

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

ეკატერინე ბაკურაძე

**ვირთაგვას ღვიძლის რეგენერაციის
თავისებურებები ძოლესტაზის პირობებში**

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელი:
ბიოლოგიის მეცნ. დოქტორი,
პროფესორი დიანა ძიძიგური

თბილისი
2006

სარჩევი

შესავალი -----	4
----------------	---

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. ღვიძლის რეგენერაცია მღრღნელებში -----	8
1.2. ქოლესტაზი და ღვიძლის რეგენერაცია -----	17
1.3. სტეროიდული ჰორმონების ზოგადი მიმოხილვა -----	25
1.4. გენომის მულტიპლიკაცია - პოლიპლოიდია -----	30

თავი 2. მასალა და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტები და მოდელები -----	35
2.2. ბირთვების გამოყოფა და გასუფთავება -----	35
2.3. ბირთვების ქიმიური ანალიზი -----	36
2.4. იზოლირებული ბირთვების რნმ-მასინთეზებელი ტესტ-სისტემა -----	37
2.5. სინათლის მიკროსკოპში შესწავლისათვის მასალის ფიქსაცია და პრეპარატების მომზადება -----	38
2.6. ჰეპატოციტების ბირთვებში დნმ-ს რაოდენობის განსაზღვრის მიზნით პრეპარატების მომზადება და მათი შეღებვა -----	38
2.7 დნმ-ს რაოდენობის განსაზღვრა ციტოფოტომეტრის საშუალებით -----	39

თავი 3. კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

3.1. ადგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ღვიძლის რეგენერაციის თავისებურები ქოლესტაზის პირობებში -----	40
3.1.1 ღვიძლის უჯრედებში რნმ-ს სინთეზზე ქოლესტაზის ხეგავლენის შესწავლა -----	40
3.1.2 ღვიძლის უჯრედებში ტრანსკრიპციის პროცესზე ნაღვლის	

საერთო სადინარის ხანგრძლივი ოკლუზიის ზეგავლენა -----	45
32 ღვიძლის რეგენერაციაზე ქოლესტაზის დამროთუნველი ზემოქმედების მოლექულური მექანიზმების გამოკვლევა -----	51
3.2.1 აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ღვიძლის უჯრედებში სხვადასხვა ჯგუფის გენების ექსპრესიაზე ქოლესტაზის ზემოქმედების შესწავლა -----	51
3.2.2 ქოლესტაზის პირობებში აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ღვიძლის უჯრედებში ტრანსკრიპციის ინაქტივაციის მექანიზმის შესახებ -----	55
33. ვირთაგვას ღვიძლის მორფოლოგიური მახასიათებლების ცვლილება ქოლესტაზის პირობებში -----	65
3.3.1. ქოლესტაზის ზეგავლენა რეგენერირებადი ღვიძლის პისტოარქიტექტონიკაზე -----	65
3.3.2 ქოლესტაზის ზეგავლენა ზრდასრული თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე -----	79
34. ზრდასრული ვირთაგვას ჰეპატოციტების პლოიდობაზე ქოლესტაზის ზეგავლენა -----	85
დასკვნები -----	92
გამოყენებული ლიტერატურა -----	93

შესავალი

თემის აქტუალობა. ღვიძლის რეგენერაცია დღემდე რჩება თანამედროვე ბიოლოგიისა და მედიცინის აქტუალურ პრობლემად. ინტენსიური კვლევის საგანია ღვიძლის უჯრედების გაყოფასთან დაკავშირებული პროცესების რეგულაციაში მონაწილე ფაქტორების იდენტიფიცირება და უჯრედში სიგნალის გადაცემის გზების დადგენა (Koniaris L.G. et al. 2003, Liao Y. et al. 2004, Ogawa A, et al. 2006) ეს გამოკვლევები განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მედიცინასთვის, რადგან თანამედროვე ქირურგიაში არც თუ იშვიათია შემთხვევა, როცა იქმნება ღვიძლის სხვადასხვა მასშტაბის (მათ შორის მასიური) რეზექციის წარმოების აუცილებლობა. მკურნალობის ქირურგიული მეთოდი ხშირად გამოიყენება ღვიძლის ავთვისებიანი სიმსივნის და ნაღველ-კენჭოვანი დაავადების დროს. ძალზე ხშირად ღვიძლში მიმდინარე პათოლოგიური პროცესები ობსტრუქციული სიყვითლის ფონზე მიმდინარეობს, ამ უკანასკნელის თავიდან აცილების მიზნით მიმართავენ ნაღველის საერთო სადინარის (ნსს) გარეთ დრენირებას. ლიტერატურული მონაცემებით ნაღველის საერთო სადინარის გარეთ დრენირების შემთხვევაში ნაწილობრივ ითრგუნება ღვიძლის პროლიფერაციული აქტიურობა. პარენქიმული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის დაქვეითებას ავტორები ქსოვილში ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორის (HGF) რაოდენობის შემცირებით ხსნიან, რომლის კონცენტრაცია ღვიძლის რეზექციის მოცულობის პროპორციულად დრენირებულ ნაღველის სადინარში იზრდება (Hayata A., et. al.;1999). ღვიძლის რეგენერაცია ითრგუნება ნაღველის საერთო სადინარის ლიგირების შემთხვევაშიც. ნაჩვენებია, რომ ნაღველის საერთო სადინარის ოკლუზია ინდუცირებს აპოპტოზს და დნმ-ს სინთეზის დაქვეითებას ახდენს ადრეული პასუხის გენების

კონსერვაციის გზით (Bird M.A. et. al.2002). ნაწილობრივი პეპატექტომია, როგორც ცნობილია, ინდუცირებს ღვიძლის უჯრედების პროლიფერაციას, რომლის ინიციაცია ადრეული პასუხის გენების აქტივაციით არის განპირობებული (Dzidziguri D.V., et. al. 1994). გარდა ამისა, არსებობს ცნობები იმის შესახებ, რომ ქოლესტაზი ინდუცირებს ნაღვლის სადინარების ამომფენი ეპითელიოციტებისა და თვით ამ სადინარების პროლიფერაციას (Slott Ph. A., et. al.; 1990, Wang H. et al. 2005).

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარეობს, რომ ქოლესტაზის ფონზე ღვიძლის რეზექციის საპასუხოდ აღძრული პროცესების მარეგულირებელი მექანიზმები ჯერ კიდევ დასაზუსტებელია. გაუგებარია როგორ ხდება უჯრედებში გენების კონსერვაციის შემდეგ დნმ-ის სინთეზის და აპოპტოზის ინდუცირება. გარდა ამისა, დღემდე უცნობია ადრეული პასუხის გენების კონსერვაციის ქოლესტაზით განპირობებული კონკრეტული მექანიზმი.

კვლევის მიზანი. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის რეგენერაციაზე ქოლესტაზის შემოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა. აქედან გამომდინარე, დასახული იყო შემდეგი ამოცანები:

1. ზრდასრული თეთრი ვირთაგვას პეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიის ზეგავლენის შესწავლა;
2. რეგენერირებად ღვიძლში პეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ქოლესტაზის ზეგავლენის დადგენა ადღგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე;
3. ზრდასრული ვირთაგვას პეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობაზე ნაღვლის საერთო სადინარის

ხანგრძლივი ოკლუზიის (4 დღიანი ქოლესტაზი) შემოქმედების გამოკვლევა;

4. პროლიფერაციისადმი სტიმულირებული ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობის ცვლილებების დადგენა 4 დღიანი ქოლესტაზის პირობებში;
5. ქოლესტაზით თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტებში ადრეული პასუხის გენების ინაქტივაციის მექანიზმის დადგენა;
6. ზრდასრული თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის პისტოარქიტექტონიკაზე ქოლესტაზის ზეგავლენის შესწავლა;
7. ქოლესტაზის პირობებში ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილში მიტოზური აქტიურობის და პლოიდობის განსაზღვრა;

ნაშრომის მმცნიერული სიახლე. პირველად არის ნაჩვენები, რომ:

- ღვიძლის რეგენერაციაზე ქოლესტაზის დამრთავუნველი შემოქმედება ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის დონეზე ხორციელდება;

- ქოლესტაზი თეთრი ზრდასრული ვირთაგვას სისხლში ოპერაციიდან 6 საათში კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის მნიშვნელოვან ზრდას იწვევს;

- ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება პირველი 10 საათის განმავლობაში არ ახდენს დამრთავუნველ ზეგავლენას ზრდასრული ღვიძლის ტერმინალურად დიფერენცირებულ უჯრედებში ექსპრესირებადი გენების აქტიურობაზე;

- ქოლესტაზი რეგენერირებადი ღვიძლის ქსოვილში საპირისპირო ზეგავლენას ახდენს ჰეპატოციტების და ქოლანგიოციტების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე.

- ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება ხანმოკლე დროის (ნსთ) განმავლობაში არ ახდენს ზეგავლენას ვირთაგვას ღვიძლის პისტოარქიტექტონიკაზე;

- ნაღვლის საერთო სადინარის ხანგრძლივი ოკლუზია (4 დღიანი ქოლესტაზი) ღვიძლის პარენქიმულ უჯრედებში მიტოზების აღმოცენებას ინდუცირებს.

- ნაღვლის საერთო სადინარის ხანგრძლივი ოკლუზიის შედეგად ღვიძლზე გაზრდილი ფუნქციური დატვირთვის კომპენსაცია პარენქიმული უჯრედების პოლიპლოიდიზაციის გზით მიიღწევა

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა.
სადისერტაციო ნაშრომი, როგორც ფუნდამენტური გამოკვლევა, შეიცავს თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობის მონაცემებს ქოლესტაზის პირობებში ღვიძლის რეგენერაციის თავისებურებების შესახებ, კერძოდ, დადგენილია ღვიძლის უჯრედებში ქოლესტაზით ინდუცირებული ადრეული პასუხის გენების ინაქტივაციის მექანიზმი მიღებული მონაცემები ნაღვლის საერთო სადინარის ობსტრუქციის ფონზე მიმდინარე რეგენერაციული პროცესების რეგულაციის საშუალებას მოგვცემს.

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. ღვიძლის რეგენერაცია მღრღნელებში

ორგანოთა რეგენერაციის უნარს, რომელიც სხვადასხვა ქსოვილებში მეტად თუ ნაკლებადაა გამოხატული ცოცხალ ორგანიზმებში მიმდინარე ძირითადი სასიცოცხლო პროცესებიდან მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს. ქსოვილების განახლების საფუძველს ფიზიოლოგიური რეგენერაცია წარმოადგენს (Лиознер 1975), ხოლო ორგანოს დაზიანების (ტრავმები, სხვადასხვა პათოლოგიები) შემთხვევაში კი რეპარაციული რეგენერაცია, მიმდინარეობს რომელიც ორგანოს ნაწილობრივ ან სრულ აღდგენას უზრუნველყოფს (Лиознер 1975). ჰისტოგენეზისათვის დამახასიათებელი პროცესების (პროლიფერაცია, ჰიპერტროფია, პოლიპლოიდიზაცია) წვლილი სხვადასხვა ორგანოს რეგენერაციაში განსხვავებულია (Саламатина 1975; Карлсон Б. 1986), რაც უჯრედების ფუნქციური ადაპტაციით და გენეტიკურად დეტერმინირებული მექანიზმებითაა განპირობებული (Клишов А.А. 1984). ნაჩვენებია, რომ ძუძუმწოვრებში ღვიძლის ქსოვილის რეგენერაცია ძირითადად პროლიფერაციის ხარჯზე მიმდინარეობს, მაშინ როცა თირკმლის ქსოვილის უჯრედებში სჭარბობს ჰიპერტროფია და სინთეზური პროცესების გაძლიერება (Карлсон Б. 1986; Gros R.J. 1971). ეს უკანასკნელი წარმოადგენს რეგენერაციის თავისებურ ფორმას, რომელსაც ლიოზნერმა ადაპტაციური რეგენერაცია უწოდა. მართალია, რეგენერაციული ჰიპერტროფიისას არ ხდება ორგანოს ფორმის აღდგენა, მაგრამ მისი მასა, ზომა და ფუნქცია საწყის მნიშვნელობას აღწევს (Лиознер Л.Д. 1977; Ord M.C., Stoke L.A., NY. John and Sons 1984). დღეისათვის ჩამოყალიბდა აზრი, რომ რეგენერაციის

უნარი ძუძუმწოვრების თითქმის ყველა ორგანოს გააჩნია (Бродский В.1981; Diaz-Cil. 1986; Алесеенко А. 1993), რომელთა მაგალითზეც მიმდინარეობს კვლევა-ძიება აღდგენითი პროცესების ზოგადი კანონზომიერებების დასადგენად.

ამ მიზნით განსაკუთრებით ინტენსიურად მღრღნელების ღვიძლი გამოიყენება. ნაჩვენებია, რომ ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან დაახლოებით ათი დღის შემდეგ დაკარგული ქსოვილის მასა მთლიანად აღდგება. (Романова Л.К. 1984, рябиннича З.А. и др...1973). ე.ი. ღვიძლის ქსოვილს აქვს ზრდისა და მასის რეგულაციის უნარი. მასის მატების კორექცია კი აპოპტოზისის საშუალებით ხორციელდება. ღვიძლის ქსოვილს რეპოპულაციის და რეპლიკაციის დიდი უნარი გააჩნია (Fausto N. 2000). ზრდასრული მღრღნელების ღვიძლი შეიცავს უჯრედების ორ ცნობილ პოპულაციას, რომელთაც აქვთ ღერო უჯრედების თვისება და რომლებიც მონაწილეობენ ღვიძლის ქსოვილის რეპარაციულ და ფიზიოლოგიურ რეგენერაციაში. ესენია: უნიპოტენტური წინამორბედი უჯრედები (დიფერენცირებული ჰეპატოციტები, ნაღვლის სადინარი ეპითელიური უჯრედები) და მულტიპოტენტური არაპარენქიმული წინამორბედი უჯრედები მაგალითად, ოვალური უჯრედები (Gordon G.J. 2000).

ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ ხდება ღვიძლში არსებული ყველა უჯრედული პოპულაციის პროლიფერაცია (ჰეპატოციტები, ნაღვლის სადინარის ეპითელიოციტები, ფენესტრირებული ენდოთელიოციტები, მაკროფაგები, კუპფერის უჯრედები და იტოს უჯრედები). ჰეპატექტომიიდან 2-3 დღის შემდეგ ღვიძლის ყველა უჯრედი პროლიფერირებს, ამ დროისათვის ღვიძლის ჰისტოლოგიისათვის დამახასიათებელია კაპილარების შემომსახურელი მცირე ზომის ჰეპატოციტების ჯგუფები,

რომლებიც ჩაერთვებიან ტრამბეკულებში. ოპერაციიდან მე-7 დღისათვის შეინიშნება უფრო დიდი ზომის წილების არსებობა, ვიდრე ოპერაციამდე. ქსოვილის მასის მატება ხდება როგორც წილების ზომაში გაზრდით, ასევე წილაკების რაოდენობის ზრდით.

რეგენერაციის ინტენსივობა დამოკიდებულია რეზექცირებული ან დაზიანებული ქსოვილის მასაზე. სავარაუდოა რომ პროლიფერაციული სიგნალის გადაცემა მთლიან სხეულში ხდება მიტოკენური ფაქტორების საშუალებით, რომლებიც ცირკულირებენ სისხლში. აქედან შეიძლება აიხსნას ის, რომ მცირე ზომის ინდივიდის ღვიძლის გადანერგვა დიდი ზომის ინდივიდში იწვევს მისი მასის ზრდას მანამ, სანამ არ მიაღწევს რეციპიენტის ღვიძლის მასას. შესაძლებელია მოხდეს პირიქითაც, ამ შემთხვევაში ორგანო განიცდის მასის დაკლებას, სანამ ახალი ორგანიზმის მასასთან არ იქნება თანაფარდობაში (Van Thiel DH, et al. 1987; Francavilla A, et al. 1994; Chari RS, et al. 1996; Nagino M, et al. 1995). რეგენერაციას აგრეთვე ადგილი აქვს პარაბიოტული ცხოველების იმ მეწყვილეშიც, რომელმაც არ განიცადა ღვიძლის რეზექცია. აქ პროცესები შედარებით ნელა მიმდინარეობს, ვიდრე ნაოპერაცივე მეწყვილეში (Roesel J., et. al.; 1989; Michalopoulos G.K., et. al; 1997).

პირველად პროლიფერაციას ჰეპატოციტები იწყებენ. ისინი ფლობენ, პრაქტიკულად განუსაზღვრელ პროლიფერაციის უნარს, რომელიც გამოვლენილი იყო 12 ერთმანეთის მომდევნო ჰეპატექტომიის შემდეგ. იმის მიუხედავად, რომ ხდება უჯრედების პროლიფერაციისადმი სტიმულირება, რეგენერირებადი ჰეპატოციტები განაგრძობენ ნორმალურ მეტაბოლურ ფუნქციონირებას, რომელიც საჭიროა ორგანიზმის ცხოველსმყოფელობისათვის (Michalopoulos G.K., et. al.; 1997). მათი პროლიფერაცია პორტალური ტრიადების ირგვლივ განლაგებულ წილებში იწყება და 36-38 საათის შემდეგ

პერიცენტრულ არეში ვრცელდება. დნმ-ის სინთეზის პირველი პიკი პეპატექტომიიდან 24 საათის შემდეგ ვლინდება, ხოლო მეორე, უფრო მცირე – 36 და 48 საათს შორის. დნმ-ის სინთეზის გაძლიერებასა და საკუთრივ მიტოზს წინ უძღვის ე.წ. ლატენტური პერიოდი, რომელიც 18 საათამდე გრძელდება. ის მოიცავს G1 ფაზასა და S ფაზის საწყის ეტაპს. ლატენტურ პერიოდში აღინიშნება რნმ-ის სინთეზის გაძლიერება (Burcher N., et. al.; 1991), გლიკოგენის რაოდენობის შემცირება, თავისუფალი ამინომჟავების რაოდენობის მომატება, ცხიმოვანი მჟავების დაჟანგვა.

გავრცელებული აზრის თანახმად, რნმ-ის სინთეზის აქტივაცია ღვიძლის ნაწილობრივი რეჟექციიდან მე-6 და მე-18-20 საათზე S ფაზისა და საკუთრივ მიტოზისათვის აუცილებელი ცილების სინთეზისათვის არის განკუთვნილი. ლატენტურ პერიოდში ხდება გენების სწრაფი რეპროგრამირება. მოვლენების განვითარება პეპატექტომიის პირველივე წუთებიდან არის შესწავლილი. ოპერაციიდან რამდენიმე წუთის შემდეგ აქტიურდება ბირთვული ფაქტორი NF-kB (P50-P53 კომპლექსი). ტრანსკრიპციის ფაქტორის შთო 3-ის აქტივაცია იწყება ოპერაციიდან 30 წუთის განმავლობაში და პიკს აღწევს მე-3 საათზე, აქტივობა მე-5 საათამდე გრძელდება (Cressman D., et. al; 1995). თავის მხრივ ბირთვული ფაქტორის kB (PHF\NF-kB) ინდუცირება სხვა ფაქტორების (TNF-a, IL-1 და IL-6) საშუალებით ხორციელდება. ხდება NF-kB-ს ტრანსლოკაცია ბირთვში და ტრანსკრიპციის გააქტიურება. არსებობს მონაცემები, რომ აქტიური ჟანგბადის ფორმები და გლუტათიონის შემცველობა განსაზღვრავს TNF-ის ეფექტს, თავის მხრივ TNF მონაწილეობს როგორც აპოპტოზისის, ისე პროლიფერაციის პროცესში (Fausto N. 2000).

TNF ახდენს NFκB-ს აქტივაციას ჰეპატოციტში და 30 წუთში, რომელიც გრძელდება 4-5 სთ (Cressman, D., et al. 1994; FitzGerald M. J., et. al. 1995). NFκB-ს ჰეტეროდიმერი შედგება p50 და p65 სუბერთეულებისაგან, ციტოპლაზმაში კი დაკავშირებულია κB-ს ინჰიბიტორთან (IκB) (Haskill S., et. al. 1991). TNF-ს კონცენტრაციის გაზრდა იწვევს NFκB-ს აქტივაციას რეაქტიული ჟანგბადის (ROS) დაგროვებით და IκB-ს კინაზას (IKK) აქტივაციით (Deng L., et. al. 2001). IKK ახდენს IκB-ს ფოსფორილირებას, უბიქიტინაციას და პროტეოსომის გზით დეგრადაციას, შედეგად ხდება NFκB-ს აქტივაცია და მისი ტრანსლოკაცია ბირთვში (Brown K., et. al. 1995). ზოგიერთი ავტორის აზრით, NFκB-ს ზრდასრული ცხოველების ღვიძლში ანტიაპოპტოზური თვისებაც გააჩნია (Beg A. A., et. al. 1995). უფრო მეტიც, NFκB-ს ინაქტივაცია მუტირებული IκB-თი, რომელიც ხელს უშლის NFκB-ს ტრანსლოკაციას ბირთვში, იწვევს ღვიძლის უჯრედებში მასიურ აპოპტოზს (Iimuro Y., et. al. 1998; Chaisson M. L., et. al. 2002). რადგანაც NFκB-ს ატივაცია ღვიძლის რეგენერაციისას ხდება ჰეპატოციტებშიც და არაპარენქიმულ უჯრედებშიც, შესაძლებელია, რომ ანტიაპოპტოზურ ეფექტს არეგულირებდეს NFκB-ს აქტივაცია კუჭფერის უჯრედებში. NFκB ააქტიურებს NO-სინთეტაზას გენის ტრანსკრიპციას (Koerber K., et. al. 2002), რაც იწვევს აზოტის ოქსიდის რაოდენობის მატებას, რომელიც, თავის მხრივ, აბლოკირებს TNF-ის მიერ გამოწვეულ კასპაზების აქტივაციას (Kim Y-M, et. al. 1997). შესაძლებელია სწორედ აღნიშნული გზით ელინდებოდეს NFκB-ს ანტიაპოპტოზური ეფექტი. NFκB ასევე ახდენს IκB-ს up-რეგულაციას, რომელიც ნეგატიური უკუკავშირის გზით აბლოკირებს NFκB-ს შემდგომ აქტივაციას და შემაფერხებლად

მოქმედებს ღვიძლის რეგენერაციის საწყის ფაზაზე (Joshi-Barve S. S., et. al. 1993).

აღნიშნული ციტოკინები სხვა აგენტების თანაობისას მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ღვიძლის რეგენერაციაში. Stat3, PHF\NF-kB, AP-1 და სხვა ფაქტორების ინდუქცია პასუხისმგებელია პირველად ზრდაზე და ადრეული პასუხის გენების აქტივაციაზე. ადრეული პასუხის გენები იყოფა ორ ჯგუფად: დაყოვნებული და დაუყოვნებელი. ადრეული დაუყოვნებელი პასუხის გენები აკოდირებენ როგორც ტრანსკრიპციულ ფაქტორებს, ისე რეცეპტორებს, პროტეინკინაზებს და ზრდის ფაქტორებს. ისინი მიეკუთვნებიან პროტონკოგენებს. აღნიშნული გენების ჯგუფის ინდუქცია ჰეპატომაიდან 30 წუთის შემდეგ იწყება. მათი ექსპრესიის გააქტიურება ხდება რეპექციიდან ოთხი საათის განმავლობაში. მათ მიეკუთვნება fos, jun პროტონკოგენები, რომლებიც ტანსკრიპციის ფაქტორებს აკოდირებენ. ახლადსინთეზირებული c-Fos და c-Jun-ის ხარჯზე სწრაფად იზრდება AP-1-ის აქტიურობა, რომელიც fos\jun პროტონკოგენების პროდუქტების კომპლექსია (Beauchamp R.D., et. al.; 1994). AP-1-ის სხვადასხვა ფორმები უჯრედში რამოდენიმე საათის განმავლობაში რჩება. ადრეული პასუხის გენთა ექსპრესიის პროდუქტები დაყოვნებული ადრეული პასუხის გენების (delayed early) აქტივაციას ინდუცირებს. მათი აქტიურობა პიკს ოპერაციიდან მე-6 საათზე აღწევს (Dzidziguri D. et al. 1997; Lodish H.A., 2000; Kountouras J. et al 2001, Sakuda Sh. et al. 2002). დაყოვნებული პასუხის გენების ჯგუფს მიეკუთვნება P53, c-ras, რიბოსომული გენები და სხვა. დაუყოვნებელი გენების მოქმედება ნანახია ენდოთელურ უჯრედებში, გულში, თირკმელში, ცხს-ში, წვრილ ნაწლავში. ნაჩვენებია, რომ პროლიფერაციული სტიმული საპასუხოდ fos და Jun გენების

ექსპრესიის გაზრდა კორელირებს უჯრედების პროგრამირებულ კელომასა და პროლიფერაციის ინტენსიურობასთან (Itoh H., et. al.; 2000).

STAT3 ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან 30 წთ-ში IL6-ის საშუალებით აქტიურდება და 3 საათისთვის აღწევს პიკს. აქტივაცია გრძელდება 4-6 სთ (Cressman D., et al. 1995). IL6 მოქმედებს თავისი რეცეპტორის საშუალებით და იწვევს იანუს კინაზასთან (JAK) ასოცირებული gp130-ის რეცეპტორის აქტივაციას და დიმერიზაციას. JAK იწვევს gp130-ის ციტოპლაზმური დომენის ფოსფორილებას, რასაც მიყვარო STAT3-ის ფოსფორილებამდე. რეცეპტორიდან დისოციაციის და დიმერიზაციის შემდეგ STAT3 ტრანსლოკაციას განიცდის ბირთვში და ინდუცირებს ადრეული პასუხის გენების ტრანსკრიპციას, რომლებიც აუცილებელნი არიან უჯრედულ ციკლში შესასვლელად (Black D., et al. 2004). IL6_/_ თავგების შესწავლამ გამოავლინა STAT3-ის IL6-ზე დამოკიდებული აქტივაცია და უამრავი გენი რომელიც რეგულირდება IL6-ით. ეს გენები, თავის მხრივ აუცილებელნი არიან ღვიძლის დაზიანების შემთხვევაში უჯრედების პროლიფერაციისათვის (Cressman D. E., et al. 1996). რიგი ავტორების მიერ ნანახი იქნა ღვიძლის რეგენერაციაზე IL6-ის STAT3-საგან დამოუკიდებელი მოქმედება (Li W., et al. 2002). ჰეპატექტომიიდან 2-3 სთ-ში STAT3 ახდენს ციტოკინ სიგნალ3-ის სუპრესორის (SOCS3) ინდუცირებას, რომელიც განაპირობებს STAT3-ის down რეგულაციას gp130-სთან დაკავშირებით (Schmitz, J., et al. 2000; Wada A., et. al. 2002).

