

УДК: 611.36: 611.136.41:611.013]-092.9

Г.В. Довгаль МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРЕНАТАЛЬНОГО РОЗВИТКУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія»

Довгаль Г.В. Морфологічні та молекулярно-біологічні особливості пренатального розвитку печінки щурів // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 4. – С. 22-26.

Дослідження ембріогенезу печінки є основою для подальшого вдосконалення новітніх технологій корекції відхилень в її розвитку та лікування захворювань, розуміння процесів регенерації. Останніми роками виявлено багато спільних рис між ембріональними та патологічними процесами в печінці, зокрема в синтезі певних протеїнів. Ембріональна печінка синтезує такі ж самі протеїни, що виявляються при формуванні гепатом. Описано імуногістохімічні типи гепатоцитів протягом пренатального розвитку. Основні процеси, що відбуваються в ембріональній печінці – кровотворення, епітеліо-мезенхімна трансформація, апоптоз. Дискусійними залишаються питання про комітованість гепатоцитів та їх потенціальні можливості щодо перетворення в клітини інших типів протягом фетального періоду.

Ключові слова: печінка, пренатальний розвиток, імуногістохімічні маркери.

Довгаль Г.В. Морфологические и молекулярно-биологические особенности пренатального развития печени крыс // Украинский морфологический альманах. – 2013. – Том 11, № 4. – С. 22-26.

Исследования пренатального развития печени являются основой для дальнейшего усовершенствования новейших технологий коррекции нарушений развития и лечения заболеваний этого органа, понимания процессов регенерации. В последние годы обнаружено много общих черт между эмбриональными и патологическими процессами в печени, в частности в синтезе определенных белков. Эмбриональная печень синтезирует такие же протеины, как и гепатомы. Описаны иммуногистохимические типы гепатоцитов в течение пренатального развития. Основные процессы, происходящие в эмбриональной печени, - кровотообразование, эпителио-мезенхимная трансформация, апоптоз. Дискуссионными остаются вопросы о коммитированности гепатоцитов и их потенциальные возможности по преобразованию в клетки других типов в течение фетального периода.

Ключевые слова: печень, пренатальное развитие, иммуногистохимические маркеры.

Dovgal G.V. Morphological and molecular biological characteristics of prenatal development of rat liver // Украинский морфологический альманах. – 2013. – Том 11, № 4. – С. 22-26.

The studies of prenatal liver development are the basis for further improvement of the newest technologies of correction of developmental disorders and treatment of diseases, understanding processes of regeneration. In recent years many similarities between embryonic and pathological processes in the liver were found, particularly in the synthesis of certain proteins. Fetal liver synthesizes the same proteins as hepatomas. The immunohistochemical types of hepatocytes during prenatal development have described. The basic processes in fetal liver are hematopoiesis, epithelial-mesenchymal transformation, apoptosis. Controversial questions remain about the hepatocytes commitment and their potential to transform into other cell types during the fetal period.

Key words: liver, prenatal development, immunohistochemical markers.

Виконане дослідження є частиною планової наукової теми кафедри анатомії людини «Розвиток та морфо-функціональний стан органів та тканин експериментальних тварин та людини в нормі, в онтогенезі, під впливом зовнішніх чинників» (номер держреєстрації 0111U009598).

Дослідження ембріогенезу печінки є основою для подальшого вдосконалення новітніх технологій корекції відхилень в розвитку та лікування захворювань цього органу [9]. Розвиток гістохімічних, імуногістохімічних, біохімічних та генетичних методів дослідження викривають все більше спільних рис між ембріональними та патологічними процесами в печінці, зокрема в синтезі певних протеїнів [31]. Не дивлячись на те, що жовчний міхур ніколи не розвивається у щурів, схожість окремих печінкових структур людини та цих тварин, особливо наприкінці ембріогенезу, робить останніх доброю експериментальною моделлю для вивчення нормально-го та аномального розвитку печінки [11, 20, 40].

