically DR is expressed by increase amount of ductular profiles associated with predominant infiltration of neutrophils and mononuclear cells and growing fibrosis (Dutra, *et al.*, 2008).

Ligation-induced extrahepatic bile duct obstruction represents well-established *in vivo* model used for the study of cholangiocyte proliferation and liver fibrosis. The proliferative response of cholangiocytes during cholestasis is regulated by the complex interaction of several factors, including gastrointestinal and neuroendocrine hormones as well as autocrine or paracrine signalling mechanisms (Alpini, *et al.*, 2002, Glaser, *et al.*, 2009, Glaser, *et al.*, 2010, Mancinelli,

et al., 2009). Activation of biliary proliferation is thought to play a key role in the initiation and progression of liver fibrosis (Glaser, *et al.*, 2009). Three main types of DR have been described: “typical”, “atypical” and “oval cell proliferation”(Desmet, *et al.*, 1995, Priester, *et al.*, 2010). It is well-established that the typical DR develops during acute severe biliary obstruction in humans and in common bile duct ligated (BDL) rats. The new ductules are well formed, have clearly defined lumina and are confined to portal tracts (Nakano, *et al.*, 1995). It is considered that newly developed ductules are originating from the preexisted biliary ductules and reveal their structural and functional characteristics (Slott, *et al.*, 1990). The amount of newly developed bile ductules, which are similar to normal bile ducts, is increasing in time-dependent manner after BDL (Dirlik, *et al.*, 2009).

According to several studies the appearance of new ductules is evident on the second or third days after BDL and is associated with increase mitotic activities of biliary epithelia (Burt and MacSween, 1993, Demetris, *et al.*, 1999, Lee, *et al.*, 1981, Marucci, *et al.*, 1993, Shibayama, 1990). It has been demonstrated that proliferated biliary epithelial cells can give origin to ductules (“newductules”) even *in vitro*. Moreover, new ductiles form abundant networks, similar to those *in vivo* (Hashimoto, *et al.*, 2008). Initially, ductular proliferation appears in the periportal areas and then gradually advances intralobulary.. At 4 weeks after the ligation distorted configuration of the hepatic parenchyma with interconnecting stroma rich of irregular ductules is developed (Nakano, *et al.*, 1995). It is considered that DR is more evident at one week after biliary obstruction (Glaser, *et al.*, 2010, Priester, *et al.*, 2010). However, we have previously demonstrated that increased amount of ductular profiles in the liver of BDL rats is evident already at several hours after biliary obstruction (Aslamazishvili, *et al.*, 2007). The origin of “new” bile duct profiles and mechanisms, which can be involved in such early DR, is currently unknown, and needs to be elucidated. It is conceivable that early DR after BDL is not related to mitotic activity of existing biliary epithelia and bile ductules proliferation. The new ductular profiles possibly but not necessarily might be of ductular origin: they may originate from progenitor cells (local and/or circulating cells, most likely bone marrow-derived) or from the biliary metaplasia of hepatocytes (Desmet, 2011, Kubota, *et al.*, 2008).

The aim of this study was to characterize early (within 24 hours) ductular reaction observed in the rats in response to biliary obstruction (Aslamazishvili, *et al.*, 2007, Azmaiparashvili, *et al.*, 2009).

MATERIALS AND METHODS

Animals and Experimental Protocol

Inbred male Lewis rats were obtained from Charles River Deutschland (Sulzfeld, Germany). All animal studies were performed at the Alexandre Natishvili Institute of Morphology. Experimental protocols and use of animals were approved by the Institutional Animal Care Committee. Male Lewis rats (n=36) weighting 250-300 g were subjected to common bile duct ligation (n=24) or sham operation (controls, n= 12) under ethyl-ether narcosis. A midline laparotomy was performed, and the common bile duct was ligated twice with a 3-0 silk suture and then cut between the ligatures. Sham-operated animals went through an identical laparotomy and liver manipulation without bile duct ligation. The animals were killed on 3, 6, 12 and 24 hours after BDL (6 animals in each group); part of the dissected liver samples (median lobe) were frozen at -80°C for immunohistochemistry and part fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin and used for routine histological examination.

Separate experiments were designed for cytokeratine immunoblotting analyses. In total 10 animals (5 BDL – for 24 hours and 5 shame operated) were used. BDL was performed using same technique as described above. After 24 hours animals were killed and liver tissue (median lobe) was frozen at -80°C. The number of used animals was estimated to be the minimum required for adequate statistical analysis.

