

## MODEL HEWAN COBA UNTUK INDUKSI SEL OVAL : KAJIAN LITERATUR

### ANIMAL MODEL FOR OVAL CELL INDUCTION : LITERATUR REVIEW

Zakiyah

Fakultas Kedokteran Universitas YARSI, Jakarta, Indonesia

Surel Korespondensi: zakiyah226@yarsi.ac.id

#### Abstrak

Sel oval merupakan sel progenitor hati yang memiliki peran penting dalam regenerasi hati saat hepatosit sudah tidak mampu merespon cedera secara adekuat. Hingga saat ini sel oval masih terus diteliti untuk mengetahui penanda, karakterisasi, perannya dalam regenerasi dan karsinogenesis serta mempelajari potensinya untuk terapi. Banyak model cedera yang telah dikembangkan untuk mempelajari sel oval. Model hewan coba pada tikus yang paling sering, yaitu penggunaan zat kimia, pembedahan ataupun kombinasi keduanya. Pada review ini peneliti meninjau model cedera hati yang digunakan untuk menginduksi sel oval pada tikus yang sering digunakan, yaitu 2AAF/PH dan 2AAF/CCl<sub>4</sub>. Berdasarkan hasil penelusuran literatur kedua model tersebut dapat menginduksi sel oval yang dikenali dengan penanda umumnya, yaitu OV6 dan beberapa penanda lainnya adalah AFP dan CK19. Pada model 2AAF/PH, sel oval umumnya dapat diamati pada hari kesembilan setelah hepatektomi parsial di daerah portal, sedangkan pada model 2AAF/CCl<sub>4</sub> dibutuhkan waktu sekitar 12 minggu namun sel oval tidak hanya ditemukan di area portal namun juga menginvasi ke intraparenkim.

**Kata kunci** : sel oval, cedera hati, metode, tikus, CCl<sub>4</sub>, 2AAF, hepatektomi parsial

#### Abstract

*Oval cells are liver progenitor cells that play an important role in liver regeneration when hepatocytes cannot adequately respond to injury. Until now, oval cells are still being studied to determine their markers, characterization, their role in regeneration and carcinogenesis, and to study their potential for therapy. Many injury models have been developed to study oval cells. The most common experimental animal models on rats use chemicals, surgery or a combination of both. The researchers reviewed the liver injury models used to induce oval cells in rats, namely 2AAF/PH and 2AAF/CCl<sub>4</sub>. Based on the literature search results, both models can induce oval cells, which are recognized by the general marker, namely OV6 and several other markers, AFP and CK19. In the 2AAF/PH model, oval cells were generally observed on the ninth day after partial hepatectomy in the portal area. In contrast, in the 2AAF/CCl<sub>4</sub> model, it takes about 12 weeks, but oval cells are not only found in the portal area but also invade intraparenchymal.*

**Keywords** : oval cell, liver injury, method, rat, CCl<sub>4</sub>, 2AAF, partial hepatectomy

#### Pendahuluan

Hati adalah organ yang berperan dalam mempertahankan homeostasis sistemik dan beberapa fungsi biologis penting. Hati menerima aliran darah dari usus melalui vena porta, di mana berbagai jenis zat, termasuk racun, obat-obatan, dan xenobiotik dapat dibawa. Hati dianggap sebagai penghalang utama atau filter dalam tubuh dan secara inheren dapat menyebabkan kerusakan yang disebabkan oleh senyawa-senyawa tersebut. Hati diketahui memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi untuk menghadapi potensi kerusakan ini dan menjalankan fungsinya secara memadai. (Itoh, T dan Miyajima, A., 2004; Kaur S dkk., 2015).

Terdapat dua model regenerasi hati yang diketahui, yaitu regenerasi hati yang diperantarai oleh hepatosit dan sel progenitor hati dewasa (*Hepatic Progenitor Cell/HPC*). HPC muncul dan meluas membentuk struktur mirip duktus yang dikenal sebagai reaksi duktular. HPC atau yang juga sering disebut

sebagai sel oval pada tikus dianggap mengandung beberapa populasi sel yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi hepatosit dan kolangiosit yang berkontribusi dalam perbaikan jaringan. (Riehle KJ dkk., 2011).