ამ გზით წარმოიქმნება ტრანსკრიპციული კასკადი G_1 ფაზის განმავლობაში. Stat3, NF-kB, AP-1 და C/EBP β არის ღვიძლისთვის დამახასიათებელი ტრანსკრიპციული ფაქტორები, რომლებიც შესაძლებელია მოქმედებენ ზრდის მაინდუცირებელ ფაქტორებთან

ერთად, რათა ხელი შეუწყონ რეგენერაციის დროს ღვიძლის პომეოსტაზის შენარჩუნებას (Taub R, 1996). ამის გარდა, ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ დაუყოვნებლივ ხდება ღვიძლის ექსტრაცელულარული მატრიქსის ინტენსიური რემოდელირება.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ღვიძლის ქსოვილის მექანიკური, ვირუსული და ქიმიური დაზიანება ინიცირებს ჰეპატოციტების რეპლიკაციას. იმისდა მიხედვით თუ რა აგენტით არის გამოწვეული სტიმული, რეგენერაცია მიმდინარეობს განსხვავებული სქემით. პროლიფერაციული სტიმულის საპასუხოდ პროტონკოგენების ექსპრესიის გაძლიერება სწრაფადვე ხდება. CCL₄-ით მოწამვლის შემთხვევაში ქსოვილის აღდგენა მსგავსია რეზექციის შემდგომ მიმდინარე რეგენერაციისა, რომლის დროსაც c-fos და c-myc მ-რნმ-ბის შემცველობა 2 საათშივე მატულობს და სწრაფადვე უბრუნდება საწყის დონეს. ამის საპირისპიროდ, გალაქტოზამინის (GalN) მოქმედების შემთხვევაში ადგილი აქვს ამ გენების შეყოვნებულ და დროში გაგრძელებულ აქტივაციას (პიკს აღწევს 24-48 საათზე). შესაბამისობაა გამოვლენილი დნმ-ს სინთეზის ინიციაციაშიც (Schmiedeberg P., et al;1993).

კულტურაში ჰეპატოციტები პროლიფერაციისთვის საჭიროებენ HGF, TGF- α და EGF ზრდის ფაქტორებს. რეგენერაციის ძირითად ტრიგერს წარმოადგენს ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორი (HGF-scatter factor). HGF-ის კონცენტრაციის გაზრდას ადამინის პლაზმაში ადგილი აქვს ღვიძლის მასის შემცირებისას. ვირთაგვებში ჰეპატექტომიიდან 1 საათის შემდეგ მისი კონცენტრაცია სისხლში 20-ჯერ იზრდება, მცირედ კლებულობს 24 საათის განმავლობაში, მაგრამ მისი დონე სისხლში მაღალია 72 საათის განმავლობაში. HGF-ის ინექცია ინტაქტური ვირთაგვას კარის ვენაში ჰეპატოციტებში იწვევს დნმ-ის სინთეზს. მაგრამ ასეთი ჰეპატოციტების რიცხვი

მიცირება და მოიცავს მხოლოდ კარის ვენის მიმდებარე უბანს. მიღებული EGF-ის და TNF-ის ინექციაც მსგავს შედეგებს იძლევა. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ ჰეპატოციტები ინტაქტურ ღვიძლში არ არიან მსხად პროლიფერაციისთვის. პროლიფერაციული სტიმულის შემდეგ HGF-ის კონცენტრაციის გაზრდა განპირობებულია შემდეგი მექანიზმით: ჰეპატექტომიდან 5 წუთის შემდეგ იზრდება უროკინაზას აქტიურობა. იგი ახდენს პროტეოლიზური ფერმენტების აქტივაციას, რომლებსაც პლაზმინოგენი პლაზმინში გადაჰყავს. ეს უკანასკნელი ააქტიურებს მატრიქსის დეგრადაციის ფერმენტს მეტალოპროტეინაზას. ჰეპატოციტების ბიომატრიქსი დიდი რაოდენობით შეიცავს HGF-ს, რომელიც გამონთავისუფლდება მატრიქსის დაშლის შედეგად. გარდა ამისა, უროკინაზას HGF-ის არააქტიური ერთჯაჭვიანი ფორმა აქტიურ ორჯაჭვიან ფორმაში გადაჰყავს. გააქტიურებული HGF ზოგიერთი დაუყოვნებელი ადრეული პასუხის გენის აქტივაციას უზრუნველყოფს.

ჰეპატოციტების პროლიფერაცაზე გავლენას ახდენს აგრეთვე ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორი (EGF-რომელიც გამოიშვავდება ბრუნერის ჯირკვლების მიერ). ჰეპატექტომიის შემდეგ დაუყოვნებლივ ხდება თიროზინის ფოსფორილება და EGF-ის რეცეპტორების down რეგულაცია, რაც მის მიტოგენურ როლზე მიუთითებს. რეგენერაციის უფრო გვიან სტადიაზე მოქმედებს ჰეპატოციტების მიერ პროდუცირებული TGF- α რომელიც გარდა იმისა, რომ მოქმედებს აუტოკრინული მექანიზმით, ღვიძლის ენდოთელური უჯრედების პროლიფერაციასაც ასტიმულირებს. ენდოთელური უჯრედების პროლიფერაციაზე მოქმედებს ჰეპატოციტების მიერ პროდუცირებული ზრდის ფაქტორები: ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორი (FGF) და სისხლძარღვების ენდოთელური უჯრედების ზრდის ფაქტორი (VEGF) ღვიძლის აღდგენით ზრდაში შესაძლებელია მოქმედებს დღეისათვის

შეუსწავლელი ზრდის ფაქტორი - ღვიძლის რეგენერაციის მასტიმულირებელი ნივთიერება (HSS). რეგენერაციაში მონაწილე ფაქტორებს წარმოადგენენ კუპფერის უჯრედების მიერ გამოთავებული TNF და IL-6 (Michalopoulos G. et al; 1997).

1.2. ქოლესტაზი და ღვიძლის რეგენერაცია

ქოლესტაზი არის ბერძნული სიტყვა (choleos-ნაღველი stasis-დგომა, დაგუბება) და ნაღველის შეგუბებას ნიშნავს. არჩევენ მის ორ ფორმას. ესენია: ღვიძლშიდა და ღვიძლის გარეთა ქოლესტაზი. ღვიძლშიდა ქოლესტაზი განპირობებულია ღვიძლის უჯრედებში ნაღველის გამომუშავების დარღვევით. გარდა ამისა, შეიძლება მოხდეს ნაღველის სადინარში ნაღველის გადინების შეფერხება (ღვიძლის გარეთა ფორმა). უკანასკნელი ვითარდება მექანიკური წინააღმდეგობის წარმოქმნის შემთხვევებში (ნაღველ-კენჭოვანი დაავადებები, პანკრეასის თავის სიმსივნე, სანაღველე გზების კიბო, ქრონიკული ან მწვავე სკლეროზირებადი პანკრეატიტი, თორმეტგოჯა ნაწლავის პოლიპოზი, პერიქოლედოქური ლიმფადენიტი და სხვა).

ქოლესტაზის დროს ღვიძლის პათანატომიური სურათი უმეტესად ღვიძლის წილაკის ცენტრში არსებული ჰეპატოციტების ციტოპლაზმაში ნაღველის პიგმენტის გრანულების დაგროვებაში გამოიხატება. ასევე აღინიშნება ჰეპატოციტების დისტროფიული და ნეკროზული ცვლილებების განვითარება, ანთება და სანაღველე გზების დესტრუქცია.

კლინიკურად ქოლესტაზი ვლინდება სიყვითლით, კანის ქავილით. სისხლში აღინიშნება ბილირუბინია, ქოლესტერინის,

ნაღვლის მჟავების დონის და ტუტე ფოსფატაზას აქტიურობის მკვეთრი მატება (Большая мед. энцикл. 1986).

დადგენილია, რომ ქოლესტაზის სხვადასხვა კლინიკურ ფორმებსა და ექსპერიმენტულ მოდელებში ჰეპატოციტების სპეციფიკური სატრანსპორტო ცილების ექსპრესიის დონე ან ძალიან დაბალია ან საერთოდ არ აღინიშნება. ცნობილია, რომ ე.წ. "ოჯახური" ქოლესტაზის გამოვლენა დაკავშირებულია იმ გენების მუტაციასთან, რომლებიც ახორციელებენ ჰეპატოციტების სატრანსპორტო სისტემების კონტროლს.

პროგრესული ინტრაჰეპატური (ღვიძლშიდა) ქოლესტაზი მემკვიდრული აუტოსომურ-რეცესიული დაავადებაა. გამოყოფილია ამ დაავადების 3 ტიპი.

I ტიპი, რომელიც ასევე ცნობილია, როგორც Byler-ის დაავადება, ხასიათდება შრატში γ -გლუტამილტრანსფერაზას დაბალი, ნაღვლის მარილების მაღალი და ქოლესტერინის ნორმალური კონცენტრაციით. ასევე ნაღველში ქენოდეოქსიქოლის მჟავას მარილების დაბალი კონცენტრაციით. ამ პათოლოგიის განვითარება განპირობებულია გენეტიკური დეფექტით, რომელიც წარმოიქმნება მუტაციის შედეგად 18q (21-22) ქრომოსომაში (Jasquemin E., et. al. 2001).

I ტიპისაგან განსხვავებით II ტიპისათვის დამახასიათებელია მუტაცია 2q (24) ქრომოსომაში.

I და II ტიპების საპირისპიროდ III ტიპი ხასიათდება შრატში - გლუტამილტრანსფერაზას მაღალი კონცენტრაციით, ასევე ნაღვლის სადინარების პროლიფერაციით და პორტულ ზონაში ანთებითი ინფილტრატით. დეფექტის მიზეზია მუტაცია (7bq დელეცია ან წერტილოვანი მუტაცია) MDR-3 (მრავლობითი რეზისტენტობის III გენი) გენისა, რის გამოც ღვიძლში არ არის MDR-3-გლიკოპროტეინი და შედეგად მცირდება ნაღველში ფოსფოლიპიდების შემცველობა

ნაღვლის მარილების ნორმალური ექსკრეციის ფონზე (Jasquemin E., et. al. 2001).

ფოსფოლიპიდები ნორმაში იცავენ ნაღვლის სადინრების ეპითელურ უჯრედებს ნაღვლის მარილების ტოქსიკური შემოქმედებისაგან, კმნიან რა შერეულ მიცელებს (Jansen P.L., et. al. 2001). ამის გამო, პაციენტებში არსებული სანაღველე გზების დაზიანებები ფოსფოლიპიდების შემცველობის მკვეთრი დაკლებით შეიძლება აიხსნას (Jansen P.L., et. al. 2001).

ადამიანის და ცხოველების ღვიძლის ქოლესტაზით განპირობებული დარღვევები ძირითადად ჰეპატოციტებს შორის მჭიდრო კავშირების გაწყვეტასთან არის ასოცირებული. ასეთი დარღვევები თავის მხრივ იწვევს უჯრედების განვლადობის გაზრდას, ნაღვლის შემადგენელი ნივთიერებების პლაზმაში გადასვლას და ნაღვლის კაპილარში ოსმოსური გრადიენტის მოშლას, რომელიც ნორმაში ნაღვლის სეკრეციისათვის მამოძრავებელ ძალას წარმოადგენს (Jansen P.L., et. al. 2001).

ჰეპატოციტების ციტოზონჩხში გაზრდილია შუალედური მიკროფილამენტების რაოდენობა და დეზორგანიზებულია აქტინისა და კაპილარის გარშემო ცილოვანი დომენების განლაგება (Jansen P.L., et. al. 2001). ნაპრალისებრი კონტაქტის ცილები (koneqson32 და 26) ქრება ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკეტიდან 24 სთ-ში, რაც იწვევს Ca^{+2} -ის მიგრაციის დარღვევას ჰეპატოციტებს შორის (Jansen P.L., et. al. 2001).¹

სხვადასხვა გამოკვლევებით დადგენილია, რომ ვირთაგებებში 1 კვირიანი ქოლესტაზის დროს ღვიძლში დნმ-ს სინთეზი მატულობს (Aronson D.C., et. al.; 1995). რაც, როგორც ავტორები ვარაუდობენ, ჰეპატოტროფული ფაქტორების დაგროვებით არის განპირობებული. ნაღვლის დინების აღდგენის შემთხვევაში, პლაზმაში ბილირუბინის

კონცენტრაციის ნორმალიზაციის მიუხედავად, ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ ღვიძლის რეგენერაცია ფერხდება (ყოვნდება). ეს მიუთითებს იმაზე, რომ რეგენერაციის ხელშემწყობ და ინჰიბიტორულ ფაქტორს შორის ბალანსი დარღვეულია (Aronson D.C., et. al.; 1995).

უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებული ყურადღება ექცევა ქოლესტაზის პირობებში სხვადასხვა ზრდის ფაქტორების და ციტოკინების გამოკვლევას.

დადგენილია, რომ TNF- α იწვევს ქოლანგიოციტების დაზიანებას და ცვლის ნაღვლის სეკრეციას ქოლესტაზის განმავლობაში. ქოლესტაზი ზრდის ციტოკინების ტოქსიურობის მიმართ ქოლანგიოციტების მგრძობელობას (Alpini G., et. al.; 2003).

ლიტერატურული მონაცემებით ქოლესტაზის პირობებში ქოლანგიოციტების პროლიფერაცია დაკავშირებულია HNF-6 ცილის რაოდენობის შემცირებასთან (HNF-6 გამრავლების ინჰიბიტორია). მისი ოდენობა მცირდება ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან 15 საათის შემდეგ და გრძელდება ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკეტვიდან 5 დღის განმავლობაში (Holterman A.X. L., et. al.; 2002).

აკვაპორინ 8 (AQP8) ლოკალიზებულია ჰეპატოციტებში უმთავრესად ციტოპლაზმაში. cAMP-ის საშუალებით ხდება მისი ტრანსლოკაცია უჯრედის მემბრანაზე, რაც აადვილებს ოსმოსური წყლის გადაადგილებას სადინარში ნაღვლის სეკრეციის განმავლობაში. ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებით გამოწვეული ქოლესტაზი იწვევს აკვაპორინ 8-ის პოსტტრანსკრიპციულ down რეგულაციას, რაც აძლიერებს ქოლესტაზური ჰეპატოციტების დისფუნქციას (Carreras F.I., et. al. 2003).

უკანასკნელი წლების მონაცემებით ქოლესტაზი თრგუნავს ღვიძლის რეგენერაციას. ამავე დროს, ინდუცირებს აპოპტოზისს, ღმ-

ს სინთეზს და იწვევს ადრეული პასუხის გენების კონსერვაციას (Bird M.A. et al. 2002). ნაღვლის მჟავები აადვილებენ FAS და TNF-თან ასოცირებული აპოპტოზური ლიგანდის მიმართ სიკვდილის რეცეპტორის ოლიგომერიზაციას და აქტივაციას (Higuchi H., et. al.; 2003).

პორტული ვენის ერთ-ერთი ტოტის გადაკეტივსთან ერთად ობსტრუქციული სიყვითლე იწვევს HGF ექსპრესიის შემცირებას და TGFβ-ს ექსპრესიის გაზრდას რაც თავის მხრივ განაპირობებს ღვიძლის რეგენერაციის დაგეინებას (დაყოვნებას). ავტორები ფიქრობენ, რომ ამ ზრდის ფაქტორებზე შეიძლება მოქმედებენ მექანიკური სიყვითლით გააქტივებული ღვიძლის ვარსკვლავისებური უჯრედები (Yamano T., et al. 2002).

ნაღვლის მჟავების გაზრდილი კონცენტრაცია განაპირობებს ამავე მჟავების სატრანსპორტო სისტემების მოშლას (მაგალითად, Na⁺-დამოკიდებული ნაღვლის მჟავების სატრანსპორტო და ორგანული ანიონების ტრანსპორტული პოლიპეპტიდის - OATP სისტემა), რომელთა ფუნქციონირება რეგულირდება HNF1α-ს მეშვეობით. აღნიშნული ფაქტორის კონცენტრაცია, თავის მხრივ, ნაღვლის მჟავებით კონტროლირდება. დადგენილია, რომ ქოლესტაზურ ღვიძლში ნაღვლის მჟავების კონცენტრაციის მატება იწვევს ამ ფაქტორის ექსპრესიის დათრგუნვას და აღნიშნული სისტემების მოშლას (Jung D. et al. 2003).

შესწავლილია ნორმალური და ქოლესტაზური ვირთაგვების ქოლანგიოციტების აპოპტოზზე, პროლიფერაციაზე, ბაზალურ და სეკრეციაზე TNF გავლენა. სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი (TNF) თამაშობს მნიშვნელოვან როლს ეპითელური უჯრედების დაზიანებაში. მაგრამ ქოლანგიოციტების დაზიანებაში ამ ფაქტორის როლი გაურკვეველია. დადგინდა, რომ ნაღვლის სადინარის

ლიგირება აძლიერებს ქოლანგიოციტების ციტოკინებით გაშუალებულ დაზიანებას. (Alpini G., et al. 2003)

ნაღვლის სადინარის იშემიის მოდელით აფასებდნენ ნაღვლის სადინარის პროლიფერაციულ პოტენციალს. 48 საათის შემდეგ ოპერაციიდან ქოლანგიოციტებში ექსპრესირდება VEGF და ისინი პროლიფერირებენ. Ki67 დადებით უჯრედების თანაფარდობა ერთნაირი იყო წილაკთაშორის ნაღვლის სადინარებში და პერიპორტულ სადინარებში. მიუხედავად იმისა რომ ნაღვლის დინება რომელიც დასაწყისში დაქვეითებული იყო, აღდგა ოპერაციიდან 3 კვირაში, ქოლესტაზის ბიოქიმიური მახასიათებლები 6 კვირის მერე დაქვეითდა. ამ დროისათვის ნაღვლის სადინარების რაოდენობა იყო მომატებული. ამასთან ერთად მომატებული იყო ფიბროზული ქსოვილის წარმოქმნის ინტენსივობა (Beaussier M, et al. 2005).

შესწავლილია სხვადასხვა ნაღვლის მჟავის ეფექტი ნაპრალისებრი კონტაქტების (PGJC) განვლადობაზე. ასევე ზოგიერთი ნაღვლის მჟავას გავლენა შიდაუჯრედული კალციუმის კონცენტრაციაზე. დადგენილია, რომ ქოლესტაზური ნაღვლის მჟავები, როგორცაა: ტაუროლითოქოლის, ტაუროქენოდეოქსიქოლის მჟავა მაინჰიბირებელ ზეგავლენას ახდენს ნაპრალისებრი კონტაქტების განვლადობაზე ღვიძლის უჯრედებში. სხვა უჯრედებზე ჩატარებული გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ინჰიბირება სპეციფიკურია იმ უჯრედებისათვის, რომელთაც აქვთ ნაღვლის მჟავების ტრანსპორტიორები. აქედან გამომდინარე ქოლესტაზის დროს დაგროვილი მჟავები ინჰიბირებენ PGJC,-ს იმ უჯრედებში, რომელთაც აქვთ ნაღვლის მჟავების აკუმულირების (დაგროვების) უნარი. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ინჰიბირება შესაძლოა ხელს უწყობდეს ნაღვლის მჟავების სხვა ეფექტებსაც (Boucherie S, et al. 2005).

ღვიძლს ქოლესტაზის პირობებში დაზიანებისაგან ინტერფერონი (IFN- α) იცავს აპოპტოზის სტიმულაციით და ჰეპატოციტების შემდგომი გამრავლებით. მონაწილეობს დაზიანებული ჰეპატოციტების “მოცილებაში”, რითაც ხელს უშლის ანთებითი პასუხის თანმხლებ ნეკროსს (Sewnath M. E, et al. 2002).

ასევე ცნობილია, რომ ქოლესტაზი ინდუცირებს აპოპტოზს ამავე დროს ქსოვილში აპოპტოზის დონე დაკავშირებულია ობსტრუქციული სიყვითლის ხანგრძლივობასთან. კერძოდ ნაღვლის სადინარის ლიგირებიდან მე-14 დღეს აპოპტოზის ინდექსი მაქსიმალურია (Wang J.M, et.al. 2005).

ცნობილია, რომ პაციენტებში, რომელთაც აღენიშნებათ ობსტრუქციული სიყვითლე, ღვიძლის რეზექცია ზრდის პოსტოპერაციულად ამ ორგანოს უკმარისობის განვითარების რისკს (Bengmark S. et al. 1988, Nakeeb A. et al 1995). ასევე ცნობილია, რომ ქოლესტაზი ინდუცირებს აპოპტოზს (Wang J.M, et. al. 2005). ამავე დროს, დადგენილია, რომ აპოპტოზი ქოლესტაზის დროს მიმდინარეობს Fas დამოკიდებული მექანიზმით, მაგრამ Fas რეცეპტორის არარსებობის პირობებში ჰეპატოციტების აპოპტოზის დამატებითი გზა (მიტოქონდრიონთან ასოცირებული Bax-ის გაზრდილი ექსპრესიის ხარჯზე) ირთება (Miyoshi H. et. al. 1999).

ქოლესტაზურ ღვიძლში ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან 48-ე და 72-ე საათზე ჰეპატოციტების მიტოზური ინდექსი 3-ჯერ მცირდება კონტროლთან (ნაწილობრივი ჰეპატექტომია) შედარებით. ღვიძლის მასის ზრდაც, შესაბამისად, უფრო დაბალია ქოლესტაზის პირობებში, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში. ქოლესტაზის პირობებში რეგენერირებადი ღვიძლის დნმ-ზონდის კომპლემენტარული მესენჯერ-რნმ-ს-ის ანალიზის შედეგად დადგენილია K-ras-ის ექსპრესიის ზრდა ნაღვლის საერთო

სადინარის ოკლუზიის განმავლობაში. ქოლესტაზი ამცირებს H-ras-ის ექსპრესიას კონტროლთან შედარებით. ქოლესტაზის პირობებში ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან 72-ე საათზე 3-ჯერ მცირდება c-myc-ს ექსპრესია. ამ მონაცემებზე დაყრდნობით მეცნიერებმა დაასკვნეს, რომ ქოლესტაზი ამცირებს ღვიძლის ნორმალურ რეგენერაციას (Tracy T.F Jr, et al. 1991).

ქოლესტაზის პირობებში h-ras და c-myc-ის ექსპრესიის შემცირების მიუხედავად ქოლანგიოციტების პროლიფერაცია მაინც მიმდინარეობს (Tracy T.F Jr, et al. 1993).

ქოლესტაზიდან 5 დღის შემდეგ ნაწილობრივი ჰეპატექტომიისას აღრეული პასუხის გენების ექსპრესიის პროდუქტები ელინდება მაგრამ ძლიერდება აპოპტოზის პროცესი, და არა ჰეპატოციტების პროლიფერაცია (Kanno H. et al. 2001).

ქოლესტაზის პირობებში 70% ჰეპატექტომიის შემდეგ ურსოდეოქსიქოლის მჟავა (UDCA) სტიმულირებს ღვიძლის რეგენერაციას, ღვიძლის პათოლოგიური ცვლილებების რემისიით და HGF და Met-ის ექსპრესიის გაძლიერებით (Xu M. et al. 2002; Alpini G. et al. 2002; Paumgartner G. Beuers U. 2002).

ქოლესტაზი ააქტიურებს NFκB-ს, რომელიც ჩართულია ჰეპატოციტების პროლიფერაციისა და აპოპტოზის პროცესში. ავტორების მიერ გამოთქმული იყო მოსაზრება რომ NFκB-ს ინჰიბირება უნდა იწვევდეს ჰეპატოციტების პროლიფერაციის დაქვეითებას და აპოპტოზის პროცესის გაძლიერებას ღვიძლგარეთა (ექსტრაჰეპატური) ქოლესტაზის მოდელში. ნაწვენები იქნა, რომ ქოლესტაზიდან მე-7 დღეს NFκB-ს ინჰიბირებამ დააქვეითა ჰეპატოციტებში დნმ-ს სინთეზი, მაგრამ არ იმოქმედა აპოპტოზის პროცესზე. დადგინდა, რომ ობსტრუქციული სიყვითლის პირობებში NFκB აუცილებელია ჰეპატოციტების პროლიფერაციისათვის, მაგრამ

არა აპოპტოზის პროცესისათვის (Miyoshi H et al. 2001, Bird.M.A. et al. 2003).

1.3. სტეროიდული ჰორმონები

უჯრედთა პოპულაციების ფორმირება და მათი შეთანხმებული მოქმედება უჯრედშორისი საკომუნიკაციო სისტემის არსებობითაა განპირობებული, რომელშიც წამყვან როლს მათ მიერ გამოიშუაებული ორგანული ნივთიერებები ასრულებენ. გამოდიან რა ერთი ტიპის უჯრედებიდან, ისინი ორგანიზმის სხვა ნაწილში არსებულ უჯრედებზე მოქმედებენ და ცვლიან მათ მეტაბოლიზმს. უჯრედების, ქსოვილების და ორგანოების მეტაბოლიზმის კონტროლის აპარატს, ნერვულ და იმუნურ სისტემებთან ერთად, წარმოადგენს ენდოკრინული სისტემა. ენდოკრინულ სისტემას საფუძვლად უდევს ჯირკვალში სპეციფიკური ჰორმონის წარმოქმნა.

ქიმიური სტრუქტურის მიხედვით ჰორმონები იყოფა სამ ძირითად კლასად: სტეროიდები, ამინომჟავების წარმოებულები და პეპტიდური ბუნების ნაერთები.

დღეისათვის იდენტიფიცირებულია 50-ზე მეტი სტეროიდული ჰორმონი. მრავალი ავტორის აზრით მათი უმეტესი ნაწილი წარმოადგენს ჰორმონების მრავალსაფეხურიან ბიოსინთეზის შუალედურ პროდუქტს. სტეროიდული ჰორმონები წარმოადგენენ ლიპიდური ბუნების პოლიციკლურ ნაერთებს. სტეროიდები ცუდად იხსნებიან წყალში და კარგად იხსნებიან ორგანულ გამხსნელებში. ლიპიდური თვისებების გამო ადვილად გადიან პლაზმურ მემბრანას (Monder C. 1990).

სტეროიდული ჰორმონები მოიცავენ ოთხი ტიპის ჰიპოთეტიკური სტეროიდების წარმოებულებს: პრეგნანი (C₂₁), ანდროსტანი (C₁₉), ესტრანი (C₁₈), ქოლესტანი (C₂₇).

