

# A „ruha” teszi a neuront – az extracelluláris mátrix különböző megjelenési formái gerincesek központi idegrendszerében

Gáti Georgina dr. ■ Lendvai Dávid dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Budapest

**Bevezetés:** A központi idegrendszerben az idegsejtek, gliasejtek és azok nyúlványai közötti szűk teret extracelluláris mátrix veszi körül. Többkomponensű struktúra, amely a neuron és a glia közös terméke. Előfordulása, összetétele az idegrendszerben eltérő, ugyanakkor változó is, mert a funkcionális változások a mátrix megjelenésében vagy éppen eltűnésében, átalakulásában jól követhetők. Az extracelluláris mátrix jellegzetes megjelenési formája, bizonyos típusú neuronok teste és proximális dendritjei körül halmozódik fel. Az így létrejött struktúrát perineuronális hálónak nevezzük. Ez az „öltözték” rendkívül fontos szerepet tölt be a sejtek védelmében, ionhomeosztázisuk megtartásában, a sejtmembrán receptorainak eloszlásában, illetve a sejt-kapcsolatok biztosításában. Az extracelluláris mátrix újabb leírt formája az axonok végbunkói köré rakódik le, amelyet periaxonalis hüvelyeknek nevezünk. **Célkitűzés:** A szerzők arra kerestek választ, hogy az ember, a csirke és a patkány központi idegrendszerének eddig nem vizsgált területein a mátrix és az előbb említett megjelenési formái hogyan jelennek meg. Megvizsgálták, hogyan befolyásolja a filogenetikai státus a központi idegrendszeri mátrix ingerfüggő megjelenését és plaszticitását. **Módszer:** Két perfundált humán agy- és gerincvelőt, az Alzheimer-kórral kapcsolatos vizsgálatokra további 23 humán agymintát, 16 felnőtt-patkány-agyvelőt és 18, különböző életkorú csirkeagyvelőt dolgoztak fel. Az extracelluláris mátrixot hisztokémiai és immunhisztokémiai festésekkel jelenítették meg. **Eredmények:** Az emberi hippocampusban azt találták, hogy a mátrixba ágyazott sejtestek és szinapszisok kevésbé pusztulnak degeneratív betegségben. Jellegzetes, csak a periszinaptikus régióra korlátozott mátrixot találtak az emberi látópályához kapcsolt külső térdestestben. Az eddig még nem vizsgált humán gerincvelőben feltérképezték a mátrix szerkezetét, ami fontos terápiás lehetőségeket rejt magában a gerincvelőt ért sérülésekben. Megállapították, hogy perineuronális hálók távoli projekcióval rendelkező idegsejtek körül alakulnak ki, izolált periszinaptikus borítékokban pedig a hátsó szarv bővelkedik. Állatmodelljeikben bizonyították, hogy a differenciált neuronokkal született csirke látórendszerében a mátrixszerkezet kikelés után bejövő fényinger nélkül is azonnali teljes fejlettséget mutat. Patkányagyvelőben pedig azt tapasztalták, hogy az egymással projekciós kapcsolatban lévő köztiagyi-kérgi struktúrák plaszticitásuknak megfelelő mátrixfejlettséget és mintázatot mutatnak. **Következtetések:** Az ember központi idegrendszerének extracelluláris mátrixa régióként különböző, funkciófüggő eloszlást és fenotípust mutat. A madár agyi mátrixeloszlása genetikailag és nem ingerfüggően determinált. A patkány-előagy kérgi-köziagyi struktúrái pálya-, projekció- és funkciófüggően fejlődnek, amely az adott rendszer plaszticitását tükrözi vissza. *Orv. Hetil., 2013, 154, 1067–1073.*

**Kulcsszavak:** Alzheimer-kór, extracelluláris mátrix, perineuronális háló, periaxonalis hüvely, proteoglikán

## “Dress” makes the neuron – different forms of the extracellular matrix in the vertebrate central nervous system

**Introduction:** Extracellular matrix is a key component of most connective tissues. For decades, the presence of this chemically heterogeneous interface has been largely unaddressed or even denied in the central nervous system. It was not until the end of the last century that scientists turned their attention to this enigmatic substance and unravelled its versatile roles in the developing as well as the adult nervous system. **Aim:** The aim of the authors was to characterize different parts of the human central nervous system: the hippocampus, the lateral geniculate nucleus and the spinal cord. In addition they looked for connections between brain plasticity and extracellular matrix indifferent animal models. **Method:** The authors used two perfusion fixed human brain and spinal cord samples, 23 further human brain samples for disease-related investigations, 16 adult rat brains and 18 chicken brains of hatchlings, 13 days or

three months of age. They visualized the extracellular matrix via lectin- and immunohistochemistry. *Results:* It was demonstrated that the human central nervous system shows a bewildering phenotypic versatility in its various parts. The human spinal cord harbours perineuronal nets around long-range projection neurons whilst perisynaptic coats are enriched in the dorsal horn. Periaxonal coats protect functional synapses in neurodegeneration. In the rat thalamus, perineuronal matrix is enriched in less plastic territories and develops in accordance with its linked cortical region. In the chicken, perineuronal matrix is well established already at birth and its further development is not functionally dependent. *Conclusions:* In human, the perineuronal matrix shows a large diversity depending on regional distribution and function. The authors argue that the development and differentiation of extracellular matrix is strongly linked to those of neurons. This observation was based on findings in the domestic chick which exhibits an immediate maturity after hatching as well as on observations in rat thalamic nuclei which reflect the plasticity of their corresponding cortical fields. *Orv. Hetil., 2013, 154, 1067–1073.*

**Keywords:** Alzheimer's disease, axonal coat, extracellular matrix, perineuronal net, proteoglycan

(Beérkezett: 2013. április 26.; elfogadva: 2013. május 17.)

