

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

სალომე კიპაროიძე

HGF/C-Met/ERK1/2 სასიგნალო გზა და ჰეპატოციტების
პოლიპლოიდიზაცია თეთრი ზრდასრული ვირთაგვების ქოლესტაზურ
ღვიძლში

სამეცნიერო კვლევითი პროექტი-1

ხელმძღვანელი:

ბიოლოგიის მეცნ. დოქტორი,

პროფესორი დიანა ძიძიგური

თბილისი

2025



აბსტრაქტი

ღვიძლის რეგენერაციის უნარს — აღადგინოს დაკარგული ან დაზიანებული ქსოვილის მასა და ფუნქცია რეზექციაზე საპასუხოდ — უძველესი დროიდან სწავლობენ, თუმცა ის დღემდე აქტუალურ პრობლემად რჩება თანამედროვე ბიოლოგიასა და მედიცინაში. მიუხედავად თანამედროვე ექსპერიმენტული და კლინიკური მონაცემების სიმრავლისა, ორგანოსა და/ან ინდივიდუალური უჯრედული მექანიზმების კონტროლში ჩართული სასიგნალო გზები ჯერ კიდევ ბოლომდე არ არის დაზუსტებული. ღვიძლის რეგენერაცია, რომელიც ძირითადად სამი თანმიმდევრული პროცესის (პროლიფერაცია, პოლიპლოიდია და ჰიპერტროფია) მეშვეობით ხორციელდება, ზოგიერთი პათოლოგიის დროს (ქოლესტაზური ღვიძლი) იწყება პარენქიმული უჯრედების პოლიპლოიდიზაციით, თუმცა კონკრეტული სასიგნალო გზა, რომელიც ამ პროცესის ინიცირებას იწყებს, ჯერჯერობით დაუდგენელია. მაგალითად, ძირითადი სასიგნალო გზა HGF/C-Met/ERK1/2, რომელიც პასუხისმგებელია პროლიფერაციასა და დიფერენციაციაზე, ჩართულია თუ არა პოლიპლოიდიზაციის პროცესში არ არის ცნობილი. წარმოდგენილი კვლევის მიზანი იყო გვეჩვენა, ქოლესტაზურ ღვიძლში პოლიპლოიდური უჯრედების წარმოქმნის პროცესში ჩართულია თუ არა ERK1/2 სასიგნალო გზა.

იყო ERK1/2 სასიგნალო გზის როლის შესწავლა პოლიპლოიდური უჯრედების წარმოქმნის პროცესში ქოლესტაზური ღვიძლის პირობებში.

კვლევის ობიექტი და მასალა: საკვლევ ობიექტად შერჩეული იყო ზრდასრული თეთრი ვირთაგვები (145-160გ). ქოლესტაზურ ღვიძლის მოდელი მიღებული იყო ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებით. პოლიპლოიდური უჯრედების გამრავლების სასიგნალო გზის დასადგენად გამოყენებული იყო C-Met რეცეპტორის ინჰიბიტორი (PHA665752) და MEK1/2 სასიგნალო გზის ინჰიბიტორი (PD98059).

მეთოდები: ჰეპატოციტების პროლიფერაციული აქტივობა შეფასდა კოლხიციტინის მიტოზური ინდექსის საშუალებით, ხოლო ჰეპატოციტების პლოიდობის ცვლილებები გაანალიზდა ფიოლგენის შეღებვითა და ImageJ პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით.

შედეგები: გამოკვლევებით დადგინდა, რომ HGF რეცეპტორის დათრგუნვა მნიშვნელოვნად ამცირებდა ჰეპატოციტების მიტოზურ აქტივობას ქოლესტაზურ ვირთაგვებში, თუმცა პოლიპლოიდიზაციაზე გავლენა არ ჰქონია, რაც მიუთითებს,

რომ ღვიძლი ფუნქციურ მოთხოვნებზე რეაგირებს HGF/C-Met/ERK1/2 სიგნალიზაციის გზის აქტივაციით პროლიფერაციის სტიმულაციისთვის. ამის საპირისპიროდ, MEK1/2-ის ინჰიბიცია ქოლესტაზურ ცხოველებში იწვევდა დიპლოიდური (2c) უჯრედების მატებას, ორბირთვიანი ტეტრაპლოიდური (2c×2) უჯრედების შემცირებას და არ ფიქსირდებოდა მონონუკლეული ან ბინუკლეული ოქტაპლოიდური (8c, 4c×2) უჯრედები.

დასკვნა: ქოლესტაზის საწყის ეტაპზე, რომელიც გამოწვეულია ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებით, ღვიძლი რეაგირებს გაზრდილ ფუნქციურ მოთხოვნებზე, მასის დანაკარგის გარეშე, ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციის გზით. აღნიშნული პროცესი ინიცირდება Tpl2-MEK-ERK სიგნალიზაციის გზის აქტივაციით.

საკვანძო სიტყვები: ქოლესტაზური ღვიძლი, პოლიპლოიდიზაცია, რეგენერაცია, ERK1/2 სიგნალიზაციის გზა.

შესავალი

მრავალ სასიცოცხლო ფუნქციასთან ერთად, ღვიძლს, როგორც ცნობილია, სხვა ორგანოებთან შედარებით, მაღალი რეგენერაციის უნარი გააჩნია. მიუხედავად ამისა, ხერხემლიანი ცხოველებისა და ადამიანის მნიშვნელოვან ჯირკვლოვან ორგანოს რეგენერაციის მოლეკულური და უჯრედული მექანიზმები ბოლომდე არ არის დადგენილი და ამდენად, დღემდე აქტიური შესწავლის საგანს წარმოადგენს. აღნიშნული მექანიზმების ცოდნას უდიდესი მნიშვნელობა აქვს თანამედროვე კლინიკური მედიცინისთვის, რადგან დადგენილია, რომ სხვადასხვა დაავადების დროს, ორგანოს განახლების უნარი ყოველთვის არ არის საკმარისი ფუნქციების სრულად აღდგენისთვის. ღვიძლის რეგენერაციის სფეროში ახალი კვლევების წარმოების ინიცირება განპირობებულია ასევე, რიგ შემთხვევაში უახლესი და ამავე დროს, წინააღმდეგობრივი სამეცნიერო მონაცემების არსებობითაც. ასე მაგალითად, დადგენილად ითვლება, რომ ღვიძლის რეგენერაცია მიმდინარეობს სამი ძირითადი პროცესით, ესენია: პროლიფერაცია, პოლიპლოიდია და ჰიპერტროფია [1,2.] აღნიშნული პროცესების რეგულაცია რამდენიმე სასიგნალო გზით ხორციელდება, რომელთა აქტივაცია სხვადასხვა ზრდის ფაქტორით ინიცირდება [3,4]. უახლესი გამოკვლევებით კი მოპოვებულია შედარებით მწირი ინფორმაცია იმის შესახებ, რომ ორგანოს განახლება ყოველთვის არ ხდება ერთდროულად ზემოთ ხსენებული სამივე მექანიზმით. ასე მაგალითად, ალიმენტარული დისლიპიდემიის მოდელზე ნაჩვენებია, რომ, ჰეპატოგენური რაციონის გამოყენების ხანგრძლივობასა და

