

Cirkumventrikuláris szervek gliaszerkezete és extracelluláris mátrixa

Doktori értekezés

Dr. Pócsai Károly

Semmelweis Egyetem
Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kálmán Mihály D.Sc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Matesz Klára D.Sc., egyetemi tanár
Dr. L. Kiss Anna Ph.D., egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Röhlich Pál D.Sc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Magyar Attila Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Környei Zsuzsanna Ph.D.

Budapest
2015.

Tartalomjegyzék

| | |
|--|----|
| Tartalomjegyzék | 2 |
| Rövidítések jegyzéke | 5 |
| 1. Bevezetés | 6 |
| 1.1. A circumventrikuláris szervekről általában..... | 6 |
| 1.1.1. A circumventrikuláris szervek funkciói | 7 |
| 1.2. Vér-agy gát | 8 |
| 1.2.1. Az agyi erek szerkezete | 9 |
| 1.3. A circumventrikuláris szervek erei..... | 11 |
| 1.4. A lamina basalis szerkezete | 11 |
| 1.4.1. Laminin..... | 12 |
| 1.5. A disztroglikán-komplexum | 13 |
| 1.5.1. Utrofin..... | 14 |
| 1.6. Glia | 15 |
| 1.6.1. Perivaszkuláris és meningeális glia | 16 |
| 1.6.2. Az asztroglia kimutatása | 16 |
| 1.7. Az extracelluláris mátrix | 19 |
| 1.7.1. Hialuronsav | 20 |
| 1.7.2. Glikoproteinek | 20 |
| 1.7.3. Proteoglikánok | 20 |
| 1.8. SFO..... | 22 |
| 1.9. Area postrema..... | 24 |
| 1.10. OVLT | 25 |
| 1.11. Eminentia mediana, neurohipofízis és tobozmirigy | 26 |
| 2. Célkitűzések | 27 |
| 3. Módszerek | 28 |
| 3.1. Kísérleti állatok | 28 |
| 3.2. Fixálás és metszés..... | 28 |
| 3.3. Immun- és lektinhisztokémiai reakciók..... | 28 |
| 3.4. Kettősjelzésű fluoreszcens reakciók | 29 |
| 3.5. Mikroszkópia és digitális fényképezés | 30 |
| 3.6. Elektronmikroszkópia és félvékony metszetek | 30 |
| 4. Eredmények | 33 |
| 4.1. SFO..... | 33 |
| 4.1.1. Laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitás..... | 33 |
| 4.1.2. Elektronmikroszkópos vizsgálatok | 36 |
| 4.1.3. Laminin immunreaktivitása kombinálva GFAP-éval és vimentinével..... | 36 |
| 4.1.4. Vimentin-GFAP kettősjelzés | 39 |
| 4.1.5. Más gliamarkerek: glutamin-szintetáz, S100, nesztin | 41 |
| 4.1.6. Akvaporin-4 – főleg a 'hájban' | 44 |
| 4.2. Area postrema..... | 44 |
| 4.2.1. Érszerkezet..... | 44 |
| 4.2.2. Gliaszerkezet: GFAP és vimentin..... | 48 |
| 4.2.3. Egyéb markerek | 50 |
| 4.3. OVLT | 53 |
| 4.3.1. Az általános szerkezet..... | 53 |

| | |
|---|----|
| 4.3.2. Érszerkezet..... | 56 |
| 4.3.3. A gliaszerkezet: vimentin és GFAP..... | 58 |
| 4.3.4. Nesztin/vimentin és akvaporin-4/GFAP kijelölte területek..... | 62 |
| 4.3.5. S100 és glutamin-szintetáz | 62 |
| 4.4. Eminentia mediana | 65 |
| 4.4.1. Az érrendszer a laminin és a β -disztroglikán immunhisztokémiai kimutatása alapján | 65 |
| 4.4.2. A gliarendszer vizsgálata: GFAP, vimentin és nesztin..... | 65 |
| 4.4.3. Glutamin-szintetáz és S100 | 68 |
| 4.4.4. Akvaporin-4 | 68 |
| 4.5. Neurohipofízis | 71 |
| 4.5.1. β -disztroglikán és utrofin a lamina basalis ellenkező oldalán helyezkednek el | 71 |
| 4.5.2. Gliasejtek a neurohipofízisben | 71 |
| 4.5.3. Akvaporin-4 eloszlása GFAP-éhoz viszonyítva | 71 |
| 4.6. Tobozmirigy | 74 |
| 4.6.1. Laminin és β -disztroglikán eloszlása a tobozmirigyben..... | 74 |
| 4.6.2. Urofin-immunreaktív, de α 1-disztrobrevin-immunnegatív erek | 74 |
| 4.6.3. Gliamarkerek és akvaporin-4 eloszlása a tobozmirigyben | 76 |
| 4.7. Extracelluláris mátrix | 78 |
| 4.7.1. Eminentia mediana | 78 |
| 4.7.2. Tobozmirigy | 78 |
| 4.7.3. SFO | 80 |
| 4.7.4. Area postrema | 80 |
| 4.7.5. OVLT..... | 80 |
| 4.7.6. Neurohipofízis | 80 |
| 4.7.7. Tenascin-R- β -disztroglikán kettősjelzés az eminentia medianában | 82 |
| 4.8. Urofin és α 1-disztrobrevin..... | 83 |
| 5. Megbeszélés | 86 |
| 5.1. Közös megbeszélés..... | 86 |
| 5.1.1. A disztroglikán-immunreaktivitás jelentősége | 86 |
| 5.1.2. A vaszkuláris laminin-immunreaktivitás jelentősége..... | 86 |
| 5.1.3. A laminin- és a β -disztroglikán immunreaktivitása 'értípusokat' különböztet meg..... | 87 |
| 5.1.4. Urofin..... | 88 |
| 5.1.5. Az akvaporin-4 eloszlása | 90 |
| 5.1.6. Nesztin | 91 |
| 5.1.7. A vimentin és a GFAP lokalizációja gyakran eltérő | 91 |
| 5.1.8. A taniciták nem feltétlenül dominálnak..... | 92 |
| 5.1.9. A glutamin-szintetáz kevés, az S100 viszont sok a GFAP-hoz képest..... | 93 |
| 5.1.10. Extracelluláris mátrix..... | 93 |
| 5.1.11. Gliovaszkuláris kapcsolat, perivaszkuláris rés és a vér-agy gát | 94 |
| 5.2. SFO..... | 95 |
| 5.2.1. Gliamarkerek eloszlása és gliaszerkezet: 'héj' és 'mag' | 95 |
| 5.2.2. A felszínek: ventrikuláris, piális és parenchimális | 96 |
| 5.2.3. Az érrendszer | 97 |
| 5.2.4. Akvaporin-4: összefüggés GFAP-val és az ozmométer funkcióval | 98 |
| 5.3. Area postrema..... | 98 |

| | |
|--|-----|
| 5.3.1. Értípusok – hasonlóak az SFO-nál találtakhoz | 98 |
| 5.3.2. 'Gliasövény' az area postrema határán – mint az SFO 'héja'? | 99 |
| 5.3.3. GFAP akvaporinnal, vimentin nesztinnel kolokalizál, de egyaránt előfordulnak a 'sövényben' | 100 |
| 5.3.4. Nem minden eret vesznek körül GFAP- ill. vimentin-immunreaktív nyúlványok | 100 |
| 5.3.5. Az endimaborítás | 101 |
| 5.3.6. S100 és glutamin-szintetáz | 101 |
| 5.4. OVLT | 101 |
| 5.4.1. Erek – fellelhetők az SFO-nál látott típusok..... | 101 |
| 5.4.2. Gliaszövet: kétféleképpen is felosztható két populációra | 102 |
| 5.5. Eminentia mediana | 103 |
| 5.5.1. A szubependimális és a szubpiális érfontat összehasonlítása | 103 |
| 5.5.2. Két gliapopuláció – három zóna | 104 |
| 5.5.3. Akvaporin-4 és GFAP ill. nesztin és vimentin tartalmú gliapopulációk elkülönülése | 104 |
| 5.5.4. Egyéb markerek eloszlása a három rétegnek megfelelően | 105 |
| 5.6. Neurohipofízis | 106 |
| 5.6.1. Lamina basalis 'kettősfalú' labirintusa: erek számára képződött betüremkedések a neurohipofízisben..... | 106 |
| 5.6.2. Az akvaporin-4 eloszlása nem esik egybe az erekkel..... | 106 |
| 5.6.3. Gliamarkerek a neurohipofízisben..... | 107 |
| 5.7. Tobozmirigy | 107 |
| 5.7.1. Az agyi erek és a tobozmirigy erei közötti különbségek | 107 |
| 5.7.2. A vizsgált markerek egyenlőtlen eloszlása: proximális és distalis rész.. | 107 |
| 6. Következtetések..... | 109 |
| 7. Összefoglalás | 110 |
| 8. Summary..... | 111 |
| 9. Irodalomjegyzék | 112 |
| 10. Saját publikációk jegyzéke | 130 |
| 11. Köszönetnyilvánítás | 131 |

Rövidítések jegyzéke

| | |
|-------|---------------------------------------|
| GFAP | glial fibrillary acidic protein |
| GLAST | glutamate aspartate transporter |
| GLT-1 | glutamate transporter-1 |
| OVLT | organum vasculosum laminae terminalis |
| SFO | szubfornikális szerv |
| WFA | <i>Wisteria floribunda</i> agglutinin |

1. Bevezetés

1.1. A cirkumventrikuláris szervekről általában

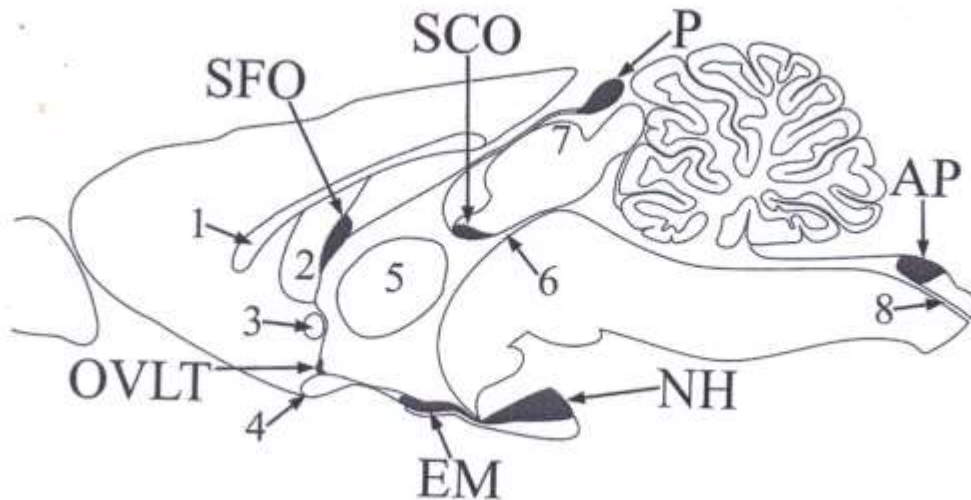
Az agykamrafalban sajátos felépítésű területek találhatóak, melyeket elhelyezkedésük miatt együttesen cirkumventrikuláris szerveknek neveznek (általános leírásért ld. pl. Bouchaud és Bosler 1986; McKinley és mtsai 2003; Vígh és mtsai 2004; Price és mtsai 2008; Sisó és mtsai 2010). Speciális endimá- és más gliasejtek valamint idegelemek jellemzik őket. Először Legait foglalta össze 1942-ben az akkori ismereteket a csoport három tagjáról, a szubkommisszurális-, a paraventriculáris- és a szubfornikális szervről (SFO), majd 1958-ban Hofer alkalmazta először a cirkumventrikuláris szerv kifejezést (Vígh és mtsai 2004). Vígh (1971) három csoportba osztotta a cirkumventrikuláris szerveket: 'ependimális', 'hipendimális' és 'choroid' szervekre. Az emlősgyban (így az emberiben is) a 'choroid' csoportba csak a plexus choroideus tartozik, míg az 'ependimális' csoportot a szubkommisszurális szerv képviseli (Vígh 1971), amely különleges, vastag endimából áll.

A többi cirkumventrikuláris szerv a 'hipendimális' csoportba tartozik: area postrema, eminentia mediana, neurohipofízis, organum vasculosum laminae terminalis (OVL), SFO, tobozmirigy. A 'hipendimális' szervek főleg szubependimális neuronális és glia (főleg asztrocita) elemekből állnak, melyeket endimaborítás fed. Az endimasejtek rétegében jellemzőnek tartják a tanicitákat, melyek hosszú, vékony nyúlványokat küldenek a szervek parenchimájába (Dempsey 1968; Dellmann 1998; McKinley és mtsai 2003; Langlet és mtsai 2013).

Nem emlős gerincesek agyában és gerincvelőjében más cirkumventrikuláris szerveket is leírtak pl. a már említett paraventriculáris szerv, ill. a szubtrochleáris szerv, parafízis, 'lateral septal organ' (magyarított nevével még nem találkoztunk), saccus dorsalis, saccus vasculosus, urofízis (összefoglalásért ld. pl. Vígh 1971; Weindl 1973). Ezek közül az első kettő endimális szerv, az utolsó kettő pedig 'choroid' típusú. A paraventriculáris szerv, a parafízis és az urofízis csökevényesen előfordul az emlős embriókban, a recessus suprapinealist pedig a saccus dorsalis csökevényes megfelelőjének tartják (Vígh 1971).

A középső síkban való elhelyezkedést egyesek a cirkumventrikuláris szervek jellemzőjének tartják, ami emlősben igaz is, de más gerinceseknél vannak kivételek

(‘lateral septal organ’, paraventriculáris szerv) Az emlősök cirkumventrikuláris szerveinek helyzetét tekinti át az 1. ábra.



1. ábra A cirkumventrikuláris szervek áttekintése.

AP – area postrema, EM – eminentia mediana, NH – neurohipofízis, OVLT – organum vasculosum laminae terminalis, P – tobozmirigy, SCO – szubkommisszurális szerv, SFO – szubfornikális szerv.

A tájékozódást segítő anatómiai struktúrák: 1 – corpus callosum, 2 – fornix, 3 – commissura anterior, 4 – chiasma opticum, 5 - adhaesio interthalamica, 6 – aquaeductus cerebri, 7 - colliculus superior, 8 – canalis centralis (Pócsai és Kálmán 2014a).

1.1.1. A cirkumventrikuláris szervek funkciói

Részt vesznek az anyagcsere, étvágy, a folyadék-só háztartás és a keringés szabályozásában, a láz és az immunválaszok létrejöttében. Fő funkciójuk a neuroszekréció (ld. pl. eminentia mediana: ‘releasing’ és ‘inhibiting’ faktorok az adenohipofízisnek; neurohipofízis: oxitocin, ADH; tobozmirigy: melatonin), valamint a kemopercepció (elsősorban az area postrema, SFO, OVLT). Utóbbira jellemző, hogy elsősorban a keringésre és az anyagcserére ható humorális faktorok szintjét érzékelik (pl. angiotenzin II, kolecisztokinin, grelin, leptin) (McKinley és mtsai 2003; Sisó és mtsai 2010; Smith és Ferguson 2010). Idegi összeköttetések elsősorban efferens, de afferens kapcsolatok is (pl. az area postrema beidegzést kap a hasi zsigerekből) (McKinley és mtsai 2003; Price és mtsai 2008; Hoyda és mtsai 2009). Ezeket nem részletezzük, mivel vizsgálataink az ér- és gliaszervekre szorítkoztak. A ‘szensoros’

csoportba sorolt szervek esetében is leírtak dense-core vezikulákat tartalmazó idegvégződéseket az erek közelében, ami neuroszekréciós tevékenységet is feltételez (Dempsey 1968, 1973; Weindl 1973; Bouchaud és Bosler 1986).

A cirkumventrikuláris szervek említett funkcióinak ellátásához nélkülözhetetlen a szoros kapcsolat a vérkeringéssel és a likvorral (ld. pl. Bouchaud és Bosler 1986). Ennek megfelelően ereik szerkezete eltér az agyi erek általános szerkezetétől, és nincsen bennük az agyi erekre jellemző vér-agy gát. Ez utóbbi megállapítás a szubkommisszurális szervre nem igaz (Vígh 1971; Palkovits 1986; Vígh és mtsai 2004), ezért vizsgálatainkat erre, valamint a vitatott hovatartozású plexus choroideusra nem terjesztettük ki.

A szubarachnoidális likvortér felé a cirkumventrikuláris szervek viszonylag nyitottak az ereket körülvevő tág, perivaszkuláris ürök révén (ld. pl. Krisch és mtsai 1978; Vígh és mtsai 2004). Az agykamrák felé az őket borító endimasejtek közötti szoros zárókapcsolatok akadályozzák a paracelluláris transzportot azokban a szervekben, melyek a kamra üregével határosak (összefoglalásért ld. McKinley és mtsai 2003; Langlet és mtsai 2013). Kevés adat van arra, mi határolja az anyagáramlást a szomszédos agyszövet felé (Krisch és Leonhardt 1978; Krisch és mtsai 1978; Rodriguez és mtsai 2005; Wang és mtsai 2008). A továbbiakban először röviden leírjuk a vér-agy gátat és az 'általános' agyi érszerkezetet.

1.2. Vér-agy gát

Paul Ehrlich anilinfestéssel végzett kísérletei alapján 1885-ben arra a következtetésre jutott, hogy a központi idegrendszer a szervezet többi részétől valamiféle gát választja el. Ma már tudjuk, hogy a vér-agy gát a központi idegrendszer és a vér közötti forgalmat közvetlenül ellenőrző dinamikus mechanizmusok összessége. A gát fő feladatának tartják a neuronális szinapszisok megfelelő működését biztosító homeosztázis fenntartását. Egyes elképzelések szerint viszont a törzsfajlás során feltehetőleg azért tökéletesedett a vér-agy gát, mert az immunrendszer hatékonyabbá válásával meg kellett az agyat védeni a szervezet saját antitestjeitől (Abbott 1995). A vér-agy gát működése az agyi erek sajátos szerkezetén alapszik.

1.2.1. Az agyi erek szerkezete

Ahol az erek az agyszövetbe hatolnak az érfal és az agyfelszín között egy tölcészerű tér, a Virchow-Robin űr alakul ki. Ezt a fénymikroszkópos szinten látható teret az agyállomány felszínén gliavégtalpakból álló glia limitans externa és a glia által termelt lamina basalis határolja. A Virchow-Robin űr az agyfelszíntől távolodva egyre szűkül, majd eltűnik ott, ahol a belépő erek endotélcsővé redukálódott falának 'vaszkuláris' lamina basalis összefekszik, majd összeolvad az agyállományt fedő 'parenchimális' lamina basalisszal. Ez az összeolvadás fokozatosan jön létre a fejlődés során, mintegy az erek 'érésével', az agy belseje felől a piális felszín felé haladva (Caley és Maxwell 1970; Bär és Wolff 1972; Marin-Padilla 1985; Sixt és mtsai 2001), de elmarad egy bizonyos pont felett a Virchow-Robin űrök területén, ill. a cirkumventrikuláris szervekben. A vért az agyállománytól tehát három réteg választja el: endotélium, két összetapadt lamina basalis és a perivaszkuláris glia végtalpai. A két lamina basalis között néhol periciták foglalnak helyet, míg a perivaszkuláris mikrogliá mindkét lamina basalis mögött helyezkedik el az agyszövetben (Bär és Wolf 1972; Abbott 1995). Az ereket a környező sejtekkel 'gliovaszkuláris', tágabban, neuronokat is beleértve 'neurovaszkuláris' egységnek tekintjük (Nedergaard és mtsai 2003; Correale és Villa 2009; Wolburg és mtsai 2009; Waite 2012). Az agyi érszerkezetet és a vér-agy gátat a továbbiakban főleg e közlemények alapján írjuk le.

Az agyi erek endotélje

Az agyi endotélsejtek többféle, dinamikusan együttműködő tulajdonsága biztosítja a vér-agy gátat:

a) A paracelluláris transzport csökkentését szoros zárókapcsolatok (tight junction) valósítják meg, melyek másik funkciója az endotélsejtek polaritásának fenntartása: a lumenális és a bazális oldalon a membránfehérje profil eltérő. A transzportfehérjék és enzimek aszimmetrikus elrendeződése létfontosságú a vér-agy gát működése szempontjából. A szervezet más ereiben az endotélsejtek között csak diffúzan elhelyezkedő kadherineik és immunglobulin jellegű sejtadhéziós molekulák (PECAM:

platelet endothelial cell adhesion molecule) vannak. Ilyen molekulák az agyi erekben is megtalálhatók, a tight junctionökon kívül.

b) A sejteken keresztül zajló vezikuláris transzport (transzcitózis) kis mértékű az agyi erekben. Az agyi endotélsejtek pinocytosisának intenzitása a más területeken lévő mikroerekben zajló ilyen jellegű folyamatokhoz képest mintegy százszor kisebb.

c) A sejteken áthatolni képes, többnyire lipofil anyagokkal szemben efflux transzporterekre van szükség – ide tartozik a P-glikoprotein - , melyek lipofil molekulákat, köztük számos gyógyszert pumpálnak vissza a vérbe, megakadályozva ezzel az agyba való bejutásukat.

d) Mivel mindezek a mechanizmusok meggátolnák bejutásukat, a szükséges anyagok (cukor, aminosav, lipidek, vitaminok, aminok, kolin, vas, stb.) átjutásához speciális transzport rendszerekre van szükség. Ilyen feladatokat lát el pl. a glukóz transzporter-1, amelyet ezért vér-agy gát markernek tartanak.

Ezek a rendszerek együttműködve alakítják ki a metabolikus vér-agy gát helyes működését.

A perivaszkuláris asztrociták és a periciták

A perivaszkuláris asztrociták végtalpaikkal beborítják az erek falát. Humorális faktorokkal (pl. transforming growth factor- α , glial derived neurotrophic factor) képesek az endotélsejtek befolyásolására, tight junction-fehérjék (occludin, claudin-1, ZO-1 és -2) expressziójának indukálására (Janzer és Raff 1987; Abbott 2002).

Az endotélsejtek is képesek humorális faktorokkal (pl. leukemia inhibitory factor) segíteni a perivaszkuláris asztrociták érési folyamatait (Mi és mtsai 2001). Ion- (különösen K^+) és vízcsatornák (akvaporin) jelenléte, ill. különböző receptorok aggregációja az asztroglia-végtalpakon az endotélsejtekkel való kapcsolatukra vezethető vissza (ld. később). A perivaszkuláris asztrociták az endotélsejtek által a vérből felvett anyagoknak az idegsejtek felé történő transzportjában is fontos szerepet játszanak (ld. pl. Tsacopoulos és Magistretti 1996; Nedergaard és mtsai 2003).

A periciták szintén kétoldalú indukciós kapcsolatban vannak az endotéliummal, segítik a vaszkularizációt ill. a vér-agy gát-tulajdonságok kialakulását (ld. pl. Armulik és mtsai 2005), azonban nem gliasejtek.

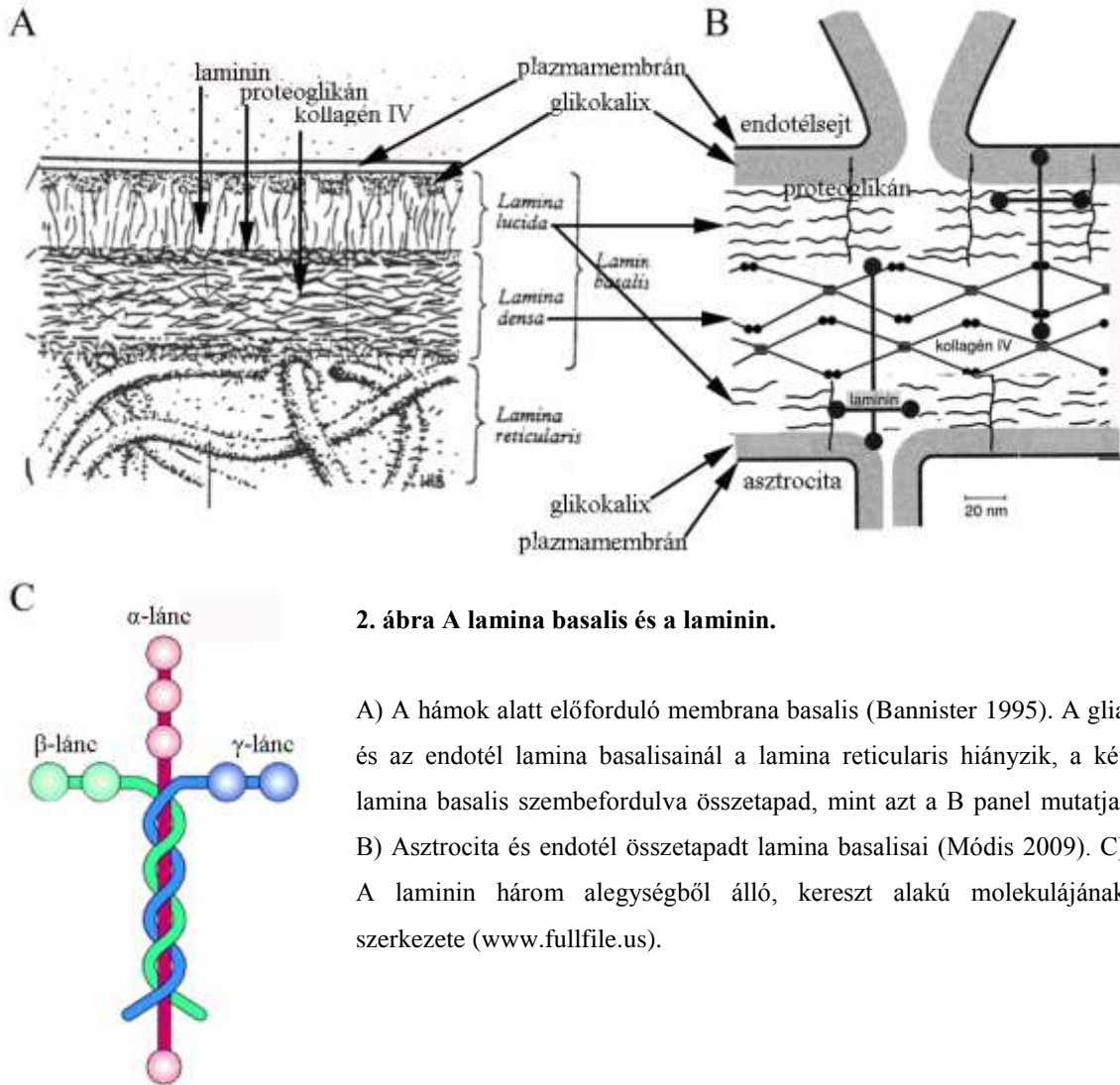
1.3. A cirkumventrikuláris szervek erei

Ezekben - a szubkommisszurális szerv kivételével - a vér-agy gát átjárható, és a gliaderetű (parenchimális) és vaszkuláris lamina basalisok között szűkebb vagy tágabb perivaszkuláris rés figyelhető meg, ami tkp. módosulása a más agyterületeken leírt Virchow-Robin üröknek (Krisch és mtsai 1978; Palkovits 1986; Víggh és mtsai 2004). Ezekbe a résekbe axonok és dendritek nyúlnak, maguk az endotélsejtek gyakran fenesztráltak, és nincsenek közöttük tight junctionök (Gross 1992; Dellmann 1998; McKinley és mtsai 2003; Víggh és mtsai 2004). A cirkumventrikuláris szervek ereiről Duvernoy és Risold (2007) 'atlaszt' állított össze.

1.4. A lamina basalis szerkezete

A lamina basalis molekuláris összetételét elsősorban a hámszöveten végzett vizsgálatok alapján ismerjük (2A ábra). Általános leírását ld. pl. Bannister (1995), Módis (2009). Egyik fő komponense a kollagén-IV sajátos térszerkezete segíti a lamináris, 'kétdimenziós' szerveződést. A kollagén-IV, nidogén és entaktin molekulák segítségével kapcsolódik lamininhez, a másik fő alkotóhoz. A lamina basalis kialakításához hozzájárulnak más glikoproteinek (pl. agrin) és proteoglikánok (perlekán, biglikán) melyek a nidogénnel és entaktinnal együtt a lamina basalis tömöttebb részében (lamina densa) vannak. A kevésbé elektrondenz lamina lucida kollagén V-öt tartalmaz. A laminin molekulák mindkét réteget átérlik és a sejteken lévő receptoraikhoz (integrin, disztroglikán) kapcsolódnak. A lamina basalisnak a sejtekkel ellentétes oldalán általában kötőszövet van, ilyenkor a szintén a nidogénhez kapcsolódó kollagén-VII valósítja meg a lamina basalis és a kötőszöveti sejtek által termelt rostokból álló lamina reticularis nevű réteg kapcsolódását. A lamina basalis és a lamina reticularis együttes elnevezése a membrana basalis. Lamina basalis a hámsejteken kívül másutt is van, pl. az agy piális felszínén (Sixt és mtsai 2001).

A lamina basalis szerkezete a fentiektől némileg eltérő abban az esetben, amikor nem sejtréteget és kötőszövetet köt össze, hanem mindkét oldalán sejtréteg van, ezt találjuk az agyi erek körül is. Ilyenkor hiányzik a lamina reticularis és a két sejtréteg saját lamina basalisának 'szabad' (a sejttel ellentétes oldali) felszínei 'összetapadnak', mint már korábban említettük (2B ábra).



2. ábra A lamina basalis és a laminin.

A) A hámok alatt előforduló membrana basalis (Bannister 1995). A glia és az endotél lamina basalisainál a lamina reticularis hiányzik, a két lamina basalis szembefordulva összetapad, mint azt a B panel mutatja. B) Asztrocita és endotél összetapadt lamina basalisai (Módis 2009). C) A laminin három alegységből álló, kereszt alakú molekulájának szerkezete (www.fullfile.us).

1.4.1. Laminin

Mivel a laminin a lamina basalis egyik fő alkotóeleme, feltétlenül szükséges a vaszkularizációhoz. Glikoprotein, amely három alegységből épül fel (α , β , γ) melyeknek több izoformája van, amiket számokkal jelölnek (összefoglalásért ld. Colognato és Yurchenko 2000; Hallmann és mtsai 2005). A három alegység egy kereszt formájú molekulát alkot (2C ábra). A különböző laminin alegységek kombinációjából 15 féle laminin molekula jöhet létre a szervezet különböző helyein, ill. különböző fejlődési vagy funkcionális állapotokban. Az agyszövet körüli lamina basalist, ill. lamininjét az asztrogliá termeli.

Eredményeink könnyebb megértésére már itt megemlítjük, hogy az agyi erekre általánosságban a laminin-immunreaktivitás hiánya jellemző. Ennek oka Krum és mtsai

(1991) szerint az, hogy a gliális és vaszkuláris lamina basalisok összetapadása ‘elrejt’ a laminin epitópokat. Ezért a laminin-immunreaktivitás azokat az érszakaszokat jelöli, ahol az összetapadás nem tökéletes, még ha a rés közöttük nem is látható fénymikroszkópos szinten (ld. még Krum és mtsai 1991; Szabó és Kálmán 2004), pl. a Virchow-Robin ürökben, ill. a fejlődő ereken és a cirkumventrikuláris szervekben.

1.5. A disztroglikán-komplexum

A disztroglikánt a disztrofinnal, egy örökletes izomsorvadásokért felelős fehérjével való kapcsolata révén írták le, de később más szövetekben, köztük a központi idegrendszerben is megtalálták, mint általános sejtfelszíni receptort, amelynek a sejtek lamina basalisához való kapcsolódásában van szerepe (Henry és Campbell 1999). A disztroglikán gén kódolta polipeptid poszttranszlációs módosulás révén egy α - és egy β -disztroglikánra hasad (Ibraghimov-Breskovnaya és mtsai 1992). Az α -disztroglikán egy erősen glikozilált extracelluláris fehérje, ami lamininhez és más lamina basalis komponensekhez (pl. agrin, perlekán) kötődik. A β -disztroglikán egy transzmembrán fehérje, ami a sejtmembránhoz horgonyozza az α -disztroglikánt, míg a másik vége a disztroglikán-komplexum magját képezi. A komplexum része, többek között, a disztrofin, a szintrofin és disztrobrevin valamilyen izoformája (különböző szövetekben különböző lehet, Culligan és Ohlendick 2002), az agyi erek esetében a disztrofinnál a Dp71 jelű (utalás a molekulatömegre), a szintrofinnál és disztrobrevinnél az $\alpha 1$ forma (Correale és Villa 2009; Wolburg és mtsai 2009; Waite 2012). A komplex szerkezetét mutatja a 3. ábra.

gliában –szemben a korábbi közlésekkel - nem (Haenggi és mtsai 2004). Az utrofinról való újabb áttekintésért ld. pl. Perronet és Vaillent (2010) munkáját.

1.6. Glia

A vér-agy gát indukciója, a laminin képzése már mutatta a glia szerepét az agy/kötőszövet határfelületeken. A glia azonban fontos alkotója a cirkumventrikuláris szerveknek is. A glia különböző típusainak számos részletes leírása ismert (ld. pl. Kettenmann és Ransom 2013). E helyütt részletesebben csak az asztrocitákkal, az endimával és a tancitákkal foglalkozunk.

Az asztrociták a központi idegrendszer fő gliaelemei. Nyúlványrendszerük pók-, vagy csillagszerű. Két 'klasszikus' típusuk az ún. 'rostos' és 'plazmás'. Citoplazmájuk jellegzetes képződményei (főleg a 'rostos' típusnál) a 10nm vastagságú intermedier filamentumokból álló kötegek. Az asztrociták elhelyezkedése és speciális feladatai szerint megkülönböztethetők pl. perivaszkuláris, szubpiális, periszinaptikus, stb. asztrociták. Gap junctionokkal összekapcsoltan funkcionális szincíciumot alkotnak (Ransom és Ye 2005).

Az endimá hámyszerű sejtjei bélelik az agykamrák és a canalis centralis falát. Sok helyütt kinociliumok ill. mikrovillusok borítják luminális felszínüket. Bazális felszínükön hosszabb-rövidebb nyúlvány lehet. Lehetnek laposak vagy köbösek, de pl. a gerincvelő canalis centralisában többrétegű 'hengerhámot' formálnak. Az endimasejtek között nincsenek tight junctionok, viszont gap junctionokkal vannak összekapcsolva (Mugnaini 1986).

A tancitákról a cirkumventrikuláris szervek kapcsán különösen sok szó esik (Dempsey 1973; Maolood és Meister 2009; Mullier és mtsai 2010; Langlet és mtsai 2013). A kifejezést Horstmann (1954) alkotta a cápák gliájának vizsgálatakor. A név tkp. 'karcsú sejtet' jelent, így minden gliasejtre alkalmazható, amely egy kitüntetett irányban nyúlt meg, szemben az asztrocita minden irányban kb. egyenlően futó nyúlványaival. Az emberi (ill. emlős) neuroanatómiában azonban olyan sejteket értenek alatta, amelyek megőrizték radiális glia-jellegüket (a radiális glia az asztrogliá korai formája a törzs- és egyedfejlődés során egyaránt, Pixley és de Vellis 1984; Abbott 1995; Rakic' 1995): sejttestjük a kamrafalat béleli, az endimához hasonlóan, míg hosszú bazális nyúlványuk összeköti őket a piális felszínnel, esetleg erekkel (tkp. úgy is

tekinthetők, mint különösen hosszú bazális nyúlvánnyal ellátott endimasejtek). Összefekvő sejtestjeik között, a szokványos endimasejtekkel ellentétben, tight junctionök zárják le a réseket, elszigetelve ezzel az alattuk lévő agyszövetet (így a cirkumventrikuláris szervekét) a kamrai likvortértől.

1.6.1. Perivaszkuláris és meningeális glia

Az asztrociták végtalpaikkal határolják a központi idegrendszert az agyburkok ill. az agyi erek felé (membrana limitans gliae externa ill. perivascularis). Egy összefüggő lamina basalist képeznek a központi idegrendszer körül az agyburkok felé valamint az agyba lépő erek körül, ami, mint már szó volt róla, összefekszik, majd összeolvad az erek saját lamina basalisával. Érdeemes megjegyezni, hogy a valódi barrier az agyszövet és test általános kötőszöveti tere között nem a glia limitansnál, hanem a szubarachnoideális tér 'túloldalán', az arachnoidea tight junctionökkel összetartott sejtei között van (Zhang és mtsai 1990; Berry és mtsai 1995).

1.6.2. Az asztroglia kimutatása

GFAP (glial fibrillary acidic protein)

A GFAP az intermedier filamentumok fő alkotóeleme, expressziója az érett asztroglia egyik legfőbb markere (Eng 1985; Dahl és mtsai 1986). Az asztrogliahoz sorolhatók mindazok a központi idegrendszeri sejtek, melyek GFAP expresszióra képesek, ill. ilyen sejtek előalakjai. A GFAP alegységekből áll, ezekből felépülve ill. ezeké lebomolva a GFAP-filamentumok rendszere állandó dinamikus átépülésben van. Hajós és Halasy (1998) elektronmikroszkópos immunhisztokémiai vizsgálatai szerint azonban a filamentummá szerveződött és nem szerveződött forma egyaránt ad immunhisztokémiai reakciót. Több izoformája van, ezek közül az α -GFAP az, amely az agyban fontos szerepet játszik (Condorelli és mtsai 1999).

Immun-elektronmikroszkópos vizsgálatok tanúsága szerint a GFAP-immunreaktív filamentumok a legnagyobb mennyiségben ott található meg, ahol a glianyúlványok egymással és a neuronokkal ill. a vaszkuláris- vagy meningeális lamina

basalisszal létesítenek kapcsolatot (Rutka és mtsai 1997). Utóbbiak oka lehet, hogy lamininhoz kapcsolódó disztroglikán-komplexum ide horgonyozza ki őket (ld. előbb). Pekny és mtsai (1999) GFAP knock-out állatokon a vér-agy gát károsodását mutatták ki.

A GFAP-immureaktivitás változatos a különböző agyterületeken (Ludwin és mtsai 1976; Hajós és Kálmán 1989; Kálmán és Hajós 1989; Zilles és mtsai 1991), bizonyos területeken (pl. colliculusok, kéreg középső rétegei) alig található meg. Mivel az asztroglia egy része nem mindig expresszálja a GFAP-t, nem használhatjuk azt általános asztroglia markerként.

Glutamin-szintetáz és S100 fehérje

Az S100 kalcium-kötő fehérje (pontosabban: fehérjecsald, összefoglalásért ld. pl. Donato és mtsai 2013) az asztroglia kalcium szintjének szabályozója és szerepe van a GFAP filamentumok fel- és leépülésének szabályozásában is. Asztrocita markerként először Ludwin és mtsai (1976) alkalmazták. Megtalálható az endimában is (Didier és mtsai 1986). A glutamin-szintetáz asztrocita markerként való felhasználhatóságát Martinez-Hernandez és mtsai (1977) mutatták ki. Ennek az enzimnek a részvétele fontos a szinaptikus transzmisszió után feleslegessé vált glutamát asztroglia sejtek általi eliminálásában, ill. a dezaminálás során keletkező toxikus ammónium-ionok megkötésében: glutamint képez belőlük, ami egyben a GABA-képzés alapanyaga (Kimelberg és Norenberg 1989). Asztroglia markerként használhatók a glutamát transzporterek is (glutamate aspartate transporter - GLAST, ill. glutamate transporter-1 - GLT-1, Rothstein és mtsai 1994).

Vimentin és nesztin

Az asztroglia intermedier filamentumai, GFAP mellett vimentint és nesztint is tartalmazhatnak. A vimentint először fibroblasztokban írták le, az emlősök központi idegrendszerében elsősorban fejlődése során van jelen, a radiális gliában. Az érett agyszövetben csak bizonyos helyeken található meg (ependima, taniciták, Bergmann glia, corpus callosum asztrocitái - Dahl és mtsai 1981; Schnitzer és mtsai 1981; Pixley

és deVellis 1984), de sérülést követően újra megjelenik a reaktív gliában (Janeczko 1993).

A nesztint a neuroepitéliális eredetű sejtek éretlen formáira jellemző intermedier filamentum-fehérjeként írták le (Lendahl és mtsai 1990), így előfordul többek között a radiális gliában (Hockfield és McKay 1985) és a glia prekursor sejtjeiben (Levison és Goldman 1993; Rao és Mayer-Proschel 1997; Zerlin és mtsai 1995; Zerlin és Goldman 1997). Érett agyszövetben sérülést követően megjelenhet a reaktív gliasejtben (Clarke és mtsai 1994; Frisén és mtsai 1995). Újabban számos tanulmány foglalkozott a nesztin jelenlétével a cirkumventrikuláris szervek területén, feltételezve, hogy ezeken a területeken felnőttkori neurogenesis zajlik (Wei és mtsai 2002; Bennett és mtsai 2009; Sanin és mtsai 2013; Rojczyk-Gołębiewska és mtsai 2014). Egyre több adat szól amellet, hogy más területeken előforduló őssejtben is jelen van (Michalczyk és Ziman 2005).

A GFAP, vimentin és nesztin általában együtt vesznek részt intermedier fonalak alkotásában, legfeljebb az arányuk mutat nagy változatosságot, így a filamentum elnevezése tkp. a domináns elemre utal (Galou és mtsai 1997; Eliasson és mtsai 1999; Menet és mtsai 2001).

Az akvaporinok

Az akvaporin molekulák az állati és növényi sejtmembránokban általánosan jelenlévő vízcsatorna fehérjék családjába tartoznak („small channel-forming protein superfamily”). Új összefoglalások pl. Nico és Ribatti (2012) ill. Nagelhus és Ottersen (2013) munkái.

Az akvaporin-4 a leggyakrabban előforduló típus az emlős agyban (Hasegawa és mtsai 1994; Jung és mtsai 1994; Frigeri és mtsai 1995). Főleg az asztrocitákban található, nagyrészt azok perivaszkuláris végtalpainak a lamina basalishez tapadó részén (Nielsen és mtsai 1997). A laminin és az agrin, azáltal, hogy az α -disztroglikánhoz kötődnek indukálják az akvaporin-4 lamina basalis mentén való aggregációját (ld. 1.5. fejezet; Amiry-Moghaddam és mtsai 2003; Guadagno és Moukhles 2004). Az asztrocitasejtek citoskeletonja is hatást gyakorol az akvaporin fehérjékre (Nico és mtsai

2003, 2004). Akvaporin-4-et tartalmaz az endidima is (Frigeri és mtsai 1997; Nielsen és mtsai 1997; munkacsoportunkból Goren és mtsai 2006).

A központi idegrendszerben az akvaporin-4 molekulák alkotják az ún. 'ortogonal arrays of particles'-t (OAP), amelyek a fagyasztva töréses preparátumokon az asztrociták jellemzőjének tekinthetők (ld. pl. Wolburg 1995).

Az akvaporin-4 lehetséges funkcióiról ld. pl. Wells (1998), Venero és mtsai (2001), újabban Nico és Ribatti (2012), ill. Nagelhus és Ottersen (2013) munkáit. Megvalósítja az erek és az agyszövet közötti vízmozgást, és ezáltal kulcsszerepe van az agyi vízháztartásban, élettani és kóros körülmények között egyaránt, mint pl. az agyödéma képződés (Vajda és mtsai 2002; Amiry-Moghaddam és mtsai 2003). Nico és mtsai (2001, 2003) ill. Nico és Ribatti (2012) az akvaporin-4 jelenlétét a vér-agy gátérésének és épségének jeleként említik.

Akvaporin-9 jelenlétét is leírták asztrocitákban, de inkább a sejttestekben és a nyúlványokban helyezkedett el, nem a végtalpak területén (Badaut és Regli 2004). Az akvaporin-1 a plexus choroideus módosult endidimájában fordul elő. Érdekes módon eloszlása megegyezik a tight junctionökével, míg az akvaporin-4-é éppen ellenkező: a tight junctionöket nem tartalmazó 'kamrafali' endidimában előfordul, de a plexusában nem (Mack és mtsai 1987).

1.7. Az extracelluláris mátrix

Ismert, hogy a központi idegrendszer is rendelkezik extracelluláris mátrixszal, amely hasonló, a szervezet egyéb helyein találhatóhoz, bár egyes összetevők csak a központi idegrendszerben fordulnak elő. Az extracelluláris mátrix fontos szerepet játszik az agy fejlődésében, sejtváándorlási folyamatokban, axonnövekedésben, szinaptogenezisben, agyi érképződésben, sejtadhézióban, szolubilis faktorok megkötésében és diffúziójában ill. a szöveti vízmegkötésben (Aumailley és Gayraud 1998; Dow és Wang 1998; Franco és Müller 2011). Az extracelluláris mátrix főbb összetevői ezen leírások szerint:

1.7.1. Hialuronsav

Glukuronsav és acetilglikozamin alegységekből álló, hosszú, nagy vízkötő képességű glikozaminoglikán. Kötőfehérjéi: a fibronektinszerű hialuronektin ill. a proteoglikánok egy csoportja, a hialektánok (lektikánok).

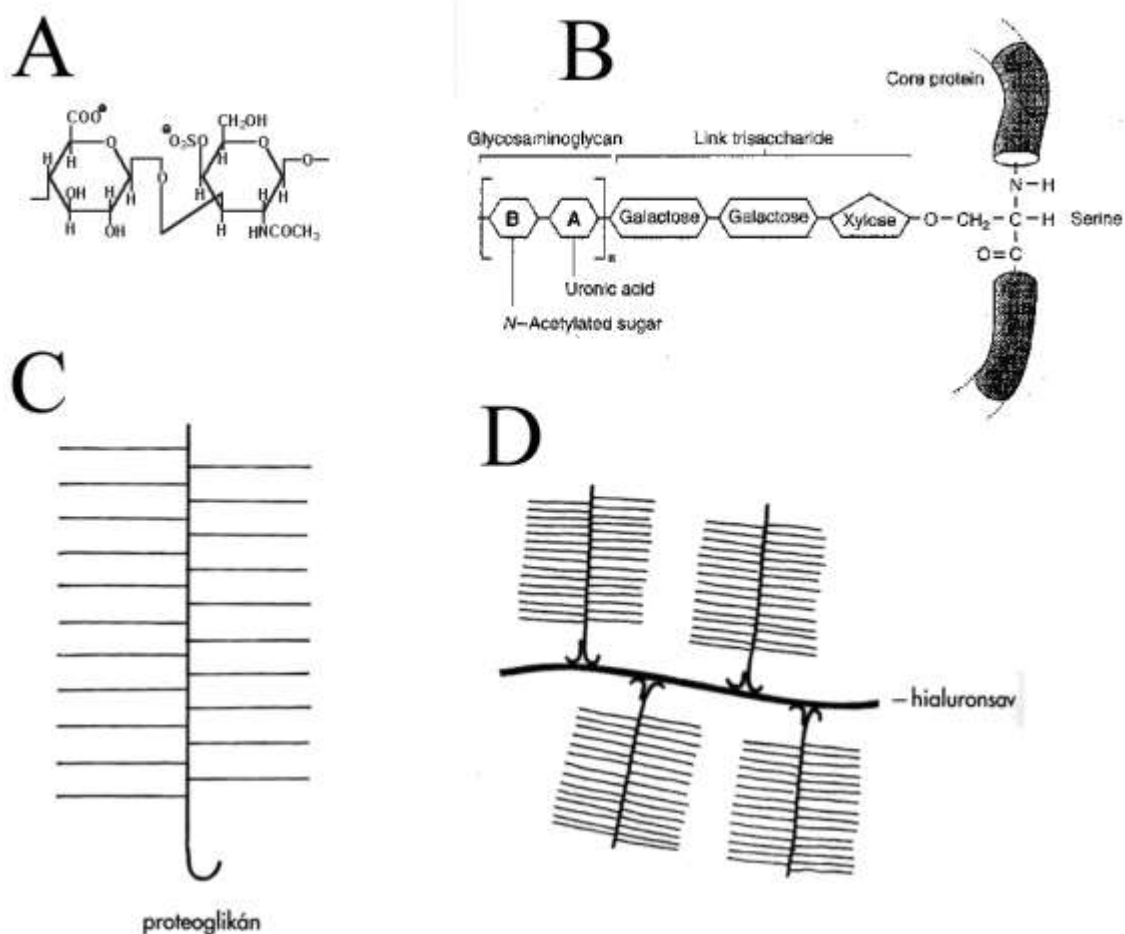
1.7.2. Glikoproteinek

Fő képviselőik az agyban a laminin, fibronektin és tenaszcin. Viszonylag kisebb szénhidrát- és nagyobb protein-komponensük van. A laminin szerkezetéről és szerepéről már volt szó.

A tenaszcinnek van C és X izoformája (újabb adatok szerint W, N, Y is), de az érett agyszövetben a leggyakoribb az R. A tenaszcinok anti-adhezív tulajdonságokkal bírnak bár egyelőre nem pontosan ismertek az extracelluláris mátrixba való integrációjuk molekuláris részletei. Funkciójuk a körülményektől függően változhat is, segítheti vagy gátolhatja ugyanazt a folyamatot, pl. sejtváándorlást, nyúlványnövekedést, beépülnek a perineuronális hálóba is (Midwood és mtsai 2011; Anlar és Gunel-Ozcan 2012).

1.7.3. Proteoglikánok

Két fő komponensük az aránylag kis ‘core-protein’ és annak kémcsőkefeszerűen elhelyezkedő glikozaminoglikán oldalláncai, molekulatömegükben az utóbbiak dominálnak (4A-D ábrák). A glikozaminoglikán a hialuronsavhoz hasonlóan savas diszacharidszármazék (kondroitin-szulfát, dermatán-szulfát, heparán-szulfát, keratán-szulfát) alegységekből álló láncszerű molekula (4A,B ábrák). Az agyban leggyakrabban előforduló extracelluláris mátrix proteoglikánok a kondroitin-szulfát tartalmú hialuronsav kötő ‘hialektánok’, vagy másnéven ‘lektikánok’, mint a verzikán, aggregán, neurokán és brevikán (Celio és mtsai 1998; Dow és Wang 1998; Maeda és mtsai 2010). Jól kötnek bizonyos lektineket, pl. a *Wisteria floribunda* agglutinint (WFA), ami N-acetil-D-galaktózamin tartalmú alegységeken való megkötődésre (és kimutatásukra) képes (Piller és mtsai 1990; Brückner és mtsai 2003).



4. ábra Az extracelluláris mátrix felépítése. A) Kondroitin-szulfát diszaharid (glikozaminoglikán) alegysége, glukuronsav és N-acetilgalaktózamin-szulfát. B) A glikozaminoglikán kapcsolódása a proteoglikán 'core-proteinjéhez'. C,D) A 'kefeszzerű' képletek a proteoglikánok (a 'nyél' a core-protein). A hosszú molekula a hialuronsavat, a kis 'horgonyok' az őt a proteoglikánnal összekötő 'link' proteineket jelképezi (Terre Haute Center for Medical Education, www.themedicalbiochemistrypage.org).

Az extracelluláris mátrix egy része szétoszlik a neuropilben (Costa és mtsai 2007) másik része perineuronális hálót formál (Yamaguchi 2000; Ajmo és mtsai 2008). Az extracelluláris mátrix összetevőinek agyi eloszlását többen vizsgálták (ld. pl. Brückner és mtsai 2003; Costa és mtsai 2007; Gáti és mtsai 2010), de cirkumventrikuláris szervekkel kapcsolatos adatok nem nagyon születtek, kivéve laminin és fibronektin jelenlétét általában a cirkumventrikuláris szervekben (Krum és mtsai 1991), ill. az agrin, a perlekán (Pócsai és mtsai 2010) és a brevikan jelenlétét a neurohipofízisben (Dong és mtsai 2004).

