

# **A $\beta$ -disztroglikán és az akvaporin-4 kifejeződése az endimában és a szubventrikuláris zónában**

**Doktori tézisek**

**Dr. Adorján István**

Semmelweis Egyetem  
Szentágothai János Idegtudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kálmán Mihály, DSc

Hivatalos bírálók: Dr. Gericz Balázs, Habil., PhD  
Dr. L. Kiss Anna, Habil., PhD, CSc

Szigorlati bizottság elnöke:  
Prof. Röhlich Pál, DSc

Szigorlati bizottság tagjai:  
Prof. Wenger Tibor, DSc  
Dr. Madarász Emília, DSc

**Budapest  
2011**

## **1. Bevezetés**

Jelen tanulmány a gerinces központi idegrendszer azon vékony rétegére koncentrálnak, amelyet ventrikuláris és szubventrikuláris zóna néven említ a szakirodalom. Az erről a néhány sejtsornyi vastagságú területről rendelkezésre álló információ robbanásszerűen nőtt meg az utóbbi évtized alatt, amely leginkább a neurogenesisben betöltött szerepének tulajdonítható.

A legújabb vizsgálatok szerint sokkal gazdagabb laminin tartalmú rendszer létezik az emlős agyban, mint ahogyan korábban feltételezték (Mercier és mtsai 2000, 2002). Ez a szerteágazó laminin-hálózat (amely a perivaszkuláris lamina basalis-szal függ össze) kommunikációs útként szolgálhat a citokinek és növekedési faktorok számára, amelyek a neurogenesis és a funkcionális plaszticitás szabályozói.

A lamina basalis és sejtek közötti kapcsolat kialakításában, és ezzel együtt számos sejtleletani folyamat szabályozásában, jelentős szerepet játszik a disztrofin-glikoprotein komplex (DGK). A molekulacsoporton belül a  $\beta$ -disztroglükán ( $\beta$ -Dg) a központi elem, amely többek között az akvaporinokat is tartalmazó sejtmembránrészletet az extracelluláris mátrix (ECM) lamininjéhez horgonyozza ki, és így szerepet tulajdonítanak az akvaporin-4 (Ap-4) eloszlásában. Kísérleteink során ezt a kapcsolatot vizsgáltuk a kamrarendszer mentén, és ezen belül néhány specializált régióban, úgymint a cirkumventrikuláris szervek (CVO) területén.

A neuroglia átösvő és az érrendszerrel kapcsolatot teremtő ECM patológiás körülményekben (úm. agytraumát követő agyödéma, stroke) illetve ezek elhárításában is kiemelkedő fontossággal bírhat. Ebből az okból kifolyólag kutatásaink során leginkább a lamina basalis-hálózat és a neuroglia kapcsolatára koncentráltunk az agyszövet ventrikuláris- és szubventrikuláris zónájában.

## **2. Célkitűzések**

A disszertáció fő célkitűzései között a következő jelenségek vizsgálatai szerepeltek:

1) A  $\beta$ -disztroglikán szerepe a Mercier által leírt fraktonrendszer kapcsolatában.

2) Hogyan változik ez a kamrarendszer specializált területein, mint például a cirkumventrikuláris szervek?

3) Hogyan függ össze a  $\beta$ -disztroglikán expressziója az Ap4 immunpozitivitás változásaival?

Az adatok alapvetően kifejlett patkányból származnak, de igyekeztünk kiterjeszteni kutatásainkat fejlődő állatokra és egyéb gerincesekre is.

### **3. Módszerek**

Kísérleteinket 20 darab felnőtt patkányon (Wistar, 250-300g, hím és nőstény), 3 felnőtt csirkén (Hunnia broiler), 3 felnőtt mongol futóegéren (*gerbil*, *Meriones unguiculatus*), 3 nyúlön (*Oryctolagus cuniculus domestica*), egéren és 1 tüskés ráján (*Dasyatis akajei*) végeztük. Fejlődéstani kísérleteinkhez patkányembriókat (14, 16, 18, 20 naposakat), korai posztnatális állatokat (újszülött, 2, 4, 7, 9 naposakat) és fiatal patkányokat (15, 19, 20, 21, 30 naposakat) használtunk. Az állatkísérletek végrehajtása során az Európai Tanács 86/609/EEC határozata volt az irányadó (engedélyszám: 22.1/3453/003/2009).

