

# A prosztata zónáinak összehasonlítása a sejtdifferenciálódás tükrében

Doktori tézisek

**Dr. Laczkó István**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Nyirády Péter egyetemi docens, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Berczi Csaba egyetemi adjunktus, Ph.D.  
Dr. Borka Katalin egyetemi adjunktus, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Kelemen Zsolt egyetemi tanár, az MTA doktora  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Riesz Péter egyetemi adjunktus, Ph.D.  
Dr. Kiss András adjunktus, Ph.D.

Budapest  
2011

## Bevezetés

A prosztata a korosodó férfiak betegségeinek egyik leggyakoribb helye. A benignus prosztata hyperplasia (BPH) és a prosztatarák jelentős népegészségügyi probléma a nyugati típusú társadalmakban. A prosztata pontos anatómiai szerkezetét McNeal írta le, aki a korábbi anatómiai modelleknél pontosabban határozta meg a prosztata pontos felépítését. A prosztata négy többé-kevésbé jól elkülöníthető területből áll. A mirigymentes elülső fibromuscularis terület mellett három mirigyes zóna alkotja a prosztatát: perifériás zóna, átmeneti zóna (tranzicionális) és a centrális zóna. A prosztata mirigymentes zónái alkotják a prosztata egyharmadát, míg nagyobb részét a mirigyes elemek teszik ki. A normál fiatalkori prosztatában a perifériás zóna a mirigyes terület kb. 70%-át, a centrális zóna 25%-át az átmeneti zóna pedig kb. 5%-át foglalja el. A prosztata zónái az elméletek szerint eltérő embriológiai struktúrákból fejlődnek. A centrális zóna a vesicula seminalishoz hasonlóan vélhetően Wolff-cső eredetű, míg a perifériás és tranzicionális zóna a sinus urogenitalisból fejlődik ki. A centrális zóna és a vesicula seminalis hasonló szövettani, immunhisztokémiai szerkezete és patológiai tulajdonsága, valamint biológiai viselkedése vezetett a fenti következtetésekhez. A McNeal féle modell helyességét számos hisztokémiai, fehérje expressziós, szövettani, radiológiai (CT, MRI, ultrahang) és hisztopatológiai vizsgálat igazolta. McNeal megfigyelései során a betegségek megjelenésére is nagy hangsúlyt fektetett. Vizsgálati szerint a prosztatarák elsősorban a perifériás zóna megbetegedése, míg a BPH a tranzicionális zónából ered. A centrális zóna és a vesicula seminalis pedig ritka helyei a prosztata betegségeinek. A prosztata zónáinak az eltérő biológiai viselkedésének a háttere nem tisztázott. A perifériás zónából a prosztatarák kb. 70%-a ered, míg a centrális zónából kb. 1-5%, a tranzicionális zónából pedig kb. 20-25%-a. Több korábbi tanulmány szerint a prosztatarák lefolyását jelentősen befolyásolja a prosztatarák elhelyezkedése. A tranzicionális zónában elhelyezkedő prosztatarák Gleason score értéke (tumor grádusa) általában alacsonyabb és patológiai stádiumbeosztása alacsonyabb a felfedezéskor, mint a perifériás zóna daganatai. A perifériás zóna adenocarcinomájának radikális kezelése után a biokémiai relapsusig eltelt idő rövidebb, mint az átmeneti zóna hasonló rákja esetén.

A prosztata szövettanilag mirigyhámra és stromára osztható. Az epithelium három fő sejttípusból áll: a lúminálisan elhelyezkedő szekréciót végző sejtek, a bazális membránon elhelyezkedő bazális sejtek és a neuroendokrin irányú differenciálódást mutató neuroendokrin sejtek. A lúminális sejteknek kb. háromszor nagyobb a száma a bazális sejtekhez képest. Ez a három sejttípus jól jellemezhető immunhisztokémiai markerekkel. Ezek a sejtek a prosztata minden területén megtalálhatók. A bazális sejteknek a sejtek proliferációjában lehet szerepe.