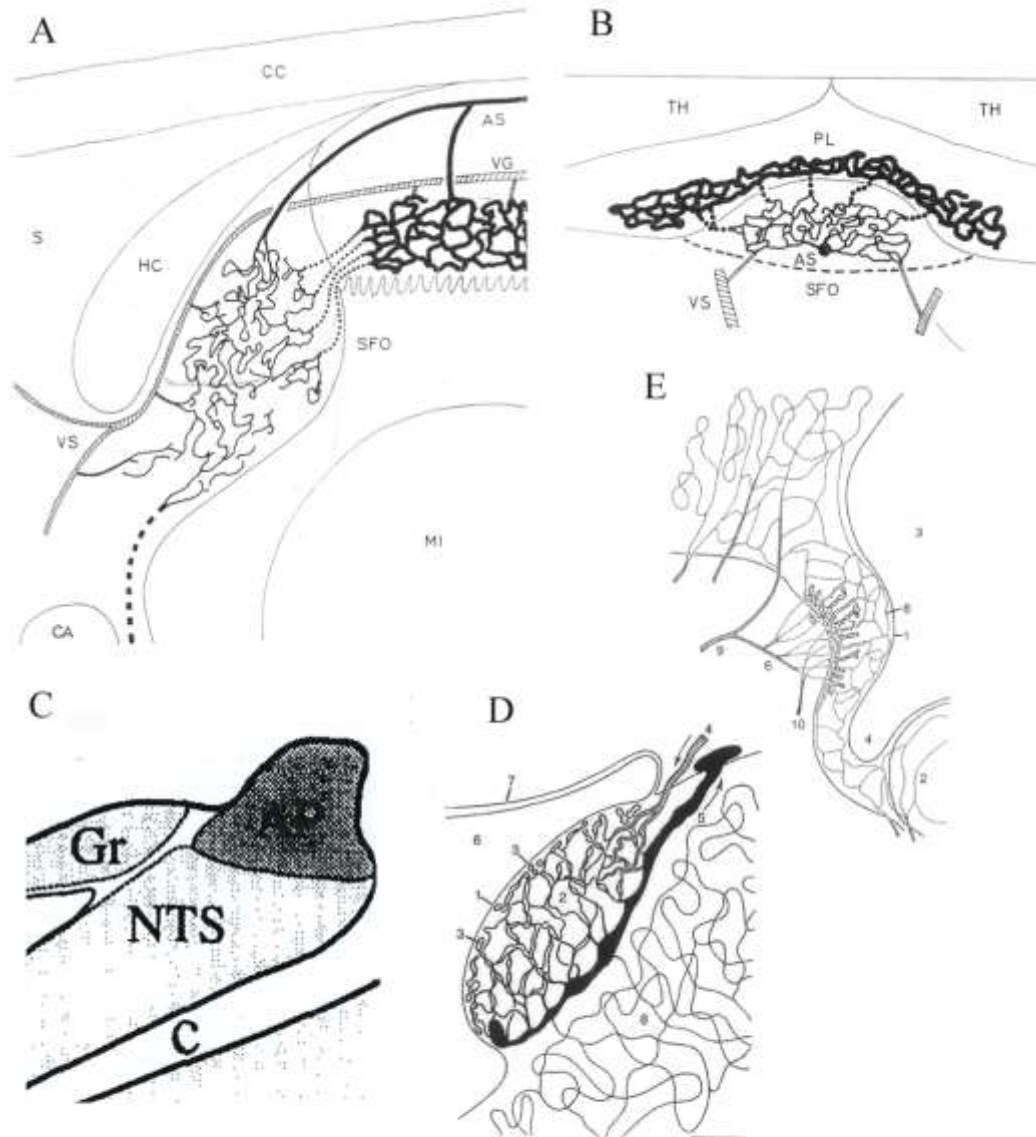
1.8. SFO

Az SFO szerepe ismert a plazma ozmolaritás, Na⁺ koncentráció és angiotenzin II szint érzékelésében, amelyek a só-, víz háztartás és vérnyomás szabályozás fő tényezői (összefoglalásért ld. pl. McKinley és mtsai 2003; Vigh és mtsai 2004; Noda és Sakuta 2013; O'Callaghan és mtsai 2013). Számos egyéb keringő jelzőmolekula receptorát is megtalálták itt, pl.: amylin, cholecystokinin, ghrelin, glucagon-like peptide-1, leptin, vazopresszin (összefoglalásért ld. McKinley és mtsai 2003; Hoyda és mtsai 2009).

Az SFO (5A,B ábrák) a commissura hippocampi ventralis alatt helyezkedik el (Akert és mtsai 1961; Dellmann 1998; McKinley és mtsai 2003). Az SFO poszterodorzális felszíne piális felszín (Spoerri 1963; Gross 1991), míg a ventrális felszíne kamrai és az anterodorzális felszíne a commissura hippocampival érintkezik. Ezáltal az SFO 3 kompartmenttel határos: a szubarachnoidális térrel, a 3. kamrával és az agyszövevvel. Az első két felszín a 3. kamra tetejének tapadása választja el (5A ábra). Ahol a 3. kamra és az oldalkamrák plexus choroideusai találkoznak ott részben fedik a szervet és a plexus choroideus hámja átmegy az SFO endimájába (Akert és mtsai 1961; Dempsey 1968). Az SFO 'testéből' ventrális és dorzális irányba egy-egy nyúlvány, ún. 'nyél' indul (Akert és mtsai 1961). A szervet ellátó arteria subfornicalis az arteria cerebri anterior ága, és a szervet kaudális irányból éri el (érdekességként: anasztomózisaival mindhárom a. cerebri felől kap vért). Az érrendszer részletesebb leírásáért ld. Spoerri (1963) munkáját. Érdemes megjegyezni, hogy a fornix csak az emlősökben található meg, de az SFO-nak megfelelő, hasonló képlet, a szubszeptális szerv minden gerincesben megtalálható (Legait és Legait 1958).

Az erek ultrastruktúrája alapján (Gross 1991), valamint a neurotranszmitterek, neurontípusok 'mapping' adatainak összegezése alapján McKinley és mtsai (2003) a 'mag' és 'héj' felosztást tartották az SFO alegységeire legjobban alkalmazhatónak.

A 'héj' foglalja magában a ventrális és dorzális 'nyelet' is. A 'héj' neuronokban gazdag és biztosítja a szerv fő efferens összeköttetéseit, míg a 'mag' főleg a 'bed nucleus of the stria terminalis' területére küld axonokat (McKinley és mtsai 2003). Calbindin-immunreaktív neuronok főleg a 'magban' találhatóak, míg calretinin-immunreaktívak a 'héj' területére korlátozódtak (McKinley és mtsai 2003). Funkcionális különbségek is vannak. A kéregbe lokalizálható az ozmopercepció, míg az angiotenzin II szintjének érzékelése a magba (McKinley és mtsai 2003).



5. ábra Az SFO, az area postrema és az OVLT helyzete és vérellátása.

A,B) Az SFO vérellátása: A) Szagittális metszet, B) horizontális metszet. AS - art. subfornicalis, CA - commissura anterior CC – corpus callosum, MI - adhaesio interthalamica ('massa intermedia'), HC – commissura hippocampi, LT – lamina terminalis, PL – plexus choroideus, S – septum, TH – thalamus, VG, VS - vena Galeni ill. v. septalis. (Spoerri 1963). C) A patkány area postremájának helyzete. AP – area postrema, C - canalis centralis, Gr – nucleus gracilis, NTS – nucleus tractus solitarii (Barraco és mtsai 1992). D) Az area postrema vérellátása (macskán). 1-3 – a kapilláris hálózat részei; 4,5 - fő artéria és véna, 6 – 4. kamra, 7 – tela choroidea (Duvernoy és Risold 2007). E) Az OVLT vérellátása (macska). 1 - endyma, 2 – chiasma opticum, 3 – 3. kamra, 4 – recessus opticus, 5 - felszínes (piális) kapillárisfonat, 6 - szubarachnoidális tér, 7,8 - mély kapillárisfonat, szubependimális erek, 9,10 - artéria és véna (Duvernoy és Risold 2007).

1.9. Area postrema

Az area postrema a 4. kamra legkaudálisabb része és az area cinerea között helyezkedik el, patkányban egy középvonali képlet, amely a canalis centralis felső ajkán foglal helyet (5C ábra), míg a legtöbb emlősben kétoldali szerv a fossa rhomboideában (Vígh és mtsai 2004; Price és mtsai 2008; Sisó és mtsai 2010). Patkányban a szerv vérellátását több környező ágból (főleg az arteria spin. dors. és az arteria cerebell. inf. ant.) kialakuló félkör alakú artériás- és vénás fonat adja (Kroidl 1968). A szervbe belépő erek széles, 'szinuszoidális' kapillárisokra oszlanak, majd összeszedődve, a közeli nucleus tractus solitarii területén ismét kapillarizálódnak, létrehozva egy portális keringési rendszert (Roth és Yamamoto 1968; Dempsey 1973) (5D ábra).

Patkányban az area postrema poszterodorzális felszíne piális felszín, míg a rostrális felszíne kamrai, és a hátulsó ill. a bazális felszíne az agyállománnyal érintkezik. Ezáltal az area postrema is határos a 3 kompartmenttel: a szubarachnoidális térrel, az agykamrával és az agyszövettel. Az első két felszín a 4. kamra teteje választja el. Az area postrema a nucleus tractus solitariival és a nucleus motorius nervi vagival együtt alkotja a „dorsal vagal complexet”, ami egy vegetatív idegrendszeri integrációs központ (Bauer és mtsai 2005; Pecchi és mtsai 2007). Az area postrema ezáltal nemcsak a keringő jelzőmolekulákkal kerül kapcsolatba, melyek közül soknak (pl. angiotenzin II, adiponectin, amylin, cholecystokinin, ghrelin, endotelin) a receptorát is hordozza (McKinley és mtsai 2003; Price és mtsai 2008), hanem vagális afferens információkat is kap pl. a tüdő, a gyomor, a kardiovaszkuláris rendszer vagy a vese működéséről (Price és mtsai 2008; Sisó és mtsai 2010). Az area postremát bizonyos keringő anyagok emetikus hatását közvetítő kemoreceptor trigger zónaként tartják számon. Ezenkívül azonban a kardiovaszkuláris rendszer, az energiaháztartás és az immunfolyamatok szabályozásában betöltött szerepéről is sok ismeret gyűlt össze (összefoglalásért ld. McKinley és mtsai 2003; Price és mtsai 2008; Sisó és mtsai 2010).

Patkányban az area postrema a frontális síkban felosztható 'dorsal periventricular mantle', 'central', 'ventral junctional' és 'lateral' alegységekre sejtszerkezeti és neurokémiai tulajdonságok alapján (összefoglalásért ld. Gross 1991; McKinley és mtsai 2003). Az area postremát a nucleus tractus solitariitól a funiculus separans határolja el (McKinley és mtsai 2003).

1.10. OVLT

Az OVLT közvetlenül a látóideg kereszteződés felett, a középvonalban helyezkedik el, ahol a 3. kamra recessus opticusának rosztrális falát képezi. Dorzális irányban a commissura anterior felé mért távolság kb. feléig terjed ki. Rosztrális, piális felszíne a szubarachnoidális térrel érintkezik (5E ábra). Kaudális irányban a szerv, fajonként eltérő mértékben bedomborodik a 3. kamra üregébe (Johnson és Loewy 1990; McKinley és mtsai 2003).

Az OVLT-t ellátó erek az art. cerebri anterior rendszeréből származnak, a szervet a rosztrális felszínén érik el, ahol egy intrapiális 'elsődleges' kapilláris fonatot alkotnak. A szerv mélyebb rétegeiben az elsődleges kapilláris fonatból kilépő erek egy 'másodlagos' kapilláris fonatot alakítanak ki (5E ábra). A vénás elvezetés kaudális irányba a 'venous tetrapod' felé és ventrális irányba a prechiasmaticus sinus felé történik (Yamaguchi és mtsai 1993; McKinley és mtsai 2003; Duvernoy és Risold 2007).

McKinley és mtsai (2003) 3 OVLT alegységet különböztettek meg érszerkezeti, neurokémiai és sejtszerkezeti jellemzők, neuronális kapcsolatok illetve a vérből kilépő anyagok szöveti eloszlása alapján: i) rosztromediálisan elhelyezkedő 'vascular' alegység, melyet az intrapiális kapilláris fonat és a közvetlenül mellette lévő szövet alkot, tág perivaszkuláris terek és neuroszekretoros idegvégződések jellemzik; ii) 'lateral-' és 'posterior periventricular' alegység, mely körbeveszi a 'vascular' alegységet oldalról és kaudális irányból; iii) 'dorsal cap' alegység ami dorzális irányból befedi az előző kettőt, dorzokaudális kiterjedése során elkeskenyedik.

Az OVLT-nek szerepe van a folyadékháztartás és a kardiovaszkuláris rendszer centrális szabályozásában, egyrészt a plazma ozmolalitás centrális érzékelése révén, másrészt számos keringő jelzőanyagnak (pl. angiotenzin II, atriális natriuretikus peptid, endotelin, imidazolin) van itt receptora (Johnson és Loewy 1990; McKinley és mtsai 2003). Feltételezik az OVLT szerepét a szaporodási folyamatokban, valamint a láz kialakulásában is (Johnson és Loewy 1990; Yamaguchi és mtsai 1993; McKinley és mtsai 2003).

1.11. Eminentia mediana, neurohipofízis és tobozmirigy

E szervek szerkezete és funkciója annyira ismert, hogy itt nem írunk róla. Az eredmények diszkutálásához szükséges adatokat a Megbeszélésnél ismertetjük (ld. 5.5., 5.6. és 5.7. fejezetek). Érszerkezetük eltér az agyi erekétől: kapillárisaik áteresztőek kis- és nagy molekulásúlyú jelölőanyagokra egyaránt (Møller és mtsai 1978a; Møller és van Veen 1981), a perivaszkuláris terek tágak.

Megjegyezzük azonban, hogy a tobozmirigy rácsálókban egy felszíni és egy mély részből áll, melyeket egy közbülső rész, a nyél köt össze (Vollrath 1981; Møller és Baeres 2002). A mi vizsgálataink a felszíni részre irányultak.

2. Célkitűzések

Vizsgálataink arra irányultak, hogy vér-agy gát nélküli cirkumventrikuláris szervekben (eminencia mediana, OVLT, SFO, tobozmirigy, neurohipofízis, area postrema) milyen módosulásokat találunk a gliaszervekben és az extracelluláris mátrixban, különös tekintettel:

- a lamina basalisra;
- a gliovaszkuláris kapcsolatokra;
- a szerveket határoló gliaszervekre.

Ezen szempontok szerint milyen hasonlóságokat és különbségeket találunk összehasonlítva:

- i) az agyszövetet a cirkumventrikuláris szervekkel,
- ii) a különböző cirkumventrikuláris szerveket egymással, illetve
- iii) adott cirkumventrikuláris szerv különböző alegységeit.

Amennyiben lényegesnek látszott, 2-3 különböző síkban készített metszeteket vizsgáltunk.

Felnőtt patkány cirkumventrikuláris szerveiben vizsgáltuk

a) immunhisztokémiai módszerrel:

- a lamina basalis egyik fő alkotóját (laminin);
- a gliovaszkuláris kapcsolatban fontos disztroglikán-komplexumot (β -disztroglikán, α 1-disztrobrevin, utrofin);
- az ennek segítségével 'lehorgonyzott' vízcsatorna-fehérjét (akvaporin-4);
- az érett és éretlen glia jellemző fehérjéit (GFAP, glutamin-szintetáz, nesztin, S100, vimentin);

- az extracelluláris mátrix egyes összetevőinek (aggrekán, brevikan, neurokán, verzikan, tenascin-R) eloszlását, illetve

b) lektinhisztokémiai módszerrel a WFA-kötőhelyek eloszlását.

Fluoreszcens immunhisztokémiai módszerrel különböző kombinációjú kettősjelzéseket alkalmaztunk, amelyeket konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk.

3. Módszerek

3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteinket felnőtt, 250-300g súlyú hím és nőstény patkányokon (Wistar) végeztük. Az állatok a táplálékot (Charles Rivers patkány eledel) és a vizet *ad libitum* fogyasztották. Mesterségesen, 12-12 órás időtartamokra világosságban illetve sötétségben tartottuk őket. Az állatkísérleteket az Európai Tanács 86/609/EEC határozatában foglaltaknak megfelelően hajtottuk végre (engedélyszám: 22.1/3453/003/2009).

3.2. Fixálás és metszés

Az állatokat ketamin és xylazin keverékének (20 és 80 mg/kg, sorrendben) i.m. injektálásával elaltattuk, majd az aortán keresztül perfundáltuk őket 100 ml fiziológiás NaCl oldattal, illetve ezt követően 300 ml 4%-os paraformaldehiddel (0,1M-os foszfát-pufferben – PBS - , pH=7,4). A perfúziót követően az agyakat eltávolítottuk, majd az előzővel azonos fixáló oldatba helyeztük 1 napra (4°C-on). A cirkumventrikuláris szerveket tartalmazó szövetblokkokból, agarba ágyazás után sorozatmetszeteket (vastagság: 50µm) készítettünk vibrációs mikrotómmal (Leica VT 1000S) a koronális, vagy a szagittális, vagy a horizontális síkban.

3.3. Immun- és lektinhisztokémiai reakciók

A lebegő metszeteket normál kecske- vagy ló szérum 20%-os oldatában (PBS-ben) inkubáltuk 90 percig a nem specifikus kötődés megelőzése végett. Ezt és a következő lépéseket intenzív mosási periódusok követték bőséges mennyiségű 0,1M-os PBS-ben (30 perc, szobahőmérsékleten). A primer immunreagenseket illetve a WFA-t 0,5% Triton X-100-at és 0,01% Na-azidot tartalmazó PBS-ben hígítottuk, majd metszeteinket 40 óráig 4°C-on inkubáltuk. A primer immunreagensekért és hígításaikért ld. az 1. Táblázatot, a WFA (biotinilált, Vector Laboratories, Burlingame, CA, katalógus szám: B-1355) koncentrációja 1:100 volt.

Ezt követően a metszetek egy részét fluoreszcens festékekkel jelölt szekunder antitestekkel (2. Táblázat) 3 óráig inkubáltuk, szobahőmérsékleten. Az elkészült metszeteket PBS-ben mostuk (1 óráig, szobahőmérsékleten), végül glicerol és desztillált víz 1:1 arányú keverékében tárgylemezre húztuk fel, majd fedőlemezzel és körömlakkal fedtük.

A metszetek másik részében az avidin-biotinilált-peroxidáz (ABC) módszerrel tettük láthatóvá az immunreaktivitást illetve a WFA-kötődést. Ebben az esetben az endogén peroxidáz-aktivitást 3%-os H₂O₂-os kezeléssel (PBS-ben, szobahőmérsékleten, 5 percig) inaktiváltuk, a fent leírt normál ló- vagy kecske szérummal való inkubáció előtt. Egyébként a primer antitestekkel való inkubáció menete megegyezett a fent leírtakkal. Ezután biotinilált anti-egér, vagy -nyúl, vagy -kecske szekunder antitestet (Vector, 1:100) majd ABC komplexet (Vector, USA) alkalmaztunk 90-90 percig, szobahőmérsékleten. A WFA-kezelt metszetek esetében a szekunder antitesttel való inkubációs lépést kihagytuk. A reakciók láthatóvá tételére 0,05%-os 3,3'-diaminobenzidin-tetrahidrokloridot (DAB) használtunk és 3%-os H₂O₂-t Tris-HCl pufferben oldva (0,05M; pH=7.4; szobahőmérsékleten). A peroxidáz-reakciók szemkontroll mellett végeztük és a DAB PBS-re való lecserélésével függesztettük fel. Az ABC-módszer szerint feldolgozott metszeteket tárgylemezre húztuk fel és DePeX-szel (EMS, USA) fedtük le.

A kontroll minták esetében a primer antitestek, illetve a WFA nélkül hajtottuk végre a hisztokémiai reakciókat. Ezekben a metszeteken struktúra-specifikus fluoreszcencia, illetve peroxidáz enzimreakció nem volt megfigyelhető.

3.4. Kettősjelzésű fluoreszcens reakciók

Két vizsgált antigén egyidejű fluoreszcens kimutatására azokban az esetekben volt lehetőség, amikor a különböző primer antitestek különböző fajokban termelődtek (ld. 1. Táblázat). Az antitesteket ilyenkor egyszerre alkalmaztuk, ugyanabban az inkubációs médiumban. A protokoll többi része megegyezik az előbb leírtakkal. Kivételes esetekben három primer antitesttel való egyidejű inkubációra is sor került, de csak olyankor, ha a jelölendő struktúrák morfológiailag is megkülönböztethetők voltak (pl. ér és asztrocita). Ezekben az esetekben az egyes antitestek immunreaktivitását egyszeres jelöléssel külön-külön is megvizsgáltuk.

3.5. Mikroszkópia és digitális fényképezés

A fluoreszcens metszetek nagy részét Radiance-2100 (BioRad, USA) konfokális rendszerű lézer szkennig mikroszkóppal vizsgáltuk és fényképeztük. Az antitestek kolokalizációjának megerősítésére a metszlapra merőleges, ún. Z-síkban is készültek felvételek. A többi fluoreszcens metszet, illetve az ABC-módszer szerint feldolgozott és a toluidin kék festett (ld. alább) metszetek vizsgálatára Olympus BX-51 típusú (Olympus Optical, Japan), DP50 digitális kamerával felszerelt mikroszkópot használtunk.

A képeken megjelenő piros és zöld szín a fluoreszcens festékek által kibocsájtott színeknek felel meg (2. Táblázat). A digitális képeket Photoshop 9.2 programmal (Adobe Systems, Mountain View, CA) dolgoztuk fel, a fényerő és a kontraszt minimális szabályozásával. Háromdimenziós szerkezetvizsgálatok céljából bizonyos metszetekről különböző fókusz-síkokban készült sorozat felvételeket egymásra 'vetítettünk' az Image J szoftver (U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) használatával.

3.6. Elektronmikroszkópia és félvékony metszetek

Elektronmikroszkópiával egyrészt 'pre-embedding' immunhisztokémiai reakción átesett, másrészt immunhisztokémiai reakció nélküli anyagot vizsgáltunk. A fent említett immunhisztokémiai protokolltól eltérően 0,5% glutáraldehidet adtunk a perfúziós oldathoz, illetve az előbbi esetben a Triton X-100 mennyiségét 0,1%-ra csökkentettük a primer antitestet tartalmazó oldatban. Egyébként az immunhisztokémiai reakció menete megegyezett a fent leírtakkal.

A metszeteket 30 percig 1%-os osmium-tetroxid oldatba merítettük, majd mosást követően (PBS; 0,1M; pH=7,4) felszálló alkoholsoron keresztül víve dehidráltuk. Ezt propilén-oxidos immerzió követte, majd a kiválasztott szövetmintákat epoxi-gyantába ágyasztuk (Durcupan, Fluka).

Félvékony metszeteket készítettünk ultramikrotommal (Leica Ultracut UCT), amelyeken toluidin kék festést követően meghatároztuk azt a vizsgálandó területet, amiből ultravékony metszeteket készítettünk. Végül ultravékony metszeteinket gridre vettük fel és uranil-acetáttal kezeltük. A felvételek JEOL 100B típusú elektronmikroszkópon készültek Sys Morada digitális kamerával.

1. Táblázat

A kísérletek során használt primer antitestek

| Antigén | Faj | Gyártó | Katalógus szám | Hígítás |
|--------------------------|----------|---|-----------------|---------|
| Aggrecán | Nyúl** | Merck Millipore, Billerica, MA, USA | AB1031 | 1:500 |
| Akvaporin-4 | Nyúl** | Sigma, San Louis, Mo, USA | a5371 | 1:200 |
| α 1-disztrobrevin | Kecske** | Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, Ca, USA | (v-19) sc-13812 | 1:100 |
| α 1-szintrofin | Nyúl** | Sigma, San Louis, Mo, USA | s4688 | 1:100 |
| Brevikán | Egér* | BD Biosciences, Sparks, MD, USA | 610894 | 1:100 |
| β -disztroglikán | Egér* | Novocastra, Newcastle-on-Tyne, England | ncl-b-dg | 1:100 |
| GFAP | Egér* | Novocastra, Newcastle, England | ga5 | 1:100 |
| GFAP | Nyúl** | DAKO, Galstrup, Denmark | Z0334 | 1:100 |
| Glutamin-szintetáz | Egér* | Transduction Laboratories, Erembodegem, Belgium | 610518 | 1:100 |
| Glutamin-szintetáz | Nyúl** | Novus Biologicals Littleton, Co, USA | NB110-41404 | 1:500 |
| Laminin*** | Nyúl** | Sigma, San Louis, Mo, USA | L9393 | 1:100 |
| Nesztin | Egér* | Millipore, Temecula, Ca, USA | MAB-353 | 1:1000 |
| Neurokán | Egér* | DSHB, Iowa City, IA, USA | 1F6 | 1:100 |
| Neurofilament | Egér* | Boehringer, Mannheim, Germany | bf 10 | 1:100 |
| S100 | Nyúl** | Sigma, San Louis, Mo, USA | s-2644 | 1:100 |
| Tenascin-R | Kecske** | R&D Systems, Minneapolis, MN, USA | AF3865 | 1:100 |
| Utrofin | Egér* | Novocastra, Newcastle-u-Tyne, England | NCL-DRP2 | 1:10 |
| Verzikán | Egér* | DSHB, Iowa City, IA, USA | 12C5 | 1:100 |
| Vimentin | Egér* | Calbiochem, Darmstadt, Germany | IF01-100UG | 1:1000 |
| Vimentin | Csirke** | Novus Biologicals Littleton, Co, USA | NB300-2235 | 1:1000 |

* - monoklonális, ** - poliklonális, *** laminin összes izoformájával reakcióba lép

2. Táblázat

A kísérletek során használt fluoreszcens szekunder antitestek

| Fluoreszcens festék | Típus | Gazda-állat | Elyelt hullámhossz /Kibocsátott hullámhossz (nm) | Gyártó cég | Katalógus szám | Hígítás |
|----------------------------|--------------|--------------------|---|---|-----------------------|----------------|
| Alexa Fluor 488 | Nyúl | Szamár | 488(kék)/ 519(zöld) | Invitrogen Carlsbad CA, USA | A21206 | 1:500 |
| Alexa Fluor 555 | Egér | Szamár | 555(zöld) /565 (vörös) | Invitrogen Carlsbad CA, USA | A31570 | 1:500 |
| Alexa Fluor 488 | Csirke | Kecske | 488(kék)/ 519(zöld) | Invitrogen Carlsbad CA, USA | A11039 | 1:500 |
| Alexa Fluor 488 | Kecske | Szamár | 488(kék)/ 519(zöld) | Invitrogen Carlsbad CA, USA | A11055 | 1:500 |
| Alexa Fluor 555 | Nyúl | Szamár | 555(zöld) /565 (vörös) | Invitrogen Carlsbad CA, USA | A31572 | 1:500 |
| Fluorescein (FITC) | Nyúl | Szamár | 492 (kék)/ 520 (zöld) | Jackson Immunoresearch Lab., West Grove, PA, USA | 711-095- 152 | 1:250 |
| Fluorescein (FITC) | Kecske | Szamár | 492 (kék)/ 520 (zöld) | Jackson Immunoresearch Lab., West Grove, PA, USA | 705-093- 003 | 1:250 |
| Cy3 | Egér | Szamár | 550(zöld)/ 570 (vörös) | Jackson Immunoresearch Lab., West Grove, PA, USA | 715-165- 150 | 1:250 |

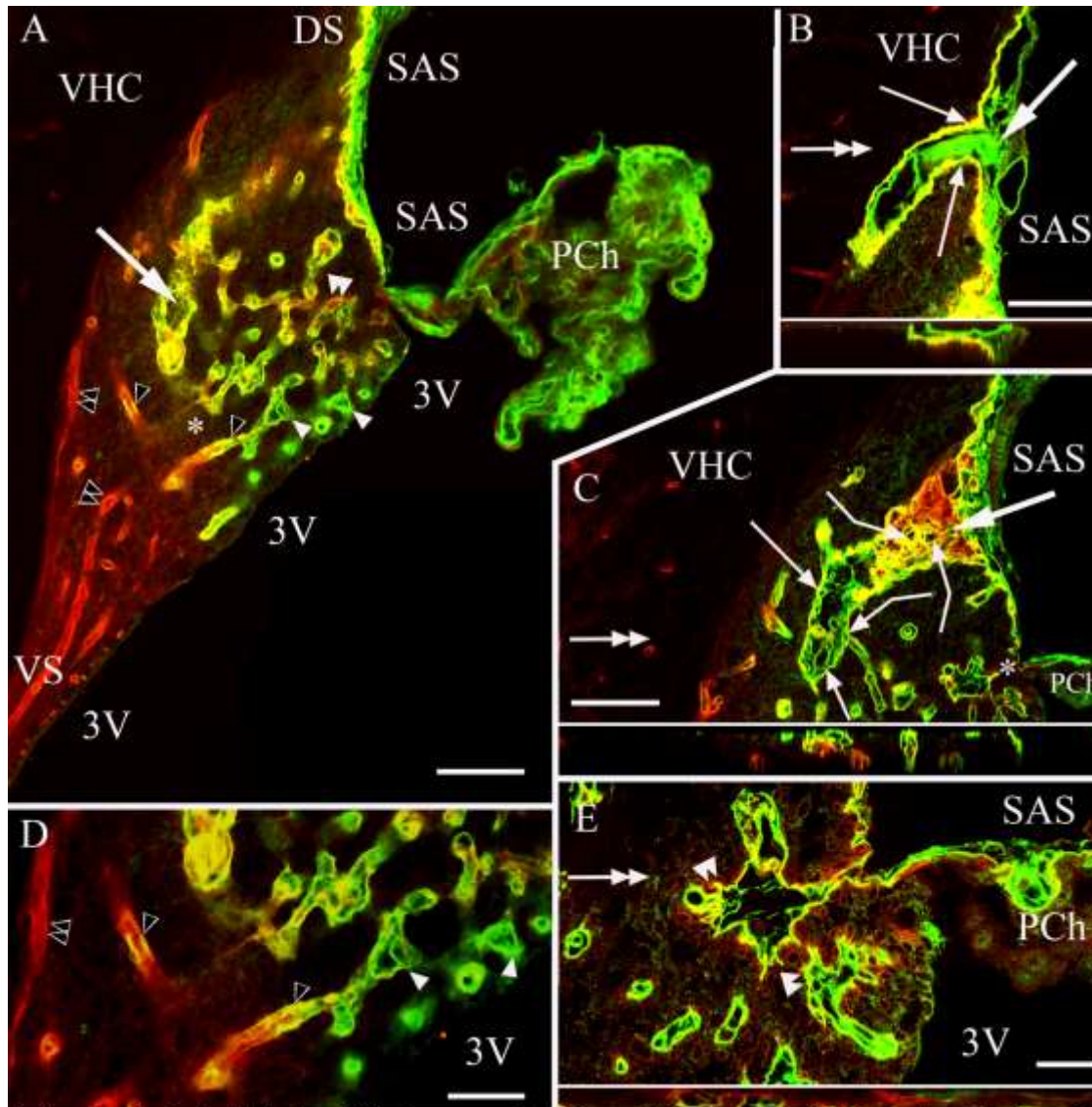
4. Eredmények

4.1. SFO

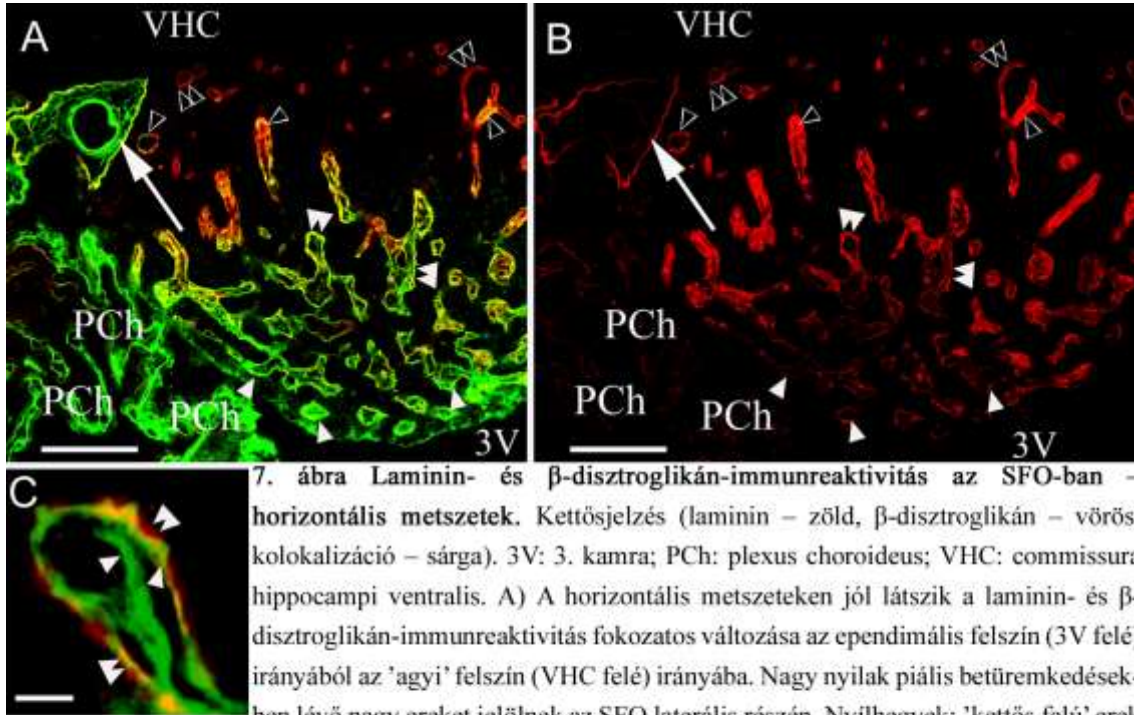
4.1.1. Laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitás

Az SFO három felszíne legjobban szagittális metszeteken különíthető el: egy piális, egy ventrikuláris és egy 'parenchimális' (azaz amelyik a szomszédos commissura hippocampi ventralisszal összenőtt) (6A-C ábrák). Az endimális és a piális felszín határán tapad az SFO-hoz a lamina epithelialis choroidea. A piális felszín laminin- és β -disztroglikán-immunreaktív rétegek fedték (6A-C ábrák). Ez a felszín az SFO állományába betüremkedéseket formált. A betüremkedéseken belül laminin-immunreaktív nagy erek léptek be az SFO-ba (6B,C ábrák), vagy néhány esetben kisebb ereket találtunk bennük (6E ábra). Ezen erek külső piális 'fala' és belső vaszkuláris 'fala' között egy perivaszkuláris tér formálódott, a szubarachnoidális tér folytatásaként (6B és E ábrák). A nagy, ereket tartalmazó 'lyukak', amiket sok horizontális és frontális metszeten láthattunk az SFO közepén (ld. később), ezeknek a piális betüremkedéseknek a keresztmetszetei voltak.

Hasonló, nagy ereket tartalmazó 'lyukakat' (piális betüremkedések) találtunk az SFO laterális részén horizontális (7A,B ábrák) és frontális (ld. később) metszetekben. A nagy ereket összekötötte egy kis erekből álló hálózat. Ezeket a kis ereket körülvette egy szűk perivaszkuláris rés miáltal 'kettősfalúnak' tűntek. A mélyebb erekben a perivaszkuláris terek beszűkültek, és a 'faluk' látszólag egyrétegűvé vált, ill. laminin-ill. β -disztroglikán-immunreaktivitást mutatott (6A,D és 7A,B ábrák).



6. ábra Laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitás az SFO-ban – szagittális metszetek. Egymást követő metszési síkok közel a mediánszagittális síkhoz. Kettősjelzés (laminin – zöld, β -disztroglikán – vörös, kolokalizáció – sárga). Nagy nyílak az A-C paneleken ugyanarra az érre mutatnak különböző fókusz-síkokban. 3V: 3. kamra; DS, VS: dorzális és ventrális 'nyél', sorrendben; PCh: plexus choroideus; SAS: szubarachnoidális tér; VHC: commissura hippocampi ventralis. A) Három felszint különböztetendő meg: 'agyi' ('parenchimális'): a VHC felé; piális: a SAS felé, laminin- és β -disztroglikán-immunreaktív (részleges kolokalizáció); endimális: a 3V felé, nem immunreaktív. A piális és endimális felszínek határán tapad a PCh. B) Egy nagy ér a piális felszín betüremkedése által körülveve. Inset: 'Z-síkban' készült felvétel a B panelről, a kettősfejű nyíllal jelölt síkban. C) A B panelen látott nagy ér ferde metszésben. Hajlított nyílak: kapcsolat kis erekkel (lyukak az érintőleges metszés területén). A sárga és vörös területek valószínűleg az 'érfal' különböző mélységű 'rétegeinek' felelnek meg. Inset: 'Z-síkban' készült felvétel a C panelről, a kettősfejű nyíllal jelölt síkban. D) Az A panel részlete, a csillag körüli rész kinagyítva. E) A C panel részlete, a csillag körüli rész kinagyítva: kis ér a piális felszín betüremkedésében. Inset: 'Z-síkban' készült felvétel az E panelről, a kettősfejű nyíllal jelölt síkban. Kis nyílak: a piális felszín betüremkedése az SFO-ba a nagy nyíllal jelölt nagy ér körül. Figyeljük meg a perivaszkuláris teret alatta. A többi jelölést ld. a 7. ábránál. Skálák: A-C 100 μ m (az insetekre vonatkozóan is); D 50 μ m; E 25 μ m (az insetre vonatkozóan is).



7. ábra Laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitás az SFO-ban – horizontális metszetek. Kettősjelzés (laminin – zöld, β -disztroglikán – vörös, kolokalizáció – sárga). 3V: 3. kamra; PCh: plexus choroideus; VHC: commissura hippocampi ventralis. A) A horizontális metszeteken jól látszik a laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitás fokozatos változása az endimális felszín (3V felé) irányából az 'agyi' felszín (VHC felé) irányába. Nagy nyilak piális betüremkedésekben lévő nagy ereket jelölnek az SFO laterális részén. Nyílhegyek: 'kettős falú' erek két laminin-immunreaktív réteggel körülvéve, a külső réteg gyenge és bizonytalan β -disztroglikán-immunreaktivitást mutat (sárgás szín, alig látható). Kettős nyílhegyek: 'kettős falú' erek, két laminin-immunreaktív réteg és β -disztroglikán-immunreaktivitás a külsőben (zöld és vörös vagy sárga). Fekete nyílhegyek: 'egyszeres falú' erek, laminin és β -disztroglikán kolokalizációja (sárga). Fekete kettős nyílhegyek: 'egyszeres falú', csak β -disztroglikán-immunreaktív erek. B) Az A panel monokromatikus, vörös komponense. A jelölések megegyeznek az A panelen látottakkal, és azonos pontokra mutatnak. C) 'Kettősfalú' ér keresztmetszete, két laminin-immunreaktív réteg (nyílhegyek) és β -disztroglikán-immunreaktivitás a külsőben (zöld és vörös vagy sárga, kettős nyílhegyek). Skálák: AB 100 μ m, C 10 μ m.

Négy értípust lehetett megkülönböztetni (6A,D,E és 7A-C ábrák):

- 'kettősfalú', tehát két laminin-immunpozitív (zöld) réteggel körülvett. Csak a megfelelő monokromatikus fotó komponensen látható gyenge és bizonytalan β -disztroglikán-immunreaktivitás a külső 'fal' mentén (6A,D és 7A,B ábrák);
- 'kettősfalú', a belső 'fal' csak laminin-immunreaktív, a külső 'fal' laminin- β -disztroglikán kettős immunreaktív volt, tehát zöld plusz vörös, vagy sárga (6A,E és 7A-C ábrák);
- 'egyszeres falú', perivaszkuláris rés nem volt kimutatható fénymikroszkópos szinten, laminin- és β -disztroglikán kolokalizációja sárga színnel jelölődött (6A,D és 7A ábrák);
- 'egyszeres falú', csak β -disztroglikán-immunreaktív (vörös), mint az agyi erek általában (6A,D és 7A ábrák).

Az SFO középső részéről a széli részek felé haladva, az értípusok fokozatosan változtak az 'a' típustól a 'd'-ig, az átmeneti 'c' típus viszonylag ritkábban fordult elő. A 'nyelek' csak 'd' típusú ereket tartalmaztak. Horizontális metszeteken (7A,B ábrák) jól látható volt a különböző értípusok eloszlása és a nagy ereket tartalmazó 'lyukak' az SFO laterális részén.

4.1.2. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

Elektronmikroszkópos szinten is megfigyelhető volt az erek körül, két laminin-immunreaktív réteg, az egyik az endotélsejtek mentén, a másik a perivaszkuláris rés túloldalán, tehát a parenchimális oldalon. Ahol a perivaszkuláris rés megszűnt ott a két réteg összeolvadt, majd az immunreaktivitás eltűnt (8A ábra). A β -disztroglikán-immunreaktivitás csak a perivaszkuláris rés parenchimális oldalán volt megfigyelhető (8B ábra).

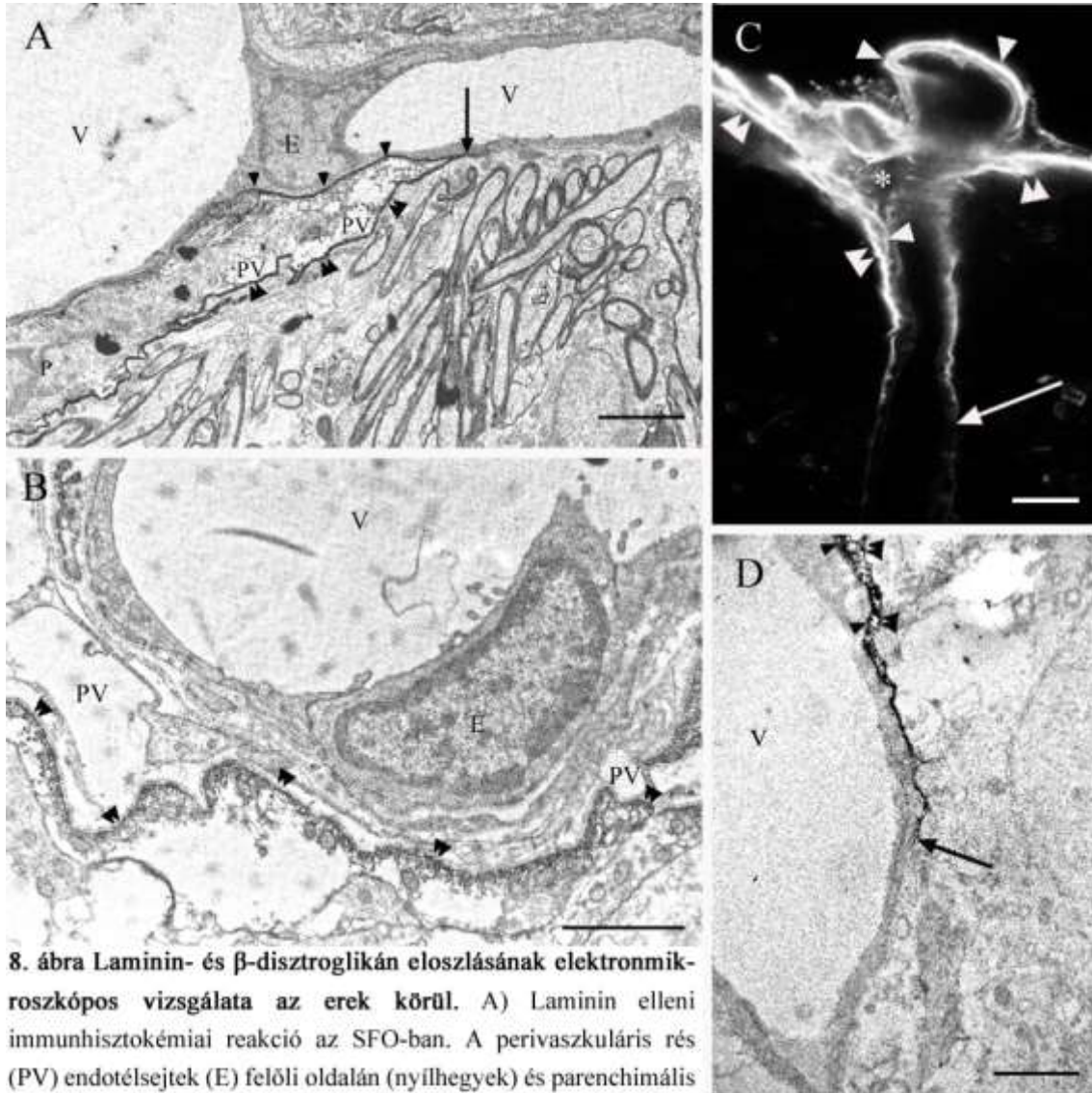
A vaszkuláris laminin-immunreaktivitással kapcsolatban megfigyelt jelenségek ahhoz hasonlóak, amit az agyszövetbe lépő erek kezdeti szakaszainál, a Virchow-Robin ürök mentén lehet megfigyelni. Az agyfelszín határoló- ill. az ereket borító lamina basalisok összeolvadása nyomán a laminin-immunreaktivitás megszűnt (8C,D ábrák).

4.1.3. Laminin immunreaktivitása kombinálva GFAP-éval és vimentinével

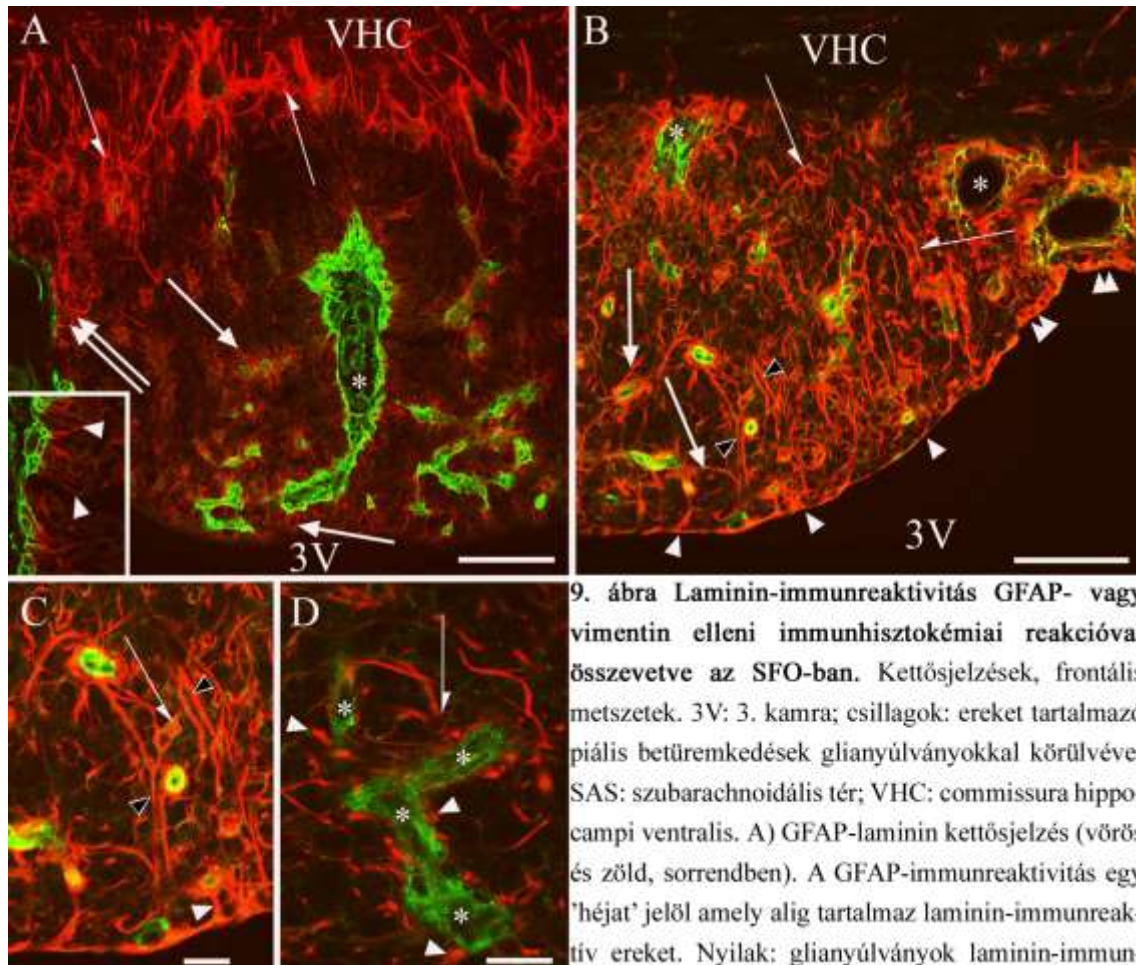
A sűrű GFAP-immunreaktív sejtek területe egy 'héjat' jelölt a szervben, ami magában foglalta a laterális nagy ereket (9A ábra) és a dorzális- és ventrális 'nyelet' is. A szerv többi részében (a 'magban') GFAP-immunreaktív nyúlványok körülvettek ereket, a piális felszín és annak betüremkedését, a nagy középső 'lyukat' (9A ábra).

A vimentin-immunreaktivitás majdnem egyenletesen oszlott el az SFO-ban, de megszűnt a commissura hippocampi ventralis területén (9B ábra). A vimentin-immunreaktivitás is megtalálható volt az erek körüli és a nagy ereket tartalmazó 'lyukak' (piális betüremkedések) körüli nyúlványokban (9B,C ábrák). A jelölődő perivaszkuláris gliaborítás folyamatos volt a 'héj' területén, de a 'magban' nem (ld. pl. 9D ábrát). A vimentin elleni immunhisztokémiai reakció hosszú glianyúlványokat jelölt (9B,C ábrák).

Az endimasejtek intenzív vimentin-immunreaktivitást mutattak (9B ábra), az endimima köbös volt a laterális részekén (tehát a 'héj' területén), de közepén (a 'mag' területén) lapos (9B ábra).



8. ábra Laminin- és β -disztroglikán eloszlásának elektronmikroszkópos vizsgálata az erek körül. A) Laminin elleni immunhisztokémiai reakció az SFO-ban. A perivaszkuláris rés (PV) endotélisejtek (E) felőli oldalán (nyílhegyek) és parenchimális oldalán (kettős nyílhegyek) egy-egy laminin-immunreaktív réteg látható. Ahol a perivaszkuláris rés megszűnik ott (nyíl) tűnik el a laminin-immunreaktivitás. V – érlumen. P: pericita. B) β -disztroglikán elleni immunhisztokémiai reakció az SFO-ban. Kettős nyílhegyek; β -disztroglikán-immunreaktív réteg a perivaszkuláris rés (PV) parenchimális oldalán van. Az endotélisejt (E) mentén nincs jelölődés. V – érlumen. C) Laminin-immunreaktivitás az agyszövetbe belépő ér körül, fénymikroszkópos felvétel. Az agyállományt fedő (kettős nyílhegyek) és az eret fedő (itt gyengén látható, nyílhegyek) immunreaktív réteg összeolvad, majd megszűnik (nyíl). Csillag: Virchow-Robin ür. D) Laminin elleni elektronmikroszkópos immunhisztokémiai reakció az agyszövetbe belépő ér körül. A C panelen látotthoz hasonló helyzet végszakasza, az érhez tartozó laminin-immunreaktív réteg (nyílhegyek) összeolvad a környező agyállomány felszínéhez tartozóval (kettős nyílhegyek), majd az immunreaktivitás megszűnik (nyíl, vö. az A pannellel is!). Skálák: AB 1 μ m, C 20 μ m, D 2 μ m.



9. ábra Laminin-immunreaktivitás GFAP- vagy vimentin elleni immunhisztokémiai reakcióval összevetve az SFO-ban. Kettősjelzések, frontális metszetek. 3V: 3. kamra; csillagok: ereket tartalmazó piális betüremkedések glianyúlványokkal körülvéve; SAS: szubarachnoidális tér; VHC: commissura hippocampi ventralis. A) GFAP-laminin kettősjelzés (vörös és zöld, sorrendben). A GFAP-immunreaktivitás egy 'héjat' jelöl amely alig tartalmaz laminin-immunreaktív ereket. Nyílak: glianyúlványok laminin-immunreaktív erek körül a 'magban'. Kettős nyíl: glianyúlványok a piális felszín felé. Fél nyílak: nincs laminin-immunreaktivitás, de a glianyúlványok elrendeződése ereket jelöl. Inset: Az A panel részlete, a csillag melletti rész kinagyítva. GFAP-immunreaktív glianyúlványok (nyílhegyek) paliszádszerű elrendezésben a piális betüremkedés fala körül. B) Vimentin-laminin kettősjelzés (vörös és zöld, sorrendben). A vimentin nagyjából egyenletesen oszlik el az SFO területén. A sárga szín közeli elhelyezkedést jelöl. Nyílhegyek: lapos endidima fedi az SFO középső részét. Kettős nyílhegyek: köbös endidima fedi az SFO laterális részét. Fekete nyílhegyek: vimentin-immunreaktív hosszú nyúlványok. Egyéb jelölésekért ld. az A panelt. C) Vimentin-immunreaktív (vörös) glianyúlványok borítanak laminin-immunreaktív ereket. A B panel kinagyított részlete. A sárga szín közeli elhelyezkedést jelöl. Nyílhegy: endidimális nyúlvány. Fekete nyílhegyek: nem endidimális hosszú nyúlványok, a B panelen is jelölve. Fél nyíl: nem endidimális sejt hosszú nyúlvánnyal. D) Szakaszos, vimentin-immunreaktív (vörös) perivaszkuláris gliaborítás, bunkószerű végződésekkel (nyílhegyek) laminin-immunreaktív (zöld) erek (csillagok) körül. Fél nyíl: nem endidimális sejt hosszú, érhez futó nyúlvánnyal. Skálák: AB 100 μ m (az insetre vonatkozóan 50 μ m), CD 25 μ m.

4.1.4. Vimentin-GFAP kettősjelzés

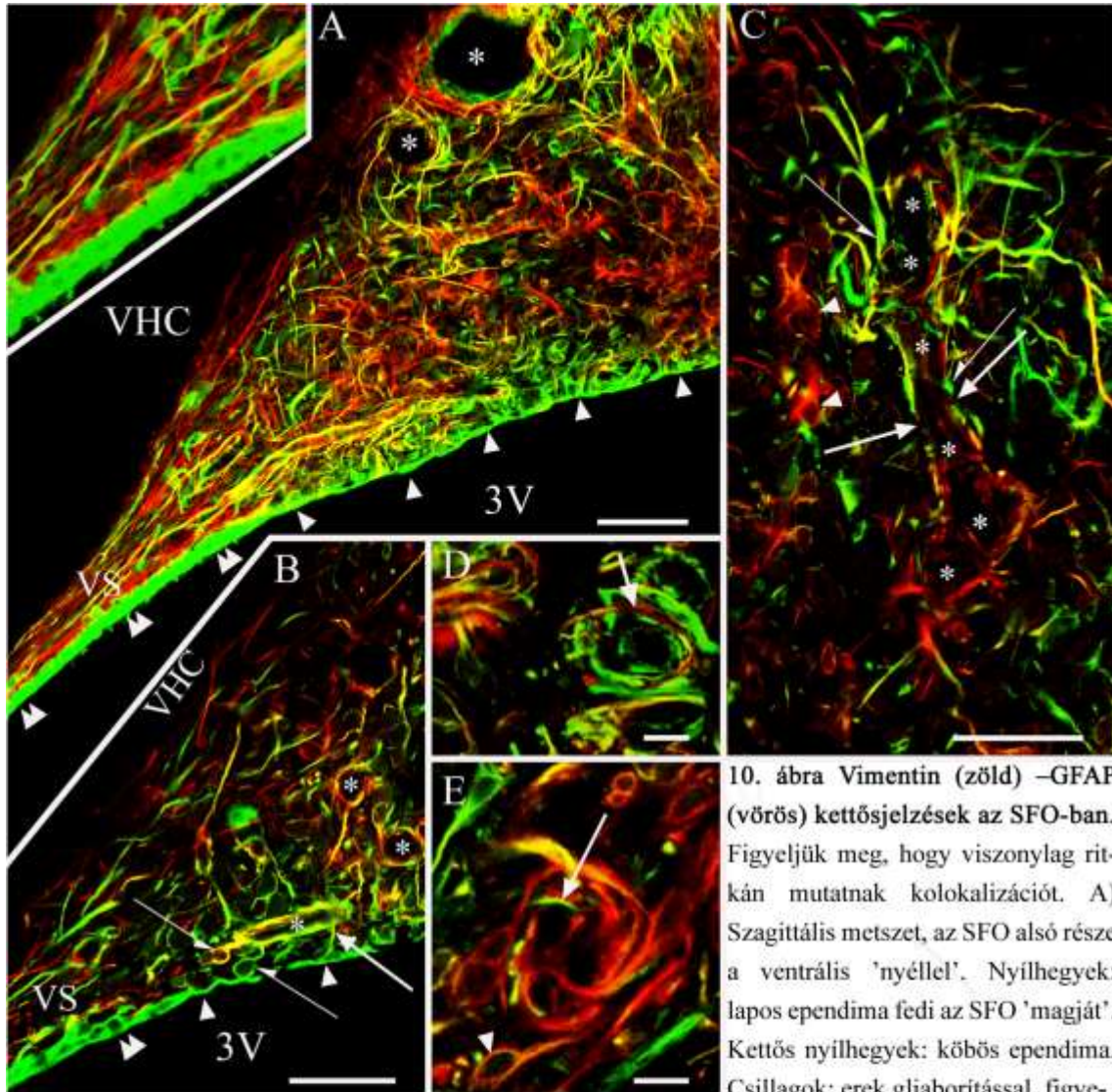
Vimentin-GFAP kettősjelzés alkalmazása után viszonylag kevés kolokalizáció volt található. A vimentin elleni immunhisztokémiai reakció a szagittális metszeteken is láthatóvá tette, hogy az endimaborítás a 'héj' területén köbös míg a 'mag' területén lapos (10A,B ábrák). Hosszú, vimentin-, vagy GFAP-immunreaktív, vagy kettősjelzett glianyúlványok húzódtak a ventrális (10A,B ábrák) és a dorzális 'nyél' (nem mutatjuk) területére. Ahogy az előző alfejezetben is említettük, a perivaszkuláris gliaborítás folyamatos volt 'héj' területén, de a 'magban' lazának és szakaszosnak tűnt, akkor is, amikor a két gliamarkert egyszerre alkalmaztuk.

Legalább 3 típusú perivaszkuláris glianyúlvány elrendeződést lehetett megkülönböztetni:

- i) folyamatos borítás, melyet glianyúlványok alkotnak (10B ábra);
- ii) 'bunkószerű' nyúlványok, a gliaborítás nem folyamatos (10C ábra, vö. 9D ábrával);
- iii) glianyúlványok laza, hagymahéjszerű elrendezésben (10D,E ábrák).

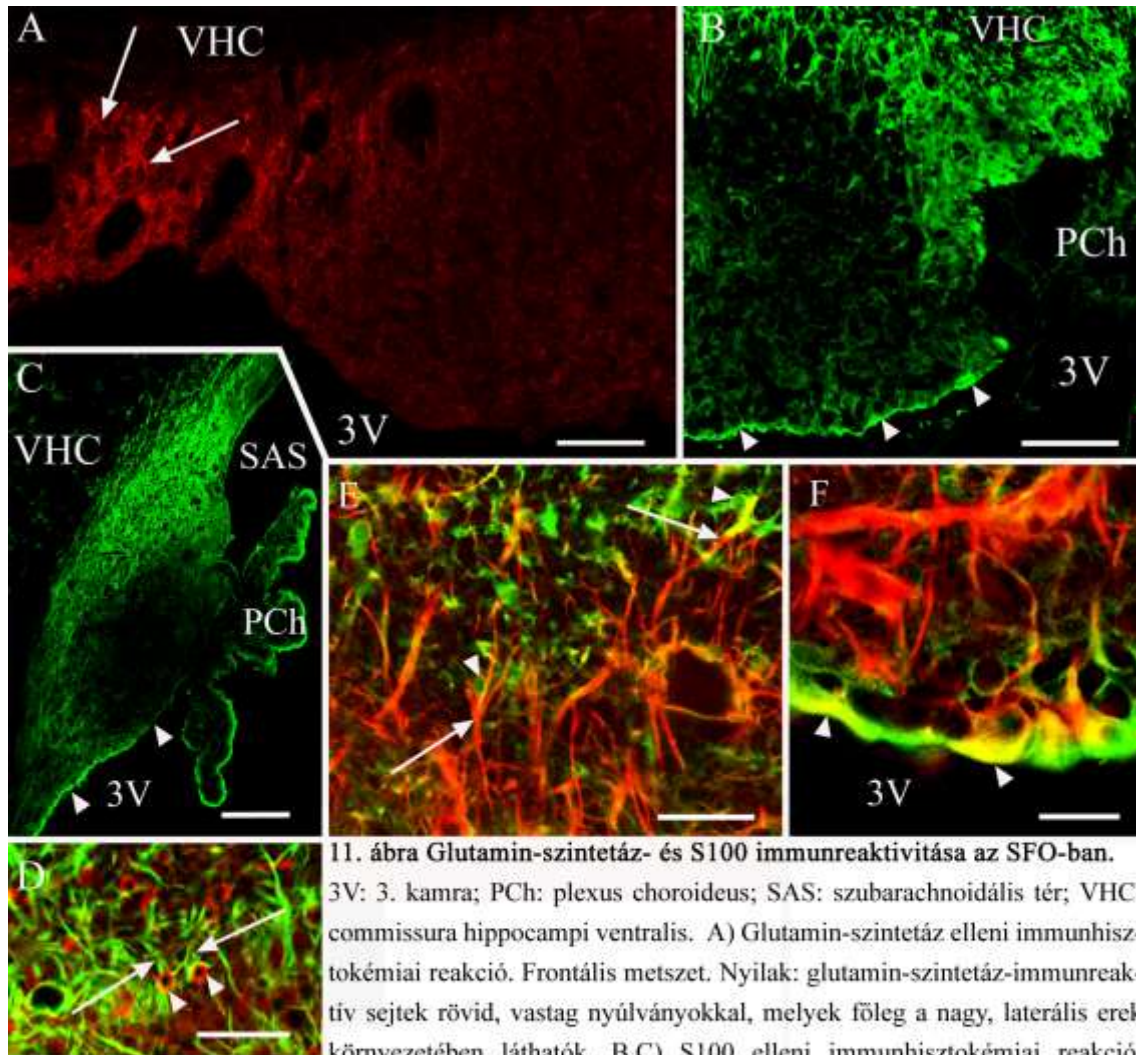
Az első típus a 'héjra' jellemző forma, míg az utóbbi kettő a 'magra'. A sejtestek amelyekhez a perivaszkuláris nyúlványok tartoztak csak néha kerültek a látótérbe. A vimentin esetében ezek az SFO parenchimájában és az endima borításában egyaránt megtalálhatók voltak (9C,D és 10B ábrák), míg a GFAP-immunreaktív nyúlványok majdnem kizárólag parenchimális (nem endimális) sejtestekből eredtek (10B és E ábrák).

A vimentin- ill. GFAP-immunreaktív perivaszkuláris glianyúlványok aránya különböző volt, egyes ereket főleg GFAP-, másokat főleg vimentin-immunreaktív nyúlványok vettek körül, megint másokat nagyjából egyenlő arányban borították a különbözően jelölődő nyúlványok (10D,E ábrák). Immunnegatív szakaszok szintén előfordultak az érfalak mentén (10C ábra). Még a GFAP-immunreaktív perivaszkuláris nyúlványok túlsúlya esetén is előfordultak vimentin-immunreaktív nyúlványok, és vice versa (10D,E ábrák), de a vimentin és a GFAP csak ritkán mutatott kolokalizációt ugyanabban a nyúlványban. Említést érdemel, hogy az endimális nyúlványokon kívül voltak olyanok nyúlványok is, amelyek kerek, 'epiteloid', 'unipoláris', GFAP- ill. vimentin-immunreaktív sejtekhez tartoztak (10B,C és E ábrák).



10. ábra Vimentin (zöld) –GFAP (vörös) kettősjelzések az SFO-ban. Figyeljük meg, hogy viszonylag ritkán mutatnak kolokalizációt. A) Szagittális metszet, az SFO alsó része a ventrális 'nyéll'. Nyílhegyek: lapos endidima fedi az SFO 'magját'. Kettős nyílhegyek: köbös endidima. Csillagok: erek gliaborítással, figye-

ljük meg a változatos immunreaktivitást. 3V: 3. kamra; VHC: commissura hippocampi ventralis; VS: ventrális 'nyél'. Inset: hosszú, párhuzamos glianyúlványok a VS-ben, az A panel kinagyított részlete. B) Szagittális metszet, az SFO ventrális része a 'nyéll'. Nagyobb nagyítás, de nem az előző panelen látható metszetről. Nyíl: endidimális nyúlvány egy közeli érhez. Félnyílak: nem endidimális, kerek gliasejt, érhez húzódó nyúlvánnyal. Egyéb jelölésekért ld. az A panelt. C) Gliaelemek különböző jelölődéssel. Vimentin (zöld)- vagy GFAP-immunreaktív (vörös), ill. kettősjelölt glianyúlványok laza elrendeződéssel vesznek körül egy ér hosszmetzetének megfelelő térséget (csillagok). Nyílak: immunnegatív szakaszok. Nyílhegyek: nyúlványos kerek sejtek. Félnyílak: perivaszkuláris glianyúlványok bunkószerű végződéssel. D) Hagymahéjszerű elrendeződést mutató perivaszkuláris glianyúlványok vimentin 'túlsúllyal'. Nyíl: GFAP-immunreaktív nyúlvány. E) Hagymahéjszerű elrendeződést mutató perivaszkuláris glianyúlványok GFAP 'túlsúllyal'. Nyílhegy: nyúlványos kerek sejt. Nyíl: vimentin-immunreaktív nyúlvány. Skálák: A-C 50µm (az insetre vonatkozóan 35µm), DE 10µm.

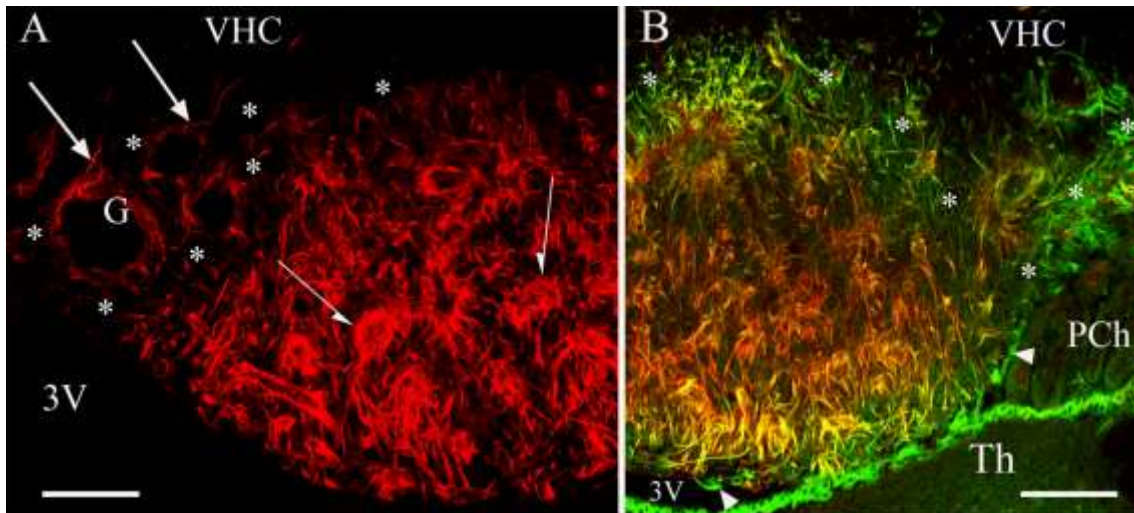


11. ábra Glutamin-szintetáz- és S100 immunreaktivitása az SFO-ban. 3V: 3. kamra; PCh: plexus choroideus; SAS: szubarachnoidális tér; VHC: commissura hippocampi ventralis. A) Glutamin-szintetáz elleni immunhisztokémiai reakció. Frontális metszet. Nyilak: glutamin-szintetáz-immunreaktív sejtek rövid, vastag nyúlványokkal, melyek főleg a nagy, laterális erek környezetében láthatók. B,C) S100 elleni immunhisztokémiai reakció. Frontális és szagittális metszetek, sorrendben. Az S100 immunreaktivitása kijelöl egy 'héjat'. Nyílhegyek: S100-immunreaktív endepidima. D) Glutamin-szintetáz (vörös)-GFAP (zöld) kettősjelzés. Nyilak: GFAP-immunreaktív nyúlványok, amelyek...Nyílhegyek:...glutamin-szintetáz-immunreaktív sejtestekhez tartoznak. E) S100 (zöld)-GFAP (vörös) kettősjelzés. Nyilak: GFAP-immunreaktív nyúlványok, amelyek...Nyílhegyek:...S100-immunreaktív sejtestekhez tartoznak. F) S100 (zöld)-vimentin (vörös) kettősjelzés. Az endepidimasejtestekben S100, a nyúlványokban vimentin van túlsúlyban. Nyílhegyek: kolokalizáció (sárga). Skálák: A-C 100 μ m; DE 50 μ m; F 25 μ m.

4.1.5. Más gliamarkerek: glutamin-szintetáz, S100, nesztin

Glutamin-szintetáz-immunreaktív sejteket, rövid, vastag nyúlványokkal főleg a nagy laterális erek körül találtunk, de túl ritkásan, ahhoz, hogy kijelöljenek egy területet (11A ábra).

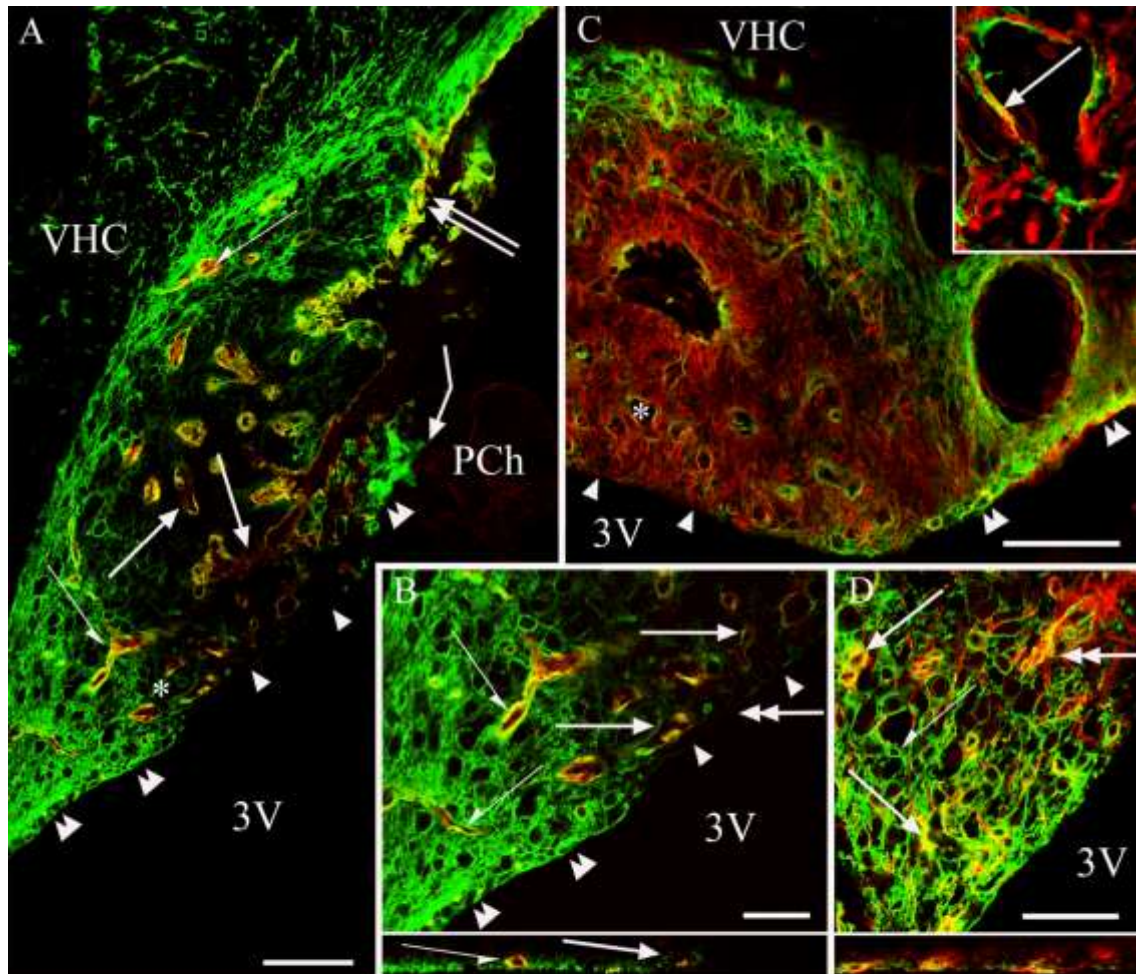
Az S100 elleni immunhisztokémiai reakció kijelölt egy 'héjat' (11B,C ábrák),



12. ábra A nesztin-immunreaktivitás eloszlása az SFO-ban. 3V: 3. kamra; PCh: plexus choroideus; VHC: commissura hippocampi ventralis. A) Nesztin elleni immunhisztokémiai reakció. Frontális metszet. Csillagok: egy 'héj', ahol alig látható nesztin-immunreaktivitás. Nyilak: nesztin-immunreaktív nyúlványok a nagy laterális erek körül. Félnyilak: nesztin-immunreaktív nyúlványok a kisebb ereknek megfelelő térségek körül. B) Nesztin (vörös)-vimentin (zöld) kettősjelzés. Frontális metszet. A nesztin-immunreaktív gliaelemek vimentin-immunreaktivitást is mutatnak (sárga vagy vöröses sárga). Csillagok: egy héjszerű terület vimentin-immunreaktív elemekkel, nesztin-immunreaktivitás itt alig látható. Nyílhegyek: az SFO endimasejtjei (zöld) nem mutatnak nesztin-immunreaktivitást. Th: thalamus, endimaborítással. Skálák: A-B 100 μ m.

hasonlót mint a GFAP elleni (vö. 9A ábrával). A 'mag' szinte S100-immunnegatív volt (11B,C ábrák). A GFAP-immunreaktív nyúlványok egy része glutamin-szintetáz- vagy S100-immunreaktív sejtestekhez tartozott (11D,E ábrák, sorrendben). S100 és vimentin kolokalizációját találtuk az endimasejtjeiben, a sejtestekben S100 volt túlsúlyban, míg a nyúlványokban vimentin (11F ábra).

A nesztin-immunreaktivitás szinte teljesen hiányzott a héjszerű területen, kivéve a nagy laterális erek közvetlen környezetét. A 'magban' a nesztin-immunreaktív nyúlványok csoportokba rendeződtek az erek körül (12A ábra). Nesztin-vimentin kettősjelzés (12B ábra) felfedte, hogy a nesztin-immunreaktív hosszú nyúlványok vimentin-immunreaktivitást is mutattak.



13. ábra Az akvaporin-4-immunreaktivitás eloszlása az SFO-ban. 3V: 3. kamra; VHC: commissura hippocampi ventralis. A) Akvaporin-4 (zöld)- β -disztroglikán (vörös) kettősjelzés. Szagittális metszet. Az akvaporin-4 immunreaktivitása kijelöl egy 'héjat'. Félnyilak: β -disztroglikán-immunpozitív erek folyamatos akvaporin-4-immunreaktív borítással, a sárga szín kolokalizációt jelöl. Nyilak: β -disztroglikán-immunpozitív erek, amelyek körül az akvaporin-4-immunreaktív borítás szakaszos. Kettős nyíl: a szervpiális felszíne mentén az akvaporin-4- és β -disztroglikán immunreaktivitása kolokalizált. Hajlított nyíl: a plexus choroideus (PCh) tapadása alig látható. Kettős nyílhegyek: akvaporin-4-immunreaktív köbös endidima borítja a 'héjat'. Nyílhegyek: a 'mago' borító endidima nem mutat akvaporin-4-immunreaktivitást. B) Az A panel részlete, a csillag körüli terület kinagyítva. Fél nyilak: a 'héjhoz' tartozó erek – folyamatos akvaporin-4-immunreaktivitás. Nyilak: a 'mago' erei - szakaszos akvaporin-4-immunreaktivitás. Egyéb jelölésekért ld. az A panelt. Inset: 'Z-síkú felvétel' a kettősfejű nyíllal jelölt síkban (a jelölések azonosak). C) Akvaporin-4 (zöld)-vimentin (vörös) kettősjelzés. Frontális metszet. Az akvaporin-4 immunreaktivitása kijelöl egy 'héjat', a vimentinével ritkán mutat kolokalizációt. Csillag: az inseten látható terület. Egyéb jelölésekért ld. az A panelt. Inset: kinagyított részlet. Nyíl: akvaporin-4 és vimentin kolokalizációja. D) Akvaporin-4 (zöld)-GFAP (vörös) kettősjelzés. Szagittális metszet, a B panelen látotthoz hasonló terület. Nyilak: GFAP és akvaporin-4 kolokalizációja a glianyúlványokban. Félnyíl: csak akvaporin-4-immunreaktivitást mutató nyúlványos sejt. Inset: 'Z-síkú felvétel' a kettősfejű nyíllal jelölt síkban. A sárga szín GFAP és akvaporin-4 kolokalizációját jelöli. Skálák: AC 100 μ m (az insetre vonatkozóan 25 μ m), BD 50 μ m (az insetekre vonatkozóan is).

4.1.6. Akvaporin-4 – főleg a 'héjban'

Az akvaporin-4 elleni immunhisztokémiai reakció is kijelölt egy 'héjat' (13A,C ábrák), hasonlóan a GFAP és az S100 ellenihez (9A és 11B,C ábrák, sorrendben), ahol teljesen körülvette az ereket (13A,B ábrák), és megtalálható volt piális felszín mentén is (13A ábra). A 'magban' az akvaporin-4-immunreaktivitás az erekre szorítkozott de a 'héjban' látottnál egyenetlenebbnek tűnt (13A-C ábrák). Az akvaporin-4-immunreaktivitás intenzív volt a laterális részen a nagy erek körül, illetve a 'héjat' borító köbös endimában is (13A-C ábrák). A 'magot' fedő lapos endima viszont majdnem akvaporin-4 immunnegatív volt (13A-C ábrák).

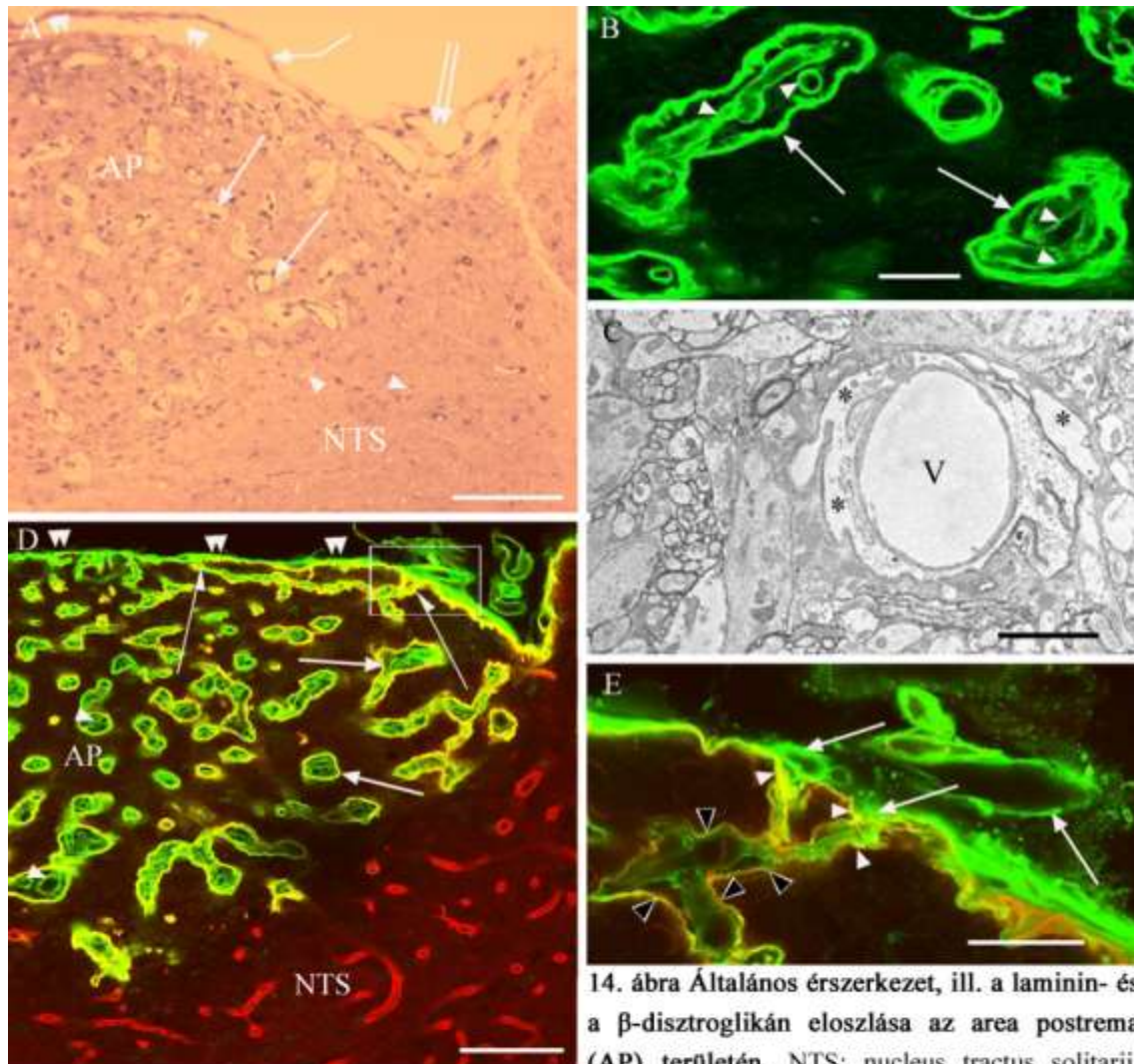
Az akvaporin-4-immunreaktivitását vimentinéhez hasonlítva kolokalizációt csak elvétve láttunk (13C ábra). GFAP-akvaporin-4 kettősjelzéssel viszont gyakori kolokalizációt tapasztaltuk, de csak akvaporin-4-, ill. GFAP-immunreaktív nyúlványos sejteket is megfigyeltünk (13D ábra).

4.2. Area postrema

4.2.1. Érszerkezet

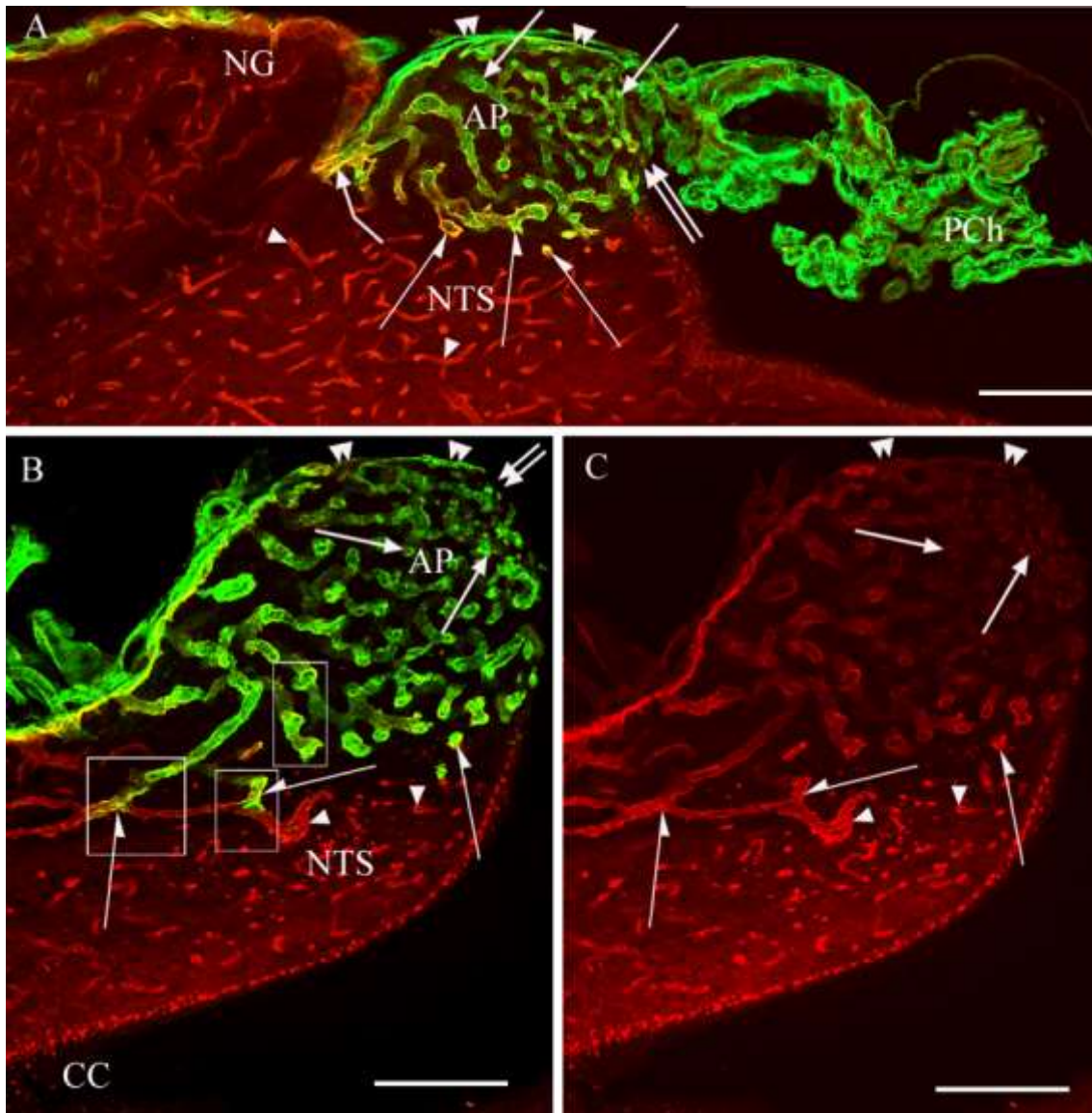
Az area postrema területén elsősorban a számos tág csatorna szembetűnő, amelyben egy, esetleg 2-3 ér is található (14A-E ábrák), az erek és a csatorna fala között kevés kötőszöveti sejttel és sejtközötti állománnyal (14C ábra). Az area postrema erei (ellentétben a környező agyszövet ereivel) laminin immunhisztokémiai festésével jelölődtek, és egyesével vagy kettesével-hármasával laminin- β -disztroglikán kettősjelölt 'külső fal' vette őket körül (14B,D és E ábrák). A β -disztroglikán elleni immunhisztokémiai reakció viszont a környező agyállományban is kirajzolta az ereket (14D ábra).

A szerv szabad felszínén a metszési sík helyzetétől függően piális felszínt (14A,D és E ábrák) vagy - a szagittális metszeten - endimát is láttunk (15A,B ábrák). A két felszín találkozásánál tapad a 4. kamra tetejét alkotó lamina choroidea epithelialis amely a plexus choroideust is borítja (15A ábra). A szerv kaudális részén nagyobb átmérőjű erek betüremkedése látszik (15A ábra).



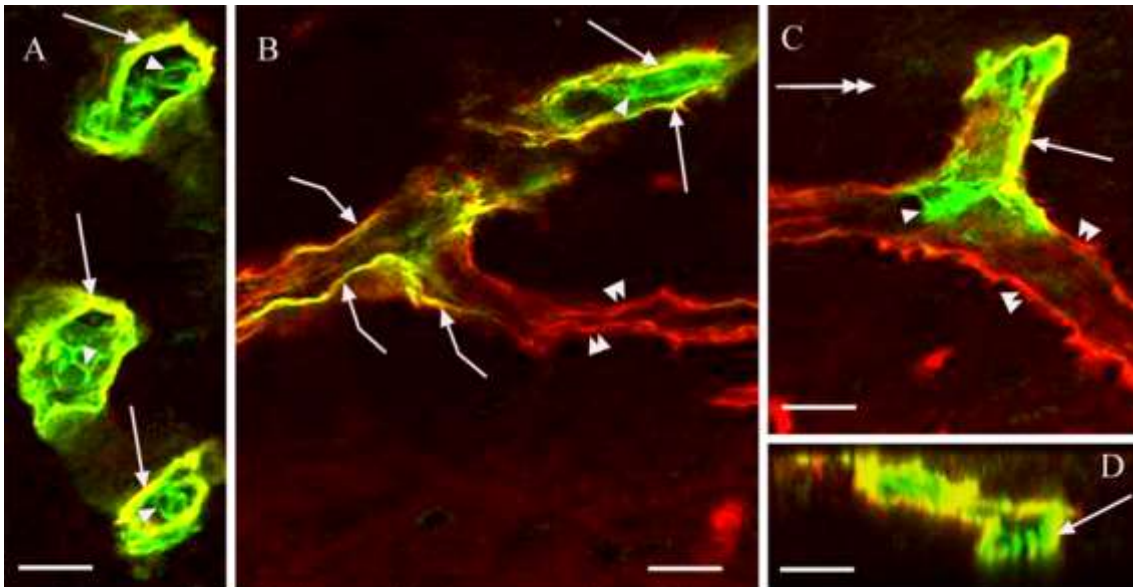
14. ábra Általános érrendszer, ill. a laminin- és a β -disztroglikán eloszlása az area postrema (AP) területén. NTS: nucleus tractus solitarii.

A) Area postrema részlete félvékony metszeten, toluidinkék festéssel. Érek az area postrema területén tág perivaszkuláris résekben (néha több is) - nyilak. Érek a környező agyszövetben, hasonló rés nélkül - nyílhegyek. Pia mater (hajlított nyíl) és a piális felszín (kettős nyílhegyek). Nagy piális erek – kettős nyilak. Skála: 100 μ m. B) Laminin. Frontális metszet. Laminin-immunpozitív, 'kettős falú' tág erek az area postrema területén. A külső 'fal' (nyilak) több kisebb eret (nyílhegyek) is körül foghat. Skála: 25 μ m. C) Elektronmikroszkópos felvétel. Ér (V), körülötte perivaszkuláris tér (csillag). Skála: 5 μ m. D) Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés. Frontális metszet. Laminin zöld, β -disztroglikán vörös. Az area postrema területén a 'kettős falú' tág erek 'külső falában' laminin és β -disztroglikán kolokalizált (sárga, nyilak), a 'belső fal' csak laminin-immunreaktív (nyílhegyek). Az NTS területén az erek mentén csak β -disztroglikán-immunreaktivitás látható. A piális felszínen (kettős nyílhegyek) a laminin- és a β -disztroglikán-immunreaktivitás részben kolokalizációt mutat, itt kisebb erek (fél nyilak) lépnek be a szervbe. Skála: 100 μ m. E) Az előző panelen bekeretezett rész kinagyítva. Az erek az agyállományon kívül csak laminin-immunreaktív, 'egyszeres fallal' bírnak (nyilak). A belépéskor laminin- β -disztroglikán kettősjelzett betüremkedés követi őket (sárga, nyílhegyek), ami a 'külső falban' folytatódik a mélyebb részeken (sárga, fekete nyílhegyek). Skála: 25 μ m.



15. ábra Bizonyos erek mentén a β -disztroglikán-immunreaktivitás gyengébb. AP: area postrema; CC: canalis centralis; NTS: nucleus tractus solitarii; NG: nucleus gracilis; PCh: plexus choroideus; 4V – 4. kamra. A) Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés. Paramediánszagittális metszet. Laminin zöld, β -disztroglikán vörös. Ependimális felszín – kettős nyíl. Piális felszín - kettős nyílhegyek. Egyes erek látszólag csak laminin-immunpozitivitást mutatnak (nyilak). Gödörszerű üregben belépő nagyobb ér a szerv kaudális részén, falának festődése zöldről sárgára változik (hajlított nyíl). Közel a szerv határához az erek fala sárga (fél nyilak), jelezve a laminin és β -disztroglikán kolokalizációját. A szomszédos agyállomány ereit csak β -disztroglikán-immunreaktivitás jellemzi (nyílhegyek). Skála: 200 μ m. B) Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés. Megközelítőleg mediánszagittális metszet. Laminin zöld, β -disztroglikán vörös. Jelölések, mint az előző panelen. Skála: 200 μ m. C) Az előzővel megegyező metszet, de csak β -disztroglikán eloszlását mutatja. A jelölt pontok megegyeznek az előző panelen jelöltekkel. Nyilak: az area postrema 'csak laminin-immunpozitív' ereinek megfelelően a β -disztroglikán-immunreaktivitás gyenge. Fél nyilak: a laminin- β -disztroglikán kolokalizációt mutató erekben a β -disztroglikán-immunreaktivitás intenzív. Kettős nyílhegyek: az area postrema piájának β -disztroglikán-immunreaktivitása is gyenge. Nyílhegyek: a szomszédos agyállomány ereit a β -disztroglikán-immunreaktivitás jól kirajzolja. Skála: 200 μ m.

A piális felszínen a laminin- és a β -disztroglikán-immunreaktivitás részben kolokalizációt mutatott (14D,E és 15A,B ábrák). A belépő erek fala az agyállományon kívül csak egyrétegű laminin-immunpozitivitást mutatott, a belépés után ez két rétegűvé vált, a 'külső falban' β -disztroglikán lamininnal kolokalizáltan fordult elő (14D,E ábrák). Ahol az erek a szervbe léptek, látszott, hogy a 'külső fal' tkp. az agyfelszín folytatása (14E ábra). Mélyebbre hatolva a két 'fal' összeolvadt, és sárga szín jelezte a laminin- β -disztroglikán kolokalizációt. Ahol az erek a szomszédos agyállományba hatoltak, ott az egyrétegűvé vált 'faluk' elvesztette laminin-immunreaktivitását, csak β -disztroglikán-immunreaktivitást mutatott (16A-D ábrák).



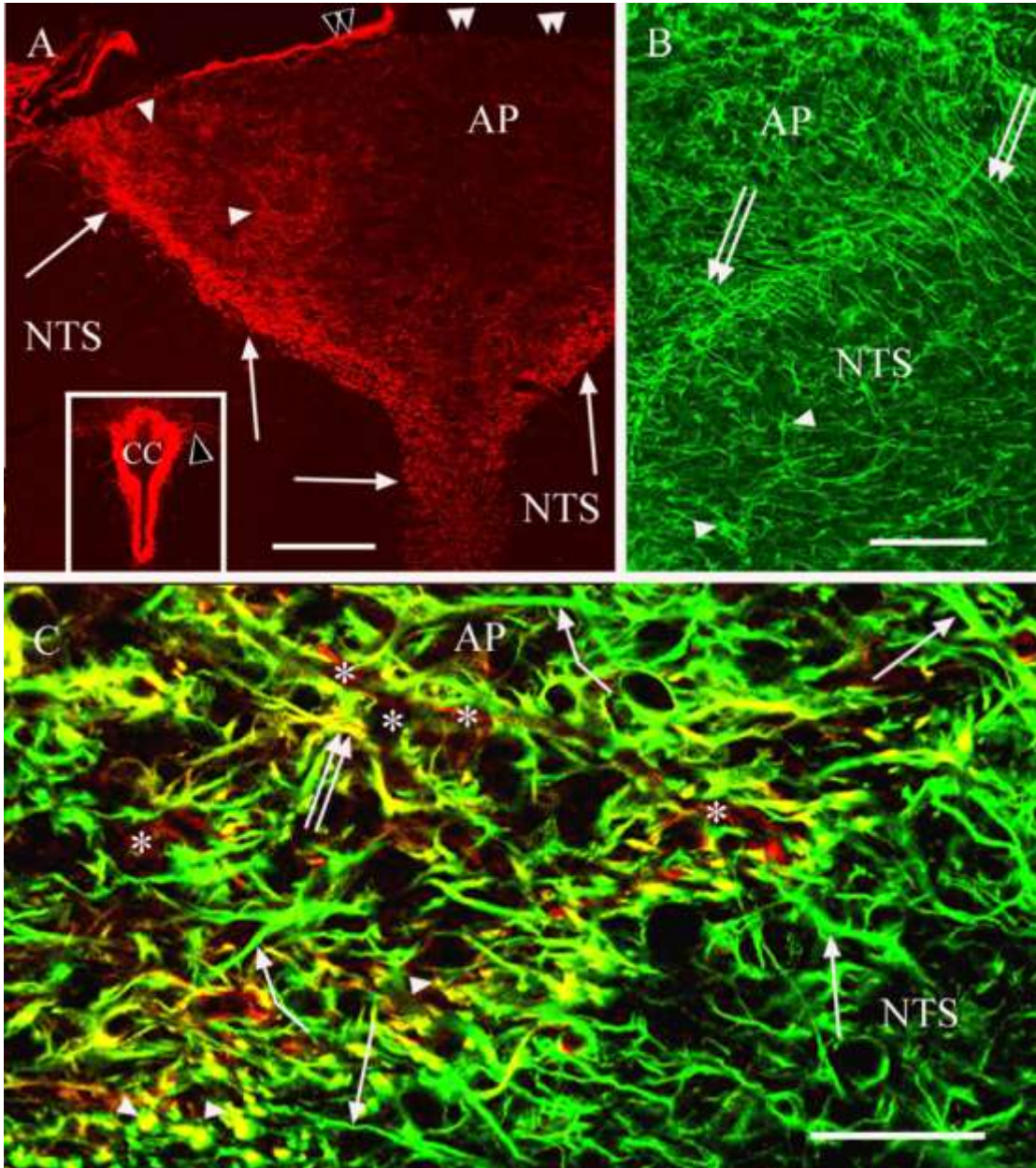
16. ábra Laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitás változása az area postrema határán. A-D) Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés. Kinagyított részletek a 15B ábra bekeretezett területeiről. A) Az area postrema 'kettős falú' erei: a külső 'falban' laminin és β -disztroglikán kolokalizációt mutat (sárga, nyilak), a belsőben csak laminin-immunreaktivitás látható (zöld, nyílhegyek). Skála: 20 μ m. B,C) Ahol az erek a nucleus tractus solitarii-ba léptek a laminin- β -disztroglikán kettős immunreaktív 'külső fal' (sárga, nyilak) és a laminin-immunreaktív 'belső fal' (zöld, nyílhegyek) helyett egy egyrétegű, csak β -disztroglikán-immunreaktív érfal (vörös, kettős nyílhegyek) alakul ki. Időnként átmeneti szakaszt is találtunk: egyrétegű, laminin- β -disztroglikán kettős immunreaktív érfal (B panel, sárga hajlított nyilak). Skála: 20 μ m. D) 'Z-síkban' készült felvétel a C panelen kettősfejú nyíllal jelölt magasságban. Nyíl – kolokalizáció a 'külső falban'. Skála: 20 μ m.

Megjegyzést érdemel, hogy számos ér körül a β -disztroglikán-immunpozitivitás annyira gyenge volt, hogy a kettősfestés nyomán csak akkor volt észrevehető, ha csak a β -disztroglikánt ábrázoló részképet néztük, de a kombinált képen, amely a laminint is mutatta, az utóbbi színreakciója teljesen elnyomta a β -disztroglikánét. Szagittális síkú metszeteken figyelhető meg legjobban, hogy ez a jelenség a szerv dorzális, kamraközeli részén volt a leggyakoribb (15A-C ábrák).

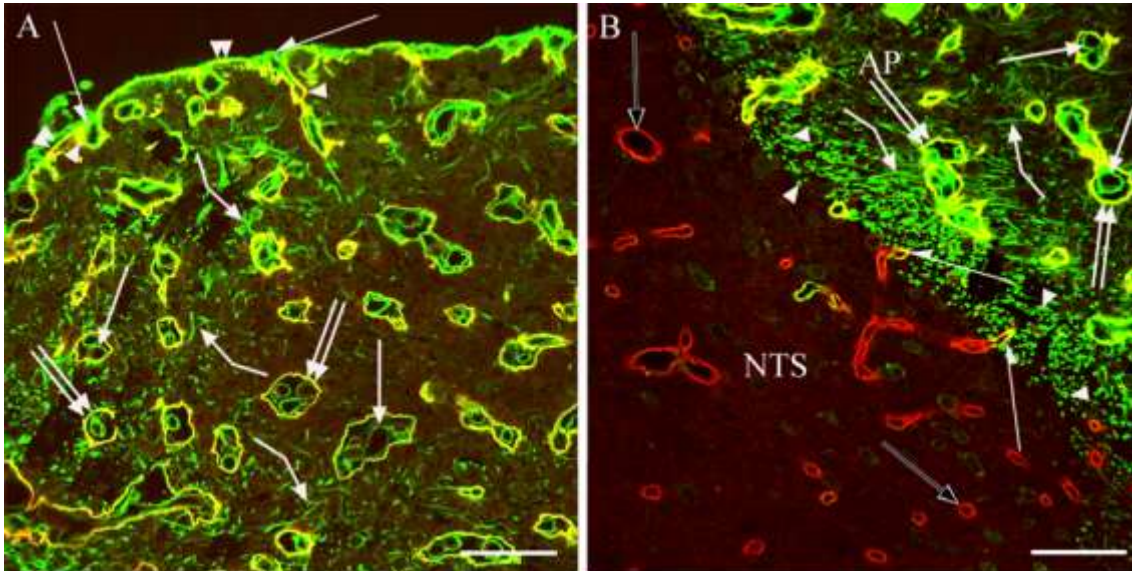
4.2.2. Gliaszervezet: GFAP és vimentin

Mindkét immunfestés (17A,B ábrák), erős, de nem teljes kolokalizációt mutatva (17C ábra) kirajzolt az area postrema körül Y alakban egy 'sövényt', amelyet glianyúlványok keresztmetszetei alkottak sűrűn egymás mellett elhelyezkedve, sűrűségük ventrális irányban nőtt. Középen találkozáva folytatódtak a canalis centralishoz, mint egy Y alsó szára. Ettől eltekintve az area postremával szomszédos agyállományban nem, vagy alig volt vimentin-immunpozitivitás (17A ábra), viszont GFAP sűrűn előfordult ott (17B ábra). Az említett sövény által határolt területen mindkét fehérjét sokkal ritkábban találtuk meg, főleg dorzolaterálisan, az erekhez futó glianyúlványokban, részben, de nem teljesen kolokalizáltan (17A-C ábrák). Csak a GFAP immunfestésével rajzolódottak ki viszont a 'gliasövény' rostjaira merőlegesen haladó nyúlványok, amelyek mintegy összeköttetést teremtenek a nucleus tractus solitarii és az area postrema (ill. annak erei) között (17B ábra).

Amennyiben a GFAP és a vimentin kimutatását a lamininéval ill. a β -disztroglikánéval kombináltuk (18A,B ábrák), látható volt, hogy a glianyúlványok csak a β -disztroglikán-immunpozitivitást (is) mutató 'külső falig' futottak, magukat az ereket nem érték el. (Ahol az erek körül nincs fénymikroszkóppal látható perivaszkuláris rés, természetesen úgy tűnik, magukon az ereken tapadnak). A vimentin- ill. GFAP-immunpozitív nyúlványokkal körülvett és körül nem vett erek között a laminin- és a β -disztroglikán-immunhisztokémiai festésében nem látszott különbség.



17. ábra Vimentin és GFAP eloszlása frontális metszetekben. AP: area postrema; NTS: nucleus tractus solitarii. A) Vimentin. Haránt metszett nyúlványok kirajzolnak egy 'gliasövényt' (nyílak), ami leterjed a canalis centralis felé a nucleus tractus solitarii területére. Ezen kívül csak az area postrema dorzolaterális részén fordul elő, főleg erek körül asztrocitákban (nyílhegyek). A piális felszínen (kettős nyílhegyek) immunreaktivitást a pia mater szövete mutat (fekete, kettős nyílhegy). Inset: canalis centralis (CC) endimája, basalis nyúlványok (fekete nyílhegy). Skála: 100 μ m, az insetre vonatkozóan is. B) GFAP. Hasonló a vimentinhez, de kiterjedtebb. Az NTS területén sűrű asztrocita-populáció (nyílhegyek). A 'gliasövény' harántmetszett nyúlványai között, azokra merőlegesen áthaladó glianyúlványok (kettős nyílak). Skála: 100 μ m. C) GFAP (zöld) és vimentin (vörös) elleni kettős immunhisztokémiai reakció. A 'gliasövény' jól kirajzolódik, GFAP és vimentin gyakori, de nem teljes kolokalizációt mutat (sárga, nyílhegyek) a haránt metszett rostokban. A 'gliasövényre' merőleges rostok csak GFAP-immunpozitivitást mutatnak (nyílak). Az erek (csillagok) körüli nyúlványokban GFAP és vimentin kolokalizációja szintén gyakori (sárga, kettős nyílak), de csak GFAP-immunreaktív nyúlványokat is látunk (hajlított nyílak). Csak vimentin-immunreaktívakat elvértve látunk. Skála: 50 μ m.



18. ábra GFAP- és Vimentin-immunreaktivitás laminin- és β -disztroglikán elleni immunhisztokémiai reakcióval összevetve. AP: area postrema; NTS: nucleus tractus solitarii. A) GFAP- β -disztroglikán-laminin hármass jelzés, közvetlenül a szerv felszíne alatt. GFAP és laminin zöld, β -disztroglikán vörös. Laminin-immunpozitív falú erek, néha több is egy üregben (nyilak). A perivaszkuláris üreg határán a sárga szín általában laminin és β -disztroglikán kolokalizációjára utal (kettős nyilak). Laminin- β -disztroglikán kettősjelzett piális felszín (kettős nyilhegyek) a belépő erek laminin-immunreaktív fala körül (fél nyilak) követhető a szerv állományába (nyilhegyek). GFAP-immunpozitív asztrociták (hajlított nyilak). Skála: 50 μ m. B) Vimentin- β -disztroglikán-laminin hármass jelzés, a szerv mélyebb részén. Vimentin és laminin zöld, β -disztroglikán vörös. Laminin-immunpozitív falú erek, néha több is egy üregben (nyilak). A perivaszkuláris üreg határán a sárga szín általában laminin és β -disztroglikán kolokalizációjára utal (kettős nyilak). A 'gliasövény': sűrű, haránt metszett, vimentin-immunpozitív rostok (nyilhegyek). Az erek (fekete nyilak) a 'gliasövényen' kívül vörösek, csak β -disztroglikán-immunpozitívak. A 'gliasövényen' átlépő erek fala (fél nyilak) sárga lesz. Csak a 'gliasövény' által határolt területen futnak vimentin-immunreaktív nyúlványok (hajlított nyilak) az erekhez. Skála: 50 μ m.

