

# **Primer mitogének hatása patkányban az őssejtek részvételével zajló májregenerációra**

Doktori tézisek  
**László Viktória**

Semmelweis Egyetem  
Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Paku Sándor, tudományos főmunkatárs, PhD

Hivatalos bírálók: Dr. Firneisz Gábor, egyetemi tanársegéd, PhD  
Dr. Réz Gábor, egyetemi docens, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Szendrői Miklós, egyetemi tanár,  
PhD, MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Simon Károly, egyetemi  
magántanár, PhD, MTA doktora  
Dr. Kóbori László, egyetemi docens,  
PhD

**Budapest  
2009**

## I. BEVEZETÉS

Egészséges felnőtt májban egyensúly áll fenn a májsejtek osztódása és pusztulása között. Sérülés hatására ez az egyensúly felborul, ilyenkor az elpusztult májsejtek különböző forrásokból pótlódhatnak: 1. A regeneráció leggyakrabban a megmaradó hepatocyták osztódásával történik. 2. Súlyosabb sérülés esetén, ha a májsejtek nem képesek helyreállítani a homeosztázist, aktiválódnak a máj intrahepatikus őssejtjei. Ezek a terminális intrahepatikus epeutak, az ún. Hering-csatornák falában helyezkednek el. 3. Extrahepatikus eredetű, elsősorban csontvelői őssejtek is képesek májsejtek képzésére, ez a folyamat azonban fiziológias körülmények között olyan kis határfokkal megy végbe, hogy mai tudásunk szerint nem játszik érdemi szerepet a regenerációban.

Bár formálisan nem sikerült igazolni a Hering-csatornákat felépítő sejtekben az őssejtekkel szemben támasztott kritériumok meglétét (önmegújulás, aszimmetrikus osztódás), az eddigi vizsgálatok alapján ma általánosan elfogadott nézet, hogy ezek a sejtek felelnek meg a máj szöveti (*adult*) őssejtjeinek. A legtöbb egyéb tanulmányozott őssejttől különbözően azonban ezek a sejtek nem vesznek részt a máj mindennapi megújulásában, sőt olykor a regenerációban sem. A máj őssejtrendszer csak akkor aktivizálódik, ha a differenciáltabb májsejtek valamilyen ok miatt (kiterjedt pusztulás, DNS-károsodás, sejtöregedés) nem képesek válaszolni a regeneratív stimulusra. Ezért szokás őket fakultatív őssejteknek is nevezni. Az ovális sejtek, vagy máj progenitor sejtek az őssejtek utódai. Differenciálódási potenciáljuk beszűkült, de egyértelműen bizonyított, hogy legalább két irányba, hepatocytákká és epeút hámsejteké is képesek átalakulni. Osztódási aktivitásuk viszont magas, ezért szokták őket az őssejtek amplifikációs kompartmentjének is hívni. Az őssejt

rendszer aktiválódásának eredményeként megjelenő ovális sejtek csőszerű képleteket hoznak létre, melyek a Hering-csatornák meghosszabbodásainak tekinthetőek, mindig a portális régió felől terjeszkednek a parenchyma irányába.

Az őssejtek tanulmányozása felnőtt májban különösen nehéznek bizonyult. Fakultatív jellegük és az ovális sejtek fenotípusos heterogenitása egyaránt megnehezíti vizsgálatukat. Számos rágcső modell létrehozta vizsgálatukra. Ezek általában egy, a májsejtek proliferációját gátló vegyület (pl. 2-acetaminofluorén - AAF), és egy májkárosító, az élő májsejtek számára drasztikusan csökkentő ágens (pl. CCl<sub>4</sub>, parciális hepatektómia - PH) kombinációjából állnak. Mivel az osztódásukban gátolt hepatocyták nem tudják helyreállítani a máj homeosztázisát, a fakultatív őssejtek aktiválódnak. Talán a legtöbbet tanulmányozott és legrészletesebben elemzett patkány ovális sejt proliferációs modell az AAF/PH kísérleti rendszer, ami az ovális sejtek létrejöttének, proliferációjának és differenciálódásának a tanulmányozására egyaránt kiválóan alkalmas. A kísérlet két, 4-7 nap hosszúságú, gasztrikusan adagolt 2-AAF kezelésből áll. A két periódus között egy nap szünetet tartanak, amikor hagyományos 70%-os PH-t végeznek. Az eredeti magyarázat szerint a 2-AAF a hepatocytákban metabolizálódik és a létrejövő aktív metabolit (N-OH AAF) a DNS-hez kötődve megakadályozza a májsejtek osztódását, emiatt azok nem tudnak reagálni a PH által indukált proliferatív stimulusra, így aktivizálódnak a Hering-csatornákat felépítő őssejtek. Az első ovális sejtek már 2-3 nappal a műtét után megfigyelhetőek a májban, számuk fokozatosan emelkedik és - részben az alkalmazott 2-AAF dózistól függően - 7-12 nappal a hepatektómia után az ovális sejtek egy része kis hepatocytákká alakul differenciálódás révén.