Általános nézet, hogy a bazális sejtek a luminális sejtek prekursorának tekinthetők. A prosztatata őssejt elmélete szerint a bazálisan elhelyezkedő sejtek közül egyesek multipotens jelleggel bírnak és megfelelő stimulusok hatására a sejtek differenciálódásba kezdenek. A differenciálódás során intermedier és ún. transit amplifying sejtek alakulnak ki, melyek a bazális sejtrétegben vagy a két sejtréteg határán helyezkednek el. A differenciálódás végső stádiumában a sejtek vagy szekréciót végző luminális sejtekké vagy neuroendokrin sejtekké alakulnak. Mindkét sejtípus a differenciálódás végállomását jelenti, ebből a differenciálódási állapotból nincs további átalakulás, csak a programozott sejthalál vagy apoptózis. A sejtek differenciálódását számos sejt felszíni antigénnel tanulmányozták. Leggyakrabban használt antigének a citokeratinok, melyek számos altípusával a fenti sejtpopulációk jellemezhetőek. A stroma a prosztatata epitheliumán kívül lévő összes elemet tartalmazza. A prosztatata stromájának sejtjei között legnagyobb számban simaizomsejtek, fibroblast sejtek fordulnak elő, melyek között neuronok, nyirokerek, érkepletek találhatók. A stroma és epithelium interakcióját már számos korábbi vizsgálat igazolta mind betegségtől mentes, mind pedig hyperplasiás prosztatában.

A prosztatatarák őssejt elméletéből kiindulva teoretikusan a prosztatatarák a sejtek bármelyikéből kiindulhat. A prosztatatarák sejtek döntően luminális sejt fenotípussal rendelkeznek. A ráksejtek kifejlődésére is több modell született. Az egyik hipotézis szerint a differenciált sejt (luminális) proliferációs aktivitásra szert téve de-differenciálódik a rák progressziója során. A másik koncepció szerint pedig a ráksejtek valódi őssejtekből fejlődnek ki, majd fejlődésük során differenciálódva elveszítik bazális sejtre jellemző tulajdonságaikat. Harmadik modell szerint az átmenetileg differenciálódott sejtekből (transit amplifying) alakulnak ki a rákos sejtek. A normál sejtek és daganatos sejtek differenciálódásának vizsgálata fontos lépés lehet a rák kialakulásának megértésében.

## **Célkitűzés**

A vizsgálatuk első részében célunk az, hogy a normális, betegségtől mentes fiatalkori prosztatata és vesicula seminalis morfológiai, hisztológiai, immunhisztokémiai és sejtkinetikai jellegzetességeit megvizsgáljuk és a jól definiált prosztatata területeket összehasonlítsuk. A laboratóriumi vizsgálatunk során az epitheliális és mesenchymális sejtek eloszlását és immunhisztokémiai sajátosságait vizsgáljuk korábban már használt, részletesen jellemzett, sejt kultúrákban vagy izolált mintákon megfelelő expressziót mutató antigének/antitestek felhasználásával. A sejtek differenciáltsági fokát jellemző

immunhisztokémiai markerek segítségével az egyes subpopulációkat jellemezzük a prosztatata zónái szerint és az ondóhólyagban. A különböző differenciáltságú sejtek zonális eloszlására tudunk ebből következtetni ill. a sejtek zónákon belüli elhelyezkedését tudjuk tanulmányozni. A vizsgálat során fiatal férfi cadaver tetemekből származó preparátumokat vizsgálunk, melyek elméletünk szerint jól reprezentálják a normál fiatalkori prosztatát. A sejtek sejtkinetikai paramétereit is összehasonlítjuk a proliferációs aktivitás és az apoptózis vizsgálatával. A neuroendokrin sejtek eloszlását neuroendokrin sejteket jellemző markerekkel vizsgáljuk és a zónák közötti és a zónákon belüli eloszlást vizsgáljuk. A sejtek differenciáltságának megállapítására citokeratinokat használunk fel. A differenciált sejtek megkülönböztetésére a luminális és neuroendokrin sejtek jellegzetes markereit használjuk. A vizsgálat célja, hogy a zónák és az ondóhólyagok között különbséget találjon, mely magyarázatul szolgálhat a betegségek eltérő megjelenésére és gyakoriságára a zónák között. Annak igazolására, hogy a zonális felosztásunk a korábban részletesen leírt McNeal-i anatómiának megfelel a McNeal munkacsoportja által használt zonális markereket is felhasználunk.