პრეგნანული ჰორმონები ორი ჯგუფისაგან შედგება: კორტიკოსტეროიდები (თირკმელზედა ჯირკვლის ქერქოვანი შრე) და პროგესტინები (თირკმელზედა ჯირკვლის ქერქოვანი შრე, საკვერცხე, პლაცენტა).

კორტიკოსტეროიდებისთვის სპეციფიკური აქტიურობის გამოსავლენად მთავარი მნიშვნელობა ენიჭება 17β-ოქსიაცეტონურ და 11-ოქსიჯგუფს, რომლებიც აძლიერებენ მათ თვისებებს. ისინი თავის მხრივ იყოფიან გლუკოკორტიკოიდებად და მინერალოკორტიკოიდებად.

გლუკოკორტიკოიდებს მიეკუთვნება კორტიკოსტერონი, კორტიზოლი, კორტიზონი, 11-დეჰიდროკორტიკოსტერონი და 1α-ოქსიკორტიკოსტერონი. მათგან ყველაზე აქტიურია კორტიზოლი და კორტიკოსტერონი. ზოგი ცხოველის თირკმელზედა ჯირკვალში უმეტესად სინთეზირდება კორტიზოლი, ზოგში კორტიკოსტერონი, ზოგში კი ორივე თანაბარი რაოდენობით წარმოიქმნება.

გლუკოკორტიკოიდების ბიოლოგიური აქტიურობის ზეგავლენა ორგანიზმზე მეტაბოლური პომეოსტაზისა (კარბოჰიდრატები, ლიპიდები, ცილები, წყალი და ელექტროლიტები) და იმუნოკომპეტენტურობის რეგულაციაში გამოიხატება (Scudetti 1990).

გლუკოკორტიკოიდები ხელს უწყობენ ცილების გარდაქმნას ნახშირწყლებად, ასტიმულირებენ ამინომჟავების დესამინირებას ღვიძლში და მათ გარდაქმნას გლუკოზონ-ფოსფატად და გლუკოზონ-ფოსფატად, ხელს უწყობენ ღვიძლში გლიკოგენის წარმოქმნას, აყოვნებენ ნახშირწყლების ცხიმებად გარდაქმნას, უზრუნველყოფენ

ცხიმების მობილიზაციას კანქვეშა ცხიმოვანი ქსოვილიდან ღვიძლში და სისხლის შრატში.

ყველა აქტიური გლუკოკორტიკოიდი ჰიდროქსილირებულია. ინაქტივაცია ხდება მე-11 მდგომარეობაში არსებული ჰიდროქსილის ჯგუფის გარდაქმნით ოქსო ჯგუფად. გლუკოკორტიკოიდის ბიოლოგიური აქტიურობა აღდგება ოქსოჯგუფის რედუცირების შედეგად. ეს შექცევადი რეაქცია ხორციელდება ორი დამოუკიდებელი ფერმენტით – 11β-დეჰიდროგენაზით(11β-DH) და 11β-ოქსორედუქტაზით(11β-OR).

სხვადასხვა ქსოვილი 11β-DH\11β-OR ფერმენტული აქტიურობის სხვადასხვა შეფარდებით ხასიათდება. კერძოდ, ღვიძლის ქსოვილში 11β-OR-ის აქტიურობა, ხოლო თირკმელსა და სათესლეებში 11β-DH-ის აქტიურობა ჭარბობს. შესაბამისად სადაც 11β-DH-ის აქტიურობა ჭარბობს იმ ქსოვილებში გლუკოკორტიკოიდული პორმონები ინაქტივირებულია (Monder C. 1990).

მინერალოკორტიკოიდები უმეტესად წყლისა და მინერალური მარილების ცვლის პროცესში მონაწილეობენ. მათ მიეკუთვნება ალდოსტერონი და 11-დეზოქსიკორტიკოსტერონი. ალდოსტერონი, რომელიც თირკმელში Na-ის და Cl-ის რეაბსორბციას ასტიმულირებს, აფერხებს K-ის, Mg-ის, H-ის და NH₃-ის გაწოვას (რეაბსორბციას) თირკმელში. ის ცვლის უჯრედის განვლადობას Na და K-ის იონებისთვის. ამ იონების კონცენტრაციაზე დამოკიდებული წყლის მოძრაობა უჯრედის მემბრანის გავლით. დღესდღეობით ინტენსიურად შეისწავლება სტეროიდული პორმონებით იონური არხების აქტიურობის რეგულაციის მექანიზმები (Strokes J.B., et. al.; 1998, Wald M., et. al. 1998).

თირკმელზედა ჯირკვლის ამოკვეთა იწვევს უჯრედებში ელექტროლიტების კონცენტრაციის მატებას, რაც უჯრედშორისი

სიერციდან უჯრედებში წყლის გადასვლას განაპირობებს. ამ დროს ეცემა სისხლის წნევა, მცირდება დიურეზი. ასეთ ცხოველებში წყლის მცირე დოზამაც შეიძლება „წყლით მოწამვლა“ გამოიწვიოს. ალდოსტერონის შეყვანა იწვევს ყველა ამ ნიშნის გაქრობას და ფიზიკური მდგომარეობის აღდგენას (Розен В. Б. 1984).

II-დუქიდროკორტიკოსტერონი იწვევს სისხლძარღვების მგრძნობელობის მომატებას ადრენალინის მიმართ. დიდი დოზები განაპირობებს ნეფროსკლეროზს და ანთებით პროცესებს სისხლძარღვებში.

სტეროიდული ჰორმონები სამიზნე უჯრედებზე მოქმედებენ რეცეპტორების საშუალებით. რეცეპტორები ერთმანეთის მსგავსია და სამი დომენისაგან შედგება: ცენტრალურად მდებარე დნმ-თან დაკავშირების უნარის მქონე დომენი, C -ბოლოზე მდებარე ჰორმონთან დაკავშირების უნარის მქონე დომენი და N-ბოლოზე - მოდულატორული დომენი. დღეისათვის ცნობილია, რომ სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორები არააქტიურ მდგომარეობაში ასოცირებულია HSP 90-თან. რეცეპტორის ჰორმონთან დაკავშირების შემდეგ ხდება აღნიშნული არააქტიური კომპლექსის დისოციაცია (Barrit G. J. 1992) ჰორმონ-რეცეპტორის კომპლექსი განიხილება როგორც ტრანსკრიპციული ფაქტორი, რომელიც სამიზნე გენს უკავშირდება. ჰორმონის დაკავშირების შემდეგ რეცეპტორები განიცდიან დიმერიზაციას. დნმ-ში არსებობს HRE პალინდრომიული უბანი, რომელიც ორი ნაწილისაგან შედგება. მათ შორის შეიძლება იყოს ცვლადი ზომის სპეისერული უბანი. HRE-ს სიგრძეს და თანამიმდევრობას გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს ჰორმონ-რეცეპტორული კომპლექსის დაკავშირებაში. ერთი რეცეპტორი HRE-ს ერთ ნაწილს უკავშირდება, მეორე კი - მეორე ნაწილს. ჰორმონ-რეცეპტორების კომპლექსი ახანგრძლივებენ ტრანსკრიპციას, რადგან

ტრანსკრიპციული ფაქტორების სტაბილიზაციას იწვევენ (Brinkmann A.O., 1994). სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორებისთვის დამახასიათებელია ჰიპერფოსფორილირება ჰორმონის დაკავშირების შემდეგ. ითვლება, რომ რეცეპტორის სხვადასხვა უბნის ჰიპო- და ჰიპერფოსფორილირება განაპირობებს გენების სხვადასხვა ტიპის რეგულაციას - ტრანსკრიპციას ან რეპრესიას.

სტეროიდული ჰორმონები პერპიდროციკლოპენტანოლფენანტრენის წარმოებულა. სტეროიდოგენეზი რთული პროცესია, რომელიც სხვადასხვანაირად მიმდინარეობს თირკმელზედა ჯირკვლის ქერქის სხვადასხვა უბანში. სტეროიდული ჰორმონების ძირითადი წყარო ორგანიზმში ქოლესტერინია. ქოლესტეროლი სისხლიდან შედის ენდოკრინულ უჯრედებში და აკუმულირდება მასში ცხიმის წვეთების სახით. ადენოკორტიკოტროპული ჰორმონის სტიმულაციისას ქოლესტეროლი შედის მიტოქონდრიონში სადაც ციტოქრომი P-450-ს საშუალებით ის გადადის პრეგნენოლონში. პრეგნენოლონიდან მიიღება 17-ჰიდროქსიპრეგნენოლონი, 3β-ჰიდროქსისტეროიდდეჰიდროგენაზას მოქმედებით 17-ჰიდროქსი-პრეგნენოლონიდან მიიღება 17α-ჰიდროქსიპროგესტერონი, რომლისაგანაც, თავის მხრივ, 21-ჰიდროქსილაზას მოქმედებით მიიღება 11-დეჰოქსიკორტიზოლი, შემდეგ კი კორტიზოლი. კორტიზოლის სინთეზის ერთ-ერთ წყაროდ შესაძლებელია პრეგნენოლონის ერთ-ერთი წარმოებული პროგესტრონიც აღმოჩნდეს. (Улумбеков Э.Г.1998) | 80% ჰორმონებისა რომელიც სინთეზირდება თირკმელზედა ჯირკვალში არის კორტიზოლი; ხოლო დანარჩენი 20% კი კორტიზონი, კორტიკოსტერონი, 11-დეჰოქსიკორტიზოლი და 11-დეჰოქსიკორტიკოსტერონი.

გლუკოკორტიკოიდების 90%-ზე მეტი ცირკულირებს სისხლში ალბუმინებთან და კორტიკოიდდამაკავშირებელ გლობულინებთან

(ტრანსკორტინი) დაკავშირებული ფორმით. ცირკულაციის დრო განპირობებულია ტრანსკორტინთან დაკავშირების სიმტკიცით. ლიპოფილური კორტიზოლის მოდიფიკაცია ხორციელდება ღვიძლში. წარმოიქმნება კონიუგატები გლუკურონთან და სულფატთან. მიდიფიკირებული გლუკოკორტიკოიდები წყალში ხსნადი ფორმებია, რომელთაც აქვთ ექსკრეციის უნარი. გლუკოკორტიკოიდების კონიუგირებული ფორმები სეკრეტირებენ ნაღველთან ერთად საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში, მათგან 20% იკარგება განაწილთან ერთად ხოლო 80% შეიწოვება ნაწლავში. სისხლიდან გლუკოკორტიკოიდების 70% ექსკრეტირდება შარდთან ერთად. გლუკოკორტიკოიდებს აქვთ ასევე მინერალოკორტიკოიდური აქტივობა, თუმცა, აღდოსტერონთან შედარებით მათი სუმარული წვლილი მცირეა (Улумнеков Э.Г. 1998).

1.4. გენომის მულტიპლიკაცია - პოლიპლოიდია

ძუძუმწოვართა ღვიძლისათვის მათ შორის ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილისათვის, როგორც ცნობილია, პოლიპლოიდია (უჯრედები, ქრომოსომების ჯერადად გაზრდილი რიცხვით. მაგ. 4n, 8n), არის დამახასიათებელი (Alfert, M., Geschwind I.. 1958; Nadal C., Zajdela F. 1966; Бродский Л. В., Уриваева И.В. 1981; Saeter, G., et. al. 1988; Saeter, G., et al. 1988; Gerlyng, P., et al. 1993). ენდორედუბლიკაცია ანუ დნმ-ს რეპლიკაცია (გენომის გაორმაგება) უჯრედების დაყოფის გარეშე, საფუძველად უდევს ისეთ მოვლენებს, როგორებიცაა: პოლიპლოიდია და პოლიტენია. პოლიპლოიდია ანუ ქრომოსომების გაორმაგებული რიცხვი, ჩვეულებრივ განიხილება როგორც არასრული მიტოზის შედეგი. იმის და მიხედვით, თუ მიტოზის რომელ სტადიაზე ხდება

უჯრედის შექმერება, შეიძლება წარმოიქმნას ორბირთვიანი ან ერთბირთვიანი პოლიპლოიდური უჯრედი. ასეთი უჯრედი დიდხნის განმავლობაში შეიძლება იმყოფებოდეს მოსვენების ფაზაში. პოლიპლოიდური უჯრედის დაყოფისათვის საჭიროა, რომ მან გაიაროს სინთეზის (გაორმაგდეს დნმ და ცენტრიოლები) და მიტოზის ფაზები სრულად (Бродский В.А., Урываева И.В. 1981; ლეჟავა თ.ა. 1989; Улумбеков Э.Г., Челышева Ю.А. 1998; შათირიშვილი ა. და სხვ. 1999; Кристич Р.В. 2001).

სომატურ უჯრედებში გენეტიკური მასალის ჯერადად გაზრდის შესახებ ცნობები მიტოზის შესწავლის პარალელურად გროვდებოდა. საინტერესო გახდა ამ მოვლენის შესწავლა იმ თვალსაზრისითაც, რომ ონტოგენეზში კანონზომიერ მოვლენას წარმოადგენს და სხვადასხვა ქსოვილებში (მცენარეული და ცხოველური) დიფერენცირებისა და პროლიფერაციის გზით წარმოიქმნება.

უჯრედებში პლოიდობის ხარისხის დასადგენად, თავდაპირველად გამოყენებული იყო უჯრედის და ბირთვის ზომების განსაზღვრის მეთოდები. ძირითადი თანამედროვე მეთოდები, რომლებიც მოწოდებულია პოლიპლოიდის შესასწავლად, არის დნმ-ს შემცველობის (c) (ციტოფოტომეტრია, გამდინარე ციტომეტრია, ფლუორესცენტული ციტოფოტომეტრია) და ქრომოსომათა კრებულის (n) განსაზღვრის მეთოდები.

ითვლება, რომ პოლიპლოიდური უჯრედების რაოდენობის ზრდა ორგანიზმის ასაკის მატებასთან ერთად არის ორგანოთა სისტემების არათანაბარი ზრდის შედეგი, რაც გამოწვეულია ზოგიერთ ორგანოში მიტოზური აქტივობის დაქვეითებით. დეიძლის ქსოვილის უჯრედების ნაწილის პოლიპლოიდიზაცია ზრდაში დისბალანსის ლიკვიდირებას ახდენს. თუ ხელოვნურად შევანერებთ ორგანიზმის ზრდას მაშინ შეჩერდება დაბალი მიტოზური აქტივობის მქონე

ორგანოთა პოლიპლოიდიზაცია (ბროცკი ტროფიკა). ამიტომაც ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციის პროცესი განიხილება, როგორც ევოლუციური ადაპტაციის მექანიზმი (Бродский Л. В., Уриваева И.В. 1981;), რომლის მოლეკულური საფუძვლები დღემდე ბუნდოვანია (Leffert H. L., et al. 1979; Бродский Л. В., Уриваева И.В. 1981). პოლიპლოიდური უჯრედების დაყოფის თაობაზე ლიტერატურაში აზრთა სხვადასხვაობა არსებობს. ითვლება, რომ პოლიპლოიდური უჯრედები იმყოფებიან G_0 ფაზაში და პროლიფერაციული სიგნალის საპასუხოდ ჩვეულებრივ გაივლიან უჯრედულ ციკლს და მხოლოდ ამის შემდეგ იყოფიან. შესაძლებელია აგრეთვე, რომ უჯრედები სინთეზის ფაზის გავლის შემდეგ ვერ შევიდნენ საკუთრივ მიტოზის ფაზაში და გაჩერდნენ G_2 - სტადიაზე. ასეთ უჯრედებში შეიძლება მოხდეს ენდორედუბლიკაციის ინდუცირება ანუ. დნმ-ს რაოდენობის ჯერადი ზრდა, რის შედეგად მიიღება ე.წ. პოლიტენური უჯრედები (Бродский В. Я., Уриваева И.В. 1981). ამასთან, ნაჩვენებია, რომ რაც უფრო მაღალია უჯრედების პლოიდობა, მით დაბალია მათი მიტოზური აქტიურობა (Kelly-Loughnane N. et al. 2002).

ლიტერატურაში არსებობს მონაცემები, რომლებიც ადასტურებენ ჰიპოთეზას, რომლის მიხედვითაც პოლიპლოიდიზაცია ვირთაგების ღვიძლში ენდოკრინული სისტემის მოქმედებით კონტროლირდება, სადაც მთავარ მარეგულირებელ როლს თიროიდული ჰორმონები ასრულებენ (Torres et al.1999). შესწავლილია ასევე თიროიდული, ზრდის (GH) და სასქესო ჰორმონების გავლენა ჰეპატოციტების პროლიფერაციაზე და პოლიპლოიდიზაზე, ასევე ღვიძლის სტეროიდ დამაკავშირებელი მიკროსომული ცილის LAGS-ს (low-affinity glucocorticoid binding site) ექსპრესიის რეგულაციაზე (Chirino R., et al. 1991; Chirino R., et al. 1994; Fernández, L., et al. 1995; Boada L. D., et al. 1996; López-Guerra, A., et al. 1997).

რეგულაცია, უმთავრესად მიმდინარეობს ზრდის პორმონების საშუალებით, რომელიც მოდულატორულად ზემოქმედებს სასქესო და თირეოიდულ პორმონებზე (Leuchtenberger C., et al. 1954; Geschwind I., et al. 1960; Carriere R. 1969). ბევრი შრომის მიუხედავად თითოეული პორმონის ცალკეული ეფექტი ამ პროცესებზე გაურკვეველია. შესწავლილია ზოგიერთი პორმონის გავლენა უჯრედის ციკლზე (Vickers A. E. M., et al. 1989; Vickers A. E. M., Lucier G. W. 1991; Mayol X., et al. 1992). დაადგენილია თირეოიდული პორმონის (T_3) მთავარი მარეგულირებელი როლი ჰეპატოციტების პროლიფერაციისა და პოლიპლოიდიზაციის პროცესში.

არსებობს მონაცემები, რომ ზრდის პორმონი (GH) თამაშობს მნიშვნელოვან როლს ღვიძლის უჯრედების პროლიფერაციის ინდუცირებაში სასქესო პორმონებთან ერთად, შესაძლებელია ასრულებდეს მოდულატორის როლს ღვიძლის უჯრედების პოლიპლოიდიზაციის ინტენსივობის ცვალებადობაში, ვირთაგეების ასაკსა და სქესზე დამოკიდებულებით (Torres et al. 1999). აღწერილია 4C შემცველობის ბირთვების პროცენტული განსხვავება სხვადასხვა სქესის ვირთაგებში (Swartz F. J., Sams B. F. 1961) და თაგვებში (Ohtsubo K., Nomaguchi T. A. 1986; Lu M. H., et al. 1993). ტეტრაპლოიდური უჯრედების რაოდენობა განსხვავებულია ასევე ადამიანებში სქესის მიხედვით, მამაკაცებში 4C შემცველობის უჯრედების რაოდენობა გაცილებით მეტია ვიდრე ქალებში. ეს მონაცემები მიუთითებს იმაზე, რომ ესტროგენები აფერხებენ, ხოლო ტესტოსტერონი კი სტიმულირებს პოლიპლოიდიზაციას (Torres S. et al. 1999)

ცნობილია, რომ ცხოველის ონტოგენეზში ორგანოზე ფუნქციური დატვირთვის გაზრდა ღვიძლის პოლიპლოიდიზაციის უშუალო მიზეზია (Бродский В. Я., Урываева И. В. 1981). პოლიპლოიდიზაცია აკომპენსირებს ასევე ღვიძლის ქსოვილის არარსაკმარის მიტოზურ

აქტიუობას. აღწერილია პოლიპლოიდის მოვლენა ქსოვილის არსებობის არასახარბიელო პირობებში: მწვავე შიმშილობისას, მოწამელის, დენერვაციის, რადიაციისას (Бродский В. Я., Урываева И. В. 1981). CCL₄-ით მოწამელისას ჰეპატოციტების დაღუპვასთან ერთად ღვიძლის ქსოვილის პოლიპლოიდიზაცია ხდება. ორი წლის ცხოველებში პარენქიმული უჯრედების ნახევარი მოწამელის შემდეგ ოქტაპლოიდურია, ამასთან მიტოზური აქტიურობა ამ ასაკის ვირთაგვებში არ აღინიშნება. აქედან გამომდინარე, პოლიპლოიდია ამ შემთხვევაში დესტრუქციული პროცესების კომპენსაციის ძირითადი (თუ არა ერთადერთი) საშუალებაა (Бродский В. Я., Урываева И. В. 1981).

თავი 2. მასალა და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტები და მოდელები

ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო: ზრდასრული (100-120გ) თეთრი არახაზოვანი ვირთაგვები. საკვლევ მასალად აღებული იყო ღვიძლის ქსოვილი. კვლევისას გამოვიყენეთ ქოლესტაზის (Alpini et al. 1988), ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის (Higgins G.M., Anderson R. M. 1931) და ორმხრივი ადრენალექტომიის მოდელები (Derenzini M., et al. 1979) ან მათი კომბინაცია. ოპერაციები ტარდებოდა ერთსა და იმავე დროს – დილის 10 სთ-ზე. მასალას ვიღებდით ოპერაციიდან ოთხი დღის განმავლობაში.

მიღებული მონაცემები დამუშავებული იყო სტანდარტული ვარიაციული სტატისტიკის მეთოდით. მონაცემების სარწმუნოების დასადგენად გამოყენებული იყო სტიუდენტის კრიტერიუმი (მონაცემების სარწმუნოება 95-99%-ს შეადგენდა).

2.2. ბირთვების გამოყოფა და გასუფთავება

ღვიძლის ქსოვილიდან ბირთვების იზოლირებას ვახდენდით გეორგიევის და სხვათა მიერ (Гиоргиев Г.Р. и др. 1960) მოდიფიცირებული შოვოს მეთოდით (Chauveau J., et al. 1956). ამოკვეთილ ქსოვილს ვაქუცმაცებდით და ვახდენდით ჰომოგენიზაციას ტეფლონ-შუშის ჰომოგენიზატორში, ფოსფატურ ბუფერზე დამზადებულ (pH 7,4) 2,2 M საქაროზას ხსნარში. ყველა პროცესი ტარდებოდა 4°C-ზე. ჰომოგენატს ვფილტრავდით და ვაცენტრიფუგირებდით 18000გ-ზე 40 წთ-ის განმავლობაში. მიღებული სუფთა ბირთვების ნალექს ვასუსპენზირებდით 3 მლ TMS-ის

ხსნარში და ვაცენტრიფუგირებით 600 გ-ზე 10 წუთი. ამ პროცედურას ვიმეორებდით ორჯერ. ბირთვეული ფრაქციის სისუფთავეს ვამოწმებდით სინათლის მიკროსკოპის საშუალებით.

2.3. იზოლირებული ბირთვების ქიმიური ანალიზი

ბირთვებში დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავის რაოდენობას ვსაზღვრავდით სადოვსკისა და სტერნის (Sadovsky P.P., Stern J.W. 1968) მეთოდის მიხედვით. ბირთვების სუსპენზიის 0,1 მლ ეუმატებდით 1მლ 1N KOH-ს და ვაყოვნებდით 2 სთ-ის განმავლობაში 37⁰ C-ზე. შემდეგ ეუმატებდით 0,25 მლ 4,18 N HClO₄ ხსნარს და ეურევდით წკირით. მიღებულ სუსპენზიას ვაცენტრიფუგირებდით 600გ-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში. ნალექს ვასუსპენზირებდით 3მლ სპირტ-ქლოროფორმის (3:1) ნარევიში, ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 15-20 წთ და შემდეგ ვაცენტრიფუგირებდით 600გ-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში. მიღებულ ნალექს ვრეცხავდით 2 მლ ეთერში და ვაცენტრიფუგირებდით 600გ-ზე 10 წთ. სუპერნატანტს ვღვრიდით და ნალექს ეთერის მოცილების მიზნით ვაყოვნებდით ეთერის სრულ აორთქლებამდე. გამშრალ ნალექს ვამატებდით 3 მლ 0,5N HClO₄-ს და წვეთშემაკავეებით დახურულ სინჯებს ვდგამდით 80⁰ C-ზე წყლის აბაზანაში 30 წთ, რის შემდეგ სინჯებს ვაცივებდით და ვაცენტრიფუგირებდით 600გ-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში. სუპერნატანტში სპექტროფოტომეტრულად ვსაზღვრავდით თავისუფალი ნუკლეოტიდების რაოდენობას E₂₆₈ და E_{282.5} ტალღის სიგრძეზე.

2.4. იზოლირებული ბირთვების რნმ მასინთეზებული ტმსტ-სისტემა

საინკუბაციო ნარევი (საბოლოო მოცულობა - 0,5 მლ) შეიცავდა მიკრომოლეებში: ტრის-HCL (pH-8,3)-50; $MgCl_2$ -7,5; (ტფ, გტფ, ატფ-თითოეული 0,05mM ("Reanel" უნგრეთი); $[^{14}C]$ -უტფ ("uvvv", ჩეხოსლოვაკია, ხვედრითი აქტიურობა 4,3cbq/მ.მოლზე) - 0,0013mM. ბირთვებს ვიდებდით ისეთი რაოდენობით, რომელიც შეესაბამებოდა 100-120 მკგ დნმ-ს სინჯზე. ინკუბაციას ვახდენდით $37^{\circ}C$ -ზე 15 წთ-ის განმავლობაში. რეაქციას ვაჩერებდით გაცივებით და 10 მოცულობა 10%-იანი ცივი სამქლორიანი ძმარმეავას (TXU) დამატებით, რომელიც შეიცავდა 0,02M ნატრიუმის პიროფოსფატს. ნალექის ფორმირების მიზნით სინჯებს ვაყოვნებდით $4^{\circ}C$ -ზე 30 წთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგაც ვფილტრავდით "Vatman" მარკის მემბრანულ ფილტრებზე (ფორების დიამეტრი 0,35მკმ). ფილტრზე მოთავსებული ნალექი ორჯერ ირეცხებოდა 10% TXU-ს ხსნარით. ფილტრები გადაგვეკონდა სპეციალურ ჭურჭელში, ეუმატებდით 10მლ ტოლუოლზე დამზადებულ სინცილატორულ ხსნარს, რომელიც შეიცავდა: 2,3-დიფენილოქსაზოლი 4.0 გრ; 1,1-დი-2,5-ფენილოქსაზოლინ-1,3-ბენზოლი 0,2გრ 1 ლიტრზე. რადიაქტიურობას ვითვლიდით სინცილატორულ მთვლელებზე SL-40. იზოლირებული ბირთვების სისტემაში რნმ-ის სინთეზის ინტენსიურობაზე ვმსჯელობდით მუავაში უხსნად ნალექში $[^{14}C]$ უტფ-ის ჩართვის ინტენსიურობის მიხედვით.