### A „Dr. Fehér János Emlékére Alapítvány” pályázati díjával kitüntetett dolgozat.

„Kiemelkedő Kollégáim! A közlendőm, amelyet önök-höz intézek a mai este folyamán, rövid megjegyzésként fűződik a készítményekhez, amelyeket nagy megtiszteltetés bemutatni önöknek. Kérem, ezért tiszteljenek meg figyelmükkel egy rövid időre! Az itt lévő készítmények között két sajátosság azonnal felismerhető abban, ahogy az idegsejtek szerveződnek; míg az egyik sajátosság az idegsejtek külső felszínére vonatkozik, addig a másik a sejtmembránon belülre.”

*Camillo Golgi*

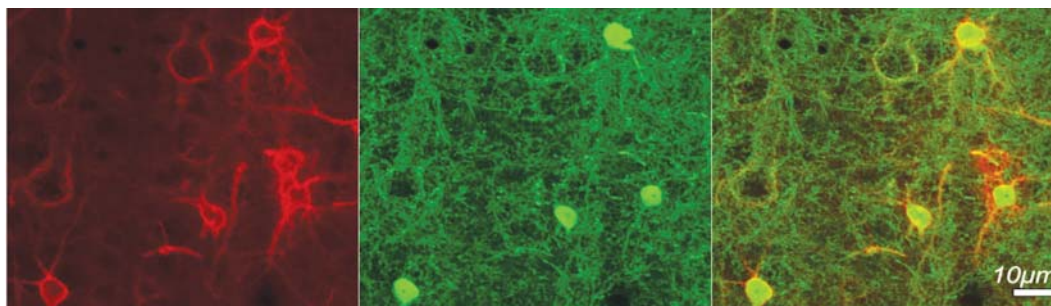
Società Medico Chirurgica, Padova, 1898. április

Az állati sejtekben az extracelluláris mátrix azon molekulák hálózata, amelyek a sejtek közötti teret kitöltve a sejtek működését támogatják. Strukturális és stabilizáló funkcióján kívül is sok rendkívül fontos feladatot lát el: részt vesz transzportfolyamatokban, a sejtek közötti kommunikációban, sejtek migrációjának és fejlődésének szabályozásában. „Elektromos szigetelőként”, védőburokként funkcionál, összeköt és elválaszt, befolyásolja a membrántranszport-folyamatokat [1].

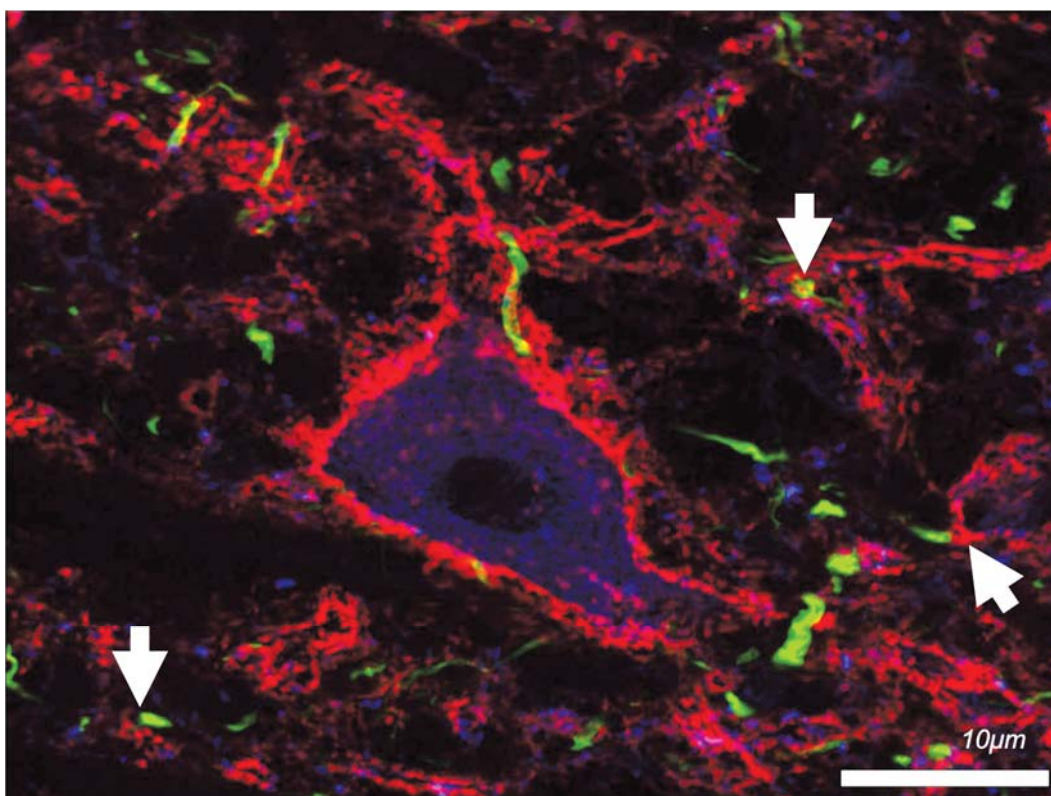
Központi idegrendszeri extracelluláris mátrixszal kapcsolatos kutatások közelmúltig gyakorlatilag alig történtek. Hosszú évtizedeken át uralkodott a tudósok között a szemlélet, miszerint a központi idegrendszer szövettanának egyik legfőbb jellemzője, hogy a sejt komponensek tökéletesen kitöltik a rendelkezésükre álló teret, semmilyen hézagot nem hagynak egymás között. Ez a tévhit – elsősorban az elmúlt húsz év kutatásai során – mára megdőlt. Az agyvelő súlyának ugyanis körülbelül 20%-áért csak az extracelluláris mátrix a felelős, ami a többi szövetféleségben is (csont, porc stb.) közismert jelentőséggel bír.