Az elkészült metszetek nagy részét immunhisztokémiai vizsgálatoknak vetettük alá, amely során mind az immunfluoreszcens, mind az avidin-biotin-komplex módszer szerint végeztünk kísérleteket. A fluoreszcens metszetek túlnyomó többségét Radiance-2100 (BioRad, USA) konfokális rendszerű lézer szkennning mikroszkóppal vizsgáltuk. Az antitestek kolokalizációjának megerősítésére egymásra 90°-ban merőleges síkokban is készültek felvételek.

Elektronmikroszkópos kutatásaink során két különböző módszer szerint hajtottuk végre kísérleteinket úm. a) pre-embedding immunhisztokémiai reakció  $\beta$ -disztroglikán ellen és b) elektronmikroszkópos megfigyelések immunhisztokémiai reakció nélkül.

## **4.Erdmények**

### **4.1. A $\beta$ -Dg-immunpozitív globulusok szerkezete:**

A kamrarendszer mentén kerek,  $\beta$ -Dg-ip képletek sorakoztak a ventrikuláris felszín mentén. Átmérőjük 1 és 2  $\mu\text{m}$  között volt és szigorúan ugyanabban a rétegben helyezkedtek el, 6-8  $\mu\text{m}$ -re a kamrafelszíntől és egymástól 3-5  $\mu\text{m}$  távolságra. A kapillárisok átmetszetével szemben ezek tömör, üreg nélküli képleteknek bizonyultak. Háromdimenziós szerkezetük és eloszlásuk meghatározásához koronális, szagittális és horizontális metszetek készültek. Mindegyik síkban hasonló tömör, gömbölyű megjelenésük volt, ezért kapták a „globulus” kifejezést. Hasonló globulusok voltak jelen mind a fluoreszcens, mind a DAB-módszerrel kezelt metszeteken. A primer szérum elhagyásakor globulusok nem voltak megfigyelhetők.

### **4.2. Az Ap4 és a DGK további tagjai a globulusokban:**

A  $\beta$ -Dg-ip globulusok területe egyben Ap4-ip is volt, a kolokalizációt egymásra merőleges síkokban készített kettős jelzéses képek bizonyították.

A  $\beta$ -Dg-hoz hasonlóan az utrofin és az  $\alpha$ -disztrobrevin szintén megtalálható volt a globulusokban a kamrarendszer mentén. Az  $\alpha$ 1-szintrofin nem volt megtalálható a globulusokban, hanem az endimociták membránhoz közeli részein helyezkedett el.

Kettős jelzéses kísérlet bizonyította az  $\alpha$ -disztrobrevin és  $\beta$ -disztroglikán, valamint utrofin és  $\alpha$ -disztrobrevin kolokalizációját. Emellett kettős jelzéses kísérlet bizonyította a  $\beta$ -disztroglikán és  $\alpha$ 1-szintrofin különböző eloszlását.

### **4.3. Elektronmikroszkópos vizsgálatok**

A  $\beta$ -Dg ultrastrukturális eloszlásának vizsgálatokor a diaminobenzidin-precipitáció az endimociták bazális részén volt megtalálható, az itt elhelyezkedő membránbetüremkedésekben,

ciszternákban, vagy labirintusszerű membránrendszerekben. Ennek a labirintusrendszernek a mérete megegyezett a fluoreszcens metszeteken talált globulusokéval. A szerkezet komplexitása azonban változatos volt. Néhány esetben látható volt összeköttetésük vékony, intercelluláris hasadékok mentén az extraependimális tér felé. Abban az esetben, amikor a metszeteket immunhisztokémiai reakció nélkül vizsgáltuk, de uranil-acetátos és ólom-citrátos előkezelést használtunk az ultravékony szeleteken, a labirintusrendszert enyhén elektrondenz anyag töltötte ki. A  $\beta$ -Dg-ip globulusok az endimociták találkozási szögleteinél helyezkedtek el (ti. ott, ahol legalább 3 endimocita érintkezett egymással). Egy endimocita kerülete mentén akár 5-6 ilyen  $\beta$ -Dg-ip globulus is megtalálható volt.