დაზიანების ხარისხზე დამოკიდებული რეგენერაციის რომელი მექანიზმით მოხდება ორგანოს განახლება. კერძოდ, ნაჩვენებია, რომ საწყის ეტაპზე ქსოვილის განახლება ძირითადად ღვიძლის პარენქიმული უჯრედების პლოიდობის ზრდის ხარჯზე მიიღწევა [5]. პოლიპლოიდიზაციის გზით, უჯრედების რაოდენობრივი მატების გარეშე, მიმდინარეობს ასევე, განახლების პროცესი ვირთავას ქოლესტაზურ ღვიძლში აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე [6]. ტრავმის საპასუხოდ დნმ-ის პლოიდობის ზრდა აღწერილია აგრეთვე, მუშუმწოვრების სხვადასხვა ორგანოს (გული, ღვიძლი, რქოვანა) ქსოვილებშიც [7]. აღსანიშნავია ასევე, რომ ღვიძლის რეპეჯიის შემდეგ ციკლინ დამოკიდებული კინაზა I-ის ინაქტივაციით გამოწვეული მიტოზის ბლოკირება, ვერ ახდენს ღვიძლის ფუნქციის აღდგენის შეფერხებას და მიმდინარეობს პოლიპლოიდიზაციით, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ რეგენერაცია ამ შემთხვევაშიც მიმდინარეობს უჯრედების დაყოფის გარეშე [8].

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარეობს, რომ ზოგიერთი პათოლოგიის დროს ღვიძლის განახლება პარენქიმული უჯრედების პოლიპლოიდიზაციით იწყება. ამავე დროს, ჯერ კიდევ არ არის ბოლომდე ცნობილი ღვიძლის სხვადასხვა პათოლოგიის დროს განსხვავებულია, თუ, ერთი და იგივე სასიგნალო გზა და/ან გზები უზრუნველყოფს გენომის ჯერადად ზრდას. რეგენერაციის დროს, როგორც მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ მიტოგენით აქტივირებადი პროტეინ კინაზები (MAPK). მათი მონაწილეობით ღვიძლში მიმდინარე ფოსფორილირების კასკადური რეაქციებით გაშუალებული 4 სასიგნალო გზა (ERK1/2, JNK1/2/3, p38 და ERK5) სხვადასხვა ზრდის ფაქტორით ინიცირდება. მათ შორის წამყვანი როლი ენიჭება

ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორს (HGF), რომლის C-Met რეცეპტორთან კავშირი ღვიძლში იწვევს ERK1/2 სასიგნალო გზის გააქტივებას. ნაჩვენებია, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკეტვის შედეგად გამოწვეული ქოლესტაზის დროს ღვიძლში სწორედ HGF და c-Met mRNA დონე მატულობს [9,10,11]. ამავე დროს, ჩვენს მიერ ნაჩვენები იყო, რომ სწორედ ნსს-ის გადაკეტიდან მეორე დღეს ქოლესტაზურ ღვიძლში იზრდება ჰეპატოციტების პლოიდობა [12]. გარდა ამისა, MEK1/2 და შესაბამისად ERK1/2 სასიგნალო გზა შეიძლება გააქტიურდეს ანთებითი პროცესების საპასუხოდ, რასაც არეგულირებს TPL2, რომლის უნარი გააქტიუროს p38 α და p38 δ , ნაჩვენებია ნეიტროფილებში [13].

ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, წინამდებარე სამუშაოს მიზანი იყო ქოლესტაზური ღვიძლის ექსპერიმენტულ მოდელზე პოლიპლოიდური უჯრედების წარმოქმნის პროცესში ERK 1/2 სასიგნალო გზის როლი შესწავლა.

კვლევის მასალა და მეთოდები

ქოლესტაზურ ღვიძლში ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციაში ERK1/2 სასიგნალო გზის მონაწილეობის დასადგენად ექსპერიმენტული სამუშაო შევასრულეთ ორ ეტაპად. პირველ ეტაპზე მოვახდინეთ HGF-ის რეცეპტორის (C-Met) ბლოკირება. ამ მიზნით ცხოველები დავყავით სამ ჯგუფად (თითო ჯგუფში 10 ცხოველი): I. საკონტროლო ჯგუფი- ინტაქტური ცხოველები, II. პირველი საცდელი ჯგუფი- ცხოველები, რომელთაც ჩაუტარდათ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება (4 დღე) და III. მეორე საცდელი ჯგუფი - რომელთაც ჩაუტარდათ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირება და შემდეგ ინტრაპერიტონალურად გაუკეთდათ HGF-ის C-Met რეცეპტორის ინჰიბიტორი (PHA665752) (1მგ/კგ-ზე) ოპერაციისას და შემდგომი სამი დღის განმავლობაში ყოველ დღე, დღეში ერთხელ(სულ 4-ჯერ). მასალას ვიღებდით ოპერაციიდან მე-4 დღეს.

მეორე ეტაპზე მოვახდინეთ უშუალოდ ციტოპლაზმაში არსებული MEK1/2 ინჰიბირება. ცხოველები დავყავით სამ ჯგუფად (თითო ჯგუფში 10 ცხოველი): 1. საკონტროლო ჯგუფი - ინტაქტური ვირთაგვები; 2. საცდელი ჯგუფი - ცხოველები ნსს ლიგირებიდან 48 სთ-ის შემდეგ; 3. საცდელი ჯგუფი – ცხოველები, რომელთაც ნსს ლიგირებიდან 20 სთ-ის შემდეგ ინტრაპერიტონალურად გაუკეთდათ (MEK1/2)-ის ინჰიბიტორის ინექცია (PD98059) (10 მგ/კგ-ზე).