Az ideg- és gliasejtek közötti keskeny, résszerű teret kitöltő mátrixmolekulák már a fejlődő embrióban jelen vannak, a fejlődésben igen fontos szerepet játszanak. A felnőtt központi idegrendszer minden területén megtalálhatóak, bár összetételükben eltérések mutathatók ki. Az idegszöveti mátrix legnagyobb részét a lektikáncsalád proteoglikánjaiból, illetve a hozzájuk kötődő molekulákból – mint például a jól ismert hialuronsavból, illetve linkproteinekből (kapcsolófehérjék) épül fel [2, 3, 4]. Az állati szervezet különböző szöveteiben a proteoglikánok óriási változatosságát találjuk meg. Változó lehet a tengelyfehérje mérete és szerkezete, a glükózaminoglikán-oldalláncok száma, összetétele és szulfatált-sági foka. Előfordulhatnak egészen kis proteoglikánok, mindezek annak megfelelően, hogy a szervezet mely területén, milyen struktúrájában alakultak ki és milyen funkcióhoz alkalmazkodtak. Ezek a makromolekulák együttesen egy erősen hidratált, gélszerű anyagot képeznek a sejtek közötti térben, amely a szövetre ható erők nagy részének ellenáll, viszont engedi a tápanyagok, metabolitok, hormonok gyors diffúzióját az erek és sejtek között [1].

Az extracelluláris mátrix idegrendszerben betöltött számos funkcióját az úgynevezett perineuronális hálónak keresztül szeretnénk bemutatni, amik kutatásunk legfontosabb aspektusát képezik. Az extracelluláris mátrix ugyanis több módon megjelenhet az idegszövetben. Diffúzan kiterjedt neurophil formájában, illetve az egyes neuronok sejtestétjét, proximális dendritjeit és az axonok kezdeti szakaszait beborító hálózatos struktúráként, amit perineuronális hálónak (*l. ábra*) nevezünk [5, 6, 7, 8]. Ezeket a képződményeket már több mint száz évvel ezelőtt *Camillo Golgi* leírta [9], de nem csak ő, hanem *Lugaro*, *Donaggio*, *Martinotti*, *Ramón y Cajal* és *Meyer* is vizsgálta őket [10]. *Golgi* szerint ez a



**1. ábra** | Reprodukciós kísérleteinkben kettős immunhisztokémiával megmutattuk, hogy az aggregán immunoreaktív perineuronális hálók a gátló interneuronok „gyorstüzelő”, parvalbuminpozitív populációja körül találhatóak meg leggyakrabban. A felvétel patkány neocortexének V. rétegéből készült. Piros: aggregán; zöld: parvalbumin. Lépték: 10 mikron



**2. ábra** | Hármás immunfluoreszcens jelölés egy aggregántartalmú (piros) perineuronális hálóval rendelkező gátló (GAD-immunoreaktív, kék) interneuronról a patkánynucleus ruberében. A zöld szín az anterográd pályakövetéssel jelölt végződéseket mutatja (BDA). Az aggregán és a BDA-immunoreaktivitás bár ritkán, de néhol egybeesik (nyíl). Lépték: 10 mikron

hálózat egy úgynevezett neurokeratin „fűző”, amely az ingerület terjedését megakadályozza, tehát gátlófunkcióval rendelkezik. Ezzel szemben *Ramón y Cajal* állítása szerint a perineuronális hálók csupán a festési eljárás melléktermékei, amelyek a sejten kívüli anyagok véletlenszerű kicsapódásaiból származnak. Mivel abban az időben ő igencsak befolyásos személynek számított, kijelentése miatt a perineuronális hálók iránti tudományos érdeklődés elhalványodott. Az 1960-as években újra felbukkant a téma, amikor is számos szerző nyilatkozott egy, a neuronokat körülvevő perjódsvav-Schiff-pozitív anyagról, ami küllemre a perineuronális hálónak felelt meg. Érdekes része a történetnek az, hogy az így leírt

szerkezet és a *Golgi* által már jóval korábban leírt jelenség közötti azonosságra sokáig nem jöttek rá [10].