Az ovális sejtek az embrionális és felnőtt májsejtekre, az epeút hámszejtekre és a csontvelői őssejtekre jellemző markerek széles skáláját expresszálják. Immunfenotípusukat tekintve bizonyos heterogenitás figyelhető meg közöttük. Ez arra enged következtetni, hogy a különböző markerekkel rendelkező sejtek a progenitor sejtek, ill. azok különböző szinten differenciálódott utódsejtjei, melyek proliferációs képessége is eltérő. Patkányban jelenleg két olyan fehérje ismert, ami a kifejlett májban kizárólag az ovális sejtekben termelődik és az epeutak hámsajtjeiben nincs jelen. Az egyik az alfa-fetoprotein (AFP), a másik pedig a delta-like protein (dlk).

Az ún. duktuláris reakciót humán májakban is leírták, először vírus hepatitiszben, később azuán számos egyéb májelváltozásban is megfigyeltek hasonló szöveti reakciót: az extrahepatikus epevezeték akut vagy krónikus elzáródása, primer biliáris cirrhózis, choleisztázis, alkoholos májbetegség, máj nekrosis utáni regeneráció,  $\alpha$ -1-antitripszin hiány és Wilson-kór stb. Számos megfigyelés támasztja alá, hogy ezek a duktuláris reakciók, vagy legalábbis ezek egy része, ha morfológiailag eltérő is az ovális sejtektől, biológiaiilag azokkal ekvivalensnek tekinthető.

A primer májsejt mitogének (PM) közé olyan vegyületek tartoznak, melyek előzetes károsodás nélkül is serkentik a májsejtek osztódását. A kezelést követően a máj DNS-tartalma 2-3 napon belül megduplázódhat. A trijód-tironin (T3) és az ólom-nitrát is primer májsejt mitogén. Egyes primer mitogénekről leírták, hogy *in vitro* nem csak a máj hepatocyták általi regenerációját serkentik, de az ovális sejtek proliferációját és differenciációját is pozitívan befolyásolják. *In vivo* modellben eddig nem vizsgálták ovális sejtekre kifejtett hatásukat, ezért kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy az általunk kiválasztott két primer mitogénnel, a trijód-tironinnal (T3) és az ólom-nitráttal lehet-e befolyásolni

a máj progenitor sejtes regenerációját az AAF/PH patkány modellben.

## II. CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy a trijód-tironin és az ólom nitrát milyen hatással van a patkány máj őssejtek részvételével történő regenerációjára.

Főbb kérdéseink a következők voltak:

Milyen hatással vannak primer mitogének az ovális sejtek részvételével zajló májregenerációra?

- Befolyásolható-e az ovális sejtek proliferációja primer mitogénekkal?
- Hatással vannak-e ezek a vegyületek az ovális sejtek differenciálódásának ütemére?
- Ha létezik ilyen hatás, van-e annak a szervezet egészére vonatkozó következménye?

## III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### III. 1. Állatkísérletek

Az F-344 törzsbe tartozó hím patkányokat az AAF/PH protokollnak vetettük alá, majd PM-mel (ólom-nitráttal, vagy T3-mal) kezeltük őket. A primer mitogén adása után 48 órával leöltük őket, a test és a máj tömegét jegyzőkönyvben rögzítettük, a máj egy részét paraformaldehidben fixáltuk, a többit lefagyasztottuk. A laboratóriumi vizsgálatokhoz a vért a szív jobb kamrájából szívtuk le.

### III. 2. Morfológiai vizsgálatok

A fagyasztott májakból készült metszetek immunhisztokémiai vizsgálatával jellemeztük az ovális sejtekre (AFP, OV-6, dlk), ill. májsejtekre jellemző (HNF-4, CYP-450, connexin 32,  $\alpha$ 1 integrin, CD26) fehérje markerek változásait.