Vizsgálatunk másik részében a sejtek differenciáltságának vizsgálatára a CD44 különböző izoformáit használtuk. A prosztatata epitheliumának különböző differenciáltságú sejtjeinek eloszlásában észlelt különbség magyarázatul szolgálhat a zónák eltérő biológiai viselkedésére. A CD44 expressziós vizsgálatokat normál prosztatán, BPH sejteken és sejt kultúrán is elvégeztük, hogy esetleges jellegzetességekre figyeljünk fel.

## **Módszerek**

A vizsgálat során kilenc 15-36 év közötti (átlag 26 év), szervtranszplantációs kadáver férfi szervezetéből származó prosztatata és vesicula seminalis preparátumot használtunk fel. A fiatal férfiak baleseten vagy cerebrovascularis történésen estek át. Az anamnesis alapján a betegeknek nem volt korábban urológiai eltérésük, ill. olyan állapotuk, melyek a prosztatata épségét károsították. Ugyanakkor a hospitalizáció alatt a betegek mindegyike viselt katétert. A CD44 expressziós vizsgálataink során pedig transurethralis prosztatata műtét során nyert prosztatata szövetet használtunk fel. A prosztatata darabok kiválasztásánál ügyeltünk arra, hogy kiterjedt termikus károsodást szenvedett minta ne kerüljön a vizsgálati anyagaink közé. A prosztatata sejteket Pre2.8 sejt kultúrából és hyperplasiás szövetből nyertük. A teljes prosztatata és ondóhólyag preparátumokat a bázistól az apex irányába haladva kb. 5 mm-es szeletekre daraboltuk. A szeleteket 4%-os formalinban fixáltuk 1-2 napig. A formalinban fixált mintákat felszálló alkoholsorban dehidráltuk, majd HistoClear oldatba mártottuk. Paraffinba ágyazás

után a mintákat a felhasználásig szobahőmérsékleten tároltuk. A mintákból 5 mikrométeres haránt irányú teljes metszeteket készítettünk, majd a metszeteket Vectabond-dal kezelt tárgylemezre vittük fel. A tárgylemezeket szobahőmérsékleten tároltuk használatig. Minden blokkból egy metszetet hematoxinin és eozinnal festettünk hisztológiai vizsgálat céljából. A hisztopatológiai vizsgálat igazolta, hogy a mintákban betegségre utaló eltérés nem volt és egyben a prosztatata zónáit is meg tudtuk különböztetni.

A sejt kultúra vizsgálatához PrE2.8 sejt vonalat használtunk, mely modellezi a humán prosztatata sejtek differenciálódását. A PrE2.8 sejt vonal immortalizált sejtekből áll. A sejtek proliferáló prosztatata mirigyhám sejtek. Az immortalizált sejtek BPH szövetből származtak. Az epithelialis sejteket hőérzékeny SV40 nagy T komplexszel immortalizáltuk transzfekció révén. Ezek a sejtek 33°C-on proliferációt mutatnak, míg 39°C-on a proliferáció megáll és a sejtek differenciálódnak. A sejt kultúra vizsgálatokhoz nagyon röviden a következő módszert használtuk. TURP műtét során nyert mintákból epithelialis sejteket nyertünk. A mintákról az elhalt részeket és az alvadékat szike segítségével távolítottuk el, majd 1mm<sup>3</sup>-es darabokat készítettünk, és a darabokat 20ml PBS-ben mostuk át. A vér és a szövettörmelék eltávolítása után kollagenáz oldat segítségével az acinusokat elválasztottuk a stromától. Ezt követően a sejteket az acinusoktól 0.25%-os tepszin/verzin oldat segítségével szeparáltuk. Nagy-T antigént tartalmazó SV40-nel a sejteket immortalizáltuk. A sejtek 75cm<sup>3</sup> szövet kultúra edényekben PrEGM mediumon (Clonetics) növekedtek 33°C vagy 39°C-on, megfelelő páratartalmú és 5%-os CO<sub>2</sub> koncentrációjú környezetben. Immunhisztokémiai vizsgálatra a sejteket fedőlemezen tenyésztettük, majd felhasználás előtt PBS-sel lemostuk és formalinos oldattal fixáltuk. Az immunhisztokémiai vizsgálat további részét a szöveteknél vázolt módon végeztük.

