

A napi és évszakos bioritmus beállításáért felelős corpus pineale felépítésének és innervációjának finomszerkezeti, cytokémiai vizsgálata emberben és különböző gerincesekben

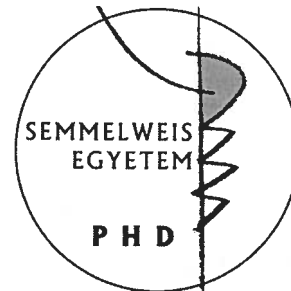
Doktori értekezés

Dr. Maria João Manzano e Silva

Semmelweis Egyetem

Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola

Human Morfológiai és Fejlődés Biológiai Intézet



Témavezető : Dr Vigh Béla, professor emeritus, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr Buzás Péter, egyetemi adjunktus, Ph.D.

Dr.Székely Andrea Dorottya, egyetemi docens,Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr.Szirmai Imre, egyetemi tanár, az MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. László Lajos, egyetemi docens, az MTA doktora

Dr. Gerber Gábor, egyetemi docens, C.Sc.

Bíráló bizottság elnöke:Dr. Kálmán Mihály, egyetemi tanár, az MTA doktora

Bíráló bizottság tagjai: Dr. Alpás Alán egyetemi docens, Ph.D.

Dr. Molnár Kinga, egyetemi adjunktus, Ph.D.

Budapest 2015

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|--|------------|
| Rövidítések jegyzéke..... | 2 |
| Bevezetés, irodalmi háttér..... | 3 |
| Célkitűzések..... | 15 |
| Anyagok és módszerek..... | 16 |
| Eredmények..... | 22 |
| I. A corpus pineale felépítése emberben és különböző gerincesekben..... | 22 |
| 1. Az emberi corpus pineale szöveti szerkezete..... | 22 |
| 2. Az emlős corpus pinealjának felépítése..... | 26 |
| 3. Submammáliák pineális szerveinek szerkezete..... | 32 |
| II. A corpus pineale citokémiai vizsgálata..... | 48 |
| 1. Különböző hullámhosszra érzékeny molekulák a corpus pinealéban..... | 49 |
| 2. Szinaptikus mediátorok immuncytokémiai kimutatása a corpus pinealéban..... | 53 |
| 3. Pineális calcifikáció és fotoreceptív funkció..... | 57 |
| III. A fényinformáció pineális afferentációja..... | 62 |
| 1. A pineális vegetatív afferentáció..... | 62 |
| 2. A koponya fényátersztő képessége emberben és különböző gerincesekben..... | 65 |
| Megbeszélés..... | 69 |
| Következtetések..... | 77 |
| Összefoglalás..... | 79 |
| Summary..... | 80 |
| Irodalomjegyzék..... | 82 |
| Saját publikációk jegyzéke..... | 101 |
| Köszönetnyilvánítás..... | 107 |

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

- Asp-Glu** – aspartát-glutamát
cGMP - ciklikus guanozin monofoszfát
CGRP – calcitonine gene-related peptide
COS1 – conidiopore stalk-less 1
CRA1BP – cellular retinal-binding protein
CRY1 - criptochrom
EDTA – etilendiamin tetraecetsav
GABA - gamma aminobutyric acid (vajsav)
Gly-Asp - glycil aspartic acid
GnRh - gonadotropin releasing hormon
HIOMT - hydroxyindol-O-methyltransferáz
HRP- horseradish peroxidase
IgG- immunglobulin G
IRBP - interstitial retinol binding protein
MS 222- tricaine methane sulfonate
NPY – neuropeptide Y
PBS – phosphate buffered saline
TH – tirozin hydroxiláz
VIP– vasoactiv intestinal protein

BEVEZETÉS, IRODALMI HÁTTÉR

A corpus pineale szerepe a **circadian és circannuális életritmus** kialakításában ismert. Melatonin-hormon képzését a fény gátolja, tehát a legtöbb éjjel ill. télen termelődik. A melatoninnak többek közt antigonadotrop hatása van, ami közvetlenül befolyásolja a hormonrendszer működését és ezzel a szervezet napi ill. évszakos ritmusát szabályozza (Shanahn és Czeisler 2000, Schultz és Steimer 2009, Reiter és mt. 2010).