### III. 3 Az ovális sejtek és a kis májsejtek BrdU jelölődési indexének (*labeling index*, LI) meghatározása

Az osztódó sejteket *pulse* BrdU módszerrel jelöltük meg. A nukleotid analógot 1 órával a PM kezelés után adva az csak az S

fázisban lévő sejtek DNS-ébe épül be. A *pulse* jelölést 18, 24, 48 és 96 órával a mitogén kezelés után végeztük, az ovális sejtek és a kis májsejtek proliferációs indexének meghatározásához. A metszeteken az ovális csöveket körülölelő bazális membránt laminin ellenanyaggal jelöltük meg, majd a DNS denaturációjával a beépült nukleotid analógokat az anti-BrdU ellenanyag számára hozzáférhetővé tettük. Random módon választottuk ki azokat a portális traktusok körüli részeket, ahol aztán meghatároztuk a folyamatos bazális membrán által határolt területeken belül az összes és a BrdU pozitív sejtmagok számát.

A kis májsejteket HNF-4 ellenanyaggal azonosítottuk, majd a fent leírt módon itt is BrdU elleni antitesttel jelöltük meg az osztódó sejteket. A kiválasztott területeken az összes, illetve a BrdU pozitív kis hepatocytá sejtmagokat számoltuk, majd meghatároztuk azok arányát.

### III. 4. A kis májsejtek eredetének vizsgálata

Annak bizonyítására, hogy a mitogén kezelés hatására megjelenő kis májsejtek az ovális sejtekből származnak, szelektíven megjelöltük az ovális sejtek DNS-ét. Ezt két különböző *pulse chase* módszerrel is vizsgáltuk, BrdU módszerrel és egy olyan olyan amfotróp retrovirális vektorral is, ami az *E. coli*  $\beta$ -galaktozidáz ( $\beta$ -gal) enzime mellett az SV 40 nagy T antigén nukleáris lokalizációs szignáljának szekvenciáját is hordozza. A nukleotid analóghoz hasonlóan a retrovírust is csak az S fázisban levő sejtek veszik fel.

A két módszer elve hasonló, a mitogén kezelés előtt vagy a BrdU-val, vagy az  $\beta$ -gal génjét hordozó retrovírussal megjelöltük az osztódó sejteket, ezután T3-mal kezeltük őket. A T3 adása előtt leölt *pulse* állatok májának vizsgálatával kideríthetjük, hogy mely sejtpopuláció jelölődik. A kezelés utáni *chase* időpontban pedig, hogy milyen sejtek lettek ezekből a sejtekből. A *chase* időpontban leölt állatokban talált pozitív sejtek a *pulse* periódusban pozitív sejtek utódainak tekinthetők.

A retrovírussal fertőzött sejteket a  $\beta$ -galaktozidáz elleni antitesttel mutattuk ki, az inkorporálódott nukleotid analógot pedig BrdU ellenanyaggal.

### III. 5. Génexpressziós vizsgálatok

Ehhez a kísérlethez a (i) T3-mal kezelt állatok májából ovális sejteket és (ii) kis májsejteket, a (iii) T3 oldószerével kezelt kontroll állatok májából ovális sejteket, (iiii) a teljesen ép, egészséges májából pedig kontroll májsejteket mikrodisszektáltunk PALM MicroBeam lézer mikrodisszektor segítségével. A disszektált sejtekből RNS-t izoláltunk. Valamennyi minta esetében reverz transzkripciót követő valós-idejű kvantitatív PCR (Q-RT-PCR) analízissel, a  $\Delta\Delta C_T$  módszert alkalmazva végeztük el az AFP, az albumin, a tirozin-aminotranszferáz (TAT), valamint a triptofán 2, 3-dioxigenáz (TO2) mRNS-ének mennyiségi meghatározását.