A perineuronális hálók proteoglikánjait a neuronok és a gliasejtek hozzák létre. A tenascin, a verzikan és a brevikan nevű proteoglikánok létrejöttéért főleg a gliasejtek felelősek, míg az aggregánt a neuronok termelik [11, 12, 13]. Mivel az aggregán a perineuronális hálók egyik legfontosabb komponense, kísérleteinkben erre a molekulára különös figyelmet fordítottunk [14]. Az extracelluláris mátrix újabban leírt és kutatott formája, amikor axonok varicositásai, terminális és preterminális szakaszai köré akkumulálódik anélkül, hogy egy nagy összefüggő állományt képezne. Ezeket a vélhetően

axonvégződés körüli, periaxonalis hüvelyeknek [15] nevezett képleteket tüzetesen vizsgáltuk, de pontos funkciójuk még ismeretlen.

A perineuronális hálók rendkívül sok funkcióval rendelkeznek. Fontosak az extracelluláris tér és az intracellulárisan található sejtváz közti kapcsolat létrehozásában [16, 17]. Jelentős szerepet játszanak az ionhomeosztázis fenntartásában, gyakran találhatóak gátló interneuronok körül [6, 18, 19, 20] (1. ábra). Védelmet nyújtanak a neurodegeneratív folyamatokkal szemben [21, 22, 23] és szabályozó szerepük van a szinaptogenezis során [24, 25]. Az is bizonyított, hogy a kifejelett extracelluláris mátrix ellenáll a közeledő neuriteknek [26, 27], valamint, hogy csökkenti az idegsejtek plasztikus tulajdonságait [24, 28]. A plasztikus tulajdonságok alatt az idegsejtek szinaptikus kapcsolatainak változásait, erősségük, illetve hatékonyságuk módosulásait értjük. A következőkben leírt kísérleteink két nagy kérdéscsoportot érintenek. Megvizsgáltuk, hogyan jelenik meg az extracelluláris mátrix az ember központi idegrendszerében, valamint állatkísérletekben vizsgáltuk a perineuronális mátrix plasztikus aspektusait.

## Módszerek

A perineuronális hálók láthatóvá tételére több módszer is rendelkezésünkre áll. *Camillo Golgi* a XIX. század végén az ezüst krómsók precipitációjának módszerével vizsgálta őket. A ma használt egyik leggyakoribb eljárás a növényi lektinokkal való jelölés [29, 30]. Ezek a lektinek nagy szelektivitással és affinitással kötődnek a proteoglikánok alfa- és/vagy béta-N-acetil-galaktózin részeihez. Napjainkban a lektinhisztokémia és az immunhisztokémia széles körben elterjedt módja a perineuronális hálók jelölésének, így mi is ezeket a módszereket alkalmaztuk (2. ábra).

A humán szövetmintákat a Semmelweis Egyetem II. Patológiai Intézete bocsátotta rendelkezésünkre. Minden kísérleti protokoll, emberi és állati minták felhasználása a Semmelweis Egyetem etikai engedélyében foglaltaknak megfelelően történt.

A humán extracelluláris mátrix immunhisztokémiai vizsgálatánál kulcsfontosságú az úgynevezett post mortem idő, ezért törekedtünk arra, hogy az ne haladjon meg a 20–24 órát. Az agy- és gerincvelőt először in situ – az artériás és vénás rendszerbe vezetett kanülök segítségével – a későbbi vizsgálati eljárásoknak megfelelő fixálóoldattal tartósítottuk, majd a minták kivétele után azokat ismételtelen a fixálóoldatba helyeztük. Ezt követte az immunhisztokémiai jelölésre és elektronmikroszkópos vizsgálatra alkalmas metszetek készítése.

A gerincvelőt szelvények szerint vágtuk el. (A tájékozódásban a megfelelő ideggyökök nyújtottak segítséget.) Fixálás után metszeteket készítettünk a harántsíkból, a nyaki, mellkasi, ágyéki és keresztcsonti szelvényekből. Az adott szelvényen belüli szürkeállomány-régiók azonosítására Nissl-festést és neuronális

jelölést alkalmaztuk. Az azonosított régiókhoz hozzárendeltük *Clara* [31] és *Standring* [32] korábbi munkáiban alkalmazott nomenklatúráját. A hippocampuszövet-minták középsúlyos és súlyos Alzheimeres betegek közül származtak, kontrollként azonos korcsoportból származó nem Alzheimeres betegek szövetmintáit használtuk. (Ezeket a mintákat a londoni Neurodegenerative Diseases Brain Bankból szereztük be, összesen 23 eset, mindkét nemből.) Az emberi extracelluláris mátrix vizsgálatához – az előbb felsorolt KIR-területeken – számos, mátrixot felépítő (például kondroitinszulfát-proteoglikánok, tengelyfehérjék, kapcsolófehérjék) molekula ellen, különböző állatokban termelt ellenanyagokat használtunk. Ilyen – a teljesség igénye nélkül – például az aggregán [33], a brevikan [34], a proteoglikán, linkprotein-1 [35, 36, 37] vagy a tenascin-R- [38] ellenes antitest. Az idegsejtek azonosításához szintén többféle ellenanyagot használtunk, amelyek nemcsak a gliasejtektől való elkülönítést, hanem a különböző idegsejt típusok azonosítását is segítették [39, 40]. Munkánk során egyszeres és többszörös jelöléseket alkalmaztunk. A jelet, fényt, illetve konfokális lézer szkennig mikroszkóppal és elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. A képek utófeldolgozásához képszerkesztő programot használtunk.