Перша ознака розвитку печінки – поява локального потовщення ендодерми, що вкриває

вентральну стінку найбільш дистальної частини передньої кишки. За даними різних авторів у щурів це відбувається від 9 до 11,5 доби ембріогенезу [5, 41]. У ранніх дослідженнях [11] встановлено, що початок ембріонального розвитку печінки щурів не відрізняється від такого в інших ссавців. Передня частина печінкового виросту утворює печінкову паренхіму та піддається значним апоптотичним перетворенням протягом перших трьох діб морфогенезу печінки. Мезенхіма прекардіальної ділянки, що походить з висцеральної спланхноплеври та поперечної перегородки, є необхідною для трансформації епітелію передньої кишки в зачаток печінки [24]. За даними K.S. Zaret [44], розвиток її в ендодермі індукується фактором росту фібробластів, кістковим морфогенетичним протеїном, що походить із серцевої мезодерми та мезенхіми поперечної перегородки. Подальше дозрівання клітин печінки пов'язане з фактором росту гепатоцитів, онкостатином М типу, глюкокортикоїдами та інсуліном [22].

Протягом 10-12 доби пренатального розвит-

ку, зародки щурів проходять 11-14 стадію за Карнегі [20]. На стадії 11 розвиток печінкового дивертикула індукується диференціальним ростом ендодермальної пластинки та щільним контактом між ендодермою й ендотеліальним покриттям серця. На стадії 12 присутні ознаки клітинної диференціювання, поперечна перегородка починає приймати участь в формуванні печінкової стромы, а печінковий виріст дає епітеліальні трабекули. Печінка збільшується й починає функціонувати як гемопоетичний орган з 15 стадії (12,8 діб). Кровотворення в ембріональній печінці є одним з найпомітніших процесів і має місце уздовж печінкових балок. Примітивний гемопоєз змінюється на зрілий після 14 доби пренатального розвитку. Як показано в дослідженнях G. Godlewski та співавторів [33, 34], на стадії 18, після періоду обтурації, завдяки епітеліальній проліферації, реорганізуються жовчні шляхи й з'являється зв'язок між печінкою та кишкою.

За даними P. M. Kaufmann [29], попередники клітин печінки (стовбурові клітини) були знайдені в зрілій печінці людини та гризунів. Клітини характеризувалися овальною формою та здатністю перетворюватися в гепатоцити та епітеліальні клітини жовчних шляхів. Вони також мають клоногенний потенціал *in vivo* та *in vitro*. Нещодавно було показано походження овальних клітин та гепатоцитів з кісткового мозку у гризунів [7, 37]. Існує велика схожість між гепатобластами, що походять з передньої кишки, та ствольними печінковими клітинами. В фетальній та зрілій печінці стовбурові клітини характеризуються синтезом маркерів клітинної поверхні Thy1 (або CD90) та печінкових маркерів, таких як, альбумін та цитокератини [28, 37]. Два окремих клони клітин виявлено в ембріональній печінці щурів. Кількість клітин, що розвиваються як звичайні гепатоцити, позитивні на цитокератин 18, збільшується протягом 16-22 діб пренатального розвитку щура [17]. Дослідження різних клітинних типів на 14 добу розвитку викрило 3 чітких популяції: перша, що експресувала печінкові маркери, такі як альбумін, α -фетопротейн; друга – виробляла маркери клітин жовчних шляхів – цитокератини; третя – виробляла обидва типи маркерів [17]. Остання популяція є біпотенціальною та вважається фетальним джерелом попередників гепатоцитів. Після 18 доби пренатального розвитку клітини втрачають цю біпотенціальну можливість. Відповідно до трьох імуногістохімічних типів, в дослідженнях A.E. Rabat [39] в культурі ембріональних гепатоцитів виділено три типи клітин за морфологією: клітини поліедричної форми, деякі з цих клітин диплоїчні; клітини округлої форми, також частково двоядерні; та фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми.