2.5. სინათლის მიკროსკოპში შესწავლისათვის მასალის ფიქსაცია და პრეპარატების მომზადება

სინათლის მიკროსკოპში ქსოვილის შესასწავლად მასალის ფიქსაციას ვახდენდით კარნუას ხსნარში (ეთილის სპირტი, ქლოროფორმი, ცინულოვანი ძმარმჟავა თანაფარდობით 6:3:1). ფიქსაციის შემდეგ მასალის გაუწყლოება მიმდინარეობდა მზარდი კონცენტრაციის სპირტების რიგში. ქსოვილს ვეყალიბებდით ცვიოლ-პარაფინის ნარევეში, ვამზადებდით 5-7 მკმ-ის სისქის ანათლებს და ვდებავდით კემატოქსილინ-გოზინით. პრეპარატებს ვსწავლობდით სინათლის მიკროსკოპში "ЛОМО".

2.6. ციტოფოტომეტრიისთვის პრეპარატების მომზადება

ვირთავვას ღვიძლის ქსოვილს ნაჭრებს (5მმ) ვათავსებდით I ბუფერში [95წილი - NaHPO_4 (11,8გ - 1ლ H_2O); 5წილი - KH_2PO_4 (9,05გ - 1ლ H_2O); 10წილი - საქაროზა (50გ - 1ლ H_2O); pH - 8,0] 20 წთ-ის განმავლობაში. შემდეგ გადაგვქონდა II ბუფერში [8 წილი - NaHPO_4 (11,8გ - 1ლ H_2O); 2 წილი - KH_2PO_4 (9,05გ - 1ლ H_2O)] და ვაყოვნებდით 5 კ/თ. გაჯირჯეებული ქსოვილიდან წვეთებს ვაწვეთებდით სასაგნე მინაზე და ვაკეთებდით ნაცხებს, რომელსაც ვაფიქსირებდით მეთანოლით.

დნმ-ს გამოსაველენად ვიყენებდით ფიოლგენის რეაქციის ფლუორესცენტულ ვარიანტს, სადაც შიფის რეაქტივი შეცვლილია ფლუორესცენტული ვარიანტით შიფ-აურამინ- SO_2 (Kasten F.N. 1961: Кудрявцев Б.Н., Розанов Ю.М. 1974). პრეპარატებს ჰიდროლიზის

მიზნით ვათავსებდით 6N HCl-ში 8წთ-ის განმავლობაში, ვრეცხავდით გამოხდილი წყლით 3-ჯერ. საღებავს, პრეპარატის მოთავსების წინ, ემატებდით 0,2მლ კონცენტრირებულ თიონოლ ქლორიდს $SOCl_2$. საღებავში პრეპარატებს ვაჩერებდით 1,5 სთ. შედეგის დასასრულს ვაველებდით ჯერ გამოხდილ წყალს (3x) და შემდეგ გოგირდოვან წყალს (3x) [5გ $K_2S_2O_5$ ემატება 950მლ გამოხდილი წყალი 50მლ 1N HCL]. ამის შემდეგ ვათავსებდით გამდინარე წყლის ქვეშ 15 წთ. ვაველებდით გამოხდილ წყალში და ვატარებდით აღმავალი კონცენტრაციის სპირტებში.

2.7. ღნმ-ს რაოდენობის განსაზღვრა ციტოფოტომეტრის საშუალებით

შედებილ პრეპარატებზე ღნმ-ს ციტოფოტომეტრირებას ვახდენდით იმპულსური მიკროფლუორიმეტრით РИФ-1 (Папаян Г.В. и др., 1974). გაზომვისას გამოყენებული იყო ობიექტივი X40, სინათლის წყაროს წარმოადგენდა ვერცხლისწყლის ნათურა ДРШ-250-2. ლუმინესცენტური შუქის გამოსაყოფად ვიყენებდით ფილტრების ЖС-18 (1,5მმ) და ЖС-19 (1,5მმ) კომბინაციას. თითოეულ პრეპარატზე ვზომავდით 1000 უჯრედს.

3.1. ქოლესტაზის პირობებში ღვიძლის რემენერაციის თავისებურებები ალბენითი ზრდის საწყის მტაკზე

3.1.1. ღვიძლის უჯრედებში რნმ-ს სინთეზზე ქოლესტაზის ზეზაკლენის შესწავლა

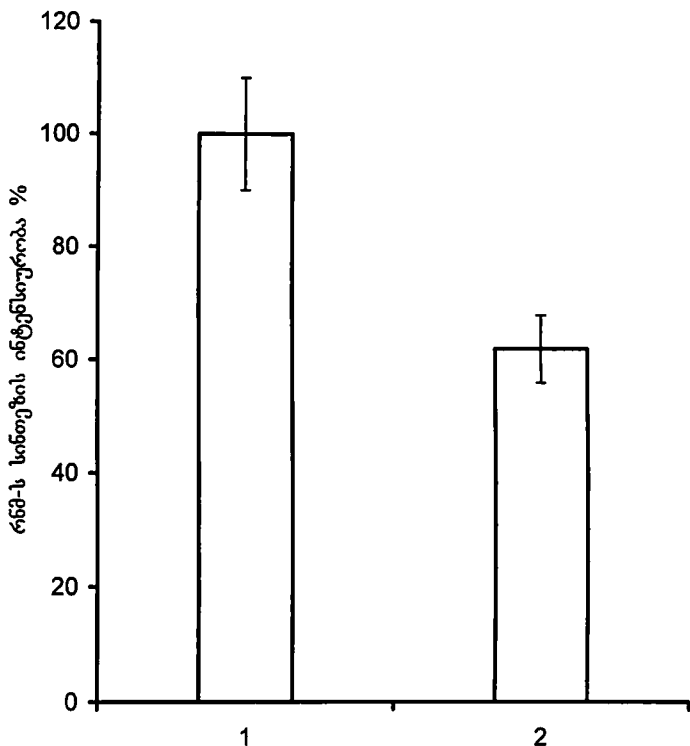
დადგენილია, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება, ისევე როგორც მისი გარეთ დრენირება, ღვიძლის რეგენერაციის დათრგუნვას იწვევს (Hayata A., et. al; 1999; Barbera E.R. et. al. 1995, Vendemiale G. et al. 2002). რეზეცირებულ ღვიძლში უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის ინჰიბირება, როგორც ცნობილია, ამ ორგანოს უკმარისობის განვითარების წინაპირობად ითვლება (Hayata A., et. al; 1999). მღრღნელების მაგალითზე ნაჩვენებია, რომ ღვიძლის უჯრედების გამრავლება ადრეული (დაუყოვნებელი და დაყოვნებული) პასუხის გენებით კონტროლირდება, რომელთა კასკადური ექსპრესია ორგანოს რეზექციიდან 30 წუთში იწყება. დაუყოვნებელი ადრეული პასუხის გენთა ექსპრესიის პროდუქტებით ხდება ადრეული დაყოვნებული პასუხის გენების სტიმულაცია, რომელთა აქტიურობა პიკს ღვიძლის ნაწილობრივი რეზექციიდან ექვს საათში აღწევს (Dzidziguri D. et al. 1997; Lodish H.A., 2000; Kountouras J. et al 2001, Sakuda Sh. et al. 2002).

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ღვიძლის რეგენერაციაზე ქოლესტაზის ზემოქმედების მოლეკულური მექანიზმის დასადგენად შევისწავლეთ ზრდის მაკონტროლებელი ე.წ. ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის თავისებურებები ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირების შემდეგ. აღნიშნულ გენთა ექსპრესიას ვაფასებდით პირველადი პროდუქტის – ტრანსკრიპტის რაოდენობრივი

განსაზღვრის გზით. კერძოდ, დასახული მიზნის მისაღწევად გამოვიყენეთ იზოლირებული ბირთვების რნმ-მასინთეზებელი ტესტ-სისტემა. აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ჰეპატოციტების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ქოლესტაზის ზეგავლენის შესაფასებლად ცხოველები დავყავით სამ ჯგუფად: პირველი ჯგუფის ცხოველებს ჩაუტარდათ ნაწილობრივი ჰეპატექტომია ჰიგინსისა და ანდერსენის (Higgins G.M., Anderson R. M. 1931) მოდიფიცირებული მეთოდით; მეორე ჯგუფის ცხოველებს – ღვიძლის რეექცია და ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება; მესამე ჯგუფის ცხოველებს – მხოლოდ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება (ოკლუზია).

ჩვენს მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტებით დადგენილი იქნა, რომ II ჯგუფის ცხოველებში ოპერაციიდან მე-6 საათზე ღვიძლის უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა ითრგუნება. კერძოდ ჰეპატოციტების ბირთვებში რნმ-სინთეზის ინტენსივობა 39%-ით მცირდება საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით (სურ.1).

როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან მე-6 საათზე დაყოვნებული ადრეული პასუხის გენების სტიმულაციას დაუყოვნებელი ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის აქტივაცია განაპირობებს (Lodish H. 2000). ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემები უფლებას გვაძლევს ვიფიქროთ, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ჰეპატოციტებში დაუყოვნებელი ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის დათრგუნვას იწვევს.

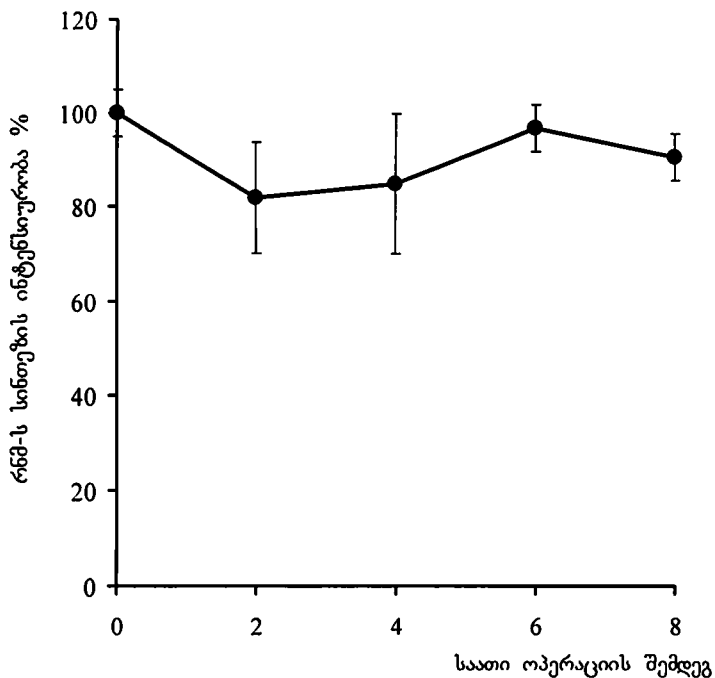


სურათი 1. ქოლესტაზის ზეგავლენა ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიაზე პროლიფერაციისადმი სტიმულირებულ პლატოციტებში

1. კონტროლი [ნაწილობრივი პეპატექტომია (6 სთ)]
2. ნსს ლიგირება + ნაწილობრივი პეპატექტომია (6 სთ)

მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე საინტერესო იყო დაგვედგინა ქოლესტაზი ტრანსკრიპციის პროცესის ინჰიბირებას მხოლოდ პროლიფერაციისადმი სტიმულირებულ ჰეპატოციტებში ახდენს, თუ საქმე გვაქვს გენების ექსპრესიაზე დამთრგუნველი ზემოქმედების არასპეციფიკური მექანიზმის გამოვლინებასთან. ამ მიზნით მოვახდინეთ ზრდასრული ვირთაგვას ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება ღვიძლის რეზექციის გარეშე. ოკლუზიიდან პირველი რვა საათის განმავლობაში ვსწავლობდით ჰეპატოციტებიდან იზოლირებულ ბირთვებში რნმ-ს სინთეზის ინტენსიურობის ცვლილებას. დადგინდა, რომ პროლიფერაციული სტიმულის გარეშე ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკეტვა არ ახდენს ზეგავლენას ღვიძლის პარენქიმული უჯრედების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე. ნაღვლის შეგუბებიდან პირველი რვა საათის განმავლობაში იზოლირებულ ბირთვებში რნმ-ს სინთეზის ინტენსიურობა უცვლელი რჩება (სურ. 2), რაც იმაზე მიუთითებს, რომ პროლიფერადი უჯრედებისაგან განსხვავებით, ქოლესტაზი არ ახდენს დამთრგუნველ ზეგავლენას ზრდასრული ღვიძლის ტერმინალურად დიფერენცირებულ უჯრედებში ექსპრესირებადი გენების აქტიურობაზე.

მიღებული შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ღვიძლის რეგენერაციაზე ქოლესტაზის დამთრგუნველი ზემოქმედება უჯრედების გამრავლების მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიის დონეზე ხორციელდება.



1

სურათი 2. თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება ქოლესტაზის პირობებში

3.1.2 ღვიძლის უჯრედებში ტრანსპორტირების პროცესზე ნაღვლის საერთო სადინარის ხანგრძლივი ოკლუზიის ზეზავლება

ლიტერატურული მონაცემებით, ნაღვლის საერთო სადინარის ხანგრძლივი ოკლუზია (4 - 7დღე) ნაღვლის სადინარების ამომყენი ეპითელიოციტებისა და თვით ამ სადინარების პროლიფერაციას ინდუცირებს (Slott Ph.A., et. al.; 1990). აქედან გამომდინარე, უკანასკნელ წლებში დაიწყო ქოლესტაზის პირობებში სხვადასხვა ზრდის ფაქტორების და ციტოკინების განსაკუთრებით ინტენსიური შესწავლა. დადგენილია, მაგალითად, რომ TNF- α ნაღვლის შეგუბების პირობებში ქოლანგიოციტების დაზიანებას და ნაღვლის სეკრეციის ცვლილებებს იწვევს (Alpini G., et. al.; 2003); ნაღვლის მუაეების გაზრდილი კონცენტრაცია განაპირობებს ამავე მუაეების სატრანსპორტო სისტემების მოშლას (მაგალითად, Na⁺ - დამოკიდებული ნაღვლის მუაეების სატრანსპორტო და ორგანული ანიონების ტრანსპორტული პოლიპეპტიდის - OATP სისტემა), რომელთა ფუნქციონირება რეგულირდება HNF1 α -ს მეშვეობით. აღნიშნული ფაქტორის კონცენტრაცია, თავის მხრივ, ნაღვლის მუაეებით კონტროლირდება. დადგენილია, რომ ქოლესტაზურ დეიქლში ნაღვლის მუაეების კონცენტრაციის მატება იწვევს ამ ფაქტორის ექსპრესიის დათრგუნვას და აღნიშნული სისტემების მოშლას (Jung D. et al. 2003).

ნაჩვენებია ასევე, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან 15 საათის შემდეგ ქოლანგიოციტების პროლიფერაციული აქტიურობის ზრდა დაკავშირებულია HNF-6 ცილის (გამრავლების ინჰიბიტორი) რაოდენობის შემცირებასთან. აღნიშნული პროცესი გრძელდება ნაღვლის საერთო სადინარის გადააკტივიდან 5 დღის განმავლობაში (Holterman A.X. L., et. al.; 2002).

ამასთან, არ არსებობს მონაცემები ადრეული პასუხის გენებზე ხანგრძლივი ოკლუზიის შემოქმედების მექანიზმის შესახებ. ცნობილია მხოლოდ ის, რომ ოთხდღიანი ქოლესტაზი ადრეული პასუხის გენების კონსერვაციას განაპირობებს (Bird M.A. et. al. 2002). აქედან გამომდინარე, კვლევის შემდგომ ეტაპზე შევისწავლეთ რეზეცირებული ღვიძლის უჯრედებში ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის თავისებურება ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში. ამ მიზნით თეთრ ზრდასრულ ვირთაგვებში მოვახდინეთ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება და 4 დღის შემდეგ ღვიძლის ნაწილობრივი რეზექცია.

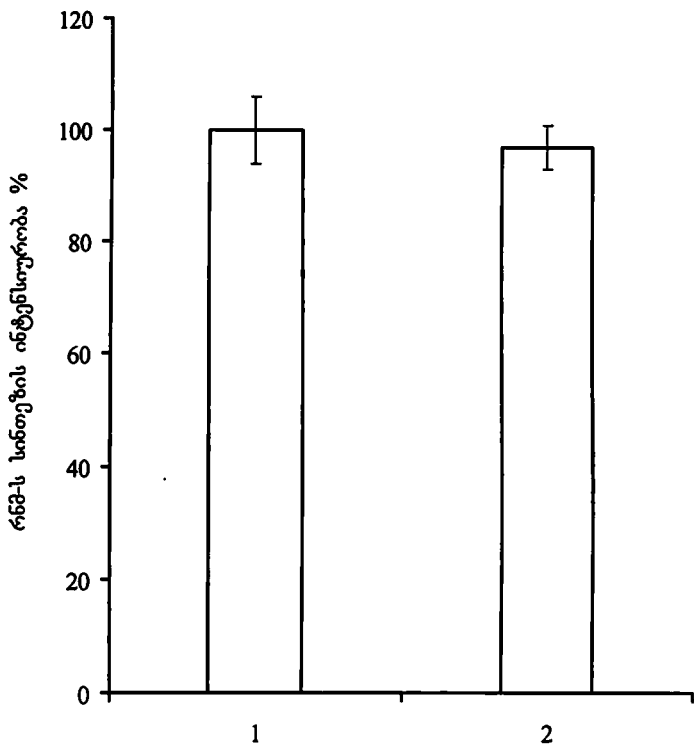
ჩვენს მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ ქოლესტაზიდან 4 დღის შემდეგ პეპატექტომირებული ვირთაგვების ღვიძლის პარენქიმულ უჯრედებში ტრანსკრიპციული აქტიურობა მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ განიცდის (სურ. 3). კერძოდ, ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში რეზეცირებული ღვიძლის უჯრედებში ტრანსკრიპციული აქტიურობა საკონტროლო მანვენებლის დონეზე რჩება. მიღებული მონაცემები იმაზე მიუთითებს, რომ ოთხდღიანი ქოლესტაზი არ ახდენს უკავალენას ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიაზე.

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ქოლესტაზურ ცხოველებში ადგილი აქვს ადრეული პასუხის გენების კონსერვაციას (Bird.M.A. et al. 2002). ნაჩვენებია ასევე, რომ ქოლესტაზი ინდუცირებს პეპატოციტების პროლიფერაციისთვის აუცილებელი ფაქტორის (NFκB) ექსპრესიას (Iamuro Y., et al. 1998; Miyahara T. et. al 2000; Miyoshi H et al. 2001; Bird.M.A. et al. 2003). აღნიშნული კვლევებიდან გამომდინარეობს, რომ ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში ღვიძლის უჯრედებში ძლიერდება პროლიფერაციისთვის აუცილებელი ფაქტორის (NFκB) ექსპრესია, მაგრამ გამრავლების

მაკონტროლებელი გენების ჩვეული აქტიურობა მაინც არ აღინიშნება.

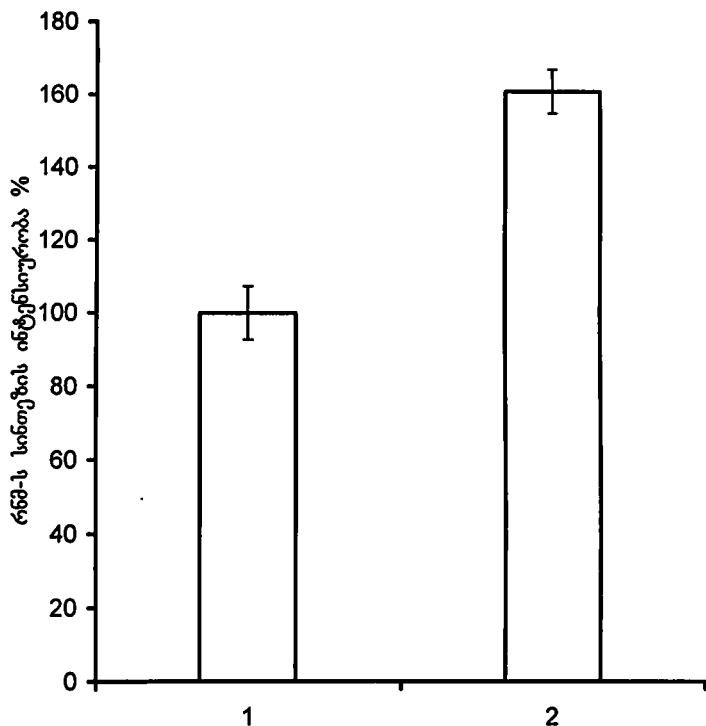
კვლევის შემდგომ ეტაპზე საინტერესო იყო დაგვედგინა ხანგრძლივი ოკლუზიის ზეგავლენა ზრდასრული ღვიძლის უჯრედებში ექსპრესირებადი გენების აქტიურობაზე. აქედან გამომდინარე, მოვახდინეთ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება პროლიფერაციული სტიმულის გარეშე და 4 დღის შემდეგ შევისწავლეთ ჰეპატოციტების ბირთვებში ტრანსკრიპციული აქტიურობა. დადგინდა, რომ ჰეპატოციტების ბირთვებში ქოლესტაზი რნმ-ის სინთეზის სტიმულაციას იწვევს. კერძოდ, ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან 4 დღის შემდეგ ღვიძლის უჯრედებში ტრანსკრიპციული აქტიურობა ინტაქტურ ცხოველებთან შედარებით 61%-ით იზრდება (სურ. 4).

ლიტერატურული მონაცემები იმის თაობაზე, თუ რა გავლენას ახდენს ქოლესტაზი უჯრედებში მიმდინარე სინთეზურ პროცესებზე, ურთიერთსაწინააღმდეგოა. ნაჩვენებია, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიიდან ოთხი დღის შემდეგ ჰეპატოციტებში დნმ-ის და ცილების ბიოსინთეზის შემცირება ხდება (Kimura F. et al. 1997; Bird M.A. et. al. 2002). ამავე დროს, ცნობილია, რომ ერთკვირიანი ქოლესტაზის პირობებში ვირთაგვების ღვიძლში დნმ-ს სინთეზი მატულობს, რაც ჰეპატოტროფული ფაქტორების დაგროვებით არის განპირობებული (Aronson D.C., et. al.; 1995). თუმცა, ნაღვლის დინების აღდგენის შემთხვევაში, პლანმაში ბილირუბინის კონცენტრაციის ნორმალიზაციის მიუხედავად, ღვიძლის რეპექციის შემდეგ ორგანოს რეგენერაცია ფერხდება (ყოვნდება), რასაც ავტორები რეგენერაციის ხელშემწყობ და ინჰიბიტორულ ფაქტორებს შორის ბალანსის დარღვით ხსნიან (Aronson D.C., et. al.; 1995).



სურათი 3. ოთხდღიანი ქოლესტაზის პირობებში თეთრი ვირთაგვას პროლიფერაციისადმი სტიმულირებულ ჰეპატოციტებში ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება

1. ქოლესტაზი 4 დღე
2. ქოლესტაზი 4 დღე+ნაწილობრივი ჰეპატექტომია მე-6სთ



სურათი 4. თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება 4 დღიანი ქოლესტაზის პირობებში

1. კონტროლი (ინტაქტური ცხოველები)
2. ქოლესტაზი 4 დღე

ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, ჩვენი კვლევის შედეგები უფლებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ქოლესტაზი 4 დღის შემდეგ ღვიძლის ქსოვილზე ფუნქციური დატვირთვის გაზრდით ინდუცირებს ჰეპატოციტებში სინთეზური პროცესების გაძლიერებას.

ჩვენს მიერ მიღებული და ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზიდან გამომდინარე, ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში ჰეპატოციტების პროლიფერაციის თავისებურებების ასახსნელად აუცილებელია დამატებითი პარამეტრების, მათ შორის უშუალოდ მიტოზური აქტიურობის განსაზღვრა. აღნიშნული გამოკვლევების შედეგები განხილულია თავში 3. 4.

3.2 ღვიძლის რეგენერაციაზე ქოლესტაზის დაპრთბუნველი ზემოქმედების მოლეკულური მექანიზმების გამოკვლევა

3.2.1 ალდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ღვიძლის უჯრედებში სხვადასხვა ჯგუფის ბენების ექსპრესიაზე ქოლესტაზის ზემოქმედების შესწავლა

როგორც აღნიშნეთ, ნაწილობრივი ჰეპატექტომიასთან ერთად ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება ღვიძლის უჯრედებში ადრეული დაუყოვნებელი პასუხის გენების დათრგუნვას იწვევს, რაზეც მიუთითებს ოპერაციიდან მე-6 საათზე საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით (ნაწილობრივი ჰეპატექტომია) ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის შემცირება (სურ. 1). აღნიშნულ გენტა აქტიურობა, როგორც ცნობილია, ადრეული დაუყოვნებელი კლასის გენტა ექსპრესიის პროდუქტებით განისაზღვრება. აქედან გამომდინარე, ვივარაუდეთ, რომ ქოლესტაზით ღვიძლის რეგენერაციის დათრგუნვა ალდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ადრეული დაუყოვნებელი პასუხის გენების ინაქტივაციით არის განპირობებული.

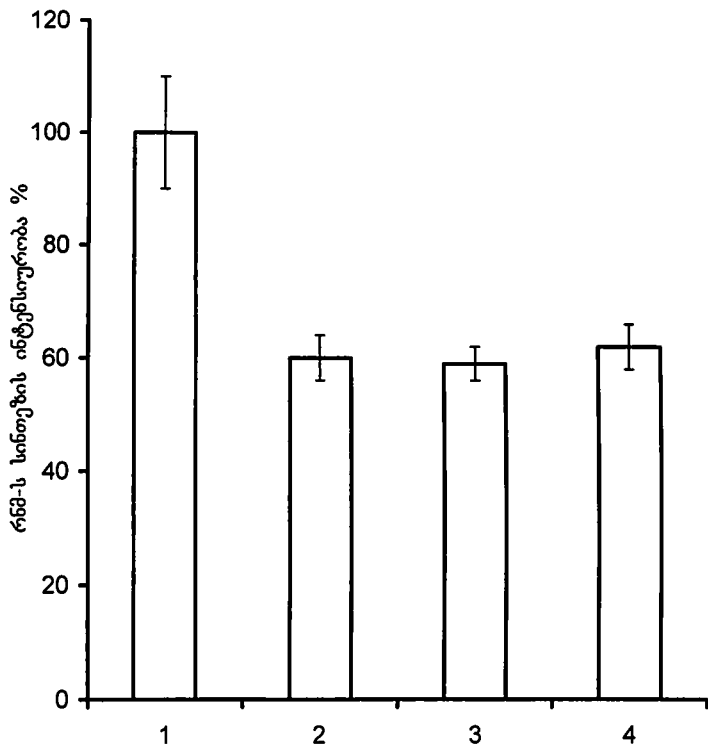
აღნიშნული მოსაზრების შესამოწმებლად ექსპერიმენტების შემდგომ სერიაში ნაღვლის სადინარის ლიგირება მოვახდინეთ ღვიძლის რეზექციიდან სხვადასხვა ვადებზე (0, 1, და 5 სთ). ცხოველები დაყვავით ოთხ ჯგუფად: I ჯგუფის ცხოველებს ჩაუტარდათ ღვიძლის რეზექცია; II ჯგუფის ცხოველებს - ღვიძლის რეზექცია და ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება ერთდროულად; III ჯგუფის ცხოველებს - ღვიძლის რეზექცია და ერთი საათის შემდეგ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება; IV

ჯგუფის ცხოველებს - ღვიძლის რეზექცია და 5 საათის შემდეგ ნალელის საერთო სადინარის ლიგირება. გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ნალელის საერთო სადინარის გადაკეტვა ერთნაირ ზემოქმედებას ახდენს ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე. მიუხედავად იმისა, თუ რომელ საათზე მოვახდენთ სადინარის ლიგირებას ჰეპატექტომირებულ ვირთაგეგებში, ოპერაციიდან მეექვსე საათზე დაყოვნებული პასუხის გენების ექსპრესია სამივე საცდელ ჯგუფში 40%-ით ქვეითდება I ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით (სურ. 5).