A TURP mintákból származó BPH-s szövet mintákról a termikus károsodást szenvedett részeket és a szennyeződést eltávolítottuk. A szövet mintákat formalinos oldatban fixáltuk, majd dehidráció után paraffinba ágyaztuk és szobahőmérsékleten tároltuk felhasználásig. A metszetek készítését és immunhisztokémiai vizsgálatot a korábbiakban leírt módon végeztük.

Immunhisztokémiai feldolgozás során a metszeteket rövid melegítés után HistoClear oldatban tisztítottuk le, majd leszálló alkoholsorban rehidráltuk. A formalin okozta konformáció változás miatt az epitopok visszanyerése céljából antigén visszanyerést alkalmaztunk Vector Unmasking Solution oldat alkalmazásával 20 perces mikrohullámú sütőben forralás közben. A metszeteket kihülés után foszfát puffer oldatban (PBS) mostuk le. Az endogén peroxidáz reakciót 0.3%-os hidrogén-peroxid alkalmazásával blokkoltuk. 10%-os bovine-PBS oldat egy órás használata után a metszeteket a primer antitesttel inkubáltuk 4°C-

on 12 órán keresztül. A metszetek lemosása után a metszeteket a másodlagos antitesttel inkubáltuk. Fluorescens technikához FITC vagy TRITC konjugált antitesteket használtunk Hoechst magfestéssel. A torna peroxidáz vagy alkalikus-foszfátáz reakció esetén DAB, Novared vagy Vector Blue kromogént használtunk, a sejtmagokat hematoxilinnal jelöltük. A festést követő öblítés után a metszeteket rehidráltuk, majd DPX-szel fedtük a metszeteket. A mikroszkópos elemzésig a metszeteket sötét helyen tároltuk. A vizsgálat során a következő antigéneket/antitesteket használtuk: citokeratin 5/6, citokeratin 8, citokeratin 14, citokeratin 17, citokeratin 18, citokeratin 19, CD44v3, CD44v4, CD44v5, CD44v7/8, laktoferrin, androgén receptor, Ki-67, PNA, chromogranin-A, szerotonin, PSA, PAP, dezmin és simaizom aktin. A programozott sejthalál vizsgálatánál TUNEL tesztet használtunk a kit előírásai alapján. A TUNEL teszt az apoptózis kaszkádjának során bekövetkező DNS fragmentumok kimutatását használja.

A hagyományos immunhisztokémiai metszeteket fénymikroszkóppal vizsgáltuk. Minden területről legalább három digitális képet készítettünk véletlenszerűen 200x nagyításban. Az immunfluoreszcens metszeteket Zeiss Axiophot mikroszkóppal elemeztük, melyhez Photonic Science Coolview 12 kamerát használtunk, melyet Image ProPlus szoftverrel kezeltünk. Az immunfluoreszcens képeket Adobe Photoshop segítségével kezeltük. Minden területen a festődött és nem festődött sejtek magjait számoltuk meg. Az adatok rögzítéséhez Microsoft Excel-t, az elemzéshez pedig SPSS for Windows-t használtunk. Az átlagértékeket nem-paraméteres Mann-Whitney U-teszt segítségével hasonlítottuk össze.

## Eredmények

Morfológiai elemzésünk során hematoxilin és eozin festést használtunk. Ezek alapján, ill. a metszet síkja és a prosztatata vizsgálat régiójának elhelyezkedése alapján a perifériás zóna és a centrális zóna jól elkülöníthető egymástól. A perifériás zóna relatíve kicsi mirigyei kerek és körülötte a stroma izomrostjai lazán elrendezettek. Ezzel szemben a centrális zóna nagy mirigyei négyszögletes elrendezésűek, melyeket a tömött, szorosan egymás mellé rendezett rostok vesznek körbe. A centrális zóna a ductus ejaculatoriusok körül található meg. A tranzicionális zóna szerkezetében a perifériás zónához hasonlít, és csaknem megegyezik vele a normál prosztatában. Az ondóhólyagok szerkezete és megjelenése eltér a prosztatától. A vesiculák epitheliumának bazális sejtei kerek és nem képeznek folytonos réteget a mirigyhámban, ezért a luminális és bazális sejtek nem különíthetők el egyértelműen.