## IV. EREDMÉNYEK

### IV. 1. A trijód-tironin hatása a máj progenitor sejtek részvételével zajló regenerációjára

A T3 hatására a máj tömege 48 óra alatt szignifikánsan megnövekedett a hasonlóképpen AAF/PH protokoll szerint kezelt, de T3 helyett csak oldószert kapott patkányokéhoz képest ( $2,6\% \pm 0,41$  vs.  $2\% \pm 0,25$ ,  $p < 0,05$ ). Emellett a kezelt és a kezeletlen májak eltérő szövettani képet is mutattak. A mitogén hatására az ovális sejtek nagy része 2 nap alatt eltűnt, helyettük megjelentek a kis, bazofil májsejtek, melyek a periportális régióban voltak megfigyelhetőek. Az AAF/PH modellben a jelen kísérletben alkalmazott körülmények között (de T3 kezelés nélkül) az ovális sejtek 2 nappal a PH után, a kis májsejtek pedig 9 nappal később, a parciális hepatektómiát követő 11. napon jelennek meg. A T3 hatására a kis hepatocyták már a PH utáni 7. napon megtalálhatóak, az ovális sejtek száma pedig erősen lecsökkent.

### IV. 2. A T3 hatása az ovális sejtek és a kis hepatocyták proliferációjára

A DNS-szintézis mértékét *pulse* BrdU - jelöléssel határoztuk meg a T3 kezelés után 18, 24, 48 és 96 órával. A régi májsejtekben egyetlen esetben sem figyeltünk meg számottevő inkorporációt, a 2-AAF májsejtekre gyakorolt osztódást gátló hatása tehát a kísérlet alatt nem csökkent. A T3-kezelt patkányok ovális sejtjei a mitogén adása után 18 órával szignifikánsan gyorsabban osztódtak, mint a kontroll (T3-mal nem kezelt) állatokéi ( $30,2\% \pm 0,7$  vs.  $17\% \pm 1,7$ ;  $p < 0,05$ ). Ezt követően osztódási rátájuk visszaesett a

kontroll állatokban tapasztalt szintre. A PM-kezelés után 48 órával megjelenő, újonnan kialakuló kis májsejtekben is kimutatható volt DNS szintézis a BrdU jelöléssel ( $8,7 \pm 2,5$ ), ennek mértéke azonban elmaradt a kontroll ovális sejtekben észleltektől ( $14,9 \pm 0,3$ ). 96 órával a mitogén kezelés után a megmaradó ovális sejtek proliferációs rátája visszatért a kontroll szintre.

### IV. 3. A kis hepatocyták immunhisztokémiai vizsgálata

Immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk, hogy a T3 hatására megjelenő kis poligonális sejtek immunfenotípusuk alapján valóban érett májsejteknek felelnek-e meg. Az ovális sejtekre jellemző OV-6 pozitivitás ezekben a kis hepatocytákban nem mutatható ki, viszont megjelennek a májsejtekre jellemző fehérjék, a CYP450, az  $\alpha 1$  integrin, a cx 32. Az ovális csöveket körörelő bazális membrán felszakadozik, az újonnan képződött kis hepatocyták között CD 26 pozitív epekanaliculusok alakulnak ki.

### IV. 4. A kis hepatocyták az ovális sejtekből származnak

Bár a hisztomorfológiai vizsgálataink arra utalnak, hogy a kis májsejtek az ovális sejtekből származnak, ezt két, független kísérlettel is bebizonyítottuk. A *pulse* állatok májában az osztódó ovális sejtek egy része jelölődött a retrovírussal/BrdU-val. A *chase* állatokat a 2 nappal a T3 kezelés után öltük le. Ezekben a májakban a megjelenő kis májsejtek egyes csoportjai szintén tartalmazták a jelölt DNS-t (a BrdU-t, vagy retrovirális fertőzés esetén a  $\beta$ -galaktozidáz enzim génjét), alátámasztva azok ovális sejtjes eredetét.

#### IV. 5. Génexpressziós vizsgálatok

Az AFP ovális sejt marker mellett 3 májsejt-specifikus fehérje, az albumin, a tirozin-aminotranszferáz (TAT), és a triptofán 2,3-dioxigenáz (TO2) mRNS szintjét vizsgáltuk. Az AFP esetében a kontroll ovális sejtek expresszióját vettük 100 % - nak; a TAT, a TO2 és az albumin esetében pedig az egészséges májból mikrodisszektált hepatocytákét. Az AFP expressziója a kontroll (T3-mal nem kezelt) ovális sejtekben volt a legmagasabb (100 %), ezt követték a mitogén kezelésen átesett állatok májából származó ovális sejtek (70 %), majd a kis hepatocyták, ahol az AFP mRNS szintje erősen lecsökkent (27 %).