როგორ შეიძლება აიხსნას მიღებული მონაცემები?

როგორც ცნობილია, ღვიძლის რეზექციის საპასუხოდ ადრეული დაუყოვნებელი პასუხის გენების – პროტო-ონკოგენების კასკადური აქტივაცია ხდება. ამ კასკადში მონაწილე გენებიდან აღსანიშნავია c-Jun, c-fos, LRF1 და c-JunB, რომელთაგან პირველი ორის ექსპრესია ოპერაციიდან 30 წუთში ხდება და პერიოდულად მეორდება, ხოლო LRF1 და c-JunB გენების – ოპერაციიდან მე-5 საათზე (Beauchamp R. D. et al. 1994 Singh I.S. et al. 1994; Hallahan D.E. 1995). აქედან გამომდინარე, მეორე და მესამე ჯგუფის ცხოველებში ღვიძლის უჯრედების ტრანსკრიპციული აქტიურობის დაქვეითება ოპერაციიდან მე-6 საათზე დაუყოვნებელი პასუხის გენების, მათ შორის c-Jun, c-fos-ის ექსპრესიაზე ქოლესტაზის დამთრგუნველი ზემოქმედებით უნდა იყოს განპირობებული.

დაყოვნებული პასუხის გენების აქტიურობის მისაღწევად, როგორც ცნობილია, აუცილებელია პეტეროდიმერული ცილა LRF1\c-JunB, რომელიც LRF1 და c-JunB გენების პროდუქტს წარმოადგენს. აღნიშნული გენების ექსპრესია, როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან მე-5 საათზე ხორციელდება (Black D., et al. 2004).



სურათი 5. ქოლესტაზის ზეგავლენა ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიაზე პროლიფერაციისადმი სტიმულირებულ ჰეპატოციტებში

1. ჰეპატექტომია (6სთ)
2. ჰეპატექტომია+ქოლესტაზი (6სთ)
3. ჰეპატექტომია (1სთ)+ქოლესტაზი (6სთ)
4. ჰეპატექტომია (5სთ)+ქოლესტაზი (6სთ)

აქედან გამომდინარე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ნაღველის სადინარის გადაკეტვა ღვიძლის რეზექციიდან მე-5 საათზე იწვევს LRF1 და c-JunB გენების სუპრესიას, რაც შესაბამისად გამოიხატება მეოთხე ჯგუფის ცხოველებში ოპერაციიდან მე-6 საათზე ტრანსკრიპციული აქტიურობის დათრგუნვაში. ქოლესტაზის პირობებში ღვიძლში აღძრული დესტრუქციული პროცესებიდან გამომდინარე, არ გამოვრიცხავთ ტრანსკრიპციული აქტიურობის ინაქტივაციის სხვა მექანიზმის არსებობას.

3.2.2 ქოლესტაზის პირობებში ალბენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ღვიძლის უჯრედებში ტრანსკრიპციის ინაქტივაციის მემანიჟმის შესახებ

ცნობილია, რომ სხვადასხვა ორგანოს, მათ შორის ღვიძლის უჯრედებში მრავალი ფიზიოლოგიური პროცესი სამიზნე გენებზე გლუკოკორტიკოიდების (კორტიზოლი და კორტიკოსტერონი) ზემოქმედების შედეგად რეგულირდება (Stauffer A. T. et. al; 2002). დადგენილია, რომ თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტებში კორტიკოსტერონი პროლიფერაციის მაკონტროლებელი ე.წ. ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის დათრგუნვას იწვევს (Красильников М.А. 1993; Pourquier P. at al, 1998; Modebadze I. et.al; 2001). აღნიშნული გენების ინაქტივაცია რეზეცირებული ღვიძლის უჯრედებში არ ხდება ჰორმონული დისბალანსის პირობებში. თირკმელზედა ჯირკვლების ექსტირპაციიდან 4 დღის შემდეგ (როდესაც სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაცია მინიმუმამდე მცირდება) ღვიძლის ნაწილობრივი რეზექცია ვირთაგვას ჰეპატოციტებში აღნიშნული გენების ექსპრესიის დაჩქარებას იწვევს. კერძოდ, დაყოვნებული ადრეული პასუხის გენების ტრანსკრიპციული აქტიურობის პიკი სამი საათით ადრე აღმოცენდება, რაც სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის შემცირებით არის განპირობებული (Derenzini M., et al. 1979; Dzidziguri D.V.et.al; 1997).

აქედან გამომდინარე, გამოთქმული იყო მოსაზრება, რომ ქოლესტაზის პირობებში ადრეული დაუყოვნებელი გენების ინაქტივაცია კორტიზოლის ზემოქმედებით ხდება.

ლიტერატურული მონაცემებით, ყველა აქტიური გლუკოკორტიკოიდი ჰიდროქსილირებულია. მათი ინაქტივაცია ხდება მე-11 მდგომარეობაში არსებული ჰიდროქსილის ჯგუფის გარდაქმნით

ოქსო-ჯგუფად. გლუკოკორტიკოიდის ბიოლოგიური აქტიურობა აღდგება ოქსო-ჯგუფის რედუცირების შედეგად. ეს შექცევადი რეაქცია ხორციელდება ორი დამოუკიდებელი ფერმენტით – 11β-დეჰიდროგენაზით (11β-DH) და 11β-ოქსორედუქტაზით (11β-OR).

ძუქუმწოვრების სხვადასხვა ქსოვილის უჯრედებში 11β-DH\11β-OR ფერმენტული აქტიურობის სხვადასხვა თანაფარდობა არის აღწერილი. კერძოდ, ღვიძლის ქსოვილში 11β-OR-ის, ხოლო თირკმელსა და სათესლეებში 11β-DH-ის აქტიურობა ჭარბობს, სადაც იგი 11β-ჰიდროოქსიკორტიკოიდის (კორტიკოსტერონი) 11-კეტოსტეროიდად (11-დეჰიდროკორტიკოსტერონი) გარდაქმნით ხელს უშლის მინერალოკორტიკოიდის I ტიპის რეცეპტორთან გლუკოკორტიკოიდის დაკავშირებას (Monder C. 1990, Stauffer A. T. et. al; 2002).

ამავე დროს დადგენილია, რომ თირკმლის ეპითელიოციტებისაგან განსხვავებით, ზრდასრული თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედებში ფერმენტი 11β-დეჰიდროგენაზა 11β-OR-თან შედარებით ნაკლებად აქტიურია. აღსანიშნავია, რომ ძლიერი ლაბილურობის გამო უჯრედებში 11β-დეჰიდროგენაზა სწრაფად ინაქტივირდება (Monder C. 1990). გარდა ამისა, უკანასკნელი წლების მონაცემებით, აღნიშნული ფერმენტის (11β-DH) აქტიურობა ითრგუნება ნაღვლის მჟავების შემოქმედებით (Stauffer A. T. et. al; 2002). ნაღვლის მჟავების, მათ შორის, ქენოდეზოქსიქოლის მჟავას კონცენტრაცია, როგორც ცნობილია, მნიშვნელოვნად მატულობს ნაღვლის საერთო სადინარის ოკლუზიის შემდეგ. ნაჩვენებია, რომ ქოლესტაზის დროს ქენოდეზოქსიქოლის მჟავით 11β-DH ინაქტივაცია ხელს უწყობს თირკმლის ეპითელიოციტებში კორტიკოსტერონის დაგროვებას. ეს უკანასკნელი გაზრდილი კონცენტრაციით მინერალოკორტიკოიდების

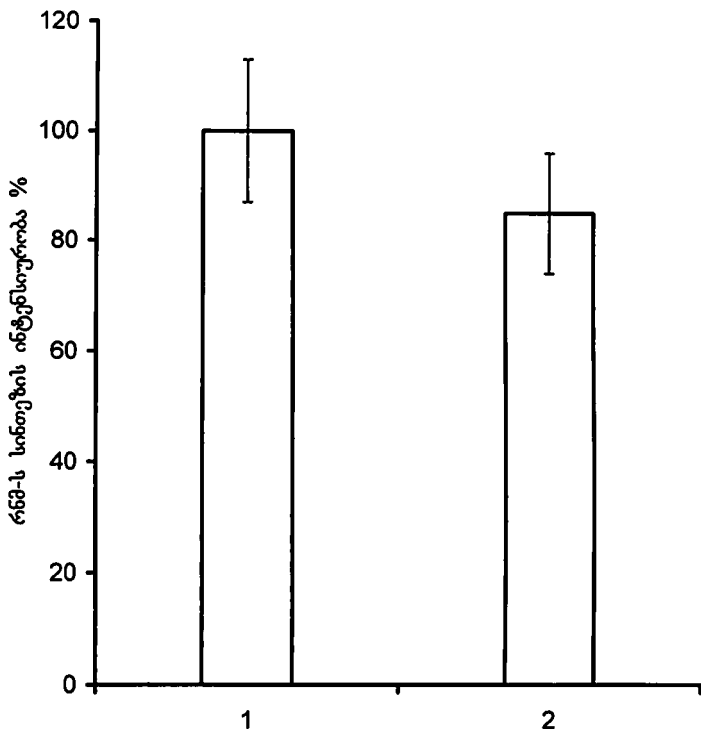
I-ტიპის რეცეპტორებთან კონკურენტული ურთიერთქმედების შედეგად თირკმლის ქსოვილში ნატრიუმის რეაბსორბციის დარღვევას იწვევს (Stauffer A. T. et. al; 2002).

ქოლესტაზის პირობებში ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის ინაქტივაციის მექანიზმის დასადგენად გამოვიყენეთ ორმხრივი ადრენალექტომიის ექსპერიმენტული მოდელი (ჰორმონული დისბალანსი). ეს საშუალებას გვაძლევდა შეგვეფასებინა ალნიშნული გენების ექსპრესია კორტიკოსტერონის არარსებობის პირობებში.

ცხოველები დაეყავით ორ ჯგუფად: პირველი ჯგუფის ცხოველებს ორმხრივი ადრენალექტომიიდან 4 დღის შემდეგ ნაწილობრივი ჰეპატექტომია, ხოლო მეორე ჯგუფის ცხოველებს თირკმელზედა ჯირკვლების ექსტირპაციიდან 4 დღის შემდეგ ღვიძლის რეზექცია და ნაღვლის საერთო სადინრის ოკლუზია ჩაუტარდათ.

ჩვენს მიერ ჩატარებული გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ჰორმონული დისბალანსის პირობებში არ ვლინდება ჰეპატოციტების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ქოლესტაზის მაინჰიბირებელი ზემოქმედება. თეთრი ვირთაგვას პროლიფერაციისადმი სტიმულირებულ ჰეპატოციტებში კორტიზოლის არარსებობის პირობებში (მეორე ჯგუფის ცხოველები) ტრანსკრიპციული აქტიურობა საკონტროლო მაჩვენებლის დონეზე რჩება (სურ. 6).

პარალელურად განისაზღვრა ექსპერიმენტული ცხოველების სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის ცვლილება ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან სხვადასხვა ვადაზე.



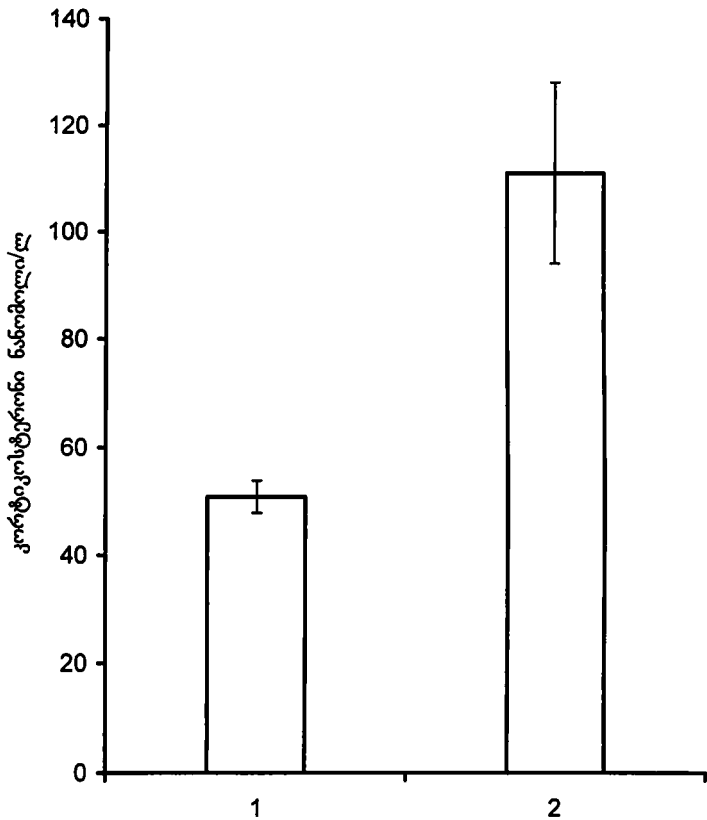
სურათი 6. ქოლესტაზის ზეგავლენა ჰეპატოციტებში ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიაზე ჰორმონული დისბალანსის პირობებში

1. ორმხრივი ადრენალექტომია (4 დღე)+ჰეპატექტომია (3სთ)
2. ორმხრივი ადრენალექტომია (4 დღე) +ჰეპატექტომია+ქოლესტაზი (3 სთ)

ამ მიზნით ცხოველები დაგვყავით სამ ჯგუფად: I ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები (საკონტროლო ჯგუფი); II ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ჩაუტარეთ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება, კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის განსაზღვრის მიზნით კი ვირთაგვების სისხლი ავიღეთ ოპერაციიდან 6 საათის შემდეგ; III ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ჩაუტარეთ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება და სისხლი ავიღეთ ოპერაციიდან მე-4 დღეს.

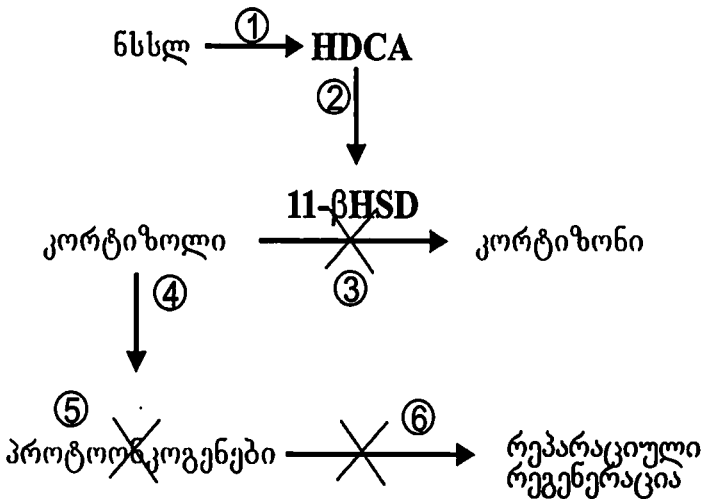
ჩატარებული გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან მე-6 საათზე II ჯგუფის ცხოველების სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაცია 2,18-ჯერ არის გაზრდილი I ჯგუფის ცხოველების იმავე მაჩვენებლთან შედარებით (სურ. 7).

ჩვენს მიერ მიღებული და ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზიდან გამომდინარე, ქოლესტაზის პირობებში ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის ინჰიბირების მექანიზმი რამდენიმე საფეხურს მოიცავს. ამ დროს მიმდინარე პროცესები შეიძლება სქემით გამოისახოს: 1. ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირების შედეგად ჰეპატოციტებში ნაღვლის მჟავების და მათ შორის ქენოდეზოქსიქოლის მჟავის კონცენტრაციის გაზრდა; 2. ქენოდეზოქსიქოლის მჟავით ფერმენტის - 11 β -HSD-ის აქტიურების დათრგუნვა; 3. კორტიზოლის კორტიზონად გარდაქმნის ფერმენტული რეაქციის ინაქტივაცია; 4. ოპერაციიდან მე-6 საათზე სისხლში კორტიკოსტერონის შემცველობის გაზრდა; 5. რეზერვირებული ღვიძლის ჰეპატოციტებში კორტიზოლით ადრეული პასუხის გენების ნაწილობრივი ინაქტივაცია; 6. რეპარაციულ რეგენერაციასთან დაკავშირებული პროცესების შეფერხება.



სურათი 7. თეთრი ვირთაგვის სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის ცვლილება ქოლესტაზის პირობებში

1. კონტროლი [ინტაქტური ცხოველები]
2. ქოლესტაზი ნსთ

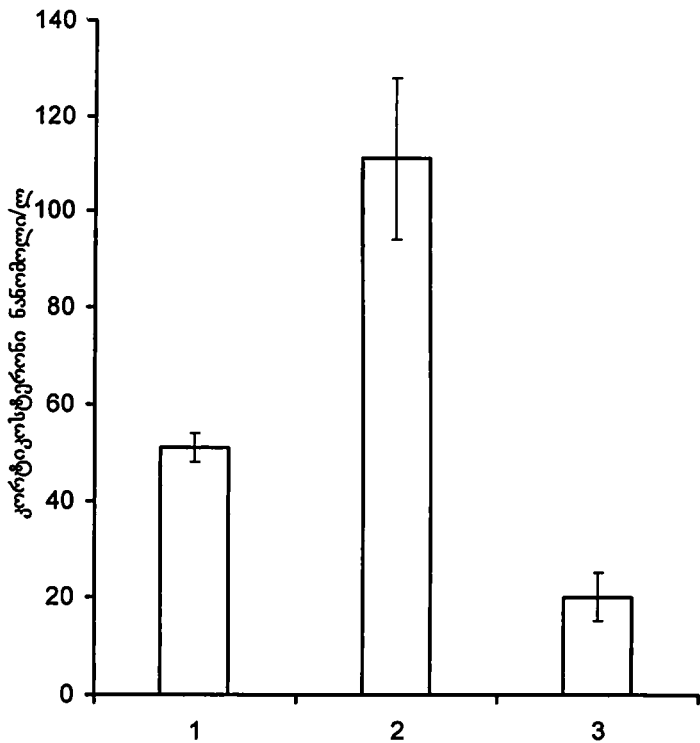


ქოლესტაზის პირობებში ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის ინჰიბირების მექანიზმი

ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში (ოპერაციიდან მე-4 დღეს) რეზეცირებული ღვიძლის უჯრედებში, როგორც უკვე აღნიშნული იყო, არ ვლინდება ადრეული პასუხის გენების ტრანსკრიპციული აქტიურობის პიკი. ამ დროს ვირთაგეების სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაცია საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით 2,5-ჯერ არის შემცირებული (სურ. 8).

რით არის გამოწვეული ასეთ შემთხვევაში ოპერაციიდან მე-4 დღეს რეზეცირებული ღვიძლის უჯრედებში ადრეული პასუხის გენების ტრანსკრიპციული აქტიურობის სრული დათრგუნვა?

ცნობილია, რომ სისხლში გლუკოკორტიკოიდების 90%-ზე მეტი ალბუმინებთან და კორტიკოიდდამაკავშირებელ გლობულინებთან (ტრანსკორტინი) დაკავშირებული ფორმით ცირკულირებს. ლიპოფილური გლუკოკორტიკოიდების მოდიფიკაცია ხორციელდება ღვიძლში. წარმოიქმნება კონიუგატები გლუკურონთან და სულფატთან. მოდიფიცირებული გლუკოკორტიკოიდები წყალში ხსნადი ფორმებია, რომელთაც აქვთ ექსკრეციის უნარი. გლუკოკორტიკოიდების კონიუგირებული ფორმების სეკრეცია ნაღველთან ერთად საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში ხდება. მათგან 20% იკარგება განავალთან ერთად, ხოლო 80% შეიწოვება ნაწლავში. სისხლიდან კონიუგირებული გლუკოკორტიკოიდების 70%-ის ექსკრეცია შარდთან ერთად ხდება (Улумбеков Э. Г. 1998).



სურათი 8. თეთრი ვირთაგვას სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის ცვლილება ქოლესტაზის პირობებში

1. კონტროლი [ინტაქტური ცხოველები]
2. ქოლესტაზი 6სთ
3. ქოლესტაზი 4 დღე

ქოლესტაზიდან მე-4 დღეს შემდეგ სისხლიდან ღვიძლში მოხვედრილი კორტიკოსტერონის მოდიფიცირების შემდეგ არ ხდება კონიუგირებული გლუკოკორტიკოიდის ნაღველთან ერთად ნაწლავში (ნაღველის სადინარის გადაკეტვის გამო) გადატანა და შეწოვა, რის გამოც, სისხლში მცირდება კორტიკოსტერონის კონცენტრაცია. ამავ დროს, იზრდება მისი შემცველობა ჰეპატოციტებში.

შედგად, რეზერვირებული ღვიძლის უჯრედებში არ ხდება ადრეული პასუხის გენების ექსპრესია.

მიღებული შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ღვიძლის რეგენერაციის პროცესზე ქოლესტაზის დამთრგუნველი ზემოქმედება ადრეული პასუხის გენებზე კორტიზოლის დამთრგუნველი ზემოქმედებით არის განპირობებული.

3.3. ვირთაგვას ღვიძლის მორფოლოგიური მასხასიათებლების ცვლილება ქოლესტაზის პირობებში

3.3.1. ქოლესტაზის ზეგავლენა რეგენერირებადი ღვიძლის ჰისტოარქიტექტონიკაზე

მას შემდეგ რაც დადგინდა ღვიძლის უჯრედების ბირთვებში ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიაზე ქოლესტაზის დამორგუნველი ზემოქმედება, მიზნად დავისახეთ გამოგვეკვლია, აისახება თუ არა აღნიშნული ზემოქმედება ღვიძლის ქსოვილის ჰისტოარქიტექტონიკაზე. ამ მიზნით ჩავატარეთ ღვიძლის ქსოვილის მორფოლოგიური გამოკვლევა ნაღვლის საერთო სადინარის ხანმოკლე და ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში, რისთვისაც გამოვიყენეთ პარაფინის ანათლები.

ცხოველები დაეყავით ხუთ ჯგუფად: I ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები; II ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ჩაუტარდათ ნაწილობრივი ჰეპატექტომია; III ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ნაწილობრივ ჰეპატექტომიასთან ერთად ჩაუტარდათ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება; IV ჯგუფი - ვირთაგვები 4 დღიანი ქოლესტაზის პირობებში. V ჯგუფი - ცხოველებს ნაღვლის სადინარის ლიგირებიდან 4 დღის შემდეგ ჩაუტარდათ ნაწილობრივი ჰეპატექტომია. მასალას ვიღებდით ღვიძლის ნაწილობრივი რეზექციიდან 6 საათის შემდეგ.

მე-9 სურათზე წარმოდგენილია ინტაქტური ღვიძლის ქსოვილი. სურათზე წარმოდგენილია ზრდასრული ვირთაგვას ეველაზე მსხვილი ჯირკვლის ტიპური ჰისტოარქიტექტონიკა. კერძოდ, ღვიძლის კლასიკური წილაკში განირჩევა: ოვალური ფორმის ღრუ -

ცენტრალური ვენა, რომელიც წილაკის ცენტრში არის მოთავსებული; ცენტრალური ვენისკენ პერიფერიიდან მომავალი ღვიძლის ფირფიტების ჭიმები; ამ ფირფიტებში ერთ ან ორ რიგად შეკრებილი პოლიგონური ფორმის პარენქიმული უჯრედები - ჰეპატოციტები (როგორც ერთ, ისე ორბირთვიანები); ღვიძლის ფირფიტებს შორის განთავსებული სინუსოიდური კაპილარები (სურ.9 ა,ბ); წილაკთაშორის სივრცეში არსებული ტრიადა; პორტული წილაკის ცენტრში განთავსებულ ტრიადაში კარგად განირჩევა წილაკთაშორისი ვენა, არტერია და ნაღვლის სადინარი (სურ.10.ა,ბ):

როგორ იცვლება საცდელი ჯგუფის ვირთაგვების (II - ჯგუფი) ღვიძლის არქიტექტონიკა. გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან 6 საათის განმავლობაში ღვიძლის მიკროსკოპული სურათი მცირედ არის შეცვლილი. მთლიანობაში ორგანოს რადიალური შენება შენარჩუნებულია. ამასთან, აღინიშნება სინუსოიდების და ღვიძლის ფირფიტების ურთიერთობის შეცვლა. კერძოდ, აღინიშნება სინუსოიდების გაფართოება ცენტრალური ვენის ირგვლივ. ჰეპატოციტების ტიპური სტრუქტურის დარღვევა არ აღინიშნება (სურ.11 ა,ბ, სურ.12 ა,ბ).

კიდევ უფრო იცვლება ღვიძლის ჰისტოლოგიური სურათი III ჯგუფის ვირთაგვებში, რომელთაც ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებასთან ერთად ჩაუტარდათ ნაწილობრივი ჰეპატექტომია. ოპერაციიდან მე-6 საათზე ღვიძლის ქსოვილის სტრუქტურული ცვლილება იმაში გამოიხატება, რომ სინუსოიდები მნიშვნელოვნად არის გაფართოებული არა მხოლოდ ცენტრალური ვენის მიმდებარე, არამედ მისგან დაშორებულ უბნებშიც. ღვიძლის რეპარაციული რეგენერაციის საწყის ეტაპზე, როგორც ცნობილია, სინუსოიდების გაფართოება ცენტრალური ვენის გარშემო იწყება. ამით აიხსნება II ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით სინუსოიდების გაფართოება

მთელი წილაკის ფარგლებში. აღნიშნული ცვლილებების მიუხედავად, ორგანოს რადიალური შენება არ არის დარღვეული (სურ. 13 ა, ბ სურ. 14 ა,ბ).