Histology and immunohistochemistry

Liver sections of 5 µm thickness were stained with hematoxylin and eosin. Fixed in 10% neutral formalin and/or frozen liver samples undergone the standard histological (Hematoxylin-eosin stained slides) and immunohistochemical investigations. Frozen liver samples were sectioned on cryostate microtome (Leica 800 Cryostat Microtome CM1800) and immunostained for Ki67 (1:150) (ab16667, Abcam plc, Cambridge, UK), pan-Cytokeratin antibody [AE1+AE3] (neat) (ab961, Abcam, plc, Cambridge, UK) and OV-6 (1:100) (MAB2020 R&D Systems, Inc) using appropriate protocols provided by antibody suppliers. Sections were counterstained with haematoxylin.

The average number of ductular profiles in cross-sectional areas were calculated in 20 appropriate fields for each sample: a) in portal areas surrounding large (> 50 µm) branches of portal vein; b) in portal areas surrounding small (< 50 µm/) branches of portal vein; c) intralobulary (outside of portal areas).

Electrophoresis and immunoblotting

The liver tissues collected 24 h after BDL were frozen in liquid nitrogen and rapidly homogenized in buffer composed of 20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.32 M sucrose, 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid, 0.5 mM ethylene glycol-bis(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid containing cocktail of protease inhibitors and centrifuged at 1000 g for 10 min. The supernatant (nuclear-free homogenate) was used in subsequent analysis.

A concentrated solution of sodium dodecyl sulphate (SDS) was added to the homogenate fraction to give a final concentration of 5%. In all fractions, protein concentration was determined in quadruplicate using a micro bicinchoninic acid protein assay kit (Pierce). Aliquots containing 30 µg of protein and of equal volume were applied to the gels. SDS gel electrophoresis and Western blotting were carried out as described previously (Solomonina, *et al.*, 2008). After protein had been transferred onto nitrocellulose membranes, the membranes were stained with Ponceau S solution to confirm transfer and the uniform loading of the gels. The membranes were then washed with phosphate-buffered saline + 0.05% Tween 20, incubated in bovine serum albumin solution and then stained with Mouse monoclonal [AE1+AE3] antibodies to pan Cytokeratin (dilution 1:100 Abcam, ab961). These antibodies are the mixture of monoclonal antibodies which recognizes acidic and basic subfamilies of cytokeratins.

Standard immunochemical procedures were carried out using peroxidase-labelled secondary antibodies and SuperSignal West Pico Chemiluminescent substrate (Pierce). The blots were then exposed with intensifying screens to X-ray films pre-flashed with Sensitize (Amersham). The optical densities of bands corresponding to the total cytokeratin fraction as well as individual cytokeratins were measured using LabWorks 4.0 (UVP). The autoradiographs were calibrated by including in each gel four standards comprising the nuclear-free homogenate fraction from the liver of untreated rats. Each standard contained 15-60 µg total protein. Optical density was proportional to the amount of total and individual cytokeratins (see fig. 3A). To obtain the data given in Fig.4 the total optical density or optical density of each band from an experimental sample (e.g. control or experimental rat) was divided by the optical density which, from the calibration of the same autoradiograph, corresponded to 30 µg of total protein in the standard (see e.g. Solomonina *et al.*, 2008). The data expressed in this way will be referred to as "relative amount" of total cytokeratins or single cytokeratin (see results). The filters were stripped and equal protein loading was verified by total actin staining (antibodies from Santa Cruz Biotechnology Inc.) of the membrane.

Statistical Analysis

Liver from single rat formed a single sample. Sample size was estimated on a previous experiments with BDL (Aslamazishvili, et al., 2007). Data for the average number of ductular profiles and total amount of cytokeratins from Western immunoblotting experiments were analyzed by the one-way analysis of variances (one-way ANOVA). In ANOVA for the average number of ductular profiles the factor was time and for the data of immunoblotting experiments factor was group of animals (operated, sham-operated). Planned comparisons between the average number of ductular profiles and total amount of cytokeratins and individual members were made using *t*-tests. Statistical tests for the average number of ductular profiles and total amount of cytokeratins were two tailed.

As the number of cytokeratin immunostained cells and the amount of total cytokeratins were significantly increased after experimental treatment (see Results) for the comparison of individual members of cytokeratins one-tailed *t*-test was used.

RESULTS

Histology and immunohistochemistry

Changes in number of bile ductules. BDL was accompanied with significant effect of time factor on the amount of ductular profiles: for bile ductules in the large portal tracts - $F_{3,23}=182.94$, $P=0.00001$; for bile ductules in the small portal tracts - $F_{3,23}=5.60$, $P=0.006$; for the intralobulular ductular profiles - $F_{3,23}=48.78$, $P=0.0001$. In sham operated animals statistical analysis revealed no significant effect of the time factor for number of ductular profiles localized in any studied areas (per large and small portal tracts, intralobular).