Ще одним важливим маркером ембріональних гепатоцитів є глікокан – гепаран-сульфатний протеоглікан, що зв'язаний з клітинною поверхнею. Максимум його експресії припадає на 13-

16 добу ембріонального розвитку щурів. Подальший аналіз з подвійним маркуванням виявив, що експресія цього протеоглікану притаманна активованим клітинам-попередникам та гепатоцитам на початку патологічних змін, зокрема пухлинному переродженню [21]. В зв'язку з тим, що гепатоцити експресують α -фетопротейн, альбумін та інші печінкові маркери, зокрема цитокератини, більшість авторів вважає, що гепатобласти є біпотенціальними клітинами, що можуть трансформуватися в печінковий епітелій або епітелій жовчних шляхів [19, 41]. За даними M.J. Blouin [42], на 15-16 добу ембріонального розвитку клітини печінки вже комітовані як гепатоцити або епітеліальні клітини жовчних шляхів. Також протягом ембріонального періоду виділяють інші імуногістохімічні типи клітин: Prox1+/цитокератин 19+, Prox1-/цитокератин 19+ та Prox1+/цитокератин 19-. Цитокератин 7+ клітини вперше з'являється на 18 добу пренатального розвитку. Цей тип цитокератину експресується Prox1-/цитокератин 19+ клітинами [38].

Як довів A. Kamiya із співавторами [15], дозрівання гепатоцитів супроводжується експресією низки генів, протеаз (катепсін L), протеїнів гострої фази (оросомукоїд), ферментів, що беруть участь у метаболізмі нуклеотидів (нікотинамід-метіл-трансфераза), вуглеводів (глюкозо-6-фосфатаза) та амінокислот (тірозин-амінотрансфераза). Частина протеїнів, таких як цитокератини 8, 18 та альбумін, що виробляються в ембріональній печінці, залишаються маркерами зрілих гепатоцитів [41]. Маркер епітеліальних клітин Muc1, як було встановлено E. Lacunza із співавтор. [26], синтезується в ембріональних гепатоцитах щурів з 16 доби пренатального розвитку.

Цитокератини, що формують скелет клітини, відіграють важливу роль у диференціюванні ембріональної печінки. J. Vassy та співавтор. [38] показали, що під час розвитку печінки в ній значно зростає загальна кількість цитокератинів, зокрема 8 типу, цитокератиновий скелет постійно ущільнюється та в постнатальному періоді змінюється певна орієнтація волокон, що була притаманна ембріональному періоду.

Апoptотична активність в ембріональній печінці щурів, за даними K.T. Lim зі співавтор. [4], з'являється на 15 добу, досягає піку на 16, що відповідає найвищій фазі печінкового кровотворення. Зменшення апoptозу починається після 18 доби пренатального розвитку. Клітинами, що вступили на шлях апoptозу в ембріональний період, автори вважають гемопоетичні клітини, а після народження апoptоз демонстрували переважно гепатоцити. Також у ранньому постнатальному періоді апoptотичні клітини виявлялися серед ендотеліоцитів синусоїдів. Апoptотичні тільця були рідкою знахідкою на 16 добу ембріогенезу, їх кількість зростала на 18 добу, зменшувалась після 20 доби.

З'ясовано, що експресія трансформуючого ростового фактору $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) пов'язана з інте-

нсивністю апоптичних процесів в ембріональній печінці. За даними М. Yoshida із співавтор. [27], початок експресії цього фактору припадає на 14 добу ембріогенезу, максимум — спостерігався на 16 добу, слабка експресія була після 18 доби. Після народження цей фактор вироблявся в ендотелії синусоїдів. Існує ряд доказів, що ембріональна печінка синтезує такі ж самі протеїни, що виявляються при формуванні гепатом. Зокрема, β катенін, що має найвищу концентрацію в печінці на 12 добу ембріогенезу [43] та не синтезується в печінці в постнатальному житті, також виявлений при онкогенезі.

Друга половина вагітності у щурів є періодом активного розвитку більшості метаболічних систем печінки. Стан метіонін-гомоцистеїнової метаболічної системи впливає на перебіг вагітності, поява певних вад розвитку. З'ясовано, що печінка — перший орган, що синтезує цистатионін- β -синтазу. Активність цистатионін- β -синтази і метіонін-синтази збільшується в ембріональній печінці щурів протягом 14-20 діб [8].

Як встановив G.K. Andrews [3], транскрипційний фактор-1, що експресується при стимуляції металами "metal-responsive transcription factor-1", відповідає за реакцію клітини на переваження важкими металами та синтезується при інших видах стресу. В дослідженнях Р. Lichtlen та W. Schaffner [32], показано, що активація цього фактору призводить до синтезу металотіонейнів — невеликих цистеїн-вмістних протеїнів, що здатні зв'язувати важкі метали, приймати участь в їх гомеостазі та детоксикації. Важливість синтезу цього фактору в ембріогенезі печінки є безперечною, бо нульові мутанти, що не мають відповідного гену, демонструють летальне зменшення печінки протягом останньої третини вагітності та значне пригнічення гемопоезу за рахунок лімфоцитарного ряду [35].