#### **4.4. A globulusok eloszlása a kamrarendszer mentén**

A  $\beta$ -Dg-ip globulusok a teljes kamrarendszer mentén előfordultak az aqueductus cerebri és a canalis centralis területét is beleértve. Előfordulásuk nem függött az endimociták magasságától, akár lapos, köbös vagy hengeres sejtek voltak. Az egyetlen kivétel a harmadik kamra ventrális része volt, ahonnan teljesen hiányoztak. Ennek a területnek a pontos határai: előlről az area retrochiasmatis és a nucleus arcuatus között P2100  $\mu\text{m}$ -nél (a P jelentése: a bregma mögött), hátulról a recessus inframaxillaris kaudális része (P4500  $\mu\text{m}$ ), ventrálisan magába foglalja a teljes eminentia medianát és betérjed a recessus inframaxillarisba.

#### **4.5. A globulusok elhelyezkedése az endimához és az asztrocitákhoz viszonyítva**

A  $\beta$ -Dg-ip globulusok az endimociták bazális felszínén helyezkednek el. A GFAP-ip asztrocitanyúlványok összefüggő „kordont” formáltak a kamrafelszínnel párhuzamosan a  $\beta$ -Dg-ip globulusok kontraependimális oldalán. A nyúlványok egy része összeköttetésben állt a globulusokkal. A „kordon”-tól endimális erek nem voltak fellelhetők. Ez az elrendezés hasonló volt a negyedik kamra esetében és a canalis centralis területén is.

A harmadik kamra ventrális részén, az eminentia mediana területén taniciták találhatók, amelyek hosszú bazális nyúlványukkal a piális felszínnel teremtenek kapcsolatot. A taniciták és endimociták közötti átmenet éles vonalként jelentkeznek, és ettől a vonaltól ventrálisan globulusok nem voltak találhatóak. Ennek megfelelően a fent említett globulus-mentes terület megfelelt a harmadik kamra taniciták által határolt részének. Itt a kamrafelszínnel párhuzamos GFAP-ip asztrocitanyúlványok is hiányoztak.

#### **4.6. A cirkumventrikuláris szervek: az eminentia mediana**

B-disztroglikán és Ap4 kettős jelölésével - korábbi eredményeinkkel összhangban - az eminentia mediana területén nem voltak globulusok megfigyelhetők, a  $\beta$ -Dg-ip globulusok csak ott voltak jelen, ahol endimociták határolták a kamrafelszínt. Az itt elhelyezkedő tanicitákból álló endidima Ap4-in volt, míg a dorzolaterálisan elhelyezkedő endidima tanicitái Ap4-immunpozitívák voltak és a globulusok innen is hiányoztak.

#### **4.7. A cirkumventrikuláris szervek: a szubkommisszurális szerv**

Annak ellenére, hogy a harmadik kamra endidimája intenzív Ap-4 immunpozitivitást mutatott, a szubkommisszurális szerv területe Ap-4-in volt. Emellett a GFAP is hiányzott a sejtekből, megegyezve laboratóriumunk korábbi eredményeivel. B-disztroglikán és Ap4 kettős jelzésével a szubkommisszurális szerv területéről, akárcsak mint az eminentia medianából, hiányoztak a globulusok.