Berbagai penanda sel oval telah diteliti diantaranya OV6, CK19, EpCam, AFP, Alb, CK8, CK18 dan DLK1. Hingga saat ini penelitian mengenai sel oval masih terus dipelajari dan aktivasi sel oval merupakan proses yang kompleks yang belum dapat dijelaskan secara pasti. (Tanimizu N dkk., 2004; Naoki T dkk., 2014; Jensen dkk., 2004).

Model hewan sering dipelajari untuk menginduksi respons sel oval. Pada penelitian dengan hepatektomi parsial saja atau pemberian CCl<sub>4</sub> saja tidak menunjukkan adanya kemunculan HPC. Penggunaan CCl<sub>4</sub> atau hepatektomi parsial biasanya dikombinasi dengan pemberian 2AAF. (Abdellatif H dkk., 2018; Riehle KJ dkk., 2011; Best J dkk., 2013; Tanimizu N dkk., 2004).

Hewan coba yang biasa digunakan untuk menginduksi sel oval yang utama adalah tikus dan mencit. Namun, beberapa penelitian juga pernah menggunakan hewan hamster atau marmot. Setiap spesies menunjukkan jalur metabolisme dan lingkungan mikro hati yang berbeda. Penelitian dengan zat yang sama dapat menghasilkan respons dan ekspresi sel oval yang berbeda, bahkan fenotipe sel oval dengan penanda yang tidak sesuai. (Tan EK, 2015; Santos, 2017; Fausto N, 2003).

Pemilihan model hewan coba, waktu terminasi dan penanda yang akan dinilai menjadi pertimbangan awal dalam melakukan penelitian yang terkait dengan sel oval. Oleh karena itu, penulis melakukan kajian literatur mengenai model hewan coba yang menginduksi sel oval terutama pada model yang sering digunakan, yaitu 2AAF/PH dan 2AAF/CCl<sub>4</sub>.

### Metode

Penelitian yang sudah dipublikasi ditelusuri menggunakan pencarian artikel pada pubmed menggunakan kata kunci "Oval cell" AND "Injury Model" AND "CCl<sub>4</sub>" OR "2-AAF" OR "2AAF/PH" dengan

penelitian yang terbatas dari tahun 2010-2022. Kriteria inklusi adalah penelitian yang menggunakan model cedera hati yang menggunakan hewan coba, model cedera hati yang menginduksi sel oval, model cedera hati yang menggunakan 2AAF, CCl<sub>4</sub>, Parsial hepatektomi atau kombinasi. Kriteria eksklusi adalah untuk artikel-artikel yang tidak menjelaskan metode dengan jelas, model cedera yang menggunakan selain 2AAF, CCl<sub>4</sub>, parsial hepatektomi atau kombinasi dan penelitian invitro.

### Hasil

Berdasarkan hasil penelusuran dikumpulkan data sebanyak 71 artikel penelitian. Namun, pada penelitian yang menggunakan 2AAF banyak yang mengarah keganasan hati. Berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan maka diperoleh sebanyak 7 artikel yang akan diteliti.

Kemunculan sel oval merupakan penanda adanya cedera hati yang melibatkan lini kedua, yaitu sel progenitor hati. Hasil penelitian mendapatkan beberapa penanda yang dapat dikenali pada pemeriksaan imunohistokimia terutama OV6, sedangkan penanda lain yang dapat ditemukan adalah AFP atau CK-1.

**Tabel 1.** Model hewan coba yang menginduksi sel oval

Referensi	Model Hewan Coba	Penanda Sel Oval
Williams et al (2010)	2AAF/PH	OV6, AFP
Steiger-Luther et al (2010)	2AAF/PH	OV6
Pintilie et al (2010)	2AAF/PH	OV6, AFP
Darwiche et al (2011)	2AAF/PH	AFP, OV6
Papp et al (2014)	2AAF/CCl <sub>4</sub>	OV6, CK19
Chen J et al (2015)	2AAF/CCl <sub>4</sub>	OV6, CK19
Abdellatif et al (2017)	2AAF/CCl <sub>4</sub>	OV6