В ембріональній печінці синтез α -фетопротейну має прямий зв'язок з тирозиновим фосфорілюванням, на основі чого був зроблений висновок про більшу чутливість клітин, що синтезують α -фетопротейн, до впливу інсуліну [30]. Пригнічення фосфатиділінозитол-3-кінази порушує розвиток позитивних на α -фетопротейн гепатобластів.

Три популяції клітин печінки виявлено групою дослідників під керівництвом M.D. Dabeva [12], що протягом пренатального розвитку, починаючи з 12 дня, мають різний спектр експресії маркерів: клітини, що синтезують α -фетопротейн та альбумін, але не цитокератин 19; клітини, що позитивні на цитокератин 19, але не на α -фетопротейн та альбумін; клітини, що спроможні виробляти усі три типи маркерів. На 14 добу ембріогенезу печінкові клітини розділяються на уніпотенціальні та біпотенціальні, в залежності від їх комітованості. Встановлено, що вони мають різні властивості щодо участі в регенерації печінки при пересадці.

J. Chagraoui та співавтор. [16] встановили, що стромальні клітини печінки при активному пе-

ребігу в ній кровотворних процесів експресують як мезенхімальні маркери (віментин, остеопонтин, колаген I типу, α гладком'язовий актин — SMA, фібронектин, кальпонін та інші), так й епітеліальні маркери (α -фетопротейн, цитокератини 8 та 18, альбумін, E-кадгерин та інші). Такі дані свідчать про наявність епітеліально-мезенхімальної трансформації, що є розповсюдженою подією в ембріональних тканинах, зокрема в печінці. Автори вважають, що трансформація — є необхідною умовою для нормального кровотворення. Вона припиняється в зрілій печінці, яка вже не спроможна бути кровотворним органом. Клітини, що знаходяться в стані трансформації, мають походження з печінкових ендодермальних попередників чи з мезенхімальних стовбурових клітин, або навіть з гемопоетичних клітин, що потрапляють з кровотоку. Поверхневі антигени в зрілих гепатоцитах, їх попередниках та в фетальних попередниках гепатоцитів, мають різний спектр глікопротеїнів [36]. Попередники печінкових ембріональних клітин також експресують Liv2, E-кадгерин і дельта-подібну кіназу-1 [18].

Дендритні клітини печінки, що виявляють антидендритичним маркером OX-62, проходять три стадії: незрілу, перехідну та зрілу. Протягом 14-16 діб присутні незрілі та перехідні форми дендроцитів. Після 18 доби раптово збільшується кількість зрілих дендритних клітин. У клітинах, що наближаються до зрілої стадії, спостерігаються ознаки активного фагоцитозу, зокрема, цитоплазматичні фагосоми та гетерофагосоми. На 18 добу ембріонального розвитку та після народження, серед дендроцитів виділяють два типи, в залежності від рівня розвитку гладкого ендоплазматичного ретикулу, або лізосомального компартменту. Участь дендритних клітин в становленні імунної системи протягом пренатального розвитку викривали їх контакти з T-лімфоцитами [7].

При регенерації печінки в зрілому віці підвищується експресія лише окремих імуногістохімічних маркерів. Так, позитивна реакція на віментин, десмін, прото-онкоген c-kit спостерігалась на ранніх стадіях регенерації. Десмін та віментин експресувалися в зірчастих клітинах, але позитивного забарвлення на CD34, цитокератин 19 або цитокератин 7, що є маркерами ембріональних гепатоцитів, не було [13, 14].

Холангіоцити людини та гризунів мають сильну експресію фактору росту судинного ендотелію (VEGF) та рецепторів до нього (VEGFR-1, VEGFR-2), а також ангіопоетину-2. VEGF, який стимулює проліферацію холангіоцитів та позитивно корелює з щільністю мікросудин, поряд з ангіопоетином-1. Він має аутокринний ефект на ріст холангіоцитів й паракринний ефект на порталні судини, як встановив L. Fabris та співавтор. [10].