#### **4.8. A globulusok előfordulása különböző fajokban**

Csirkeagyban tett megfigyeléseink általában nem különböztek azoktól, amiket a  $\beta$ -Dg és az Ap-4 tekintetében patkányon tettünk. Az endidimális réteg az Ap4-immunreakcióval a környező agyállományánál intenzívebben

jelölődött az oldalkamra, harmadik kamra és a negyedik kamra területén, viszont a canalis centralis esetében Ap4-immunnegatív volt

A  $\beta$ -Dg-ip globulusok megtalálhatóak voltak a többi vizsgált emlősben is [egér, gerbil (mongol futóegér, *Meriones unguiculatus*), nyúl (*Oryctolagus cuniculus domestica*)] és ugyancsak előfordultak tuskésrája endimával borított kamrarendszere mentén (*Dasyatis akajei*). A gerbil harmadik agykamrájának tanicitákat tartalmazó régiójában azonban, a patkányhoz hasonlóan, hiányoztak.

#### **4.9. A $\beta$ -disztroglikán és akvaporin-4 expressziója a csirke egyes cirkumventrikuláris szerveiben**

Az eminentia mediana teljes vastagságában Ap4-in volt, viszont intenzív festődés volt tapasztalható a hipotalamusz területén. Az Ap4-immunjelzés kirajzolta a taniciták itt futó hosszú nyúlványait. A szubkommisszurális szerv Ap4-negatív immunfestése éles kontrasztban állt a harmadik kamra egyébként Ap4-ip borításával. A paraventriculáris szerv területén az endidima Ap4-in volt és a  $\beta$ -Dg-ip globulusok is hiányoztak, a szubkommisszurális szervhez hasonlóan.

#### **4.10. Tanulmányok perinatális patkányokon: a szubkommisszurális szerv és az eminentia mediana**

Különböző életkorú embriókon végzett kísérletek alapján az Ap4-immunpozitivitás nem volt tapasztalható a 16. intrauterin nap előtt. A késői főtális periódusban (E18, E20) a szubkommisszurális szerv Ap4 immunpozitívnek bizonyult, míg a környező endidima Ap4-immunpozitivitása gyenge volt és nem múlta felül a környező agyszövetét. Ezzel ellentétben, születéskor a szubkommisszurális szerv Ap4-in volt és a környező endidima intenzív Ap4-immunpozitivitást mutatott. Az eminentia mediana esetében hasonló tendencia volt megfigyelhető: az embrionálisan Ap4-ip kamrakontakt réteg posztnatálisan Ap4-in volt. A festődések a hetedik posztnatális napon megegyeztek a felnőttben tapasztaltakkal.

#### **4.11. Tanulmányok késői posztnatális patkányokon - a globulusok kialakulása**

Patkánygyaban a  $\beta$ -Dg-ip globulusok P19-ig nem voltak megfigyelhetők. Ezek P20-tól folyamatosan jelentek meg a kamrarendszer mentén és P30-ra a felnőttkorra jellemző eloszlás alakult ki.

### **5. Megbeszélés**

#### **5.1 A globulusok és a DGK kapcsolata**

Jelenlegi ismereteink szerint ez az első leírás az epindimociták bazális részén elhelyezkedő „globulusokról”, amelyek  $\beta$ -disztroglikánt és a DGK egyéb tagjait tartalmazzák. Ezen a területen a  $\beta$ -disztroglikán együtt fordul elő az  $\alpha$ -disztrobrevinnel és utrofínnal, amelyet kettős jelzéses kísérletek bizonyítanak.

Nem találtunk  $\beta$ -Dg-ip globulusokat a harmadik kamra jól körülhatárolt részén, ahol taniciták alkotják az epindimát. A globulusok előfordulásának határa itt egybeesik a „világossejtes zóna tanicitákkal” és a „világossejtes zóna taniciták nélkül” határával (Mitro és Palkovits 1981).

