

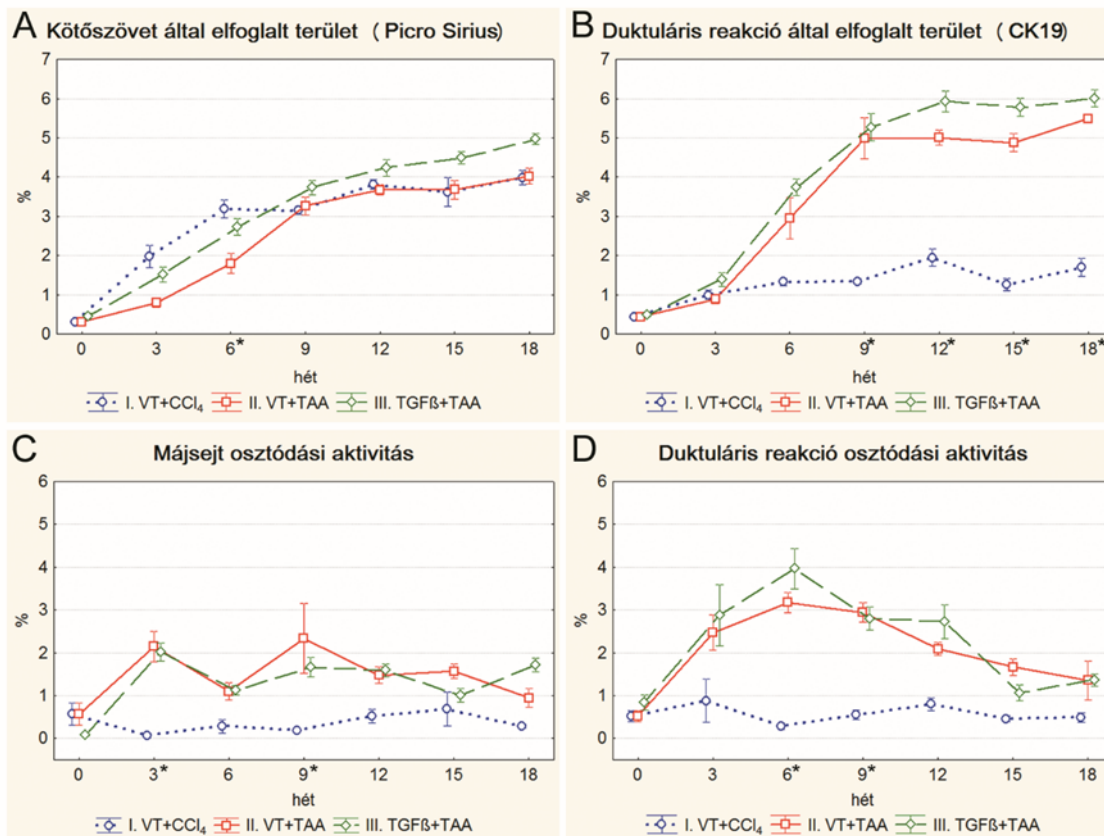
I. Duktuláris reakció és fibrogenézis vizsgálata

A krónikus, hepatocytákat károsító folyamatok, kiváltó tényezőtől függetlenül a máj kötőszövetes átépüléséhez, cirrózishoz vezethetnek. Az állébenykéket körülvevő kötőszövetes szeptumban az érképletek mellett epeutakra emlékeztető duktulusok találhatóak, melyek irodalmi adatok alapján összejt-eredetűek és szerepük lehet a kötőszövet lerakódásában valamint a pusztuló májparenchyma pótlásában is.

I.1. Eredmények: A máj biliáris struktúráinak dinamikus eltéréseit a kötőszövetes átépülés során C57Bl/6 (vad típus, VT) egerekben vizsgáltuk meg, és részletesen elemeztük, hogy hogyan zajlanak le ezen szerkezeti elváltozások a felgyorsult, fokozott fibrotikus folyamatok során a TGFβ1 transzgén egerekben.

A cirrózis vizsgálatára alkalmas kísérleti modellt 300mg/l thioacetamid (TAA) tartalmú ivóvíz folyamatos itatásával illetve széntetraklorid/fenobarbitál (CCl₄) adagolásával hoztuk létre (széntetraklorid 0,2ml/kg étolajban feloldva kétszer hetente, 500mg/l fenobarbitál az ivóvízben). A széntetraklorid/fenobarbitál TGFβ1-transzgén egerek röviddel a kezelés megkezdése után elpusztultak, így vizsgálatainkat C57Bl/6 egereken végeztük el.