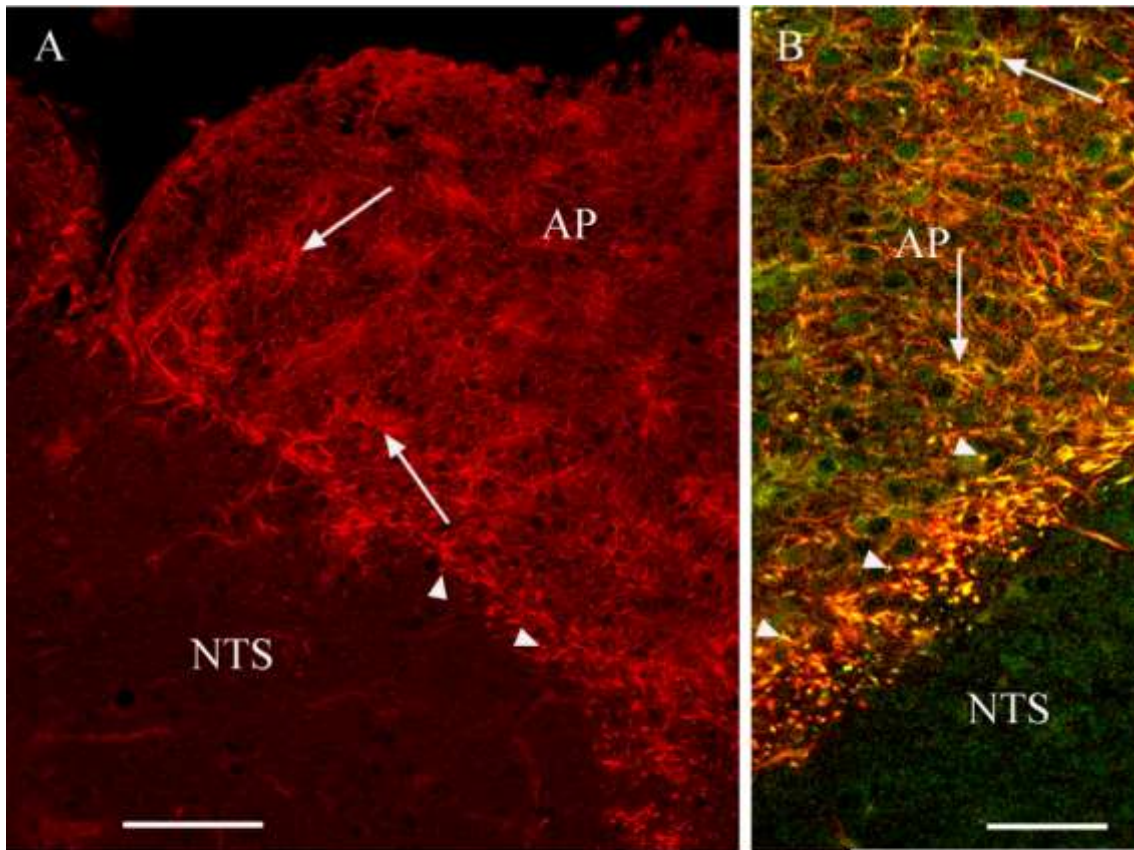
4.2.3. Egyéb markerek

Nesztin az area postrema és a 'gliasövény' rostrális metszeteiben a vimentinhez hasonlóan helyezkedett el (19A ábra), vele általában kolokalizálva (19B ábra). Kaudálisan azonban a szerv keskenyedő ventrális részére szorítkozott (nem mutatjuk).

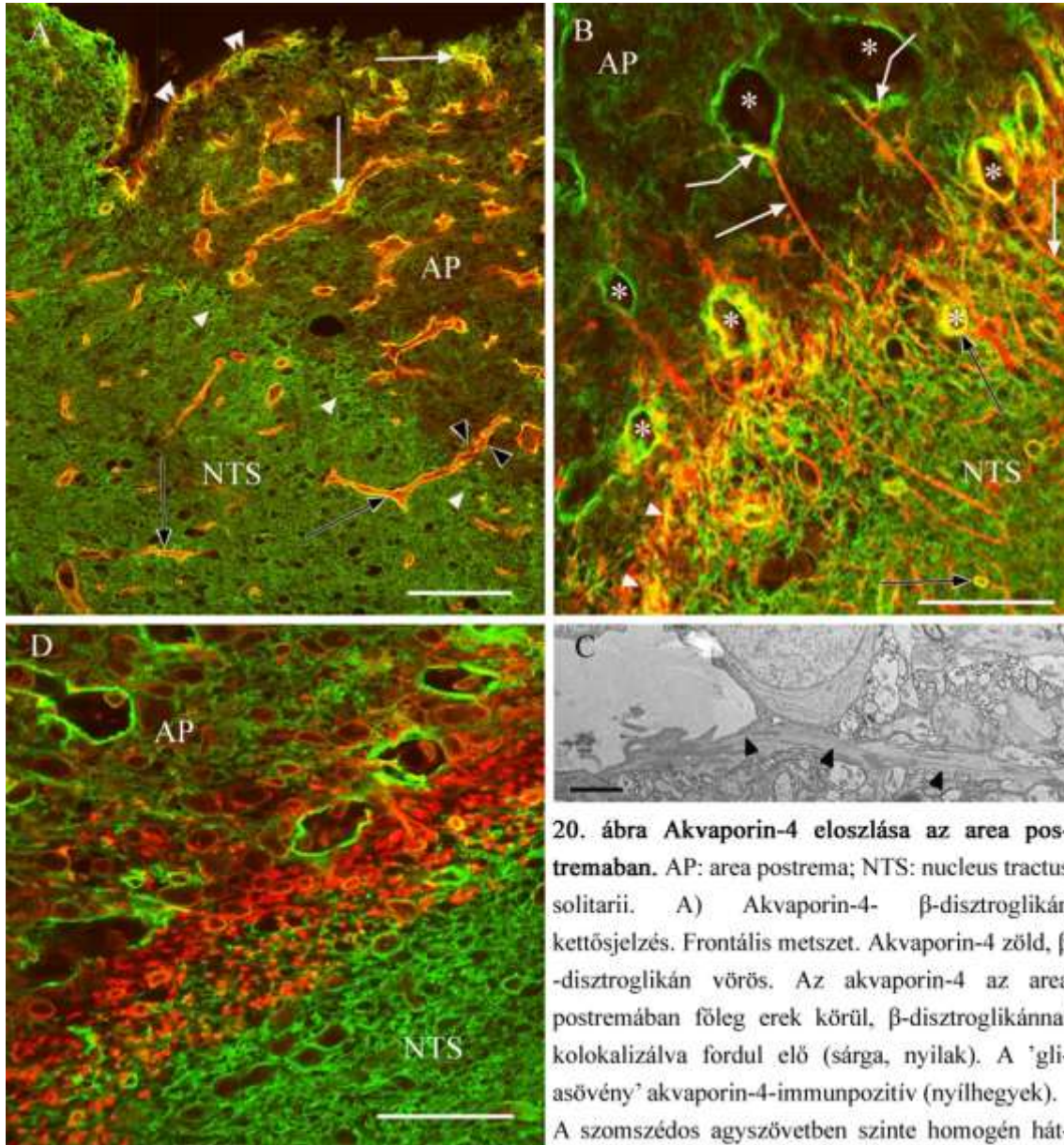
Akvaporin-4 immunreaktivitása elsősorban a 'gliasövényben' és az erek külső 'fala' mentén volt található, utóbbi helyen β -disztroglikánnal kolokalizáltan fordult elő (20A ábra). Míg az area postremán kívüli erek körül az akvaporin-4-immunpozitivitás folyamatos volt, mint általában az agy erein, az area postremában szakadozottá vált, különálló nyúlványokat jelölt (20A ábra). A 'gliasövényben' és az erekben akvaporin-4

GFAP-val mutatott kolokalizációt (20B,C ábrák), vimentinnel azonban csak elvétve (20D ábra).

Az S100 kimutatását a GFAP (21A ábra) ill. vimentin (21B ábra) jelölésével kombinálva az area postrema jól kirajzolódik az agyszövetben szokásosnál sűrűbben elhelyezkedő S100-immunpozitív sejtjei miatt, a gliasövénnyel haránt metszett rostjaiban mindkét esetben láttunk kolokalizációt. Az S100-immunreaktív sejtek alakja változatos (21A-C ábrák), lehet poligonális, rövid nyúlványokkal, mint az agyszövetben általában, de lehet kerekded, 'epiteloid', sok citoplazmával, amiben jól látszik a mag helye. Glutamin-szintetáz csak elszórtan tudtunk kimutatni (21C ábra).

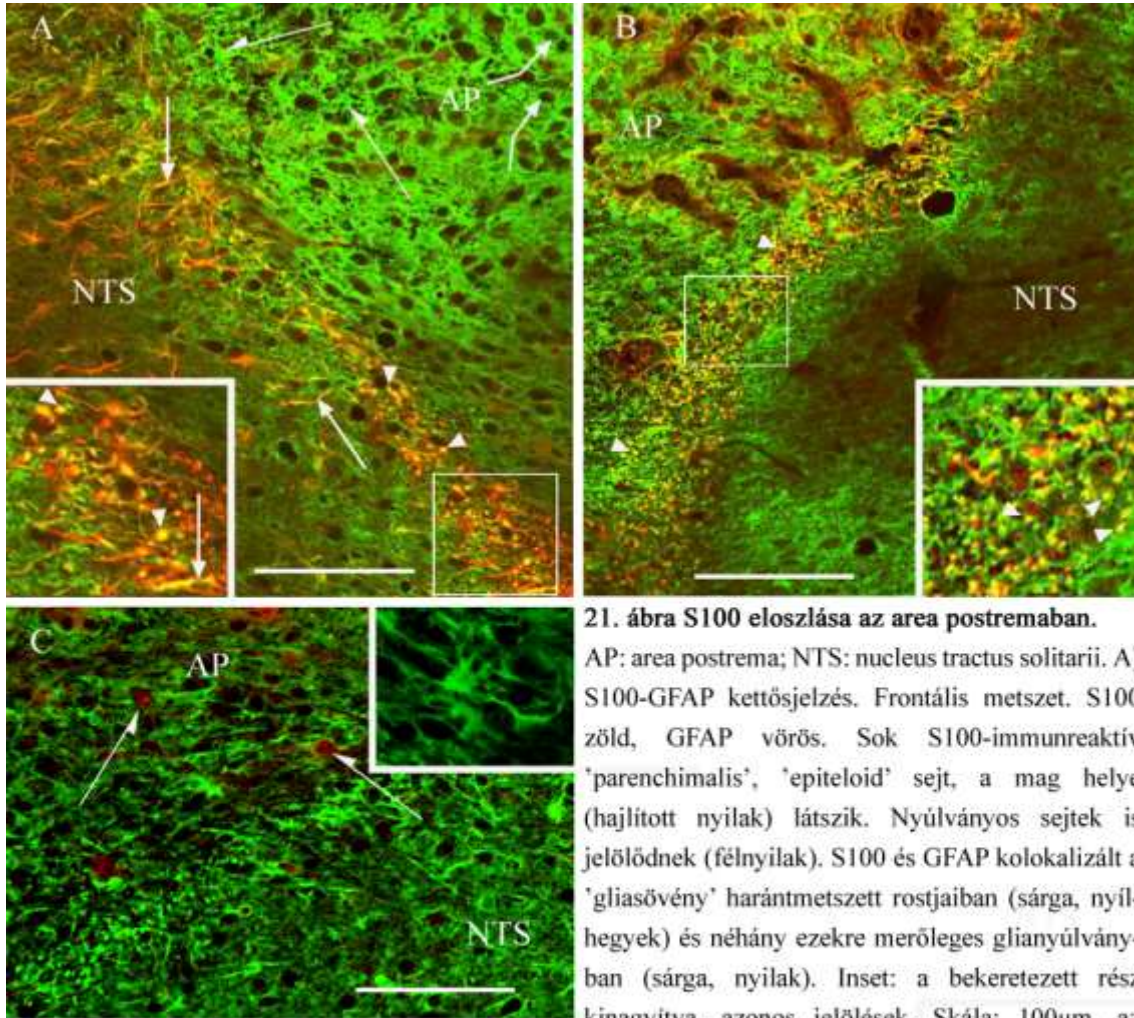


19. ábra Nestin eloszlása az area postremában. AP: area postrema; NTS: nucleus tractus solitarii. A) Nestin. Frontális metszet. Nestin-immunpozitív elemek főleg az erek körül található az area postremában (nyilak). A 'gliasövénnyel' haránt metszett nyúlványok jól kirajzolják (nyílhegyek). Skála: 100 μ m. B) Nestin-vimentin kettősjelzés. Frontális metszet. Nestin vörös, vimentin zöld. Nestin az area postrema sejtjeiben (nyilak) és a 'gliasövénnyel' nyúlványaiban (nyílhegyek) is kolokalizál vimentinnel. Skála: 50 μ m.



20. ábra Akvaporin-4 eloszlása az area postremában. AP: area postrema; NTS: nucleus tractus solitarii. A) Akvaporin-4- β -disztroglikán kettősjelzés. Frontális metszet. Akvaporin-4 zöld, β -disztroglikán vörös. Az akvaporin-4 az area postremában főleg erek körül, β -disztroglikánnal kolokalizálva fordul elő (sárga, nyílak). A 'gliasövény' akvaporin-4-immunpozitív (nyílhegyek). A szomszédos agyszövetben szinte homogén hátteret alkot (a sötét lukak neuronok helyei). Az agyszövetben az ereket folyamatos akvaporin réteg veszi körül, itt is β -disztroglikánnal kolokalizáltan (sárga, fekete nyílak). Ez a folyamatosság a 'gliasövényen' való átlépéskor megszűnik (fekete nyílhegyek). A piális felszínen (kettős nyílhegyek) akvaporin-4 és β -disztroglikán kolokalizált. Skála: 100 μ m. B) Akvaporin-4-GFAP kettősjelzés. Frontális metszet. Akvaporin-4 zöld, GFAP vörös. Akvaporin-4 az erek (csillag) körül. A 'gliasövény' haránt metszett rostjaiban a GFAP részben kolokalizált az akvaporin-4-gyel (sárga, nyílhegyek). Ezekre merőlegesen haladó GFAP-immunreaktív glianyúlványok (nyílak) a nucleus tractus solitarii-ból az area postrema ereihez futnak. Az erek 'falában' az ott végződő nyúlványokban GFAP és akvaporin-4 kolokalizált (hajlított nyílak). Ez a perivaszkuláris kolokalizáció szakaszos, míg a 'gliasövény' területén látott és méginkább az area postremán kívüli folyamatos (fekete nyílak). Skála: 50 μ m. C) Elektronmikroszkópos felvétel. Glianyúlvány (nyílhegyek) húzódik egy perivaszkuláris üreghez. Skála: 5 μ m. D) Akvaporin-4-vimentin kettősjelzés. Frontális metszet. Akvaporin-4 zöld, vimentin vörös. A 'gliasövény' részlete, vimentin-immunpozitivitás tömöttebb struktúrát mutat és alig van kolokalizáció. Skála: 50 μ m.

Az agyszövetben az ereket folyamatos akvaporin réteg veszi körül, itt is β -disztroglikánnal kolokalizáltan (sárga, fekete nyílak). Ez a folyamatosság a 'gliasövényen' való átlépéskor megszűnik (fekete nyílhegyek). A piális felszínen (kettős nyílhegyek) akvaporin-4 és β -disztroglikán kolokalizált. Skála: 100 μ m. B) Akvaporin-4-GFAP kettősjelzés. Frontális metszet. Akvaporin-4 zöld, GFAP vörös. Akvaporin-4 az erek (csillag) körül. A 'gliasövény' haránt metszett rostjaiban a GFAP részben kolokalizált az akvaporin-4-gyel (sárga, nyílhegyek). Ezekre merőlegesen haladó GFAP-immunreaktív glianyúlványok (nyílak) a nucleus tractus solitarii-ból az area postrema ereihez futnak. Az erek 'falában' az ott végződő nyúlványokban GFAP és akvaporin-4 kolokalizált (hajlított nyílak). Ez a perivaszkuláris kolokalizáció szakaszos, míg a 'gliasövény' területén látott és méginkább az area postremán kívüli folyamatos (fekete nyílak). Skála: 50 μ m. C) Elektronmikroszkópos felvétel. Glianyúlvány (nyílhegyek) húzódik egy perivaszkuláris üreghez. Skála: 5 μ m. D) Akvaporin-4-vimentin kettősjelzés. Frontális metszet. Akvaporin-4 zöld, vimentin vörös. A 'gliasövény' részlete, vimentin-immunpozitivitás tömöttebb struktúrát mutat és alig van kolokalizáció. Skála: 50 μ m.



21. ábra S100 eloszlása az area postremában.

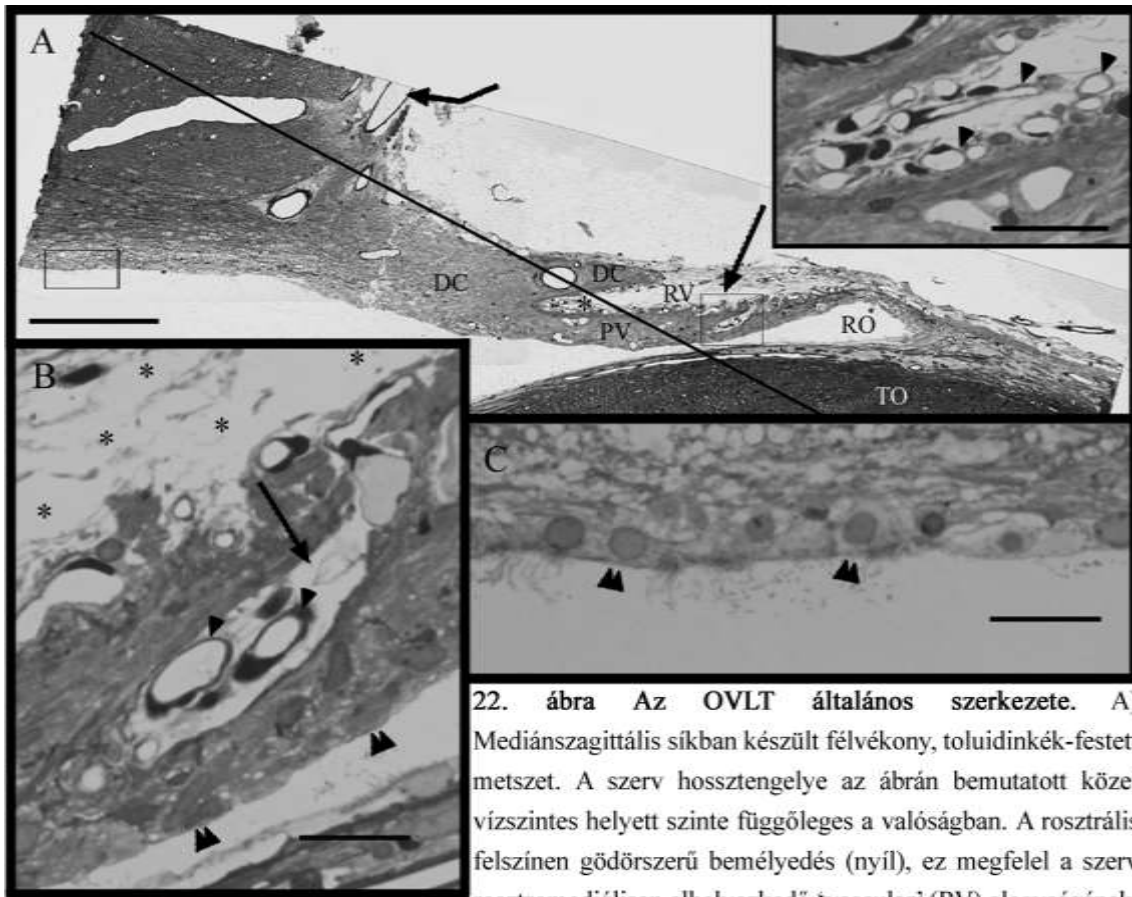
AP: area postrema; NTS: nucleus tractus solitarii. A) S100-GFAP kettősjelzés. Frontális metszet. S100 zöld, GFAP vörös. Sok S100-immunreaktív 'parenchimalis', 'epiteloid' sejt, a mag helye (hajlított nyilak) látszik. Nyúlványos sejtek is jelölődnek (félnyilak). S100 és GFAP kolokalizált a 'gliasövény' harántmetszett rostjaiban (sárga, nyílhegyek) és néhány ezekre merőleges glianyúlványban (sárga, nyilak). Inset: a bekeretezett rész kinagyítva, azonos jelölések. Skála: 100 μ m, az insetre vonatkozóan 60 μ m. B) S100-vimentin kettősjelzés. Frontális metszet. S100 zöld, vimentin vörös. S100 és vimentin kolokalizált a 'gliasövény' harántmetszett rostjaiban (sárga, nyílhegyek). Inset: a bekeretezett rész kinagyítva, azonos jelölések. Skála: 100 μ m, az insetre vonatkozóan 40 μ m. C) S100-glutamin-szintetáz kettősjelzés. Frontális metszet. S100 zöld, glutamin-szintetáz vörös. Glutamin-szintetáz néhány kerek sejttestet (félnyilak) jelöl. Inset: nyúlványos S100-immunreaktív sejt kinagyítva. Skála: 100 μ m, az insetre vonatkozóan 65 μ m.

4.3. OVLT

4.3.1. Az általános szerkezet

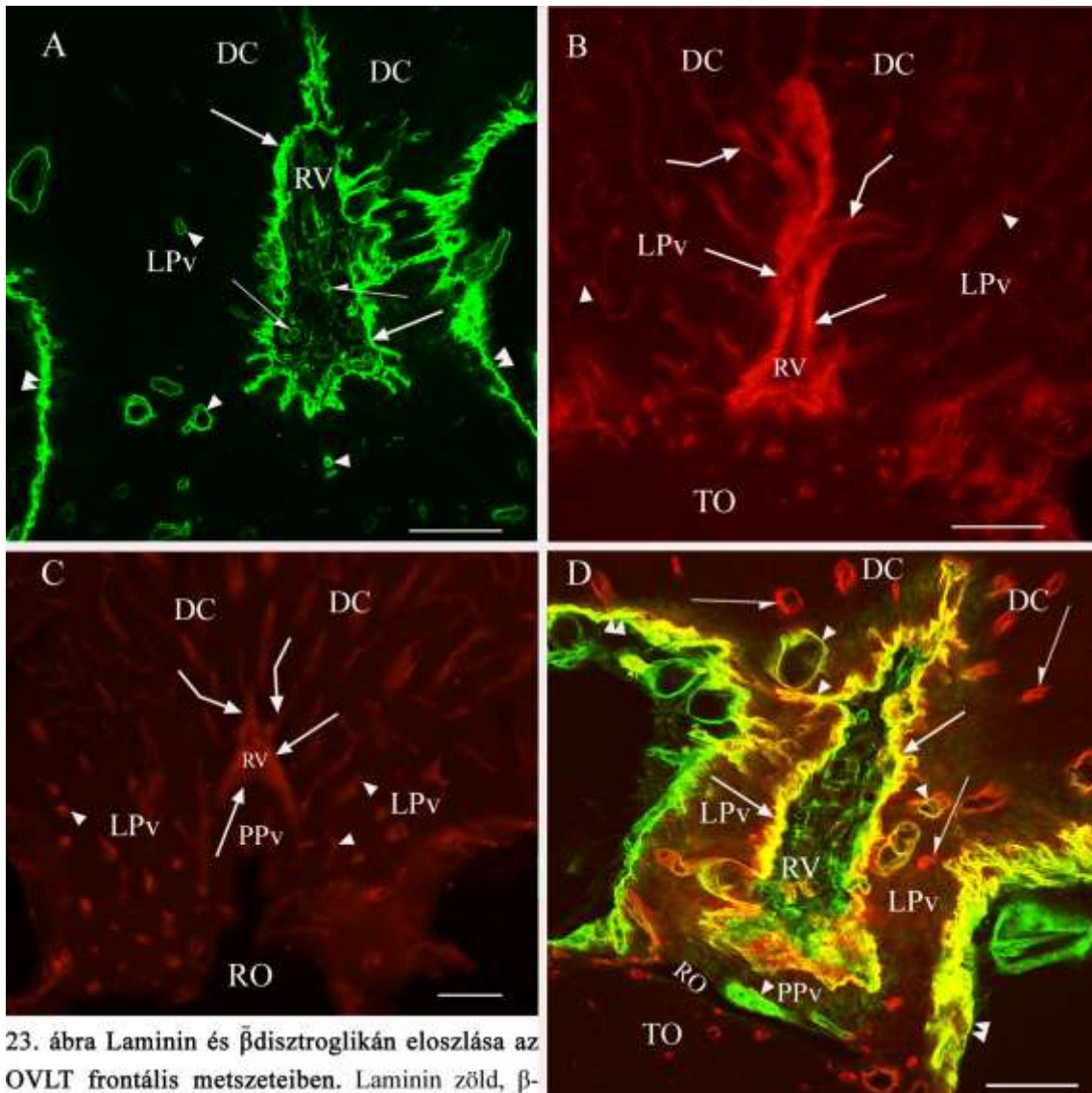
A 22. ábrán megfigyelhetjük a Bevezetésben említett alegységeket (megtartva McKinley és mtsai 2003 elnevezéseit, ld. 1.10. fejezet): i) a piális felszín betüremkedése alkotta érgazdag 'gödör' felel meg a rostromediális helyzetű 'vascular' alegységnek; ii) ettől hátrafelé, a kamra üregéig terjed a 'posterior periventricular' alegység (a 'lateral periventricular' alegység csak más metszési síkban látható, ld. 23. ábra); iii) a 'dorsal

cap', melynek csörszerűen előrenyúló része a 'vascular' alegységet befedi. A 'gödör' területéről kisebb átmérőjű, ereket tartalmazó csatornák eredtek az agyállományba hatolva (22A,B ábrák, ld. még később is), de a szubarachnoidális térből különállóan betörő ereket is megfigyeltünk. Az érgazdag terület (vagyis az OVLT) kamrai felszínén lapos endimát találtunk (22B ábra), míg a lamina terminalis más részét (22C ábra) fedő endimában kőbös sejttesteket láttunk.



22. ábra Az OVLT általános szerkezete. A) Mediánsagittális síkban készült félvékony, toluidinkék-festett metszet. A szerv hossz tengelye az ábrán bemutatott közel vízszintes helyett szinte függőleges a valóságban. A rostrális felszínen gödöröszerű bemélyedés (nyíl), ez megfelel a szerv rostromediálisan elhelyezkedő 'vascular' (RV) alegységének.

A 'gödörtől' dorzálisan, attól elkülönülten betörő ér (hajlítot nyíl). Egy hipotetikus, megközelítőleg frontális metszési sík (vonal) dorzoventrális sorrendben a következő alegységeket érinti: 'dorsal cap' (DC), 'vascular' és 'posterior periventricular' (PPv). RO – recessus opticus, TO – tractus opticus. Inset: A 'gödör' csillaggal jelölt része kinagyítva, benne érlumenekkel (nyílhegyek). Skála: 200 μ m, az inseten 50 μ m. B) Az előző panel jobb oldali bekeretezett területe kinagyítva. Keskeny csatorna (nyíl), mely a 'gödör' lumenével (csillagok) kapcsolatban áll és ereket (nyílhegyek) tartalmaz. A szervet lapos endimasejtek borítják (kettős nyílhegyek). Skála: 20 μ m. C) Az előző panel bal oldali bekeretezett területe kinagyítva. Kőbös endimasejtek (kettős nyílhegyek) a lamina terminalis dorzálisabb részén. Skála: 20 μ m.



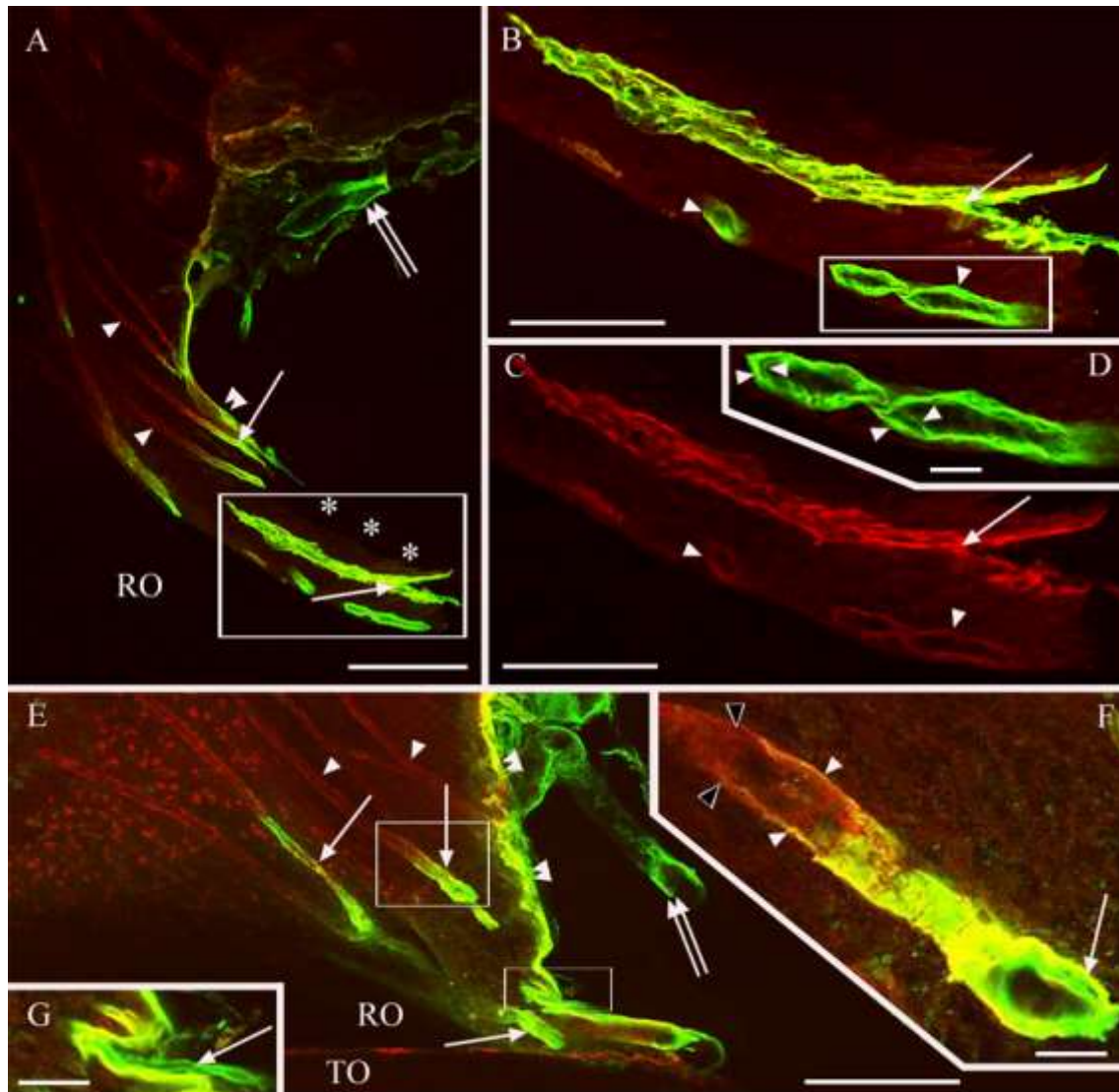
23. ábra Laminin és β -disztroglikán eloszlása az OVLT frontális metszeteiben. Laminin zöld, β -disztroglikán vörös. RO: recessus opticus; TO: tractus opticus; alegységek (vö. a 22A ábrán jelölt hipotetikus frontális sikkal): DC - 'dorsal cap', PPv - 'posterior periventricular', LPv - 'lateral periventricular', RV - 'vascular' ('gödör'). A) Laminin elleni immunhisztokémiai reakció. A 'gödör' frontális metszetben a rostrálisabb részeken háromszög alakú. A laminin immunreaktivitása kirajzolja az agy piális felszínét (kettős nyílhegyek), így a 'gödör' falát (nyílak) is, ill. érkeresztmetszeteket a 'gödörben' (félnyílak, vö. 22A ábra inset) és körülötte (nyílhegyek). Skála: 100 μ m. B,C) β -disztroglikán elleni immunhisztokémiai reakció. B) A 'gödör' frontális metszetben a kaudálisabb részeken fordított Y alakú. A β -disztroglikán immunreaktivitása kirajzolja 'gödör' falát (nyílak), a 'gödörből' kilépő (hajlított nyílak, vö. 22B ábra) és a távolabbi ereket (nyílhegyek). Skála: 100 μ m. C) A 'gödör' alakja változik és nagysága csökken caudal felé, ill. megnyílt a RO. Jelölésekért ld. a B panelt. Skálák: 100 μ m. D) Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés. Kolokalizációt (sárga) látunk az agy piális felszínén (kettős nyílhegyek), így a gödör falában (nyílak) is, ill. erek mentén (nyílhegyek). Bizonyos erek (fél nyílak) nem mutatnak laminin-, csak β -disztroglikán-immunreaktivitást. Skála: 100 μ m.

Az OVLT alegységeit a frontális síkban is azonosíthatjuk (ld. 23A-D ábrák). Ilyenkor a 'gödör' ('vascular' alegység) a rostrális metszeteken háromszögletű (23A ábra), kaudálisabb metszeken szabálytalan fordított Y alakú (23B,C ábrák) nyílásnak látszik, ezzel egyidejűleg egyre kisebbedik, majd eltűnik, míg tőle ventrálisan megnyílik a recessus opticus. A 'gödör' felett találjuk a 'dorsal cap'-et, alatta idenyúlik a 'posterior periventricular' alegység, tőle oldalt pedig a 'lateral periventricular' alegységet látjuk (23A-D ábrák). A 'gödör' fala laminin- (23A és D ábrák) és β -disztroglikán (23B-D ábrák) –immunpozitivitást mutatott, mint általában az agy piális felszíne.

4.3.2. Érszerkezet

A 'gödör' területéről az erek sugárirányban indultak az OVLT szövetébe, ezt jól mutatta a β -disztroglikán immunfestése (23B és D ábrák, egy hasonló kilépést mutathat a 22B ábra). A szerv ereinek egy része, köztük a 'gödörben' lévők is laminin-immunreaktivitást is mutatott (23A és 24A-G ábrák).

Ahol a β -disztroglikán immunreaktivitása kolokalizált a lamininéval (24A-G ábrák), ott ez általában a kettős, laminin-immunreaktív 'falú' erek 'külső falára' szorított (24F,G ábrák). Egyes erek esetében azonban a β -disztroglikán-immunreaktivitás olyan gyengének bizonyult, hogy csak az egyszeres képeken volt látható, mivel a kettősjelzést mutató képeken a laminin-immunreaktivitás 'elnyomta' (24B-D ábrák). Szagittális metszetben jól megfigyelhető volt, hogy az erek az agyszövetben haladva 'egyszeres falúvá' váltak, majd egy rövid átmeneti szakaszuk 'egyszeres falú' és laminin- β -disztroglikán kettősjelzett volt (24F ábra), végül elvesztették laminin-immunreaktivitásukat, és csak β -disztroglikán-immunreaktivitást mutattak (24A,E és F ábrák). A 3. kamra oldalfalában megfigyelhető volt néhány laminin-immunreaktív ér (24E ábra), amelyek bizonyára a 'gödörtől' oldalra, elkülönülten léptek be.



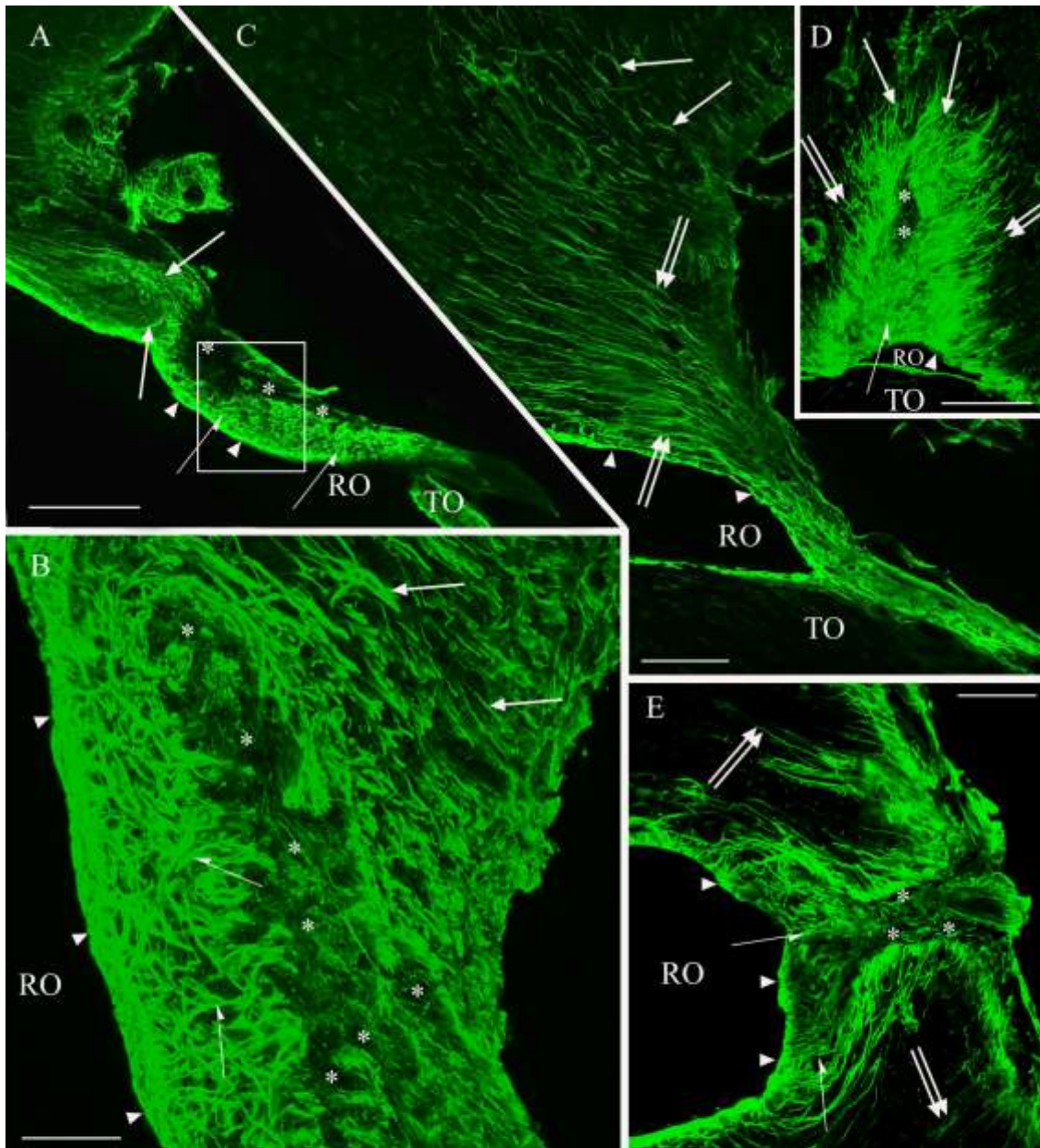
24. ábra Laminin és β -disztroglikán eloszlása az OVLT szagittális metszeteiben. Laminin zöld, β -disztroglikán vörös. RO: recessus opticus; TO: tractus opticus. A) Szagittális metszet közel a medián síkhoz. Laminin és β -disztroglikán kolokalizációja a szerv ereiben (sárgás zöld, nyílak; hasonlítsuk össze az agyon kívüli erek – ld. kettős nyíl - tiszta zöld színével). A környező agyszövetben az erek laminin-immunreaktivitása eltűnik (nyílhegyek). A piális felszín laminin- β -disztroglikán kettősjelzett (sárga, kettős nyílhegy), más területen levált a metszés során (csillagok). Skála: 200 μ m. B) Laminin-immunreaktív erek, az előző panel bekeretezett része kinagyítva. A β -disztroglikán-immunreaktivitás lamininnal való kolokalizációja érzékelhető (sárga, nyíl) vagy, ha gyenge.... (Skála: 100 μ m). C) ...csak a β -disztroglikán-immunreaktivitást mutató komponensen látszik (nyílhegyek). (A jelölt pontok identikusak a két képen.) Skála: 100 μ m. D) A B panel bekeretezett érszakasza kinagyítva. A szembefordított nyílhegyek között a 'fal' kétrétegűsége észrevehető. Skála: 20 μ m. E) Szagittális metszet, az előzőnél kissé távolabb a medián síktól. Azonos jelölések, mint az A panelen. A nyíllal jelölt erek ferdén lépnek be a 3. kamra oldalfalába. Skála: 200 μ m. F) Az előző panel felső bekeretezett része kinagyítva. 'Kettősfalú', laminin- β -disztroglikán kettősjelölt ér (sárga, nyíl) az OVLT területét elhagyva elveszti laminin-immunreaktivitását és 'egyszeres falúvá' válik (fekete nyílhegyek). Nyílhegyek - átmeneti szakasz: laminin- β -disztroglikán kettősjelölt 'egyszeres fal'. Skála: 20 μ m. G) Az előző panel alsó bekeretezett része kinagyítva. Elkülönülten belépő ér az OVLT laterális részén (nyíl). Skála: 20 μ m.

4.3.3. A gliaszerkezet: vimentin és GFAP

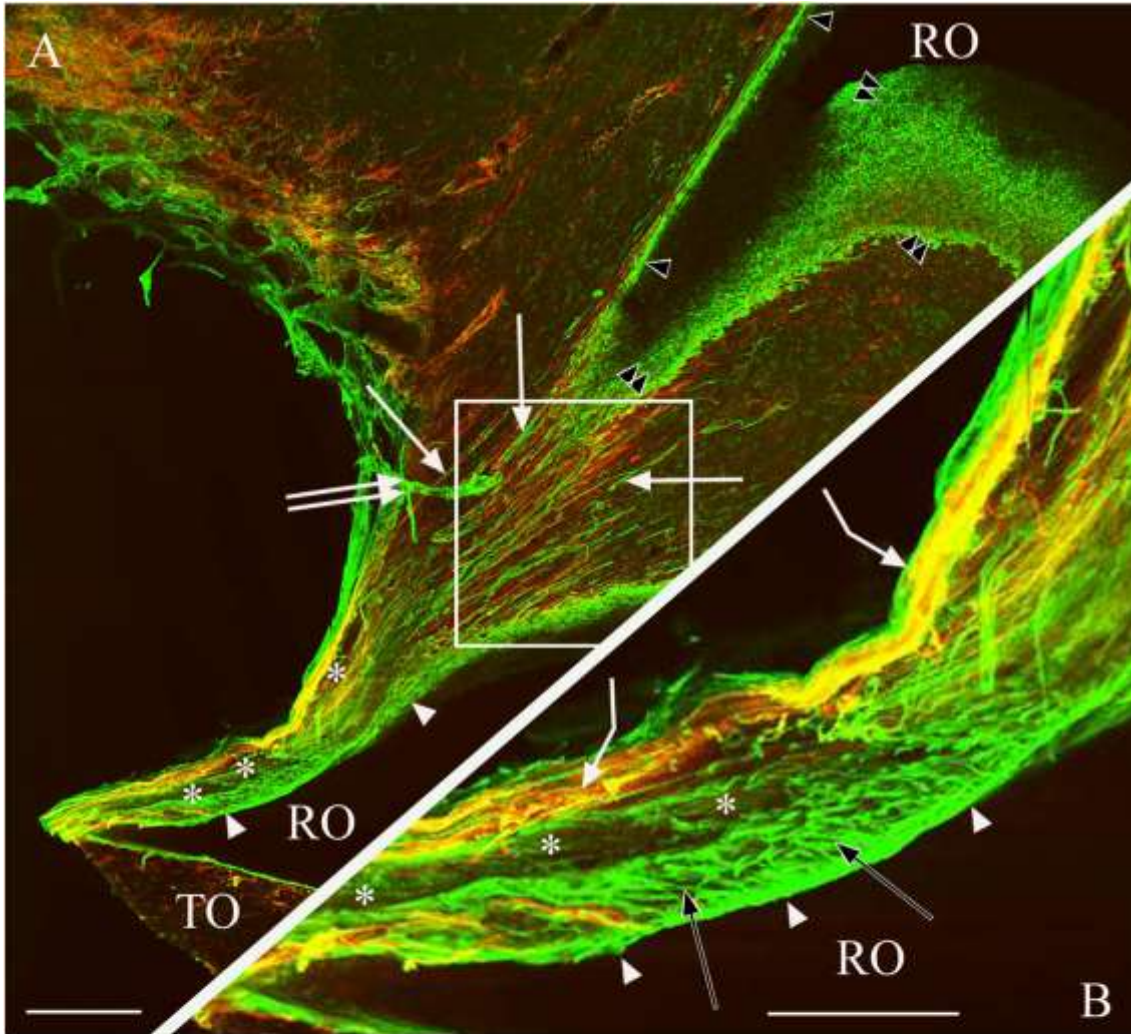
A szerv gliaszerkezetét könnyebb megismernünk, ha elsőként szagittális (25A-C ábrák), frontális (25D ábra) és horizontális (25E ábra) síkú metszeteken összehasonlítjuk a vimentin immunreaktivitását. Lényegében két nyúlványrendszert találtunk: az egyik a 3. kamra távolabbi részei felől konvergál az OVLT, pontosabban a 'dorsal cap' és a 'lateral periventricular' alegység felé, a másik rövidebb glianyúlványokból áll, amelyek nagyrészt a 'periventricular' alegység endimasejteiből származnak. A nyúlványok a 'gödör' falához és a szerv többi piális felszínéhez, illetve az erekhez húzódtak. A 'gödör' falát borító rostrendszer különösen sűrűn, paliszádszerűen helyezkedik el.

A vimentin immunfestését a GFAP-éval kombinálva, a 3. kamra távolabbi részei felől az OVLT felé húzódó hosszú nyúlványrendszerben GFAP-immunreaktív nyúlványokat is megfigyeltünk (26A,B ábrák). Utóbbiak különálló elemeknek tűntek, mivel GFAP-vimentin kolokalizációt csak elvétve láttunk (27A-D ábrák), illetve eltérő sejttípusokhoz tartoztak (27A,C ábrák). A vimentin-immunreaktív nyúlványok köbös, vimentin-immunreaktív endimasejtekből származtak, míg a GFAP-immunreaktív csillag alakú GFAP-immunreaktív sejttestekből. Figyeljük meg, hogy ennek a nyúlványrendszernek egyes elemei eredésükhöz viszonylag közel, az OVLT-től dorzokaudálisan, a 3. kamra oldalfalát alkotó szövet szubependimális ereit is körülvették (27A,C ábrák). A vimentin-immunreaktív 'posterior periventricular' alegységben GFAP-immunreaktivitást csak elvétve találtunk (26A,B ábrák). A 'dorsal cap' viszont intenzív vimentin- és GFAP-immunreaktivitást mutatott, részleges kolokalizációt is megfigyeltünk itt, főleg a szubpiális részeken (26A,B ábrák).

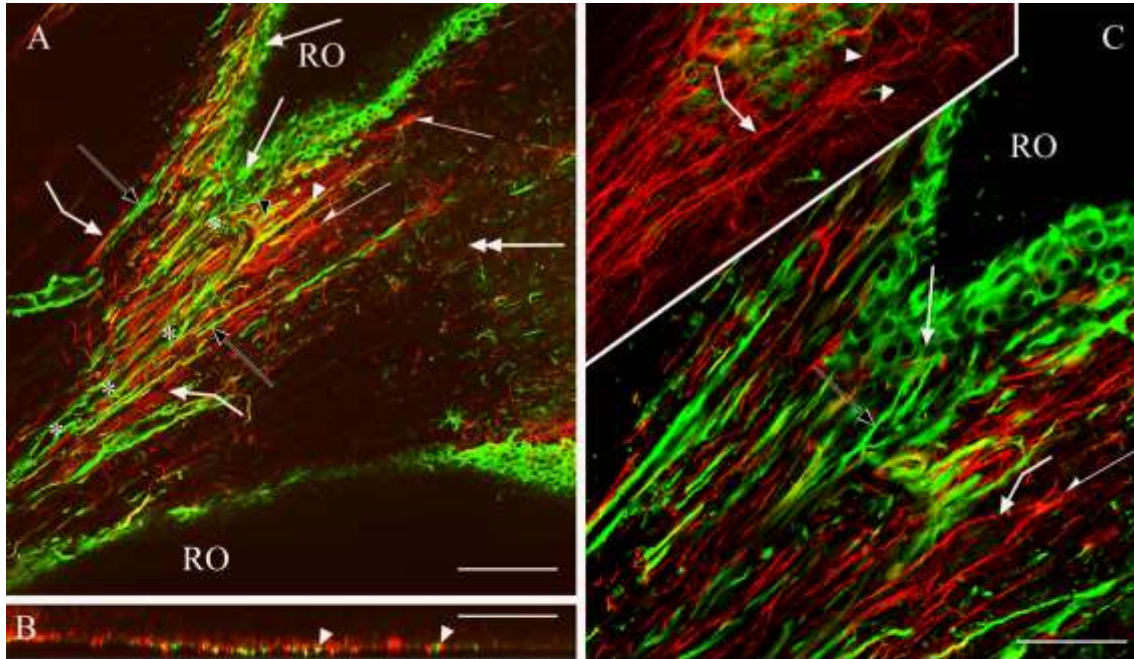
Frontális metszetben is azt tapasztaltuk, hogy a GFAP-immunreaktív nyúlványok megtalálhatók a 'dorsal cap' területén, ahol körülvették az érlumeneket is, illetve a 'lateral periventricular' alegység laterális részén. Utóbbi alegység mediális részén illetve a 'posterior periventricular' alegység területén viszont GFAP-immunreaktivitást csak elvétve láttunk. (Mindezeket a következő alfejezet ábráin lehet látni).



25. ábra Az OVLT gliaszerkezete a vimentin kimutatásának alapján. RO: recessus opticus; TO: tractus opticus; csillagok: 'gödör' ('vascular' alegység). Távolabbi területek felől jövő vimentin-immunreaktív hosszú nyúlványok a 'dorsal cap' (nyilak) és a 'lateral periventricular' (kettős nyilak) alegység területén. Félnyilak: vimentin-immunreaktív nyúlványok a 'posterior periventricular' alegység területén. Nyílhegyek: vimentin-immunreaktív endimasejtek. A) Szagittális metszet közel a medián síkhoz (vö. 22A ábrával). A tractus opticus sérült. Skála: 200 μ m. B) Szagittális metszet, több fókusz-sík egymásra vetítve, az A panel bekeretezett területéhez hasonló terület. Skála: 50 μ m. C) Paramediánszagittális metszet, a 'gödör' mellett (vö. 24E ábrával). Skála: 100 μ m. D) Frontális metszet (vö. 23D ábra). Skála: 200 μ m. E) Horizontális metszet. A 'posterior periventricular' alegységet kitöltő nyúlványok (fél nyilak) a közeli endimasejtek felől a 'gödörhöz' húzódnak. Skála: 100 μ m.



26. ábra Vimentin-GFAP kettős immunhisztokémiai reakció. RO: recessus opticus; TO: tractus opticus. A,B) Vimentin-GFAP kettősjelzés. Vimentin zöld, GFAP vörös. Szagittális metszet. A hypothalamus rostralis részének átnézeti képe és az OVLT kinagyított részlete, sorrendben. Nyílhegyek: OVLT endidima. Csillagok: a 'gödör'. A) Fekete nyílhegyek: a lamina terminalist borító 'fali' endidima. Kettős fekete nyílhegyek: érintőlegesen metszett endidima a 3. kamra oldalfalában. Nyilak: vimentin- ill. GFAP-immunreaktív nyúlványok az OVLT felé. Kettős nyíl: a metszetre sodródott piális szövetdarab. Skála: 200 μm . B) Fekete nyilak: a közeli endidimából jövő vimentin-immunpozitív rostok a 'posterior periventricular' alegységben. Hajlítot nyilak: kolokalizáció (sárga) ritkán fordul elő, főleg a 'dorsal cap'szubpiális részén. Skála: 100 μm .