Розвиток внутрішньо- та позапечінкових жовчних протоків протікає синхронно, також доведено, що протягом ембріогенезу вони збері-

гають структурну безперервність у людини та гризунів [40]. Нормальний розвиток внутрішньо-печінкових протоків потребує точно синхронізованого процесу епітеліо-мезехімної реакції, що розповсюджується від воріт печінки до периферичних гілок, вздовж гілок порталної вени. Як встановили W.F. Zambuzzi та співавтор. [25], синтез індукцибельної синтази окису азоту (iNOS) зростає протягом 17-21 добу ембріонального розвитку в печінці шурів в клітинах, що розташовані навколо судин. Ендотеліоцити синусоїдів демонструють експресію стабіліна-2 наприкінці фетального розвитку. Останній протеїн виробляється у всіх ендотеліальних клітинах на ранніх стадіях розвитку та індукується фактором росту судинного ендотелію [27].

В наших дослідженнях альбумін, як маркер печінкових клітин, мав велику інтенсивність забарвлення протягом другої половини пренатального періоду [2]. Клітинами, позитивними на α SMA, в печінкових тканинах були клітини стінки судин, що розвиваються, а також зірчасті клітини (Іто), кількість яких була незначною. α SMA був визначений як маркер клітин Іто в дослідженнях Гумерової [1]. Навколо судин середнього та крупного калібру відбувалося інтенсивне кровотворення, при цьому іноді ці острівці мали в основі α SMA позитивні клітини. Клітинами, позитивними на eNOS (ендотеліальну синтазу окису азоту), в ембріональній печінці були ендотеліальні клітини судин всіх порядків, за винятком ендотелію синусоїдів [2].

Таким чином, існує багато спільних рис між ембріональними та патологічними процесами в печінці, зокрема в синтезі протеїнів. Імуногістохімічні типи гепатоцитів протягом пренатального розвитку викривають різні напрямки диференціювання епітеліальних клітин органу. Дискусійними залишаються питання про комітованість гепатоцитів та їх потенціальні можливості щодо перетворення в клітини інших типів протягом фетального періоду.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Гумерова А. А. Экспрессия маркеров различных типов клеток печени на ранних этапах пренатального развития человека / А. А. Гумерова, М. А. Титова, А. П. Княсов // Цитология. – 2007. – № 2. – С. 133-141.
2. Романенко О. А. Імуногістохімічне дослідження печінки шурів в пізньому пренатальному періоді під впливом ацетату свинцю та за умов корекції / О. А. Романенко, Г. В. Довгаль, М. А. Довгаль // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3. – С. 158-161.
3. Andrews G. K. Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions // Biochem. Pharmacol. – 2000. – Vol. 59. – P. 95-104.
4. Apoptosis in Rat Liver Development: tTG and TGF beta1 Expression Related to Apoptotic Mechanism / Lim K. T., Chae H. S., Yoon S. H. [et al.] // Korean J. Anat. – 1999. – Vol. 32, № 4. – P. 543-552.
5. Collardeau-Frachon S. Vascular Development and Differentiation During Human Liver Organogenesis // Sophie Collardeau-Frachon, Jean-Yves Scoazec // Anat. Rec. – 2008. – Vol. 291. – P. 614-627.
6. Comparison of the liver and biliary duct development in man and in the rat at the end of the embryonic period / Godlewski G., Gaubert-Cristol R., Prudhomme M. [et al.] // Morphologie. – 1998. – Vol. 82, № 258. – P. 11-14.
7. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after myeloablation / Theise N.D., Badve S., Saxena R. [et al.] // Hepatology. – 2000. – Vol. 31. – P. 235-240.
8. Development of methionine synthase, cystathionine-synthase and S-adenosyl-homocysteine hydrolase during gestation in rats // L. A. G. J. M. VanAerts, C. M. Poirrot, C. A. Herberts [et al.] // J.Reproduction and Fertility. – 1995. – Vol. 103. – P. 227-232.
9. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model / Jung K. H., Shin H. P., Lee S. [et al.] // Liver Int. – 2009. – Vol. 29, № 6 – P. 898-909.
10. Effects of angiogenic factor overexpression by human and rodent cholangiocytes in polycystic liver diseases. / Fabris L., Cadamuro M., Fiorotto R. [et al.] // Hepatology. – 2006. – Vol. 43, № 5. – P. 1001-1012.
11. Electron microscopy and morphometry of canalicular differentiation in fetal and neonatal rat liver / De Wolf-Peeters C., De Vos R., Desmet V. [et al.] // Exp. Mol. Pathol. – 1974. – Vol. 21. – P. 339-350.
12. Epithelial Progenitor Cells after Transplantation into Adult Rat Liver / Mariana D. Dabeva, Petko M. Petkov, Jaswinder Sandhu [et al.] // Amer. J. Pathol. – 2000. – Vol. 156, № 6. – P. 2017-2031.
13. Expression of mesenchymal, hematopoietic, and biliary cell markers in adult rat hepatocytes after partial hepatectomy / Kara B., Daglioglu K., Doran F. [et al.] // Transplant. Proc. – 2009. – Vol. 41, № 10. – P. 4401-4404.
14. Expression of the stem cell factor c-kit in normal and diseased pediatric livers: identification of a human hepatic progenitor cell / Baumann U., Crosby H.A., Ramani P. [et al.] // Hepatology. – 1999. – Vol. 30. – P. 112-117.
15. Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through the gp130 signal transducer / Kamiya A., Kinoshita T., Ito Y. [et al.] // EMBO J. – 1999. – Vol. 18. – P. 2127-2136.
16. Fetal liver stroma consists of cells in epithelial-to-mesenchymal transition / Jalila Chagraoui, Adeline Lepage-Noll, Aurora Anjo [et al.] // Blood. – 2003. – Vol. 101. – P. 2973-2982.
17. Fiegel H. C. Characterization of Cell Types During Rat Liver Development / H. C. Fiegel, J. H. Park, M. V. Lioznov // Hepatology. – 2003. – Vol. 37, № 1. – P. 148-154.
18. Gene expression pattern in hepatic stem/progenitor cells during rat fetal development using complementary DNA microarrays / P. M. Petkov, J. Zavadil, D. Goetz [et al.] // Hepatology.