Ket : Penanda sel oval diperiksa dengan teknik imunohistokimia

Model induksi dengan 2AAF/PH lebih sering dijumpai pada penelitian mengenai regenerasi hati yang melibatkan sel oval. Penggunaan 2AAF umumnya berupa pellet yang diimplantasikan di cavum intraperitoneal satu minggu sebelum dilakukan hepatektomi parsial. Namun, ada juga penelitian menggunakan 2AAF yang diberikan secara oral dengan dosis 10 mg/kg yang dilarutkan dalam sedikit volume *dimethyl sulfoxide* (DMSO) dan minyak jagung. Terminasi hewan coba bervariasi pada berbagai penelitian untuk melihat karakterisasi dan penanda sel oval. Beberapa penelitian menilai pada hari kesembilan pasca hepatektomi parsial. Hepatektomi parsial dilakukan dengan cara reseksi 70% lobus hati di bawah anestesi sodium pentobarbital dengan dosis 0,1 ml/100gr.(Williams JM dkk., 2010; Steiger-Luther dkk., 2010; Pintilie dkk., 2010; Darwiche H dkk., 2011) Sedangkan CCl<sub>4</sub> pemberiannya dapat secara oral atau injeksi intraperitoneal/ subcutaneus yang dilarutkan dalam minyak jagung. Untuk model induksi yang

menggunakan 2AAF/CCl<sub>4</sub> umumnya menggunakan waktu yang lebih lama 12-13 minggu. Namun, sel oval juga dapat diamati pada tikus yang diterminasi pada hari ke-14 dengan penanda OV6.(Papp V dkk., 2014; Chen J dkk., 2015; Abdellatif H dkk.,2017) Meskipun pada penelitian-penelitian lebih banyak menggunakan tikus jenis Fischer 344 jantan namun pada tikus jantan dan betina sama-sama terlihat kemunculan sel oval baik yang diinduksi dengan AAF/PH ataupun dengan 2AAF/CCl<sub>4</sub> (Tan EK dkk.,2015).

**Tabel 2.** Perbandingan model hewan coba

Referensi	Jenis Tikus	Cara induksi	Terminasi hewan coba
Williams et al (2010), Steiger-Luther et al (2010), Pintilie et al (2010)	Fischer 344 jantan	2AAF berupa pellet (70mg/28hari pelepasan, 2,5mg/hari) di implantasi pada cavum intraperitoneal selama 7 hari lalu dilakukan reseksi 70% massa hati	9 hari pasca hepatektomi parsial
Darwiche et al (2011)	Fischer 344 jantan	2AAF berupa pellet (70mg/28hari pelepasan, 2,5mg/hari) di implantasi pada cavum intraperitoneal selama 7 hari lalu dilakukan reseksi 70% massa hati	11 hari pasca hepatektomi parsial
Papp et al (2014)	Fischer 344 jantan	2AAF (8mg/Kg) diberikan selama 5 hari, lalu hari ke-6 dilanjutkan dengan pemberian CCl <sub>4</sub> (2ml/kg) secara oral, lalu diikuti dengan pemberian 5 dosis 2AAF setiap hari	12 minggu setelah pemberian CCl <sub>4</sub>
Chen J et al (2015)	Fischer 344 betina	CCl <sub>4</sub> (2mg/kg) diberikan secara injeksi subkutaneus dengan perbandingan 1:1 dengan minyak zaitun selama 8 minggu lalu pada minggu ke-9 perbandingan menjadi 3:7 ditambahkan dengan pemberian 2AAF (10mg/kg) secara oral	Akhir minggu ke-12
Abdellatif et al (2017)	Albino (Cux1:HEL1)	2AAF (10mg/kg) diberikan secara oral selama 12 hari, mulai hari ke lima diberikan CCl <sub>4</sub> (0,6ml/kg) dicampur dengan minyak jagung dengan perbandingan 1:1	9 hari setelah pemberian CCl <sub>4</sub>

Hasil pengamatan jaringan hati menggunakan pewarnaan hematoxylin-eosin pada tikus yang diinduksi 2AAF/PH tampak sel-sel berbentuk oval yang terletak di area portal dan tampak gambaran duktulus atipikal, sedangkan pada tikus yang diinduksi dengan 2AAF/CCl<sub>4</sub> tampak sel-sel oval dan struktur duktular menyebar ke

intraparenkim. Hal ini juga terlihat pada pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan penanda sel oval, pada tikus yang diinduksi 2AAF/PH penanda OV6 dan AFP muncul di area portal, sedangkan pada 2AAF/CCl<sub>4</sub> penanda OV6 dan CK19 selain di area portal juga muncul di intraparenkim.