27. ábra Vimentin-GFAP kettős immunhisztokémiai reakció. Kinagyított részletek a 26A ábrán bekeretezett területről. Vimentin zöld, GFAP vörös. RO: recessus opticus. A) A lamina terminalis dorzálisabb részeiről és a 3. kamra falát az OVLT-től dorzokaudálisan alkotó szövetből: i) GFAP-immunreaktív szubependimális asztrocitaszerű sejtek (fél nyilak) és; ii) vimentin-immunreaktív köbös endimasejtek (nyilak) hosszú GFAP- (hajlított nyilak) ill. vimentin-immunreaktív (fekete nyilak) nyúlványokat (sorrendben) küldenek az OVLT felé. Egyes nyúlványok (fekete nyílhegy) a 3. kamra oldalfalában szubependimálisan futó érszakaszhoz (csillagok) húzódnak. A nyúlványokban ritka a kolokalizáció (nyílhegy). Skála: 100 μ m. B) Z-síkú felvétel az A panelen kettősfejű nyillal jelölt síkban. Nyílhegyek: a valódi kolokalizáció ritka. Skála: 100 μ m. C) Kinagyított részlet az A panelből. Látszik, hogy a GFAP-immunreaktív nyúlványok (hajlított nyíl) az asztrocitaszerű sejtekhez (fél nyíl), a vimentin-immunreaktívak (fekete nyíl) az endimához (nyíl) tartoznak. Inset: a fél nyillal jelölt sejt több fókusz-sík egymásra vetítésével - rövid nyúlványok (nyílhegyek) és anteroventrális irányú hosszú nyúlvány (hajlított nyíl), csillag alakban. Skála: 50 μ m, az insetre vonatkozóan is.

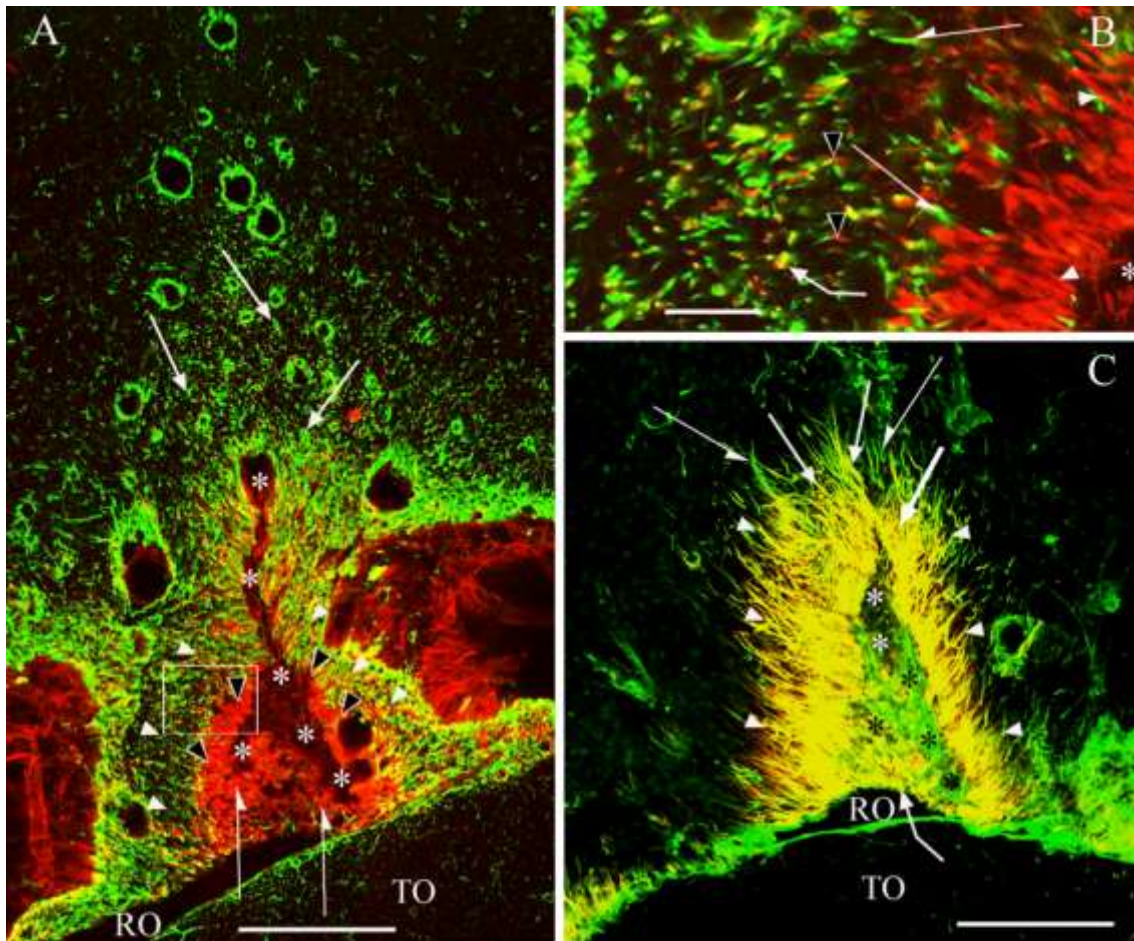
4.3.4. Nesztin/vimentin és akvaporin-4/GFAP kijelölte területek

A GFAP ill. a vimentin immunfestését a nesztinével kombinálva (28A-C ábrák) azt tapasztaltuk, hogy nesztin szinte teljes kolokalizációt mutatott vimentinnel mind a ‘dorsal cap’ területén, mind a ‘lateral’- és a ‘posterior periventricular’ alegységben (28C ábra). Néhány csak vimentin-immunreaktív nyúlványt is megfigyeltünk (28C ábra). Ezzel szemben GFAP-val csak elvétve mutatott kolokalizációt (28A,B ábrák).

Az agyszövetre általában jellemző akvaporin-4-immunreaktivitás hiányzott a ‘posterior periventricular’ alegységben illetve a ‘lateral periventricular’ alegység mediális részén, beleértve ezen területek endimaborítását is (29A,B ábrák). Ezek azok a területek, ahol GFAP-immunreaktivitás alig fordult elő, de a vimentin-nesztin-immunreaktivitás nagyon intenzív volt (29A,B ábrákat vö. 28A-C ábrákkal). A ‘lateral periventricular’ alegység laterális részén és a ‘dorsal cap’ területén az agyszövetre jellemző akvaporin-4-immunreaktivást tapasztaltunk (29A,B ábrák). Az a tendencia volt megfigyelhető, hogy az utóbbi területeken található kisebb erek zömében laminin-immunnegatívak voltak, míg az akvaporin-4 szegény területeken lévők laminin-immunreaktívak (29B-D ábrák, vö. 23D ábrával).

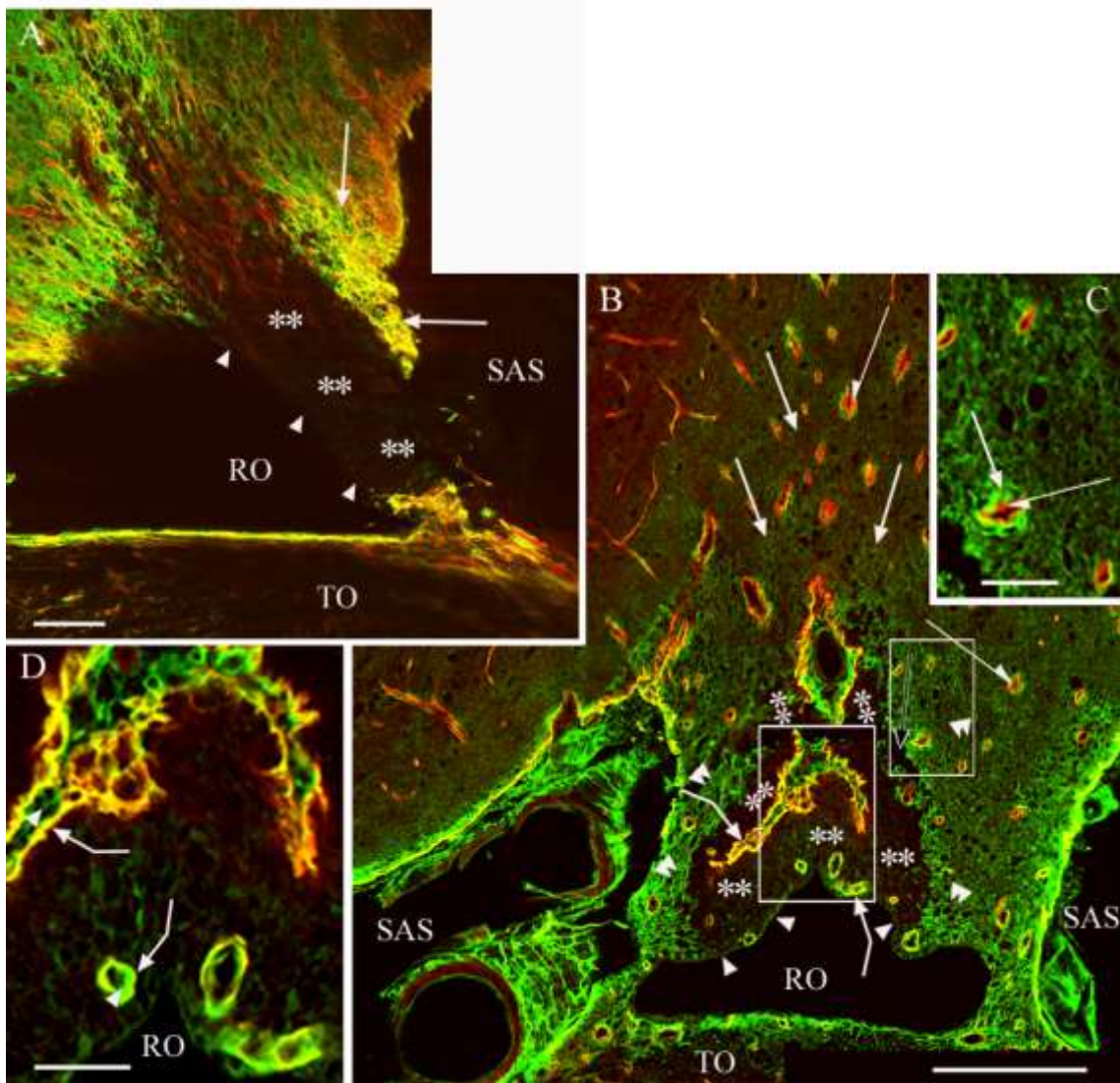
4.3.5. S100 és glutamin-szintetáz

Az OVLT-ben is megfigyeltünk S100-immunpozitív sejteket (nem mutatjuk) alakjuk itt jobban hasonlított az agyállományban más területeken S100 immunfestésével kimutatott asztrocitákra. Legsűrűbben azon a területen helyezkedtek el, ahol az erek laminin-immunpozitívak és a vimentin a domináns intermedier filamentum-fehérje. Az endimában vimentinnel kolokalizáltan fordul elő. A glutamin-szintetáz az OVLT-ben is kevés sejtben volt megtalálható (nem mutatjuk).



28. ábra Nesztin eloszlása GFAP-jével vagy vimentinével összehasonlítva az OVLT területén. RO: recessus opticus; TO: tractus opticus. A,B) Nesztin-GFAP kettős immunhisztokémiai reakció, frontális metszet. A) Nesztin (vörös) csak elvétve mutatott kolokalizációt GFAP-val (zöld). A 'lateral periventricular' alegységben, a 'gödör' (csillagok) falát körülvevő mediális részen csak nesztin-immunreaktív nyúlványokat látunk (fekete nyílhegyek). Ettől laterálisan (nyílhegyek), illetve a 'dorsal cap'-ben (nyilak) GFAP-immupozitív nyúlványok is vannak, de ritka a kolokalizáció. Fél nyilak – nesztin-immunreaktív nyúlványok a 'posterior periventricular' alegységben, itt GFAP-immunreaktivitást elvétve látunk. Skála: 200 μ m. B) Az előző panel bekeretezett része kinagyítva. A 'lateral periventricular' alegység. A 'gödör' (csillag) falát csak nesztin-immunreaktív nyúlványok (nyílhegyek) veszik körül, laterálisabban GFAP-immunreaktív (fél nyilak) és nesztin-immunreaktív nyúlványok (fekete nyílhegyek), de a kolokalizáció közöttük ritka (hajlított nyíl). Skála: 25 μ m. C) Vimentin-nesztin kettős immunhisztokémiai reakció, frontális metszet. Vimentin zöld, nesztin vörös. Erős kolokalizáció a 'gödör' (csillagok) körül, a 'dorsal capben' (nyilak), a 'lateral'- (nyílhegyek) és 'posterior periventricular' alegységben (hajlított nyíl). Fél nyilak – néhány csak vimentin-immunreaktív nyúlvány. Skála: 200 μ m.

29. ábra Az akvaporin-4-immunreaktivitás eloszlása az OVLT területén. RO: recessus opticus; SAS: szubarachnoidális tér; TO: tractus opticus. A) Akvaporin-4 (zöld) és GFAP (vörös) elleni kettős immunhisztokémiai reakció, szagittális metszet. A 'dorsal cap' területe (nyilak) akvaporin-4- és GFAP-immunreaktív, a kolokalizáció (sárga) gyakori. A 'gödör' és a 'posterior periventricular' alegység akvaporin-4- és GFAP-immunnegatív (kettős csillagok). Nyílhegyek: az endimális felszín határa. Skála: 100 μ m. B) Akvaporin-4-laminin- β -disztroglikán hármas jelzés. Frontális metszet. Laminin és akvaporin-4 zöld, β -disztroglikán vörös. Szakadás (fekete nyíl) a 'gödört' két részre osztja. A 'gödör' és körülötte a 'posterior-' és 'lateral periventricular' alegység, háromszög alakú területen (kettős csillagok), mentes az akvaporin-4-immunreaktivástól. Vö. 28A ábrával: hasonló terület mutat nesztin-immunreaktivitást és GFAP-immunnegativitást! Nyílhegyek: akvaporin-4-immunnegatív endidima. A 'dorsal cap' (nyilak) és a 'lateral periventricular' alegység nagyobb része (kettős nyílhegyek) akvaporin-4-immunreaktív. Az akvaporin-4 gazdag területen általában nincs laminin, csak akvaporin-4 az erek körül, itt a β -disztroglikán a legbelső réteg (fél nyilak). Az akvaporin-4 szegény területen β -disztroglikán-immunreaktivitása kolokalizált lamininével (sárga, hajlított nyilak). Vö. 23D ábrával. Skála: 100 μ m. C,D) Erek. Az előző panel bekeretezett részei kinagyítva. C) Akvaporin-4 gazdag terület: β -disztroglikán a legbelső réteg (fél nyilak), kívül akvaporin-4 (nyilak). Skála: 20 μ m. D) Az akvaporin-4 szegény terület: laminin a legbelső réteg (nyílhegyek), kívül β -disztroglikán kolokalizál lamininével (sárga, hajlított nyilak). Skála: 20 μ m.



4.4. Eminentia mediana

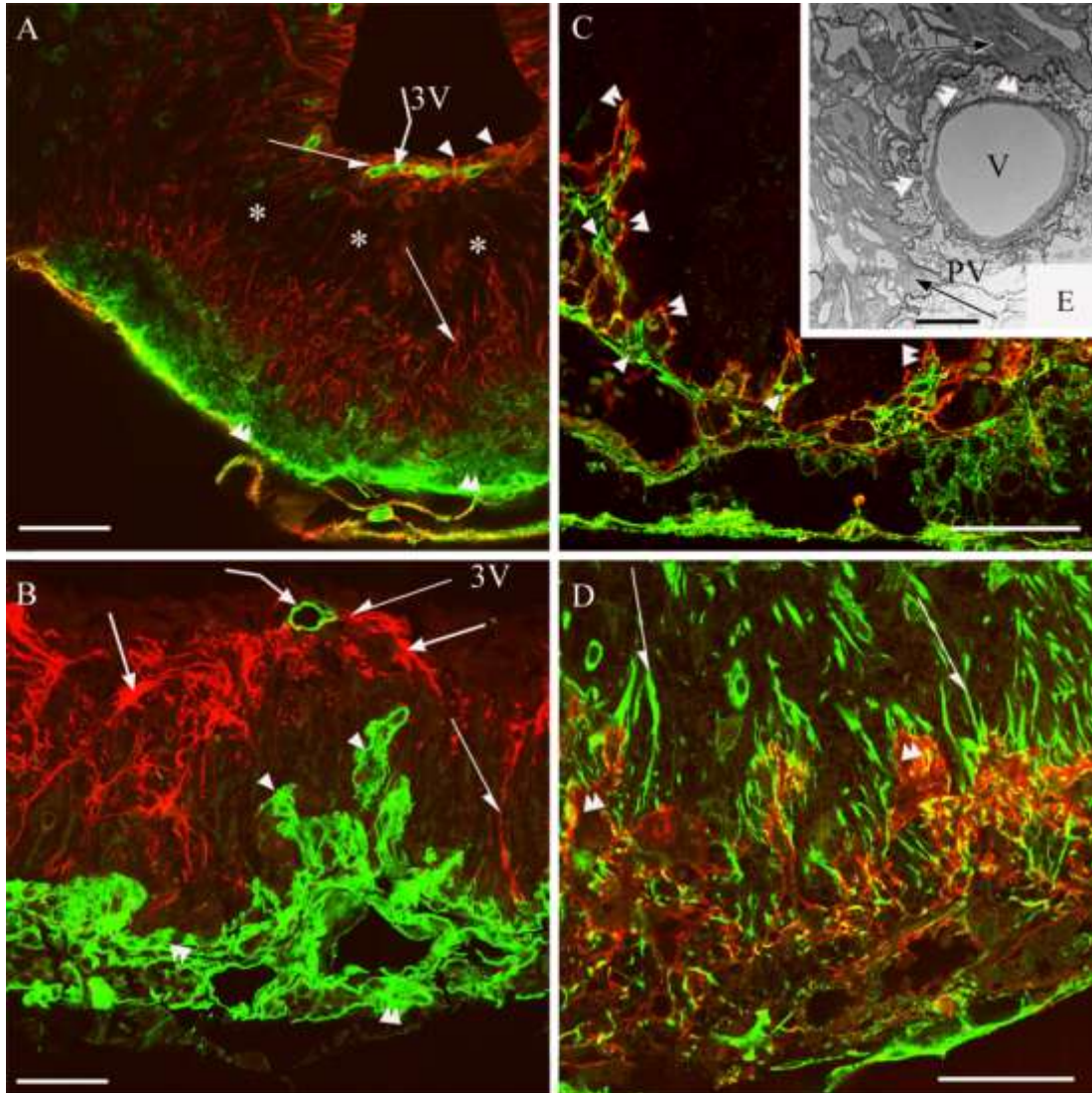
4.4.1. Az érrendszer a laminin és a β -disztroglikán immunhisztokémiai kimutatása alapján

A laminin immunfestésével a szerv bazális, az adenohipofízis pars tuberalisával szomszédos részén egy vastag, laza, szinte többszörös laminin-immunreaktív réteg mutatkozott (30A,B ábrák) amely több helyen is 'kesztyűujjszerűen' betüremkedett a szervbe (30B ábra), belsejében erre utaló, lamina basalissal körülvett hurkokkal (30C ábra). A betüremkedéseket a pars tuberalis felől benyomuló erek hozzák létre. A laminin-immunreaktív réteghez az agyállomány felől β -disztroglikán-immunreaktív réteg társult (30C ábra). Szubependimálisan egy másik ér-réteg helyezkedett el, amelyben általában, de nem minden esetben laminin-immunreaktivitás mutatkozott (30A,B ábrák)□. A két érrendszer között összeköttetéseket lehetett látni, de csak ritkán.

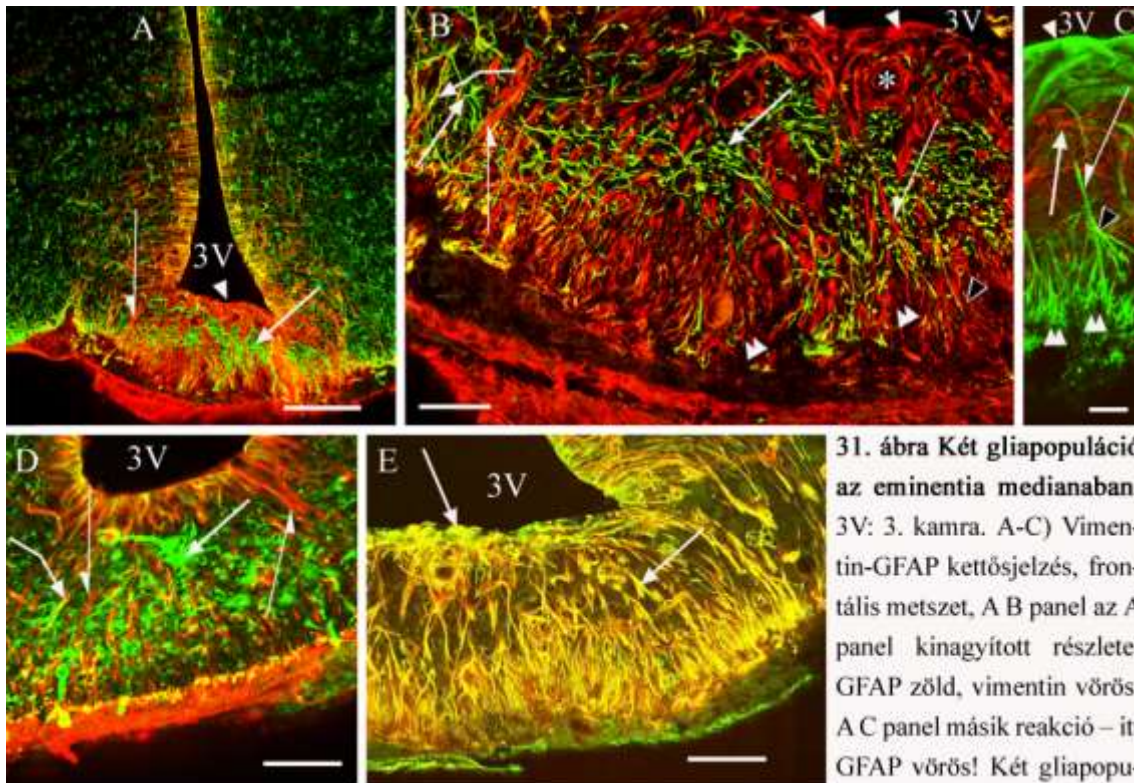
4.4.2. A gliarendszer vizsgálata: GFAP, vimentin és nesztin

Az említett markereket alkalmazva két gliarendszer különült el. A GFAP-immunreaktivitás egy középső sávban mutatkozott. Ettől csak kevés nyúlvány haladt a szubependimális erekhez a kamra felé, ill. a piális 'kesztyűujjakhoz' (30B ábra).

A másik rendszert vimentin-immunreaktív taniciták alkották, melyek viszont a kamrafal egész vastagságát átérték, sejttestjeik képezték a 3. kamra fenekének borítását, bazális nyúlványaik pedig elértek a piális 'kesztyűujjakhoz' (30A,D,E és 31A-C ábrák). Itt a nyúlványok seprűszerűen felrostozódó disztális része (31B,C ábrák) sűrű borítást képzett a behatoló erek külső lamina basalisa feletti β -disztroglikán-immunreaktív rétegen (30D ábra). A sejttestek és a seprűszerűen felrostozódó disztális nyúlványrészek által meghatározott zónák közötti sávban kevés áthatoló vimentin-immunreaktív nyúlványt láttunk (30A és 31A-C ábrák). Ez a terület a vimentin-GFAP kettős immunhisztokémiai reakció alapján megfelelt a GFAP-immunreaktív zónának (31A-C ábrák). Bár a vimentin-immunreaktív tanicitasejtek nyúlványainak proximális részét a GFAP-immunreaktív sejtek sűrű szövetként vették körül, kolokalizációra utaló sárga színt csak elvétve láttunk.



30. ábra Laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitás GFAP- vagy vimentin elleni immunhisztokémiai reakcióval összevetve az eminentia medianában. 3V: 3. kamra. A) Laminin-vimentin kettősjelzés, frontális metszet. Laminin zöld, vimentin vörös. Vimentin-immunreaktív tanicita sejtesetek (nyílhegyek) és bazális nyúlványok (fél nyilak). Csillagok – egy középső sávban kevesebb vimentin-immunreaktív nyúlvány van. Kettős nyílhegyek – laminin-immunreaktív ventrális zóna. Hajlított nyíl – laminin-immunreaktív szubependimális ér. Skála: 100 μ m. B) Laminin-GFAP kettősjelzés, frontális metszet. Laminin zöld, GFAP vörös. GFAP-immunreaktív sejtek (nyilak) egy 'középső sávban', egy-egy érkontakt nyúlvány (fél nyilak). A szubependimális és ventrális zónák nagyrészt GFAP-immunnegatívak. Nyílhegyek: portális erek laminin-immunreaktív, kesztyűujjszerű betüremkedései. Hajlított nyíl: laminin-immunreaktív szubependimális ér. Kettős nyílhegyek: laminin-immunreaktivitás az adenohipofízis pars tuberálisának sejtészkeiben. Skála: 50 μ m. C) Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés, frontális metszet. Laminin zöld, β -disztroglikán vörös. A portális erek betüremkedéseinek piális felszíne laminin- és β -disztroglikán-immunreaktív (kettős nyílhegyek), az erek 'belső fala' laminin-immunreaktív (nyílhegyek). Skála: 50 μ m. D) β -disztroglikán-vimentin kettősjelzés, frontális metszet. Vimentin zöld, β -disztroglikán vörös. Vimentin-immunreaktív tanicitanúlványok (fél nyilak) borítják a betüremkedések β -disztroglikán-immunreaktív piális felszínét (kettős nyílhegyek). Skála: 50 μ m. E) Elektronmikroszkópos felvétel. A tanicitanúlványok finom rostjai (fekete nyilak) sűrűn borítják az erek (V) körüli külső lamina basalist (kettős nyílhegyek). PV – széles perivaszkuláris tér. Skála: 3 μ m.



31. ábra Két gliapopuláció az eminentia medianában. 3V: 3. kamra. A-C) Vimentin-GFAP kettősjelzés, frontális metszet, A B panel az A panel kinagyított részlete, GFAP zöld, vimentin vörös. A C panel másik reakció – itt GFAP vörös! Két gliapopuláció: GFAP-immunreaktív sejtek a 'középső sávban' (nyilak) és vimentin-immunreaktív tanciták (nyílhegyek) melyek bazális nyúlványai (fél nyilak) a 'középső sávon' haladnak át. A kolokalizáció ritka (hajlított nyíl). A perivaszkuláris borítást főleg vimentin-immunreaktív nyúlványok képezik a bazális betüremkedések piális felszínén (kettős nyílhegyek) és a szubependimális erek körül (csillag). Fekete nyilak – seprűszerűen felrostozódó tancitanyúlványok Skálák: A 200 μ m, B 50 μ m, C 20 μ m. D) GFAP-nesztin kettősjelzés, frontális metszet, GFAP zöld, nesztin vörös. Két gliapopuláció: GFAP-immunreaktív sejtek a 'középső sávban' (nyíl) és a 'középső sávon' áthaladó nesztin-immunreaktív tancitanyúlványok (fél nyilak). A kolokalizáció ritka (hajlított nyíl). Skála: 100 μ m. E) Vimentin-nesztin kettősjelzés, frontális metszet, vimentin zöld, nesztin vörös. Vimentin és nesztin teljes kolokalizációt mutat a tancitasejtjeiben (nyilak). Skála: 100 μ m.

láció: GFAP-immunreaktív sejtek a 'középső sávban' (nyilak) és vimentin-immunreaktív tanciták (nyílhegyek) melyek bazális nyúlványai (fél nyilak) a 'középső sávon' haladnak át. A kolokalizáció ritka (hajlított nyíl). A perivaszkuláris borítást főleg vimentin-immunreaktív nyúlványok képezik a bazális betüremkedések piális felszínén (kettős nyílhegyek) és a szubependimális erek körül (csillag). Fekete nyilak – seprűszerűen felrostozódó tancitanyúlványok Skálák: A 200 μ m, B 50 μ m, C 20 μ m. D) GFAP-nesztin kettősjelzés, frontális metszet, GFAP zöld, nesztin vörös. Két gliapopuláció: GFAP-immunreaktív sejtek a 'középső sávban' (nyíl) és a 'középső sávon' áthaladó nesztin-immunreaktív tancitanyúlványok (fél nyilak). A kolokalizáció ritka (hajlított nyíl). Skála: 100 μ m. E) Vimentin-nesztin kettősjelzés, frontális metszet, vimentin zöld, nesztin vörös. Vimentin és nesztin teljes kolokalizációt mutat a tancitasejtjeiben (nyilak). Skála: 100 μ m.

Nesztin-GFAP kettősjelzéssel szintén két elkülönülő gliapopulációt találtunk. A tanciták sejttestjei és basális nyúlványai nesztin-immunreaktivitást mutattak, a GFAP-val való kolokalizáció nem volt jellemző (31D ábra). Viszont vimentin és nesztin teljes kolokalizációt mutatott az eminentia mediana tancitasejtjeiben (31E ábra).

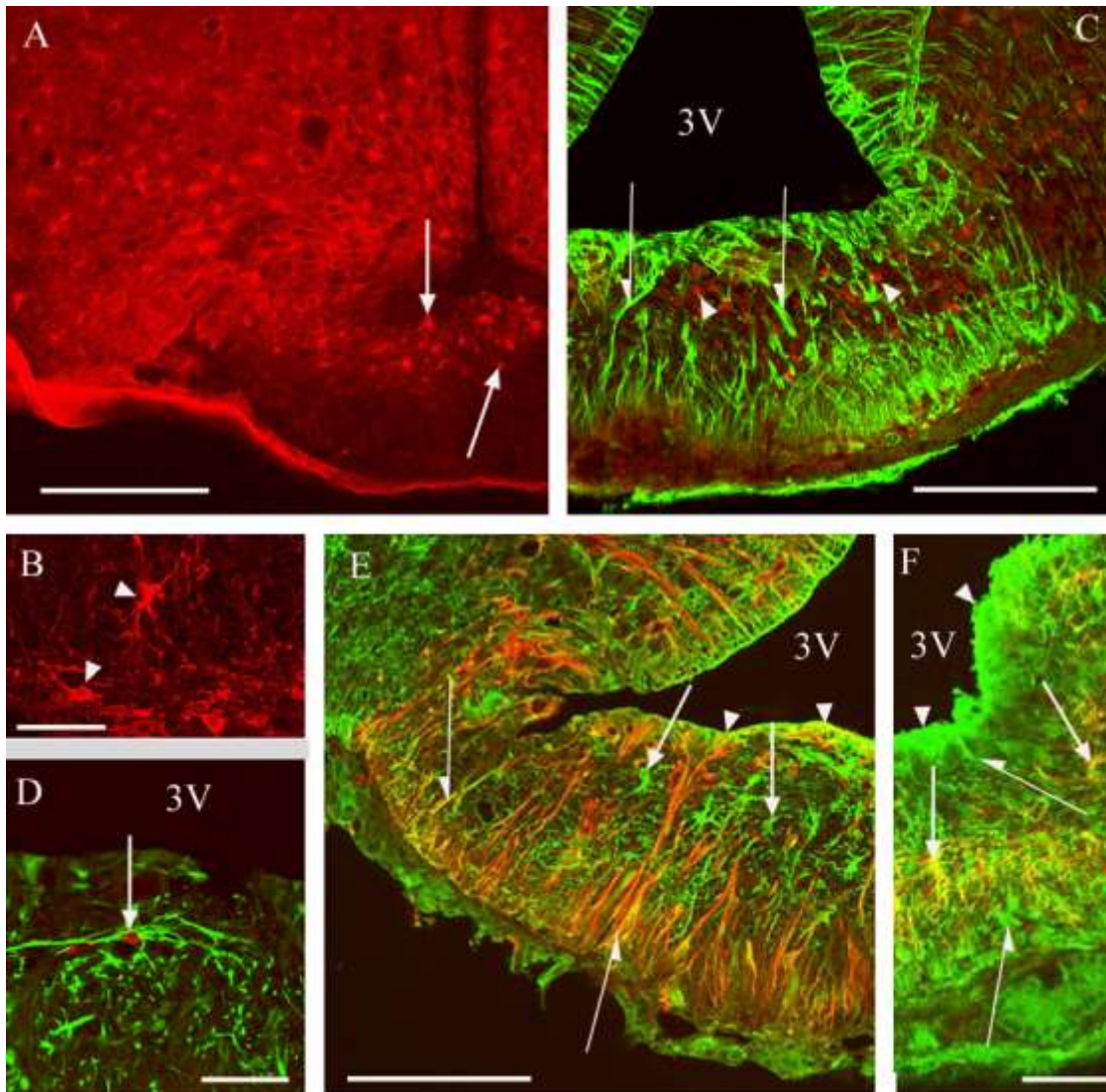
4.4.3. Glutamin-szintetáz és S100

Glutamin-szintetáz elleni immunhisztokémiai reakció főleg kerek sejttesteket jelölt, egy laza vékony rétegben, a GFAP-ban gazdag területen (32A ábra). Ugyanakkor néhány sejt esetében csillag alakú nyúlványrendszer is jelölődött (32B ábra). A vimentin-immunreaktív taniciták bazális nyúlványai keresztezték a glutamin-szintetáz-immunreaktív sejteket tartalmazó réteget, de kolokalizációt nem láttunk (32C ábra). GFAP elleni immunhisztokémiai reakció után látható volt, hogy glutamin-szintetáz-immunreaktív sejttestekhez GFAP-immunreaktív nyúlványok tartoztak (32D ábra).

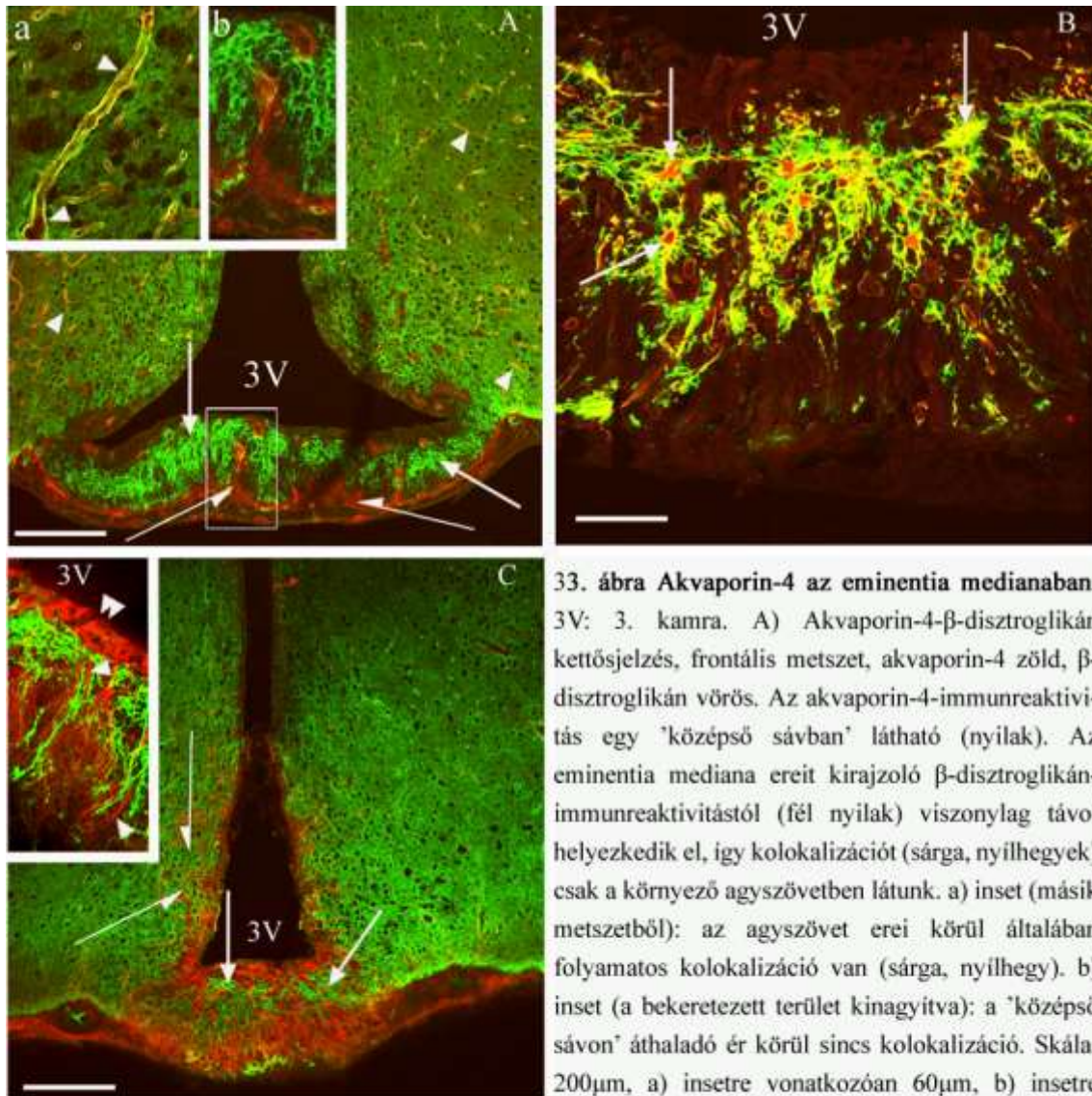
S100 immunreaktivitása főleg asztrocitaszerű sejteket jelölt, az eminentia mediana 'középső sávjában', de a 3. kamrát bélelő ependimasejtek sejttestjei és időnként a nyúlványai is S100-immunreaktívnek bizonyultak. Utóbbi helyeken vimentin-S100 kolokalizációt tapasztaltunk (32E ábra). GFAP-S100 kettősjelzést követően a két gliamarker kolokalizációját figyeltünk meg a 'középső sáv' területén, de GFAP-immunnegatív, S100-immunreaktív elemek is jelen voltak (32F ábra).

4.4.4. Akvaporin-4

Az akvaporin-4 immunpozitivitása hasonló eloszlást mutatott mint a GFAP-é. Ennek megfelelően az akvaporin-4-immunreaktív sejtek az ereket tartalmazó piális betüremkedésektől, amelyeket β -disztroglikán-immunreaktivitás rajzolt ki viszonylag távol helyezkedtek el (33A ábra). Az akvaporin-4-immunreaktív területen áthaladó kevés erek többnyire immunnegatív zóna vette körül (33A ábra). Ezzel szemben az agyi erekre általában (így a 3. kamra kétoldalán is) az volt jellemző, hogy a faluk mentén β -disztroglikán és akvaporin-4 immunreaktivitása kolokalizáltan fordult elő, amit sárga szín jelölt (33A ábra). Kettősjelzésekkel látható volt, hogy az akvaporin-4-immunreaktivitást a GFAP-immunreaktív sejtek nyúlványai mutatták (33B ábra), míg a vimentin-immunreaktív taniciták akvaporin-4-immunnegatívok voltak (33C ábra).



32. ábra Egyéb gliamarkerek az eminentia medianában. 3V: 3. kamra. A,B) Glutamin-szintetáz frontális metszet. Glutamin-szintetáz-immunreaktív kerekded sejttestek egy középső sávban (A panel nyilak) helyezkednek el. Némely sejttest csillag alakú (B panel, nyílhegyek). Skálák: 200 μ m, 50 μ m sorrendben. C) Glutamin-szintetáz – vimentin kettősjelzés, frontális metszet, Glutamin-szintetáz vörös, vimentin zöld. A taniciták vimentin-immunreaktív bazális nyúlványai (fél nyilak) között helyezkednek el glutamin-szintetáz-immunreaktív sejtek (vörös, nyílhegyek). Kolokalizáció nincs. Skála: 200 μ m. D) Glutamin-szintetáz – GFAP kettősjelzés, frontális metszet, Glutamin-szintetáz vörös, GFAP zöld. Glutamin-szintetáz-immunreaktív sejttesthez GFAP-immunreaktív nyúlványok tartoznak a 'középső sávban' (nyíl). Skála: 50 μ m. E) S100-vimentin kettősjelzés, frontális metszet. S100 zöld, vimentin vörös. Csak S100-immunreaktivitás a középső sávban (nyilak). S100-vimentin kolokalizáció a tanicita sejttestekben (sárga, nyílhegyek) és egyes nyúlványokban (sárga, fél nyilak). Skála: 200 μ m. F) S100-GFAP kettősjelzés, frontális metszet. S100 zöld, GFAP vörös. S100-GFAP kettős immunreaktivitás a középső sávban (sárga, nyilak). Csak S100-immunreaktivitás a tanicita sejttestekben (nyílhegyek) és nyúlványokban (fél nyilak). Skála: 100 μ m.



33. ábra Akvaporin-4 az eminentia medianában. 3V: 3. kamra. A) Akvaporin-4- β -disztroglikán kettősjelzés, frontális metszet, akvaporin-4 zöld, β -disztroglikán vörös. Az akvaporin-4-immunreaktivitás egy 'középső sávban' látható (nyilak). Az eminentia mediana ereit kirajzoló β -disztroglikán-immunreaktivástól (fél nyilak) viszonylag távol helyezkedik el, így kolokalizációt (sárga, nyílhegyek) csak a környező agyszövetben látunk. a) inset (másik metszetből): az agyszövet erei körül általában folyamatos kolokalizáció van (sárga, nyílhegy). b) inset (a bekeretezett terület kinagyítva): a 'középső sávban' áthaladó ér körül sincs kolokalizáció. Skála: 200 μ m, a) insetre vonatkozóan 60 μ m, b) insetre vonatkozóan 100 μ m. B) Akvaporin-4-GFAP kettősjelzés, frontális metszet, akvaporin-4 zöld, GFAP vörös. GFAP és akvaporin-4 kiterjedt kolokalizációt mutat a 'középső sávban' (sárga, nyilak). Skála: 50 μ m. C) Akvaporin-4-vimentin kettősjelzés, frontális metszet, akvaporin-4 zöld, vimentin vörös. Vimentin és akvaporin-4 nem mutat kolokalizációt a 'középső sávban' (nyilak). Inset: a taniciták sejttestjei (kettős nyílhegy) és bazális nyúlványai (nyílhegyek) akvaporin-4-immunnegatívak. Skála: 200 μ m, az insetre vonatkozóan 100 μ m.

4.5. Neurohipofízis

4.5.1. β -disztroglikán és utrofin a lamina basalis ellenkező oldalán helyezkednek el

A laminin elleni immunhisztokémiai reakció (34A,B ábrák) kirajzolta a szerv meningeális felszínét és egy 'szeptumokból' álló labirintust, melynek 'falai' kétrétegűek (34B ábra) voltak. A 'szeptumok' a meningeális felszín betüremkedéseinek bizonyultak, belső felszínüket ezért vaszkuláris vagy meningeális felszínnek tekintettük. A β -disztroglikán a kettős kontúrú, laminin-immunreaktív 'szeptumok' külső, parenchimális (tehát a neurohipofizeális szövet felé eső) oldala mentén volt megfigyelhető (34C ábra), de nem a két laminin-immunreaktív réteg között.

Az utrofin immunhisztokémiai reakciója viszont abban a két laminin-immunreaktív réteg közötti vékony részben jelölt lumeneket, amely tkp. a neurohipofízisen kívüli térséghez tartozott (34D ábra), az erek tehát a válaszfalakban hatoltak be a neurohipofízisbe. Az α 1-disztrobrevin kimutatására alkalmazott immunhisztokémiai reakcióval nem rajzolódtak ki erek (nem mutatjuk).

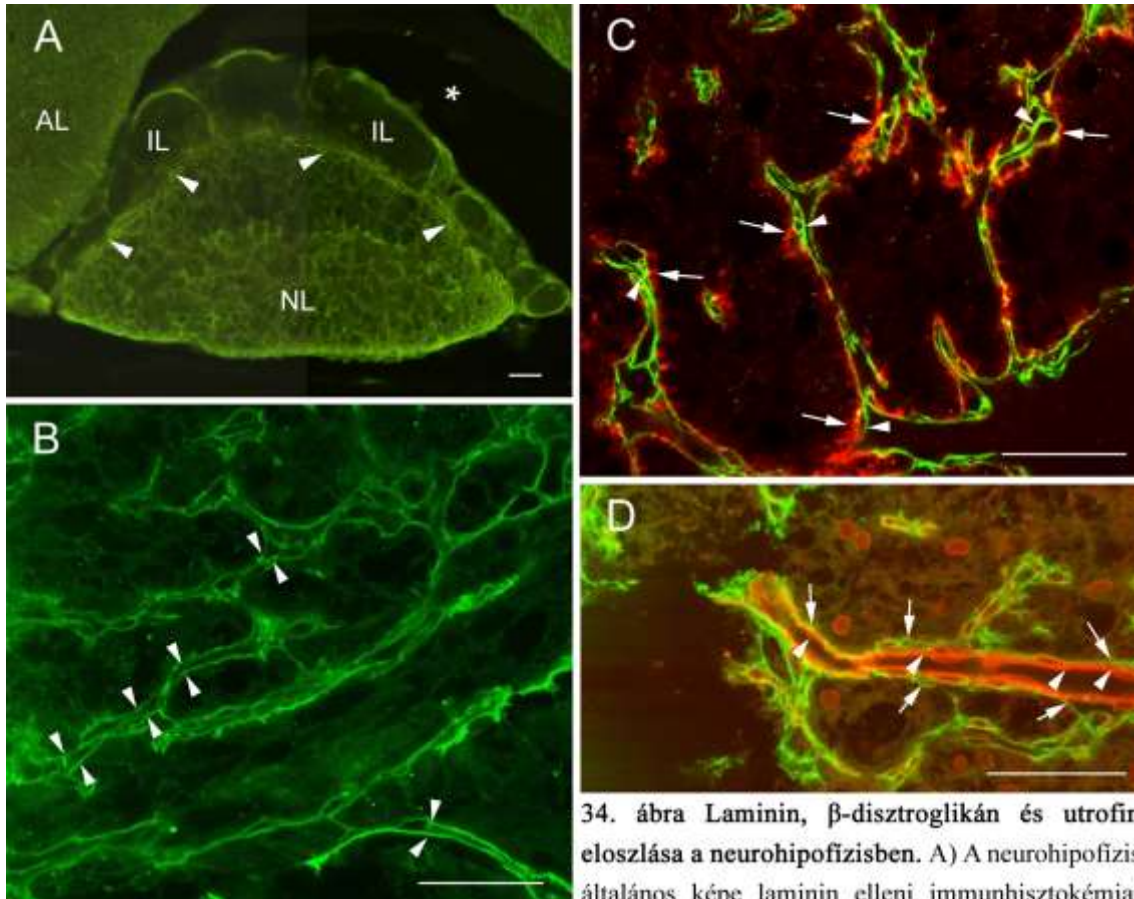
4.5.2. Gliasejtek a neurohipofízisben

Gliamarkerek elleni immunhisztokémiai reakciók alkalmazása után a neurohipofízisben a sejtek többsége glutamin-szintetáz- ill. S100-immunreaktívnek bizonyult. A két asztrogliamarker látszólag különböző alakú sejteket jelölt (35A,B ábrák; sorrendben), és nem mutatott teljes kolokalizációt (nem mutatjuk). Ahogy később bemutatjuk, GFAP-immunpozitív sejtek viszonylag ritkán és főleg a szerv perifériáján fordultak elő. A β -disztroglikán az S100-immunpozitív sejtcsoportok felszínén lévő réteggént jelent meg (35B ábra).

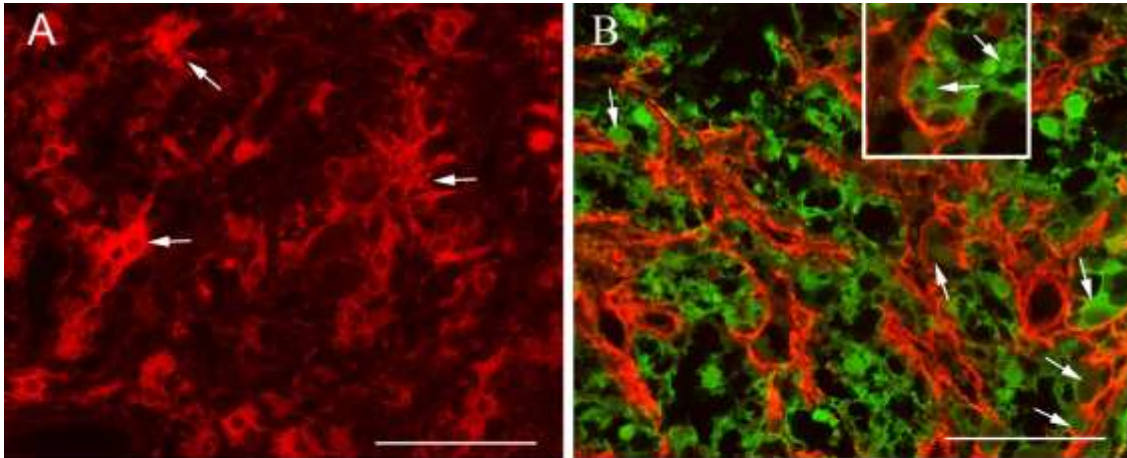
4.5.3. Akvaporin-4 eloszlása GFAP-éhoz viszonyítva

A neurohipofízisben az akvaporin-4-immunreaktivitás a széli részeken helyezkedett el, egyenetlen vastagságban. Míg a szabad meningeális felszínnek megfelelően csak egy vékony szegély ábrázolódott akvaporin-4-immunreaktív sejtekből, addig egy vastag zóna bizonyult immunreaktívnek ott, ahol a neurohipofízis

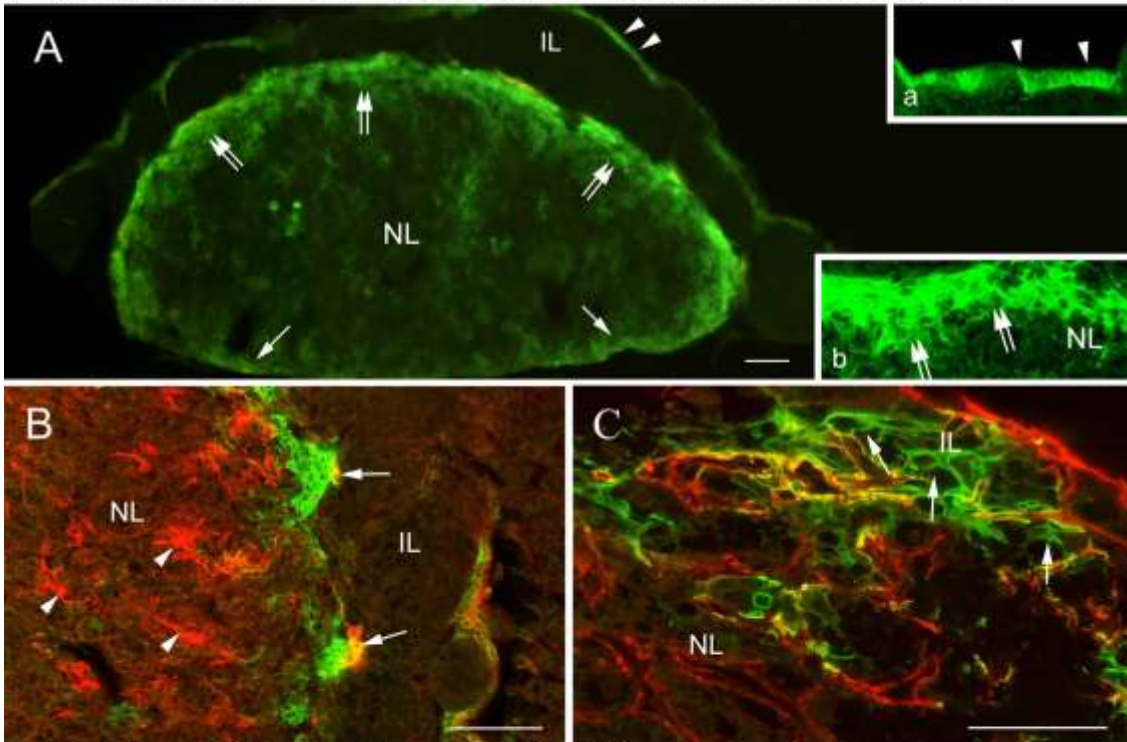
az intermedier lebenyhez kapcsolódott (36A ábra). Kettősjelzés alkalmazásával akvaporin-4 csak részben volt megtalálható a GFAP-immunpozitív asztrocitákban (36B ábra). Akvaporin-4 és β -disztroglikán között szintén csak részleges kolokalizáció volt látható (36C ábra).



34. ábra Laminin, β -disztroglikán és utrofin eloszlása a neurohipofízisben. A) A neurohipofízis általános képe laminin elleni immunhisztokémiai reakciót követően. A nyílhegyek mutatják a határzónát a neurohipofízis és az intermedier lebeny között. Az adenohipofízis egy részlete szintén látszik. Csillag jelöli a Rathke-tasakból megmaradt hasadékot. AL: adenohipofízis. IL: intermedier lebeny. NL: neurohipofízis. Skála: 100 μ m. B) Laminin elleni immunhisztokémiai reakció. Ezzel a nagyítással 'szeptumok' (nyílhegyek) kettőzött kontúrja látható a neurohipofízisben. Skála: 50 μ m. C) Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés: a β -disztroglikán (nyilak, vörös) az előző panelen bemutatotthoz hasonló lamina basalisok (nyílhegyek, zöld, laminin elleni immunhisztokémiai reakció) külső, 'parenchimális' oldalán helyezkedik el, tehát a neurohipofízeális sejtek és axonok oldalán. Skála: 50 μ m. D) Laminin-utrofin kettősjelzés. Az utrofin elleni immunhisztokémiai reakció (vörös) ereket jelöl (nyílhegyek) a laminin-immunreaktív 'szeptumokon' belül (nyilak, zöld). Skála: 50 μ m.