ღვიძლის ქოლესტაზური დაავადებისას (სხვასახვა ეტიოლოგია) ხდება ღვიძლის კომპლექსური დაზიანება. კერძოდ, ცნობილია, რომ ღვიძლგარეთა ქოლესტაზი იწვევს ღვიძლში ნალვლოვანი ინფარქტის ფორმირებას, ნეიტროფილების ინფილტრაციას, ექსტრაცელულარული მატრიქსის რემოდელირებას და ფიბროზებს (Wang H. et al. 2005). აქედან გამომდინარე, შევესწავლეთ ღვიძლის ქსოვილის არქიტექტონიკა ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში.

ქოლესტაზურ ღვიძლის ქსოვილში, როგორც ცნობილია, აღინიშნება: წილაკის ცენტრში არსებული ჰეპატოციტების ციტოპლაზმაში ნალვლის პიგმენტის გრანულების დაგროვება; ჰეპატოციტების დისტროფიული და ნეკროზული ცვლილებების განვითარება, ანთება და სანალვლე გზების დესტრუქცია; დისეს სივრცეების გაგანიერება და სუბეპითელური შეშუპების გამო ნალვლის სადინრების ამომფენი ეპითელიოციტების (ეპითელიუმი) აშრევება ბაზალური მემბრანისგან (Большая мед. энцикл. 1986; Cotran R.S et al. 1994).

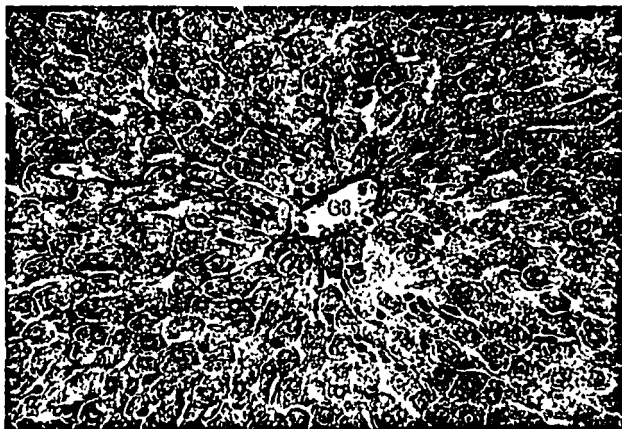
მე-15 სურათზე წარმოდგენილია ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილი 4 დღიანი ქოლესტაზის პირობებში. სურათიდან ჩანს, რომ ღვიძლის წილაკს შენარჩუნებული აქვს რადიალური არქიტექტონიკა. თუმცა, პარენქიმაში უჯრედების უმეტესობა ინარჩუნებს ტიპურ სტრუქტურას, იშვიათად მაგრამ მაინც გვხვდება ერთეული ჰეპატოციტები პიკნოზური ბირთვებით, რც ჰეპატოციტების დისტროფიული და ნეკროზული ცვლილებების განვითარებაზე მიუთითებს (სურ.15. ა,ბ). ამავე დროს, კარგად ჩანს, კარის ვენის

ტოტის გარშემო ნაღვლის სადინარების რაოდენობის მატება. სინოსოიდური კაპილარები გაფართოებულია (სურ. 16. ა,ბ).

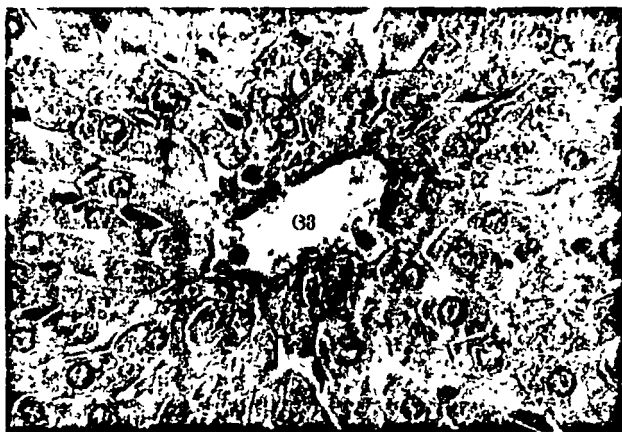
V ჯგუფის ცხოველების ღვიძლის ქსოვილში, რომელთაც ნაწილობრივი ჰეპატექტომია ჩაუტარდათ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან 4 დღის შემდეგ ანალოგიური ცვილებები აღინიშნება (სურ. 17 ა,ბ, სურ. 18 ა,ბ).

მიღებული შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ვირთავას ღვიძლის ჰისტოარქიტექტონიკაზე ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირების ზეგავლენა პირველი ექვსი საათის განმავლობაში მხოლოდ სინუსოიდების და ღვიძლის ფირფიტების ურთიერთობის ცვლილებაში გამოიხატება.

ა



ბ

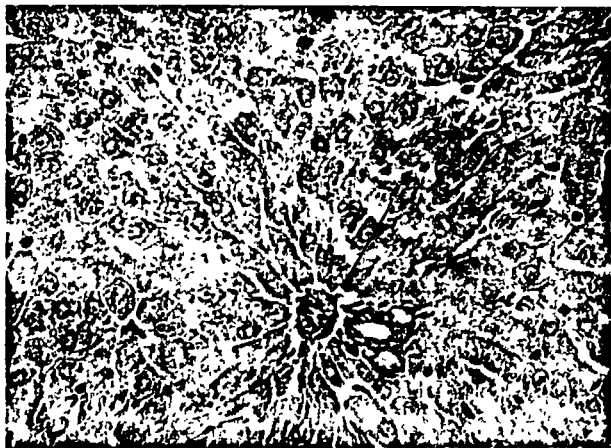


|

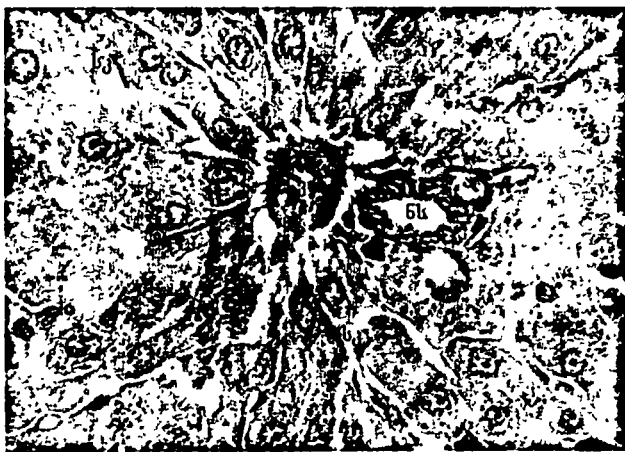
სურათი 9. ინტაქტური ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილი (კლასიკური წილაკი)

ა. 20x5

ბ. 40x5



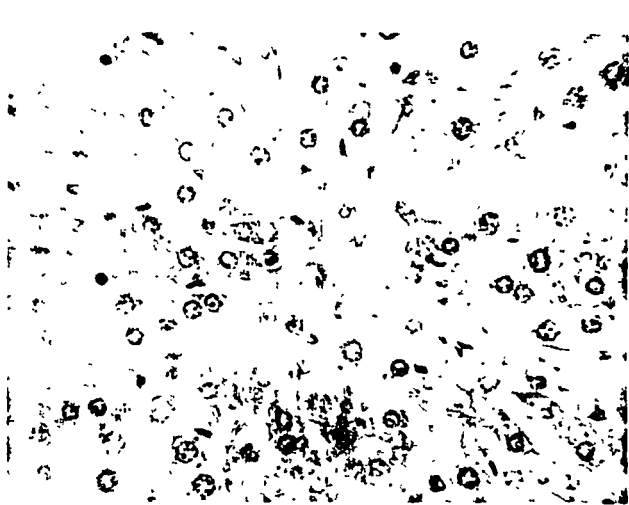
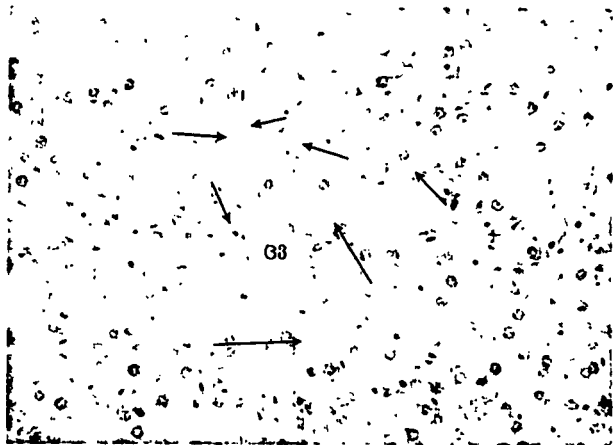
ა.



სურათი 10. ინტაქტური ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილი (პორტული
წილაკი)

ა. 20x5

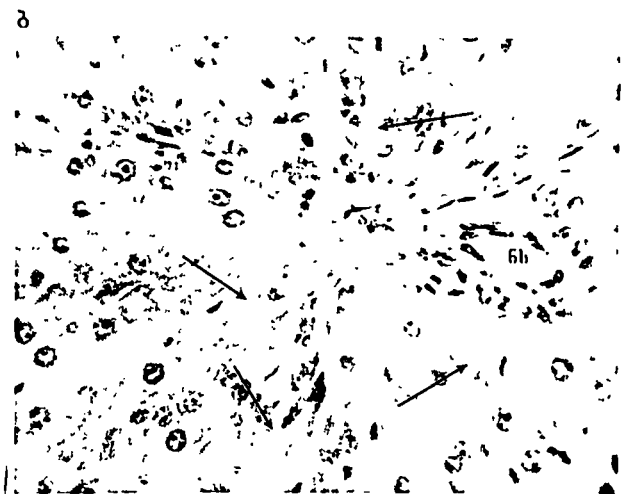
ბ. 40x5



სურათი 11 | ღვიძლის ქსოვილი 6 საათიანი ქოლესტაზის პირობებში
(კლასიკური წილაკი)

ა. 20x5

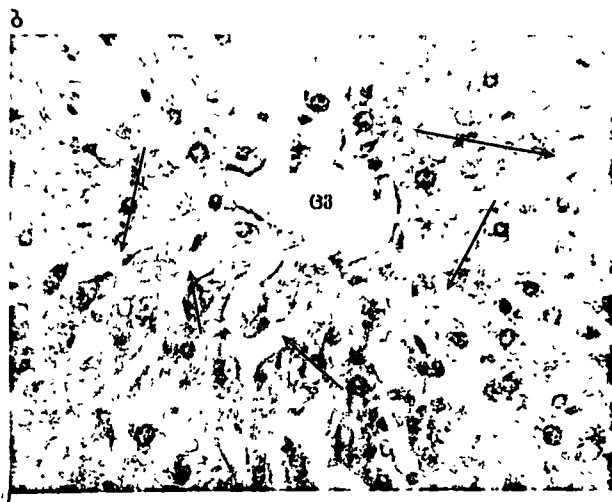
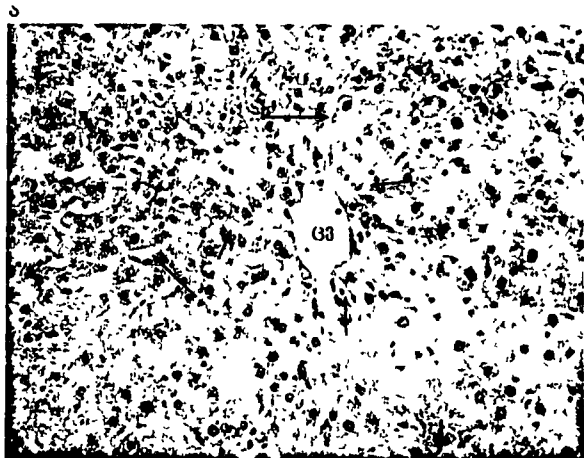
ბ. 40x5



სურათი 12. ღვიძლის ქსოვილი 6 საათიანი ქოლესტაზის პირობებში
(პორტული წილაკი)

ა. 20x5

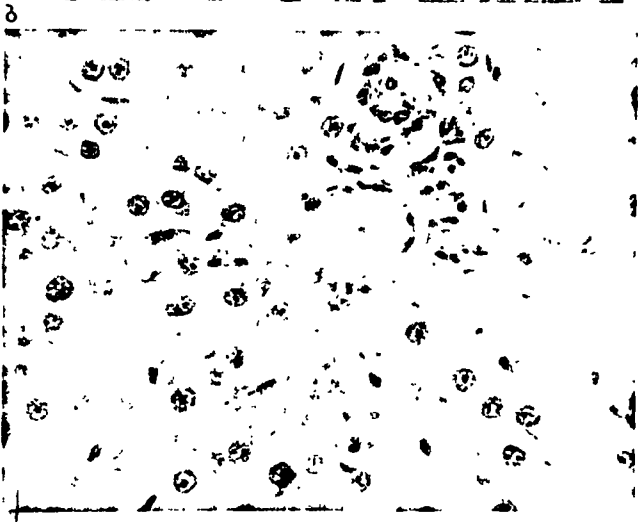
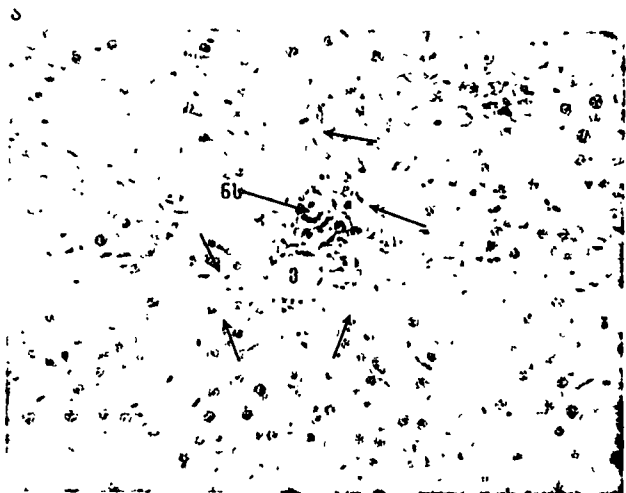
ბ. 40x5



სურათი 13. დეიდლის ქსოვილი 6 საათიანი ქოლესტაზის და ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის პირობებში (კლასიკური წილაკი)

ა. 20x5

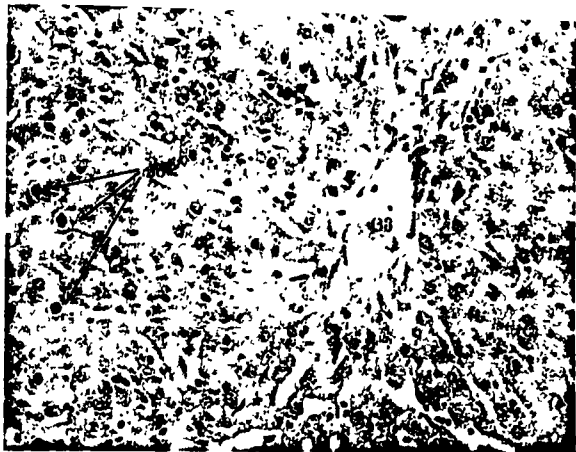
ბ. 40x5



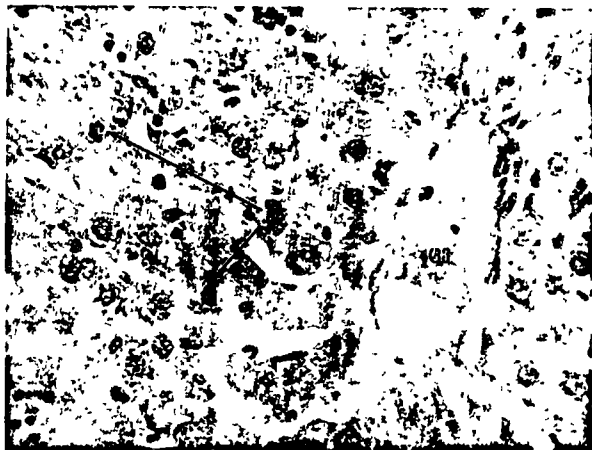
სურათი 14. ღვიძლის ქსოვილი 6 საათიანი კოლესტაზის და
ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის პირობებში (პორტული წილაკი)

ა. 20x5

ბ. 40x5



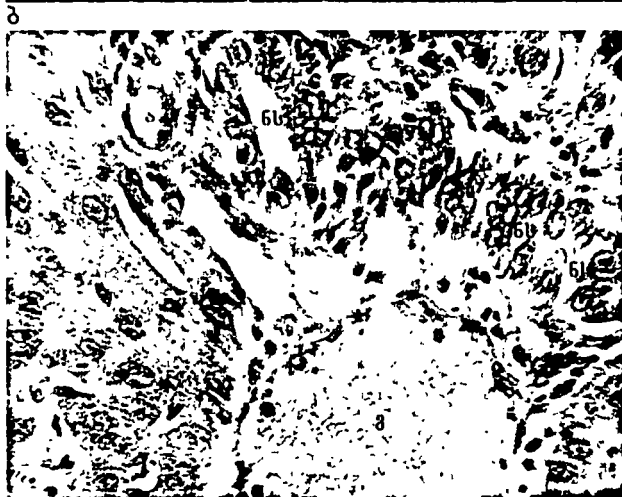
ა



სურათი 15. ღვიძლის ქსოვილი ქოლესტაზიდან მე-4 დღეს
(კლასიკური წილაკი)

ა. 20x5

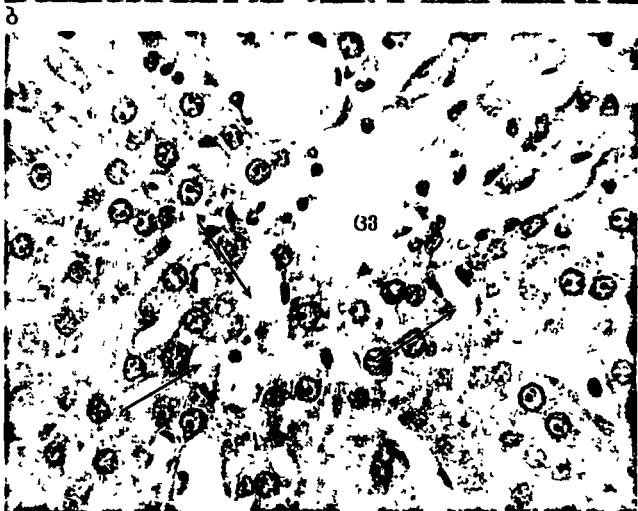
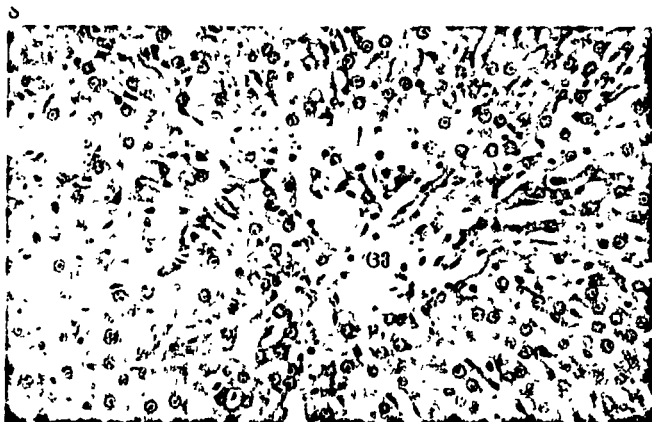
ბ. 40x5



რათი 16. ღვიძლის ქსოვილი ქოლესტაზიდან მე-4 დღეს (პორტული
წილაკი)

ა. 20x5

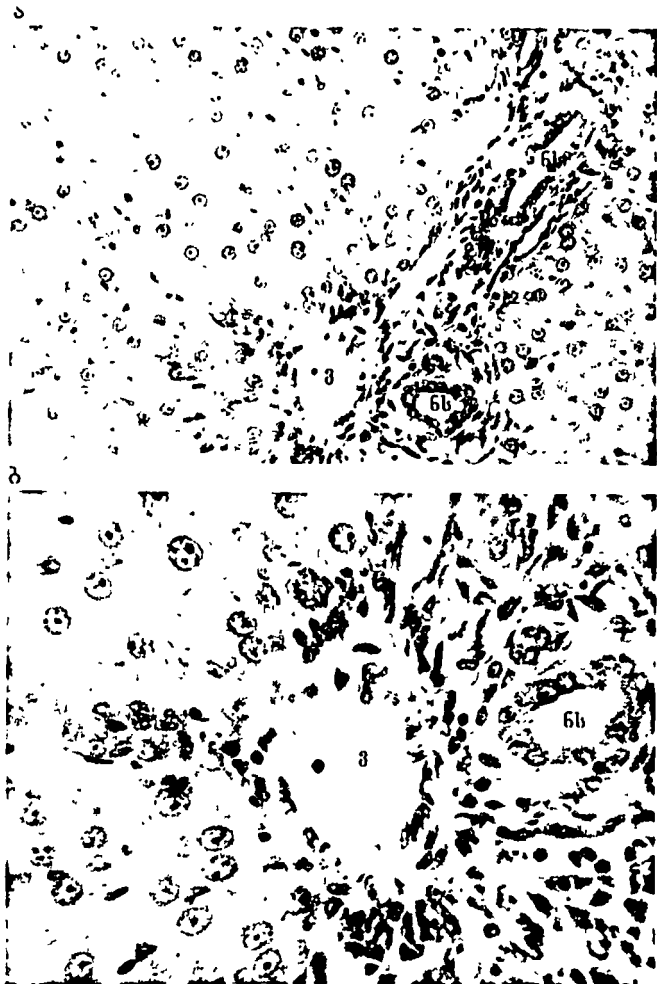
ბ. 40x5



სურათი 17. ღვიძლის ქსოვილი 4 დღიანი ქოლესტაზის პირობებში
ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ (კლასიკური წილაკი)

ა. 20x5

ბ. 40x5



სურათი 18. ღვიძლის ქსოვილი 4 დღიანი ქოლესტაზის პირობებში
ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ (პორტული წილაკი)

ა. 20x5

ბ. 40x5

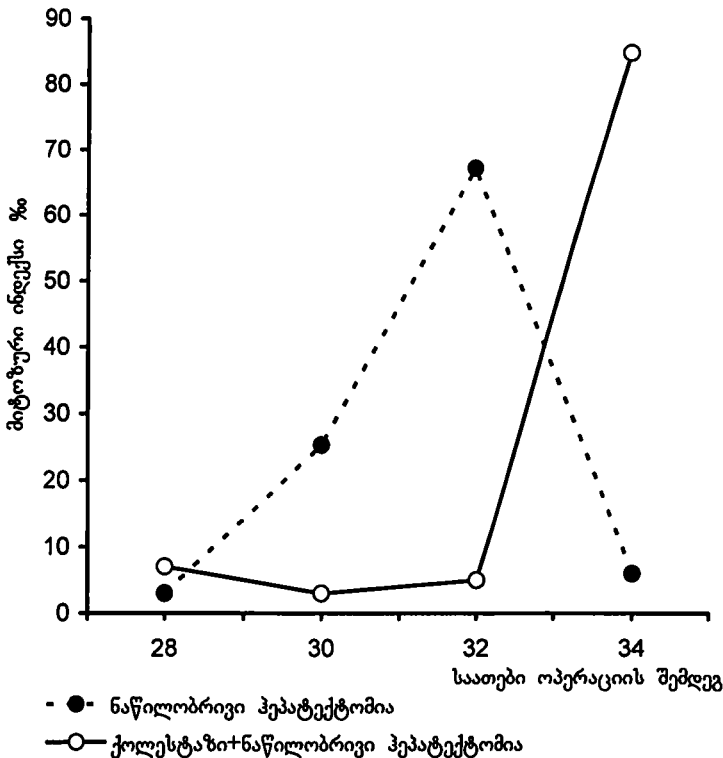
3.3.2 ქოლესტაზის ზეგავლენა ზრდასრული თეთრი პირთაგვას ღვიძლის უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე

ლიტერატურული მონაცემებით, ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირების შედეგად ხდება ადრეული პასუხის გენების კონსერვაცია, დნმ-ს სინთეზის დაქვეითება და ღვიძლის რეგენერაციის შეფერხება (Bird M.A. et. al. 2002). ჩვენს მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება და ნაწილობრივი ჰეპატექტომია ერთდროულად, ღვიძლის უჯრედებში ადრეული დაყოვნებული პასუხის გენების დათრგუნვას იწვევს, რომელთა ექსპრესიის პიკი ღვიძლის რეზექციიდან მე-6 საათზე აღმოცენდება. თავის მხრივ, აღნიშნული პიკი დაკავშირებულია უჯრედების მაქსიმალურ მიტოზურ აქტიურობასთან, რომელიც, ჩვეულებრივ, ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან 32-ე საათზე აღინიშნება. (Platonov O.A., 1980; Dzidziguri D. V. 1994). მთელი რიგი ორგანოსა და ქსოვილის რეგენერაციაში მონაწილეობს უჯრედების სპეციალიზებული პოპულაცია და აგრეთვე დიფერენცირებული უჯრედები. ასე მაგალითად, დადგენილია, რომ მღრღნელების ღვიძლის ქსოვილის დაკარგული მასის აღდგენა მისი შემადგენელი ყველა ტიპის უჯრედის (ჰეპატოციტები, ნაღვლის სადინარის ეპითელიოციტები, ფენესტრირებული ენდოთელიოციტები, მაკროფაგები, კუპფერის უჯრედები და იტოს უჯრედები) პროლიფერაციის ხარჯზე მიიღწევა (Gordon G.T. et al. 2000; Michalopoulos G.K. DeFrances M.C. 1997). გარდა ამისა, ცნობილია, რომ რეპარაციული რეგენერაცია პროლიფერაციის, ჰიპერტროფიისა და პოლიპლოიდიზაციის ხარჯზე ხდება. ამავე დროს, დღეისათვის ჯერ კიდევ არ არის დადგენილი ამ პროცესების მიმდინარეობა ქოლესტაზური ღვიძლის ქსოვილში.