**Tabel 3.** Perbandingan pemeriksaan jaringan hati pada model hewan

Model Hewan Coba	Hematoxylin-Eosin	Imunohistokimia	Referensi
2AAF/PH	Peningkatan sel-sel berbentuk oval di area portal, tampak struktur duktular atipikal	Sel positif OV6 dan AFP di area porta	Williams et al (2010), Steiger-Luther et al (2010), Pintilie et al (2010), Darwiche et al (2011)
2AAF/CCl <sub>4</sub>	Sel-sel berbentuk oval terdapat di area porta dan intraparenkim, sel-sel menyebar membentuk sel individual atau struktur seperti duktular	Ekspansi sel positif OV6 dan CK19 di area porta dan sentrilobular	Papp et al (2014), Chen J et al (2015), Abdellatif et al (2017)

## Diskusi

Pembuatan model hewan coba merupakan kunci untuk memahami mekanisme regenerasi hati yang melibatkan HPC atau sel oval. Cedera hati berat/ kronis ditandai dengan adanya reaksi duktular yang merupakan sel epitel bilier teraktivasi terdiri dari sel progenitor hati /sel oval yang muncul di daerah periportal. Reaksi duktular merupakan kondisi yang cukup umum terjadi pada cedera hati dengan fenotip duktular yang bervariasi. Terdapat beberapa penanda yang sering diusulkan di antaranya OV6 dan CK19 (Sato dkk., 2019; Petersen dkk., 1998). Terdapat dua jenis proliferasi duktular yang dapat terbentuk yaitu proliferasi duktulus tipikal dan atipikal. Duktulus tipikal mirip dengan duktus biliaris interlobular normal yaitu memiliki lumen yang dikenali dan terdapat hampir pada kasus-kasus obstruksi bilier. Sedangkan pada duktulus atipikal strukturnya tipis dan panjang yang dilapisi oleh sel-sel gepeng dan kemungkinan keturunan dari kompartemen sel progenitor (Fung dan Tsukamoto, 2015). HPC dapat berdiferensiasi menjadi hepatosit atau sel-sel duktular saat proliferasi hepatosit matur dihambat. Terdapat penelitian yang mengungkapkan adanya co-ekspresi antara penanda epitel dan mesenkimal pada HPC sehingga menduga HPC juga dapat bertransdiferensiasi menjadi sel stelata atau miofibroblas. Namun hal ini masih perlu dibuktikan (Papp V dkk., 2014; Chen J., 2015).

Aktivasi sel oval merupakan proses yang kompleks yang belum dapat dijelaskan secara pasti. Penggunaan CCl<sub>4</sub> menyebabkan hepatotoksitas akibat metabolit reaktif yang dihasilkan oleh enzim sitokrom P-450, terutama CYP2E1 yang diekspresikan pada hepatosit di area sentrilobular. Paparan yang berulang menyebabkan nekrosis sentrilobular disertai aktivasi sel-sel inflamasi dan sel stelata hati yang meningkatkan sintesis matrik ekstraselular dan menghasilkan perubahan arsitektur menyebabkan nekrosis sentrilobular, degenerasi lemak, infiltrasi sel-sel inflamasi dan menghasilkan perubahan arsitektur hati. Sedangkan pemberian 2AAF memiliki efek dalam menghambat proliferasi hepatosit dan stimulasi pertumbuhan yang selektif pada sel-sel non parenkim di area periportal. Pembedahan hepatektomi parsial menyebabkan ekspansi besar sel oval di area portal (Isgaard dkk., 1996; Ohlson dkk., 1998; Petersen BE dkk., 1998).

Pada studi literatur ini jenis tikus yang digunakan umumnya fischer 344. Pada tikus jantan dan betina yang diinduksi tetap dapat memunculkan sel oval. Sedangkan pada penelitian tikus yang diinduksi dengan ethionine dan 2AAF, respons sel oval hanya terlihat hanya pada tikus jantan, sedangkan pada tikus betina terlihat jaringan hati tampak normal. Penelitian lain menemukan bahwa 2AAF menimbulkan respons mitogenik yang lebih kecil pada tikus F344 betina dibandingkan jantan. Hal ini karena tikus betina memiliki kapasitas enzimatis yang lebih kecil untuk N-hidroksilat 2AAF menjadi N-Hidroksi-

2AAF yang merupakan zat aktif yang bersifat mitogenik dari 2AAF. Meskipun demikian, proliferasi sel oval dapat diamati pada tikus betina jenis Wistar, Sprague-Dawley dan Fischer-344 (Ohlson dkk., 1998; Ko S dkk., 2020).

Penentuan terminasi hewan coba setelah dilakukan induksi merupakan hal penting yang harus dilakukan peneliti untuk pengamatan penanda-penanda yang akan dinilai. Pada penelitian menggunakan 2AAF/PH umumnya dilakukan terminasi sembilan hari setelah dilakukan pembedahan walaupun ada beberapa yang menilai pada hari ke 0, 3, 11 ataupun 13 setelah pembedahan (Williams JM dkk., 2010). Sedangkan pada model 2AAF/CCI<sub>4</sub> beberapa penelitian dilakukan dengan durasi induksi yang cukup lama yaitu 12-13 minggu, namun ada penelitian yang menunjukkan pada dua minggu sudah dapat menginduksi sel oval (Papp V dkk., 2014; Chen J dkk., 2015; Sato dkk., 2019). Selain itu pertimbangan cara pemberian dan dosis obat harus diperhatikan agar model hewan coba sesuai dengan yang akan diteliti.

Model hewan 2AAF/PH merupakan model yang sering digunakan dan dapat menunjukkan hasil yang cukup baik dalam menginduksi sel oval. Namun dibutuhkan teknik yang baik untuk implantasi 2AAF pada intraperitoneal dan saat pembedahan berupa reseksi lobus hati 70%. Penggunaan CCl<sub>4</sub> dan 2AAF secara oral ataupun CCl<sub>4</sub> secara injeksi dapat sebagai alternatif metode yang digunakan. Penggunaan tikus Wistar atau Sprague-Dawley dapat dipertimbangkan jika tidak ada ketersediaan jenis Fischer 344.

## Simpulan

Pada studi literatur ini dapat disimpulkan bahwa pada model hewan 2AAF/PH atau 2AAF/CCI<sub>4</sub> memicu cedera hati yang dapat menginduksi sel oval dengan penanda khas utama, yaitu OV6 yang dapat diamati mulai dari area portal ataupun intraparenkim. Terminasi pada hewan yang diinduksi 2AAF/PH dapat pada minggu kesembilan setelah hepatektomi parsial sedangkan pada 2AAF/CCI<sub>4</sub> dapat dilakukan pada 12-13 minggu.

## Daftar Pustaka

- Abdellatif H, Sci BJ, Res T, Abdellatif H. Oval Cells : Potential Role in Liver Regeneration. 2018;2(1).
- Abdellatif H, Shiha G, Eltahry H, Botros KG, Saleh DM. Effect of human umbilical cord blood stem cell transplantation on oval cell response in 2-AAF/CCL4 liver injury model: experimental immunohistochemical study. *Inflamm Regen* . 2017;37(1):1–8.
- Best J, Dollé L, Manka P, Coombes J, Grunsven LA Van, Syn W. Role of liver progenitors in acute liver injury. 2013;4(September):1–8
- Chen J, Zhang X, Xu Y, Li X, Ren S, Zhou Y, et al. (2015) Hepatic Progenitor Cells Contribute to the Progression of 2-Acetylaminofluorene/Carbon

- Tetrachloride-Induced Cirrhosis via the Non-Canonical Wnt Pathway.
- Darwiche H, Oh SH, Steiger-Luther NC, Williams JM, Pintilie DG, Shupe TD, Petersen BE. Inhibition of Notch signaling affects hepatic oval cell response in rat model of 2AAF-PH. *Hepat Med.* 2011 Sep 1;3:89-98.
- Fausto N, Campbell JS. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mech Dev* 2003; 120: 117– 130.
- Fung E, Tsukamoto H. Morphogen-related therapeutic targets for liver fibrosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2015;39:S69–74.
- Isgaard HACAB, Agy PEN, Ugiu ERICSA, Horgeirsson SNST. Proliferation, Apoptosis , and Induction of Hepatic Transcription Factors Are Characteristics of the Early Response of Biliary Epithelial (Oval) Cells to Chemical Carcinogens. *Hepatology.* 1996 Jan;23(1):62-70.
- Itoh, T. and Miyajima, A. (2014), Liver regeneration by stem/progenitor cells. *Hepatology*, 59: 1617-1626.
- Jensen, C.H., Jauho, E.I., Santoni-Rugiu, E., Holmskov, U., Teisner, B., Tygstrup, N., & Bisgaard, H.C. (2004). Transit-amplifying ductular (oval) cells and their hepatocytic progeny are characterized by a novel and distinctive expression of delta-like protein/preadipocyte factor 1/fetal antigen 1. *The American journal of pathology*, 164 4, 1347-59 .
- Kaur S, Siddiqui H, Bhat MH. Hepatic Progenitor Cells in Action: Liver Regeneration or Fibrosis? *The American Journal of Pathology.* 2015 Sep;185(9):2342-2350
- Ko S, Russell JO, Molina LM, Monga SP. Liver Progenitors and Adult Cell Plasticity in Hepatic Injury and Repair: Knowns and Unknowns. *Annu Rev Pathol.* 2020 Jan 24;15:23-50.
- Naoki Tanimizu & Toshihiro Mitaka (2014) Re-evaluation of liver stem/progenitor cells, *Organogenesis*, 10:2, 208-215, Ohlson, L.C.E., Koroxenidou, L. and Hällström, I.P. (1998), Inhibition of *in vivo* rat liver regeneration by 2-acetylaminofluorene affects the regulation of cell cycle-related proteins. *Hepatology*, 27: 691-696.
- Papp V, Rókusz A, Dezső K, Bugyik E, Szabó V, Pávai Z, Paku S, Nagy P. Expansion of hepatic stem cell compartment boosts liver regeneration. *Stem Cells Dev.* 2014 Jan 1;23(1):56-65.
- Petersen BE, Zajac VF, Michalopoulos GK. Hepatic oval cell activation in response to injury following chemically induced periportal or pericentral damage in rats. *Hepatology.* 1998 Apr;27(4):1030-8.
- Pintilie, D., Shupe, T., Oh, Sh. *et al.* Hepatic stellate cells' involvement in progenitor-mediated liver regeneration. *Lab Invest* 90, 1199–1208 (2010).
- Riehle KJ, Dan YY, Campbell JS, Fausto N. New Concepts in Liver Regeneration. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;26(Suppl 1):203–12.
- Santos NP, Colaço AA, Oliveira PA. Animal models as a tool in hepatocellular carcinoma research: A Review. *Tumor Biology.* 2017;39(3).
- Sato, K., Marzioni, M., Meng, F., Francis, H., Glaser, S. and Alpini, G. (2019), Ductular Reaction in Liver Diseases: Pathological Mechanisms and Translational Significances. *Hepatology*, 69: 420-430
- Steiger-Luther NC, Darwiche H, Oh SH, Williams JM, Petersen BE. Insulin-like growth factor binding protein-3 is required for the regulation of rat oval cell proliferation and differentiation in the 2AAF/PHX model. *Hepat Med.* 2010 Feb 1;2010(2):13-32.
- Tan EK, Shuh M, Cohen A. Liver injury models for induction of hepatic oval cells in rodents. *J Liver Res Disord Ther.* 2015;1(1):15-27
- Tanimizu N, Tsujimura T, Takahide K, Kodama T, Nakamura K, Miyajima A. Expression of Dlk/Pref-1 defines a subpopulation in the oval cell compartment of rat liver. *Gene Expr Patterns.* 2004;5(2):209–18.
- Tanimizu N, Tsujimura T, Takahide K, Kodama T, Nakamura K, Miyajima A. Expression of Dlk/Pref-1 defines a subpopulation in the oval cell compartment of rat liver. *Gene Expr Patterns.* 2004;5(2):209–18.
- Williams JM, Oh SH, Jorgensen M, Steiger N, Darwiche H, Shupe T, Petersen BE. The role of the Wnt family of secreted proteins in rat oval "stem" cell-based liver regeneration: Wnt1 drives differentiation. *Am J Pathol.* 2010 Jun;176(6):2732-42.