Meglepőnek hatott az  $\alpha$ 1-szintrofin és a  $\beta$ -Dg különböző lokalizációja egy sejten belül, azonban más munkacsoport talált már az agyban DGK-t szintrofin nélkül is (Moukhles és Carbonetto 2001) valamint izomban szintrofint disztroglikán nélkül (Cote és mtsai 2002). Ezen kívül egyéb szintrofinok jelenléte ( $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\gamma$ 1,  $\gamma$ 2) szintén nem zárható ki (Gorecki és mtsai 1997, Piluso és mtsai 2000, Tinsley és mtsai 1994).

#### **5.2. Az akvaporin-4 eloszlása és a globulusok kapcsolata**

Az Ap4 általános eloszlását illetően eredményeink összhangban állnak a korábbi leírásokkal (Jung és mtsai 1994, Frigeri



és mtsai 1995, Nielsen és mtsai 1997, Venero és mtsai 2001). Az Ap4 immunreaktivitás legintenzívebben a perivaszkuláris és szubpiális végtalpakat (glia limitans) jelölte ki.

Az oldalkamra, harmadik kamra, az aqueductus cerebri és a negyedik kamra endimocitái tartalmazták az Ap4-et (Venero és mtsai 1999, Mack és mtsai 1987), a canalis centralis endimója azonban Ap4-immunnegatívnak bizonyult. Emellett az Ap4-immunfestése az endimociták bazolaterális membránjára korlátozódott- összhangban Frigeri és mtsai (1995) és Nielsen és mtsai (1997) közleményével. Új eredmény tanulmányunkban, hogy a fentebb említett megfigyelések érvényesek madáragyra is.

A  $\beta$ -Dg-ip globulusok és az Ap4 általában kolokalizálva fordultak elő, de a gerincvelőben  $\beta$ -Dg-ip globulusokat figyeltünk meg Ap4 nélkül. Következtetéseink szerint az Ap4 nem feltétlen kísérője a  $\beta$ -Dg-nek, hiszen ott is találtunk Ap4-et, ahol  $\beta$ -Dg-ip globulusok nem fordultak elő (például az eminentia medianától dorzolaterálisan).

### **5.3. A globulusok összefüggése a membránlabirintusokkal**

A globulusok intraependimális lokalizációja a  $\beta$ -Dg elleni pre-embedding elektronmikroszkópos vizsgálatokkal igazolódott. Az elektronmikroszkópos felbontás szintjén a globulusok megfeleltek az endimociták bazális felszínén elhelyezkedő membránlabirintusoknak. Fluoreszcens-mikroszkóppal ezek gömbszerű szerkezeteknek tűntek. Korábbi elektronmikroszkópos tanulmányok már leírtak dudoros labirintusszerű kitüremkedéseket (bazális membrán labirintust) az endimociták bazális részén (Booz és mtsai 1974, Leonhardt 1970), amelyek a perjódsv-biszulfid-aldehidionin módszerrel festve fénymikroszkóppal gömbszerű vagy szabálytalan foltoknak tűntek és megfelelhetnek a  $\beta$ -Dg-ip globulusoknak. Ezek a struktúrák uranil- és ólom-festett ultravékony metszeteinken hasonló labirintusokként ábrázolódtak, mint amelyek Reichenbach és Robinson (1995) felvételein láthatók.

A globulusok megjelenése P19-30 között, amelyet  $\beta$ -Dg antitesttel detektáltunk, szintén jól korrelál Booz és mtsai (1974) fénymikroszkópos megfigyeléseivel a bazális membránlabirintus kialakulásával kapcsolatban. Mindemellett ebben a korábbi

tanulmányban a labirintusok kezdeményei, mint lamelláris szerkezetek, elektronmikroszkóppal már P12-től megfigyelhetők voltak (Booz és mtsai 1974).