A bazális sejtek vizsgálatánál citokeratin festést használtunk. A bazális sejteket a citokeratin 5 expressziója jellemzi. Vizsgálataink alapján a citokeratin 5 egységesen és folyamatosan festette a bazális sejtréteget. A luminális sejtek a CK5-öt nem expresszálták. Ezek alapján a prosztatata összes zónájában a két sejtréteg jól elkülöníthető egymástól. Ezzel szemben az ondóhólyagban a festődés nem volt folytonos, a bazális membránon ülő sejtek nem képeztek folytonos réteget. A vesicula seminalisban a bazális sejtek kuboidális alakúak. A prosztatában a luminális és bazális sejtek aránya 2,63:1 volt, azaz a prosztatata epitheliális sejteinek 38%-a bazális, míg 62%-a luminális és neuroendokrin sejt. A prosztatata zónái között nem volt szignifikáns különbség, viszont a perifériás zóna jelentősen eltért az ondóhólyagtól ebben a tekintetben. A citokeratin 14 expressziója nem folytonos a prosztatata epitheliumában és teljesen hiányzott a vesicula seminalis epitheliumában. A citokeratin 17 erős expressziót mutatott a hám egyes területein, melynek anatómiai okát nem találtuk. Az epitheliumban a CK17+ sejtek aránya 20,4%. A CK19 is csak a bazális rétegben volt kimutatható és nem volt folytonos. Ezek a sejtek 24%-ban fordultak elő. A prosztatata zónái között nem volt jelentős különbség. A bazális sejtek nem expresszálták a CK8-at és a CK18-at sem.

A citokeratin 8 és 18 a luminális sejtekben expresszáldottak. A prosztatata zónái között nem észleltük különbséget. Az ondóhólyagban is a luminális szekretoros sejtek festődtek. A citokeratin expresszió alapján mind a prosztatában, mind pedig a vesicula seminalisban a luminális és bazális sejtek könnyen elkülöníthetők.

A neuroendokrin sejtek disztribúcióját a chromogranin-A és a szerotonin expressziójával vizsgáltuk. Eredményeink szerint a két antigén azonos számú sejtet jelölt meg a prosztatában. Nem találtunk neuroendokrin sejteket a vesicula seminalisban és a ductus

ejaculatoriusban, ezzel szemben nagyszámú neuroendokrin sejtet észleltünk az utriculusban ill. a prosztatata mirigyek kivezető csöveinek az urethrához eső végső részén. Ez utóbbiban a sejtek aránya 8% volt, míg a prosztatában a neuroendokrin sejtek aránya 1-2% körül mozgott. A neuroendokrin sejtek száma a centrális zónában 50%-kal alacsonyabb, mint a perifériás zónában.

A funkcionális markerek (PSA és PAP) használatával a szekréciót végző sejteket tudtuk kimutatni. Mindkét antigén erős expressziót mutatott a luminális sejtek citoplazmájában, különösen az apikális részen, ahol a szekretoros granulák találhatóak. Sem a prosztatata specifikus antigén, sem az acid-foszfataz nem expresszáldott az ondóhólyagban és a ductus ejaculatoriusban. Az androgén receptor erősen expresszáldott a prosztatata sejtmagjaiban és hasonló expressziót figyeltünk meg a vesicula seminalisban is. A prosztatata zónái között nem észleltünk eltérést az AR festést illetően.

A McNeal munkacsoportja által használt zonális markerek közül kettőt használtunk fel, hogy a zónák eltérő festődését kimutassuk. A peanut agglutinin (PNA) a prosztatata mindhárom zónájában és a vesicula seminalisban is pozitív reakciót mutatott. A perifériás zónában a festődés a bazális sejtekben mutatkozott erősebbnek, míg a centrális zónában a luminális sejtek festődtek erősebben. A vesicula seminalisban a centrális zóna sejtjeihez hasonló festődést észleltünk. A tranzicionális zóna a perifériás zónához hasonló mintát mutatott. A PNA csak az epitheliumra korlátozódott, a stroma nem mutatott festődést. A másik marker melynek expresszióját már korábban leírták a laktoferrin volt. Eredményeink szerint a centrális zóna és a vesicula seminalis mutatott hasonló expressziót, bár a centrális zóna luminális sejtjei gyengébb reakciót adtak. A laktoferrin is a luminális sejtek apikális részében mutatott erős expressziót. Az ondóhólyag sejtjeinek 70% volt pozitív, míg a centrális zónában 31.2% és a perifériás zónában 2.1%. Ez a különbség statisztikailag is szignifikáns volt. A laktoferrin sem mutatott expressziót a stromában.

A mesenchymában az androgén receptor expressziót vizsgáltuk. Az AR sejtek magjában expresszáldott. A prosztatata három zónája és a vesicula seminalis között nem találtunk érdemi különbséget. A stroma sejtjeinek kb. 50%-a (43-53%) pozitív AR-ra. A vesicula seminalis stromájában a sejtek nagyobb arányban expresszálták az androgén receptort, de ez lényegesen nem különbözött a prosztatata zónáitól. A stromában a simaizomsejtek expresszálják az aktint (SMA) és a dezmin, de a fibroblastok általában negatívak. A myofibroblastok dezmin negatív és aktin pozitív sejtek. Ilyen sejteket gyakorlatilag nem tudtunk kimutatni sem a prosztatában sem az ondóhólyagban. A centrális zónában több simaizomsejtet találtunk, mint a perifériás és a tranzicionális zónában. Ez a különbség statisztikailag is jelentős volt. Az ondóhólyag inkább a perifériás zónához



hasonlított e tekintetben. A dezmin expressziója az ondóhólyag stromájának sejtjeiben volt a leggyakoribb 71,6%-kal, míg a prosztatában átlagosan a sejtek 61.4% expresszálta a dezmint. A zónák között a dezmint és aktint expresszáló sejtek között nem volt lényeges különbség.

A sejtek osztódását és apoptózisát Ki67 és TUNEL teszt segítségével mértük. A Ki67-tel mért proliferációs aktivitás a perifériás és átmeneti zónában közel azonos volt: 0,8%. A centrális zónában és a vesicula seminalisban a proliferációs aktivitás alacsonyabb volt, utóbbiban csak 0.5% volt. A perifériás zóna és a vesicula seminalis közötti különbség statisztikailag is szignifikáns volt. A prosztata stromájának proliferációs aktivitása kb. 50%-kal volt magasabb, mint az ondóhólyag stromájában mért proliferáció. A TUNEL teszttel mért apoptózis az epithelium luminális sejtjeiben jelentkezett. Az apoptózis index a prosztatában kb. 2,2% volt a perifériás és a tranzicionális zónában, míg 0,8% a centrális zónában, mely szignifikáns különbséget mutatott. A vesicula seminalisban a TUNEL teszt nem volt értékelhető. Az osztódó sejteket tovább is vizsgáltuk a perifériás zóna epitheliumában. Az osztódások 89%-a a bazális sejtrétegben ment végbe. A CK14 expressziót mutató sejtek proliferációs aktivitása közel 2.1% volt, míg a centrális zónában ez az érték 0.9% volt. A centrális zóna tartalmazta a legtöbb CK19 és Ki67 pozitív sejtet (1.4%).