Az egyes szervek normális napi ritmusát alapfokon önregulációs genetikai órák („slave clocks”) irányítják, amelyek 24 órás diurnális ritmust diktálnak. A különböző szervek napi ritmusát a hypothalamikus nucleus suprachiasmaticus („master clock”) koordinálja. A koordinált működést a föld különböző pontjain lévő megvilágítási biotóp viszonyokhoz állítják be a nemvizuális fotoreceptorok. A corpus pinealén kívül a retina - vizuális fotorecepciója mellett - rendelkezik nemvizuális fényérzékeléssel is, alacsonyabb rendű gerincesekben pedig az ún. mély encephalicus fotoreceptoroknak van hasonló szerepe (Darlington és mt. 2000, Vigh és mt 2002, Cermakian és Boivin 2009).

Az éjszakai mesterséges világítás gátolja a melatonin termelődését aminek patológiás hatásai is lehetnek, mint pl. nőben az emlőrák, vagy férfiben colorectális carcinoma (Kayumow és mtsai 2000, Copinschi 2005, Navara és Nelson 2007, Blask 2009).

Korábbi irodalmi nézet, hogy az evolúció folyamán a fotoreceptor pinealocyták kültagjainak visszafejlődésével emlősökben és emberben mirigysejteké alakultak át, amiből a tobozszer „tobozmirigy”, „pineal gland” elnevezése ered (Collin 1976, Reiter 1993, Korf 1996, Teclemariam-Mesbach és mtsai 1999).

A submammáliák pineális szervei differenciált nemvizuális fotoreceptor szervek a környezeti megvilágítás érzékelésére és a szervezet működésének diurnális és circannuális szabályozására (Ueck és mtsai 1989, Meissl és George 1984, Vigh-Teichmann és mtsai 1992, Vollrath 1981).

Az **emlős és ember** pinealocytáinak fotoreceptor kültagjai membrán differenciációt nem, vagy kevéssé mutatnak és feltételezik, hogy a napi és éves bioritmus szabályozásában a retinából vegetatív rostok útján a corpus pinealéba jutó fényinformációk szerepelnek

(Ling és mtsai 1990, Reiter 1991, Korf 1996).

E nézettel szemben, laboratóriumunkban végzett korábbi immúncitokémiai vizsgálatok a retinális fototranszdukciós kaszkádban szereplő molekulákat mutattak ki a corpus pinealéban, nemcsak alacsonyabbrendű gerincesekben (kőrszájúakban, halakban és kétéltűekben), hanem hüllőkben, madarakban és emlősökben is (Vigh-Teichmann és mtsai 1980, 1993, Vigh és mtsai 1982, Vigh-Teichmann és mtsai 1986, Vigh és Vigh-Teichmann 1993).

Hüllőkben és madarakban a pinealocyták fotoreceptor kültagjai kisebbek mint kőrszájúakban, halakban és kétéltűekben, ami fényérzékelésük regresszióját támasztja alá, viszont ezzel ellentétes hatású változás, hogy hüllőkben és madarakban a pinealocyták száma növekedett.

Az irodalmi adatok egységesen fontosnak tartják a pineális szervek működését a napi és évszakos bioritmus szabályozásában. A szerv-működéssel kapcsolatos finomszerkezeti adatok, emberben és különböző gerincesekben való összehasonlítása, mirigyes és idegszöveti jellegének értékelése, a fényinformáció közvetlen ill. neurális útja azonban nem ad egyértelműen értékelhető képet, ami indikálja a szerv további vizsgálatát különös tekintettel a feltételezett működések fontos idegéletteni és kórtani jelentőségére.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz szükséges gyors fixálási lehetőség hiányában, kevés finomszerkezeti adat ismert az emberi corpus pinealéről (Fejér és mt.1989, Vigh és mt. 2003), bár fénymikroszkópos leírás már korán megjelent (Bayerova és Bayer 1960).

A korábbi irodalmi adatok nagyrésze szerint az emlős corpus pineale az emberéhez hasonlóan elvesztette közvetlen fényérzékelő képességét és melatonin-képzésének napi ritmusát a retinából a szimpatikus perifériás idegek útján érkező fényinformáció állítja be (Karasek és Reiter 1992, Moller és Baeres 2002, Schomerus és Korf 2005).

Elektrofiziológiai vizsgálattal patkány corpus pinealéja mutat fényérzékenységet, amit retinális hatással magyaráznak. Emlős pineale fotoreceptor érzékenysége kifejezettebb fiatal állatokban és benne csapokra jellegzetes molekulák leginkább újszülöttekben mutathatók ki. Sympatectomia újszülöttben nem változtatja a pineális fényérzékenységet, ami bilaterálisan enukleált állatban is fennmarad és ellene szól a fényinformáció vegetatív rostok által a retinából való közvetítésének (Machado és mtsai 1969, Barayas-López és

mtsai 1987, Torres és Lytle 1990, Blackshaw és Snyder 1997b, Przbylska-Gortowitz és mtsai 2000).

Megtartott fotorecepcióra utal, hogy emlősökben is tartalmaznak a pinealocyták számos fotorecepcióban szereplő molekulát: rod-opszin, kék csap opszin, recoverin, retinoidok, IRBP (interstitial retinol binding protein), csap foszfodieszteráz mutatható ki emlős pinealéban (Bridges és mtsai 1987, Vigh-Teichmann és mtsai 1993, Carcamo és mtsai 1995, Zhao és mtsai 1997, Ichsan és mtsai 2005).

Speciális vélemény szerint (Korf 1996) a phototransdukciós kaszkádra jellemző molekulák a corpus pinealé esetében nem a fényérzékenység szolgálatában állnak (?).

Emellett egyes emlősökben a pinealocyták morfológiailag is különböző fejlettségű fotoreceptor bel- és kültagokat képezhetnek (Pévet és mt.1977, Quay 1989, Vigh és Vigh-Teichmann 1989, Vigh-Teichmann és Vigh 1992).

A **madarak** pineális szervét elsősorban fénymikroszkóppal, valamint kísérleti módszerekkel vizsgálták (Oksche és Vaupel-von Harnack 1965, Bischoff 1969, Collin 1969, Ueck 1970, Kappers 1971, Oksche és mtsai 1972, Ueck és Kobayashi 1972, Oksche és Hartwig 1979, Mess és mtsai 1996, Csernus és mtsai 1998, 1999, Csernus és Mess 2003).

A szerv szerkezetét fényreceptor karakterű pinealocyták, neuronális perikaryonok, idegrostok továbbá idegvégződéses valamint ependymasejtek és gliasejtek alkotják (Vigh és Vigh-Teichmann 1974, Vigh és mtsai 1975, Omura 1977).

Alacsonyabbrendű gerincesek kettős pineáléjával ellentétben, a legtöbb madárban csak egy pineális szerv van. A pinealocyták fotoreceptor kültagjai különbözően fejlettek az egyes fajokban, de általánosan fejlettebbek fiatal állatokban. Ez arra utal, hogy a pineális fényérzékelés elsődleges szerepe a napi biológiai ritmusnak a kikelés utáni biotóphoz való szinkronizációja. A kültagok legtöbbje *antiopszin* immunreakciót mutat, egyesek *iodopszint* tartalmaznak. Ezenkívül *pinopszin*, *visinin* (retinális csap-specifikus protein), *11-cis retinál* is kimutatható a fotoreceptorokban, továbbá *cryptochrom* (CRY1), ami a kék fény percepcióban és a pinealis ritmikus clock-funkcióban szerepel (Sun és mtsai 1991, Hirunagi és mtsai 1997, Kawamura és mtsai 1999, Nakamura és mtsai 2001, Nagy és Csernus 2007).

Csirke corpus pineáljában intracelluláris kalcium-kötő fehérjék mutathatók ki immuncitokémiaiilag. Egyes madarakban szabad calcium ionok az emlős és emberi corpus pineáljában ismert corpora arenacea-jellegű concrementumokat is képezhetnek (Bastianelli és Pochet 1994).

A madarak pineális szervének szöveti vizsgálatára elsősorban csirkére vonatkozólag találunk irodalmi adatokat - amely faj jelentős változáson ment át a hosszú domesztikálás következtében. Gyakrabban használt állatok még a galamb és a fürj, míg más madárfajokról csak egy-egy cikk található:

Pica pica: Collin 1969, *Passer domesticus*: Ueck 1970, *Zonotrichia leucophrys gambelii*: Oksche és mtsai 1972, Passerin madarak: Collin és mtsai 1986, Papagály: Masson-Pévet és mtsai 1987, Veréb és feketeterítő: Guerlotte és mtsai 1988, Liba: Prusik és mtsai 2006, Kanadai liba: John és George 1989, Réce: Korf és Vigh-Teichmann 1984, *Crypturellus parvirostris*: Redins és Machado 1984, *Meleagris gallopavo*: Gutte és mtsai 1989; *Psittacula crameri*: Maitra és mtsai 1989, *Perdicula asiatica*: Haldar és Gosh 1990, *Psittacula cyanocephala* és *Ploceus Philippinus*: Chakraborty 1993, Varjú: Nasu és mtsai 1994, *Poephilia guttata*: Van't Hof és Gwinner 1996, Trópusi bagoly: Haldar és Guchhait 2000; Pujka: Przybylska-Gorowicz és mtsai 2005.