- 2004. – Vol. 39, № 3. – P. 617–627.
19. Germain L. Biliary epithelial and hepatocytic cell lineage relationships in embryonic rat liver as determined by the differential expression of cytokeratins, alpha-fetoprotein, albumin, and cell surface exposed components / Germain L., Blouin M. J., Marceau N. // *Cancer Res.* – 1988. – Vol. 48. – P. 4909–4918.
20. Godlewski G. Liver development in rats during the embryonic period (Carnegie stages 11-14) / G. Godlewski, R. Gaubert-Cristol, S. Rouy // *Acta Anat.* -1992. –Vol. 144, № 1. - P. 45-50.
21. Grozdanov P. N. The oncofetal protein glypican-3 is a novel marker of hepatic progenitor/oval cells // Petar N. Grozdanov, Mladen I. Yovchev, Mariana D. Dabeva // *Laboratory Investigation.* – 2006. – Vol. 86. – P. 1272–1284.
22. Hepatic maturation in differentiating embryonic stem cells in vitro / Hamazaki T., Iiboshi Y., Oka M. [et al.] // *FEBS Lett.* – 2001. – Vol. 497. – P. 15-19.
23. Hepatic oval cells express the hematopoietic stem cell marker thy-1 in the rat / Peterson B.E., Goff J.P., Greenberger J.S., Michalopoulos G.K. // *Hepatology.* – 1998. – Vol. 27. – P. 433-445.
24. Hepatic specification of the gut endoderm in vitro: cell signaling and transcriptional control / Gualdi R., Bossard P., Zheng M. // *Genes Dev.* – 1996. – Vol. 10. - P. 1670-1682.
25. Immunohistochemical approach reveals involvement of inducible nitric oxide synthase in rat late development / Zambuzzi W.F., Paiva K.B., Batista A.C. [et al.] // *J. Mol. Histol.* – 2009. – Vol. 40, № 3. – P. 235-240.
26. Immunohistochemical evidence of Muc1 expression during rat embryonic development / Lacunza E., Ferretti V., Barbeito C. [et al.] // *Eur. J. Histochem.* – 2010. – Vol. 54, № 4. – P. 49-53.
27. Involvement of signaling of VEGF and TGF- β in differentiation of sinusoidal endothelial cells during culture of fetal rat liver cells / Yoshida M., Nishikawa Y., Omori Y. [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2007. – Vol. 329, № 2. – P. 273-282.
28. Isolation, characterization and culture of Thy1-positive cells from fetal rat livers / Zvibel I., Bronstein M., Hubel E. [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12, № 24. – P. 3841-3847.
29. Kaufmann P. M. Hepatic stem cells: a review / P. M. Kaufmann, B. F. Axel, R. Zander // *Pathology.* – 2001. – Vol. 33. – P.130-141.
30. Khamzina L. Molecular Biology of the Cell Correlation of a-Fetoprotein Expression in Normal Hepatocytes during Development with Tyrosine Phosphorylation and Insulin Receptor Expression / Leila Khamzina, Pierre Borgeat // *Molecular Biology.* – 1998. – Vol. 9. - P. 1093–1105.
31. Lepreux S. Differential expression of the anterior gradient protein-2 is a conserved feature during morphogenesis and carcinogenesis of the biliary tree / Lepreux S., Bioulac-Sage P., Chevet E. // *Liver Int.* – 2011. – Vol. 31, № 3. – P. 322-328.