Házicsirkében folytatott kísérleteink során három állatcsoportot vizsgáltunk (0 napos, egynapos és felnőtt állatokat), csoportonként hat állatot. A csirkék egyik szemét leragasztottuk, majd egy fekete, fényt át nem eresztő anyaggal lefedtük. Ezt a sapkát stabilan az állat fejére rögzítettük. Az úgymond 0 napos állatok a tojásban is végig sötétben tartózkodtak, elsötétített keltetőben keltek ki, kikelés után szemüket szinte azonnal letakartuk. Három hétig normál állatházi körülmények között nevelkedtek, majd ez után mély altatásban 4%-os paraformaldehid oldatával transzkardiális fixálást végeztünk. Az agyvelőket eltávolítottuk, cryoprotectio után lefagyasztottuk, belőlük metszeteket készítettünk. A metszeteket számszérumban való blokkolás után primer mátrixkomponens-ellenes antitestekkel (antiaggregán, illetve antilink) inkubáltuk, majd biotinnel vagy fluoreszcens anyaggal konjugált szekunder antitesttel jelöltük. Az immunprecipitátum megjelenése után fénymikroszkópos kiértékelés történt. Mivel a házicsirke látópályája 100%-ban keresztezett, így össze tudtuk hasonlítani a letakart oldalt a szabadon hagyott szemhez tartozó (kontroll)agyféltekével.

A patkánythalamus mátrixának vizsgálata során pályakövetéssel kombinált immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk, összesen 16 darab öt hónapos Wistar patkányban. Mély altatásban stereotaxis segítségével anterográd pályakövető anyagot juttattunk az agyvelő kiválasztott területeire. Egy hét után, mély altatásban az állatokat 4%-os paraformaldehidoldattal transzkardiálisan perfundáltuk, az agyvelőket eltávolítottuk, majd fagyasztva metsztettük. A metszeteket aggregánellenes antitest oldatával inkubáltuk, majd a biotinilált pálya-

követő anyagot (BDA) és az antitestet különböző fluoreszcens szekunder antitestekkel jelöltük meg. Néhány metszeten többszörös immunhisztokémiai jelölést végeztünk; itt egyazon metszeten láthattuk a jelölt axonvégződéseket, az aggregánpozitív profilokat és a GAD-immunoreaktív terminálisokat (gamma-amino-dekarboxiláz, ami a GABA-erg, vagyis gátlóvégződéseket jelöli – 2. ábra).

A motoros rendszer vizsgálata során olyan magokat injiciáltunk, mint a kisagy magvak, amelyek neuronjai köztudottan képesek aggregánt termelni, így elemeik köré képesek mátrixot szintetizálni. A következő csoportban a szenzoros rendszer egy pályáját vizsgáltuk, a nucleus gracilisba és a nucleus cuneatusba juttattuk a pályakövető anyagot, a végződéseket a köztiagy thalamusának ventralis-posterolateralis (VPL) magjában vizsgáltuk. A harmadik kísérleti csoportban pedig a kérges testbe juttattuk a pályakövető anyagot. A commissuralis piramissejtek sértett axonjai felveszik a BDA-t, és eljuttatják a végződéseikig. Itt arra kerestük a választ, hogy a kevés számú perineuronális hálóval bíró, tehát aggregántermelésre képes piramissejt képes-e kialakítani periaxonális hüvelyt végződési köré. Vizsgálatainkat konfokális lézer szkennig mikroszkóppal végeztük, amely a jelölt struktúrák igen pontos lokalizációját teszi lehetővé.

## Eredmények

Az emberi gerincvelő nyaki szakaszától a keresztcsonti szakaszáig a mátrix felépítésére a morfológiai sokféleség és a kémiai heterogenitás jellemző. A különböző mátrixmolekulák közül az aggregán, a brévikán és a link-protein-1 jóval nagyobb mennyiségben fordultak elő a többi molekulához képest. Kimutattuk, hogy a perineuronális hálók részleges átfedést mutatnak az alapvető mátrixkomponensekkel. Így az aggregánmolekula az idegsejtek szómája és proximális dendritjei körül jelenik meg különböző intenzitással, míg a brévikán és link-protein-1 inkább a distalisabb dendritrégiókra korlátozódik. A többszörös jelölések kimutatták az extracelluláris mátrix különböző neuronális, neurotranszmitter és receptoraltípusokhoz való viszonyát. Rávilágítottunk, hogy a hátsó szarvban perineuronális hálók nem, viszont izolált periszinaptikus brévikánpozitív hüvelyek annál nagyobb számban fordulnak elő. A centrális szürkeállományban és az elülső szarvban a perineuronális hálók a hosszú pályákhoz tartozó idegsejtek körül fordultak elő.

Az ember oldalsó térdtestében kapott eredményeink meglepő fordulatot hoztak. Az extracelluláris mátrix elrendeződése kirajzolja a kis és nagy sejtetes rétegekből felépülő sávos szerkezetet. Az általánosan ismert perineuronális mátrixszerkezettel szemben azonban rendkívül kevés vagy inkább nincs perineuronális háló az idegsejtek körül. A mátrix nem perineuronális háló formájában, hanem izolált periszinaptikus mátrix-

ként (periaxonális hüvely) jelenik meg és ez utóbbi körvonalazza a neuronokat.