A három májsejt-marker expressziójának mértéke éppen fordított tendenciát mutatott, mRNS szintjük az újonnan képződött kis májsejtekben volt a legmagasabb (albumin 8,5 %, TAT 102,3 %, TO2 33,9 %) a kontroll ovális sejtekben jóval kisebb mennyiségben voltak kimutathatóak (albumin 3,1 %, TAT 23,9 %, TO2 11,3 %). Az AFP mRNS szintje tehát az ovális sejtek májsejtté való differenciálódása során csökken, a TAT, a TO2 és az albumin expressziója pedig emelkedik.

#### IV. 6. A T3 kezelés hatása a máj szintetikus funkciójára

48 órával a T3 kezelés után a patkányok vérének laboratóriumi vizsgálatnak vetettük alá. A T3 hatására a máj szintetikus funkciójára javult: a szérumbilirubin koncentrációja lecsökkent ( $5,4 \pm 4,9$  vs.  $17,6 \pm 16,9$ ;  $p < 0,05$ ), a plazma protrombin szintje pedig emelkedett ( $49,2 \pm 25,5$  vs.  $21,3 \pm 18,5$ ;

$p < 0,05$ ) a hasonlóképpen AAF/PH protokoll szerint, de T3-mal nem kezelt állatokhoz képest.

#### IV. 7. A $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ hatása az ovális sejtek mediálta regenerációra

Nemcsak a T3, hanem egy másik primer májsejt mitogén, a  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  hatását is vizsgáltuk modellünkben. A morfológiai analízis során hasonló eredményeket kaptunk, mint a T3-mal, az ólom-nitrát is serkentette az ovális sejtek differenciációját. Bár a funkcionális vizsgálatokat (immunhisztokémiai jellemzést, expressziós vizsgálatot, vér laboratóriumi vizsgálatát), ebben az esetben nem végeztük el, a morfológiai eredmények alapján azonban az ólom-nitrát a T3-hoz hasonló módon serkenti a máj összejtés regenerációját.

## V. MEGBESZÉLÉS

A trijód-tironin és az ólom-nitrát a májsejtek primer mitogénje. Osztódásra serkentik a normál máj sejtjeit, a parciális hepatektómia utáni regeneratív folyamatot is segítik. Egy másik primer mitogén, a WY 14,643 *in vitro* serkenti az ovális sejtek differenciációját.

Kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy a primer májsejt mitogénekkal lehet-e befolyásolni az ovális/progenitor sejtek részvételével zajló májregenerációt *in vivo*. Ehhez az AAF/PH kísérleti modellt használtuk, amit széleskörűen használnak az ovális sejtek vizsgálatára. Tudomásunk szerint az általunk alkalmazott két mitogén, a trijód-tironin és az ólom-nitrát máj progenitor sejtekre gyakorolt hatását *in vivo* modellben eddig még nem vizsgálták. A mitogének egyetlen dózisa serkentette az ovális sejtek májsejt irányú differenciációját, ezt a differenciálódó sejtek morfológiai, immunfenotípusos, génexpressziós és funkcionális jellemzése is bizonyította.

Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a mitogének hatására a máj relatív tömege megnő. Ennek hátterében az áll, hogy a kezelés hatására megemelkedik az ovális sejtek proliferációs rátája, ezzel párhuzamosan májsejtté való differenciálódásuk felgyorsul. Ez folyamatában nem tér el az ovális sejtek AAF/PH modellben korábban már leírt spontán differenciálódásától, ugyanazok az immunfenotípus-változások következnek be: az ovális sejtekre jellemző OV-6 és AFP termelése megszűnik, ugyanakkor megjelennek a hepatocytákra jellemző markerek (HNF-4, CYP450, cx 32,  $\alpha 1$  integrin), az új májsejtek között kialakulnak a normál parenchymára jellemző epekapillárisok. A differenciálódással szinkronban felszakadozik az ovális csöveket körülölelő

bazális membrán, amely feltehetően szabályozó szerepet tölt be a sejtek érésében.

A mikrodisszektált mintákon végzett génexpressziós vizsgálatok szintén alátámasztották a hepatocytá irányú differenciálódás tényét és a kialakult kis hepatocyták funkcionális érését. Az ovális sejtekben magas szinten termelődő AFP mRNS szintézise jelentős mértékben csökkent, ezzel szemben az albumin gén transzkripciója többszörösére emelkedett.