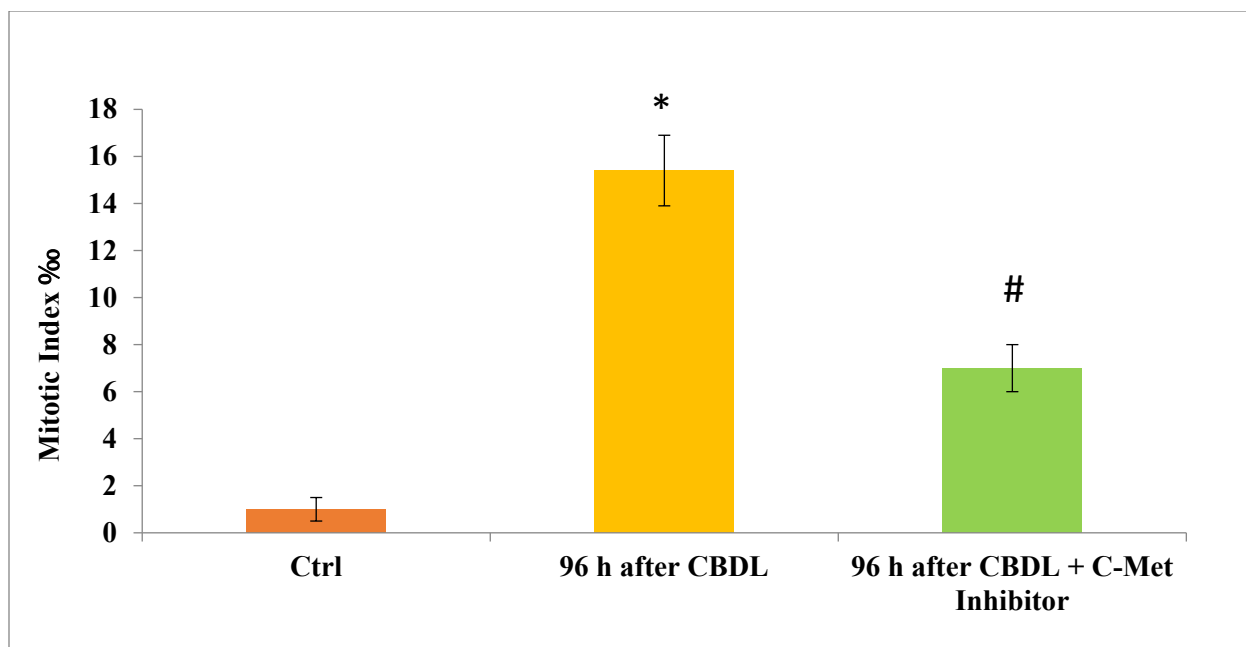
ღვიძლის ქსოვილის პროლიფერაციული აქტიურობის შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა კოლხიციური მიტოზური ინდექსის მეთოდი. როგორც საცდელი, ასევე ინტაქტური ცხოველების 1მგ/კგ კოლხიცინის ინტრაპერიტონალური ინექცია

კეთდებოდა მასალის აღებამდე 2 საათით ადრე. სინათლის მიკროსკოპში დათვლილი 5000 ჰეპატოციტიდან ისაზღვრებოდა მიტოზური უჯრედების რაოდენობა 1000 უჯრედზე გადათვლით (‰).

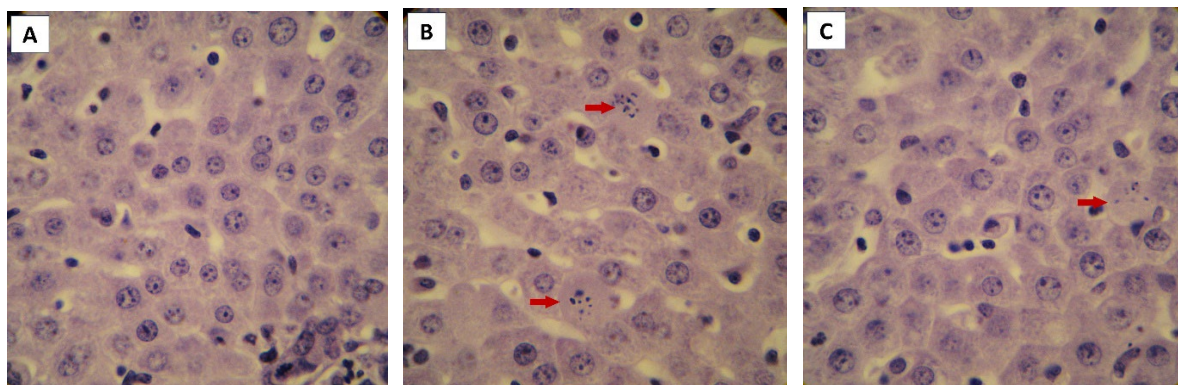
ჰეპატოციტების ნაცხების შეღებვა ხდებოდა შიფის რეაქტივით (ფიოლგენის რეაქცია). შიფის რეაქტივით შეღებილი პრეპარატების ფოტოგრაფირება ხდებოდა სინათლის მიკროსკოპში (Olimpus CZ 4040) (90X10). ინტერფერენციული ფილტრით, რომელიც მხოლოდ ერთი სიგრძის ტალღის (570ნმ) მქონე სინათლის სხივს ატარებდა. თითოეული სურათი მუშავდებოდა კომპიუტერულ პროგრამა Image J-ში.