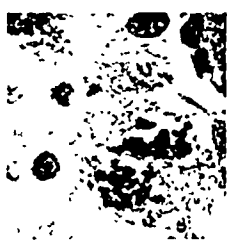
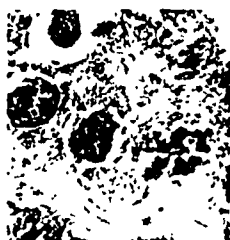
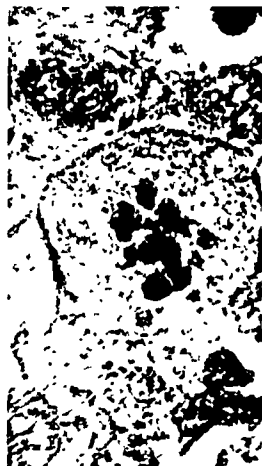
აქედან გამომდინარე, მიზნად დავისახეთ გამოგვეკვლია, ღვიძლის რეგენერაციაზე ქოლესტაზის შემთხვევაში აღნიშნული დამორგუნველი მოქმედება როგორ აისახება პარენქიმული უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე. ვირთავებს ღვიძლის უჯრედების მიტოზურ აქტიურობაზე ქოლესტაზის ზეგავლენის დასადგენად ცხოველები დავყავით სამ ჯგუფად: I ჯგუფი - ცხოველები რომელთაც ჩაუტარდათ ნაწილობრივი ჰეპატექტომია; II ჯგუფი - ღვიძლის რეზექციასთან ერთად ჩაუტარდათ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება; III ჯგუფი - ცხოველებს ჩაუტარდათ მხოლოდ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება. ქსოვილს ვიღებდით ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირების და ღვიძლის რეზექციიდან სხვადასხვა ვადებზე. მიტოზურ ინდექსს ვსაზღვრავდით სინათლის მიკროსკოპში ჰემატოქსილინ-ეოზინით შეღებილ პარაფინის ანათლებზე.

ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ ღვიძლის ქსოვილში პირველი მიტოზები ჩვეულებრივ ოპერაციიდან მხოლოდ 24-26 საათებზე ჩნდება, მაქსიმალური მიტოზური აქტიურობა კი 32-ე საათზე აღინიშნება (Платонов О.А., 1980; Dzidziguri D. V. 1994). ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევებით დადგინდა, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირების შემდეგ რეზექცირებული ღვიძლის მიტოზური აქტიურობის პიკი 32 საათზე სრულიად ითრგუნება (სურ. 19). მიტოზური აქტიურობის პიკი ორი საათით გვიან, ოპერაციიდან 34-ე სთ-ზე აღმოცენდება (სურ. 19).

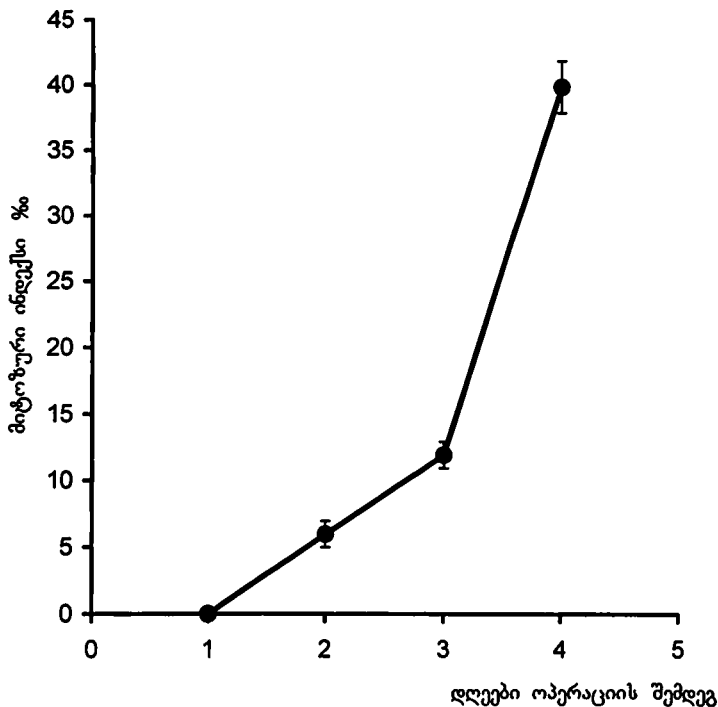
აღსანიშნავია, რომ მიტოზების მნიშვნელოვანი ზრდა ჩვენს მიერ პირველად იქნა ნაჩვენები ვირთავებს ღვიძლში, რომელსაც ჩაუტარდათ მხოლოდ ნაღვლის სადინარის ლიგირება (4 დღიანი ქოლესტაზი) (სურ. 20).



სურათი 19. ქოლესტაზის პირობებში ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების მიტოზური აქტიურობის ცვლილება ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ



სურათი 20. მიტოზები ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედებში



სურათი 21. თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების მიტოზური აქტიურობის ცვლილება ქოლესტაზის პირობებში

გარდა ამისა, ქოლესტაზის ხანგრძლივობასთან ერთად იზრდება ღვიძლის უჯრედების მიტოზური ინდექსიც. კერძოდ, ქოლესტაზიდან 48 სთ-ის შემდეგ ჰეპატოციტთა მიტოზური ინდექსი 6%-ს შეადგენს. მიტოზური ინდექსი ორჯერ იზრდება (12%) 72-ე საათზე. აღნიშნული აქტიურობა ოპერაციიდან 4 დღის შემდეგ 40%-ს აღწევს (სურ. 21).

მიღებული შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ქოლესტაზი ღვიძლის ქსოვილში მიტოზების აღმოცენებას ინდუცირებს მაგრამ ორგანოს რეპარაციული რეგენერაცია მაინც არ მიიღწევა.

3.4. ზრდასრული ვირთაგვას ჰეპატოციტების პლოიდობაზე ქოლესტაზის შემავლენა

ჩვენს მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ: 1. ქოლესტაზური ღვიძლის უჯრედებში მიტოზების აღმოცენება პროლიფერაციის ინდუცირების (ღვიძლის რეზექციის გარეშე) გარეშე ხდება; 2. ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება რეგენერირებადი ღვიძლის პარენქიმული უჯრედების მიტოზური ინდექსის დაქვეითებას იწვევს (თავი 3.3.2). რეზეცირებულ ღვიძლში ჰეპატოციტების მიტოზური ინდექსის შემცირება სხვა ავტორების მიერ ობსტრუქციული სიყვითლის გვიან ვადებზე (ათდღიანი ქოლესტაზი) არის აღწერილი. ნაჩვენები იქნა, რომ ქოლესტაზის პირობებში ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან 72-ე საათზე 3-ჯერ მცირდება c-myc-ს ექსპრესია. ამ მონაცემებზე დაყრდნობით შეცნობებმა დაასკვნეს, რომ ქოლესტაზი ამცირებს ღვიძლის ნორმალურ რეგენერაციას (Tracy TF Jr. et al. 1991) თუ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება რეზეცირებულ ღვიძლში დამორგუნველ ზეგავლენას ახდენს ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიაზე (აღნიშნული გენების აქტიურობა რეზეცირებული ღვიძლის ქსოვილში მიტოზების აღმოცენებისთვის არის აუცილებელი) და თრგუნავს ჰეპატოციტების გამრავლებას, რატომ ხდება ქოლესტაზურ ღვიძლში მიტოზების ინდუცირება?

უჯრედების გამრავლებაზე ქოლესტაზის ორგვარი ზემოქმედება აღწერილია ლიტერატურაშიც. აღსანიშნავია, რომ ობსტრუქციული სიყვითლის მქონე ინდივიდებში ღვიძლშიდა ნაღვლის სადინარების "გამრავლება" ხდება (Steiner JW, et al. 1962; Johnstone JMS., et al. 1976; Popper H. 1986). კერძოდ, ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან 48-ე საათზე ნაღვლის სადინარის ეპითელიუმში პროლიფერაციის

მაქსიმალური აქტიურობა (მარკერის CK-19 გამოვლინების მიხედვით) აღინიშნება (Slott P.H. et. al. 1990). ქოლესტაზის პირობებში ქოლანგიოციტების მიტოზური აქტიურობის სტიმულაცია, ჩვენს მიერაც იყო აღწერილი რეზეცირებულ ღვიძლის ქსოვილში (სურ. 22). აქედან გამომდინარეობს, რომ ქოლესტაზი რეგენერირებადი ღვიძლის ქსოვილში განსხვავებულ ზეგავლენას ახდენს სხვადასხვა ტიპის უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე. კერძოდ, ჰეპატოციტების მიტოზური ინდექსი ქვეითდება, ქოლანგიოციტების პროლიფერაციული აქტიურობა კი იზრდება.

ძუძუმწოვართა ღვიძლისათვის მათ შორის ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილისათვის, როგორც ცნობილია, პოლიპლოიდია (უჯრედები, ქრომოსომების ჯერადად გაზრდილი რიცხვით. მაგ. 4n, 8n), არის დამახასიათებელი (Alfert, M., Geschwind I. 1958; Nadal C., Zajdela F. 1966; Бродский Л. В., Уриваева И.В. 1981; Saeter, G., et. al. 1988; Saeter, G., et al. 1988; Gerlyng, P., et al. 1993). ითვლება, რომ პოლიპლოიდური უჯრედების რაოდენობის ზრდა ორგანიზმის ასაკის მატებასთან ერთად არის ორგანოთა სისტემების არათანაბარი ზრდის შედეგი, რაც გამოწვეულია ზოგიერთ ორგანოში მიტოზური აქტიურობის დაქვეითებით. ღვიძლის ქსოვილის უჯრედების ნაწილის პოლიპლოიდიზაცია ზრდაში დისბალანსის ლიკვიდირებას ახდენს. თუ ხელოვნურად შევაჩერებთ ორგანიზმის ზრდას მაშინ შეჩერდება დაბალი მიტოზური აქტიურობის მქონე ორგანოთა პოლიპლოიდიზაციაც (Бродский Л. В., Уриваева И.В. 1981;). ამიტომაც ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციის პროცესი განიხილება, როგორც ევოლუციური ადაპტაციის მექანიზმი (Бродский Л. В., Уриваева И.В. 1981;), რომლის მოლეკულური საფუძვლები დღემდე ბუნდოვანია (Leffert H. L., et al. 1979; Бродский Л. В., Уриваева И.В. 1981). ამასთან,

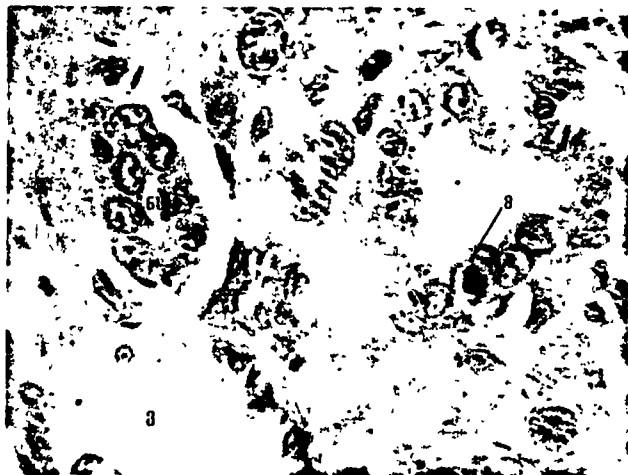
ნაწვენებია, რომ რაც უფრო მაღალია უჯრედების პლოიდობა, მით დაბალია მათი მიტოზური აქტიურობა (Kelly-Loughnane N. et al. 2002).

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების პლოიდობაზე ქოლესტაზის ზეგავლენა.

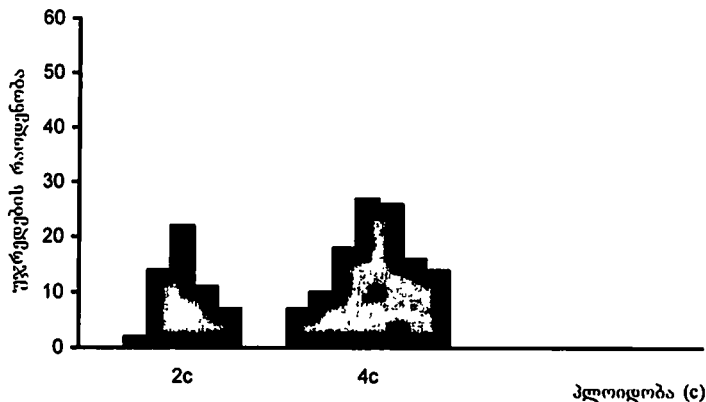
პლოიდობის (დნმ-ს რაოდენობა) განსაზღვრისათვის გამოვიყენეთ ფლუორესცენტული ციტოფოტომეტრიის მეთოდი. ცხოველები დაკავიით ორ ჯგუფად I. - ინტაქტური ცხოველები; II. - ცხოველები ქოლესტაზიდან მე-4 დღეს. ნაღვლის სადინარის ლიგირებიდან მე-4 დღეს იმპულსური ციტოფოტომეტრის (PIF-1) გამოყენებით განისაზღვრა ღვიძლის უჯრედების პლოიდობა (Кудрявцев и др., 1974).

ღვიძლის იზოლირებულ უჯრედებში პლოიდობის გასომეხისას დადგინდა, რომ ნაღვლის სადინარის გადაკეტვა ვირთაგვების პეპატოციტებში ინდუცირებს დნმ-ს შემცველობის ჯერად გაზრდას. კერძოდ ქოლესტაზიდან 4 დღის შემდეგ (მე-2 ჯგუფი) ღვიძლის პარენქიმაში მცირდება დიპლოიდური და იზრდება მაღალპლოიდური უჯრედების (4c და 8c) რაოდენობა (სურ. 23).

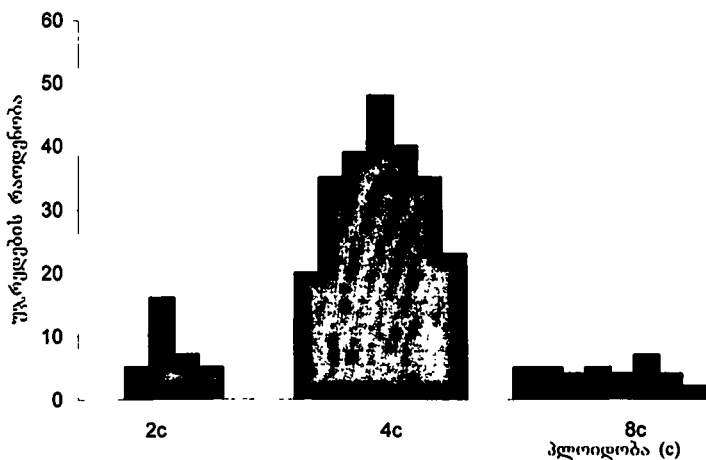
ცნობილია, რომ ცხოველის ონტოგენეზში ორგანოზე ფუნქციური დატვირთვის გაზრდა ღვიძლის პოლიპლოიდოზაციის უშუალო მიზეზია (Бродский В. Я., Урываева И.В. 1981). პოლიპლოიდოზაცია აკომპენსირებს ასევე ღვიძლის ქსოვილის არარსაკმარის მიტოზურ აქტივობას. აღწერილია პოლიპლოიდის მოვლენა ქსოვილის არსებობის არასახარბიელო პირობებში: მწვავე შიმშილობისას, მოწამელის, დენერვაციის, რადიაციისას (Бродский В. Я., Урываева И.В. 1981).



სურათი 22. კოლანგიოციტების მოტივები ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილში 4 დღიანი კოლესტაზის პირობებში



ბ.



სურათი 23. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილში სხვადასხვა პლოიდობის უჯრედების თანაფარდობის ცვლილება 4 დღიანი ქოლესტაზის პირობებში (ა. კონტროლი ბ. ქოლესტაზი 4 დღე)

CCL4-ით მოწამვლისას ჰეპატოციტების დაღუპვასთან ერთად ღვიძლის ქსოვილის პოლიპლოიდიზაცია ხდება. ორი წლის ცხოველებში პარენქიმული უჯრედების ნახევარი მოწამვლის შემდეგ ოქტაპლოიდურია, ამასთან მიტოზური აქტიურობა ამ ასაკის ვირთაგვებში არ აღინიშნება. აქედან გამომდინარე, პოლიპლოიდია ამ შემთხვევაში დესტრუქციული პროცესების კომპენსაციის ძირითადი (თუ არა ერთადერთი) საშუალებაა (Бродский В. Я., Урываева И. В. 1981). ამავე დროს ცნობილია, რომ ქოლესტაზი ზრდასრული ვირთაგვას ღვიძლში დესტრუქციულ ცვლილებებს იწვევს და ამასთან ორგანოსე ფუნქციურ დატვირთვას ზრდის (Большая мед. энцикл. 1986). ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარეობს, რომ ქოლესტაზის პირობებში ღვიძლში მიმდინარე დესტრუქციული პროცესებით განპირობებული დისფუნქციის კომპენსაციის მიზნით, მის პარენქიმულ უჯრედებში ირთვება მექანიზმი, რომელსაც მიყვავართ პროლიფერაციის გასაკუთრებული ფორმამდე - პოლიპლოიდიამდე. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების დადასტურებაა ლიტერატურაში არსებული ინფორმაცია ქოლესტაზის პირობებში უჯრედებში სიგნალის ტრანსდუქციის გზების შესახებ. უჯრედების გამრავლების სასიგნალო გზები, როგორც ლიტერატურიდან არის ცნობილი, ოთხი განსხვავებული ჯგუფის რეკეპტორებით არის გაშუალებული (Fausto N, et al. 1995; Diehl AM, Rai RM. 1996; Moshage H. 1997). რეკეპტორებით მიღებული სიგნალის ციტპლაზმიდან უშუალოდ ბირთვში გადაცემა სხვადასხვა პროტეინკინაზას და ასევე ტრანსკრიპციის ფაქტორებით (STAT3 და NFκB) მეშვეობით ხორციელდება (Koniaris L.G, et. al. 2003), რომლებიც ადრეული პასუხის გენების ტრანსკრიპციას ინდუცირებენ. თავის მხრივ, აღნიშნული გენების ექსპრესიის პროდუქტები განსაზღვრავენ უჯრედების ციკლში შესვლას (Black D., et al. 2004). სიგნალის

გადაცემის კასკადური გზების შეთანხმებული ურთიერთქმედება ღვიძლის დაკარგული მასის აღდგენას უზრუნველყოფს (Koniaris L.G, et. al. 2003).

ნაჩვენებია, რომ ქოლესტაზი ამცირებს ღვიძლის ნორმალურ რეგენერაციას ერთ-ერთ სასიგნალო კასკადში მონაწილე პროტეინკინაზას (H-ras) ინაქტივაციის გზით (Tracy TF Jr, et al. 1991). ქოლესტაზურ ღვიძლში ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან 48-ე და 72-ე საათებზე ჰეპატოციტების მიტოზური ინდექსი 3-ჯერ მცირდება კონტროლთან (ნაწილობრივი ჰეპატექტომია) შედარებით. ღვიძლის მასის ზრდაც, შესაბამისად, უფრო დაბალია ქოლესტაზის პირობებში, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში (Tracy TF Jr, et al. 1991).

ნაჩვენები იქნა, აგრეთვე, რომ ქოლესტაზი ააქტიურებს მეორე სასიგნალო გზაში ჩართულ NFκB-ს. გამომდინარე იქიდან, რომ ქოლესტაზიდან მე-7 დღეს NFκB-ს ინჰიბირებამ გამოიწვია ჰეპატოციტებში ღნმ-ს სინთეზის დათრგუნვა, გაკეთებული იყო დასკვნა, რომ ქოლესტაზის პირობებში ღვიძლის უჯრედების პროლიფერაციისათვის აუცილებელია NFκB-ს ექსპრესია (Miyoshi H et al. 2001, Bird.M.A. et al. 2003).

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ქოლესტაზის პირობებში ღვიძლის ქსოვილში მაღალპლიიდური უჯრედების რაოდენობის მატება NFκB-ს მონაწილეობით მიმდინარე სასიგნალო კასკადის აქტივაციის გზით მიიღწევა.

დასკვნები

1. ქოლესტაზის პირობებში ვირთაგვას ღვიძლის რეპარაციული რეგენერაციის შეფერხება აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე (ოპერაციიდან მე-6 საათზე) კეპატოციტებში გამრავლების მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიის დათრგუნვითაა განპირობებული;
2. ქოლესტაზის პირობებში კეპატოციტებში ადრეული პასუხის გენების ნაწილობრივ ინაქტივაციას სისხლში კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის მატება იწვევს;
3. ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება პირველი 10 საათის განმავლობაში არ თრგუნავს ტერმინალურად დიფერენცირებულ კეპატოციტებში ექსპრესირებადი გენების აქტიურობას, რაც იმას ადასტურებს, რომ ღვიძლის რეპარაციულ რეგენერაციაზე ქოლესტაზის დამთრგუნველი ზემოქმედება მხოლოდ ადრეული პასუხის გენების ექსპრესიის დონეზე ხორციელდება.
4. ქოლესტაზი რეგენერირებადი ღვიძლის ქსოვილში საპირისპირო ზეგავლენას ახდენს კეპატოციტების და ქოლანგიოციტების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე.
5. ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება მცირე დროის (ნსთ) განმავლობაში არ იწვევს ვირთაგვას ღვიძლის პისტოარქიტექტონიკის მნიშვნელოვან ცვლილებებს.
6. ხანგრძლივი ოკლუზიის პირობებში (ოთხდღიანი ქოლესტაზი) ღვიძლის ქსოვილში განვითარებული დისტროფიული და ნეკროზული ცვლილებები პარენქიმულ უჯრედებში მიტოზების აღმოსვენებას განაპირობებს.
7. ნაღვლის საერთო სადინარის ხანგრძლივი ოკლუზიის შედეგად ღვიძლზე გაზრდილი ფუნქციური დატვირთვის კომპენსაცია პარენქიმული უჯრედების პოლიპლოიდიზაციის გზით მიიღწევა.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. ლუკაძე თ. ადამიანის გენეტიკა. ზოგადი ნაწილი თბილისის სახ. უნივერსიტეტის გამოცემა, 1989, გვ.153-155.
2. შათირიშვილი ა., ცაგარელი ს., ცარციძე მ. ზოგადი ბიოლოგია თბილისი, 1999, გვ.305-306.
3. Алесеев А.В. Патаз Э.Л., Пушарева М.Ю., Русанова С.А., Филипова Н.Г. Изменение уровня эндогенного сфингозина в ядрах клеток регенерирующей печени крыс // Биохимия 1993 т.58, №36 стр. 461-470.
4. Большая медицинская энциклопедия 1986, Т.27, с.47-48.
5. Бродский Л. В., Уриваева И.В. Клеточная полиплоидия, пролиферация и дифференцировка.// Москва, «Наука», 1981, 256стр.
6. Георгиев Г.П., Ермолаева Л.П., Збарский И.В. Количественное соотношение белковых и нуклеопротеидных фракции и клеточных ядрах различных тканей.// Биохимия, 1960, Т.24, вып.2, стр.318-322
7. Гистология, введение в патологию под редакцией Э.Г.Улумбекова, 1998.
8. Карлсон Б. М. Регенерация.//, Москва, "Наука", 1986, г.1, стр.5.
9. Клишов А.А. Гистогенез и регенерация тканей // Ленинград, медицина, 1984.
- 10.Красильников М.А. Биохимические пути регуляции гормональной чувствительности клеток.// Биохимия, 1993, Т.58, Вып.45, стр.499-511.
- 11.Крстич Р.В. Иллюстрированная энциклопедия по гистологии человека.// СОТИС Санкт-Петербург, 2001, стр.477-478
- 12.Кудрявцев Б.Н., Розанов Ю.М. Цитофлуориметрия. Общие принципы.// Методы биология развития. М. Наука, 1974. стр.497-500.
- 13.Лиознер Л.Д. Новое в учении о регенерации.// Москва, медицина, 1977, стр.33.

14. Платонов О.А., Лисица Э.Г. Особенности транскрипции ядерного генома на ранних стадиях регенерации печени // Биохимия, 1980, Т.45, #5, стр.896-900.
15. Розен В.Б. Основы эндокринологий.// Москва, "Высшая школа", 1984, стр.335.
16. Романова Л.К. Регуляция восстановительных процессов.// Изд. Московского университета, 1984, стр.175.
17. Рябинина З.А., Бенюш В.А. Полиплодия и гипертрофия клеток в процессах роста и восстановления.// Москва, "Медицина", 1973, стр.207.
18. Саламатина Н.Б. Действие внутриклеточных факторов на рост почки крысы после частичной нефректомии.// Сообщения Акад. Наук Груз. ССР 1975, Т.78, №3, стр.725-728.
19. Alfert, M., Geschwind I.. The development of polysomaty in rat liver. Exp. Cell Res. 1958,15: 230-232.
20. Alpini G., Baiocchi L., Glaser Sh., Ueno Y., Marzioni M., Francis H., Phinizy J. L., Angelico M., LeSage G. Ursodeoxycholate and tauroursodeoxycholate inhibit cholangiocyte growth and secretion of BDL rats through activation of PKC alpha hepatology 2002;35(5):1041-1052
21. Alpini G., Lenzi R., Sarkozi L., Tavolini N Biliary phisiology in rats with bile ductular cell hyperplasia. Evidence for a secretory function of proliferated bile ductules J. Clin Invest. 1988, 81:569-578.
22. Alpini G., Ueno Y., Tadlock L., Glaser Sh. S., LeSage G., Francis H., Taffetani S., Marzioni M., Alvaro D., Patel T. Increased susceptibility of cholangiocytes to tumor necrosis factor- α TNF α cytotoxicity after bile duct ligation // Am J Physiol Cell Physiol 2003, 285: 183-194.
23. Aronson D.C., Chamuleau R.A.F.G., Frederiks W.M., Bosman D.K., Oostlog J. // The effect of extrahepatic cholestasis on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat // Liver 15:242-246, 1995.

24. Barbera E.R., Herrera M.C., Monte M.J., Serrano M.A., Marin J.J. Role of amidation in bile acid effect on DNA synthesis by regenerating mouse liver // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1995, 268(6): 1051-1059
25. Beauchamp R.D., Paraconstantinou J., Henderson A.M., Sheng H.M., Townsend C.M., Thompson J.C., Christou N.V., Baker C.C. Activation of hepatic proliferation-associated transcription factors by lipopolysaccharide// *Surgery*, 1994, V.116, N.2, p.367-377.
26. Beauchamp R.D., Paraconstantinou J., Henderson A.M., Sheng H.M., Townsend C.M., Thompson J.C., Christou N.V., Baker C.C. Activation of hepatic proliferation-associated transcription factors by lipopolysaccharide// *Surgery*, 1994, V.116, N.2, p.367-377.
27. Beaussier M, Wendum D, Fouassier L, Rey C, Barbu V, Lasnier E, Lienhart A, Scoazec JY, Rosmorduc O, Housset C. Adaptive bile duct proliferative response in experimental bile duct ischemia. *J. Hepatol.* 2005, 42(2):257-265
28. Beg A. A., Sha W. C., Bronson R. T., Ghosh S., Baltimore D. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B. *Nature* 376: 167, 1995.
29. Bengmark S., Ekberg H., Evander A., Klifver-Stahl B., Tranberg KG. Major liver resection for hilar cholangiocarcinoma *Ann Surg.*, 1988, 207:120-125.
30. Bird MA, Black D, Lange PA, Samson CM, Hayden M, Behrns KE. NFkappaB inhibition decreases hepatocyte proliferation but does not alter apoptosis in obstructive jaundice. *J.Surg.Res*, 2003, 114(2):110-117.
31. Bird MA., Lange PA, Schrum LW., Grisham JW., Rippe RA., Behrns KE. Department of surgery, Pathology, and Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill, 27599-7210, USA. Cholestasis induces murine hepatocyte apoptosis and DNA synthesis with preservation of the immediate-early gene response. *Surgery* 2002, May; 131(5):556-63.