#### **5.4. A globulusok és a fraktonrendszer kapcsolata**

Az endimociták bazális felszínén előforduló laminin-receptorok funkcionális jelentőségét korábbi adatok vetették fel. Leonhardt (1970) és munkatársai (Booz és mtsai 1974) után Reichenbach és Robinson (1995) úgy interpretálta az endimociták bazális részén található elektrondenz csíkokat, mint az embrionális érrendszer (ti. lamina bazálisuk) maradványát a szubventrikuláris zónában. Mercier és mtsai (2002, 2003) eredményei alapján a kamrafelső felületén található kapillárisok lamina bazálisából egy rendkívül finomszövésű lamininhálózat emelkedik ki. Ez áthatol a szubependimális rétegen és ágakat küld az endimóhoz, meglehetősen hasonlóan a fraktál-rendszerhez. Ebből kifolyólag ezek a perivaszkuláris és szubependimális teret összekötő csatornák a „frakton” nevet kapták. Eredményeink alapján úgy véljük, hogy a globulusok (ti. bazális membránlabirintus)  $\beta$ -disztruglikánja kihorgonyozza a laminintartalmú fraktonokat az endimóhoz.

Felvetődik a kérdés, vajon miért nem találhatók globulusok a harmadik kamra tanciták által határolt részén. Ennek magyarázatához vissza kell térnünk a fejlődés korábbi stádiumára, amikor radiális glia alkotja a ventrikuláris zónát. A radiális glia hosszú nyúlványaival közvetlen kapcsolatot létesít a piális felszín lamina bazálisával. Később a radiális gliát endimó váltja fel a ventrikuláris zónában. Az endimociták, amelyeknek nincsenek a piális felszínnel közvetlen kapcsolatot biztosító hosszú nyúlványaik, mégis megőrzik a pia materrel való összeköttetésüket. Ez az összeköttetés a laminin-tartalmú fraktonokból és az erek perivaszkuláris teréből tevődik össze. Ebből kifolyólag a laminin-receptor  $\beta$ -disztruglikán az endimociták bazális felszínén levő membránlabirintusban tömörül, amely fénymikroszkópos vizsgálattal globulusokként jelent meg az immunhisztokémiai feldolgozás után. A tanciták megőrzik piális felszínnel kapcsolatot teremtő hosszú nyúlványukat, éppen ezért nincs szükség ezeken a területeken a laminin-kötő globulusokra.

## **5.5 A globulusok a törzsfejlődésben**

Különböző fajokban végzett vizsgálataink során globulusokat azokon az agyterületeken találtunk, ahol endimociták helyezkedtek el. Ráján kapott eredményeink nem mondanak ennek ellent, mivel a többi „alsóbbrendű” gerincestől eltérően a telencephalonban asztrocitás gliaszervezetük van. Felvetődik a kérdés, hogy a filogenetikailag távol lévő fajokban (ti. patkány és rája) megfigyelt közös szekezeti vonás (ti. globulusok) konvergencia vagy ősi, közös tulajdonság-e. Az a megfigyelés, hogy az emlősök és madarak tunicitáinak megfelelően, amelyek hasonlítanak az „alsóbbrendű” gerincesek endimogliájára, nincs globulus, arra enged következtetni, hogy a globulusok megjelenése rájában, emlősben és madárban valószínűleg konvergencia eredménye, ti. ezek az endimoglia asztrocitával való felváltása során jelentek meg.

## **5.6 A cirkumventrikuláris szervek**

A vizsgált cirkumventrikuláris szervek endimájában sem az Ap4, sem a  $\beta$ -Dg-ip globulusok nem voltak megtalálhatók. Az Ap4 immunnegativitásáról a szubkommisszurális szerv és az eminentia mediana területén rendelkezésre állt közvetett irodalmi adat (lásd az „orthogonally arrayed particles”-ök eloszlásáról Mack és mtsai 1987). Kísérleteink összhangban állnak azzal az állásponttal, hogy az Ap4 expressziója fordított összefüggésben áll a zonula occludens előfordulásával (Mack és mtsai 1987).

A patkányagy fejlődése során kapott eredmények azt bizonyítják, hogy az Ap4-immunnegativitás mind a szubkommisszurális szerv, mind az eminentia mediana esetében másodlagos jelenség: a késői főtális periódusban mind a két szerv intenzív immunpozitivitást mutatott. Ez röviddel a születés után eltűnt (az eminentia mediana esetében csak az endimális zónából).