A kezelés kezdetétől számított 6., 9., 12., 15., 18. héten (időpontonként 8-12 db C57Bl/6 és TGFβ1 egér), az eltávolított májából a fibrózis, cirrózis kialakulását hematoxin-eozin valamint pikroszíriusz festéssel vizsgáltuk. A duktuláris reakció kiterjedtségét citokeratin 19 (CK19) fluoreszcens immunhisztokémiai vizsgálatokkal határoztuk meg. A májsejtek és duktuláris sejtek osztódási aktivitását a BrdU inkorporációs módszerrel határoztuk meg.



*p<0,05,) az ábrákon az egyes időpontokhoz tartozó átlagértékek, valamint a standard hiba (SEM) szerepel

A kísérlet végső időpontjában mind a CCl₄, mind a TAA kezelt egerek májában teljesen körbezárt állebenykék voltak megfigyelhetőek. Figyelembe véve a későbbiekben leírásra kerülő vizsgálataink eredményeit (lásd alább, II) az egérmájokban megfigyelt kötőszövetes átépülés legnagyobb valószínűséggel még mindig a cirrózis egy korai stádiumának megfeleltethető.

A károsító hatástól függően a kötőszövet-felhalmozódás dinamikája eltérő volt. Az irodalmi adatoknak megfelelően a VT+TAA csoportban a kötőszövet lerakódás eleinte csekély mértékű volt, majd hirtelen indult növekedésnek, míg a CCl₄ kezelésnél már a kísérlet kezdetén is jelentős mértékű kötőszövet-felhalmozódás volt megfigyelhető. A TGFβ1+TAA csoportban mindegyik vizsgált időpontban nagyobb mértékű kötőszövet-felhalmozódás volt megfigyelhető a kontroll, vad típusú (VT+TAA) csoporthoz képest (A).

A duktuláris reakció által elfoglalt terület szignifikánsan alacsonyabb volt a VT+CCl₄ csoportban a 9. héttől kezdve a kísérlet végéig (B).

A két modellben a májsejtek és a duktuláris reakció sejtjeinek osztódási aktivitása is különbözött. A CCl₄ igen alacsony mértékű proliferációt váltott ki és ez viszonylag állandó tendenciát mutatott a kísérlet során. Ezzel szemben mindkét TAA kezelt csoportban átmeneti emelkedést követően folyamatos csökkenő tendencia volt megfigyelhető mind a májsejtek mind pedig a duktuláris sejtek osztódásában, ez főként a duktuláris reakció esetén volt kifejezett (C, D). Az emelkedett TGFβ1 expresszió nem volt jelentős hatással a proliferációs aktivitásra a TAA kezelt állatokban.

Korrelációs vizsgálataink azt mutatták, hogy erős, szignifikáns összefüggés van jelen a fibrózis és a duktuláris reakció kiterjedtsége között. Ugyanakkor a széntetrakloriddal kezelt állatokban, a tioacetamiddal indukálthoz hasonló mértékű fibrózishoz sokkal gyérebb duktuláris reakció társult. Tehát a duktuláris reakció kötőszövetképződéshez viszonyított mértéke függ a kiváltó októl. Megvizsgálva a duktuláris reakció sejtjei és a májsejtek osztódási aktivitása közötti összefüggéseket, nem sikerült kimutatnunk negatív korrelációt, így kevésbé valószínű az a sokat emlegetett nézet, hogy a fibrózis progressziója során a károsodott, szeneszicens májsejtek helyett a duktuláris sejtek osztódása révén valósulna meg a máj regenerációja.

Eredményeinket a PlosOne folyóiratban közöltük le:

Ductular reaction correlates with fibrogenesis but does not contribute to liver regeneration in experimental fibrosis models

Rókus A, Veres D, Szücs A, Bugyik E, Mózes M, Paku S, Nagy P, **Dezső K.**

PLoS One. 2017 Apr 26;12(4):e0176518. doi: 10.1371/journal.pone.0176518. eCollection 2017.

IF: 2,8

I.2. Eredmények: A fibrózis és duktuláris reakció kapcsolatát megvizsgáltuk egy másik, egereken széles körben alkalmazott, fibrózissal járó modellben a kolin deficiens, etioninnal kiegészített (CDE) modellben is. A vizsgált mintákban a duktuláris reakció környezetében, kötőszövet-lerakódást tudunk detektálni. A duktuláris reakció környezetében elhelyezkedő miofibroblasztokon jelenlevő PDGFR-B-t imatinib kezeléssel gátolva, sikerült befolyásolni a fibrózis és duktuláris reakció progresszióját a máj eredeti szerkezetének csaknem teljes visszaállításával. Eredményeinket az International Journal of Experimental Pathology nevű újságban közöltük le.