A humán hippocampusban elkészítettük a kondroitinszulfát-proteoglikán tartalmú mátrixtérképet. Perineuronális hálókat találtunk nemcsak parvalbumintartalmú, hanem calretinin és calbindin immunoreaktív idegsejtek körül is. Nagy számban azonosítottunk izolált periszinaptikus hüvelyt a kiemelkedő plaszticitással rendelkező gyrus dentatusban. Alzheimer-kórban szenvedő betegek agyszövetéből származó mintákon kimutattuk, hogy annak ellenére, hogy egy posztzinaptikus sejt beteg, a beteg sejten megtalálhatóak az periaxonális hüvelyek a még funkcionáló szinapszisok körül. Ezzel az idegsejt a preszinaptikus oldalról védi saját kapcsolatait. Másodsorban a béta-amyloid plakkok által beborított mikrodomének közelében rengeteg periaxonális hüvely volt látható, ez pedig arra enged következtetni, hogy a beteg agyszövetben a periaxonális hüvelyek megvédik a szinapszisokat. Végül pedig a perineuronális hálóval bíró neuronoknál nem volt kimutatható kóros fehérjelerakódás, ez pedig azt jelentheti, hogy ezek a neuronok védettek a betegségtől.

Házicsirkében végzett vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy az idegrendszer robbanásszerű fejlődése párhuzamban áll az extracelluláris mátrix kialakulásával. Naposcsirkékben perineuronális hálókat azonosítottunk az agyvelő valamennyi területén, mind a rostralis, mind a caudalis területeken. Kéthetes és három hónapos állatokban ezek a perineuronális hálók kifejezettebbek voltak, de nem mutattak régióbeli változást az előfordulásukban. Ha az egynapos csirkék egyik szemét lefedtük, az semmilyen hatással nem volt a látópálya egyik állomásán sem a mátrix fejlődésére: a perineuronális hálók azonos számban és fejlettségben jelentek meg a deprivált és megkímélt oldalakon.

Felnőtt patkány thalamusában csak kisszámú perineuronális hálót azonosítottunk, izolált periszinaptikus hüvelyt viszont annál többet. Az elülső, limbicus magokban és a dorsalis asszociációs magokban különösen kevés immunoreaktivitást találtunk. A ventralis elülső és oldalsó motoros magokban, valamint a ventralis szenzoros magokban jóval kifejezettebb volt az extracelluláris mátrix. A legsűrűbb és legerősebb mátrixjelölést a reticularis magokban találtuk. Anterograd pályakövetéssel kapcsolt immunhisztokémiával pedig kimutattuk, hogy izolált periszinaptikus hüvelyek főként gátló idegvégződések körül fordulnak elő.

## Megbeszélés

Vizsgálataink első csoportjában az ember központi idegrendszerének mátrixával foglalkoztunk. A gerincvelőben kapott eredményeink útmutatást adnak a legfőbb mátrixkomponensek eloszlásáról és morfológiai megjelenéséről az emberi gerincvelő teljes dimenziójában. Az aggregán, brévikán és a link-protein-1 eloszlása a sejt felszínen vagy az axonterminálisok körül külön-

böző. Az aggregán perineuronális háló formájában látható a szomatodendritikus régióban, míg a brevikán a periaxonális hüvelyben mutatható ki nagy mennyiségben. Feltételezésünk az, hogy míg az aggregáknak az egységes perineuronális mátrix felépítésében lehet szerepe, addig a brevikán a szinaptikus rés integritásának megőrzésében fontos. Amennyiben kontrolláltan tudnánk befolyásolni az esetleges sérült szinapszisok újrászerveződését, azzal egy újabb fejezet nyílhatna meg a gerincvelősérült betegek rehabilitációs terápiájában.

Az oldalsó térdestestben az extracelluláris mátrix szinte csak izolált periszinaptikus mátrixként jelenik meg, és ez döntően különbözik minden eddig megvizsgált agyterülettől. Az egyedülálló mátrixszerkezet egy különösen érdekes kérdést vet fel: lehetséges, hogy nem a posztzinaptikus, hanem a preszinaptikus sejt termeli a periszinaptikus mátrixot, hogy megóvja vagy izolálja a saját kapcsolatait? Ez döntően átirná azt az általánosan elfogadott dogmát, hogy a perineuronális mátrixállományt a posztzinaptikus célsejt termeli maga köré, amibe beágyazza afferens kapcsolatait.

Az emberi hippocampus kiemelkedően plasztikus terület, nem csupán köztiagyi, hanem a neocorticalis régiókhoz képest is. Megállapítottuk, hogy ennek megfelelően kevesebb a plaszticitást gátló perineuronális háló. Rávilágítottunk, hogy mind a teljes perineuronális háló, mind a periszinaptikus hüvelyek fontos védekezőmechanizmusok Alzheimer-kórban, amellyel a sejt megóvja magát, illetve afferens és efferens kapcsolatait.