32. Lichtlen P. Putting its fingers on stressful situations: the heavy metal-regulatory transcription factor MTF-1 / Lichtlen P., Schaffner W. // *Biocessays.* – 2001. – Vol. 23. – P. 1010–1017.
33. Liver development in the rat and in man during the embryonic period (Carnegie stages 11-23) / G. Godlewski, R. Gaubert-Cristol, S. Rouy, M. Prudhomme // *Microscopy Res. and Technique.* – 1997. –Vol. 39, № 4 – P. 314-327.
34. Liver development in the rat during the embryonic period (Carnegie stages 15-23) / G. Godlewski, R. Gaubert-Cristol, S. Rouy, M. Prudhomme // *Acta Anatomica.* – 1997. – Vol. 160, № 3. – P. 172-178.
35. Metal-responsive transcription factor-1 (MTF-1) is essential for embryonic liver development and heavy metal detoxification in the adult liver / Y. Wang, U. Wimmer, P. Lichtlen [et al.] // *FASEB J.* – 2004. – Vol. 18. – P. 1071–1079.
36. Novel hepatic progenitor cell surface markers in the adult rat liver / Yovchev M. I., Grozdanov P. N., Joseph B. [et al.] // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45, № 1 – P. 139-149.
37. Petersen B. E. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells / Petersen B. E., Bowen W. C., Patrene K. D. // *Science.* – 1999. – Vol. 284. – P. 1168-1170.
38. Quantitative Image Analysis of Cytokeratin Filament Distribution During Fetal Rat Liver Development / J. Vassy, M. Beil, T. Irinopoulo, J. P. Rigaut // *Hepatology.* – 1996. – Vol. 23, № 3. – P. 43-48.
39. Rabat A. E. Characterization of foetal hepatic cells during rat liver development : Dissertation zu Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten / Abderrahim Elmaouhoub Aus Rabat. Göttingen, 2006.- 148 p.
40. Roskams T. Embryology of extra- and intrahepatic bile ducts, the ductal plate / Roskams T., Desmet V. // *Anat. Rec.* - 2008.- Vol. 291, № 6. - P. 628-635.
41. Shiojiri N. Cell lineages and oval cell progenitors in rat development / Shiojiri N., Lemire J. M., Fausto N. // *Cancer Res.* – 1991. – Vol. 51. – P. 2611–2620.
42. Specialization switch in differentiating embryonic rat liver progenitor cells in response to sodium butyrate / Blouin M. J., Lamy I., Loranger A. [et al.] // *Exp. Cell Res.* – 1995. – Vol. 217. – P. 22–30.
43. The role of beta-catenin in rat embryonic development and tumorigenesis / Wang Q. M., Yang K. M., Zhou H. Y. [et al.] // *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2006. – Vol. 37, № 6. – P. 872-875.
44. Zaret K.S. Hepatocyte differentiation: from the endoderm and beyond / Zaret K.S. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 2001. – Vol. 11. – P. 568-574.

Надійшло 11.10.2013 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін