

A szomatikus őssejtek forrásául szolgáló kis epeutak részletes jellemzése

Doktori tézisek

dr. Dezsó Katalin

Semmelweis Egyetem
Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Prof.Dr.Nagy Péter, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:Dr.Lengyel Gabriella, egyetemi adjunktus
Dr.Gonda Gábor, osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Prof.Dr.Kulka Janina, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Simon Károly, főorvos
Dr. Nemes Balázs, egyetemi adjunktus

Budapest
2011

TARTALOMJEGYZÉK

I. BEVEZETÉS	4
I.1. A máj mikroanatómiája	4
I.2 A máj szomatikus összejtjei	5
I.3. A Thy-1 jelentősége.....	5
II. CÉLKITŰZÉSEK	7
III. ANYAG ÉS MÓDSZER	8
III.1. Állatkísérletek	8
III.2. Humán minták.....	8
III.3. Morfológiai vizsgálatok	8
III.4. Kolokalizációs vizsgálatok.....	8
III.5. Elektronmikroszkópos vizsgálatok	9
III.6. Génexpressziós vizsgálatok	9
IV. EREDMÉNYEK	10
IV.1.Az eputak elrendeződése és immunfenotípusa ép patkány májban	10
IV.2. Az eputak elrendeződése és immunfenotípusa ép humán májokban	10
IV.3. A Thy-1 expresszió ép patkány és humán májokban	11
IV.4. Thy-1 expresszió a májregeneráció során	12
V. KÖVETKEZTETÉSEK	14
VI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	15
VII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	18

I. BEVEZETÉS

I.1. A máj mikroanatómiája

A máj látszólag az egyszerűbb szöveti felépítésű szervek közé tartozik, mindössze három alapvető szerkezeti eleme van:

(1) a portális vénából, májartériából és interlobuláris epeútból álló portális triász;

(2) a centrális vagy hepatikus véna terminális ágai;

(3) és a két képlet között hepatocitagerendákba rendezett májparenchima.

A májszövet legnyilvánvalóbb és máig is legáltalánosabban elfogadott alegysége a lebenyke vagy lobulus, melynek szögleteiben portális terek, a közepén pedig a centrális véna található.

Patkánymájban a lebenyke szélén elhelyezkedő szinuszoidok speciális elrendeződése biztosítja a portális véna által szállított vér egyenletes elosztását a lebenyke területén.

Ettől eltérően humán májban a klasszikus lebenyekék határvonalán, egy erekben igen gazdag, vaszkuláris szeptumnak nevezett képlet alakul ki, mely tartalmazza a portális véna terminális ágait, és biztosítja a májlebenyke nagyjából egyenletes vérellátását. Humán májban a májartéria terminális ágainak lefutása, végződésük a lebenyke szintjén, jelenlétük a vaszkuláris szeptumban nem ismert.

A májsejtek által termelt epe elvezetéséről összetett csatornahálózat gondoskodik. Ennek legdisztálisabb, már saját bazális membránnal rendelkező szakasza a Hering csatorna. A Hering csatornák tanulmányozása egészen a múlt század végéig, a májra vonatkozó vizsgálatok legelhanyagoltabb területei közé tartozott, míg fel nem merült annak a lehetősége, hogy a Hering csatornákat alkotó sejtek, bizonyos körülmények között képesek összejként viselkedni. Ez esetben pedig ez az epeút-szakasz lenne a hepatikus összejek fenntartását biztosító „fészek” vagy közismertebb nevén „niche”.

Ezt követően nagyobb figyelem fordult erre a területre, azonban ezeket a képleteket változatlanul csak a pozíciójuk alapján lehetett felismerni és fénymikroszkópos szinten, semmilyen jellegzetes markerüket nem sikerült azonosítani.

Szerkezetükről az elektronmikroszkópia elterjedését követően egyre többet tudunk meg. Általában rövid, néhány sejt hosszúságú képződményként írták le őket a portális mezők szélén, alkotásukban közösen vesznek részt hepatociták és kolangiociták. Körülöttük folyamatos „U” alakú bazális membrán található.

I.2 A máj szomatikus őssejtjei

A Hering csatornában található hepatikus őssejteknek nem feladatuk a mindennapi sejtvesztés pótlása, csak akkor aktiválódnak, ha a májsejtek olyan károsodást szenvednek, hogy nem képesek hatékonyan részt venni a regenerációban, ezért gyakran nevezik őket fakultatív őssejtnak. Differenciálódási potenciáljuk beszűkült, de egyértelműen bizonyított, hogy legalább két irányba, hepatocitákká és epeút hámsejteké is képesek átalakulni. A máj őssejtjeiből származó progenitor sejtek patkánymájban az ovális sejtek, humán májban az intermedier hepatobiliáris sejtek. Az egyik leggyakrabban alkalmazott ovális sejtek proliferációjával járó vizsgálati modell patkányban a 2-acetilaminofluorén kezelés 70 %-os parciális hepatektómiával (AAF/PHx) kombinálva.

Számos humán májelváltozásban figyelhető meg duktuláris képletek megjelenésével járó szöveti reakció, ezek közül az ovális sejtes proliferációhoz leginkább hasonló, a fulmináns májelégtelenség során kialakuló atípusos duktuláris reakció. Mind az ovális sejtek, mind pedig az intermedier hepatobiliáris sejtek szűk lumenű, bazális membránnal körülvett csöveket alkotnak. A progenitor sejteket mind humán, mind pedig patkánymájban részletesen jellemezték, embrionális és felnőtt májsejtekre, epeút hámsejtekre, neuroendokrin sejtekre és csontvelői őssejtekre jellemző markerek széles skáláját expresszálják.

I.3. A Thy-1 jelentősége

A transzifferenciáció jelenségének tanulmányozása során a különböző csontvelői hemopoetikus őssejtmarkerek, így a CD90 (Thymus cell antigen-1 vagy Thy-1) jelenlétét is fokozott érdeklődéssel vizsgálták, mind patkány mind pedig humán májban az őssejtmediált májregeneráció során megjelenő primitív progenitor sejtek felszínén. Petersen és munkatársai 1998-ban írták le, hogy a Thy-1 antigén kimutatható az ovális sejteken is, ami alátámasztaná a májőssejtek csontvelői eredetét. Más közlemények humán májban is a progenitor sejtek Thy-1 pozitivitásáról számolnak be. S bár a Thy1 expresszióját több különböző sejttypuson is leírták, mégis ez a fehérje rövid idő alatt nagyon népszerű és széleskörűen alkalmazott progenitor sejt markerré vált.

Később azonban megjelentek olyan közlemények is, melyek nem voltak összeilleszthetőek, sőt ellentmondásban voltak a fentebb vázolt

elképzelésekkel. Hoppo és munkacsoportja leírja, hogy a progenitor sejtek érését egérmájban Thy-1 pozitív mezenchimális sejtek segítik.

Kamo és munkatársai szintén a Thy-1 pozitív mezenchimális sejtekről számolnak be és a progenitor sejtek érésében betöltött szerepüket vizsgálják.

II. CÉLKITŰZÉSEK

A Hering csatornák azonosítását megkönnyítő, jellegzetes immunfenotípust sem a rágcslók, sem a humán májakban nem ismerünk, így jelen tanulmányban célul tűztük ki:

I. A máj saját őssejtkompartmentjének legvalószínűbb forrásául („stem cell niche”) szolgáló Hering csatornák jellemzése ép humán és patkány májban;

I.1. A Hering csatornák mikroanatómiája, megoszlása a májszövetben;

I.2. A Hering csatornák immunfenotípusának jellemzése.

II. A Thy-1 antigén expressziójának vizsgálata nagy feloldóképességű morfológiai módszerekkel májszövetben, a Thy-1 pozitív sejtek pontos azonosítása:

II.1 A Thy-1 expresszió vizsgálata ép humán és patkány májban;

II.2 A Thy-1 expresszió vizsgálata a májregeneráció során;

II.2a. A Thy-1 expresszió vizsgálata ovális sejtek részvételével zajló regeneráció során patkánymájban;

II.2b. A Thy-1 expresszió vizsgálata regenerálódó humán májmintákban.