32. Bird MA., Lange PA, Schrum LW., Grisham JW., Rippe RA., Behrns KE. Cholestasis induces murine hepatocyte apoptosis and DNA synthesis with preservation of the immediate-early gene response. *Surgery* 2002, 131(5):556-63.
33. Black D., Lyman S., Heider T. R., Behrns K.E Molecular and Cellular Features of Hepatic Regeneration *Journal of Surgical Research* 2004,117(2):306–315
34. Boada, L. D., Fernández L., Zumbado M., Luzardo O. P., Chirino R., Díaz-Chico B. N. Identification of a specific binding site for the anabolic steroid stanozolol in male rat liver microsomes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996, 279: 1123-1129.
35. Boucherie S, Koukoui O, Nicolas V, Combettes L. Cholestatic bile acids inhibit gap junction permeability in rat hepatocyte couplets and normal rat cholangiocytes. *J Hepatol.* 2005, 42(2):244-251.
36. Brinkmann A.O. Steroid hormone receptors: Activators of gene transcription. // *J. of Pediatric Endocrinology*, 1994, V.7, N.4, p.275-282.
37. Brown K., Gerstberger S., Carlson L., Franzoso G., Siebenlist U. Control of I kappa B-alpha proteolysis by sitespecific, signal-induced phosphorylation. *Science* 267: 1485,1995.
38. Burcher N.L., Malt R.A. Regeneration of liver and kidney.// Boston, 1991, 278p.
39. Carreras F.I., Gradilone S.A., Mazzone A., García F., Huang B.Q., Ochoa J.A., Tietz P.S., LaRusso N.F., Calamita G., Marinelli R.A. Rat hepatocyte aquaporin-8 water channels are down-regulated in extrahepatic cholestasis // *Hepatology*, 2003, Vol. 37, No 5, pp. 1026-1033.
40. Carriere R. The growth of liver parenchymal nuclei and its endocrine regulation. *Int. Rev. Cytol.* 25: 201-277, 1969

41. Chaisson M. L., Brooling J. T., Ladiges W., Tsai S., Fausto N. Hepatocyte-specific inhibition of NF-kappaB leads to apoptosis after TNF treatment, but not after partial hepatectomy. *J. Clin. Invest.* 110: 193, 2002.
42. Chari RS, Baker ME, Sue SR, Meyers WC. Regeneration of a transplanted liver after right hepatic lobectomy. *Liver Transplant Surg* 1996;2:233-234.
43. Chauveau J., Moule Y., Rouiller Ch. Isolation of pure and unaltered liver nuclei: Morphology and biochemical composition. // *Exp. Cell Res.*, 1956, V.11, p.317-321.
44. Chirino R., Fernández L., López A., Navarro D., Rivero J. F., Díaz-Chico J. C., Díaz-Chico B. N. Thyroid hormones and glucocorticoids act synergistically in the regulation of the low affinity glucocorticoid binding sites in the male rat liver. *Endocrinology* 129: 3118-3124, 1991
45. Chirino R., López-Guerra A., Fernández L., Boada L. D., Valerón P. F., Díaz-Chico J. C., Díaz-Chico B. N. The role of growth hormone in regulation of low affinity glucocorticoid-binding sites from male rat liver microsomes. *Endocrinology* 134: 1409-1415, 1994
46. Cressman D. E., Greenbaum L. E., DeAngelis R. A., Ciliberto G., Furth E. E., Poli V., Taub R. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science* 274: 1379, 1996.
47. Cressman D., Diamond R., Taub R. Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration. *Hepatology* 21: 1443, 1995.
48. Cressman D., Greenbaum L., Haber B., Taub R. Rapid activation of post-hepatectomy factor/nuclear factor kB in hepatocytes, a primary response in the regenerating liver. *J. Biol. Chem.* 269: 30429, 1994.
49. Cressman D.E., Diamond R.H., Taub R. Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration. // *J. Hepatology*, 1995, V.21, N.5, p.1443-1449.
50. Deng L., Lin-Lee Y. C., Claret, F. X., and Kuo, M. T. 2-Acetylaminofluorene up-regulates rat *mdr1b* expression through generating

- reactive oxygen species that activate NF-kappa B pathway. *J. Biol. Chem* 276: 413, 2001.
51. Derenzini M., Pession-Brizzi D., Bonetto E., Novello F. Relationship between ultrastructure and function of hepatocyte chromatin; a study with adrenalectomized rats cortisol administration.// *J. of Ultrastructure Res.* 1979, V.67, p.161-179
52. Diaz-Cil J., Eskartin P., Garcia-Canero R., Trilla C., Veloso J., Sanchez G., Moreno-Caparros A., Enrique de Salamanka C., Loson R., Gavilanes J., Garsia-Segura J. Purification of a liver DNA synthesis promoter from plasma of partially hepatectomized rats.// *Biochem. J.* 1986, V.235, p.49-59.
53. Diehl AM, Rai RM. Liver regeneration 3: regulation of signal transduction during liver regeneration. *FASEB J* 1996;10:215-227.
54. Dzidziguri D.V., Chelidze P.V., Kokrashvili Z.N., Shavlakadze T., Tumanishvili G.D. Is expression of genes regulating cell proliferation in regenerating liver cortisol dependent?// AIRR conference at Cologne, 1997, Germany, p.10.
55. Dzidziguri D.V., Chelidze P.V., Kokrashvili Z.N., Shavlakadze T., Tumanishvili G.D. Is expression of genes regulating cell proliferation in regenerating liver cortisol dependent?// AIRR conference at Cologne, 1997, Germany, p.10
56. Dzidziguri D.V., Chelidze P.V., Zarandia M.A., Cherkezia E.O., Tumanishvili G.D. The transcriptional and ultrastructure of various nucleolar types isolated from normal and partially hepatectomized rat hepatocytes.// *J.Epith.Cell Biol.*, 1994, V.3, p.240-246.
57. Fausto N, Laird AD, Webber EM. Liver regeneration. 2. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration. *FASEB J* 1995;9:1527-1536.
58. Fausto N. Liver regeneration // *Journal of Hepatology*, 2000, N.32, p.19-31

59. Fernández, L., Boada L. D., Luzardo O. P., Zumbado M., López A., Díaz-Chico B. N., Chirino R. [³H]Dexamethasone binding activity in liver microsomes is modulated differently by 17-alkylated androgens and testosterone in vivo. *Pharmacol. Toxicol.* 77: 264-269, 1995.
60. FitzGerald M. J., Webber E. M., Donovan J. R., Fausto N. Rapid DNA binding by nuclear factor kappa B in hepatocytes at the start of liver regeneration. *Cell. Growth Differ.* 6: 417, 1995.
61. Francavilla A, Zeng Q, Polimeno L, et al. Small-for-size liver transplanted into larger recipient: a model of hepatic regeneration. *Hepatology* 1994;19:210-216.
62. Gerlyng, P., Abyholm A., Grotmol T., Erikstein B., Huitfeldt H. S., Stokke T., Seglen P. O. Binucleation and polyploidization patterns in developmental and regenerative rat liver growth. *Cell Prolif.* 1993, 26: 557-565.
63. Geschwind I., Alfert M., Schooley C. The effect of thyroxine and growth hormone on liver polyploidy. *Biol. Bull.* 118: 66-69, 1960.
64. Gordon G.J., Coleman W.B., Hixson D.C., Grisham J.M. Liver regeneration in rats with retrorsine-induced hepatocellular injury proceeds through a novel cellular response// *American Journal of Pathology.* 2000, N.16(2), p.607-19.
65. Hallahan D.E., Dunphy E., Virudachalam S., Sukhatme V.P., Kufe D.W., Weichselbaum R.R. C-jun and Egr-1 participate in DNA synthesis and cell survival in response to ionizing radiation exposure// *Jurn. of Biol. Chemistry*, 1995, V.270. N.51. p.30303-30309.
66. Haskill S., Beg A. A., Tompkins S. M., Morris J. S., Yurochko A. D., Sampson-Johannes A., Mondal K., Ralph P., Baldwi, A. S., Jr. Characterization of an immediate-early gene induced in adherent monocytes that encodes I kappa B-like activity. *Cell* 65: 1281, 1991.

67. Hayata A., Takeuchi E., Nagino M., Yoshida Sh., Nimura Y. Hepatocyte Growth Factor Concentration in Rat Bile Is Affected by Hepatic Resection Volume and External Biliary Drainage // *Journal of Surgical Research*, Vol. 85, pp.71-76, 1999.
68. Higgins G.M., Anderson R. M. Experimental pathology of liver 1. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal.// *Ama Arch. Pathol.*, 1931, V.12, p.186-202.
69. Higuchi H., Gores G.J. Bile acid regulation of hepatic physiology IV. Bile acid and death receptors *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* Vol.284, pp734-738. 2003
70. Holterman A.X. L., Tan Y., Kim W., Yoo K. W., Costa R. H. Diminished hepatic expression of the HNF-6 transcription factor during bile duct obstruction *Hepatology* 35, 2002, pp.1392-1399.
71. Iamuro Y., Nishiura T., Hellerbrand C., Behrns Ke., Schoonhoven R., Grisham JW. NF κ B prevents apoptosis and liver dysfunction during liver regeneration *J. Clin Invest* 1998, 101:802-811.
72. Iimuro Y., Nishiura, T., Hellerbrand, C., Behrns, K. E., Schoonhoven, R., Grisham, J. W., and Brenner, D. A. NF κ B prevents apoptosis and liver dysfunction during liver regeneration. *J. Clin Invest.* 101: 802, 1998.
73. Itoh H., Yagi M., Fushida S., Tany T., Shimizu K., Miwa K. Activation of immediate early gene, c-fos, and c-jun in the rat small intestine after ischemia/reperfusion// *Transplantation*, 2000 V.69(4), p.598-604.
74. Jansen P.L., Muller M., Strum E. Genes and Cholestasis // *Hepatology* 2001, Vol.34, pp. 1067-1073/
75. Jacquemin E, DE Vree J.M., Cresteil D., Sokal E.M., Strum E., Dumont M., Scheffer G.L. et. al. //The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency: from neonatal cholestasis of adulthood // *Gastroenterology* 2001; 120:1448-1458).

76. Johnstone JMS., Lee EG., A quantitative assessment of the structural changes in the rat's liver following obstruction of the common bile duct *Br J Exp Pathol* 1976, 57:85-94
77. Joshi-Barve S. S., Rangnekar V. V., Sells S. F., Rangnekar V. M. Interleukin-1-inducible expression of gro-beta via NF-kappa B activation is dependent upon tyrosine kinase signaling. *J. Biol. Chem.* 268: 18018, 1993.
78. Jung D., Kullak-Ublick G. A. Hepatocyte nuclear factor 1 α : A key mediator of the effect of bile acids on gene expression *Hepatology*, 2003, 37(3): 622-631
79. Kanno H, Abe T, Saito T, Tsuchiya T, Miyazawa M, Suzuki M, Ishii S, Motoki R, Gotoh M Induction of immediate early genes after partial hepatectomy in cholestatic liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2001;8(3):259-67
80. Kasten F.N. Auramine O-SO₂, a highly fluorescent Shiff-type reagent for Dna in the Feulgen reaction.// *J. Histochem. Cytochem.* 1961. V.9. p.599.
81. Kelly-Loughnane N., Sabla G. E., Ley-Ebert C, Aronow B. J., Bezzera J. A Independent and overlapping transcriptional activation during liver development and regeneration in mice. *Hepatology*, 2002, 35: 525-534.
82. Kim Y-M, deVera M., Watkins S., Billiar T. Nitric oxide protects cultured rat hepatocytes from tumor necrosis factor α -induced apoptosis by inducing heat shock protein 70 expression. *J. Biol. Chem.* 272: 1402, 1997.
83. Kimura F., Miyazaki M., Itoh H. Effects of biliary obstruction on hepatic deoxyribonucleic acid and protein synthesis after partial hepatectomy *Hepatogastroenterology*, 1997,44:501-507
84. Koerber K., Sass G., Kiemer A. K., Vollmar A. M., Tiegs G. In vivo regulation of inducible no synthase in immunemediated liver injury in mice. *Hepatology* 36: 1061, 2002.
85. Koniaris L.G, McKillop I.H, Schwartz S.I, Zimmers T. A, Liver Regeneration *J Am Coll Surg* 2003,197(4):634-659

86. Kountouras J., Boura P., Lygidakis NJ. Liver regeneration after hepatectomy // *Hepatogastroenterology* 2001, 48(38) 556-562
87. Leffert H. L., Koch K. S., Moran T., Rubalcava B. Hormonal control of rat liver regeneration. *Gastroenterology* 1979, 76: 1470-1482.
88. Leuchtenberger C., Helweg-Larsen H., Murmanis L.. Relationship between pituitary dwarfism and the formation of multiple DNA classes in mice. *Lab. Invest.* 3: 245-260, 1954.
89. Li W., Liang X., Kellendonk C., Poli V., Taub R. STAT3 contributes to the mitogenic response of hepatocytes during liver regeneration. *J. Biol Chem* 277: 28411, 2002.
90. Liao Y., Shikapwashya O.N., Shteyer E., Dieckgraefe B.K., Hruz P.W., Rudnick D.A., Delayed Hepatocellular Mitotic Progression and Impaired Liver Regeneration in Early Growth Response-1-deficient Mice *J. Biol. Chem.*, 2004, 279 (41): 43107-43116.
91. Lodish H; Berk A; Zipursky S.L; Matsudaira P; Baltimore D; Darnell J.E. *Molecular Cell Biology*.// W. H. Freeman and Company., New York, 2000. -1200ps
92. López-Guerra, A., Chirino R., Navarro D., Fernández L., Boada L. D., Zumbado M., Diaz-Chico B. N. Estrogen antagonism on T₃ and growth hormone control of the liver microsomal low-affinity glucocorticoid binding site (LAGS). *J. Steroid Biochem.* 63: 219-228, 1997.
93. Lu M. H., Hinson W. G., He D., Turturro A., Hart R. W. Hepatic nuclear ploidy distribution of dietary-restricted mice. *Environ. Health Perspect.* 101: 229-234, 1993
94. Mayol X., Neal G. E., Davies R., Romero A., Domingo J. Ethinyl estradiol-induced cell proliferation in rat liver. Involvement of specific populations of hepatocytes. *Carcinogenesis* 13: 2381-2388, 1992
95. Michalopoulos G.K., DeFrances M.C. Liver regeneration// *Science*, 1997, V.276(5309), p.60-66.

96. Miyahara T., Schrum L., Rippe R. Xiong S., Yee Hf Jr., motomura K. Peroxisoma proliferator-activated receptors and hepatic stellate cell activation J. Biol. Chem. 2000, 275:35715-35722.
97. Miyoshi H, Rust C, Roberts PJ, Burgart LJ, Gores GJ. Hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in the mouse involves Fas. Gastroenterology. 1999, 117(3):669-77.
98. Miyoshi H., Rust C., Guicciardi ME., Gores GJ. NF-kappaB is activated in cholestasis and functions to reduce liver injury Am J Pathol., 2001, 158(3):967-75
99. Modebadze I., Shavlakadze T., Gurushidze M., Kokrashvili Z., Dzidziguri D. Study of the Peculiarities of Growth Controlling Genes Expression in the Hepatocytes of White Rats under Conditions of Hormonal disbalance./ Bulletin of the Georgian Academy of Sciences, 2001, 164(3):524-526.
100. Monder C. Characterization and Biological Significance of Corticosteroid 11b-Dehydrogenase, the Oxidizing Component of 11b-Hydroxysteroid Dehydrogenase.// Steroid formation, Degradation, and Action in Peripheral Tissues, edited by L. Castagnetta, S.D'Aquino, F. Labrie, and H.L. Bradlow, Annals of the New York Academy of Science, 1990, 595:26-39.
101. Monder C. Characterization and Biological Significance of Corticosteroid 11b-Dehydrogenase, the Oxidizing Component of 11b-Hydroxysteroid Dehydrogenase.// Steroid formation, Degradation, and Action in Peripheral Tissues, edited by L. Castagnetta, S.D'Aquino, F. Labrie, and H.L. Bradlow, Annals of the New York Academy of Science, 1990, V.595, p.26-39.
102. Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. J Pathol 1997, 181:257-266.

103. Nadal C., Zajdela F. Polyploidie somatique dans le foie du rat. I. Le rôle des cellules binucleés dans la genèse des cellules polyploïdes. *Exp. Cell Res.* 1966, 42: 99-116.
104. Nagino M, Nimura Y, Kamiya J, et al. Changes in hepatic lobe volume in biliary tract cancer patients after right portal vein embolization. *Hepatology* 1995;21:434-439.
105. Nakeeb A., Pitt HA. The role of preoperative biliary decompression in obstructive jaundice *Hepatogastroenterology* 1995, 42:332-337.
106. Ogawa A, Tagawa T, Nishimura H, Yajima T, Abe T, Arai T, Taniguchi M, Takeda K, Akira S, Nimura Y, Yoshikai Y. Toll-like receptors 2 and 4 are differentially involved in Fas-dependent apoptosis in Peyer's patch and liver at an early stage after bile duct ligation in mice. *Gut.* 2006, 55(1):105-13.
107. Ohtsubo K., Nomaguchi T. A. A flow cytometric study on age-dependent ploidy class changes in mouse hepatocyte nuclei. *Mech. Ageing Dev.* 36: 125-131, 1986.
108. Paumgartner G., Beuers U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: Mechanisms of action and therapeutic use revisited *hepatology* 2002;36(3):525-531
109. Popper H. General pathology of the liver: light microscopic aspects serving diagnosis and interpretation *Semin Liver Dis* 1986;6:175-184
110. Pourquier P., Montaudon D., Huet s., Larrue A., Clary A., Robert J. Doxorubicin-induced alterations of c-myc and c-jun gene expression in rat glioblastoma cells: role of c-jun in drug resistance and cell death.// *Biochem. Pharmacol.* 1998, 55, N.12, p.1963-1971.
111. Roesel J., Rigsby D., Bailey A., Alvarez R., Sanchez J.D., Campbell V., Shrestha K., Miller D.M. Stimulation of protooncogene expression by partial hepatectomy is not tissue-specific.// *Oncogene Res.* 1989, V.5, I.2.
112. Sadovsky P.P., Stern J.W. // *Cell Biol.* 1968, V.37, p.147-164.

113. Saeter, G., Schwarze P. E., Nesland J. M., Juuls N., Pettersen E. O., Seglen P. O. The polyploidizing growth pattern of normal rat liver is replaced by divisional, diploid growth in hepatocellular nodules and carcinomas. *Carcinogenesis* 1988, 9: 939-945.
114. Saeter, G., Schwarze P. E., Seglen P. O. Shift from polyploidizing to nonpolyploidizing growth in carcinogen-treated rat liver. *J. Natl. Cancer Inst.* 1988 80: 950-957.
115. Sakuda S., Tamura S., Yamada A., Miyagawa J., Yamamoto K., Kiso S., Ito N., Imanaka K., Wada A., Naka T., Kishimoto T., Kawata S., Matsuzawa Y. Activation of signal transducer and activator transcription 3 and expression of suppressor of cytokine signal 1 during liver regeneration in rats. *J. Hepatol* 36: 378, 2002.
116. Sakuda Sh., Tamura Sh., Yamada A., Miyagawa Ji., Yamamoto K., kiso Sh., Ito N., Imanaka K., Wada A., Naka T., Kishimoto T., Kawata S., Matsuzawa Y. Activation of signal transducer and activation transkription and expression of suppressor of cytokine signal during liver regeneration// *J.of Hepatology*, 2002 36(3):378-384
117. Scarce LM, Lee J, Naji L, Greenbaum L, Cressman DE, Taub R Rapid activation of latent transcription factor complexes reflects initiating signals in liver regeneration.// Department of Genetics, Howard Hughes Medical Institute, Univ Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA 19104, USA. *JN: Cell Death and Diferentiation*, 1996, V.3, N.1, p.47-55.
118. Schmiedeberg P., Biempica L., CzaJa M.J. Timing of protooncogene expression varies in toxin-induced liver regeneration.// *J. Cell Physiol.* 1993, V.154, p. 386-390.
119. Schmitz, J., Weissenbach, M., Haan, S., Heinrich, P. C., Schaper, F. SOCS3 exerts its inhibitory function on interleukin-6 signal transduction through the SHP2 recruitment site of gp130. *J. Biol. Chem* 275: 12848, 2000.

120. Scudeletti M., Castagnetta L., Imbimbo B., New Glucocorticoids Mechanisms of Immunological Activity at the Cellular Level and in the Clinical Setting// Steroid Formation, Degradation, and Action in Peripheral Tissues, edited by L. Castagnetta, S.d'Aquino, F. Labrie, and H.L. Bradlow, Annals of the New York Academy of Science, V. 595, 1990.
121. Sewnath M. E, Van Der Poll T., Van Noorden C.J. F., Ten Kate F.J. W., Gouma D.J. Endogenous Interferon γ Protects Against Cholestatic Liver Injury in Mice *hepatology* 2002;36:1466-1477
122. Singh I.S., Luo Z., Kozlowski M.T., Erlichman J. Association of USF and c-Myc with a helix-loop-helix consensus motif in the core promoter of the murine type II beta regulatory subunit gene of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase.// *Molecular Endocrinology*, 1994, V.8, N.9, p.1163-1174.
123. Slott Ph. A., Liu M. H., tavolini N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat // *gastroenterology* 1990, 99(2):466-471
124. Slott Ph. A., Liu M. H., tavolini N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat // *gastroenterology* 1990, Vol. 99 No 2, pp. 466-471.
125. Stauffer A.T. Rochat M.K, Dick B, Frey F.J, Odermatt A. Chenodeoxycholic acid and deoxycholic acid inhibit 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and cause cortisol-induced transcriptional activation of the mineralocorticoid receptor. *J Biol Chem.* 2002, 277(29):26286-26292.
126. Steiner JW, Carruthers JK., Kalifat SR., The ductular cell reaction of rat liver in extrahepatic cholestasis I Proliferated biliary epithelial cells *Exp Mol Pathol* 1962, 1:162-185

127. Strokes J.B., Sigmund R.D. Regulation of renal mRNA by dietary NaCl and steroids: organ, tissue and steroid heterogeneity. *Am. J. Physiology (Renal Physiology)* 1998, 5:0057C.
128. Swartz F. J., Sams B. F. Polyploidization of rat liver following sex hormone administration to castrate and intact rats. *Anat. Rec.* 161: 219-225, 1961.
129. Taub R. Transcriptional control of liver regeneration.// Department of Genetics and Medicine, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, USA, J. FASEB, 1996, V.10, p.413-427.
130. Torres S., Díaz B. P., Cabrera J.J., Díaz-Chico J.C., Díaz-Chico B. N., López-Guerra A. Thyroid hormone regulation of rat hepatocyte proliferation and polyploidization. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1999; 276:(1):155-163.
131. Tracy TF Jr, Goerke ME, Bailey PV, Sotelo-Avila C, Weber TR. Growth-related gene expression in early cholestatic liver injury. *Surgery* 1993, 114(3):532-537
132. Tracy TF Jr., Bailey PV., Goerke ME., Sotelo-Avila C., Weber TR. Cholestasis without cirrhosis alters regulatory liver gene expression and inhibits hepatic regeneration. *Surgery* 1991, 110:176-183.
133. Van Thiel DH, Gavaler JS, Kam I, et al. Rapid growth of an intact human liver transplanted into a recipient larger than the donor. *Gastroenterology* 1987;93:1414-1419.
134. Vendemiale G., Grratagliano I., Lupo L., Memeo V., Altomare E. Hepatic oxidative alterations in patients with extra-hepatic cholestasis. Effect of surgical drainage.// *J.of Hepatology*, 2002, 37(5):601-605
135. Vickers A. E. M., Lucier G. W. Estrogen receptor, epidermal growth factor receptor and cellular ploidy in elutriated subpopulations of hepatocytes during liver tumor promotion by 17- β -ethinylestradiol in rats. *Carcinogenesis* 12: 391-399, 1991

136. Vickers A. E. M., Nelson K., McCoy Z., Lucier G. W. Changes in estrogen receptor, DNA ploidy, and estrogen metabolism in rat hepatocytes during a two-stage model for hepatocarcinogenesis using 17- β -ethinylestradiol as the promoting agent. *Cancer Res.* 49: 6512-6520, 1989
137. Wang H., Vohra BP., Zhang Y., Heuckeroth RO Transcriptional profiling after bile duct ligation identifies PAI-1 as a contributor to cholestatic injury in mice *Hepatology* 2005, 42 (5):1099-1108
138. Wang J, Wang H, Xiao B, Zou S.Roles of protein kinase C and fructose in hepatic injury caused by obstructive jaundice. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2005, 25(4):435-8
139. Wang J, Wang H, Xu L, Zou S Hepatic injury in rats with obstructive jaundice: roles of the protein kinase C signal pathway and cytoprotection of fructose *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2005,4(4):577-581.
140. Xu M, Han B, Xue L, Gong J. [Ursodeoxycholic acid promotes liver regeneration after partial hepatectomy in bile duct obstructive rats] *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2002 Apr;10(2):103-105;
141. Yamano T., Hirai R., Hato Sh., Uemura T., Shimizu N. Delayed liver regeneration with negative regulation of hepatocyte growth factor and positive regulation of transforming growth factor- β 1 mRNA after portal branch ligation in biliary obstructed rats //*Surgery* 2002;131:163-71
142. Yamano T., Hirai R., Hato Sh., Uemura T., Shimizu N. Delayed liver regeneration with negative regulation of hepatocyte growth factor and positive regulation of transforming growth factor- β 1 mRNA after portal branch ligation in biliary obstructed rats //*Surgery* 2002;131:163-71.

|