Házicsirkében végzett vizsgálataink alapján egyértelműen kijelenthetjük, hogy az emlősökkel ellentétben a kikelés után azonnal megkezdődik a perineuronális hálók felépítése. Megállapítottuk, hogy az idegrendszer robbanásszerű fejlődése párhuzamban áll az extracelluláris mátrix kialakulásával. Fénydeprivációs kísérleteinkben megfigyeltük, hogy az emlősökben találtakal ellentétben a mátrix a letakart szemnek megfelelő, úgynevezett deprivált oldalon is ugyanolyan intenzitással fejlődik, mint ott, ahol fényinger érte az agyvelőt. Arra következtetünk, hogy a mátrix kialakulása csirkében nem ingerfüggő folyamat eredménye.

Patkányagyvelőben végzett vizsgálatunk eredményei alapján pedig megállapítottuk, hogy a plasztikusabb tulajdonságú, kevésbé fejlett mátrixszal rendelkező kéregterületek felé szintén kevés mátrixállománnyal rendelkező thalamusmagok projiciáltak. A periaxonális hüvelyek elhelyezkedését illetően úgy találtuk, hogy a corticothalamicus végződéses szabadon, míg a gátlóvégződések (GAD-immunoreaktív) mátrixburokban fekszenek. Feltételezzük továbbá azt, hogy a mátrix termelődéséért mind a pre-, mind a posztzinaptikus idegsejt felelős.

## Köszönetnyilvánítás

Az eredményeink és a közleményeink *dr. Alpár Alán* docens vezetésével születtek, *Németh Andrea* szakasszisztens technikai segítségével. Köszönjük a lipcei Paul Flechsig Intézet munkatársainak a kollaborációs lehetőségét és szakmai segítségét.

## Irodalom

- [1] *Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., et al.*: Molecular biology of the cell. 4th edition. Garland Science, New York, 2002.
- [2] *Rauch, U.*: Extracellular matrix components associated with remodeling processes in brain. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2004, *61*, 2031–2045.
- [3] *Ruoslahti, E.*: Brain extracellular matrix. *Glycobiology*, 1996, *6*, 489–492.
- [4] *Tamaguchi, Y.*: Lecticans: organizers of the brain extracellular matrix. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2000, *57*, 276–289.
- [5] *Hendry, S. H., Jones, E. G., Hockfield, S., et al.*: Neuronal populations stained with the monoclonal antibody Cat-301 in the mammalian cerebral cortex and thalamus. *J. Neurosci.*, 1988, *8*, 518–542.
- [6] *Brückner, G., Brauer, K., Härtig, W., et al.*: Perineuronal nets provide a polyanionic, glia-associated form of microenvironment around certain neurons in many parts of the rat brain. *Glia*, 1993, *8*, 183–200.
- [7] *Brückner, G., Bringmann, A., Köppe, G., et al.*: In vivo and in vitro labelling of perineuronal nets in rat brain. *Brain Res.*, 1996, *720*, 84–92.
- [8] *Brückner, G., Pavlica, S., Morawski, M., et al.*: Organization of brain extracellular matrix in the Chilean fat-tailed mouse opossum *Thylamys elegans* (Waterhouse, 1839). *J. Chem. Neuroanat.*, 2006, *32*, 143–158.
- [9] *Golgi, C.*: Intorno all' origine del quarto nervo cerebrale e una questione isto-fisiologica che a questo argomento si collega. *Rend. R. Accad. Lincei*, 1893, *2*, 379–389.
- [10] *Celio, M. R., Spreafico, R., De Biasi, S., et al.*: Perineuronal nets: past and present. *Trends Neurosci.*, 1998, *21*, 510–515.
- [11] *Lander, C., Zhang, H., Hockfield, S.*: Neurons produce a neuronal cell surface-associated chondroitin sulfate proteoglycan. *J. Neurosci.*, 1998, *18*, 174–183.
- [12] *Matthews, R. T., Kelly, G. M., Zerillo, C. A., et al.*: Aggrecan glycoforms contribute to the molecular heterogeneity of perineuronal nets. *J. Neurosci.*, 2002, *22*, 7536–7547.
- [13] *Morawski, M., Brückner, G., Jäger, C., et al.*: Neurons associated with aggrecan-based perineuronal nets are protected against tau pathology in subcortical regions in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 2010, *169*, 1347–1363.
- [14] *Giamanco, K. A., Morawski, M., Matthews, R. T.*: Perineuronal net formation and structure in aggrecan knockout mice. *Neuroscience*, 2010, *170*, 1314–1327.
- [15] *Brückner, G., Morawski, M., Arendt, T.*: Aggrecan-based extracellular matrix is an integral part of the human basal ganglia circuit. *Neuroscience*, 2008, *151*, 489–504.
- [16] *Celio, M. R., Blümcke, I.*: Perineuronal nets – a specialized form of extracellular matrix in the adult nervous system. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 1994, *19*, 128–145.
- [17] *Wintergerst, E. S., Vogt Weisenborn, D. M., Rathjen, F. G., et al.*: Temporal and spatial appearance of the membrane cytoskeleton and perineuronal nets in the rat neocortex. *Neurosci. Lett.*, 1996, *209*, 173–176.
- [18] *Reinert, T., Morawski, M., Arendt, T., et al.*: Quantitative microanalysis of perineuronal nets in brain tissue. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, 2003, *210*, 395–400.
- [19] *Morawski, M., Brückner, M. K., Riederer, P., et al.*: Perineuronal nets potentially protect against oxidative stress. *Exp. Neurol.*, 2004, *188*, 309–315.
- [20] *Härtig, W., Brauer, K., Brückner, G.*: Wisteria floribunda agglutinin-labelled nets surround parvalbumin-containing neurons. *Neuroreport*, 1992, *3*, 869–872.
- [21] *Miyata, S., Nishimura, Y., Nakashima, T.*: Perineuronal nets protect against amyloid beta-protein neurotoxicity in cultured cortical neurons. *Brain Res.*, 2007, *1150*, 200–206.