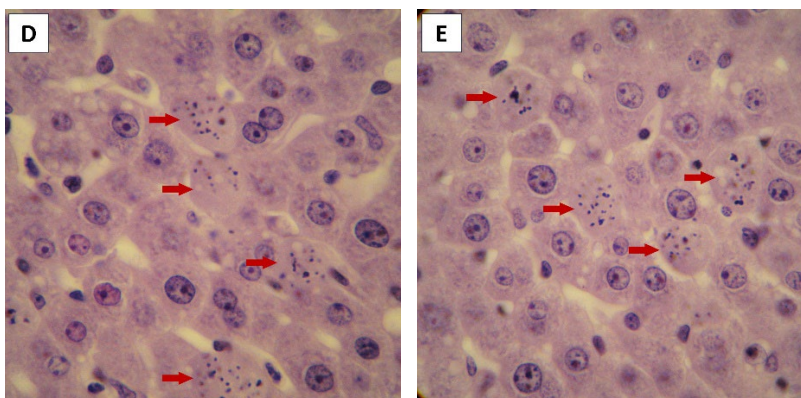
შედეგები

ექსპერიმენტების პირველ სერიაში, როგორც ზემოთ არის მითითებული, თავდაპირველად შევაფასეთ პირველი საცდელი ჯგუფის ცხოველების ღვიძლის პროლიფერაციული აქტიურობის ცვლილება ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან მე-4 დღეს. სურათზე 1, წარმოდგენილია საკონტროლო და ორი საცდელი ჯგუფის ცხოველების მიტოზური აქტიურობის ცვლილებების ამსახველი ჰისტოგრამები. აღნიშნული ჰისტოგრამების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით, პირველი საცდელი ჯგუფის ვირთაგვებში ჰეპატოციტების მიტოზური აქტიურობა მნიშვნელოვნად იზრდება და შეადგენს 15 პრომილეს. ამავე ვადაზე, როგორც სურათიდან 1 ჩანს, მეორე საცდელი ჯგუფის ცხოველებში, რომელთაც გაუკეთდათ HGF-ის C-Met რეცეპტორის ინჰიბიტორის (PHA665752) ინექციები (4 დღის განმავლობაში დღეში ერთი ინექცია) სტატისტიკურად სარწმუნოდ არის შემცირებული მიტოზური აქტიურობა პირველი საცდელი ჯგუფის ცხოველების შესაბამის მაჩვენებელთან შედარებით. კერძოდ, კოლხიცინური მიტოზური ინდექსის მაჩვენებელი დახლოებით 50%-ით არის დაქვეითებული (სურ.1, სურ 2. B, C).



სურ. 1. C-Met ინჰიბიტორის გავლენა ზრდასრული თეთრი ვირთაგვების ქოლესტაზურ ღვიძლში უჯრედების მიტოზური აქტივობის ცვლილებებზე. * $P < 0.05$ მნიშვნელოვანი ზრდა საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. # $P < 0.05$ მნიშვნელოვანი კლება ნსსლ ცხოველთა ჯგუფში 96 საათის შემდეგ.

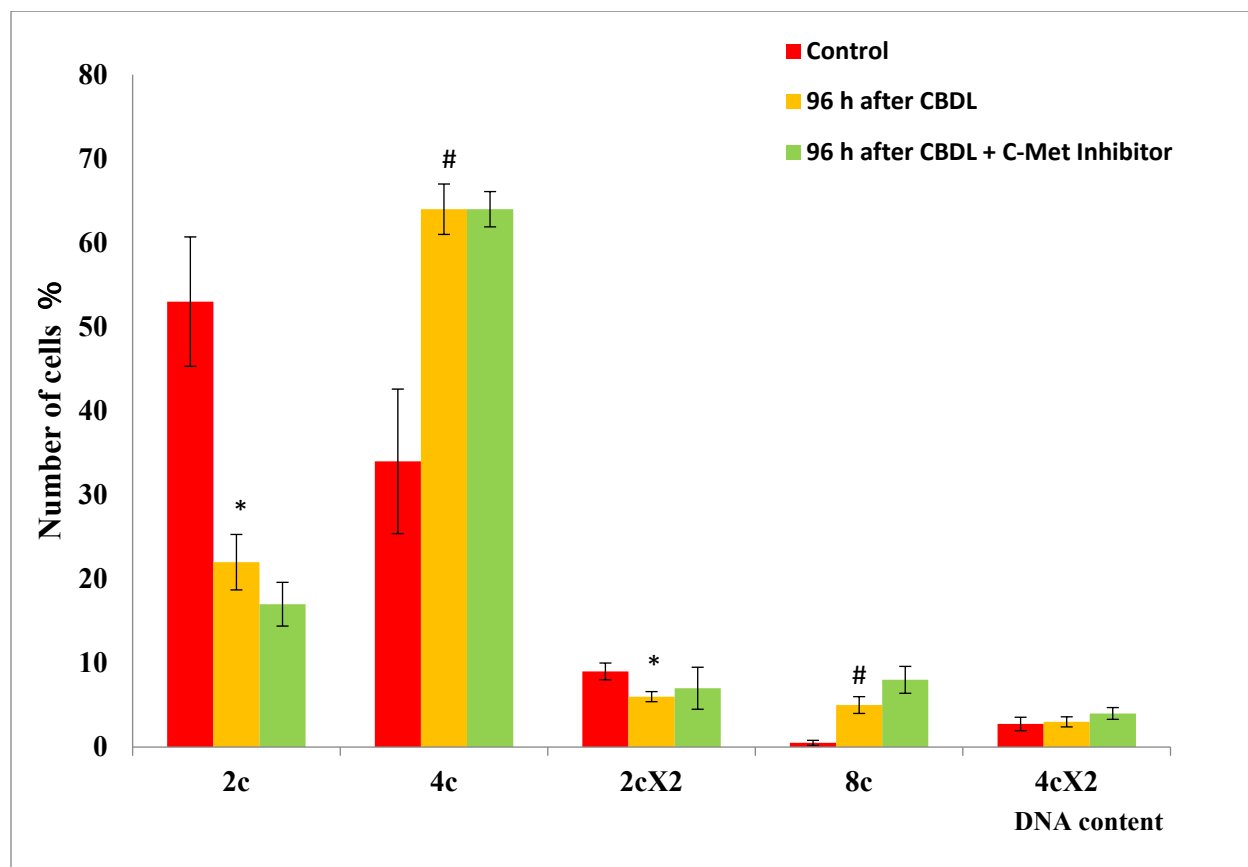




სურ. 2. საკონტროლო (ინტაქტური) და ექსპერიმენტული ცხოველების ჯგუფების ღვიძლის ქსოვილის ჰისტოარქიტექტურა. H&E. ინტაქტური ჯგუფი (A); ნსს ლიგირებიდან 96 საათის შემდეგ (B); ნსს ლიგირება+C-Met ინჰიბიტორი 96 საათის შემდეგ (C); ნსს-ის ლიგირებიდან 48 საათის შემდეგ (D); ნსს ლიგირება+ ERK1/2 ინჰიბიტორი 48 საათის შემდეგ (E); (A, B, C, D, E x 400). ისრები მიუთითებს მიტოზურ უჯრედებზე.