III. ANYAG ÉS MÓDSZER

III.1. Állatkísérletek

Az F-344 törzsbe tartozó hím patkányokat az AAF/PHx protokollnak vetettük alá. A parciális hepatektómia után különböző időpontokban leölt (időpontonként és kísérletenként legalább 3-3 állat) állatok máját eltávolítás után folyékony nitrogénele lehűtött izopentánban fagyasztottuk, majd a mintákat felhasználásig $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ tároltuk. A tenyésztés és a kísérletek során a Semmelweis Egyetem kísérleti állatok gondozására kidolgozott ajánlásait követtük.

III.2. Humán minták

A felnőtt humán májminták balesetben elhunyt személyekből, az újszülött májminták fejlődési rendellenesség nélküli koraszülöttekből származtak. A duktuláris proliferációt tartalmazó májminták (3 éves kislány, 55 éves nő) fulmináns májelégtelenség miatt májtranszplantáción átesett betegek eltávolított májából származtak.

A mintákat folyékony nitrogénele lehűtött izopentánban fagyasztottuk le, és felhasználásig $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A humán mintákon végzett kísérleteket a Semmelweis Egyetem Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága 141/2005 számú határozatában engedélyezte.

III.3. Morfológiai vizsgálatok

A fagyasztott májakból készült metszetek indirekt immunhisztokémiai vizsgálatával jellemeztük a Hering csatornákat patkány illetve humán májakban. A Hering csatornák elrendeződésének vizsgálatokor sorozatmetszeteket használtunk. A regeneráció során a Thy-1 pozitív sejtek pontos elhelyezkedésének vizsgálatához hármás immunhisztokémiai vizsgálatokat alkalmaztunk.

III.4. Kolokalizációs vizsgálatok

A Thy-1 pozitív sejtek azonosításához a kolokalizációs vizsgálatokat a NIH Image J nevű programjával végeztük el.

III.5. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

A Thy-1 pozitív sejtek részletes vizsgálatához elektronmikroszkópos, immunelektronmikroszkópos vizsgálatokat is végeztünk.

III.6. Génexpressziós vizsgálatok

Az AAF/PHx protokoll szerint kezelt állatok májából ovális sejteket mikrodisszekáltunk PALM MicroBeam lézer mikrodisszektor segítségével. A disszekált sejtekből valamint ép patkány májból, de AAF/PHx protokoll szerint kezelt teljes májmintákból is RNS-t izoláltunk. Valamennyi minta esetében reverz transzkripciót követő valós-idejű kvantitatív PCR (Q-RT-PCR) analízissel, a Δ CT módszert alkalmazva végeztük el az AFP, a Thy-1, valamint az SMA mRNS-ének mennyiségi meghatározását.

IV. EREDMÉNYEK

IV.1. Az epeutak elrendeződése és immunfenotípusa ép patkány májban

Normál patkánymájából készített fagyasztott metszeteken a laminin pozitív bazális membránnal határolt interlobuláris epeutak erős citoplazmatikus pozitivitást mutattak mind citokeratin7 (CK7), mind pedig citokeratin19 (CK19) festéssel. Részletesen elemezve az immunhisztokémiai reakciókat, a portális mezők szélén olyan kis epeutak voltak megfigyelhetőek, melyek bár festődtek CK19 antitesttel, de CK7 expresszió nem volt bennük kimutatható. Ezek körül a kis epeutak körül is mindig megfigyelhető volt bazális membrán, ami a Hering csatornákra jellemző parenchima felé nyitott, „U” alakú elrendeződést mutatott. Ez a különleges CK19+/CK7– citokeratin mintázat tehát lehetővé teszi a Hering csatornáknak a nagy epeutaktól való elkülönítését ép májszövetben.

Részletesen elemezve, sorozatmetszeteken végigkövetve a CK7 negatív epeutak lefutását, oszlási mintázatuk alapján 3 fő ductulus-típust sikerült elkülöníteni, előfordulási arányuk az elemzett metszeteken nagyjából azonos volt és soha nem lépték át a határoló lemezket, a májlebenyke belsejében nem találtunk sem CK7, sem CK19 pozitív epeutakat.

IV.2. Az epeutak elrendeződése és immunfenotípusa ép humán májokban

Vizsgálataink során az ép humán májban minden epeút CK19+/CK7+ kettős pozitívnek bizonyult, tehát a patkányban megismert CK19+/CK7- immunfenotípus humán májban nem alkalmas a Hering-csatornák azonosítására.

Vizsgálataink során számos, irodalomban gyakran leírt progenitor sejt marker (AFP, kromogranin, szinaptofizin, DMBT, DLK, CEA, CK20 és CK14) jelenlétét nem sikerült detektálnunk az epeutakban, mások pedig nem különítették el a vaszkuláris szeptumban található, kis epeutakat a portális terekben elhelyezkedő nagyobb interlobuláris epeutaktól (EpCAM, E-cadherin). A vizsgált markerek közül, csupán három fehérje expressziójában mutatkozott különbség: EMA, CD133 és a CD56.

Az EMA (epiteliális membrán antigén) jellegzetes lineáris membrán lokalizációjú reakciót adott az interlobuláris epeút-hámsejtek

apikális pólusán, azonban a vaszkuláris szeptumban található epeutak EMA negatívnak bizonyultak. Ettől eltérően a CD133 és CD56 főként a vaszkuláris szeptum kis epeútjaiban expresszáldtak.

Sorozatmetszeteken vizsgálva az epeutak lefutását azt találtuk, hogy a szomszédos portális terektől indulva egy képzeletbeli porto-portális vonal mentén, a vaszkuláris szeptumban haladnak, a porto-portális szakasz feléig terjednek be. Az epeutak mindig perilobulárisan, a májlebenyekék között haladtak. Mind a portális térben, mind pedig a vaszkuláris szeptumban elhelyezkedő epeutakat immunhisztokémiai reakcióval jól látható kevés I-es típusú kollagént tartalmazó mátrix veszi körül, mely azonban speciális kötőszöveti festéssel (pikroszírúsz) sem volt kimutatható. Perilobuláris lefutásuk során az epeutakat a vaszkuláris szeptumban erek kísérik. A CD31 pozitív vaszkuláris képletek közül a közvetlenül az epeutak mellett haladó erek az NG2 artéria markerrel is festődést mutattak.

A Hering csatornák ép humán májban a májparenchimához közel, de szintén a májlebenyke területén kívül, a vaszkuláris szeptumban helyezkednek el. Jellemző rájuk CD56+/CD133+/EMA– immunfenotípus.

IV.3. A Thy-1 expresszió ép patkány és humán májokban

Kontroll patkánymájban a Thy-1 expressziója a periportális területekre korlátozódik: Thy-1 pozitív idegrostokat találtunk a periportális tér képletei körül, legintenzívebben a májartéria ágai körül. Az idegrostokon kívül a Thy-1 egy, a nagy epeutakat körülvevő felhőszerű struktúrát is jelöl. Ezt a felhőszerű képletet a nagy epeút bazális membránján kívül egy rétegben elhelyezkedő, megnyúlt sejtek alkotják, melyek teljesen hiányoznak a kisebb epeutak körül.

A normál patkánymáj dezmin, Thy-1 és simaizom aktin (SMA) expressziójának összehasonlítását sorozatmetszeteken a fenti markerek immunhisztokémiai kombinálásával végeztük el. A dezmin a májparenchimában található „stellate” sejteket a portális térben a vaszkuláris képleteket jelöli, és jelzi a nagyobb epeutak körül található peribiliáris kapilláris plexust is. A Thy-1-et a peribiliáris kapilláris plexus is expresszálja valamint a periportális kötőszövetben is megfigyelhető néhány Thy-1 pozitív sejt. Az SMA csak a portális véna-, a májartéria-, valamint a peribiliáris kapilláris plexus falában expresszáldódik. Ép patkánymájban tehát a peribiliáris kapilláris plexus szintjén a Thy-1, simaizom aktin és dezmin kolokalizációja figyelhető meg, de a nagy epeutak körül található Thy-1 pozitív sejtek SMA és dezmin negatívnak bizonyultak.

A Thy-1 expressziót megvizsgáltuk ép humán máj különböző fejlődési stádiumaiban és felnőtt korban egyaránt. Az itt megvizsgált epeutak hámsejtjei minden vizsgált időpontban Thy-1 negatívnak bizonyultak.

IV.4. Thy-1 expresszió a májregeneráció során

Parciális hepatektómia után 9 nappal az ovális sejtek alkotta, szűk lumennel rendelkező csövek betérjednek a májlebenyke területére. A duktusok folyamatos bazális membránnal rendelkeznek. A Thy-1 szignál a duktusok közelében, de azok bazális membránján kívül látható.

Ezt az eredményt megerősítettük immunelektronmikroszkópos vizsgálatokkal. Thy-1 pozitív reakciónak megfelelő fekete csapadék csak a periduktális sejteken és a duktusokat körülvevő, a bazális membránhoz ugyan közel, de ezen kívül elhelyezkedő, hosszú citoplazmatikus nyúlványokon figyelhető meg.

Az irodalomban jól ismert jelenség a Thy-1 molekula „sheddingje”, azaz vedlése. Felmerült, hogy az ovális sejtek által termelt Thy-1 vedlés révén kerül a periduktális sejtekre. Ezért megvizsgáltuk a Thy-1 mRNS expresszióját lézer mikrodisszekcióval nyert ovális sejtpopuláción is.

Míg a kontroll májmintákban a GAPDH-hoz viszonyítva kis mennyiségű alfafetoprotein, Thy-1 és SMA mRNS volt jelen, addig az AAF/PHx-modellben, a májszövetből izolált mintában a Thy-1 és SMA mellett az ovális sejtek jelenlétének megfelelően óriási alfafetoprotein szintet detektáltunk.

A lézer mikrodisszekcióval nyert ovális sejt populációban csupán ezekre a sejtekre jellemző alfafetoprotein mRNS-t találtunk, SMA és Thy-1 mRNS-t nem sikerült detektálnunk.

Elhelyezkedésük és morfológiájuk alapján a Thy-1 pozitív sejtek leginkább miofibroblasztnak, vagy „stellate” sejtnek feleltek meg, így immunhisztokémiai vizsgálataink során ezek legismertebb markerével az SMA-val és dezminnel is kombináltuk a Thy-1 antitestet. A kolokalizációs vizsgálatok elvégzése után a Thy-1 pozitív sejtek 81%-a bizonyult SMA pozitívnak is, az SMA sejtek 58%-a volt Thy-1 pozitív is. Hasonló kolokalizációs kísérletben a Thy-1 pozitív sejtek csupán 6,8%-a bizonyult desmin pozitívnak is.

Humán májban az atípusos duktuláris reakció során, periportálisan, az ovális sejtek alkotta csövekhez hasonló, szűk lumennel és folytonos bazális membránnal rendelkező, intermedier hepatobiliáris sejtek által felépített duktusok figyelhetőek meg. A duktusok között hosszú citoplazmatikus

nyúlványokkal rendelkező Thy-1 pozitív sejtek helyezkednek el, az intermedier hepatobiliáris sejtek nem festődtek a Thy-1 ellenanyaggal.

V. KÖVETKEZTETÉSEK

A dolgozat fő megállapításai a következők:

I. A máj szomatikus őssejtjei számára speciális mikrokörnyezetet biztosító Hering csatornákra patkány és humán májakban egyaránt speciális elrendeződés és egyedi, az azonosításukat lehetővé tevő immunfenotípus jellemző:

I.1. Patkánymájban ezek az epeutak periportálisan helyezkednek el, itt csatlakoznak a zárólemezkét alkotó hepatocitákhoz és CK19+/CK7– festődésűek.