A CD44 v5 expressziót mutató sejtek az összes hyperplasiás mintában fellelhetők voltak. Számos sejt mind a CD44-et, mind a CK14-et expresszálta. Egy különálló sejtcsoportot is sikerült jellemezni, mely a bazális és a luminális sejtréteg között volt látható. Ezek reprezentálhatták az átmeneti differenciálódó sejteket. A normál szövettel összehasonlítva a CD44v5 fokozott expresszióját észleltük a hyperplasiás szövetben. A minták mindegyikében a luminális sejteket elfedték a CD44v5 pozitív sejteket. A CD44 izoformáinak vizsgálatakor a CD44 v3, v4 és v7/8 esetén is a CD44 v5 izotípushoz hasonló festődést észleltünk. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a CD44 összes izoformáját a CK14 negatív, differenciált sejtek expresszálják.

## **Következtetések**

A McNeal által leírt prosztata zónák a prosztata anatómiájának és a metszet pontos síkjának ismeretében hematoxilín és eozin festés alapján reprodukálhatóan felismerhetők és elkülöníthetők. Vizsgálatunk alapján a prosztata tranzicionális zónájának elkülönítése jelenti a legnagyobb kihívást. Az átmeneti zóna szövettani szerkezete leginkább a perifériás zónához hasonlított. Az átmeneti zóna a kor előrehaladtával és a BPH megjelenésével válik egyre szembetűnőbbé és könnyen azonosíthatóvá. Feldolgozott kilenc mintánkból hatban sikerült teljes biztonsággal az átmeneti zónát körülhatárolni. A vesicula seminalis a prosztatától

könnyen elkülöníthető és morfológiai képe alapján leginkább a centrális zónához hasonlít. A prosztata zónáinak elkülönítése egyelőre elsősorban további vizsgálatok és tudományos kutatások szempontjából fontos, a zónák ismerete a betegségek klinikai kezelését nem befolyásolja jelentősen.

Vizsgálatunkban számos citokeratin expresszióját vizsgáltuk a prosztata epitheliumában. A citokeratinokat széles körben használják a sejtek differenciáltsági fokának meghatározásához. A prosztata zónái között a luminális szekretoros, a bazális és az intermedier sejtek eloszlásában és előfordulási gyakoriságában nem találtunk lényeges különbséget. Az ondóhólyag epitheliumában viszont a szekretoros és a bazális sejtek aránya lényegesen eltért a prosztataétól. A prosztata zónáinak eltérő biológiai viselkedése a különböző differenciáltságú sejtek eloszlásbeli különbségével nem magyarázható. Az ondóhólyag alacsonyabb számú bazális sejtjeinek és osztódó sejtjeinek száma a hám alacsonyabb turnover-ével magyarázható, melynek szerepe lehet a vesicula seminalis alacsony megbetegedési rátájában.

A McNeal munkacsoportja által használt zonális markerek közül a laktoferrin és a PNA jól használható a prosztata zónáinak elkülönítésére. Ugyanakkor észrevételünk szerint ez csak abban az esetben lehetséges, ha egy metszeten belül legalább két zóna is jelen van és a két területet egymással össze lehet hasonlítani. Amennyiben csak egy kisebb szövetrészletről kell véleményt mondani a két marker a pontos azonosítást nem segíti.

A funkcionális markerek PSA és a PAP a luminális sejtek apikális részén mutatott erős expressziót, mely a prosztatában egységes volt, de az ondóhólyagban nem mutatott festődést. Ebben a tekintetben a prosztata három zónája élesen elkülönül a vesicula seminalis-tól. Ha a centrális zóna és a vesicula seminalis esetén közös embriológiai eredetet feltételezünk, a működést tekintve akkor is jelentős az eltérés.

A neuroendokrin sejtek magas száma az utriculus prostaticusban ill. a prosztatamirigyek kivezetőcsatornáiban két következtetéshez vezet. A neuroendokrin sejteknek lehetséges szerepük az ondósejtek motilitásának fenntartásában. Az utriculus feltételezhetően nem az urogenitalis sinusból és a nem a Wolff-csőből származik, hanem inkább a Müller-cső maradványa lehet.

A mesenchyma vizsgálatok nem találtunk jelentős eltérést a zónák között, mely azt igazolja, hogy a betegségek eltérő megjelenését nem tudjuk ezzel magyarázni.