35. ábra Glutamin-szintetáz és S100 eloszlása a neurohipofízisben. A) Glutamin-szintetáz elleni immunhisztokémiai reakció. Sok nyúlványos sejt (nyilak) jelölődik a neurohipofízisben. Skála: 50 μ m. B) S100 (zöld) és β -disztroglikán (vörös) kettősjelzés. Az S100-immunpozitív sejtek (nyilak) formájuk látszólag a β -disztroglikán réteget, alakjuk különbözik az előző panelen látott glutamin-szintetáz-immunreaktív sejtektől. Inset: kinagyított részlet. Skála: 50 μ m, az insetre vonatkozóan 25 μ m.



36. ábra Akvaporin-4 és gliaszerkezet a neurohipofízisben.

IL: intermedier lebeny; NL: neurohipofízis. A) Akvaporin-4 eloszlása. Figyeljük meg a keskeny jelölődést a neurohipofízis hátsó felszínén (nyilak), míg egy vastag zóna (kettős nyilak) jelölődik az intermedier lebeny mellett. A Rathke-tasak köbhámrrétege (nyílhegyek) szintén látható (inset a). Inset b: kinagyított részlet az intermedier lebeny mögötti területről (kettős nyilak). Skála: 100 μ m, az insetekre vonatkozóan: 25 μ m. B) A neurohipofízis intermedier lebeny melletti része. Kettősjelzés: GFAP (vörös) és akvaporin-4 (zöld). Figyeljük meg az asztrocitákat (nyílhegyek) és a korlátozott kolokalizációt (nyilak, sárga). Skála: 100 μ m. C) Neurohipofízis, határzóna az intermedier lebeny felé. β -disztroglikán (vörös) és akvaporin-4 (zöld) kettősjelzés. Itt asztrocitaszerű, akvaporin-4-immunreaktív elemek (nyilak) láthatók, a kolokalizáció (sárga szín) csak részleges. Skála: 50 μ m.

4.6. Tobozmirigy

4.6.1. Laminin és β -disztroglikán eloszlása a tobozmirigyben

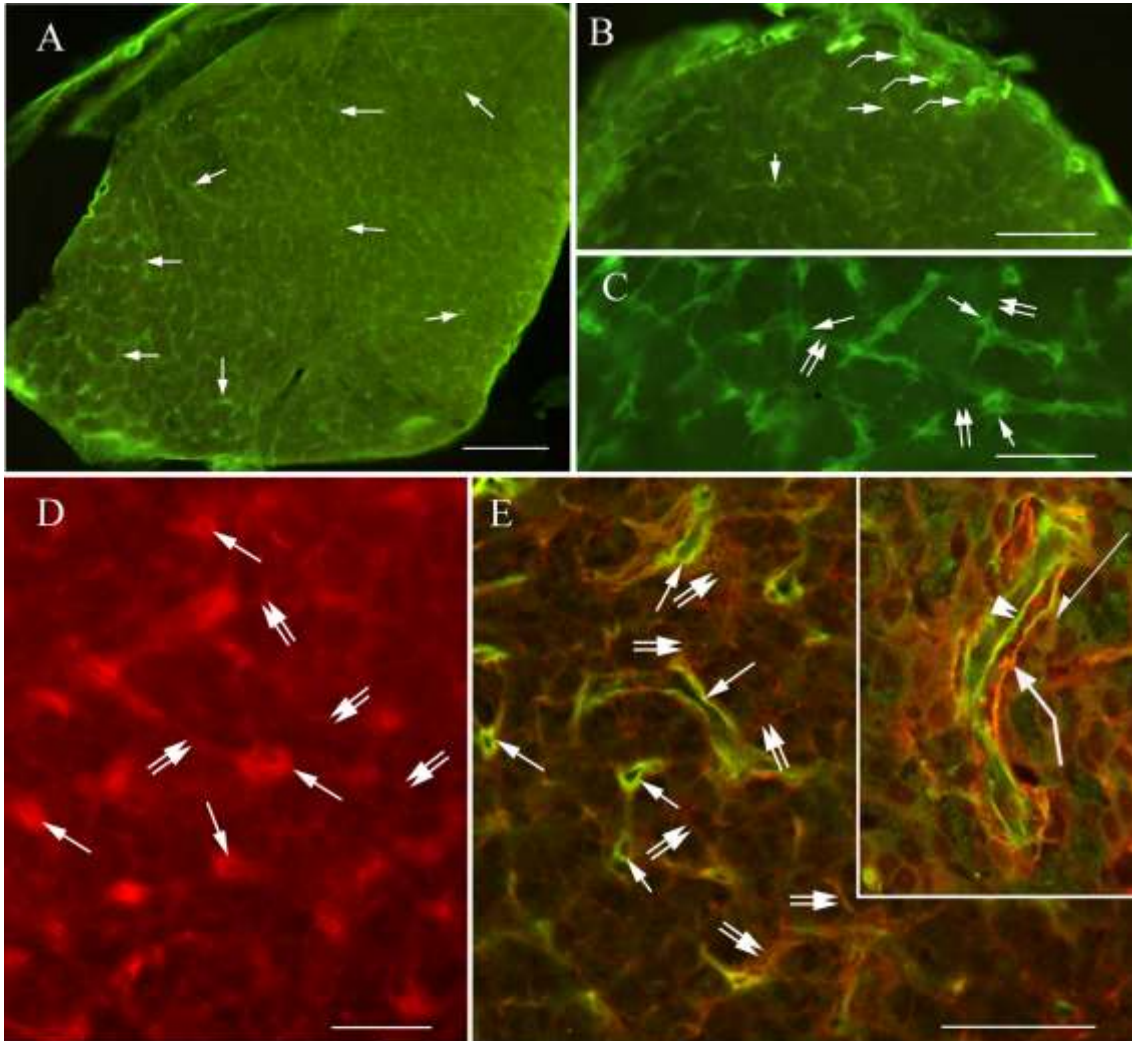
A tobozmirigy erei laminin-immunreaktívak voltak a szerv egész területén (37A,B ábrák). Nagyobb nagyítással az érlumenek is felismerhetők voltak (37C ábra). A 'háttérfestésben' nagyobb nagyítással ábrázolódott egy finom hálózat is, melyben az ereket szárnyyszerű képletek kötötték össze. A β -disztroglikán immunreaktivitása szintén kijelölte az ereket ill. a lamininéhez hasonló 'háttér' hálózatot (37D ábra).

Ha a laminint együtt jelöltük a β -disztroglikánnal (37E ábra) nagy nagyítással két, laminin tartalmú réteget különböztettünk meg az erek körül, mint két különálló lamina basalist. Más szerveken tett megfigyelések alapján a belső réteg egy vaszkuláris lamina basalis az endotél alatt, míg a külsőt a tobozmirigy parenchimájához tartozónak gondoljuk (ld. 5.7. fejezet).

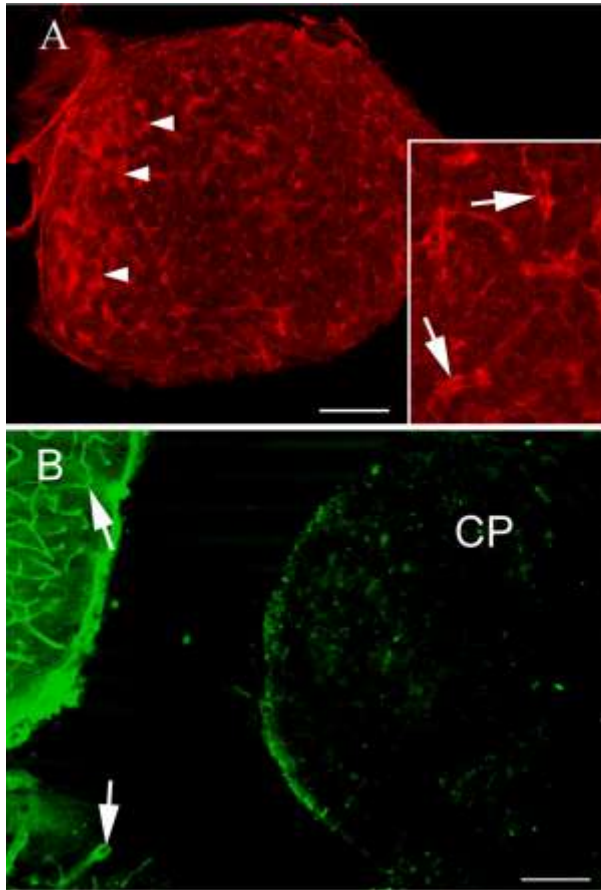
Sejtkontúrok néha megjelentek az erek körüli hálózatban, még ha csak egyszeres jelölést alkalmaztunk is. Kettősjelzésekkel a sejtek és a lamina basalis viszonya jobban tanulmányozható volt: a sejtek gyengén jelölődtek és néhányuk a külső lamina basalishoz kapcsolódott (37E ábra inset).

4.6.2. Utrofín-immunreaktív, de α 1-disztrobrevin-immunnegatív erek

Az ereknek egy része utrofín-immunreaktivitást mutatott, főleg a nyél körül található (38A ábra). Az utrofín, ahogy a laminin és a β -disztroglikán részt vett a 'hálózatok' felépítésében (38A ábra). Nem találtunk viszont α 1-disztrobrevin-immunpozitivitást, bár a szomszédos agyterületen az ereket – mint az agyban általában – kirajzolta (38B ábra).



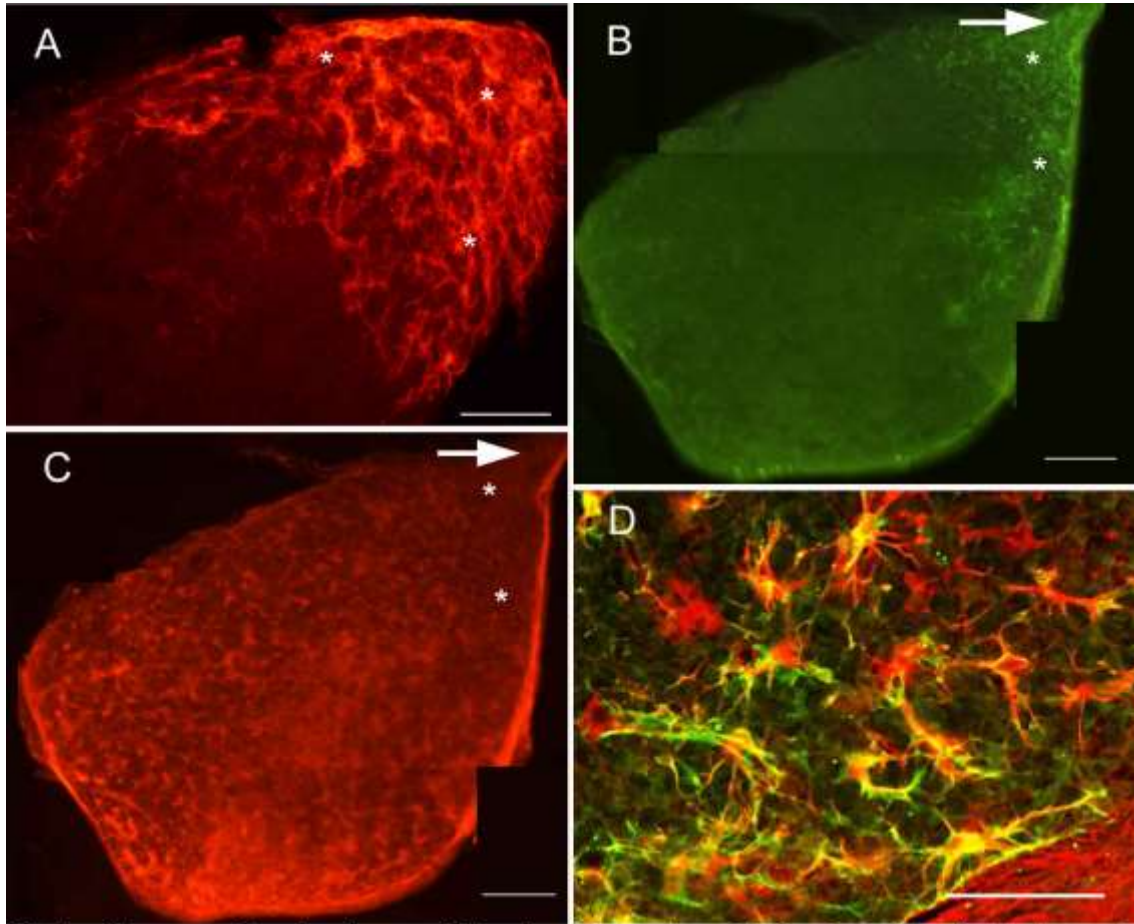
37. ábra Laminin és β -disztroglikán elleni immunhisztokémiai reakcióval jelölődő erek a tobozmirigyben. A-C) Laminin elleni immunhisztokémiai reakció. A,B) Az erek (nyilak) az egész szerv területén jelölődtek, bár kevésbé élénken, mint a belépési szakaszukon (hajlított nyilak). C) Nagyobb nagyítással az érlumenek is látszanak (nyilak). Figyeljük meg a finom hálózatot, mely összeköti az ereket (kettős nyilak)! Skálák: A 250 μ m, B 200 μ m, C 100 μ m. D) β -disztroglikán elleni immunhisztokémiai reakcióval is kirajzolódnak az erek (nyilak). A kettős nyilak finom, rostszerű képletekre mutatnak, amik hálózatot formálnak az erek között. Skála: 100 μ m. E) Laminin (zöld) és β -disztroglikán (vörös) kettősjelzés. Az erek falában (nyilak) laminin van túlsúlyban, míg a köztük lévő hálózatot (kettős nyilak) főleg a β -disztroglikán-immunreaktivitás jellemzi. A sárga szín kolokalizációt jelez. Inset: nagyobb nagyítással látható, hogy az erek rendelkeznek egy laminin-immunreaktív, belső (kettős nyílhegy) és egy kettősjelzett (sárga), külső lamina basalisszal (hajlított nyíl). A háttérben nem csak egy hálózat, hanem sejtkontúrok is látszanak halványan, zöld vagy vörös színben. Az utóbbiak közül némelyik (félnyíl) kapcsolatban van a külső lamina basalisszal. Skála: 80 μ m, az insetre vonatkozóan 45 μ m.



38. ábra Utrofin és $\alpha 1$ -disztrobrevin eloszlása a tobozmirigyben. A) Az utrofin elleni immunhisztokémiai reakció során az erek leginkább a nyél felőli részen jelölődnek (nyílhegyek). Inset: nagyobb nagyítással érlumenek láthatók, figyeljük meg a környező hálózatot. Skála: 250 μ m, az insetre vonatkozóan 50 μ m. B) A1-disztrobrevin elleni immunhisztokémiai reakció csak az agyszövet ereit jelöli (nyilak), míg a tobozmirigy (CP) területén az erek –immunnegatívak. Skála: 130 μ m.

4.6.3. Gliamarkerek és akvaporin-4 eloszlása a tobozmirigyben

A parenchimális sejtek nagy része a tobozmirigyben S100-immunreaktív volt, de glutamin-szintetáz-immunreaktív sejtek is előfordultak, kolokalizációjuk viszont ritka volt (nem mutatjuk). Míg az S100 ill. a glutamin-szintetáz eloszlása többé-kevésbé egyenletes volt a szervben, az akvaporin-4 ill. a GFAP elleni immunhisztokémiai reakció felosztotta a szervet egy immunreaktív proximális részre és egy nagyobb, immunnegatív, disztális részre (39A,B ábrák, sorrendben), melyek között éles határ volt. GFAP-immunpozitív sejtek csak az akvaporin-4-immunreaktív területen fordultak elő. Érdeemes megemlíteni, hogy a neurofilament-immunreaktív sejtek a szerv disztális részén fordultak elő, mintegy kiegészítve a GFAP-immunpozitív asztrocitákat tartalmazó területet (39B,C ábrák). Az akvaporin-4-immunreaktív sejtek egy része GFAP-immunreaktivitást is mutatott (39D ábra).



39. ábra Bizonyos sejtmarkerek egyenlőtlen eloszlása a tobozmirigyben: két alegység. A) akvaporin-4 elleni immunhisztokémiai reakció: az immunreaktivitási mintázat sűrű asztrocita populációra utal. Figyeljük meg, hogy a jelölés a szerv proximális, nyél felőli részére korlátozódik (csillag) és egy éles határ mentén megszűnik. Skála: 250 μ m. B,C) Egy másik metszet: GFAP (B panel) és neurofilament protein (C panel) kettősjezés ugyanazon a metszeten. A felvételek külön készültek az egyes reakciókról. A GFAP-immunreaktivitás a nyél (vastag nyíl) melletti területre szorítkozott (csillag). A neurofilament-immunreaktív sejtek a szerv nagyobb, disztális részében található meg, a csillaggal jelölt, nyél (vastag nyíl) melletti terület szinte immunnegatív. Skálák: 250 μ m. D) Akvaporin-4-GFAP kettősjezés. Az asztrocitákban a GFAP immuneaktivitása (vörös), legalábbis részben kolokalizációt (sárga) mutat az akvaporin-4-ével (zöld). Skála: 100 μ m.

4.7. Extracelluláris mátrix

4.7.1. Eminentia mediana

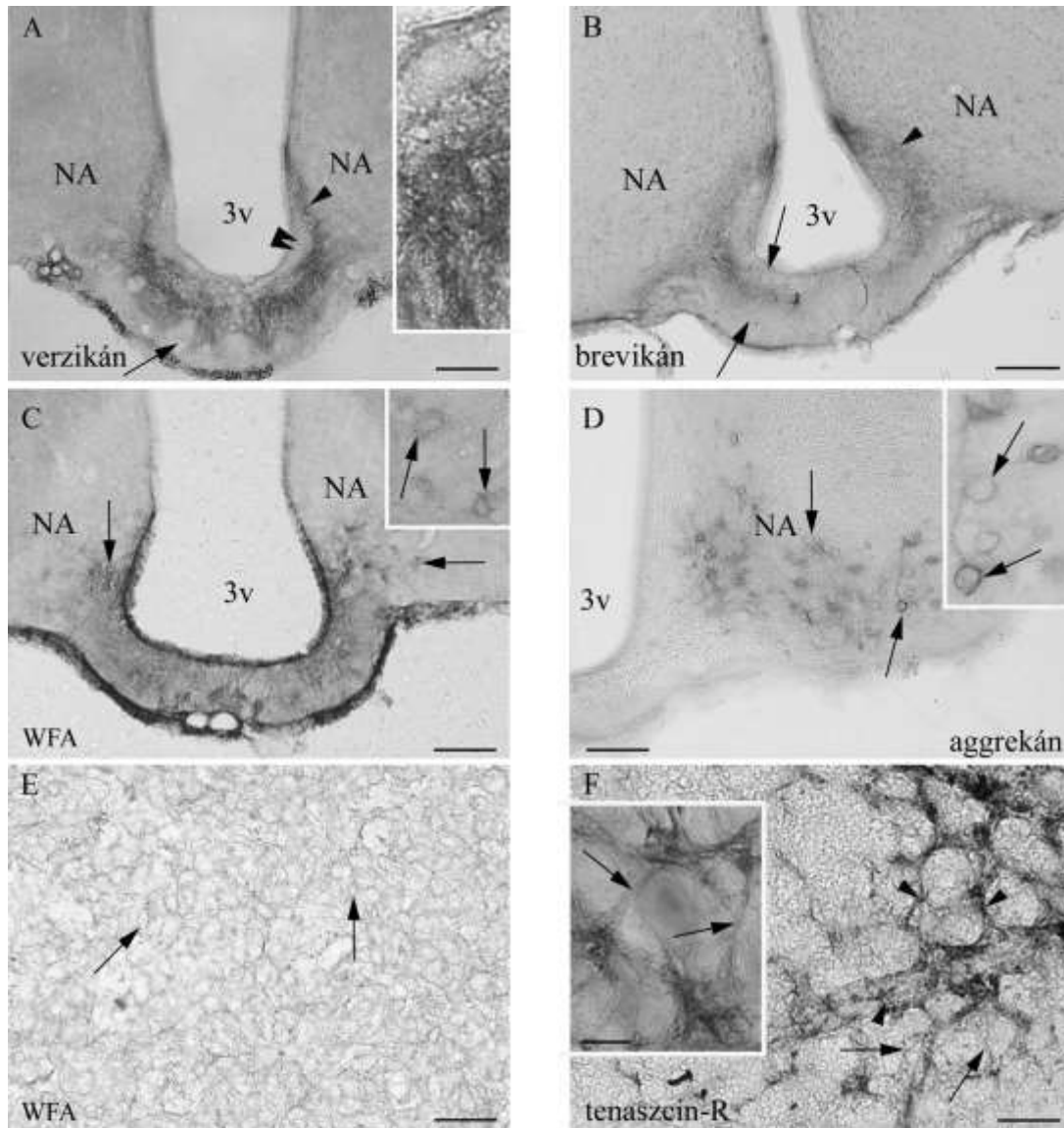
Az eminentia medianában a verzikán- (40A ábra) ill. a tenascin-R (ld. később) elleni immunhisztokémiai reakció nagyon hasonló területet jelölt. Az immunreaktivitás az epindimától a piális felszínig terjedt ki, ahol mély, jelöletlen betüremkedések szabdalják. Laterális irányban az immunreaktivitás megszűnt a kamrafenék laterális sarkának megfelelő vonalban, de a kamrafal mentén az immunreaktivitás kiterjedt dorzális irányba. A szerv kaudálisabb részein ez a dorzális kiterjedés körülfogott egy periventrikuláris, keskeny, félhold alakú, immunnegatív területet (40A ábra).

Brevikán (40B ábra) és neurokán (nem mutatjuk) eloszlása szintén hasonló mintázatot mutatott. Egy középső zónát jelöltek, míg a szubpiális és a periventrikuláris zóna immunnegatív volt. Mediális irányban a jelölés intenzitása folyamatosan csökkent. Laterális irányban az immunreaktív zóna szétvált ventrális és dorzális ágakra, melyek oldalról határolták az eminentia medianat.

A WFA-kötés az eminentia mediana egész területét kijelölte (40C ábra), és kiterjedt a nucleus arcuatus eminentia medianával határos, ventromediális részére is. Itt a WFA-kötés kirajzolt neuronokat, máskülönben amorf és folyamatos volt. (A WFA-kötés több más agyterületen, főleg az agykéregben szintén kirajzolt neuronokat). Aggregán-immunreaktivitás is kirajzolt neuronokat a nucleus arcuatusban (40D ábra), de a cirkumventrikuláris szervek területén nem volt megtalálható.

4.7.2. Tobozmirigy

A tobozmirigyben két eltérő mintázatot találtunk. A WFA-kötés olyan hálózatot formált, mintha sejthatárokat jelölne (40E ábra). Tenascin-R-, verzikán-, neurokán- és brevikán elleni immunhisztokémiai reakcióval viszont érhálózatához hasonló mintázat rajzolódott ki, hasonló ahhoz amit laminin ill. β -disztroglikán esetén láttunk, de csak a szerv rostrális részében. Az erek között vékony immunpozitív rostok feszültek. A hasonló immunreaktivitási mintázatok közül csak tenascin-R-ét mutatjuk (40F ábra).



40. ábra Extracelluláris mátrix markerek az eminentia mediana (A-D panelek, frontális metszési sík) és a tobozmirigy (E,F panelek) területén. 3V: 3. kamra; NA: nucleus arcuatus. A) Eminentia mediana. Verzikán elleni immunhisztokémiai reakció. Vegyük észre az immunreaktív terület laterális határát! Nyílhegy: az immunreaktivitás dorzális kiterjedése. Nyíl: mély, jelölésmentes betüremkedés. Kettős nyílhegy: jelölésmentes periventrikuláris terület. Inset: nagyobb nagyítás, az immunreaktivitás látszólag amorf mintázatú. Skála: 150 μ m, az insetre vonatkozóan 40 μ m. B) Eminentia mediana. Brevikán elleni immunhisztokémiai reakció. Nyílak: jelölésmentes periventrikuláris és szubpiális területek. A közöttük lévő középső zóna jelölődött. Nyílhegy: az immunreaktivitás dorzális kiterjedése. Skála: 150 μ m. C) Eminentia mediana. A WFA-kötés az egész szervre jellemző. A jelölt terület kiterjed a nucleus arcuatus (NA) ventromediális részére is. Nyílak: neuronok, ld. kinagyítva az inseten. Skála: 150 μ m, az insetre vonatkozóan 60 μ m. D) Eminentia mediana. Aggrekán-immunreaktivitás a nucleus arcuatusban (NA). Nyílak: neuronok, ld. kinagyítva az inseten. Skála: 150 μ m, az insetre vonatkozóan 60 μ m. E) Tobozmirigy. WFA-kötés: egy finom hálózat (nyílak) a sejthatarok mentén. Skála: 40 μ m. F) Tobozmirigy. Tenascin-R elleni immunhisztokémiai reakció. A proximális, sűrű jelölést mutató és a disztális, halványan jelölődő részek közti határ. A lektikának immunreaktivitása hasonló eloszlást mutatott. Nyílhegyek: erek. Nyílak: vékony rostok az erek között. Inset: Nagyobb nagyítás az erek közötti vékony rostokról (nyílak). Skála: 40 μ m, az inseten 20 μ m.

4.7.3. SFO

Az SFO-ban verzikán immunreaktivitása (41A ábra) intenzív, hálózatos elrendeződést mutatott a szerv egész területén, egy kis terület viszont jelöletlen maradt a legbelső részen. A tenaszcin-R, a neurokán és a brevikán elleni immunhisztokémiai reakciók hasonló mintázatú jelölést adtak (nem mutatjuk). A WFA-kötés (41B ábra) egy 'héjra' korlátozódott, jelöletlenül hagyva a belső részt.

4.7.4. Area postrema

Az area postremában tenaszcin-R (41C ábra) intenzív immunreaktivitást mutatott, 'lyukak' által megszakítva. Ezek a 'lyukak' egy átlátszó középrészből és egy nagyon halvány tónusú, jelöletlen szövetnek megfelelő peremből álltak. Sűrű jelölődést tapasztaltunk a szerv ventrolaterális határán. Brevikán, neurokán és verzikán hasonló, de kevésbé intenzív immunreaktivitást mutattak, mint tenaszcin-R (nem mutatjuk).

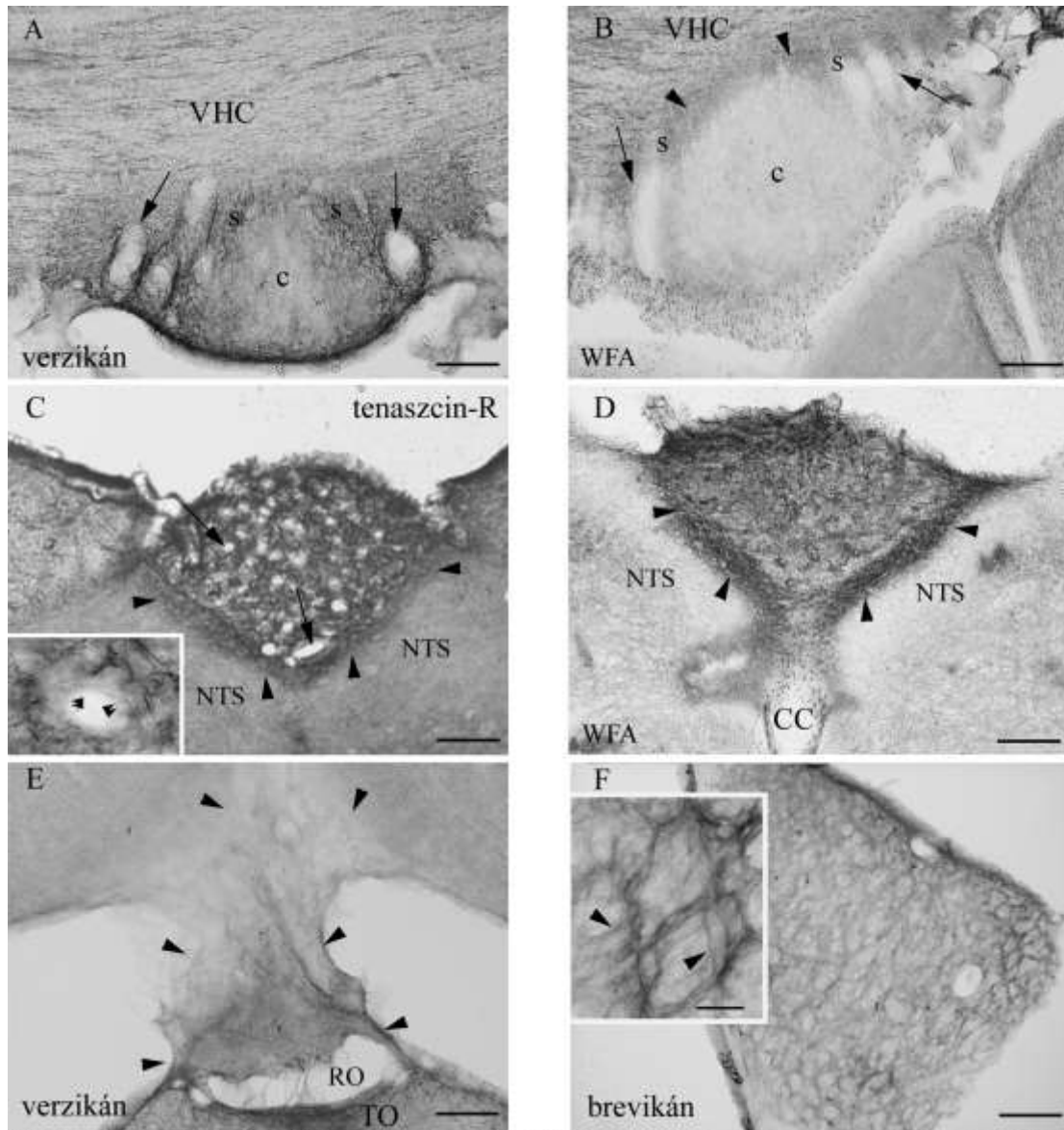
Az area postrema területe jelölődött WFA alkalmazásával (41D ábra), ventrolaterálisan a határzóna mindkét oldalán még erősebb jelölődést mutatott, mint a szerv belső része.

4.7.5. OVLT

Az OVLT-ben a legerősebb immunreaktivitást a verzikán mutatta, ezért ezt mutatjuk be a 41E ábrán. Ez a jelölődés arra a területre korlátozódott, ami a 'posterior periventricular' alegységnek felelhet meg.

4.7.6. Neurohipofízis

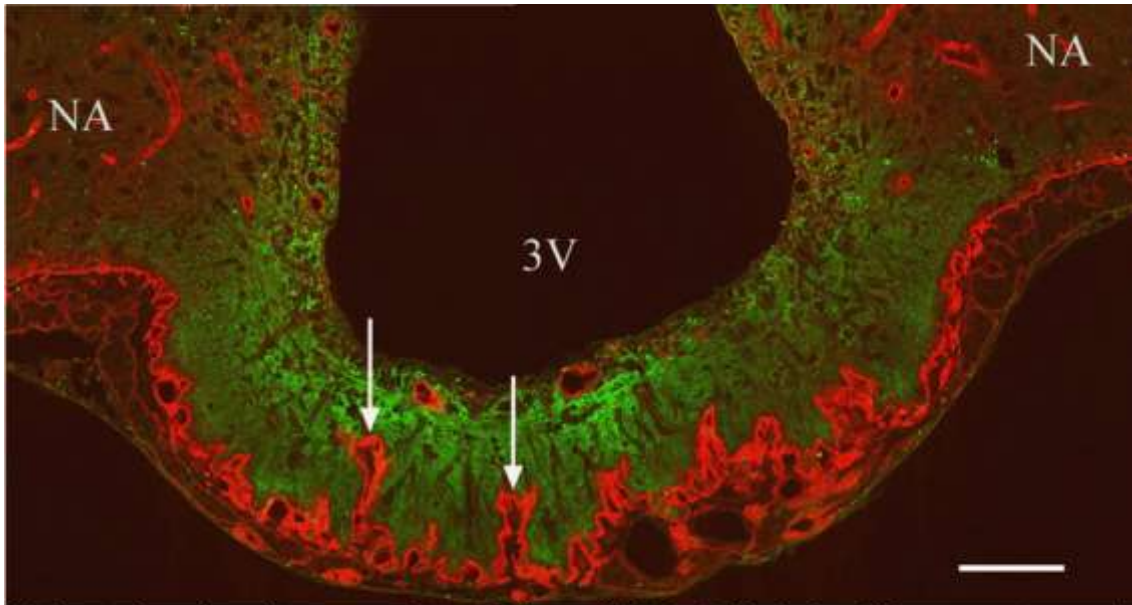
A neurohipofízisben a brevikán, a verzikán, a neurokán és a tenaszcin-R elleni immunhisztokémiai reakcióval érrendszerhez hasonló, nagy szemű hálózatos mintázat rajzolódott ki, hasonló ahhoz, amit laminin ill. β -disztruglikán esetén láttunk, de ezen belül egy halványabb, apróbb szemű hálózat is felismerhető volt. A hasonló immunreaktivitási mintázatok közül csak brevikánét mutatjuk (41F ábra).



41. ábra Extracelluláris mátrix markerek az SFO (A,B panelek), az area postrema (C,D panelek), az OVLT (E panel) és a neurohipofízis (F panel) területén. Frontális metszési sík. A) SFO. A verzikán-immunreaktivitás kirajzol egy hálószerű mintázatot. A legbelső rész jelöletlen. VHC: commissura hippocampi ventralis. Nyilak: nagy erek. c: 'mag', s: 'héj', a határzóna. Skála: 150 μ m. B) SFO. A WFA a 'héjhoz' kötődik, tehát a commissura hippocampi ventralis (VHC) felé eső határon (nyílhegyek) és laterálisan, a nagy erek körül (nyilak). Skála: 150 μ m. C) Area postrema. A tenaszcin-R élénk immunreaktivitást mutat, 'lyukakkal' (nyilak). Egy 'lyuk' szerkezetét mutatja az inset: egy átlátszó középrész és egy halvány perem, kettős nyílhegyek mutatják a kettő közti határt. Nyílhegyek mutatnak az élénkebb immunreaktivitás határára, ami a funiculus separansnak megfelelő helynek tűnik. NTS: nucleus tractus solitarii. Skála: 150 μ m, az insetre vonatkozóan 25 μ m. D) Area postrema. WFA-kötés. Nyílhegyek: a sűrűbb határzóna. NTS: nucleus tractus solitarii. CC: canalis centralis. Skála: 150 μ m. E) OVLT, verzikán elleni immunhisztokémiai reakció. Nyílhegyek mutatnak a szerv területére. Az immunreaktivitás látszólag a 'posterior periventricular' alegységre korlátozódik. RO: recessus opticus. TO: tractus opticus. Skála: 150 μ m. F) Neurohipofízis. Brevikán elleni immunhisztokémiai reakció. Nagyobb szemű hálózatos mintázat látható. Inset: Nagyobb nagyítással a háló szemein belül halványabb, apróbb szemű hálózat rajzolódik ki (nyílhegyek). Skála: 150 μ m, az inseten 20 μ m.

4.7.7. Tenasczin-R- β -disztroglikán kettősjelzés az eminentia medianában

Az eminentia medianában tenasczin-R- β -disztroglikán kettősjelzés után látható volt, hogy a széles tenasczin-R-immunnegatív területek megfelelnek a bazális irányból betüremkedő, β -disztroglikán-immunreaktív portális ereknek (42. ábra).



42. ábra Eminentia mediana, tenasczin-R- β -disztroglikán kettősjelzés, frontális metszet. A tenasczin-R zöld, a β -disztroglikán vörös. Mélyen betüremkedő, β -disztroglikán-immunreaktív portális erek (nyilak) szabdalják a tenasczin-R-immunreaktivitást. 3V: 3. kamra. NA: nucleus arcuatus. Skála: 100 μ m.

4.8. Utrofin és α 1-disztrobrevin

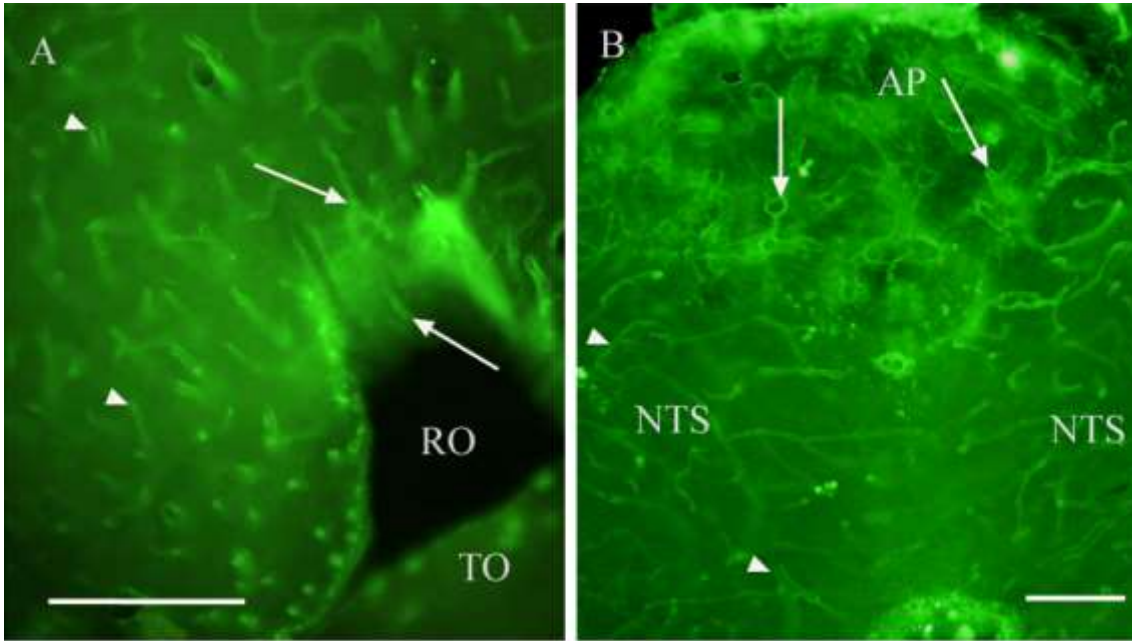
Mivel az utrofin és az α 1-disztrobrevin a neurohipofízisben és a tobozmirigyben eltérően viselkedett attól, amit az agyszövetben általában tapasztaltunk, ezeknek immunreaktivitását megvizsgáltuk a többi szervben is.

Az α 1-disztrobrevin immunreaktivitása, amely az intakt, érett agyszövetben a β -disztroglikánéhoz hasonlóan kirajzolta az ereket, ugyanezt tette az OVLT (43A ábra), az area postrema (43B ábra), az SFO és az eminentia mediana (nem mutatjuk) esetében is.

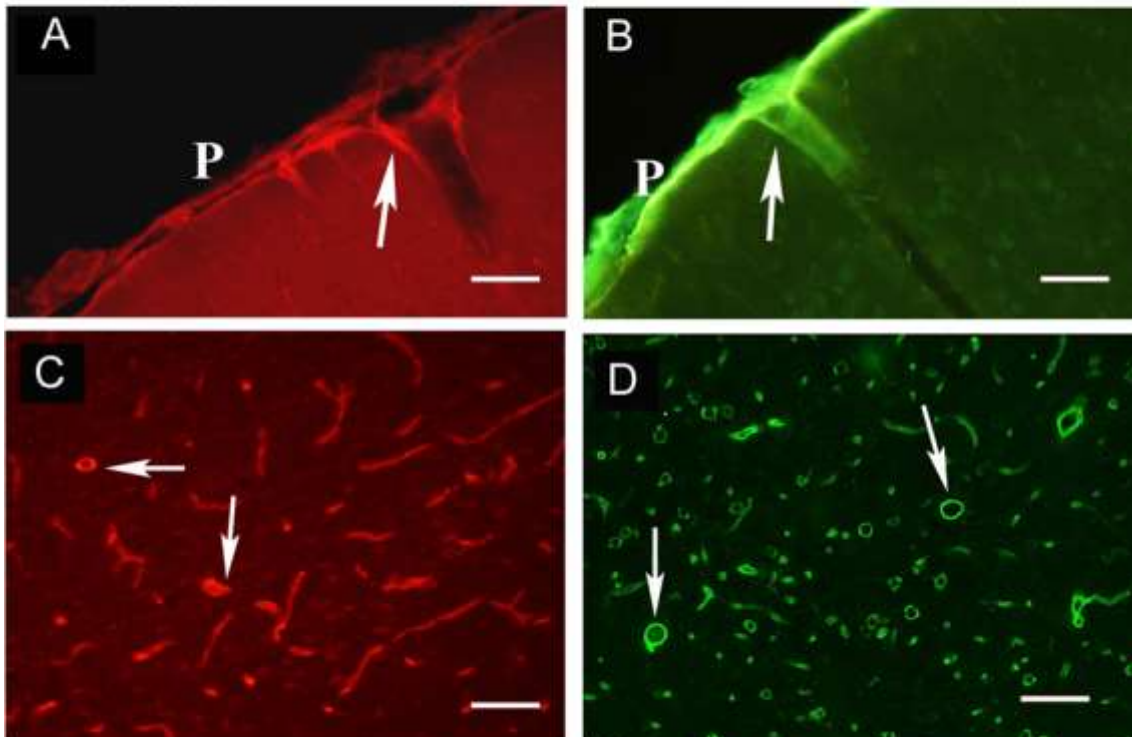
Vaszkuláris utrofin-immunreaktivitás az intakt, érett agyszövetben csak a belépő (szubpiális) szakaszokon (44A ábra), a Virchow-Robin-űrökben volt megfigyelhető, mélyebben nem, mint azt a lamininnál is láttuk (44B ábra, vö. 8C,D ábrákkal is). Szerte az agyban utrofin immunreaktivitása csak fagyasztva metszett anyagon rajzolta ki az ereket, akárcsak a laminin esetében (44C,D ábrák; sorrendben).

Szemben azonban azzal, amit az agyállomány erein általában tapasztaltunk, a cirkumventrikuláris szervek erei mutattak utrofin-immunreaktivitást. ld. pl. az area postremát (45A ábra). Kettősjezés alkalmazása után a laminin- és utrofin-immunreaktivitás szinte megegyező mintázatot mutatott, ld. pl. az SFO (45B,C ábrák) és az eminentia mediana (45D,E ábrák) esetében.

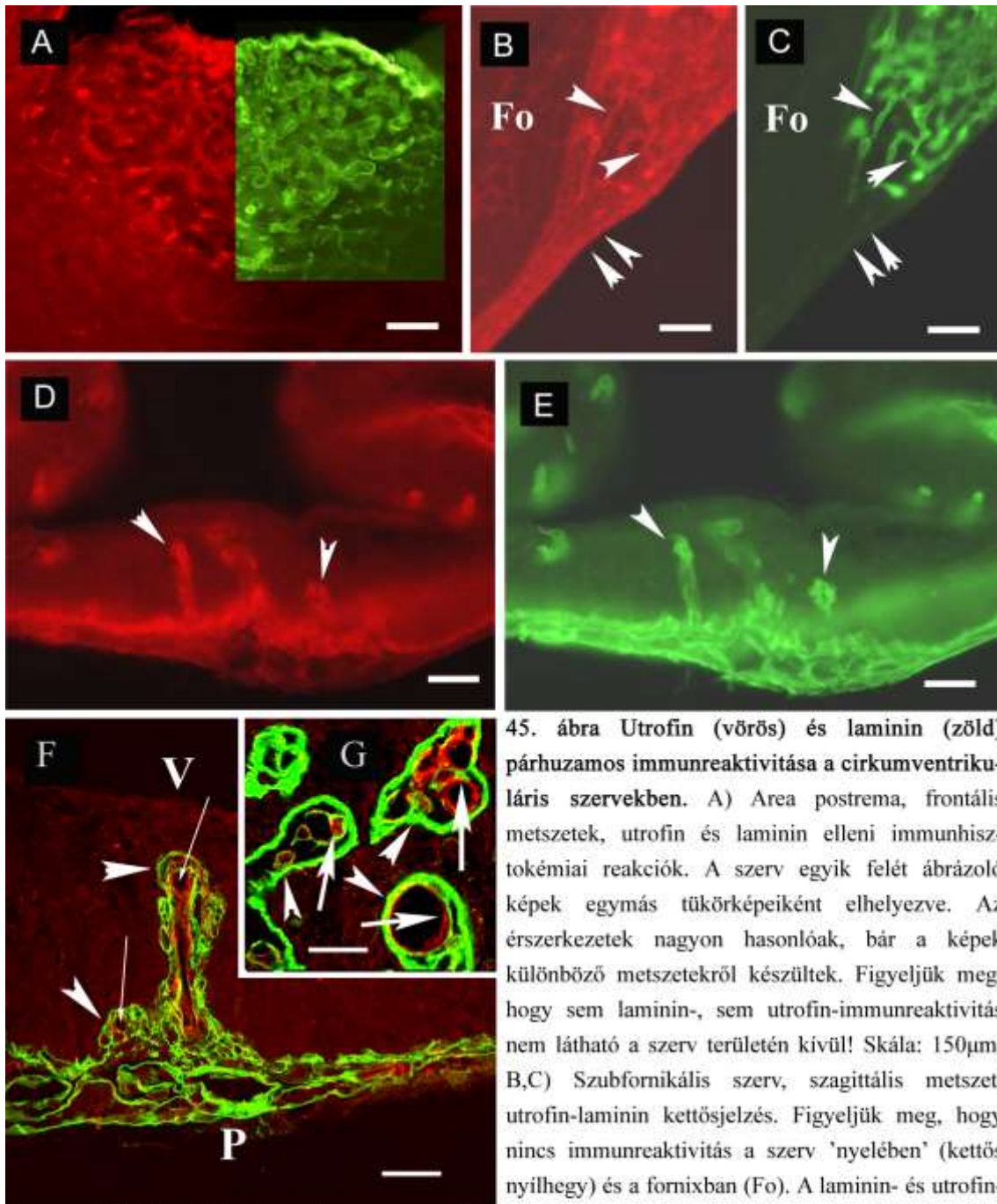
Az utrofin és a laminin elhelyezkedését egymáshoz képest konfokális mikroszkóppal készített felvételeken mutatjuk be az eminentia mediana (45F ábra) és az area postrema (45G ábra) esetében. Utrofin a belső laminin-immunpozitív réteg (azaz a vaszkuláris lamina basalis) belső (tehát lumenális) oldalán volt kimutatható. Ezek az eredmények hasonlóak ahhoz, amit a neurohipofízis esetében láttunk.



43. ábra $\alpha 1$ -disztrobrevin eloszlása az OVLT-ben és az area postremában. A) OVLT, $\alpha 1$ -disztrobrevin, frontális metszet. Vaszkuláris $\alpha 1$ -disztrobrevin-immunreaktivitás az agyszövetben (nyílhegyek) és az OVLT területén (nyilak). RO – recessus opticus, TO – tractus opticus. Skála: 100 μ m. B) Area postrema, $\alpha 1$ -disztrobrevin, frontális metszet. Az erek egyaránt jelölődtek az area postrema (nyilak) és a nucleus tractus solitarii (nyílhegyek) területén. AP – area postrema, NTS – nucleus tractus solitarii. Skála: 100 μ m.



44. ábra Utrofin- (vörös) és laminin-immunreaktivitás (zöld) megjelenési formái. A,B) Felnőtt agykéreg. Az ereknek csak a piális felszín alatti szakasza (nyíl) mutat utrofin- vagy laminin-immunreaktivitást (sorrendben). P: piális felszín. Skála 100 μ m. C,D) Felnőtt agykéreg, fagyasztott metszet. Az erek (nyilak) utrofin- és laminin-immunreaktivitást (sorrendben) is mutatnak. Skála 100 μ m.



45. ábra Utrofin (vörös) és laminin (zöld) párhuzamos immunreaktivitása a cirkumventrikuláris szervekben. A) Area postrema, frontális metszetek, utrofin és laminin elleni immunhisztokémiai reakciók. A szerv egyik felét ábrázoló képek egymás tükörképeként elhelyezve. Az érszerkezetek nagyon hasonlóak, bár a képek különböző metszetekről készültek. Figyeljük meg, hogy sem laminin-, sem utrofin-immunreaktivitás nem látható a szerv területén kívül! Skála: 150 μ m. B,C) Szubfornikális szerv, szagittális metszet, utrofin-laminin kettősjelzés. Figyeljük meg, hogy nincs immunreaktivitás a szerv 'nyelében' (kettős nyílhegy) és a fornixban (Fo). A laminin- és utrofin-immunreaktivitás mintázata majdnem megegyezik. A nyílhegyek az azonos erekre mutatnak. Skála: 150 μ m. D,E) Eminentia mediana, frontális metszet, utrofin-laminin kettősjelzés. Figyeljük meg az azonos ereket (nyílhegyek), vö. F pannelle! Skála: 150 μ m. F) Eminentia mediana, utrofin-laminin kettősjelzés. Az utrofin-immunpozitív erek (vékony nyilak), körül vannak véve egy külső és egy belső laminin-immunreaktív réteggel (nyílhegyek – ld. a réseket a kettő között). P: piális felszín. V: kamra. Skála 100 μ m. G) Az area postrema erei, utrofin-laminin kettősjelzés. Utrofin-immunreaktivitás által kirajzolódott érumenek, szorosan körülveve egy belső, gyenge, egyenetlen laminin-immunpozitív réteggel (nyilak) és egy lazábban tapadó, folyamatos külső laminin-immunpozitív réteggel (nyílhegyek). Néhány esetben 2-3 kisebb eret egy külső laminin-immunreaktív réteg vesz körül. Skála 20 μ m.

5. Megbeszélés

5.1. Közös megbeszélés

Itt azokat a következtetéseket beszéljük meg, amelyek több szervből származó eredményeken alapulnak.

5.1.1. A disztroglikán-immunreaktivitás jelentősége

Az agyi erek és a meningeális glia limitans β -disztroglikán-immunreaktívak (Tian és mtsai 1996; Uchino és mtsai 1996; Moore és mtsai 2002; munkacsoportunkból Szabó és Kálmán 2004, 2008), szemben a β -disztroglikán-immunnegatív meningeális erekkel. Mint a Bevezetésben utaltunk rá (ld. 1.5. fejezet), a β -disztroglikán fontos szerepet játszik a gliovaszkuláris kapcsolatban. A GFAP- ill. vimentin-immunpozitivitás esetleges hiánya az erek körül ennek nem mond ellent, mivel ezek nem minden gliasejtben vannak meg (ld. 1.6. fejezet). Az agyon kívül, a meningeális erekben β -disztroglikán immunpozitivitás nem található, hiszen körülöttük nincs glia (Szabó és Kálmán 2008; Kálmán és mtsai 2011).

5.1.2. A vaszkuláris laminin-immunreaktivitás jelentősége

Az agyi erekre általánosságban a laminin-immunreaktivitás hiánya jellemző. Ez Krum és mtsai (1991) szerint egy maszkírozási jelenség miatt alakul ki, ami annak tulajdonítható, hogy a gliális és vaszkuláris lamina basalisok (ld. 1.2.1. fejezet) összeolvadnak, ami 'elrejt' a laminin epitópokat azáltal, hogy hozzáférhetetlenné válnak az antitestek számára. Ezért a laminin-immunreaktivitás azokat a helyeket jelöli, ahol a két lamina basalis nincs tökéletesen összeolvadva, még ha a rés közöttük nem is látható fénymikroszkópos szinten (ld. még Krum és mtsai 1991; Szabó és Kálmán 2004, ill. 8A,C és D ábrák). Utóbbi állapot jellemző a Virchow-Robin ürökön kívül a fejlődő erekre, ahol az összeolvadás még nem történt meg, ill. amikor a lamina basalisok másodlagosan szétváltak, pl. agyi sérülések területén (Sosale és mtsai 1988; Shigematsu és mtsai 1989; Krum és mtsai 1991; Sixt és mtsai 2001; munkacsoportunkból Szabó és Kálmán 2004, 2008). Egyébként laminin-immunreaktivitás az agyi erekben csak

fagyasztva metszett anyagon (Eriksdotter-Nilsson és mtsai 1986) vagy enzimatikus kezelést követően (Mauro és mtsai 1984) volt kimutatható. A mi vizsgálataink szerint is a laminin-immunreaktivitás számos erek jelölt fagyasztva metszett agyszövetben. Ezek a tények elképzelhetővé teszik a 'rejtett', de feltárható epitópok szerepét, a laminin valódi hiánya helyett. Hasonló maszkírozási mechanizmust közöltek egy másik lamina basalis komponens, a nidógen esetében is (Ae Seo és mtsai 2007).