ქოლესტაზის პირობებში C-Met რეცეპტორის ინჰიბიტორის ინექციების საპასუხოდ ჰეპატოციტების მიტოზური ინდექსის სარწმუნო შემცირება იმაზე მიუთითებს, რომ ქოლესტაზის პირობებშიც ფუნქციურ დატვირთვას ღვიძლი პროლიფერაციის სტიმულაციის კარგად ცნობილ HGF/C-Met/ERK1/2 სასიგნალო გზის კასკადური აქტივაციით პასუხობს. ამავე დროს, ჯერ კიდევ უცნობია, იყენებს თუ არა ღვიძლი ამ პირობებში ადაპტაციის ისეთ კარგად შესწავლილ მექანიზმს, როგორიცაა პოლიპლოიდიზაცია. აქედან გამომდინარე, ექსპერიმენტების ამავე სერიაში გამოვიკვლიეთ ზემოთ აღწერილი სამივე ჯგუფის ცხოველების ღვიძლში მაღალპლოიდური უჯრედების რაოდენობრივი ცვლილებები. გამოკვლევებით დადგინდა, რომ პირველი საცდელი ჯგუფის ვირთაგვების ღვიძლში ნსს-ის

გადაკეტიდან მე-4 დღეს დაახლოებით ორჯერ მცირდება დიპლოიდური უჯრედების რაოდენობა. ამავე დროს ორჯერ იზრდება ტეტრაპლოიდური (4c) უჯრედები და მცირედ, მაგრამ სარწმუნოდ მატულობს, ასევე, ოქტაპლოიდური ჰეპატოციტების (8c) რაოდენობაც (სურ 3).

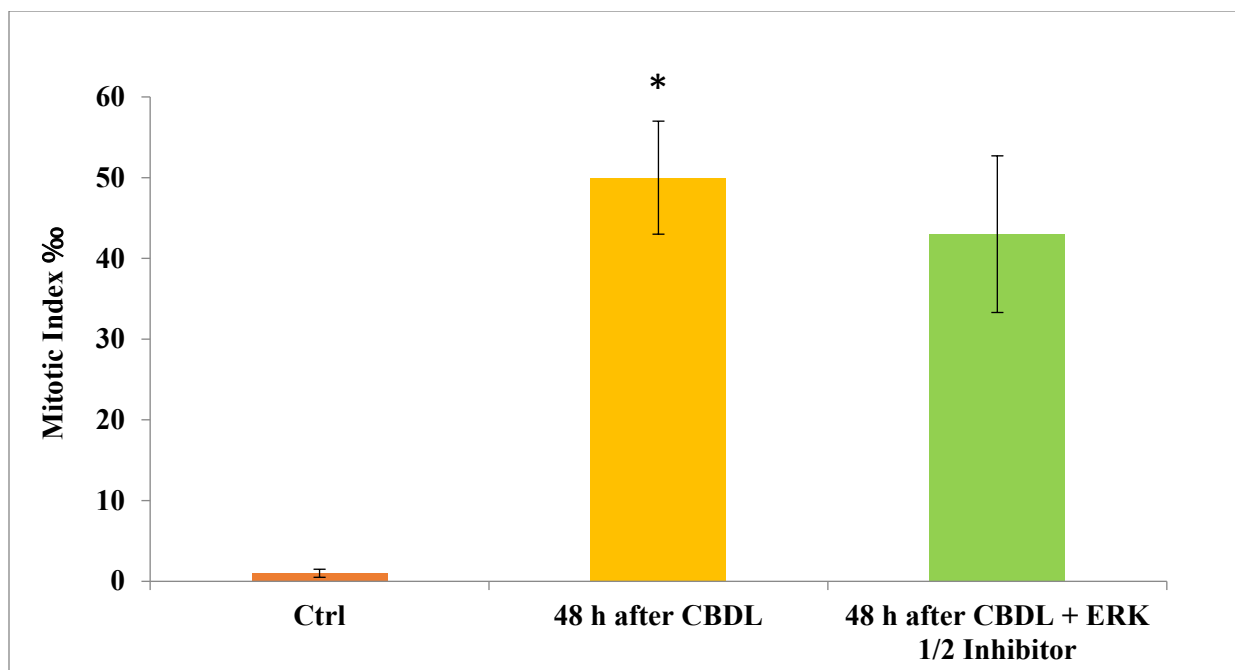


სურ. 3. C-Met ინჰიბიტორის გავლენა ზრდასრული თეთრი ვირთაგვების ქოლესტაზურ ღვიძლში ჰეპატოციტების პლოიდობის ცვლილებებზე. * $P < 0.05$ სარწმუნო კლება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. # $P < 0.05$ სარწმუნო ზრდა საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით.

მიღებული მონაცემების ანალიზის საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ HGF/C-Met/ERK1/2 სასიგნალო გზა არ არის ჩართული პოლიპლოიდიზაციის

ინიცირების პროცესში. ლიტერატურული მონაცემებით MEK/ERK სასიგნალო გზას მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება არაერთი სასიცოცხლო პროცესის რეგულაციაში [14,15]. თუმცა დღემდე უცნობია HGF-ით აქტივირებული MEK/ERK სასიგნალო გზის როლი ჰეპატოციტების პოლიპლოიდოზაციაში ქოლესტაზის დროს.