I.2. Humán májmintákban ezek az epeút-szakaszok intraparenchimálisan ugyan, de a májlebenyékék területén kívül, rudimenter vaszkuláris szeptumban a májartéria és portális véna terminális ágaival együtt haladnak és CD56+/CD133+/EMA– immunfenotípus jellemzi őket.

II. A Thy-1 mRNS és fehérje egyaránt jelen van az ép és regeneráló májszövetben:

II.1. Ép humán és patkány májban a peribiliárisan elhelyezkedő Thy-1 pozitív sejtek, SMA és dezmin negativitásuk miatt leginkább „portális fibroblaszt”-nak felelnek meg. A Thy-1 antitesttel festődést mutattak a portális térben található idegrostok is.

II.2. A regeneráció során:

II.2.a. Patkánymájban az ovális sejtek nem expresszálnak Thy-1-t, tehát a Thy-1, mint hemopoetikus őssejtmarker nem alkalmas az ovális sejtek csontvelői eredetének vizsgálatára és bizonyítására. Kimutattuk, hogy a Thy-1 mRNS és fehérje nem az ovális sejtekben, hanem a velük szoros közelségben, bazális membránon kívül elhelyezkedő miofibroblasztokon van jelen.

II.2.b. Humán májakban a regeneráció során az intermedier hepatobiliáris sejtek szintén Thy-1 negatívnak bizonyultak; a Thy-1 fehérje az intermedier hepatobiliáris sejtek alkotta csövek körül elhelyezkedő miofibroblasztokat jelöli.

VI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés témájában megjelent közlemények:

1. Paku S, Dezső K, Kopper L, Nagy P. Immunohistochemical analysis of cytokeratin 7 expression in resting and proliferating biliary structures of rat liver. *Hepatology* 42:863-870, 2005
IF.: 9,792;
Független idézetek száma: 17
Saját idézetek száma: 2
2. Dezső K, Jelnes P, László V, Baghy K, Bödör Cs, Paku S, Tygstrup N, Bisgaard HC, Nagy P. Thy-1 is expressed in hepatic myofibroblasts and not oval cells in stem-cell mediated liver regeneration. *American Journal of Pathology*,171:1529-37, 2007
IF.:5,487;
Független idézetek száma: 31
3. Dezső K, Halász J, Bisgaard HC, Paku S, Turányi E, Schaff Zs, Nagy P. Delta-like protein (DLK) is a novel immunohistochemical marker for human hepatoblastomas. *Virchows Arch.* 452:443-8, 2008
IF.:2,082
Független idézetek száma: 6
Saját idézetek száma: 1
4. Dezső K, Paku S, Papp V, Turányi E, Nagy P. Architectural and immunohistochemical characterization of biliary ductules in normal human liver. *Stem Cells Dev*, 18: 1417-1422, 2009
IF: 4,146
Független idézetek száma: 2
5. Dezső K, Bugyik E, Papp V, László V, Döme B, Tóvári J, Timár J, Nagy P, Paku S. Development of arterial blood supply in experimental liver metastases. *American Journal of Pathology*, 175:835-43, 2009
IF.: 5,673
Független idézetek száma: 3
Saját idézetek száma: 2

. Egyéb témában megjelent közlemények:

1. László V, Dezső K, Baghy K, Papp V, Kovalszky I, Sáfrány G, Thorgeirsson SS, Nagy P, Paku S. (2008) Triiodothyronine accelerates differentiation of rat liver progenitor cells into hepatocytes. *Histochem Cell Biol.* 130:1005-14.
2. Kóbori L, Nagy P, Máthé Z, Hartmann E, Doros A, Paku S, Dezső K, Sági Z. (2008) Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor of the Liver: A Case Report. *Pathol Oncol Res*, 14:329-32.
3. Papp V, Dezső K, László V, Nagy P, Paku S. (2009). Architectural changes during regenerative and ontogenic liver growth in the rat. *Liver Transplant*, 15:177-183.
4. Turányi E, Dezső K, Paku S, Nagy P. (2009) DLK is a novel immunohistochemical marker for adrenal gland tumors. *Virchows Arch*, 455:295-9.
5. Moskovszky L, Dezső K, Athanasou N, Szendrői M, Kopper L, Kliskey K, Picci P, Sági Z. (2010) Centrosome Abnormalities in Giant Cell Tumour of Bone: Possible Association with Chromosomal Instability. *Modern Pathology*, 23:359-66.
6. Turányi E, Dezső K, Csomor J, Schaff Zs, Paku S, Nagy P. (2010) Immunohistochemical classification of ductular reactions in human liver. *Histopathology*, 57:607-14,
7. Turányi E, Dezső K, Bugyik E, Szurián K, Paku S, Nagy P. (2010) The primary mitogen (TCPOBOP)-induced hepatocyte proliferation is resistant to transforming growth factor- beta-1 inhibition. *Liver International*, 30:1505-10.
8. Baghy K, Dezső K, László V, Fullár A, Péterfia B, Paku S, Nagy P, Schaff Zs, Iozzo R, Kovalszky I. (2011) Ablation of the decorin gene enhances experimental hepatic fibrosis and impairs hepatic healing in mice. *Lab Invest*, 91:439-51.

9. Paku S, Dezső K, Bugyik E, Tóvári J, Tímár J, Nagy P,Laszlo V, Klepetko W, Döme B. (2011) A new mechanism for pillar formation during tumor-induced intussusceptive angiogenesis: Inverse sprouting. Am J Pathol, 179:1573-85.

VII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet szeretnék mondani mindazoknak, akik segítettek PhD munkám elkészítését:

-A szakmai fejlődés izgalmas, de olykor krízisekkel tűzdelt útján mindig segítségemre voltak: témavezetőm Prof.Dr.Nagy Péter és Dr.Paku Sándor, akiknek, ezért hálás köszönettel tartozom; intellektuális eleganciájuk és szakmai nagyvonalúságuk, valamint társadalomkritikai látásmódjuk követendő példát állított, mint ahogy naprakész tudományos felkészültségük is. Dr.Paku Sándornak metodikai ismereteim jelentős részét is köszönhetem.

-Tisztelettel köszönöm a Patológiai Doktori Iskola vezetőjének, Prof.Dr.Kopper Lászlónak a támogatását, nagyon hálás vagyok, hogy 2005-ben lehetővé tette, hogy elkezdhessem PhD tanulmányaimat.

-Köszönöm Prof.Dr.Matolcsy András intézetiigazgatónak lelkes támogatását, az általa vezetett citológiai diagnosztikai labor valamint a hematopatológiai labor munkaközösségének külön köszönöm a munkámban nyújtott segítségüket.

-Hálás vagyok Dr.Tímár Ferencnek a TDK-s éveim alatt és a PhD tanulmányaim során nyújtott folyamatos szakmai segítségéért, és baráti támogatásáért.

-Nagyon sok köszönet illeti Prof.Dr.Pávai Zoltán-t, aki kezdetektől szemtanúja illetve aktív alakítója volt a szakmai „küzdemeimnek”.

-A dolgozatommal kapcsolatban a rengeteg tanácsot, "helyjessirassy" hibáim kijavítását, a szakmai kérdéseket - amelyek alapján dolgozatom átszerkesztettem, hogy egyszerűbb, közérthetőbb és szakmai szempontok alapján mégis megfelelő munkát készíthessek -, házi opponensemnek, Prof.Dr.Kovalszky Ilonának köszönhetem.

-Köszönöm Bugyik Edinának baráti és szakmai támogatását, valamint az igen kellemes „laborhangulat” megteremtését.

Köszönöm Dr.Spisák Sándornak szakmai segítségét és hasznos tanácsait.

Hálás vagyok továbbá a Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai Intézet munkatársainak, hogy munkám során segítettek és támogattak, név szerint Dr. Baghy Kornéliának, Dr. Bödör Csabának, Dr. Balogh Zsófiának, Dr.Moskovszky Lindának, Csizmadia Annamáriának.

Végül, de elsősorban köszönöm családomnak, hogy mindvégig támogattak, biztattak, biztosították a munkámhoz szükséges nyugodt hátteret, nélkülük ez a disszertáció nem készülhetett volna el.