Jucker és mtsai (1992) a laminin-immunreaktivitás hiányát a túl erős fixálás hatásának tulajdonították. Ez tényleg csökkentheti az immunreaktivitást, de az, hogy az agyon kívüli erek és a cirkumventrikuláris szervek erei ugyanazon a fixálási eljárás mentek keresztül megkérdőjelezi a fixálás laminin-immunreaktivásra kifejtett döntő hatását. (Ez az érvelés az utrofín-immunreaktivitás hiányára is vonatkozik, ld. ott).

5.1.3. A laminin- és a β -disztroglikán immunreaktivitása 'értípusokat' különböztet meg

Ahol az erek fala 'kettős', a külső 'fal', amely laminin és β -disztroglikán immunfestésével egyaránt jelölődik tkp. a hasonlóan jelölődő piális agyfelszín folytatása, a belső 'fal', ami csak laminin-immunreaktivitást mutat, a vaszkuláris lamina basalisnak felel meg. Mivel a β -disztroglikán a perivaszkuláris gliavégtalpakban helyezkedik el (Tian és mtsai 1996; Haenggi és mtsai 2004) immunreaktivitása csak a külső 'falban', a laminin immunpozitív rétegen (parenchimális lamina basalis) kívül figyelhető meg. Az erek két 'fala' közötti perivaszkuláris terek közlekednek a szubarachnoidális térrel, és egy bonyolult csatornarendszer részei (Krisch és Leonhardt 1978; Krisch és mtsai 1978; Gross 1992), tkp. az agyfelszín más területeiről ismert Virchow-Robin ürök módosulatai.

A laminin-immunreaktivitás változása, a laminin- és a β -disztroglikán immunreaktivitás egyre szorosabb kolokalizációja a perivaszkuláris tér fokozatos csökkenésére utalhat. Ahol teljesen eltűnt, ott az erek csak β -disztroglikán-immunreaktivitást mutattak.

A laminin- és a β -disztroglikán immunreaktivitása alapján 4-féle értípust, pontosabban az érhálózatnak 4 különböző szakaszát különíthetjük el (a jelölések megegyeznek az Eredményekben – ld. 4.1.1. fejezet - használtakkal):

- a) két laminin-immunpozitív 'fallal' és széles, gyakran szabálytalan perivaszkuláris réssel körülvett erek, melyek viszonylag gyenge gliovaszkuláris kapcsolatokkal rendelkeznek;
- b) egyenletesen szűk perivaszkuláris réssel körülvett, és intenzív gliovaszkuláris kapcsolatokkal rendelkező erek;
- c) fénymikroszkópos szinten detektálható perivaszkuláris réssel nem rendelkező erek, melyekben azonban a laminin immunreaktivitása még kimutatható volt;
- d) az agyi erekhez hasonló, csak β -disztroglikán-immunreaktivitást mutató erek, melyekben a laminin immunreaktivitása nem volt kimutatható, valószínűleg a parenchimális- és vaszkuláris lamina basalisok teljes összeolvadása miatt.

Az erek említett 'a-d' típusai megfeleltethetőnek látszanak azokkal a típusokkal, melyeket Gross (1991) leírt elektronmikroszkópos eredmények alapján. Az általunk meghatározott 'd' típus megfelel az általa leírt type II-nek, ez az agyszövetben általában megtalálható típus. Az 'a' és 'b' típusok megfelelnek a type III-nak, ami széles perivaszkuláris terekkel rendelkezik, míg a mi 'c' típusunk megfelel a ő type I-ének, amely egy átmeneti formát képvisel.

5.1.4. Utrofin

Párhuzamos utrofin- és laminin-immunreaktivitást mutattunk ki a cirkumventrikuláris szervekben, ill. a Virchow-Robin résekben. Korábbi vizsgálataink szerint az utrofin-immunreaktivitás a lamininéhez hasonlóan megjelent a sérült terület ereiben (Kálmán és mtsai 2011; Wappler és mtsai 2011), és megtalálható volt a fejlődő agy ereiben (Pócsai és Kálmán 2014b). Mindezekben közös az, hogy az agyi és a vaszkuláris lamina basalisok nincsenek összetapadva. Fagyasztva metszés az utrofin-immunreaktivitását a lamininéhez hasonlóan feltárta. Az irodalomban bemutatott utrofinos vizsgálatok szintén fagyasztva metszéssel készültek. (Khurana és mtsai 1992; Knuesel és mtsai 2000; Haenggi és mtsai 2004).

Az utrofinon és lamininen kettősjelzéssel végzett immunhisztokémiai vizsgálataink alátámasztották az utrofin elhelyezkedését vaszkulárisan (a laminin-immunpozitív lamina basalison belül), de nem a perivaszkuláris gliában. Ez

összhangban van Knuesel és mtsai (2000) ill. Haenggi és mtsai (2004) véleményével, bár korábban Khurana és mtsai (1992) az utrofint asztroglialisnak tartották.

Úgy tűnik, hogy az utrofin immunhisztokémiai kimutathatósága is kapcsolatban van a perivaszkuláris rés meglétével, ahogyan a lamininé. Az utrofin azonban az endotélsejteken belül helyezkedik el, ezért a lamina basalisok összetapadt vagy különálló volta nem tudja közvetlenül befolyásolni (a lamininéhez hasonlóan 'elrejtteni') immunreaktivitását. Tehát egy összetettebb, közvetett molekuláris mechanizmust kell feltételezni. (Ami a fixálás esetleges negatív hatását illetné, a cáfolatot ld. a laminin megbeszélésénél – 5.1.2. fejezet.)

A helyzetet bonyolítja, hogy a jelenlegi ismeretek szerint β -disztroglikán az erekben nem, hanem csak a perivaszkuláris gliában található (Tian és mtsai 1996; Haenggi és mtsai 2004), míg utrofin éppenséggel az erekben (ld. fent). Tehát, Haenggi és mtsai (2004) szerint: „...it is unclear how utrophin is associated with the membrane in the absence of a transmembrane protein such as β -dystroglycan. The upregulation of dystrobrevin-immunoreactivity in utrophin0/0 mice suggests the presence of an alternative, yet unidentified, anchoring protein at this site.”

Kimutatták az utrofin kölcsönhatását caveolin-1-gyel (Ramirez-Sanchez és mtsai 2012, a köldökvénában), melynek szerepe van a transzendenteliális transzportban. Fontos szerepet játszhat az utrofin endotélsejtek mechanikus terhelésekor (Matsumura és mtsai 1993). Kétféleképp is kapcsolatban állhat a lamina basalisok összeolvadása és az utrofin konformációja:

- a) a lamina basalisok összeolvadása megváltoztatja a konformációját egy még nem ismert transzmembrán molekulának amely 'összeköti' a laminint az utrofinnal (ld. Haenggi és mtsai 2004: "unidentified, anchoring protein") és ezáltal megváltoztatja az utrofin epitópok elhelyezkedését;
- b) az összeolvadás, a perivaszkuláris rés eltűnése után megszűnhetnek bizonyos funkciók (így pl. transzendenteliális transzport: mintegy 'nem marad hely hová transzportálni') és ez változtatja meg az utrofin konformációját.

5.1.5. Az akvaporin-4 eloszlása

Bár a cirkumventrikuláris szervek akvaporin-4 tartalmával többen foglalkoztak, a szerveken belüli eloszlásáról még kevés az adat. Eredményeink a különböző szervekben arra mutatnak, hogy a cirkumventrikuláris szervekben az akvaporin-4 eloszlása nem egyenletes (szemben pl. az agyi szürkeállományával, ld. Goren és mtsai 2006), hanem a GFAP-ban gazdag területekre szorítkozik. A citoszkeleton és az akvaporin-4 eloszlása közötti összefüggést többen leírták már (Venero és mtsai 2001; Nico és mtsai 2003, 2004; munkacsoportunkból Goren és mtsai 2006). Szövettenyészetben az akvaporin a citoszkeletonnal együtt jelent meg (Yoneda és mtsai 2001). A citoszkeleton befolyásolhatja a csatorna fehérjéket (Nico és mtsai 2003, 2004). Ugyanakkor a vimentinnel nem mutatott hasonló összefüggést, vimentin-akvaporin-4 kolokalizáció legfeljebb elvétve volt észlelhető, leginkább az endimában. Ennek esetében is kivételt képez azonban a cirkumventrikuláris szervekre jellemzőnek tartott lapos endidima (McKinley és mtsai 2003), amely, bár az agykamrák ‘fali’ endimájához hasonlóan vimentin- és S100-immunpozitívnak bizonyult, nem tartalmazott akvaporin-4-et (hasonlóan a plexus choroideust borító módosult endimához, Mack és mtsai 1987). Akvaporin-4 van mindenütt az agy piális felszínén (Jung és mtsai 1994; Nielsen és mtsai 1997; munkacsoportunkból Goren és mtsai 2006).

Az akvaporin-4 eloszlásának másik érdekessége a cirkumventrikuláris szervekben, hogy nem mindig követi az erekét ill. a β -disztroglikánét. Az agyi erek körül általában az akvaporin-4-immunreaktivitás folytonos volt (Nielsen és mtsai 1997; Goren és mtsai 2006), viszont a cirkumventrikuláris szervek esetében, ettől eltérő formák is jelen voltak: bizonyos erek mentén az akvaporin-4 inkább szakaszosan volt jelen, kisebb glianyúlványszerű képletek formájában, míg mások körül nem találtunk akvaporin-4-immunreaktivitást. Megjegyzendő, hogy Nico és mtsai (2001, 2003) az akvaporin-4-immunpozitivitás megjelenését az egyedfejlődés során a vér-agy gátérésének jeleként említették.

Az, hogy az agyszövetben tapasztaltakkal ellentétben az akvaporin-4-immunreaktivitás nem ereket rajzolt ki, hanem asztrocitaszerű sejteket jelölt sokfelé a cirkumventrikuláris szervekben, összhangban van Nielsen és mtsai (1997)

elektronmikroszkópos leírásával, mely szerint akvaporin-4 (legalábbis az SFO-ban) nem korlátozódik az asztroglia-végtalpak területére, hanem eloszlik a sejt egész területén.

Az akvaporin-4 feltehetően részt vesz az ozmoszenzitív működésben: mivel segíti a vízmolekulák diffúzióját, azok könnyen áramolhatnak a magas ozmolaritás irányába, ez a sejt alakváltozását idézheti elő, ami az ozmoreceptorok fő ingere lehet (Wells 1998; Venero és mtsai 2001).

Klinikailag jelentős, hogy a neuromyelitis optica, egy akvaporin-4 ellenes autoimmun betegség megtámadhatja a cirkumventrikuláris szerveket is, sőt ott kezdődhet, pl. anorexiával vagy más anyagcsere ill. só-vízháztartási tünetekkel (Iorio és mtsai 2013).

5.1.6. Nesztin

A nesztint minden esetben vimentinnel (de sosem GFAP-val) kolokalizáltan találtuk. Vimentin képes nesztinnel kopolimerizálva filamentumokat képezni (Eliasson és mtsai 1999), sőt, a nesztin általában így, vagy egyéb kopolimert képezve fordul elő (Michalczyk és Ziman 2005). Feltételezik (Wei és mtsai 2002; Bauer és mtsai 2005; Pecchi és mtsai 2007; Bennett és mtsai 2009; Hourai és Miyata 2013), hogy a cirkumventrikuláris szervek is ‘öszejtfészkek’ az agyban. A hosszú, vimentint is tartalmazó glianyúlványok látványa, hasonló szerepet sugall ahhoz, amit az éretlen agy radiális gliájánál ismerünk, ti. a sejtvándorlás irányítását. Az éretlen agyra (Prevot és mtsai 2007) ill. a szubventrikuláris zónára (Gates és mtsai 1995) jellemző az extracelluláris mátrixban gazdag környezet, csakúgy, ahogy a cirkumventrikuláris szervekre (ld. később). A nesztinnek azonban más funkciója is lehet, pl. a nyúlványok mozgékonyágában.

5.1.7. A vimentin és a GFAP lokalizációja gyakran eltérő

A vimentin és a GFAP bizonyos helyeken (pl. area postrema) mutatott ugyan kolokalizációt mégis inkább a két populáció elkülönülése volt a jellemző (OVLT, eminentia mediana, SFO perivaszkuláris gliája). Más agyterületeken, ahol vimentin esetleg előfordul az érett agy asztrocitáiban (corpus callosum; Bergmann-glia, ld. pl.

Schnitzer és mtsai 1981; reaktív glia, ld. Janeczko 1993) ott kolokalizációt mutat GFAP-val, sőt, kopolimert képezhet vele (Janeczko 1993).

A glianyúlványok tulajdonságai nyilván függenek attól, hogy tartalmazznak-e GFAP-t, vagy vimentint, illetve a bennük lévő GFAP/vimentin aránytól (Galou és mtsai 1997; Menet és mtsai 2001), előbbi talán a ‘szilárdság’ míg utóbbi a ‘mozgékonyosság’ biztosítója. Nehmé és mtsai (2012) pedig leírtak egy Na(x) csatornát a vimentin-immunpozitív sejtekben, amely azonban hiányzik a GFAP-immunpozitívakból. Pixley és de Vellis (1984) felvetette, hogy a vimentin tartalmú glianyúlványok különösen alkalmasak a folyadék kompartmentekből (a cerebroszpinális folyadékot említették tulajdonképpen) történő anyagszállításra. Menet és mtsai (2001) szerint a GFAP jelenléte befolyásolja az asztrociták által termelt extracelluláris mátrix és sejtadhéziós faktorok összetételét.

A cirkumventrikuláris szervek esetében az akvaporin-4 a GFAP-val kolokalizált, míg a nesztin a vimentinnel. Az OVLT, SFO és az eminentia mediana éppenséggel szinte felbontható egy GFAP-akvaporin-4 és egy vimentin-nesztin tartalmú területre, area postremánál ezek a területek átfedik egymást.

5.1.8. A taniciták nem feltétlenül dominálnak

Vizsgálataink néhány pontban módosítják azt az általános elképzelést, ami a cirkumventrikuláris szervek esetében elterjedt. Mindenekelőtt, bár a tanicitákat az area postrema, az SFO, az OVLT esetében is fontos alkotóelemnek tartják (ld. pl. Weindl és Joint 1972; Dellmann 1998; Sisó és mtsai 2010; Langlet és mtsai 2013), dominánsnak legfeljebb az eminentia medianában lehet őket tekinteni.

Az OVLT-ben (ld. még később) a piáig érő nyúlványok jelentős része szubependimális helyzetű asztrocitaszerű sejtekből ered. Ez a szerkezet hasonlított ahhoz, amit Sasaki és Mannen (1981) írt le békában (*Rana catesbeiana*) ‘radiális asztrocita’ néven. Záborszky és Schiebler (1978) már tett említést olyan sejtekről az eminentia medianában, melyeknek asztrocitához hasonló alakú és helyzetű sejttestje, de tanicitaszerű nyúlványa van. A mi esetünkben az eminentia medianában ezeknek felelhetnek meg azok a sejtek, melyek GFAP-val festődnek, de nyúlványuk leér a szervet határoló lamina basalisig, mint az endependimális tanicitáké.

Ugyanakkor találtunk olyan, nem ependimális sejtekből eredő hosszú nyúlványokat is, amelyek nem a piális felszínen, hanem távolabbi ereken végződnek (ld. SFO, area postrema). A hosszú-nyúlványú szubependimális asztrocitáknak, akárcsak a tanicitáknak szerepe lehet bizonyos anyagok transzportjában, ilyen működést az embrionális radiális gliában már leírtak Hajós és mtsai (1982).

5.1.9. A glutamin-szintetáz kevés, az S100 viszont sok a GFAP-hoz képest

Még kevés adatot közöltek a glutamin-szintetáz (D'Amelio és mtsai 1987, area postrema, macska; Okere és Waterhouse 2004 eminentia mediana) eloszlásáról a cirkumventrikuláris szervekben. A mi eredményeinkhez hasonlóan, viszonylag kevés sejtben találtak immunpozitivitást. Ezt az enzimet az asztrociták megbízható markerének tartják (Martinez-Hernandez és mtsai 1977). Lehetséges azonban, hogy a cirkumventrikuláris szervek sajátos körülményei (tág perivaszkuláris terek, jó keringés) között a 'méregtelenítő' funkciójának (ld. 1.6. fejezet) kevésbé van jelentősége, ezért nem minden asztrocitában fordul elő. Okere és Waterhouse (2004) szerint: „The apparent low glutamine synthetase immunoreactivity.... may be due to the lack of sufficient cellular activity requirement in the resting state” Ugyanaz a glutamin-szintetáz elleni ellenanyag a környező agyszövetben sok asztrocitát jelölt.

Ugyanakkor számos helyen (elsősorban az area postrema belsejében) sok sejt bizonyult S100-immunpozitívna, de nem GFAP-immunpozitívna. Ez azonban érthető, hiszen nem minden asztrocita mutat GFAP-immunpozitivitást (ld. 1.6. fejezet).

5.1.10. Extracelluláris mátrix

Az extracelluláris mátrix eloszlása általában kijelölte a cirkumventrikuláris szervek, ill. alegységeik területét, de az aggregán-immunreaktivitás kivételt képez, mert csak a nucleus arcuatusban jelölt neuronokat. A különböző jelölések általában átfedték egymást, ilyenkor a legmarkánsabb jelölődésű példákat mutattuk be, ahol különbségek mutatkoztak ott erre felhívtuk a figyelmet. Érdeemes hangsúlyozni, hogy tipikus perineuronális hálók, az extracelluláris mátrix elrendeződésének gyakori formái (Celio

és mtsai 1998) nem voltak megtalálhatók a cirkumventrikuláris szervek területén, bár máshol, pl. az agykéregben WFA-kötés által kirajzolódtak.

A tenascin-R ismert ligandja a kondroitinszulfát tartalmú proteoglikánoknak (Yamaguchi 2000), WFA kondroitinszulfát tartalmú proteoglikánokhoz való kötődésére is vannak adatok (Brückner és mtsai 2003). Így nem meglepő, hogy az extracelluláris mátrix-komponensek eloszlását hasonlóan találtuk. Az extracelluláris mátrix nagyobb részét gliasejtek termelik (Bignami és mtsai 1993), így az agyi eloszlása (ld. még verzikán: Bignami és mtsai 1993; neurokán: McKeon és mtsai 1999; WFA-kötés: Gáti és mtsai 2010) érthetően hasonló lehet a GFAP-éhoz.

Az extracelluláris mátrix megköt bizonyos molekulákat, pl. növekedési faktorokat, ezek hatása így csekélyebb, de elnyújtottabb (Dow és Wang 1998; Maeda 2010). Az extracelluláris mátrix és az akvaporin-4 együttműködhet a szervek folyadéktartalmának szabályozásában (ez utóbbi az erekből való kilépés miatt igen ingadozó lehet).

A kation mobilitás gátlásával az extracelluláris mátrix növeli a szövetek ozmotikus nyomását és szabályozza a folyadéktartalmukat (Aumailley és Gayraud 1998), egyben hozzájárul a sejtek közötti távolság fenntartásához (Syková és mtsai 2005). A széles extracelluláris terek viszont szükségesek lehetnek a diffúzióhoz és más folyamatokhoz, melyek fontosak ezen szervek kemoszenzitív és neuroszekretoros működéséhez. (Az extracelluláris mátrix nem 'kitölti' a sejtközötti teret, hanem megteremti!) Az extracelluláris mátrix létrehozhat csatornákat a diffúzió számára, ezáltal azt bizonyos irányokba megkönnyítheti (Syková és mtsai 2005; Vargová és Syková 2008). Ugyanakkor Zamecnik és mtsai (2012) szerint formálhat barriert is a diffúzió számára. Az extracelluláris mátrix csökkenése a szervek határain hozzájárulhat a területükről a környező agyszövetbe történő diffúziós folyamatok szabályozásához.

5.1.11. Gliovaszkuláris kapcsolat, perivaszkuláris rés és a vér-agy gát

Érdemes hangsúlyozni, hogy ahol van perivaszkuláris tér ott a gliavégtagoknak még közvetett (ti. a közös lamina basalison keresztüli) kapcsolatuk sincs az erekkel. Bouchaud és mtsai (1989), illetve Gross (1991) is azt feltételezték, hogy minél nagyobb a glia-endotél távolság, tehát minél szélesebb a perivaszkuláris tér, annál gyengébb az

asztroglia által az endotélsejtre kifejtett, vér-agy gát indukáló hatás (erről a hatásról ld. Janzer és Raff 1987; Abbott 2002). A laza és szakaszos glia borítás talán nem elégséges a vér-agy gát tulajdonságok kialakításához és fenntartásához.

Tegyük hozzá, hogy az érből történő anyagkiáramlás (exsudatio, extravasatio) és a perivaszkuláris tér jelenléte kölcsönösen igénylik egymást. Folyadék kilépése segíti a perivaszkuláris tér fenntartását, ez a tér viszont szükséges a kiáramló anyagok befogadásához.

A Gross (1992) szerinti III. típusú erek azok, amelyek elektronmikroszkóppal vizsgálva sűrű fenesztrációt és széles perivaszkuláris tereket mutattak. Más vizsgálatokban az ilyen helyzetű (pl. SFO: mag, area postrema: a 'sövénnyen' belül) erekből ezüstszemcsék kilépését (Dempsey 1968, 1973) észlelték, endotéljükben a tight junction komponenseit nem tudták kimutatni (Willis és mtsai 2007), ill. MECA32-immunreaktivitást mutattak ki, ami a fenesztrált endotél markere (Langlet és mtsai 2013). A mi vizsgálatainkban pedig ezek felelhetnek meg az 'a' és 'b' típusú ereknek, amelyek laminin immunfestésével 'kettős falúak', és a külső 'faluk' mentén gyenge ('a' típus) ill. intenzív ('b' típus) β -disztroglikán-immunpozitivitás mutatkozott, az előbbi tekinthető gliovaszkuláris kapcsolatok gyengeségének jeleként. Említésre méltó, hogy körülöttük nem volt folyamatos az akvaporin-4-immunpozitivitás.

Az utrofin immunreaktivitásának kimutathatósága kapcsolatban lehet a perivaszkuláris rés jelenlétével (ld. 5.1.4. fejezet), és közvetve a vér-agy át hiányával. Az α 1-disztrobrevin-immunpozitivitás viszont nem jele a vér-agy gát meglétének, mint azt Lien és mtsai (2007) adatai alapján feltételeznénk, mivel bár teljesen kirajzolja az agyi érhálózatot (Blake és mtsai 1998; Ueda és mtsai 2000; Kálmán és mtsai 2011), és hiányzik a meningeális erekből (Szabó és Kálmán 2008; Kálmán és mtsai 2011), valamint a tobozmirigy és a neurohipofízis ereiből, viszont a többi cirkumventrikuláris szerv ereiben megtalálható.

5.2. SFO

5.2.1. Gliamarkerek eloszlása és gliaszerkezet: 'héj' és 'mag'

A S100-, GFAP- és akvaporin-4 elleni immunhisztokémiai reakciók, kb. hasonlóan jelöltek egy félkupolaszerű 'héjat', amely magában foglalta a nagy ereket

tartalmazó laterális részt, valamint a ventrális és a dorzális 'nyelet'. A nesztin-immunreaktivitás a 'magra' korlátozódott. Vimentin elleni immunhisztokémiai reakció alapján 'héj'és 'mag' nem különült el élesen. Glutamin-szintetáz-immunreaktivitás a 'héjban' mutatkozott, de túl ritkásan ahhoz, hogy kijelöljön egy területet. Érdemes megjegyezni, hogy Berger és Hediger (2000) glutamát transzportereket talált az SFO-ban: az ő ábráik szerint GLT-1-immunreaktivitás kirajzolta a 'héjat', míg GLAST az egész szervben megtalálható volt. A vizsgált extracelluláris mátrix-fehérjék, az aggregán kivételével szintén egy héjszerű területen mutattak intenzív immunreaktivitást, és a WFA kötődése alapján is kirajzolódott egy héjszerű terület.

A két terület gliaszervezete is eltérő volt. A tanicitákat idéző, hosszú nyúlványok inkább a 'magban' fordultak elő. Ezek nagy része azonban nem endimális sejtekből eredt, hanem a 'héjban' található S100-immunreaktív sejtekből, bár általában az (endimális) tanicitákat említik, mint a cirkumventrikuláris szervek glia elemeit (Langlet és mtsai 2013). (Megjegyzendő, a kép erősen függ a metszési síktól: a leginkább rostrális és a leginkább kaudális, frontális metszetek csak a 'héj' szerkezetét tükrözik.

A szagittális metszeteken, az SFO dorzális- és ventrális 'nyelében' látható hosszú glianyúlványok jelenléte összefügghet azzal, hogy ott afferens- és efferens axonok futnak, melyek szeptális és hipotalamikus magokkal kötik össze az SFO-t (Akert és mtsai 1961; McKinley és mtsai 2003).

5.2.2. A felszín: ventrikuláris, piális és parenchimális

A parenchimális felszínen (ti. az agyszövet felé) a határt csak az SFO 'héját' alkotó sűrű gliapopuláció ill. az extracelluláris mátrix markerek intenzív immunreaktivitásának csökkenése mutatja. Utóbbi 'gélszűrőként' szabályozhatja a környező agyterületek felé történő anyagmozgást.

A piális felszín sajátosságai (laminin-, β -disztroglikán-, akvaporin-4-immunpozitivitás, gliavégződés) hasonlóak voltak a más agyterületeken tapasztalhoz (ld. pl. munkacsoportunkból Goren és mtsai 2006 és Szabó és Kálmán 2008).

Bár a kamrai felszínt borító endimának csak egyes nyúlványai végződtek a közeli ereken, feltételezhető, hogy sokkal több, esetleg az összes ilyen sejtnak van ilyen

nyúlványa, de nem mindegyiké esik a leképezett síkba. Mint említettük, a hosszú nyúlványok, melyek az endimával ellenkező irányból érkeztek az erekhez, a 'héjban' található sejtestestekből eredtek.

A 'héjat' borító endidima az agykamrák 'fali' endimájához hasonlóan köbös jellegű ill. vimentin-, S100- (Schnitzer és mtsai 1981; Didier és mtsai 1986) és akvaporin-4- (Jung és mtsai 1994; Nielsen és mtsai 1997) immunreaktivitást mutat (mint az pl. a 9B és a 10A ábrákon látható, ventrikuláris felszínnel egyaránt rendelkezik a 'mag' és a 'héj'!). A 'magnak' megfelelően talált lapos endidima, melyből az akvaporin-4 majdnem teljesen hiányzott, megfelelhet az SFO „centrális” alegységében leírt lapos endimának (Gross 1991).

5.2.3. Az érrendszer

A be- és kilépő nagy erek az SFO-ban a középső és a laterális 'lyukakban' találhatóak. Ezek Spoerri (1963) ábrái alapján megfelelnek az arteria subfornicalisnak, illetve a szeptális vénáknak. A plexus choroideusszal való vaszkuláris összeköttetés lehetősége szintén felmerült (Spoerri 1963).

Az érrendszer a 'mag' és 'héj' alegységek alapján jól leírható. A 'héj' hasonló (csak nagyobb átmérőjű) ereket tartalmazott, mint a környező agyszövet ('d' típus), a 'magban' az 'a' típusú, nagyobb perivaszkuláris térrel rendelkező erek a legbelső zónában helyezkedtek el (mint a 'mag magja'), ezt többé-kevésbé körülvette a szűkebb perivaszkuláris térrel rendelkező 'b' típusú erek zónája. A 'mag' és a 'héj' határán átmeneti formák ('c') voltak. Az érpályából kiáramló ezüstszemcsékkel végzett vizsgálatok (Dempsey 1968) igazolták, hogy az SFO legbelső része a vér-eredetű anyagok kiáramlásának kitüntetett területe. A perivaszkuláris glia szintén különböző volt a 'héjban' és a 'magban'. A perivaszkuláris gliaszervezet, illetve a laminin-, β -disztroglikán- és akvaporin-4- (ld. 5.2.4. fejezet) immunreaktivitás jellegzetességei velejárási lehetnek a vér-agy gát hiányos állapotnak. A perivaszkuláris gliában a vimentin és a GFAP nagyrészt különböző gliaelemekben fordult elő, még, ha ezek egymás mellett helyezkedtek is el, ami funkcionális különbségekre utal.

5.2.4. Akvaporin-4: összefüggés GFAP-val és az ozmométer funkcióval

Az SFO akvaporin-4 tartalmát többen leírták (Nielsen és mtsai 1997; Venero és mtsai 2001; Goren és mtsai 2006). A mostani leírásunk 'héjszerű' eloszlását hangsúlyozza, amely összefüggésben lehet azzal, hogy ez a terület az ozmopercepció helye (McKinley és mtsai 2003). Ez az eloszlása függetlennek tűnik a β -disztroglikánétól, amivel másutt az asztrogliá-végtalpakban komplexet formál (ld. 1.5. fejezet). Az akvaporin-4-immunpozitivitás csak a 'héjban' rajzolja ki az ereket olyan folytonosan, ahogyan az agyban egyebütt látjuk (Nielsen és mtsai 1997; Goren és mtsai 2006). A 'mag' erei körül azonban az akvaporin-4-immunreaktivitás inkább szakaszosan volt jelen, kisebb glianyúlványszerű képleteket kirajzolva.

5.3. Area postrema.

Az area postrema esetében kapott eredmények nem annyira önmagukban érdekesek – sokukat mások is leírták, vagy legalábbis ábráikból kiolvashatók. Inkább az SFO-val való összehasonlítás érdekes, a két szerv hasonló elhelyezkedése (plexus choroideus tapadásánál, ependimális és piális felszínnel), és az area postremában lévő, az SFO 'héját' idéző 'gliasövény' miatt.

5.3.1. Értípusok – hasonlóak az SFO-nál találtakhoz

A laminin- β -disztroglikán kettősjelzés alapján az SFO-ban általunk megkülönböztetett négy értípus ('a-d') közül az area postrema területén leggyakrabban az 'a' és 'b' típusok fordultak elő, míg a 'd' típus már a nucleus tractus solitarii ereire volt jellemző, amelyek az area postrema ereivel összefüggenek (ld. 5D ábra, ill. Roth és Yamamoto 1968). A 'c' típus itt is az átmenetet képviselte, ritkán, az area postrema és a nucleus tractus solitarii határán volt található. Itt is megfigyelhető volt (inkább a szagittális metszeteken) egy zonális elrendeződés, melyben az 'a-d' típusú erek kaudoventrális irányban haladva nagyjából koncentrikus zónákként helyezkedtek el.

Az area postrema ereit körülvevő perivaszkuláris üröket már több szerző leírta (Dempsey 1973; Gross 1991; Willis és mtsai 2007). Gross (1992) az itteni ereket zömükben III. típusúnak írta le, míg a nucleus tractus solitarii ereit – mint általában az

agyi ereket – II. típusúnak. Az I. típusúak az átmeneti szakaszt képviselték. Tehát itt is fellelhető a párhuzam az immunhisztokémiai festődéssel talált típusokkal. Az extracelluláris mátrix vizsgálatok látott 'lyukak' átlátszó középrésze megfelel az erek lumenének, míg a halvány peremük jelöli a – korántsem üres, ld. 14C elektronmikroszkópos felvétel - perivaszkuláris teret.

A szerv kaudális végén, széles 'gödörben' belépő nagyobb ér (ld. 15A ábra) nyilván az, amit Gross és mtsai (1990) egyik képén felfedezhetünk. Ez az elrendeződés tkp. megfelel az SFO-ban látott középső 'lyuknak' (ld. pl. 9A ábra) ill. az OVLT rostrális felszínén lévő 'gödörnek' (ld. pl. 22A ábra).

5.3.2. 'Gliasövény' az area postrema határán – mint az SFO 'héja'?

Az area postrema ventrolaterális határán általunk látott 'gliasövényhez' hasonlókat többek is leírtak (Fodor és mtsai 2007; Pecchi és mtsai 2007; Willis és mtsai 2007; Wang és mtsai 2008; Maolood és Meister 2009). Megfelelhet az area postremát az alacinerától elválasztó funiculus separansnak (így nevezi pl. McKinley és mtsai 2003), bár azt tkp. endyma-megvastagodásként írják le, ld. Berry és mtsai (1995). Mások (pl. Fodor és mtsai 2007) mutatják ugyan ábrájukon a 'sövényt', de nem jelölik külön névvel, hanem mintegy az area subpostrema részeként írnak róla. (Itt említenénk meg, hogy az area postremának a Bevezetésben - ld. 1.9. fejezet - említett alegységeit immunfestéseinkkel nem tudtuk elkülöníteni.)

Több szerző felvetette (Gross 1991; Willis és mtsai 2007; Wang és mtsai 2008), hogy ez a 'gliasövény' barrier zóna a vérből kilépett anyagoknak a környező agyszövet felé történő diffúziója számára. Wang és mtsai (2008) ill. Maolood és Meister (2009) leírták a tight junction-fehérje ZO-1 immunreaktivitását ezen a területen. Ezzel függhet össze, hogy az area postrema ventrolaterális határvonalán, ahol a gliasövény van, egyes extracelluláris mátrix markerekkel is erősen jelölődött.

Pecchi és mtsai (2007) leírták, hogy az area postrema 'gliasövényét' endymális eredetű, hosszú, párhuzamos glianyúlványok alkotják, tehát ebben eltér az SFO 'héjától'. A glianyúlványok dorzokaudálisan hajlanak hátrafelé, úgyhogy a frontális síkban a keresztmetszetük látható. Az említett szerzők úgy vélik, ezek össze-
 tek

vándorlását irányíthatják a 'dorsal vagal complex' (ld. 1.9. fejezet) általuk feltételezett sejtmeújulási folyamatai során.

A 'sövényt' keresztező, az imént tárgyalt glianyúlványokra merőleges másik rendszer (ld. 17B ábra) kapcsolatot létesíthet a nucleus tractus solitarii sejtjei és az area postrema erei között. Emlékeztet az SFO-nál látott, a héj felől a magba futó nyúlványokra, de csak GFAP-immunreaktivitást mutat, vimentinét nem. Néhány megfigyelt sejttest arra utal, hogy nem endimális eredetűek, hanem 'parenchimális' asztrocitákból erednek. Az area postrema területére a határoló glisövényből benyúló GFAP-immunreaktív asztrocitanyúlványokat Fodor és mtsai (2007) is említnek.

5.3.3. GFAP akvaporinnal, vimentin nesztinnel kolokalizál, de egyaránt előfordulnak a 'sövényben'

Az area postremában a GFAP- és a vimentin-immunpozitív gliaelemek nem különülnek el, ami szemben áll az SFO-ban tapasztaltnal, akárcsak az, hogy a 'sövényben' a vimentin-immunpozitivitás is sűrűbb, mint a szerv belsejében. Nesztin viszont itt is a vimentinnel, míg akvaporin-4 csaknem kizárólag a GFAP-val mutat kolokalizációt. Az akvaporin-4 a 'belterületen' jobbra csak az erek körül fordul elő, és ott sem mindig folytonosan, akárcsak az SFO-nál.

Az akvaporin-4-immunreaktivitást az area postrema területén munkacsoportunkból Goren és mtsai (2006) már korábban kimutatták, a nesztin jelenlétét pedig Bauer és mtsai (2005) ill. Pecchi és mtsai (2007).

5.3.4. Nem minden eret vesznek körül GFAP- ill. vimentin-immunreaktív nyúlványok

Az area postrema belsejében, eltérően az SFO 'magjától', nem minden eret vette körül GFAP- ill. vimentin-immunreaktív nyúlványok, és a vimentin és a GFAP immunreaktivitása gyakran mutatott kolokalizációt. Az erek körüli asztrocitanyúlványok GFAP-immunreaktivitásáról írtak D'Amelio és mtsai (1985, macskán) ill. Hajós és Kálmán (1989), vimentin-immunreaktivitásáról Pecchi és mtsai (2007), de kolokalizációt tudunkkal nem vizsgáltak. Az említett szerzők is úgy találták, hogy a GFAP- ill. vimentin-immunreaktív elemek, beleértve a perivaszkuláris nyúlványokat is,

nincsenek jelen olyan nagy számban az area postrema belsejében, mint az azt határoló 'gliasövetben', és az ereket sem határolják olyan összefüggően. Hasonló különbség van az SFO 'héjában' és 'magjában'.

5.3.5. Az endimaborítás

Az SFO-hoz hasonlóan az area postremat borító lapos endimasejtek S100- és vimentin-immunreaktívak, és akvaporin-4 nem mutatható ki bennük. A szervet fedő endimából nyúlványok a szerv belsejébe nem, csak a felszínhez közeli erekhez haladtak. Nem találtunk a felszíni endimából eredő hosszú, vimentin-immunreaktív nyúlványokat, amelyeket Berry és mtsai (1995), ill. Langlet és mtsai (2013) említenek. Pecchi és mtsai (2007) szintén kiemelték, hogy tanicitaszerű nyúlványokat az area postrema területén csak a sövényben figyeltek meg, az általa határolt területen nem.

5.3.6. S100 és glutamin-szintetáz

A glutamin-szintetáz immunpozitív sejtek száma az SFO-hoz hasonlóan kevés, és a dorzolateralis szöglet körül található. Kevés ilyen sejtet találtak D'Amelio és mtsai is (1987, macskában). Berger és Hediger (2000) viszont erős GLAST és gyenge GLT-1 reakciót kaptak (mRNS-sel és immunhisztokémiai reakcióval is) az area postrema területén.

Bauer és mtsai (2005) S100-immunreaktivitást bemutató felvételén a mi eredményeinkhez nagyon hasonló S100 eloszlást láthatunk, nem csak a sövénynek megfelelően, hanem a szerv egész területén. A szerv belsejében lévő sejtek nagy része azonban nem mutatott GFAP- illetve vimentin-immunreaktivitást.

5.4. OVLT

5.4.1. Erek – fellelhetők az SFO-nál látott típusok

Az OVLT közepén látott 'gödör' hasonlít ahhoz, amit az SFO-ban láttunk. pereme laminin- és β -disztroglikán-immunreaktivitást mutatott, annak megfelelően, hogy agyállomány (ti. a lamina terminalis) piális felszíne alkotta. A 'gödörben' (azaz

tkp. még az agyszöveten kívül) lévő erek megfelelnek az OVLT ún. 'külső' kapilláris fonatának (Yamaguchi és mtsai 1993; McKinley és mtsai 2003; Duvernoy és Risold 2007), amelyet az arteria preoptica rövidebb ágai táplálnak. A 'gödörből' szétsugárzó erek alkotják a szerv 'belső' kapilláris fonatát mely patkányban, sok más fajjal (pl. nyúl, kutya, galamb, cerkófmajom) ellentétben gyér, néhány egyszerű lefutású kapillárisból áll (Yamaguchi és mtsai 1993; McKinley és mtsai 2003; Duvernoy és Risold 2007). Ezekben az erekben laminin és β -disztruglikán immunfestésével megfigyelhetők az SFO-ban leírt 'a-d' típusú érszakaszok, bár a szakaszok gyakorisága (azaz: hossza) eltérő volt, főleg az 'a' volt ritka (ld. 24B-D ábrák).

5.4.2. Gliaszervezet: kétféleképpen is felosztható két populációra

a) Az egyik felosztás szerint az egyik csoportot a 'posterior periventricular' alegységet kitöltő rövidebb glianyúlványok képezik, melyek nagyrészt az OVLT endimasejtjeiből származnak, és a 'gödör' ill. az erek felszínéhez húzódnak. Ezek vimentin-immunreaktivitást mutattak, de GFAP-ét ritkán. A nyúlványok másik része hosszabb lefutású, a 3. kamrának az OVLT-től dorzokaudálisan elhelyezkedő falától érkezik, és a 'dorsal cap'-be ill. a 'lateral periventricular' alegységbe konvergál. A vimentin-immunreaktivitást mutató nyúlványok endimasejtkekből erednek és nagy részük nesztint is tartalmaz. A GFAP-immunreaktivitást mutató nyúlványok csillag alakú szubependimális parenchimális sejtekből erednek. Vimentin-GFAP kolokalizációt keveset láttunk. Az említett, hosszú nyúlványokból álló rendszer a kamra oldalfalának ereihez is küld oldalágakat, ami hozzájárulhat e területek és az OVLT közötti funkcionális kapcsolathoz (erről a kapcsolatról ld. Johnson és Loewy 1990).

b) A másik felosztás szerint, figyelembe véve a nesztin és az akvaporin-4 eloszlását is, az OVLT-ben is elkülöníthetünk egy vimentin-nesztin tartalmú gliapopulációt, a 'vascular' alegység körül, és egy ezt körülvevő GFAP-akvaporin-4 tartalmú populációt. A GFAP-akvaporin-4 szegény területen az azt borító lapos endimasejtek sem mutattak akvaporin-4-immunreaktivitást, valamint főleg itt fordultak elő a laminin-immunpozitív erek. Ez az eloszlás emlékeztet az SFO 'mag-héj' eloszlására. Ezt erősíti, hogy az OVLT laterális zónája és a 'dorsal cap' (vagyis az akvaporin-4 tartalmú részek) állnak kapcsolatban az ozmopercepcióval és a só-víz

háztartással szabályozásával (Bisley és mtsai 1996; McKinley és mtsai 2003). Az extracelluláris mátrix-markerek immunreaktivitása az OVLT-ben a 'posterior periventricular' alegységet jelölte.

Az általunk vizsgált egyes gliamarkerek jelenlétét kimutatták pl. Bennett és mtsai (2009 - S100, nesztin, GFAP), ill. Langlet és mtsai (2013 - vimentin, GFAP), munkacsoportunkból Goren és mtsai (2006 - akvaporin, GFAP), azonban nem tárgyalták az immunreaktív sejtek eloszlását a szerv különböző alegységeiben.

Több szerző beszámolt taniciták jelenlétéről az OVLT-ben (összefoglalásért ld. pl. McKinley és mtsai 2003; Sisó és mtsai 2010; Langlet és mtsai 2013). Leírtak tanicitákat, melyek paliszádszerűen elrendeződve végtalpakat formáltak a perivaszkuláris tér körüli parenchimális lamina basalison (Weindl 1973; Bouchaud és Bosler 1986), illetve elválasztották a periventrikuláris kompartment 'belső' ereit a 'külső', intrapiális kapilláris fonattól (Krisch és mtsai 1987). Ezek a sejtek legalábbis részben endimálisak, de Weindl (1973) 'subependymal tanocytes'-ről is ír. Tudomásunk szerint azonban nincs korábbi adat arról, hogy az OVLT területén látható glianyúlványok egy része a 3. kamra falának távolabbi területeiről konvergálva fut az OVLT-hez.

5.5. Eminentia mediana

5.5.1. A szubependimális és a szubpiális érfonat összehasonlítása

Az eminentia mediana bazális részén látható piális betüremkedésekben talált kapillárisokat Gross (1992) fenesztráltságuk alapján, az SFO-nál már említett terminológia szerint III. típusú kapillárisoknak tartotta. Anyagunkban ezeket β -disztroglikán- és kettős, laminin-immunpozitív rétegek határolják, hasonlóan az SFO-ba, OVLT-be és area postrema-ba lépő erekhez.

A szubependimális erek egy része körül tapasztalt laminin-immunreaktivitás arra utal hogy ezek az erek is inkább 'cirkumventrikuláris szerv'-, mintsem 'agyi' típusúak. Ugyanakkor Gross (1992) viszont ugyanitt általában fenesztrációt és perivaszkuláris rést nem tartalmazó, 'agyi'-, II. típusú ereket írt le. Lehetséges, hogy ebben az esetben a kétféle értípus tkp. ugyanannak az érnek kétféle morfo-funkcionális állapotának felel

meg. Mint ábráink mutatják, azok az erek, amelyek az előző két rendszert összekötik, ritkán voltak megfigyelhetők.

5.5.2. Két gliapopuláció – három zóna

A gliaszerkezet szerint elkülönül három zóna, melyeket összhangba lehet hozni Weindl (1973) leírásával a szerv endimális, fibrózus-retikuláris és paliszád zónáiról. Tkp. ennek megfelelő hármass rétegződést mutatnak az erek is, ld. fent. Ezt a három zónát két elkülönült gliapopuláció kombinálódása hozza létre: a vimentin-immunpozitív taniciták endimális sejtestjei határozzák meg a belsőt, míg a külsőt seprűszerű nyúlványaik 'paliszádjá' a piális lamina basalison. A középső zónát GFAP-immunpozitív asztrociták töltik ki, a kevés áthaladó vimentin-immunpozitív nyúlvány mellett.

Chauvet és mtsai (1995) már leírták e két gliapopuláció meglétét. A középső, GFAP-gazdag zónát mások is kiemelik, pl. Goren és mtsai (2006), Langlet és mtsai (2013). A taniciták szerkezetének egy nem régi összefoglalásáért ld. pl. Rodriguez és mtsai (2005) munkáját, akik szerint a seprűszerűen elágazók a β -2 típusúak, viszont a széli helyzetű β -1 típusúak felelősek a térség határolásáért a környező agyszövet felé. Ilyen határ létezéséről már Réthelyi (1984) is írt.

Az, hogy néhány asztrocita GFAP-immunpozitív nyúlványa is eléri a lamina basalist, kissé oldja a két rendszer szigorú szétválását. Ennek felelhet meg, hogy de Vitry (1981) említ GFAP-pozitív 'tanicitákat' is, Záborszky és Schiebler (1978) pedig 'asztrocitaszerű' tanicitákat írtak le: asztrocita-test, de tanicitaszerű hosszú nyúlvány.

5.5.3. Akvaporin-4 és GFAP ill. nesztin és vimentin tartalmú gliapopulációk elkülönülése

Frigeri és mtsai (1995) az általunk látotthoz hasonló eloszlású akvaporin-4 immunreaktivitást közöltek. Az akvaporin-4 és a GFAP-immunreaktivitás egybeeséséről írtak Langlet és mtsai (2013), ill. munkacsoportunkban Goren és mtsai (2006).

Jelen vizsgálatunkban kimutattuk, hogy csak a GFAP-immunreaktív asztrocitákban található akvaporin-4-immunreaktivitás míg a vimentin-immunreaktív tanicitasejtek akvaporin-4 mentesek. Fontosnak tartjuk kiemelni, hogy az eminentia mediana piális felszínének ereket tartalmazó, laminin- és β -disztroglikán-immunpozitív betüremkedéseit nem vette körül akvaporin-4-immunreaktivitás, leszámítva néhány nyúlványt, ami ellentétes az agyi erekben és a piális felszínen általában tapasztaltakkal.

A nesztin ugyanakkor a vimentinnel, nem pedig a GFAP-val mutatott kolokalizációt. A nesztin-immunreaktivitás alapján Rojczyk-Gołębowska és mtsai (2014) az eminentia medianát úgy értékelik, mint a neurogenesis egyik helyét felnőttben.

5.5.4. Egyéb markerek eloszlása a három rétegnek megfelelően

A glutamin-szintetáz-immunreaktivitás a középső rétegre szorítkozik, de ott is kevés sejtet jelöl, hasonlóan Okere és Waterhouse (2004) eredményeihez. Berger és Hediger (2000, 2001) kétféle glutamát transzportert vizsgálva az eminentia mediana területén megállapította, hogy GLT-1 eloszlása megfelelt az asztrocita sejtekének, míg GLAST eloszlása a kamrafal egész vastagságára kiterjedt, ami arra utal, hogy a taniciták (is) tartalmazhatják.

Az S100-immunreaktivitás elsősorban a középső réteget jelölte, de tanicitákat is. Utóbbi többet is észlelték, pl. Kameda (1996) ill. Guerra és mtsai (2010), míg Cummings és Brunjes (1995) az S100-immunreaktivitást az asztrocitáknak tulajdonította.

Bizonyos extracelluláris mátrix-fehérjék (brevikán, ld. 40B ábra ill. neurokán, nem mutatjuk) eloszlása az eminentia mediana területén inkább az asztrocita populációéval megegyezőnek tűnt. Másoké (verzikán, tenascin-R) az egész szervre kiterjed, de respektálja a betüremkedő, értartalmú 'kesztyűujjak' területét (ld. 40A és 42. ábrák, vö. 30C ábrával).

5.6. Neurohipofízis

5.6.1. Lamina basalis 'kettősfalú' labirintusa: erek számára képződött betüremkedések a neurohipofízisben

A laminin elleni immunhisztokémiai reakció nyomán kirajzolódó, a meningeális felszín betüremkedései által létrehozott labirintus megfelelt a más cirkumventrikuláris szervekben leírt perivaszkuláris üröknek. A bennük elhelyezkedő erek utrofin-immunreaktivitása párhuzamba állítható azzal, amit másutt a Virchow-Robin ürökben láttunk. Az erek tkp. behatolnak a szervbe, de mégsem: különállók maradnak annak parenchimájától, ahogy erre már korábban elektronmikroszkópos megfigyelések utaltak (Tweedle és Hatton 1987), melyek szerint az erekkel kapcsolatot létesítő axonvégzódások átnyúlnak a lamina basalison. A β -disztroglikán elhelyezkedése a lamina basalis-labirintus parenchimális oldalán megfelelt a meningeális gliavégtaglak helyzetének. A más szerveknél talált 'a-d' festődési típusok közül a neurohipofízis ereire csak a 'b' típus jellemző. Az $\alpha 1$ -disztrobrevin (a disztroglikán-komplexum tagja, ld. 1.5. fejezet) immunreaktivitásának teljes hiánya a tobozmirigy erein kívül csak a neurohipofízisre jellemző. Az agyi érhálózatot teljesen kijelöli az $\alpha 1$ -disztrobrevin-immunreaktivitás (Blake és mtsai 1998; Ueda és mtsai 2000; Kálmán és mtsai 2011), nem található meg viszont a meningeális erekben, ahogyan a β -disztroglikáné sem. A neurohipofízis erei mintegy keverten mutatják az agyi és az agyon kívüli erek sajátosságait. Az erek hálózatát látszottak kirajzolni az extracelluláris mátrix általunk vizsgált összetevői közül a brevikán, a verzikán, a neurokán és a tenaszcin-R is.

5.6.2. Az akvaporin-4 eloszlása nem esik egybe az erekkel

Talán ebben a szervben volt leginkább szembetűnő az akvaporin-4 eloszlásának az erektől, ill. a membrana basalis-labirintus mentén elhelyezkedő β -disztroglikántól való függetlensége. Az agyszövetben tapasztaltakkal (Nielsen és mtsai 1997; Goren és mtsai 2006) ellentétben az akvaporin-4-immunreaktivitás nem ereket rajzolt ki, hanem asztrocitaszerű sejteket jelölt, elsősorban a neurohipofízis peremén. A sejtek legnagyobb része ott fordult elő, ahol a neurohipofízis az intermedier lebennyel érintkezett - ennek funkcionális jelentőségére egyelőre nincs elképzelésünk. Ez utóbbi,

ill. a vaszkuláris akvaporin-4-immunreaktivitás hiánya szintén új eredmény, az akvaporin-4 jelenlétét kimutatták Kuwahara és mtsai (2007), akik az erekben akvaporin-1-et találtak.

5.6.3. Gliamarkerek a neurohipofízisben

Korábbi vizsgálatokkal összhangban a neurohipofízis sejtjes elemei immunpozitívnak bizonyultak asztroglia markerekkel: GFAP (Marin és mtsai 1989; Redecker és Morgenroth 1989), S100 (Marin és mtsai 1989) és glutamin-szintetáz (Shirasawa és Yamanouchi 1999). A mi eredményeink szerint azonban GFAP és glutamin-szintetáz a sejtek kisebb részében fordult elő, mint S100. A GFAP-immunreaktív sejtek, amelyek feltételezések szerint megfelelnek a klasszikus 'pituicitáknak' (Suess és Pilska 1981), ezek szerint a gliának csak egy részét képviselik.

5.7. Tobozmirigy

5.7.1. Az agyi erek és a tobozmirigy erei közötti különbségek

A tobozmirigyben a különálló vaszkuláris és parenchimális lamina basalisok kimutatása összhangban van az elektronmikroszkópos adatokkal (Vollrath 1981) és azzal a vélekedéssel, hogy a tobozmirigy is cirkumventrikuláris szerv (Palkovits 1986; Vigh és mtsai 2004). Az is különbség az agyi erekhez képest, hogy a tobozmirigy erei körül ill. köztük 'hálózat' helyezkedik el lamininból, és kis szárnyaszerű laminin-immunreaktív kitüremkedések kapcsolják össze őket. Ehhez hasonlóan a tenascin-R és a lektikánok elleni immunhisztokémiai reakcióval ill. a WFA-kötéssel is ábrázolódik vékony rostrendszer az erek között. A tobozmirigy erei a neurohipofíziséhez hasonlóan viselkednek az utrofín ill. az α 1-disztrobrevin elleni immunfestés alkalmazásakor, valamint az 'a-d' festődési típusok közül ezekre is csak a 'b' típus jellemző.