## **5.7. Tunicitákkal kapcsolatban tett megfigyeléseink**

Tanulmányunkban kettő, az Ap4-et eltérően kifejező tunicitapopulációt írtunk le, amelyek a harmadik kamrában az

eminentia mediana szintjében találhatóak. A ventrálisan elhelyezkedő taniciták Ap4-immunnegatívak, míg a dorzolaterálisan lévők Ap4-immunpozitívak. A patkánygyon végzett megfigyelések megegyeznek a csirkeagyban találtakkal.

A taniciták által határolt szubventrikuláris régióban az egyébként általánosan előforduló GFAP-ip asztrocitakordon (ti. a kamrával párhuzamos asztrocitanyúlványrendszer) (Ludwin és mtsai 1976, Merker 1970, Quinones-Hinojosa és mtsai 2006) is hiányzott.

## **6. Új kísérletes eredmények összegzése és következtetések**

### **6.1 Új kísérletes eredmények összegzése**

1) Leírtuk patkánygyonban az ependima és a szubventrikuláris zóna között elhelyezkedő  $\beta$ -Dg-ip globulusokat és feltérképeztük előfordulásukat a kamrarendszer mentén.

2) Megvizsgáltuk az akvaporin-4 és a DGK tagjainak kifejeződését a globulusokban (pozitív:  $\alpha$ -disztrobrevin és utrofin esetében; negatív:  $\beta$ -disztrobrevin és az  $\alpha$ 1-szintrofin esetében). A globulusok a gerincevelő kivételével akvaporin-4 immunpozitívak voltak.

3) Bizonyítottuk a globulusok összefüggését a korábban leírt membránlabirintusokkal (Leonhardt 1970).

4) Leírtuk a  $\beta$ -Dg-ip globulusokat több fajban a gerincesek törzsén belül [úm. egér, gerbil (mongol futóegér), nyúl, csirke, tuskésrája].

5) A vizsgált cirkumventrikuláris szervek ependimális területe (eminentia mediana, szubkommisszurális szerv, paraventrikuláris szerv) mind globulus és akvaporin-4 mentes régióknak bizonyult, patkányban és csirkében egyaránt.

6) A kifejlett eminentia mediana és a szubkommisszurális szerv esetében az akvaporin-4 immunnegativitás másodlagos

jelenség, embrionálisan (E18-20) mind a két terület akvaporin-4 immunpozitív.

7) A  $\beta$ -Dg-ip globulusok a 20. posztnatális nap körül jelennek meg az endimociták bazális membránján és több (általában három) endimocita találkozási szögleténél helyezkednek el.

8) Az akvaporin-4 expresszió tekintetében két különböző tanicitapopulációt írtunk le, a harmadik kamra ventrális részén elhelyezkedő akvaporin-4 immunnegatív, a dorzális területen lévő viszont akvaporin-4 immunpozitív. Megfigyeléseink csirkében és patkányban azonosak voltak.

## **6.2. Következtetések**

Leírásra került az endidima és a SVZ határának új jellegzetes tulajdonsága.. Ez az észrevétel egyben két, korábban leírt struktúra (membránlabirintus-Leonhardt 1970, fraktonrendszer-Mercier és mtsai 2000) közti kapcsolatot teremti meg. Ennek eloszlása (ti. hiánya a tanicitás területeken) következtetést enged az endidima és a SVZ egyed- és törzsfajlásának irányára. Feltételezésünk szerint, amíg a kamrát bélelő sejt hosszú nyúlványával közvetlen kapcsolatban áll az erek körül lévő vagy piális ECM-szal (például az endimoglia, tanicita és radiális glia esetében) addig nincsen „szükség” a globulusokra. Amikor ez a közvetlen kapcsolat megszűnik (az endimociták esetében), akkor a fraktonok kihorgonyzásával a globulusok biztosítják az összeköttetést a perivaszkuláris ECM-szal.