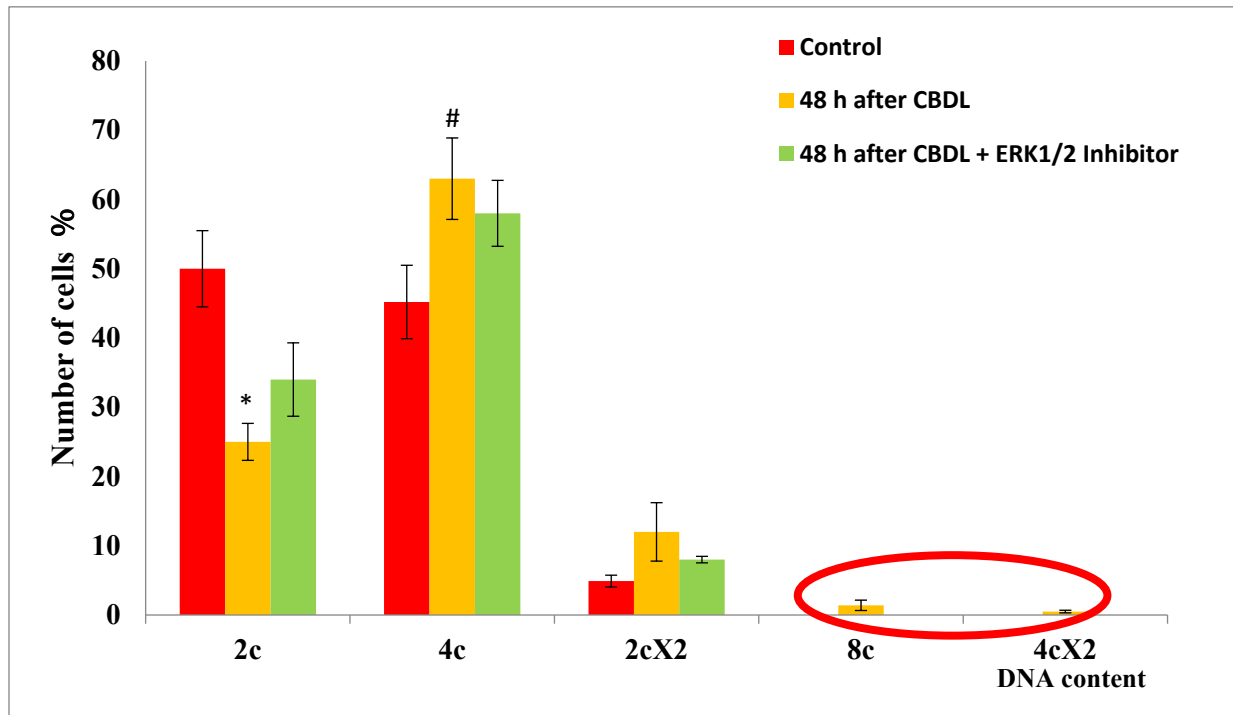
გამოთქმული მოსაზრების შემოწმების მიზნით ექსპერიმენტების მეორე სერიაში მოვახდინეთ უშუალოდ ციტოპლაზმაში არსებული MEK1/2-ის ინჰიბირება, რისთვისაც გამოვიყენეთ ინჰიბიტორი PD98059 (10 მგ/კგ–ზე). ამ შემთხვევაშიც თავდაპირველად შევაფასეთ, ქოლესტაზურ ღვიძლში ჰეპატოციტების პროლიფერაციული აქტიურობის ცვლილება კოლხიცინური მიტოზური ინდექსის განსაზღვრის გზით. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია მე-3 სურათზე. სურათიდან ნათლად ჩანს, რომ პირველი საცდელი ჯგუფის ვირთაგვებში ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკეტიდან 48-საათზე მნიშვნელოვნად იზრდება მიტოზური აქტიურობა საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით. ამასთანავე, მე-2 საცდელი ჯგუფის ცხოველებში, რომელთაც ნსს ლიგირებიდან 20 სთ-ის შემდეგ გაუკეთდათ (MEK1/2)-ის ინჰიბიტორის ინექცია, მიტოზური უჯრედების რაოდენობის ცვლილება არ გამოვლინდა (სურ.4).



სურათი 4. MEK 1/2 ინჰიბიტორის გავლენა ქოლესტაზურ ღვიძლში უჯრედების მიტოზური აქტივობის ცვლილებებზე ნადვლის საერთო სადინრის ლიგირებიდან 48 საათის შემდეგ. * $P < 0.05$ სარწმუნო ზრდა კონტროლთან შედარებით.

ექსპერიმენტების მეორე სერიაშიც პარალელურად შევაფასეთ MEK 1/2 ინჰიბიტორის ზეგავლენა ქოლესტაზურ ღვიძლში მაღალპლოიდური ჰეპატოციტების რაოდენობრივი თანაფარდობის ცვლილებაზე. გამოვლინდა, რომ აღნიშნული ინჰიბიტორის ზემოქმედების პირობებშიც კონტროლთან შედარებით ამ შემთხვევაშიც იზრდება ტეტრაპლოიდური უჯრედების რაოდენობა. აღსანიშნავია, რომ ამავე დროს მაღალპლოიდური უჯრედების რაოდენობა იზრდება ოქტაპლოიდური ერთბირთვიანი და ორბირთვიანი ჰეპატოციტების ხარჯზე. მე-3 საცდელი ჯგუფის ცხოველებში მოხდა დიპლოიდური (2c) უჯრედების გაზრდა. ორბირთვიანი

ტეტრაპლოიდური ($2c \times 2$) უჯრედების კლების ტენდენციას აქვს ადგილი. ამასთანავე, საერთოდ არ გამოჩნდა ერთბირთვიანი და ორბირთვიანი ოქტაპლოიდური ($8c$, $4c \times 2$) უჯრედები (სურ 5).



სურ. 5. MEK 1/2 ინჰიბიტორის გავლენა ზრდასრული თეთრი ვირთაგვების ქოლესტაზურ ღვიძლში პოლიპლოიდური უჯრედების რაოდენობრივი თანაფარდობის ცვლილებებზე. * $P < 0.05$ სარწმუნო კლება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. # $P < 0.05$ სარწმუნო ზრდა საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით.

განსჯა

ძუძუმწოვრების ღვიძლში მაღალპლოიდური უჯრედების წარმოქმნა, როგორც ცნობილია, მასის დაკარგვის ან დაზიანების შემთხვევაში უჯრედების პროლიფერაციას და ჰიპერტროფიასთან ერთად, ფუნქციის აღდგენის და ადაპტაციის ერთ-ერთ გზად განიხილება. აღნიშნული პროცესების რეგულაცია რამდენიმე სასიგნალო გზით ხორციელდება, რომელთა აქტივაცია სხვადასხვა ზრდის ფაქტორით ინიცირდება [3,4]. ღვიძლის რეგენერაციის წარმართველი პროცესების სასიგნალო გზები და მათი აქტივაციის მოლეკულური მექანიზმები კარგად არის შესწავლილი [16]. თუმცა არსებობს შედარებით მწირი მონაცემები იმის თაობაზე, რომ ზოგიერთი პათოლოგიის დროს, მასიის დაკარგვის გარეშე ღვიძლზე გაზრდილ ფუნქციურ დატვირთვას, ორგანო საწყის ეტაპზე, მაღალპლოიდური უჯრედების რაოდენობრივი მატებით პასუხობს [17]. უფრო მეტიც, თანამედროვე მონაცემებით, პოლიპლოიდია განიხილება, როგორც ღვიძლის დაზიანების საპასუხოდ ფუნქციის აღდგენის ერთ-ერთ გზად [3,4,5,6,7], რომელიც ზოგიერთი პათოლოგიის დროს ღვიძლის განახლების საწყის ეტაპზე მიმდინარეობს. ერთ-ერთი პათოლოგიის დროს, კერძოდ, ნსს-ის გადაკეტიდან მეორე დღეს ქოლესტაზურ ღვიძლში იზრდება ჰეპატოციტების პლოიდობა [12]. ასევე, ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკეტვის შედეგად გამოწვეული ქოლესტაზის დროს ღვიძლში სწორედ HGF დონე მატულობს [18]. HGF-ის დაკავშირება C-met რეცეპტორთან თავის მხრივ იწვევს RAS-RAF-MEK-ERK სასიგნალო გზის აქტივაციას [19]. MEK/ERK სასიგნალო გზას მნიშვნელოვანი