5.7.2. A vizsgált markerek egyenlőtlen eloszlása: proximális és distalis rész

A GFAP- és az akvaporin-4 immunreaktivitása kb. azonos területen oszlott el, a szerv proximális részén, vagyis a szervet az agyhoz kötő vékony kocsány felőli oldalon,

míg a neurofilamenté az ellenkező oldalon volt kimutatható. Az akvaporin-4 eloszlása e szervben sem annyira az ereket rajzolta ki, hanem inkább az asztrocitákat. Az extracelluláris mátrix összetevői közül a tenascin-R, verzikán, neurokán és brevikán szintén a szerv proximális részére koncentrált. A neurofilamenttel és az extracelluláris mátrix összetevőkkel kapcsolatos eredmények újak tekinthetők, a GFAP egyenlőtlen eloszlása már ismert volt (López-Muñoz és mtsai 1992) akárcsak az akvaporin-4-é, utóbbit szintén munkacsoportunkban írták le először (Goren és mtsai 2006).

Az S100 eloszlása közel egyenletes volt a szervben - korábbi vizsgálatok már lokalizálták az ún. intersticiális sejtekben (Møller és mtsai 1978b; Calvo és mtsai 1988) – akárcsak a glutamin-szintetázé (ld. még Krstić és Nicolas 1992). A mi eredményeinkkel szemben vimentint is kimutattak López-Muñoz és mtsai (1992) ill. Sakai és mtsai (1996), és jelenlétét éretlen asztrocitáknak tulajdonították. Nesztint sem tudtunk kimutatni, és irodalmi adatot sem találtunk, sem hiányáról, sem meglétéről.

6. Következtetések

Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés alapján 4 különböző érszakaszt figyeltünk meg, amelyek a perivaszkuláris rés fokozatos beszűkülésének felelhetnek meg, és általában zonális elhelyezkedést mutattak.

A laminin-immunpozitív erek egyben, az agyi erekkel szemben utrofin-immunpozitivitást is mutattak, az α 1-disztrobrevin immunreaktivitása szintén kirajzolta őket, mint az agyi ereket általában, kivéve a tobozmirigy és a neurohipofízis ereit. Az ilyen erek általában laza perivaszkuláris gliát és nem összefüggő akvaporin-4-immunreaktivitást mutattak.

Az akvaporin-4 immunreaktivitása általában inkább az erektől függetlenül helyezkedett el, eltérően az agy többi területétől.

Jól elkülönült egy GFAP-akvaporin-4 és egy vimentin-nesztin tartalmú terület az SFO-ban ('mag' ill. 'héj' kirajzolódása), az OVLT-ben és az eminentia medianában, viszont az area postremában nagyrészt átfedték egymást.

Aránylag kevés glutamin-szintetáz-immunpozitív sejtet, de sok S100-immunpozitív (de GFAP negatív) sejtet találtunk. Az SFO-ban az S100 eloszlása is kirajzolt egy 'héjat'.

A tanicitaszerű, hosszú glianyúlványok kialakításában nem csak ependimális, hanem parenchimális sejtek is részt vesznek.

A vizsgált extracelluláris mátrix-összetevők, az aggregán kivételével, általában kijelölték a szervek, illetve alegységeik területét. Klasszikus perineuronális hálókat nem láttunk azokban a szervekben sem, amelyek tartalmaznak idegsejttesteket.

7. Összefoglalás

A vizsgált cirkumventrikuláris szervek kívül esnek a vér-agy gáton: organum vasculosum laminae terminalis (OVL), szubfornikális szerv (SFO), eminentia mediana, area postrema, tobozmirigy és neurohipofízis. Lektin- és immunhisztokémiai módszerekkel - beleértve kettősjelzések használatát és a konfokális mikroszkópia nyújtotta három dimenziós rekonstrukció lehetőségét is – vizsgáltuk a fenti szervek gliaszervezetét, gliovaszkuláris kapcsolatait és extracelluláris mátrix összetételét.

Laminin- β -disztroglikán kettősjelzés alapján 4 különböző érszakaszt figyeltünk meg, amelyek a perivaszkuláris rés fokozatos beszűkülésének felelhetnek meg, és általában zonális elhelyezkedést mutattak.

A laminin-immunpozitív erek egyben, az agyi erekkel szemben utrofin-immunpozitivitást is mutattak. Az α 1-disztrobrevin immunreaktivitása szintén kirajzolta őket, mint az agyi ereket általában, kivéve a tobozmirigy és a neurohipofízis ereit. Az ilyen erek általában laza perivaszkuláris gliát és nem összefüggő akvaporin-4-immunreaktivitást mutattak.

Az akvaporin-4 immunreaktivitása általában inkább az erektől függetlenül helyezkedett el, eltérően az agy többi területétől.

Jól elkülönült egy GFAP-akvaporin-4 és egy vimentin-nesztin tartalmú terület az SFO-ban ('héj' és 'mag'), az OVL-ben és az eminentia medianában, viszont az area postremában nagyrészt átfedték egymást. Az SFO-ban számos esetben ugyanazon ér körüli nyúlványokban sem mutatott a GFAP és a vimentin kolokalizációt, ami eltérő funkcióra utal.

Aránylag kevés glutamin-szintetáz-immunpozitív sejtet, de sok S100-immunpozitív (de GFAP negatív) sejtet találtunk. Az SFO-ban az S100 eloszlása is kirajzolt egy 'héjat'.

A tanicitaszerű, hosszú glianyúlványok kialakításában nem csak endimális, hanem parenchimális sejtek is részt vesznek.

A vizsgált extracelluláris mátrix-összetevők, az aggregán kivételével, általában kijelölték a cirkumventrikuláris szervek, illetve alegységeik területét. Klasszikus perineuronális hálókat nem láttunk azokban a szervekben sem, amelyek tartalmaznak idegsejttesteket.

8. Summary

The glial architecture, the gliovascular connection and the extracellular matrix composition were examined in circumventricular organs lacking the blood-brain barrier (organum vasculosum laminae terminalis – OVLT, subfornical organ – SFO, median eminence, area postrema, pineal body, neurohypophysis). We applied lectin- and immunohistochemistry, including fluorescent double labeling and 3 dimensional reconstruction by using confocal laser scanning microscopy.

Based on laminin- β -dystroglycan double labeling 4 different vessel types can be distinguished, which may correspond to the gradual tightening of the perivascular space, and usually showed zonal distribution.

The laminin-immunopositive vessels in the same time, contrary to brain vessels in general showed also utrofin-immunopositivity. The immunoreactivity of α 1-dystrobrevin also delineated them, as well as the brain vessels in general, except for those of the pineal body and the neurohypophysis. Such vessels usually had loose perivascular glia and discontinuous aquaporin-4-immunoreactivity.

The immunoreactivity of aquaporin-4 was mainly localized apart from the vessels, contrary to what is seen in other brain regions.

There is a well separated GFAP-aquaporin-4 containing territory and another vimentin-nestin containing one in the SFO ('shell' and 'core'), OVLT and median eminence, but in the area postrema these territories usually overlap. In the SFO there were many cases where GFAP and vimentin was not found to be colocalized even in the same vessels' perivascular processes, what suggests different function.

Relatively few glutamine synthetase-immunopositive-, but many S100-immunopositive (but GFAP-negative) cells were found. In the SFO the distribution of S100 also delineated a 'shell'.

The tanycyte-like long glial processes belonged not just to ependymal- but also to parenchymal cell bodies.

The extracellular matrix components investigated, except for aggrecan, usually marked the circumventricular organs or their subdivisions. Classical perineuronal nets were not found even in those organs which contain neuronal cell bodies.

9. Irodalomjegyzék

- Abbott NJ. (2002) Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J Anat*, 200: 629-638.
- Abbott NJ. Morphology of non-mammalian glial cells: functional implications. In: Kettenmann H, Ransom BR (szerk.), *Neuroglia*. Oxford University Press, New York, 1995: 97-116.
- Ae Seo I, Kyoung Lee H, Mi Park Y, Jin Ahn K, Tae Park H. (2007) Acute changes of nidogen immunoreactivity in the basal lamina of the spinal cord vessels following dorsal hemisection without correlative changes of nidogen gene expression. *Acta Histochem*, 109: 446-453.
- Ajmo JM, Eakin AK, Hamel MG, Gottschall PE. (2008) Discordant localization of WFA reactivity and brevican/ADAMTS-derived fragment in rodent brain. *BMC Neurosci*, 9:14.
- Akert K, Potter HD, Andreson JW. (1961) The subfornical organ in mammals. I. Comparative and topographical anatomy. *J Comp Neurol*, 116: 1-13.
- Amiry-Moghaddam M, Otsuka T, Hurn PD, Traystman RJ, Haug FM, Froehner SC, Adams ME, Neely JD, Agre P, Ottersen OP, Bhardwaj A. (2003) An a-syntrophin-dependent pool of AQP4 in astroglial end-feet confers bidirectional water flow between blood and brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 2106-2111.
- Anlar B, Gunel-Ozcan A. (2012) Tenascin-R: role in the central nervous system. *International J Biochem Cell Biol*, 44: 1385-1389.
- Armulik A, Abramsson A, Betsholtz C. (2005) Endothelial/pericyte interactions. *Circ Res*, 97: 512-523
- Aumailley M, B. Gayraud B. (1998) Structure and biological activity of the extracellular matrix. *J Mol Med (Berl.)*, 76: 253-265.
- Badaut J, Regli L. (2004) Distribution and possible roles of aquaporin 9 in the brain. *Neuroscience*, 129: 971-981
- Bannister LH. Cells and tissues. In: Williams PM (a szerkesztő bizottság elnöke), *Gray's Anatomy*. Churchill Livingstone, London, 1995: 17-90.

- Bär T, Wolff JR. (1972) The formation of capillary basement membranes during internal vascularization of the rat's cerebral cortex. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 133: 231–248.
- Barraco R, el-Ridi M, Ergene E, Parizon M, Bradley D. (1992) An atlas of the rat subpostremal nucleus tractus solitarius. *Brain Res Bull*, 29: 703-65.
- Bauer S, Hay M, Amilhon B, Jean A , Moyses E. (2005) In vivo neurogenesis in the dorsal vagal complex of the adult rat brainstem. *Neuroscience*, 130 (1): 75-90.
- Bennett L, Yang M, Enikolopov G, Iacovitti L. (2009) Circumventricular organs: a novel site of neural stem cells in the adult brain. *Mol Cell Neurosci*, 41 (3): 337-347.
- Berger UV, Hediger MA. (2000) Distribution of the glutamate transporters GLAST and GLT-1 in rat circumventricular organs, meninges, and dorsal root ganglia. *J Comp Neurol*, 421 (3): 385-99.
- Berger UV, Hediger MA. (2001) Differential distribution of the glutamate transporters GLT-1 and GLAST in tanycytes of the third ventricle. *J Comp Neurol*, 433 (1): 101-14.
- Berry MM, Standring SM, Bannister LH. Nervous system. In: Williams PM (a szerkesztő bizottság elnöke), *Gray's Anatomy*. Churchill Livingstone, London, 1995: 901-1397.
- Bignami A, Hosley M, Dahl D. (1993) Hyaluronic acid and hyaluronic acid-binding proteins in brain extracellular matrix. *Anat Embryol (Berl.)*, 188: 419-433.
- Bisley JW, Rees SM, McKinley MJ, Hards DK, Oldfield BJ. (1996) Identification of osmoresponsive neurons in the forebrain of the rat: a Fos study at the ultrastructural level. *Brain Res*, 720 (1-2): 25-34.
- Blake DJ, Nawroztzki R, Loh NY, Gorecki DC, Davies KE. (1998) β -dystrobrevin, a member of the dystrophin-related protein family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95:241-246.
- Bouchaud C, Bosler O. (1986) The circumventricular organs of the mammalian brain with special reference to monoaminergic innervation. *Int Rev Cytol*, 105: 283-327.
- Bouchaud C, Le Bert M, Dupouey P. (1989) Are close contacts between astrocytes and endothelial cells a prerequisite condition of a blood-brain barrier? The rat subfornical organ as an example. *Biol Cell*, 67: 159-165.
- Brückner GR, Grosche J, Hartlage-Rübsamen M, Schmidt S, Schachner M. (2003) Region and lamina-specific distribution of extracellular matrix proteoglycans,

hyaluronan and tenascin-R in the mouse hippocampal formation. *J Chem Neuroanat*, 26: 37-50.

Caley DW, Maxwell DS. (1970) Development of the blood vessels and extracellular spaces during postnatal maturation of rat cerebral cortex. *J Comp Neurol*, 138: 31-48.

Calvo J, Boya J, Borregon A, Garcia-Mauriño JE. (1988) Presence of glial cells in the rat pineal gland: a light and electron microscopic immunohistochemical study. *Anat Rec*, 220: 424-428.

Celio MR, Spreafico R, De Biasi S, Vitellaro-Zuccarello L. (1998) Perineuronal nets: past and present. *Trends Neurosci*, 21: 510-515.

Chauvet N, Parmentier ML, Alonso G. (1995) Transected axons of adult hypothalamo-neurohypophysial neurons regenerate along tanycytic processes. *J Neurosci Res*, 41 (1): 129-44.

Clarke SR, Shetty AK, Bradley JL, Turner DA. (1994) Reactive astrocytes express the embryonic intermediate neurofilament nestin. *Neuroreport*, 5: 1885-1888.

Colognato H, Yurchenko PD. (2000) Form and function: The laminin family of heterotrimers. *Devel Dyn*, 218: 213-231.

Condorelli DF, Nicoletti VG, Barresi V, Conticello SG, Caruso A, Tendi EA, Giuffrida-Stella AM. (1999) Structural features of the rat GFAP gene and identification of a novel alternative transcript. *Neurosci Res J*, 56: 219-228.

Correale J, Villa A. (2009) Cellular elements of the blood brain barrier. *Neurochem Res*, 34: 2067-2077.

Costa CR, Tortosa R, Domènech A, Vidal EM, Pumarola M, Bassols A. (2007) Mapping of aggrecan, hyaluronic acid, heparan sulphate proteoglycans and aquaporin 4 in the central nervous system of the mouse. *J Chem Neuroanat*, 33: 111-123.

Culligan K, Ohlendieck K. (2002) Diversity of the brain dystrophinglycoprotein complex. *J Biomed Biotechnol*, 2: 31-36.

Cummings DM, Brunjes PC. (1995) Migrating luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neurons and processes are associated with a substrate that expresses S100. *Brain Res Dev*, 88 (2): 148-57.

Dahl D, Björklund H, Bignami A. Immunological markers in astrocytes. In: Fedoroff S, Vernadakis A (Eds.), *Astrocytes: cell biology and pathology of astrocytes*. Acad Press, New York, 1986: 1-27.

- Dahl D, Rueger DC, Bignami A, Weber K, Osborn M. (1981) Vimentin, the 57 000 molecular weight protein of fibroblast filaments, is the major cytoskeletal component in immature glia. *Eur J Cell Biol*, 24: 191-196.
- D'Amelio FE, Gibbs MA, Mehler WR, Eng LF. (1985) Immunocytochemical localization of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the area postrema of the cat. Light and electron microscopic study. *Brain Res*, 330 (1): 146-9.
- D'Amelio FE, Mehler WR, Gibbs MA, Eng LF, Wu JY. (1987) Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase (GAD) and glutamine synthetase (GS) in the area postrema of the cat. Light and electron microscopy. *Brain Res*, 410: 232-244.
- Dellmann HD (1998) Structure of the subfornical organ: a review. *Microsc Res Tech*, 41: 85-97.
- Dempsey EW (1968) Fine-structure of the rat's intercolumnar tubercle and its adjacent ependyma and choroid plexus, with especial reference to the appearance of its sinusoidal vessels in experimental argyria. *Exp Neurol*, 22: 568-589
- Dempsey EW (1973) Neural and vascular ultrastructure of the area postrema in the rat. *J Comp Neurol*, 150: 177-199.
- de Vitry F, Picoret R, Jacque C, Tixier-Vidal A. (1981) Glial fibrillary acidic protein: A cellular marker in tanocytes in the mouse hypothalamus. *Dev Neurosci*, 4: 457-460.
- Didier M, Harandi M, Aguera M, Bancel B, Tardy M, Fages C, Calas A, Stagaard M, Møllgård K, Belin MF. (1986) Differential immunocytochemical staining for glial fibrillary acidic (GFA) protein, S-100 protein and glutamine synthetase in the rat subcommissural organ, nonspecialized ventricular ependyma and adjacent neuropil. *Cell Tissue Res*, 245: 343-351.
- Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, Geczy CL. (2013) Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med*, 13: 24-57.
- Dong Y, Han X, Xu Y, Dong B, Guo X, Hu G, Zhu C, Lu Y. (2004) Secreted brevican mRNA is expressed in the adult rat pituitary. *Biochem Biophys Res Commun*, 314: 745-748.
- Dow KE, Wang W. (1998) Cell biology of astrocyte proteoglycans. *Cell Mol Life Sci*, 54: 567-581.
- Duvernoy HM, Risold PY. (2007) The circumventricular organs: an atlas of comparative anatomy and vascularization. *Brain Res Rev*, 56 (1): 119-47.

- Eliasson C, Sahlgren C, Berthold CH, Stakeberg J, Celis JE, Betsholtz C, Eriksson JE, Pekny M. (1999) Intermediate filament protein partnership in astrocytes. *J Biol Chem*, 274: 23996-24006.
- Eng LF (1985) Glial fibrillary protein (GFAP): The major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes. *J Neuroimmunol*, 8: 203-214.
- Eriksdotter-Nilsson M, Björklund H, Olson L. (1986) Laminin immunohistochemistry: a simple method to visualize and quantitate vascular structures in the mammalian brain. *J Neurosci Meth*, 17: 275-286.
- Fodor M, Palkovits M, Gallatz K. (2007) Fine structure of the area subpostrema in rat. Open gate for the medullary autonomic centers. *Ideggyogy Sz*, 60 (3-4): 83-8.
- Franco SJ, Müller U. (2011) Extracellular matrix functions during neuronal migration and lamination in the mammalian central nervous system. *Dev Neurobiol*, 71: 889-900.
- Frigeri A, Gropper MA, Umenishi F, Kawashima M, Brown D. (1995) Localization of MIWC and GLIP water channel homologs in neuromuscular, epithelial and glandular tissues. *J Cell Sci*, 108: 2993–3002.
- Frisén J, Johansson CB, Torok C, Risling M, Lendahl U. (1995) Rapid, widespread, and long-lasting induction of nestin contributes to the generation of glial scar tissue after CNS injury. *J Cell Biol*, 131: 453-464.
- Galou M, Gao J, Humpert J, Mericskay M, Li Z, Paulin D, Vicart P. (1997) The importance of intermediate filaments in the adaptation of tissues to mechanical stress: evidence from gene knockout studies. *Biol Cell*, 89: 85-97.
- Gates MA, Thomas LB, Howard, EM, Laywell ED, Sajin B, Faissner A, Götz B, Silver J, Steindler DA. (1995) Cell and molecular analysis of the developing and adult mouse subventricular zone of the cerebral hemispheres. *J Comp Neurol*, 361: 249-266.
- Gáti G, Morawski M, Lendvai D, Jäger C, Négyessy L, Arendt T, Alpár A. (2010) Distribution and classification of aggrecan-based extracellular matrix in the thalamus of the rat. *J Neurosci Res*, 88: 3257-3266.
- 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: 155-172.
- Gross PM (1991) Morphology and physiology of capillary systems in subregions of the subfornical organ and area postrema. *Can J Physiol Pharmacol*, 69: 1010-1025.

- Gross PM (1992) Circumventricular organ capillaries. *Prog Brain Res*, 91: 219-233.
- Gross PM, Wall KM, Pang JJ, Shaver SW, Wainman DS. (1990) Microvascular specializations promoting rapid interstitial solute dispersion in nucleus tractus solitarius. *Am J Physiol*, 259: R1131-8.
- Guadagno E, Moukhles H. (2004) Laminin-induced aggregation of the inwardly rectifying potassium channel, Kir4.1, and the water-permeable channel, AQP4, via a dystroglycan-containing complex in astrocytes. *Glia*, 47: 138–149.
- Guerra M, Blázquez JL, Peruzzo B, Peláez B, Rodríguez S, Toranzo D, Pastor F, Rodríguez EM. (2010) Cell organization of the rat pars tuberalis. Evidence for open communication between pars tuberalis cells, cerebrospinal fluid and tanycytes. *Cell Tissue Res*, 339 (2): 359- 381.
- Haenggi T, Soontornmalai A, Schaub MC, Fritsch JM. (2004) The role of utrophin and Dp71 for assembly of different dystrophin-associated protein complexes (DPCs) in the choroid plexus and microvasculature of the brain. *Neuroscience*, 129: 403–413.
- Hajós F, Feminger A, Bascó E, Mezey É. (1982) Transport of horseradish peroxidase by processes of radial glia from the pial surface into the mouse brain. *Cell Tissue Res*, 224: 189-194.
- Hajós F, Halasy K. (1998) Pre- or postembedding immunocytochemistry: which to choose for the localization of glial fibrillary acidic protein (GFAP)? *Neurosci Meth J*, 8599-105.
- Hajós F, Kálmán M. (1989) Distribution of glial fibrillary acidic protein (GFAP)-immunoreactive astrocytes in the rat brain. II. Mesencephalon, rhombencephalon and spinal cord. *Exp Brain Res*, 78: 164-173.
- Hallmann R, Horn N, Selg M, Wendler O, Pausch F, Sorokin LM. (2005) Expression and function of laminins in the embryonic and mature vasculature. *Physiol Rev*, 85: 979-1000.
- Hasegawa H, Ma T, Skach W, Matthay MA, Verkman AS. (1994) Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. *J Biol Chem*, 269: 497-5500.
- Henry MD, Campbell KP. (1999) Dystroglycan inside and out. *Curr Opin Cell Biol*, 11 (5):602-607.

- Hockfield S, McKay RDG. (1985) Identification of major cell classes in the developing mammalian nervous system. *J Neurosci*, 12: 3310-3328.
- Hofer H. (1958) Zur morphologie der circumventriculären organe des zwischenhirnes der säugetiere. *Verh Dtsch Zool Ges Frankfurt*, 202–251.
- Horstmann E (1954) Die Faserglia des Selachegehirns. *Z Zellforsch*, 39: 588-617.
- Hourai A, Miyata S. (2013) Neurogenesis in the circumventricular organs of adult mouse brains. *J Neuroscience Res*, 91: 757-770.
- Hoyda TD, Smith PM, Ferguson AV. (2009) Gastrointestinal hormone actions in the central regulation of energy metabolism: potential sensory roles for the circumventricular organs. *Int J Obes (Lond.)*, 33 Suppl 1: S16-21.
- Ibraghimov-Beskrovnaya O, Ervasti JM, Leveille CJ, Slaughter CA, Sernett SW, Campbell KP. (1992) Primary structure of dystrophin-associated glycoproteins linking dystrophin to the extracellular matrix. *Nature*, 355: 696–702.
- Iorio R, Plantone D, Damato V, Batocchi AP. (2013) Anorexia heralding the onset of neuromyelitis optica. *Intern Med*, 52: 489-491.
- Janeczko K (1993) Co-expression of GFAP and vimentin in astrocytes proliferating in response to injury in the mouse cerebral hemisphere. A combined autoradiographic and double immunocytochemical study. *Int J Dev Neurosci*, 11: 139-147.
- Janzer RC, Raff MC. (1987) Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature*, 325: 253-257.
- Johnson AK and Loewy AD. Circumventricular organs and their role in visceral functions. In: Loewy AD and Spyer K. (Eds.), *Central Regulation of Autonomic Regulation*. Oxford University Press, 1990: 247-267.
- Jucker M, Bialobok P, Hagg T, Ingram DK. (1992) Laminin immunohistochemistry in brain is dependent on method of tissue fixation. *Brain Res*, 586: 166-170.
- Jung JS, Bhat RV, Preston GM, Guggino WB, Baraban JM, Agre P. (1994) Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91: 13052-13056.
- Kálmán M, Hajós F. (1989) Distribution of glial fibrillary acidic protein (GFAP)-immunoreactive astrocytes in the rat brain. I. Forebrain. *Exp Brain Res*, 78: 147-163.

- Kálmán M, Mahalek J, Adorján A, Adorján I, Pocsai K, Bagyura Z, Sadeghjan S. (2011) Alterations in the perivascular dystrophin-dystroglycan complex following brain lesion. An immunohistochemical study in rats. *Histo Histopath*, 26 (11):1435-1452.
- Kameda Y (1996) Differential distribution of S-100 protein and vimentin in the hypophyseal pars tuberalis of the guinea pig. *J Histochem Cytochem*, 44(5): 501-10.
- Kettenmann H, Ransom BR. Morphology, ultrastructure, and identification. In: Kettenmann H, Ransom BR (szerk.), *Neuroglia*. Oxford University Press, New York, 2013: 35-133.
- Khurana TS, Watkins SC, Kunkel LM. (1992) The subcellular distribution of chromosome 6-encoded dystrophin-related protein in the brain. *J Cell Biol*, 119: 357–366.
- Kimelberg HK, Norenberg MD. (1989) Astrocytes. *Scientific American*, 260: 44-52.
- Knuesel I, Bornhauser BC, Zuellig RA, Heller F, Shaub MC, Fritschy JM. (2000) Differential expression of utrophin and dystrophin in CNS neurons: an in situ hybridization and immunohistochemical study. *J Comp Neurol*, 422: 594-611.
- Krisch B, Leonhardt H. (1978) The functional and structural border of the neurohemal region of the median eminence. *Cell Tissue Res*, 192: 327-39.
- Krisch B, Leonhardt H, Buchheim W. (1978) The functional and structural border between the CSF- and blood-milieu in the circumventricular organs (organum vasculosum laminae terminalis, subfornical organ, area postrema) of the rat. *Cell Tissue Res*, 195: 485-97.
- Krisch B, Leonhardt H, Oksche A. (1987) Compartments in the organum vasculosum laminae terminalis of the rat and their delineation against the outer cerebrospinal fluid-containing space. *Cell Tissue Res*, 250 (2): 331-47.
- Kroidl R (1968) Die arterielle und venose Versorgung der area postrema der Ratte. *Z Zellforsch*, 89: 430-452.
- Krstić R, Nicolas D. (1992) Light and electron microscopic immunocytochemical localization of glutamine synthetase in the superficial pineal gland of the rat. *Acta Histochem*, 93: 382-387.
- Krum JM, More NS, Rosenstein JM. (1991) Brain angiogenesis: variations in vascular basement membrane glycoprotein immunoreactivity. *Exp Neurol*, 111: 152-165.

- Kuwahara S, Maeda S, Tanaka K, Hayakawa T, Seki M. (2007) Expression of aquaporin water channels in the rat pituitary gland. *J Vet Med Sci*, 69: 1175–1178.
- Langlet F, Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. (2013) Tanycyte-like cells form a blood-cerebrospinal fluid barrier in the circumventricular organs of the mouse brain. *J Comp Neurol*, 521: 3389-3405.
- Legait E. (1942) Les organes épendimaires du troisieme ventricule. L'organe sous-commissural, l'organe subfornical, l'organe paravertriculaire. Thesis, Nancy.
- Legait H, Legait E. (1958) Paraphyse et organasubfornical dans la série des vertébrés. *CR Assoc Anat*, 99: 427-435.
- Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RD. (1990) CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell*, 60: 585-595.
- Levison SW, Goldman JE. (1993) Both oligodendrocytes and astrocytes develop from progenitors in the subventricular zone of postnatal rat forebrain. *Neuron*, 10: 201-212.
- Lien CF, Hazai D, Yeung D, Tan J, Fuchtbauer EM, Jancsik V, Gorecki DC. (2007) Expression of alpha-dystrobrevin in blood-tissue barriers: subcellular localisation and molecular characterisation in normal and dystrophic mice. *Cell Tiss Res*, 327: 67-82.
- López-Muñoz F, Boya J, Calvo JL, Marín F. (1992) Coexpression of vimentin and glial fibrillary acidic protein in glial cells of the adult rat pineal gland. *J Pineal Res*, 12: 145-148.
- Love DR, Hill DF, Dickson G, Spurr NK, Byth BC, Marsden RF, Walsh FS, Edwards YH, Davies KE. (1989) An autosomal transcript in skeletal muscle with homology to dystrophin. *Nature (Lond)*, 339: 55-58.
- Ludwin SK, Kosek JC, Eng LF. (1976) The topographical distribution of S-100 and GFA proteins in the adult rat brain. An immunocytochemical study using horseradish peroxidase labeled antibodies. *J Comp Neurol*, 165: 197–208.
- Mack A, Neuhaus J, Wolburg H.(1987) Relationship between orthogonal arrays of particles and tight junctions as demonstrated in cells of the ventricular wall of the rat brain. *Cell Tiss Res*, 248: 619–625.
- Maeda N (2010) Structural variation of chondroitin sulfate and its roles in the central nervous system. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 10: 22-31.
- Maeda N, Fukazawa N, Ishii M. (2010) Chondroitin sulfate proteoglycans in neural development and plasticity. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 15:626-644.

- Maolood N, Meister B. (2009) Protein components of the blood-brain barrier (BBB) in the brainstem area postrema-nucleus tractus solitarius region. *J Chem Neuroanat*, 37 (3): 182-95.
- Marin F, Boya J, Lopez-Carbonell A, Borregon A. (1989) Immunohistochemical localization of intermediate filament and S-100 proteins in several non-endocrine cells of the human pituitary gland. *Arch Histol Cytol*, 52: 241–248.
- Marin-Padilla M (1985) Early vascularization of the embryonic cerebral cortex: Golgi and electron microscopic studies. *J Comp Neurol*, 241: 237-249.
- Martinez-Hernandez A, Bell KP, Norenberg MD. (1977) Glutamine synthetase: glial localization in brain. *Science*, 195: 1356-1358.
- Matsumura K, Shasby DM, Campbell KP. (1993) Purification of dystrophin-related protein (utrophin) from lung and its identification in pulmonary artery endothelial cells. *FEBS Lett*, 326: 289–293.
- Mauro A, Bertolotto A, Germano I, Giaccone G, Giordana MT, Migheli A, Schiffer D. (1984) Collagenase in the immunohistochemical demonstration of laminin, fibronectin and factor VIII/Rag in nervous tissue after fixation. *Histochemistry*, 80: 157-163.
- McKeon RJ, Jurynek MJ, Buck CR. (1999) The chondroitin sulfate proteoglycans neurocan and phosphacan are expressed by reactive astrocytes in the chronic CNS glial scar. *J Neurosci*, 19: 10778-107788.
- McKinley MJ, McAllen RM, Davern P, Giles ME, Penschow J, SWunn N, Uschakov A, Oldfield BJ. (2003) The sensory circumventricular organs of the mammalian brain. *Adv Anat Embryol Cell Biol*, 172: 1-127.
- Menet V, Giménez Y, Ribotta M, Chauvet N, Drian MJ, Lannoy J, Colucci-Guyon E, Privat A. (2001) Inactivation of the glial fibrillary acidic protein gene, but not that of vimentin, improves neuronal survival and neurite growth by modifying adhesion molecule expression. *J Neurosci*, 21: 6147-6158.
- Michalczyk K, Ziman M. (2005) Nestin structure and predicted function in cellular cytoskeletal organisation. *Histol Histopathol*, 20: 665-671.
- Midwood KS, Hussenet T, Langlois B, Orend G. (2011) Advances in tenascin-C biology. *Cell Mol Life Sci*, 68: 3175-3199.
- Mi H, Haeberle H, Barres BA. (2001) Induction of astrocyte differentiation by endothelial cells. *J Neurosci*, 21: 1538-1547.

- Módis L. Az extracelluláris mátrix. In: Szabó G. (szerk.), *Sejtbiológia*. Második kiadás. Medicina, Budapest. 2009: 597-504.
- Møller M, Baeres FM. (2002) The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res*, 309: 139-150.
- Møller M, Ingild A, Bock E. (1978b) Immunohistochemical demonstration of S100 protein and GFA protein in interstitial cells of rat pineal gland. *Brain Res*, 140: 1-13.
- Møller M, van Veen T. Vascular permeability in the pineal gland of the Mongolian gerbil and the Djungarian hamster. In: Semm K. and Mettler L. (Eds.), *Human reproduction*. Intern Congr Series 551. Elsevier/North-Holland, Amsterdam, 1981: 539-543.
- Møller M., Deurs B, Westergård E. (1978a) Vascular permeability to proteins and peptides in the mouse pineal gland. *Cell Tissue Res*, 195: 1-15.
- Moore SA, Salto F, Chen N, Michele DE, Henry MD, Messing A, Cohn RD, Ross-Barta SE, Westra S, Williamson RA, Hoshi T, Campbell KP. (2002) Deletion of brain dystroglycan recapitulates aspects of congenital muscular dystrophy. *Nature*, 418: 422-425.
- Mugnaini E. Cell junctions of astrocytes, ependyma, and related cells in the mammalian central nervous system, with emphasis on the hypothesis of a generalized functional syncytium of supporting cells. In: Fedoroff S, Vernadakis A. (Eds.), *Astrocytes*. Acad Press, New York, 1986: 329-371.
- Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. (2010) Differential distribution of tight junction proteins suggests a role for tanycytes in blood-hypothalamus barrier regulation in the adult mouse brain. *J Comp Neurol*, 518(7): 943-62.
- Nagelhus EA, Ottersen OP. (2013) Physiological roles of aquaporin-4 in brain. *Physiol Rev*, 93: 1543-62.
- Nedergaard M, Ransom B, Goldman SA. (2003) New roles of astrocytes: Redefining the functional architecture of the brain. *Trends Neurosci*, 26: 123:530.
- Nehmé B, Henry M, Mougnot D, Drolet G. (2012) The Expression Pattern of the Na(+) Sensor, Na(X) in the Hydromineral Homeostatic Network: A Comparative Study between the Rat and Mouse. *Front Neuroanat*, 6: 26.

- Nico B, Frigeri A, Nicchia GP, Corsi P, Ribatti D, Quondamatteo F, Herken R, Girolamo F, Marzullo A, Svelto M, Roncali L. (2003) Severe alterations of endothelial and glial cells in the blood-brain barrier of dystrophic mdx mice. *Glia*, 42: 235-251.
- Nico B, Frigeri A, Nicchia GP, Quondamatteo F, Herken R, Errede M, Ribatti D, Svelto M, Roncali L. (2001) Role of aquaporin-4 water channel in the development and integrity of the blood-brain barrier. *J Cell Sci*, 114: 1297-1307.
- Nico B, Paola Nicchia G, Frigeri A, Corsi P, Mangieri D, Ribatti D, Svelto M, Roncali L. (2004) Altered blood-brain barrier development in dystrophic MDX mice. *Neuroscience*, 125: 921-935.
- Nico B, Ribatti D. (2012) Morphofunctional aspects of the blood-brain barrier. *Curr Drug Metabol*, 13: 50-60.
- Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Bourque C, Agre P, Ottersen OP. (1997) Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J Neurosci*, 17: 171-180.
- Noda M, Sakuta H. (2013) Central regulation of body-fluid homeostasis. *Trends Neurosci*, 36: 661-673.
- O'Callaghan EL, Choong YT, Jancovski N, Allen AM. (2013) Central angiotensinergic mechanisms associated with hypertension. *Auton Neurosci*, 175: 85-92.
- Okere CO, Waterhouse BD. (2004) Capsaicin increases GFAP and glutamine synthetase immunoreactivity in rat arcuate nucleus and median eminence. *Neuroreport*, 15(2): 255-8.
- Palkovits M. Summary of structural and functional aspects of the circumventricular organs. In: Gross PM. (Ed.), *Circumventricular organs and body fluids*. Vol. II. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida, 1986: 209-218.
- Pecchi E, Dallaporta M, Charrier C, Pio J, Jean A, Moyse E, Troadec JD. (2007) Glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive radial-like cells are present in the vicinity of proliferative progenitors in the nucleus tractus solitarius of adult rat. *J Comp Neurol*, 501 (3): 353-68.
- Pekny M, Johansson CB, Eliasson C, Stakeberg J, Wallen A, Perlmann T, Lendahl U, Betsholtz C, Berthold CH, Frisen J. (1999) Abnormal reaction to central nervous system injury in mice lacking glial fibrillary acidic protein and vimentin. *J Cell Biol*, 145: 503-514.

- Peronnet C, Vaillend C. (2010) Dystrophins, utrophins and associated scaffolding complexes: role in mammalian brain and implications for therapeutic strategies. *J Biomed Biotechnol* ID, 849426: 19
- Piller V, Piller F, Cartron JP. (1990) Comparison of the carbohydrate-binding specificities of seven N-acetyl-D-galactosamine-recognizing lectins. *Eur J Biochem*, 191: 461-466.
- Pixley SK, de Vellis J. (1984) Transition between immature radial glia and mature astrocytes studied with a monoclonal antibody to vimentin. *Brain Res*, 317: 201-209.
- Pócsai K, Bagyura Zs, Kálmán M. (2010) Components of the basal lamina and dystrophin dystroglycan complex in the neurointermediate lobe of rat pituitary gland: different localizations of beta-dystroglycan, dystrobrevins, alpha1-syntrophin, and aquaporin-4. *J Histochem Cytochem*, 58: 463-479.
- Pócsai K, Kálmán M. (2014a) Extracellular matrix components mark the territories of circumventricular organs. *Neurosci Lett*, 566: 36-41.
- Pócsai K, Kálmán M. (2014b) Immunohistochemical detectability of cerebrovascular utrophin depends on the condition of basal lamina. *Neurosci Lett*, 583: 182–187.
- Prevot V, Dehouck B, Poulain P, Beauvillain JC, Buée-Scherrer V, Boure St. (2007) Neuronal-glial-endothelial interactions and cell plasticity in the postnatal hypothalamus: implications for the neuroendocrine control of reproduction. *Psychoneuroendocrinology*, 32 Suppl 1: S46-51.
- Price CJ, Hoyda TD, Ferguson AV. (2008) The area postrema: a brain monitor and integrator of systemic autonomic state. *Neuroscientist*, 4 (2): 182-94.
- Rakic P. Radial glial cells: scaffolding for brain construction. In: Kettenmann H, Ransom BR. (szerk.), *Neuroglia*. Oxford University Press, New York, 1995: 746-762.
- Ramirez-Sanchez I, Mendoza-Lorenzo P, Zentelal-Dehesa A, Mendez-Bolajna E, Lara-Padilla E, Ceballos-Reyes G, Canto P, Palma-Flores C, Coral-Vazquez RM. (2012) Caveolae and non-caveolae lipid raft microdomains of human umbilical vein endothelial cells contain utrophin-associated protein complexes. *Biochimie*, 94: 1884-1890.
- Ransom BR, Ye ZC. Gap Junctions and Hemichannels. In: Kettenmann H, Ransom BR. (szerk.), *Neuroglia*. Oxford University Press, New York, 2005: 177-189.

- Rao MS, Mayer-Proschel M. (1997) Glial-restricted precursors are derived from multipotent neuroepithel stem cells. *Dev Biol*, 188: 48-63.
- Redecker P, Morgenroth C. (1989) Comparative immunohistochemical study of the presence of glial fibrillary acidic protein in the pituitary of several vertebrates. *Anat Anz*, 168: 37–47.
- Réthelyi M (1984) Diffusional barrier around the hypothalamic arcuate nucleus in the rat. *Brain Res*, 307 (1-2): 355-8.
- Rodríguez EM, Blázquez JL, Pastor FE, Peláez B, Peña P, Peruzzo B, Amat P. (2005) Hypothalamic tanycytes: a key component of brain-endocrine interaction. *Int Rev Cytol*, 247: 89-164.
- Rojczyk-Gołębiewska E1, Pałasz A, Wiaderkiewicz R. (2014) Hypothalamic Subependymal Niche: A Novel Site of the Adult Neurogenesis. *Cell Mol Neurobiol*, (34) 5: 631-642.
- Roth GI, Yamamoto WS. (1968) The microcirculation of the area postrema in the rat. *J Comp Neurol*, 133 (3): 329-40.
- Rothstein JD, Martin L, Levey AI, Dykes-Hoberg M, Jin L, Wu D, Nash N, Kuncl RW. (1994) Localization of neural and glial glutamate transporters. *Neuron*, 13: 713-725.
- Rutka JT, Murakami M, Dirks PB, Hubbard SI, Becker LE, Fukuyama K, Jung S, Tsugu A, Matsuzawa K. (1997) Role of glial filaments in cells and tumors of glial origin: a review. *J Neurosurg*, 87: 420-430.
- Sakai Y, Hira Y, Matsushima S. (1996) Regional differences in the pineal gland of the cotton rat, *Sigmodon hispidus*: light microscopic, electron microscopic, and immunohistochemical observations. *J Pineal Res*, 20: 125-127.
- Sanin V, Heeß C, Kretschmar HA, Schüller U. (2013) Recruitment of neural precursor cells from circumventricular organs of patients with cerebral ischaemia. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 39: 510-518.
- Sasaki H, Mannen H. (1981) Morphological analysis of astrocytes in the bullfrog (*Rana catesbeiana*) spinal cord with special reference to the site of attachment of their processes. *J Comp Neurol*, 198: 13-35.
- Schnitzer J, Franke WW, Schachner M. (1981) Immunocytochemical demonstration of vimentin in astrocytes and ependymal cells of developing and adult mouse nervous system. *J Cell Biol*, 90: 435-447.

- Shigematsu K, Kamo H, Akiguchi J, Kimura J, Kameyama M, Kimura H. (1989) Neovascularization in kainic acid-induced lesions of rat striatum. An immunocytochemical study with laminin. *Brain Res*, 501: 215-222.
- Shirasawa N, Yamanouchi H. (1999) Glucocorticoids induce glutamine synthetase in folliculostellate cells of rat pituitary glands in vivo and in vitro. *J Anat*, 4: 567–577.
- Sisó S, Jeffrey M, González L. (2010) Sensory circumventricular organs in health and disease. *Acta Neuropathol*, 120 (6): 689-705.
- Sixt M, Engelhardt B, Pausch F, Hallmann R, Wendler O, Sorokin LM. (2001) Endothelial cell laminin isoforms, laminins 8 and 10, play decisive roles in T cell recruitment across the blood-brain barrier in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Cell Biol*, 153: 933-946.
- Smith PM, Ferguson AV. (2010) Circulating signals as critical regulators of autonomic state--central roles for the subfornical organ. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 299 (2)R: 405-15.
- Sosale A, Robson JA, Stelzner DJ. (1988) Laminin distribution during corticospinal tract development and after spinal cord injury. *Exp Neurol*, 102: 14-22.
- Spoerri O (1963) Concerning the vascularization of the subfornical organ of the rat. *Acta Anat (Basel)*, 54: 333-348.
- Suess V, Pilska J. (1981) Identification of the pituicytes as astroglial cells by indirect immunofluorescent staining for the glial fibrillary acidic protein. *Brain Res*, 221: 27–34.
- Syková E, Vorísek I, Mazel T, Antonova T, Schachner M. (2005) Reduced extracellular space in the brain of tenascin-R- and HNK-1-sulphotransferase deficient mice. *Eur J Neurosci*, 22: 1873-1880.
- Szabó A, Kálmán M. (2004) Disappearance of the post-lesional laminin immunopositivity of brain vessels is parallel with the formation of gliovascular junctions and common basal lamina. A double-labelling immunohistochemical study. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 30: 169-177.
- Szabó A, Kálmán M. (2008) Post traumatic lesion absence of beta-dystroglycan-immunopositivity in brain vessels coincides with the glial reaction and the immunoreactivity of vascular laminin. *Curr Neurovasc Res*, 5: 206-213.

- Tian M, Jacobson C, Gee SH, Campbell KP, Carbonetto S, Jucker M. (1996) Dystroglycan in the cerebellum is a laminin $\alpha 2$ -chain binding protein at the glial-vascular interface and is expressed in Purkinje cells. *Eur J Neurosci*, 8: 2739–2747.
- Tsacopoulos M, Magistretti PJ. (1996) Metabolic coupling between glia and neurons. *J Neurosci*, 16: 877-885.
- Tweedle CD, Hatton GI. (1987) Morphological adaptability at neurosecretory axonal endings on the neurovascular contact zone of the rat neurohypophysis. *Neuroscience*, 1: 241-246
- Uchino M, Hara A, Mizuno Y, Fujiki M, Nakamura T, Tokunaga M, Hirano T, Yamashita T, Uyama E, Ando Y, Mita S, Ando M. (1996) Distribution of dystrophin and dystrophin-associated protein 43DAG (b-dystroglycan) in the central nervous system of normal controls and patients with Duchenne muscular dystrophy. *Intern Med*, 35: 189–194.
- Ueda H, Baba T, Terada N, Kato Y, Fujii Y, Takayama I, Mei X, Ono S. (2000) Immunolocalization of dystrobrevin in the astrocytic endfeet and endothelial cells in the rat cerebellum. *Neurosci Lett*, 283: 121–124.
- Vajda Z, Pedersen M, Füchtbauer EM, Wertz K, Stødkilde-Jørgensen H, Sulyok E, Dóczy T, Neely JD, Agre P, Frøkiaer J, Nielsen S. (2002) Delayed onset of brain edema and mislocalization of aquaporin-4 in dystrophinnull transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 13131–13136.
- Vargová L, Syková E. (2008) Extracellular space diffusion and extrasynaptic transmission. *Physiol Res*, 57 Suppl 3: S89-99.
- Venero JL, Vizuete ML, Machado A, Cano J. (2001) Aquaporins in the central nervous system. *Prog Neurobiol*, 63: 321-336.
- Vígh B (1971) Das Paraventricularorgan und das zirkumventriculäre System des Gehirns. *Stud Biol Hung*, 10: 1-149.
- Vígh B, Manzano e Silva MJ, Frank CL, David C, Czirok SJ, Vincze C, Racz G, Lukats A, Szel A. (2004) The circumventricular organs of the brain: do they represent a cerebrospinal fluid-dependent regulatory system? *Med Hypotheses Res*, 1: 77-100.
- Vollrath L. The pineal organ. In: Oksche A, Vollrath L. (Eds.), *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Vol VI/7. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1981: 1-665.

- Waite A, Brown SC, Blake DJ. (2012) The dystrophin-glycoprotein complex in brain development and disease. *Trends Neurosci*, 35 (8):487-496.
- Wang QP, Guan JL, Pan W, Kastin AJ, Shioda S. (2008) A diffusion barrier between the area postrema and nucleus tractus solitarius. *Neurochem Res*, 33 (10): 2035-43.
- Wappler AE, Adorján I, Gál A, Galgóczy P, Bindics K, Nagy Z. (2011) Dynamics of dystroglycan-complex proteins and laminin immunoreactivities and expression due to angiogenesis in the rat brain following permanent bilateral carotid occlusion. *Microvasc Res*, 81: 153-159.
- Wei LC, Shi M, Chen LW, Cao R, Zhang P, Chan YS. (2002) Nestin-containing cells express glial fibrillary acidic protein in the proliferative regions of central nervous system of postnatal developing and adult mice. *Brain Res Dev Brain Res*, 139: 9-17.
- Weindl A. Neuroendocrine aspects of circumventricular organs. In: Ganong WF, Martini L. (Eds.), *Frontiers in Neuroendocrinology*. Oxford University Press, London, 1973: 3-32.
- Weindl A, Joynt RJ. (1972) Ultrastructure of the ventricular walls. Three-dimensional study of regional specialization. *Arch Neurol*, 5: 420-7.
- Wells T (1998) Vesicular osmometers, vasopression secretion and aquaporin-4: a new mechanism for osmoreception? *Mol Cell Endocrinol*, 136 (2): 103-7.
- Willis CL, Garwood CJ, Ray DE. (2007) A size selective vascular barrier in the rat area postrema formed by perivascular macrophages and the extracellular matrix. *Neuroscience*, 150 (2): 498-509.
- Wolburg H (1995) Orthogonal arrays of intramembranous particles: a review with special reference to astrocytes. *J Hirnforsch*, 36: 239-258.
- Wolburg H, Noell S, Mack A, Wolburg-Buchholz K, Fallier-Becker P. (2009) Brain endothelial cells and the glio-vascular complex. *Cell Tissue Res*, 335: 75-96.
- Yamaguchi K, Morimoto A, Murakami N. (1993) Organum vasculosum laminae terminalis (OVLT) in rabbit and rat: topographic studies. *J Comp Neurol*, 330 (3): 352-62.
- Yamaguchi Y (2000) Lecticans: organizers of the brain extracellular matrix. *Cell Mol Life Sci*, 57: 276-289.

- Yoneda K, Yamamoto N, Asai K, Sobue K, Fujita Y, Fujita M, Mase M, Yamada K, Nakanishi M, Tada T, Miura Y, Kato T. (2001) Regulation of aquaporin-4 expression in astrocytes. *Brain Res Mol Brain Res*, 89: 94-102.
- Záborszky L, Schiebler TH. (1978) Glia of median eminence. Electron microscopic studies of normal, adrenalectomized and castrated rats. (German) *Z Mikrosk Anat Forsch*, 92: 781-199.
- Zamecnik J, Homola A, Cicanic M, Kuncova K, Marusic P, Krsek P, Sykova E, Vargova L. (2012) The extracellular matrix and diffusion barriers in focal cortical dysplasias. *Eur J Neurosci*, 36: 2017-2024.
- Zerlin M, Goldman JE. (1997) Interactions between glial progenitors and blood vessels during early postnatal corticogenesis: blood vessel contact represents an early stage of astrocyte differentiation. *J Comp Neurol*, 387: 537-546.
- Zerlin M, Levison SW, Goldman JE. (1995) Early patterns of migration, morphogenesis, and intermediate filament expression of subventricular zone cells in the postnatal rat forebrain. *J Neurosci*, 15: 7238-7249.
- Zhang ET, Inman CB, Weller RO. (1990) Interrelationships of the pia mater and the perivascular (Virchow-Robin) spaces in the human cerebrum. *J Anat*, 170: 111-23.
- Zilles K, Hajós F, Kálmán M, Schleicher A. (1991) Mapping of glial fibrillary acidic protein-immunoreactivity in the rat forebrain and mesencephalon by computerized image analysis. *J Comp Neurol*, 308: 340-355.

10. Saját publikációk jegyzéke

Bagyura Z, Pócsai K, Kálmán M. (2010) Distribution of components of basal lamina and dystrophin-dystroglycan complex in the rat pineal gland: differences from the brain tissue and between the subdivisions of the gland. *Histol Histopathol*, 25: 1-14. IF: 2.502

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: 2.480

Pócsai K, Bagyura Z, Kálmán M. (2010) Components of the basal lamina and dystrophin-dystroglycan complex in the neurointermediate lobe of rat pituitary gland: different localizations of beta-dystroglycan, dystrobrevins, alpha1-syntrophin, and aquaporin-4. *J Histochem Cytochem*, 58: 463-479. IF: 2.381

Pócsai K, Kálmán M. (2014) Extracellular matrix components mark the territories of circumventricular organs. *Neurosci Lett*, 566: 36-41. IF: 2.055

Pócsai K, Kálmán M. (2014) Immunohistochemical detectability of cerebrovascular utrophin depends on the condition of basal lamina. *Neurosci Lett*, 583: 182–187. IF: 2.055

Pócsai K, Kálmán M. (2015) Glial and perivascular structures in the subfornical organ: distinguishing the shell and core. *J Histochem Cytochem*, NN:(NN) p. NN. (DOI: 10.1369/0022155415575027) IF: 2.403

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel elsősorban témavezetőmnek, Prof. Dr. Kálmán Mihálynak tartozom, aki a közös munka során mindig elérhető és segítőkész volt. A laboratóriumában eltöltött idő szakmailag és emberileg egyaránt a hasznomra vált. Köszönöm Prof. Dr. Csillag Andrásnak, hogy, mint az Intézet igazgatója meghívott a tudományos diákkörbe, megteremtette a munkavégzésem feltételeit, és jó szóval, tanáccsal támogatta a munkámat. Hálás vagyok feleségemnek Dr. Csohány Rózsának a sok szeretetért és megértésért. Köszönöm közvetlen munkatársamnak és barátomnak, Dr. Bagyura Zsoltnak a közös munkát. Sokat köszönhetek az Intézet asszisztenseinek, különösen Őz Andreának, Oszwald Erzsébetnek és Bakó Máriának, akiktől sok segítséget kaptam illetve sok szakmai fortélyt tanultam. Valamint köszönöm az Intézet valamennyi munkatársának, hogy szakértelmükkel segítették munkámat. Külön szeretném megemlíteni Dr. Puskár Zitát, Dr. Dobolyi Árpádot, Balázs Tamást, Bárány Annát, Deák Szilviát, Madarászné Fehér Zsuzsannát, Gróti Zoltánt és Vidra Györgynét.