Biliary Epitheliocytes and “Reactive ductules’ cells” were strongly positive for CK and OV-6 at all time points, but immunohistochemical profile of hepatocytes was gradually changing with time. Particularly, hepatocytes were CK-negative both in sham-operated and in BDL rats up to 6 h. However, some cells started to express CK at 12-24 hours after BDL. No OV-6-positive hepatocytes were found at any examined time point. Ki-67e immunostaining did not reveal any proliferating hepatocytes.

The number of ductular profiles in each studied areas were significantly increased as early as 3 h after BDL as compared to sham-operated control levels. The increase of number of ductular profiles was observed and reached the maximal level 24 h after BDL. At the same time,

the number of ductular profiles localized in the large portal tracts as well as the number of intralobular ductules were increased more rapidly during the first 3 h in comparison with further terms of BDL; More linear increase of the number of bile ductules' in the small portal tracts was observed during each time point.

Ductular profiles appeared around the portal tracts of all sizes: from large to the finest. At the large and medium portal tracts the significant number of ductular profiles was observed opposite to biliary ducts - along the perimeter of portal vein branches. Ductular reaction also was observed intralobullarily, in the areas of the limiting plates and central veins, several hundreds microns away from the portal tract (biliary ducts). These "neoductules" were located in the spaces of Disse; The sinusoids adjacent to the newly developed ductules were wider than other sinusoids observed in the same area.

Cells composing the neoductules were small and uniform with light, oval, sometimes spindle-shaped nuclei and scant cytoplasm. Sometimes they were forming the plaques with double-layered syncytial cells. These type of cells were Ki67-negative, but equally immunopositive for Pan-Cytokeratine and OV6.

Hepatocytes were immunonegative for all above-mentioned antibodies (Ki67, pan-Cytokeratin and OV-6) at 3 and 6 h after BDL, the significant number of Pan-Cytokeratine immunopositive hepatocytes were observed at 12 and 24 h after BDL.

Electrophoresis and immunoblotting

The mixture of monoclonal antibodies against acidic and basic subfamilies of cytokeratins have bound in samples of the both, control and 24 h BDL groups of rats to a protein bands of the following molecular weights: 66-68 doublet, 65, 64, 56, 50, 44 and 40 KDa doublet. Additional bands with molecular weight of 61 KDa were observed mainly in liver samples of bile congested animals. The molecular weights of the stained bands are in agreement with described properties of cytokeratins. The optical densities of the total amounts of cytokeratins were linearly related to the amounts of loaded proteins.

Total amount of cytokeratins

The total amount of cytokeratins was significantly affected by experimental conditions ($F_{1,9}=6.05$, $P=0.039$). The mean relative amount of total cytokeratins was significantly (by 37%) higher as compared to control group ($t=2.46$, $P=0.044$).

Individual cytokeratins

Comparisons between experimental groups were carried out also for each individual cytokeratins resolved by SDS electrophoresis conditions. As the total amount of cytokeratins and the number of cytokeratin-positive liver cells were increased, respectively for statistical analysis we used one-tailed t-test. From the eight individual bands significant increase was observed for the cytokeratins of the following molecular weights: 61 KDa ($t=2.15$, $p=0.042$); 56 KDa ($t=2.20$, $p=0.038$) and 40 KDa ($t=1.99$, $p=0.047$). For all other individual bands the numerical value of mean amount of proteins was higher in samples of bile abducting group of rats indicating the general trend of total cytokeratin increase.

DISCUSSION

Our results convincingly demonstrate that DR is induced in few hours after BDL. Taking into account very short time period for DR we assume that this phenomenon cannot be associated with proliferation of existed bile ducts/ductules and their epithelial cells. We suggest that increased number of ductular profiles are originating from the widening of the finest biliary ramifications: biliary ductules and periportal biliary plexus. Based on obtained immunohistochemical data, we can also suggest, that BDL leads to initiation of biliary-type transformation of hepatocytes.