## 7. Saját publikációk jegyzéke

### **Az értekezésben feldolgozott közlemények:**

- Adorján I, Kálmán M. 2009. Distribution of beta-dystroglycan immunopositive globules in the subventricular zone of rat brain. *Glia*, 57(6):657-66. IF: 4,932
- Goren O, Adorján I, Kálmán M. 2006. Heterogeneous occurrence of aquaporin-4 in the ependyma and in the circumventricular organs in rat and chicken. *Anat Embryol (Berl)*, 211(2):155-72. IF: 1,277

### **Az értekezéssel kapcsolatos előadások (zárójelben a megjelent kivonatuk):**

- Adorján I, Kálmán M. 2008. Laminin-receptor dystroglycan and its associate proteins occur along the ventricular system except tanyocyte-lined part of the third ventricle. FENS Conference Geneve, (FENS Abs. 207.2, 2008).
- Adorján I, Kálmán M. 2007. Laminin-receptor dystroglycan and its associate proteins occur along the ventricular system except the tanyocyte-lined part of the third ventricle. SfN Conference, San Diego, (SFN Abs 459.18, 2007).
- Adorján I., Pócsai K., Bagyura Zs., Kálmán M. 2007. Functional relevance of the immunoreactivity of basal lamina components and laminin receptors- a study in rat brain. III. Ependyma. MITT Konferencia, Szeged, (Clin Neurosci 60 Suppl 1: 6).
- Adorján I, Szabó A, Kálmán M 2006. Heterogenous appearance of immunohistochemical markers in ependyma. SfN Conference, Atlanta, (SFN Abs 515.17, 2006).
- Adorján I, Goren O, Kálmán M. 2005. Immunohistochemical investigations on developing ependyma suggest local differences. 100. Versammlungen der Anatomische Gesellschaft. Leipzig, (Verh Anat Ges Ann Anat Suppl, 187).
- Adorján I, Goren O, Kálmán M. 2005. Comparative immunohistochemical studies of ependymal features and cytoskeletal proteins in mammalian radial glia and avian ependymoglia. MITT Konferencia, Pécs, (*Clinical Neuroscience (Budapest)* 58 Suppl 1: 5).

Goren O, Adorján I, Kálmán M. 2004. Aquaporin-4 eltérő előfordulása az ependimában, a circumventriculáris szervek tekintetében, SE TDK Konferencia, Budapest.

**Egyéb közlemények:**

Kálmán M, Mahalek J, Adorján A, Adorján I, Pócsai K, Bagyura Z, Sadeghian S. 2011. Alterations of the perivascular dystrophin-dystroglycan complex following brain lesions. An immunohistochemical study in rats. *Histol Histopathol*, 26:1435-1452. IF: 2,502

Wappler EA, Adorján I, Gál A, Galgóczy P, Bindics K, Nagy Z. 2011. Dynamics of dystroglycan complex proteins and laminin changes due to angiogenesis in rat cerebral hyperperfusion. *Microvasc Res*, 81(2):153-9. IF: 2,390

**8. Köszönetnyilvánítás**

Köszönöm az Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet munkatársainak, hogy szakértelmükkel segítették munkámat. Külön köszönettel tartozom témavezetőmnek, Prof. Kálmán Mihálynak és a labor asszisztensének, Őz Andreának, valamint Prof. Csillag Andrásnak, Dr. Adorján Andrásnak, Dr. Bálint Eszternek, Balázs Tamásnak, Dr. Gyuricza Annának, Dr. Hanics Jánosnak, Dr. Kozsurek Márknak, Dr. Mezey Szilvinek, Dr. Puskár Zitának, Dr. Zachar Gergőnek, Bárány Annának, Deák Szilvinek, Lukácsi Erikának, Oszwald Erzsébetnek, Szász Istvánné Marcsinak és Vidra Zsuzsának.