A magasan differenciált hepatocytákra jellemző enzimek (TO2, TAT) termelődése szintén gyorsan beindult a mitogén kezelést követően. A kísérleti állatok vérének laboratóriumi vizsgálata is megerősítette, hogy a T3 hatására javul a máj szintetikus funkciója, csökken a szérum bilirubin koncentrációja, a protrombin szintje pedig emelkedik.

Két egymástól független kísérlettel is sikerült bizonyítanunk, hogy a differenciálódó kis májsejtek az ovális sejtekből származnak. Az osztódó ovális sejteket BrdU-val, ill. a  $\beta$ -galaktozidáz génjét hordozó retrovírussal jelöltük meg a T3 adása előtt. Mindkét módszer az S-fázisban lévő sejtek megjelölésén alapul. Az újonnan megjelenő polygonális sejtekben kimutathatóak voltak a jelölt DNS-szekvenciák, igazolva a két sejtpopuláció közötti előd-leszármazott kapcsolatot. Hepatocyták jelölődését egyik módszerrel sem lehetett megfigyelni, ami egyértelműen kizárja a kis bazofil sejtek differenciált májsejtekből történő származását.

Ezen morfológiai, RNS és fehérje szintű változások alapján egyértelműen megállapíthatjuk, hogy a mitogén adagolás után megfigyelt kis poligonális sejtek funkcionális érettség jeleit is mutató hepatocytáknak felelnek meg. Fenti megfontolások alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy primer mitogének hatására a Hering-csatornákból származó ovális sejtek



proliferációja fokozódik, majd azok egy része kis, bazofil sejtekké alakul át/differenciálódik. A lezajló differenciálódási program szinte tökéletes egyezést mutatott az ovális sejtek spontán differenciálódásával, azonban mégis volt egy jelentős különbség. Míg a spontán differenciálódás eredményeként, a kísérletünkben alkalmazott körülmények között – az első hepatocyták 11-12 nappal a PH után jelennek meg, a mitogénnel történt kezelés után erre mindössze 7 napra volt szükség, röviden, az alkalmazott mitogének felgyorsították az ovális sejtek hepatocytákká történő differenciálódását. Mivel a T3 hormon receptora kimutatható volt az ovális sejtek magjában, feltételezhetjük, hogy a pajzsmirigyhormon közvetlenül az ovális sejtekre hatva okozta a leírt változásokat.

Az intrahepatikus progenitor sejteket számos humán kórképben is megfigyelték. Ezek regeneratív értékéről egyelőre nem rendelkezünk elegendő mennyiségű információval, de egy jól dokumentált esetben leírták a máj teljes értékű, duktuláris reakció részvételével történő regenerációját. A transzplantáció során eltávolított beteg májakban és az autopsziás mintákban gyakran megfigyelhetők a duktulárisan elhelyezkedő aktiválódott progenitor sejtek, ami arra utal, hogy az összejtes ezekben a betegekben aktiválódnak ugyan, mégsem képesek helyreállítani a normális májfunkciót. Kísérleti eredményeink a májelégtelenség új terápiás megközelítésének lehetőségére hívják fel a figyelmet. Tudatában vagyunk, hogy az általunk használt vegyületek az ólom-nitrát ill. a magas dózisú T3 nem alkalmasak emberek kezelésére, de mivel két különböző primer mitogén is serkentette a progenitor sejtek részvételével zajló regenerációt, joggal feltételezhetjük, hogy ez a primer hepatocyta mitogének általánosítható tulajdonsága.

Máris megjelentek olyan pajzsmirigyhormon agonista vegyületek, melyek primer hepatomitogénként viselkednek, de kardiológiai hatásuk nincsen. Ezek alapján elképzelhető, hogy a jövőben a primer hepatocyta mitogéneknek az endogén máj összejtekre gyakorolt hatásuk révén szerepe lehet a májelégtelenség kezelésében.