როლი ენიჭება უჯრედების პროლიფერაციაში, დიფერენციაში და სხვადასხვა ფიზიოლოგიური პროცესების რეგულაციაში. ამდენად, მისი დისრეგულაცია ხშირად დაკავშირებულია სიმსივნური უჯრედების ზრდის განვითარებასთან [14,15,20], მაგრამ დღემდე უცნობია HGF-ით აქტივირებული MEK/ERK სასიგნალო გზის როლი ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციაში ქოლესტაზის დროს. მონაცემებზე დაყრდნობით, რომელიც მივიღეთ თეთრი ვირთაგვას ქოლესტაზურ ღვიძლში c-Met რეცეპტორის დაბლოკვით PHA665752 ინჰიბიტორის საშუალებით, ჰეპატოციტების შემცირებული პროლიფერაცია და უცვლელი პოლიპლოიდიზაცია გვაძლევს საშუალებას ვივარაუდოთ, რომ HGF/C-Met სასიგნალო გზას გააჩნია ღვიძლის რეგენერაციის პოტენციალი ჰეპატოციტების პროლიფერაციის სტიმულირების გზით, მაგრამ არ მონაწილეობს ქოლესტაზური ღვიძლის უჯრედების პოლიპლოიდიზაციაში.

HGF-ის დაკავშირება c-Met რეცეპტორთან არეგულირებს MEK/ERK სასიგნალო გზას, რომელიც ასევე რეგულირდება მთავარი ანთებითი მედიატორის TPL2-ის მიერ [13,19]. გამომდინარე იქიდან, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირების საპასუხოდ ღვიძლში მიმდინარეობს ძლიერი ანთებითი პროცესები [10] შესაძლებელია მოხდეს Tpl2-MEK-ERK სასიგნალო გზის აქტივაცია, რაც გამოიწვევდა c-Met რეცეპტორის დაბლოკვის პირობებში MEK/ERK აქტივაციას. ყოველივე ამის გათვალისწინებით, შესაძლოა, ERK 1/2-ის აქტივაციამ უზრუნველყოს ქოლესტაზურ ღვიძლში პოლიპლოიდიზაციის ინიცირება. ჩვენი მოსაზრება დადასტურდა ექსპერიმენტით, რომელშიც გამოვიყენეთ MEK 1/2-ის ინჰიბიტორი (PD98059).

აღნიშნული ინჰიბიტორის გამოყენების შედეგად აღმოჩნდა, რომ მეორე საცდელი ჯგუფის ვირთაგვების ღვიძლში აღარ გაიზარდა ოქტაპლოიდური ერთბირთვიანი და ორბირთვიანი ჰეპატოციტები. მიღებული შედეგები მიუთითებს იმაზე, რომ სწორედ MEK/ERK სასიგნალო გზა მონაწილეობს ქოლესტაზის პირობებში მაღალპლოიდური ჰეპატოციტების წარმოქმნის ინიცირებაში.

MEK/ERK სასიგნალო გზასთან ერთად, c-Met რეცეპტორის საშუალებით ასევე რეგულირდება PI3K/Akt სასიგნალო გზა [21,22], რომლის (PI3K/Akt სასიგნალო გზა) ინაქტივაციის პირობებშიც ხდება ორბირთვიანი ტეტრაპლოიდური (2c×2) ჰეპატოციტების წარმოქმნის შემცირება [23], ე.ი., PI3K/Akt სასიგნალო გზა არეგულირებს ორბირთვიანი ტეტრაპლოიდური (2c×2) ჰეპატოციტების წარმოქმნას. გამომდინარე აქედან, ჩვენი კვლევის შედეგად მიღებული 2c×2 უჯრედების კლების ტენდენცია (არასარწმუნო) MEK/ERK სასიგნალო გზის ინჰიბირების პირობებში, შესაძლოა, PI3K/Akt სასიგნალო გზის აქტივაციამ განაპირობა.