It has been shown that CK-positive bile duct number is rising from second day after BDL and is steadily increasing up to day 14 (Georgiev, *et al.*, 2008). Generally it is considered that increase of ductular profiles can be related to a) proliferation of existing bile ducts; the proliferating bile duct-like structures are the product of the extant biliary tree and retain its characteristics (Slott, *et al.*, 1990); (b) proliferation of other cells (including stem cells) (Greenbaum and Wells, 2011) c) transdifferentiation of hepatocytes into ductular type (Nishikawa, *et al.*, 2005). All these pathways are described for different types of ductular reaction (“typical” and “atypical”) associated with different pathological conditions of liver, including experimental BDL. The absolute majority of investigations of BDL in rodent liver describe DR from the second or third days, but more strictly from day 7 after biliary obstruction (Georgiev, *et al.*, 2008, Roskams and Desmet, 1998). It is concerned, that proliferation of existed bile ducts is resulted from increased mitoses of biliary epitheliocytes (Burt and MacSween, 1993, Demetris, *et al.*, 1999, Lee, *et al.*, 1981, Marucci, *et al.*, 1993, Shibayama, 1990, Sirica, *et al.*, 1997). Our previous investigations also confirm that activation of mitoses in biliary epithelial cells and hepatocytes takes place correspondingly on the 2nd and 3rd days after BDL (Azmaiparashvili, *et al.*, 2009). However, the current study shows that increase of biliary profile

occurs several hours after BDL, which is not accompanied by mitotic activities in any cell types of liver tissue. These data confirm that the increase of number of ductular profiles at 3, 6 and 12 hours after BDL is not associated with cell proliferation.

One of the possible sources of increased ductular profiles can be the lumens of biliary mucosal glands, which are widened due to raised BDL-induced biliary pressure (as it was described on autopsy liver specimens (Terada and Nakanuma, 1992) and in dogs after BO (Kordzaia, 1990). However, in rats, unlike to dogs, cats and guinea pigs the amount of mucosal biliary glands is much smaller and majority of them are attached to the extrahepatic but not intrahepatic bile ducts (Andrews and Andrews, 1979, Yamamoto, *et al.*, 1985). The topography of the newly appeared ductules (they are disposed along the perimeter of portal vein lumen remote but not adjacent to bile ducts) also excludes the possibility of their glandular origin. Thus, it is less conceivable to associate DR with wideness of mucous biliary glands' lumens.

Next epithelial-lined tubular structures located at the portal areas, which can be a source of DR is periportal biliary plexi described on biliary corrosion casts in rats (Murakami, *et al.*, 2001, Wright and Braithwaite, 1964, Yoshida, *et al.*, 2010). In these plexi the bile ductules are anastomosing with each other, and forming a plexiform network around the portal vein branch or at the periphery of portal canal. This network of bile ductules form larger ductules to drain into the intrahepatic bile ducts in the portal canal (Murakami, *et al.*, 2001, Wright and Braithwaite, 1964, Yoshida, *et al.*, 2010). We believe that the periportal biliary plexus is the basis for numerous ductular profiles, which appear in periportal area already in the few hours of bile congestion. But, according to our data, at 6 h after BDL the ductular profiles appear also inside of lobules, far away from the portal tract. Obviously, the periportal biliary plexus cannot be the source for these structures. They should be a cross- and tangential sections of the finest bile ducts ramifications, bile ductules and Hering's ductules, which are established to pass the limiting plate and spread quite far inside the lobulli (Roskams, *et al.*, 2004). These finest biliary structures which lie within the lobule and not at the limiting plate are not readily apparent on routine histological staining (Saxena and Theise, 2004). But the increased biliary pressure due to BDL can be sufficient factor for their dilatation and appearance on microscopical slices. Ductular profiles can represent the sections of the finest biliar-biliary anastomoses which are evident on SEM of corrosion casts (Murakami, *et al.*, 2001). They can also be intercalated portion of biliary ductules creating the finest plexi at the bordering areas with limiting plates (Takahashi-Iwanaga and Fujita, 1991).

Normally there is on average one Hering's ductile per 10 μm of bile duct length. (Jeong, *et al.*, 1993, Saxena and Theise, 2004). The comparative analysis of the results of Scanning Electron Microscopy of corrosion casts (SEMCC) of portal and biliary trees stipulates the conclusion, that frequently the angles of ramifications of the sinusoids from the thinnest portal branches appear different with angles of ramification of biliary ductules from the finest interlobular bile ducts (Kordzaia, 1990, Motta, *et al.*, 1978, Murakami, *et al.*, 2001, Yamamoto, *et al.*, 1985, Yoshida, *et al.*, 2010). The above-mentioned peculiarities of the architecture of vascular and biliary structures are schematically presented on original cheme. It can explain the suggested mechanism of appearance of ductular profiles inside of liver lobule caused by widening of biliary ductule lumens due to biliary hypertension. Localization of described "neoductules" in the spaces of Disse confirms this suggestion, because perisinusoidal spaces are the only areas, where the biliary ductules, Hering's ductules and/or the finest biliary-biliary anastomoses can be placed. Such a localization of the finest biliary tubular structures and their compression on the adjacent sinusoidal capillaries can explain the appearance of local widening of those capillaries, presumably proximally to the compressing areas.