Imatinib accelerates progenitor cell-mediated liver regeneration in choline-deficient ethionine-supplemented diet-fed mice.

II. A cirrotikus máj vaszkulaturájának vizsgálata

A cirrózis kialakulása során a máj szerkezetében bekövetkező változásokat az intrahepatikus vaszkuláris képletek és az epeúthálózat módosulása is követi, ennek pontos lépéseit és dinamikáját is tanulmányoztuk. Vizsgálatainkban kísérletes körülmények között és különböző etiológiájú, humán cirrotikus májmintákon próbáltuk feltérképezni a máj kötőszövetes átépülésének a stádiumait és a vaszkularizációban bekövetkező eltéréseket.

Eredmények: A cirrózis vizsgálatára alkalmas kísérleti modelleket F-344 patkányokban thioacetamid tartalmú ivóvíz (600mg/l) folyamatos itatásával valamint széntetraklorid/fenobarbitál kezeléssel (500mg/l phenobarbital ivóvízben, 10%-os széntetraklorid) hoztuk létre. Humán mintáink explantált cirrotikus májából származtak. A cirrotikus májak vérellátását sorozatmetszeteken, immunhisztokémiai módszerekkel illetve az erek műgyantával történő feltöltésével vizsgáltuk.

Eredményeink azt mutatják, hogy a kötőszövetes átépülés folyamata két meghatározó szakaszra osztható. Először az eredeti májparenchyma kötőszövetes szeptumok általi tagolása történik meg, ún. centro-centrális szeptumok jelennek meg, melynek következtében portális lebenykék alakulnak ki. A későbbiekben ezt követi egy második stádium, melynek során a kötőszövetes területeken kialakulnak a duktuláris reakció sejtjeiből differenciálódó, májsejtekből álló regeneratív nodulusok. Kísérletes körülmények között és humán májokban is azt találtuk, hogy a regeneratív nodulusok vérellátását a portális vénaágak biztosítják, az epeutak, a centrális véna és a májartéria ágai a pseudonoduluson kívül helyezkednek el. Ez a speciális elrendeződés megakadályozhatja a máj eredeti lebenykés szerkezetének a helyreállítását, ugyanakkor jelezheti a fibrotikus folyamat irreverzibilissé válását is.

Eredményeinket a *Journal of Hepatology* közlésre elfogadta:

Human liver regeneration in advanced cirrhosis is organized by the portal tree.

Dezső K., Rókus A, Bugyik E, Szücs A, Szuák A, Dorogi B, Kiss M, Nemeskéri Á, Nagy P, Paku S.
J Hepatol. 2017 Apr;66(4):778-786. doi: 10.1016/j.jhep.2016.11.014. Epub 2016 Nov 29.
IF:12,486

III. A májmetasztázisok vaszkularizációjának vizsgálata

A máj az áttétképzés egyik célszerve is, így a cirrotikus máj vaszkulaturájának vizsgálata után fontosnak tartottuk részletesen megvizsgálni a májmetasztázisok vérellátásának kialakulását, összehasonlítani a más szervekben kialakuló metastázisok ereződésével.

Eredmények: A C38 egér colon adenocarcinoma sejtvonal Intézetünkben fenntartott. A májmetasztázisokat a lép-máj kolonizációs modellel hoztuk létre, melynek során a tumorsejtek a lépbe történő oltás során/után jutnak el a májba. Eredményeink azt mutatták, hogy a májmetasztázisok vérellátása elsősorban a metastázis méretétől függ. A kisméretű metastázisok portális vérellátásúak, azonban a daganat az invazív növekedés során eléri és roncsolja a májartéria ágait, melynek következtében (a portális valamint az artériás rendszerben uralkodó nyomáskülönbségek miatt) elkerülhetetlenül artériás vérellátásúvá válik.

A C38 egér colon adenocarcinoma máj, agy és tüdőmetasztázisainak a vaszkularizációjával kapcsolatos megfigyeléseinket összefoglaló közleményben jelentette meg a Chinese Journal of Cancer.

Mechanisms of vascularization in murine models of primary and metastatic tumor growth.
*Bugyik E, Renyi-Vamos F, Szabo V, **Dezso K**, Ecker N, Rokusz A, Nagy P, Dome B, Paku S.*
Chin J Cancer. 2016 Feb 12;35:19. doi: 10.1186/s40880-016-0083-5. Review. IF: 4,11