დასკვნა

ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებით გამოწვეული ქოლესტაზის საწყის ეტაპზე, მასის დაკარგვის გარეშე გაზრდილ ფუნქციურ დატვირთვას, ღვიძლი ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციით პასუხობს, რომლის ინიციატია Tpl2-MEK-ERK სასიგნალო გზის აქტივაციით მიიღწევა.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Than NN, Newsome PN. Stem cells for liver regeneration. An International Journal of Medicine, Volume 107, Issue 6, June 2014, Pages 417–421. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcu013>
2. Sakuta, G. A., Kudriavtsev, B. N. Cellular mechanisms of cirrhotic rat liver regeneration. II. Proliferation, polyploidization and hypertrophy after partial hepatectomy. Tsitologia. 2005; 47(5), 379–387.
3. Melanie Rodrigues, Linda G Griffith and Alan Wells, Growth factor regulation of proliferation and survival of multipotential stromal cells. Stem Cell Research & Therapy 2010; doi: [10.1186/scrt32](https://doi.org/10.1186/scrt32)
4. Debopriya Choudhury, Dhruba Ghosh, Meghna Mondal, Didhiti Singha, Ramesh Pothuraju and Pushkar Malakar. Polyploidy and mTOR signaling: a possible molecular link. Cell Communication and Signaling. 2024; DOI: [10.1186/s12964-024-01526-9](https://doi.org/10.1186/s12964-024-01526-9)
5. Bivalkevich, N. V., Karaman, Yu, K. Mechanisms of rat liver regeneration in alimentary dyslipidemia. Health Medical Ecology Science. 2009; 4–5, 39–40.
6. Bakuradze, E. Characteristic of liver regeneration in condition of cholestasis (Ph.D. Thesis). Tbilisi, Georgia. 2006
7. Erin C. Bailey, Sara Kobielski, John Park, and Vicki P. Losick. Polyploidy in Tissue Repair and Regeneration. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2021; doi: [10.1101/cshperspect.a040881](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040881)
8. M. Kasim Diril, Chandrahas Koumar Ratnacaram, V. C. Padmakumar, Tiehua Duc, Martin Wasser, Vincenzo Coppola, Lino Tessarollo and Philipp Kaldis. Cyclin-dependent kinase 1 (Cdk1) is essential for cell division and suppression of DNA re-replication but not for liver regeneration. 2012; doi: 10.1073/pnas.1115201109
9. Gabrielle Westenberger, Jacob Sellers, Savanie Fernando, Sadie Junkins, Sung Min Han, Kisuk Min, Ahmed Lawan. Function of Mitogen-Activated Protein Kinases in Hepatic Inflammation. J Cell Signal. 2021; 2(3): 172–180.
10. Yoon Seok Roh, Ara Cho, Youn-Soo Cha, Suk-Heung Oh, Chae Woong Lim and Bumseok Kim. Lactobacillus Aggravate Bile Duct Ligation-Induced Liver Inflammation and Fibrosis in Mice; Toxicol. Res. 2018; doi: [10.5487/TR.2018.34.3.241](https://doi.org/10.5487/TR.2018.34.3.241)

11. Emiko Uchikawa, Zhiming Chen, Guan-Yu Xiao, Xuewu Zhang and Xiao-chen Bai. Structural basis of the activation of c-MET receptor. NATURE COMMUNICATIONS. 2021; <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24367-3>
12. Salome Kiparoidze, Nino Karumidze, Ekaterine Bakuradze, Irina Modebadze, Levan Rusishvili, Dimitri Kordzaia and Diana Dzidziguri. Study of Hepatocytes Polyploidization Peculiarities in Cholestatic Liver of Adult Rats. MCB, 2021; DOI: 10.32604/mcb.2021.015596
13. Daqi Xu, Marissa L. Matsumoto, Brent S. McKenzie, Ali A. Zarrin; TPL2 kinase action and control of inflammation; Pharmacological Research. 2018; DOI: [10.1016/j.phrs.2017.11.031](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.11.031)
14. Renee Barbosa, Lucila A. Acevedo, Ronen Marmorstein. The MEK/ERK Network as a Therapeutic Target in Human Cancer. Mol Cancer Res. 2021; doi:10.1158/1541-7786.MCR-20-0687
15. Elmira Roshani, Mohammad Amini, Souzan Najafi, Behzad Mansoori, Ahad Mokhtarzadeh, Ali Mohammadi, Parisa Lotfinejad, Mehdi Bagheri, Solmaz Shirjang, Ziba Lotfi, Yousef Rasmi, Behzad Baradaran. Interplay between MAPK/ERK signaling pathway and MicroRNAs: A crucial mechanism regulating cancer cell metabolism and tumor progression. Life Sciences. 2021; <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119499>
16. Xiao Ma, Tengda Huang, Xiangzheng Chen, Qian Li, Mingheng Liao, Li Fu, Jiwei Huang, Kefei Yuan, Zhen Wang and Yong Zeng. Molecular mechanisms in liver repair and regeneration: from physiology to therapeutics. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2025); <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02104-8>
17. Diana Dzidziguri, Ekaterine Bakuradze, Irina Modebadze, Merab Sepashvili, Giorgi Aleksanashvili, Tornike Gogolauri, Nino Kharaishvili and Manana Berulava. The Adaptive Mechanism of Liver in Response to Hyperglycemic Functional Stress in Alloxan Induced Diabetes. PROGRESS IN MEDICAL SCIENCES. 2024; DOI:doi.org/10.47363/PMS/2024(8)207
18. Salas-Silva S, López-Ramírez J, Barrera-Chimal J, Lazzarini-Lechuga R, Simoni-Nieves A, Souza V, et al. Hepatocyte growth factor reverses cholemic nephropathy associated with α -naphthylisothiocyanate-induced cholestasis in mice. Life Sci. 2022; DOI: [10.1016/j.lfs.2022.120423](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120423)
19. Yazhuo Zhang, Mengfang Xia, Ke Jin, Shufei Wang, Hang Wei, Chunmei Fan, Yingfen Wu, Xiaoling Li, Xiayu Li, Guiyuan Li, Zhaoyang Zeng and Wei Xiong. Function of the c-Met

- receptor tyrosine kinase in carcinogenesis and associated therapeutic opportunities. *Mol Cancer*. 2018; doi:10.1186/s12943-018-0796-y
20. C. Frémin and S. Meloche. From basic research to clinical development of MEK1/2 inhibitors for cancer therapy. *Journal of Hematology and Oncology*, vol. 3, article 8, 2010.
 21. Peter V. Usatyuk, Panfeng Fu, Vijay Mohan, Yulia Epshtein, Jeffrey R. Jacobson, Julian Gomez-Cambronero, Kishore K. Wary, Vytas Bindokas, Steven M. Dudek, Ravi Salgia, Joe G. N. Garcia and Viswanathan Natarajan. Role of c-Met/Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3k)/Akt Signaling in Hepatocyte Growth Factor (HGF)-mediated Lamellipodia Formation, Reactive Oxygen Species (ROS) Generation, and Motility of Lung Endothelial Cells. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* VOL. 2014; doi: [10.1074/jbc.M113.527556](https://doi.org/10.1074/jbc.M113.527556)
 22. Xiaodong Chen, Fen Tian, Peng Lun and Yugong Feng. Curcumin Inhibits HGF-Induced EMT by Regulating c-MET-Dependent PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathways in Meningioma. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021; <https://doi.org/10.1155/2021/5574555>
 23. Séverine Celton-Morizur, Grégory Merlen, Dominique Couton, Chantal Desdouets. Polyploidy and liver proliferation: central role of insulin signaling; *Cell Cycle* .2010 DOI: [10.4161/cc.9.3.10542](https://doi.org/10.4161/cc.9.3.10542)