We upper have shown that number of ductular profiles localized in the larger portal tracts as well as the number of intralobular ductules increase more rapidly during the first 3 h in comparison with further terms of BO, whereas the number of bile ductules' in the smaller portal tracts increase more linearly during 24 h after BDL. It confirms the consideration that bile ducts placed in larger portal tracts and intralobular ductuls are more subjective to widening then bile ducts placed in smaller portal tracts, since the lasts are more compactly surrounded by fibers of peribiliar and periportal connective tissue (Chanukvadze and Archvadze, 2003, Izraelashvili and Toidze Sh, 1982, Kordzaia, 1990).

In parallel with widening of biliary ductules their epithelial cells increase in size. Cells composing the new ductular profiles with light, oval, sometimes spindle-shaped nuclei and scant cytoplasm (high nucleus/cytoplasm ratio) are larger than small cuboid epithelial cells normally covering the finest biliary branches (Benedetti, *et al.*, 1996, Glaser, *et al.*, 2010). but smaller than hepatocytes. This indicates that cholestasis and biliary hypertension with accompanying multi-profile reactions may lead to initiation of cells transformation. This is confirmed also by the part of hepatocytes changing their Keratin profile and staining positively for CK at 12 and 24 h after BDL. This suggestion is also supported by immunoblotting data: significant increase of total cytokeratins was observed in rat livers after 24 h of BDL. Increased amount of total cytokeratin (by 37%) cannot be explained only by "ductullar reaction", because the cholangiocytes represent

a small proportion (3 to 5%) of the cells of the liver (Glaser, et al., 2010, Racanelli and Rehermann, 2006).

We suggest that hepatocytes are main source of newly synthesized cytokeratins. Our analysis of data of individual cytokeratin expression showed that immunoreactivity of each detected cytokeratin is higher in BDL groups. However, significant increase is observed only for cytokeratins with molecular weights 61, 56 KDa and 40 KDa. These cytokeratins could correspond to CK7 (56 KDa) and CK19 (40 KDa). CK7 is known as liver progenitor cell marker and its expression was found not only in the oval cells, but in hepatocyte-like cells during different pathologic conditions (Libbrecht, *et al.*, 2000). Significant increase in the amount of cytokeratin immunoreactivity coinciding by molecular weight with CK7 supports the hypothesis that hepatocytes transdifferentiation starts in early phase of BDL. This suggestion is supported by fact, that we could not detect increase of OV-6-positive cells (oval cells) in rat liver. CK19 which also was significantly increased at 24 h of BDL, is generally expressed by biliary epithelial and oval cells, but is also found in hepatocytes during their transdifferentiation under different pathological conditions. Some types of ductular reaction arises both from proliferation of pre-existing bile ductules as well as ductular metaplasia of hepatocytes (Michalopoulos, *et al.*, 2005, Roskams, *et al.*, 1990).

Previously it was shown that biliary epithelium (including epitheliocytes of gallbladder) is an effective and substantial hepatocyte progenitor compartment under appropriate conditions (Alison, *et al.*, 1996, Lee, *et al.*, 2009), in particular after BDL (Irie, *et al.*, 2007). Our results confirm other possibility: the hepatocytes can also effectively begin the biliary epithelia-like transformation already at 12 h after BDL. Previously it was reported that under *in vitro* conditions hepatocytes can differentiate toward bile duct-like cells. Such differentiation capacity of hepatocytes may explain the nature of atypical ductular reaction in chronic cholestatic liver disease (Limaye, *et al.*, 2010, Nishikawa, et al., 2005, Zong, *et al.*, 2009). To our knowledge, we are the first who showed in present study an early changes of cytokeratin's profile of hepatocytes.

In conclusion, our immunohistochemical and biochemical data indicates that DR starts much earlier and this reaction is not mediated by biliary proliferation, but rather with restructuring of preexisting bile ductules. In few hours after BDL the DR is result of the widening of the finest biliary ramifications, biliary ductules and periportal biliary plexus and is not associated with proliferation of existed bile ducts/ductules and their epithelial cells. BDL leads to initiation of cells transformation revealed by the changing the sizes and forms of biliary

epithelial cells and Keratin profiles of the part of hepatocytes. The DR after BDL represents the gradual and multi-component phenomenon which is initiated immediately after BDL.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank Mikheil Jangavadze, MD, PhD, Professor Revaz Solomonia, PhD, ScD, Ekaterine Berishvili, MD, PhD andc Otar Pilishvili for their support and collaboration