Korábbi vizsgálatokat megerősítve nem találtunk neuroendokrin sejteket az ondóhólyagban. A perifériás és átmeneti zóna neuroendokrin sejtjeinek magasabb száma a centrális zónához viszonyítva valami módon magyarázhatja a két zóna nagyobb

fogékonyságát a betegségekkel szemben. A neuroendokrin sejtek számát tekintve is nagy a hasonlóság a centrális zóna és az ondóhólyag között.

A CD44 expressziós vizsgálatunkban a normál és a hyperplasiás szövetben sikerült kimutatni az intermedier sejtek populációját, melyek eloszlása a prosztatán belül viszont nem mutatott eltérést.

A perifériás és tranzicionális zóna magasabb proliferációs aktivitása magyarázhatja, azt a tényt, hogy a prosztatarák a perifériás zónában nagyobb arányban ill. a hyperplasia csak az átmeneti zónában jelentkezik.

Összefoglalva a legfontosabb megállapításaink a következők:

- hematoxilin és eozin festés alapján a prosztata anatómiája reprodukálhatóan meghatározható,
- az átmeneti zóna a perifériás zónához hasonlít legjobban,
- a centrális zóna a vesicula seminalishoz és a perifériás zónához is hasonló,
- a prosztata zónáinak eltérő biológiai viselkedése az eltérő differenciáltságú sejtek eloszlási különbségeivel nem magyarázható,
- a vesicula seminalis hámjának alacsonyabb megújulási rátája magyarázhatja annak alacsonyabb megbetegedési rátáját,
- a laktoferrin és a PNA segíthet a zónák elkülönítésében,
- a PSA és a PAP vonatkozásában a prosztata élesen elkülönül a vesicula seminalistól,
- a neuroendokrin festés alapján az utriculus prostaticus a Müller-cső maradványa lehet, és a neuroendokrin sejteknek szerepe lehet az ondósejtek motilitásának fenntartásában,
- a vizsgált szempontok alapján a stroma nem okozza a zónák eltérő viselkedését,
- a centrális zóna hasonlósága a vesicula seminalishoz magyarázhatja a két terület alacsony fogékonyságát proliferatív betegségekkel szemben,
- intermedier sejteket sikerült kimutatni, viszont ezek eloszlása a zónák között nem eltérő,
- a perifériás és átmeneti zóna magasabb proliferációs aktivitása magyarázhatja ezen két terület fogékonyságát proliferatív betegségekkel szemben.

## Saját publikációk jegyzéke

### *Az értekezés témájában megjelent közlemények:*

Alam TN, O'Hare MJ, Laczko I, Freeman A, Al-Beidh F, Masters JR, Hudson DL. (2004) Differential Expression of CD44 During Human Prostate Epithelial Cell Differentiation. *J Histochem Cytochem* 52: 1083-1090. **IF: 2,513**

Laczko I, Hudson DL, Freemanm A, Feneley MR, Masters JR. (2005) Comparison of the zones of the human prostate with the seminal vesicle: morphology, immunohistochemistry, and cell kinetics *Prostate*. 62(3): 260-6. **IF: 3,602**

Laczko I, Hudson DL, Freeman A, Feneley MR, Masters JR. (2006) Különbségek a prosztatata zónái és az ondóhólyagok között a betegségek tükrében – immunhisztokémiai tanulmány. *Uroonkológia*. 3(2): 37-42.

### *Az értekezés témájában megjelent idézhető könyvfejezet*

Masters JR, Alam T, Foley CL, Laczko I, Hudson DL. Stem cells and differentiation in human prostate cancer. In: Bangma CHH, Newling DWW (szerk), *Prostate and renal cancer, benign prostatic hyperplasia, erectile dysfunction and basic research*. The Parthenon Publishing Group, London, 2003: 145-154.

### *Nem az értekezés témájában megjelent közlemények:*

Eden CG, Richards AJ, Ooi J, Moon DA, Laczko I. (2007) Previous bladder outlet surgery does not affect medium-term outcomes after laparoscopic radical prostatectomy. *BJU Int* 99(2): 399-402. **IF: 2,751**

Juhász A, Laczko I, Karányi Zs, Kovács P. (2000) Felodipin ER kezeléssel szerzett tapasztalataink. *Magy Belorv Arch* 53: 61-65.