Primer hepatocyta mitogének állatkísérleti modellben képesek voltak gátolni a daganatok kialakulását. A gátlás mechanizmusa egyelőre nem ismert, de eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy ez esetben is a daganatok prekursorának tekinthető ovális sejtek forszírozott differenciálódása állhat a háttérben. Ha ez a feltételezés is bizonyítható, a mitogéneknek szerepe lehet a májdaganatok szekunder prevenciójában is

## VI. KÖVETKEZTETÉSEK

### A dolgozat fő megállapításai a következők:

- A primer májsejt mitogének (trijód-tironin, ólom-nitrát) serkentik az intrahepatikus progenitor sejtek osztódását és májsejt irányú differenciálódását, ezáltal segítik a máj összejtés regenerációját.
- Az újonnan képződő májsejtek az ovális sejtekből származnak.
- Az ovális sejtek T3 hatására történő gyors differenciációja mechanizmusában megegyezik a spontán differenciációval.
- A megjelenő kis hepatocyták funkcionálisan is májsejtnak tekinthetőek, a parenchymára jellemző enzimeket és fehérjéket expresszálnak, a máj szintetikus képessége javul.

## VII. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

### VII. 1. Az értekezés témájában megjelent közlemények

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 (5): 1005-14.

**IF: 2.893**

Dezső K, Jelnes P, László V, Baghy K, Bödör C, Paku S, Tygstrup N, Bisgaard HC, Nagy P. (2007) Thy-1 is expressed in hepatic myofibroblasts and not oval cells in stem cell-mediated liver regeneration. *Am J Pathol*, 171 (5): 1529-37.

**IF: 5.487**

Szabó E, Lódi C, Korpos E, Batmunkh E, Rottenberger Z, Deák F, Kiss I, Tokés AM, Lotz G, László V, Kiss A, Schaff Z, Nagy P. (2007) Expression of matrilin-2 in oval cells during rat liver regeneration. *Matrix Biol*, 26 (7): 554-60.

**IF: 3.687**

Papp V, Dezső K, László V, Nagy P, Paku S (2009) Architectural changes during regenerative and ontogenic liver growth in the rat. *Liver Transpl*. 15 (2): 177-83.

**IF: 2.559**

## VII. 2. Egyéb témában megjelent közlemények

Füle T, Csapó Z, Máthé M, Tátrai P, *László V*, Papp Z, Kovalszky I. (2006) Prognostic significance of high-risk HPV status in advanced cervical cancers and pelvic lymph nodes. *Gynecol Oncol*, 100 (3): 570-8.

**IF: 2.614**

Nagy P, *László V*, Schaff Z. (2006) [Hepatocarcinogenesis in human liver] *Magy Onkol*, 50 (2): 107-13.

Szarvas T, Kovalszky I, Bedi K, Szendroi A, Majoros A, Riesz P, Füle T, *László V*, Kiss A, Romics I. (2007) Deletion analysis of tumor and urinary DNA to detect bladder cancer: urine supernatant versus urine sediment. *Oncol Rep*, 18 (2): 405-9.

**IF: 1.597**

## VIII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Először is szeretném megköszönni témavezetőmnek Dr. Paku Sándornak, és Dr. Nagy Péternek, hogy munkacsoportjukba fogadtak és tudományos tevékenységemet messzemenően támogatták.

Köszönöm Prof. Kopper Lászlónak és Prof Matolcsy Andrásnak, hogy PhD tanulmányaimat az általuk vezetett intézetben folytathattam.

Köszönettel tartozom Dr. Kovalszky Ilonának, hogy a laboratóriumi eszközeit rendelkezésemre bocsátotta és hasznos szakmai tanácsokkal látott el.

Külön köszönet illeti dr. Dezső Katalint a munkámban nyújtott segítségért. Köszönöm Dr. Zalatnai Attilának az értekezésem alapos áttanulmányozásáért és hasznos észrevételeiért, melyekkel nagyban hozzájárult a dolgozat mind tartalmának, mind pedig külsejének javításához.

Hálás vagyok továbbá a Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai Intézet munkatársainak, hogy munkám során segítettek és támogattak, név szerint Dr. Füle Tibornak, Oláh Juliannának, Klusik Nicolettnek, Dr. Bödör Csabának, Dr. Reiniger Lillának.

A munka egy része az Országos Frédéric Joliot-Curie Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézetben zajlott, köszönöm Dr. Sáfrány Géának, hogy ezt lehetővé tette.

Köszönöm Spisák Sándornak szakmai segítségét és hasznos tanácsait.

Köszönöm szüleimnek és családomnak, hogy tanulmányaim során mindvégig támogattak. Dr. Szarvas Tibornak köszönöm kitartását, türelmét, munkámban nyújtott segítségét.