- [22] *Morawski, M., Pavlica, S., Seeger, G., et al.*: Perineuronal nets are largely unaffected in Alzheimer model Tg2576 mice. *Neurobiol. Aging*, 2010, *31*, 1254–1256.
- [23] *Brückner, G., Hausen, D., Härtig, W., et al.*: Cortical areas abundant in extracellular matrix chondroitin sulphate proteoglycans are less affected by cytoskeletal changes in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 1999, *92*, 791–805.
- [24] *Pizzorusso, T., Medini, P., Berardi, N., et al.*: Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. *Science*, 2002, *298*, 1248–1251.
- [25] *Berardi, N., Pizzorusso, T., Ratto, G. M., et al.*: Molecular basis of plasticity in the visual cortex. *Trends Neurosci.*, 2003, *26*, 369–378.
- [26] *McKeon, R. J., Schreiber, R. C., Rudge, J. S., et al.*: Reduction of neurite outgrowth in a model of glial scarring following CNS injury is correlated with the expression of inhibitory molecules on reactive astrocytes. *J. Neurosci.*, 1991, *11*, 3398–3411.
- [27] *Niederöst, B. P., Zimmermann, D. R., Schwab, M. E., et al.*: Bovine CNS myelin contains neurite growth-inhibitory activity associated with chondroitin sulfate proteoglycans. *J. Neurosci.*, 1999, *19*, 8979–8989.
- [28] *Hockfield, S., McKay, R. D., Hendry, S. H., et al.*: A surface antigen that identifies ocular dominance columns in the visual cortex and laminar features of the lateral geniculate nucleus. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1983, *48* (Pt 2), 877–889.
- [29] *Seeger, G., Lüth, H. J., Winkelmann, E., et al.*: Distribution patterns of Wisteria floribunda agglutinin binding sites and parvalbumin-immunoreactive neurons in the human visual cortex: a double-labelling study. *J. Hirnforsch.*, 1996, *37*, 351–366.
- [30] *Tsubouchi, Y., Tsubouchi, M., Hitomi, S., et al.*: Perineuronal sulfated proteoglycans in the adult rat brain: histochemical and electron microscopic studies. *Acta Med. Okayama*, 1996, *50*, 237–241.
- [31] *Clara, M.*: Das Nervensystem des Menschen., J. A. Barth, Leipzig, 1959, 772.
- [32] *Standring, S.*: Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice. 40th ed. Elsevier, 2008.
- [33] *Morawski, M., Brückner, G., Arendt, T., et al.*: Aggrecan: Beyond cartilage and into the brain. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2012, *44*, 690–693.
- [34] *Frischknecht, R., Seidenbecher, C. I.*: Brevican: a key proteoglycan in the perisynaptic extracellular matrix of the brain. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2012, *44*, 1051–1054.
- [35] *Neame, P. J., Barry, F. P.*: The link proteins. *Experientia*, 1994, *70*, 53–72.
- [36] *Carulli, D., Rhodes, K. E., Fawcett, J. W.*: Upregulation of aggrecan, link protein 1, and hyaluronan synthases during formation of perineuronal nets in the rat cerebellum. *J. Comp. Neurol.*, 2007, *501*, 83–94.
- [37] *Carulli, D., Pizzorusso, T., Kwok, J. C., et al.*: Animals lacking link protein have attenuated perineuronal nets and persistent plasticity. *Brain*, 2010, *133* (Pt 8), 2331–2347.
- [38] *Brückner, G., Grosche, J., Schmidt, S., et al.*: Postnatal development of perineuronal nets in wild-type mice and in a mutant deficient in tenascin-R. *J. Comp. Neurol.*, 2000, *428*, 616–629.
- [39] *Alpár, A., Seeger, G., Härtig, W., et al.*: Adaptive morphological changes of neocortical interneurons in response to enlarged and more complex pyramidal cells in p21H-Ras(Val12) transgenic mice. *Brain Res. Bull.*, 2004, *62*, 335–343.
- [40] *Antonucci, F., Alpár, A., Kacza, J., et al.*: Cracking down on inhibition: selective removal of GABAergic interneurons from hippocampal networks. *J. Neuroscience*, 2012, *32*, 1989–2001.

(Lendvai Dávid dr.,  
Budapest, Tűzoltó u. 58., 1094  
e-mail: david.lendvai@gmail.com)

(Gáti Georgina dr.,  
Budapest, Tűzoltó u. 58., 1094  
e-mail: georgina.gati@gmail.com)

Az Orvosi Hetilap 2013, 154, 719. oldalán (18. szám) megjelent OH-Kvízre két helyes megfejtés érkezett.

A beküldők: Dr. Bíró László (Budapest) és Dr. Somogyi Erzsébet (Miskolc).

A nyerteseknek szívből gratulálunk.

A nyerményüket – egy, az Akadémiai Kiadó webáruházában kedvezményes vásárlásra jogosító kupont – e-mailen küldjük el.