Az irodalmi adatok szerint a madár pinealocyták rendelkeznek a *melatonin bioszintézis* enzimjeivel. A pinealocyta axonok egyrésze a szerv felszínén *neurohormonális idegvégződéseket* képez, amelyek serotonint tartalmaznak. A pinealocyták axonjai a retinális fotoreceptorok terminálisaihoz hasonló, *szinaptikus ribbont* tartalmazó végződéseket is képeznek a pineális neuronok dendritjein. A ribbonok számában napi ritmus észlelhető. Az idegsejtekben *acetylcholinesteráz* mutatható ki. A neuronok száma a korról csökken, mutatva hogy a szerv neurális kijelzése is kisebb idősebb madarakban (Greve és mtsai 1993, Oshima és Matsuo 1991, Vigh-Teichmann és Vigh 1994).

A pineális neuronokon ribbont nem tartalmazó szinapszisok is vannak, amelyek, vagy interneuronális összeköttetéseket jelölnek, vagy centrális eredetű terminálisok. Elektrofiziológiai vizsgálatok a habenuláris magok felől jövő afferentációt mutatnak. A retina felől jövő információk befolyásolják a pineális napi ritmust. A ganglion cervicale superiusból jövő noradrenerg rostok vasomotor terminálisokat képeznek, a melatonin

szekréció fenntartásában és a fény-ritmus szabályozásában közvetlenül nem vesznek részt (Korf és Vigh-Teichmann 1984, Barrett és Underwood 1992, Nowak és Sek 1994).

A **hüllőkben** található kétféle pineális szerv közül a *parietális* retina fotoreceptor sejteket, neuronokat és gliasejteket tartalmaz. A fotoreceptorokban három vizuális és egy nemvizuális opszin található és maximális fényérzékenységet 495 nm zöld és 430 nm kék hullámhosszon mutatnak. A neuronok axonjai képezik a parietális ideget, amelynek rostjai a baloldali nucleus habenulae, valamint pretectalis, thalamikus, hypothalamikus és telencephalikus területekhez futnak (Vigh B. és Vigh-Teichmann, 1982, Dodt E., Meissl H. 1982, Kalsow és mt. 1991, Tosini és mt. 2001).

A másik szerv a *corpus pineale* kiirtásakor a gyíkok alacsonyabb hőmérsékletű helyeken tartózkodnak, mint a kontrolok, mutatva a szerv szerepét a hüllő-testhőmérséklet szabályozásában. A pineális melatoninintermelés fény-dependens napi ritmust mutat. Melatonin injekció antigonadotrop hatással van a gyíkokra (Underwood 1990, Innocenti és mt. 1993).

A **kétéltűek** két nagy csoportjában a farkos és farkatlan kétéltűekben a pineális szervek nem egyformán fejlettek. A farkos kétéltűekhez (Urodélák) tartozó göte és szalamandra fajokban corpus pineale, a farkatlan kétéltűekhez (Anurák) tartozó békafajokban corpus pineale és frontális szem (frontal organ) képezi a pineális szerveket. Egyes szalamandra fajokban a corpus pinealénak van egy elülső lebenye, ami feltehetőleg a békafajok frontális szemének rudimenter formáját képviseli.

Farkos kétéltűek, göté pineális fotoreceptor sejtejei ribbon-típusú szinapszisokkal adják át az információt a pineális neuronok dendritjeinek. Pinealektómiás vizsgálatok mutatják a szerv szerepét a plazma-melatonin szint változásában és a bőr színének a környezethez való alkalmazkodásában. Háromfajta pineális fotoreceptort mutattak ki ultrastrukturálisan és immunreakció szerint (Vigh és Vigh-Teichmann 1986, Takahama 1993, Kos és mtsai 2000).

A **farkatlan kétéltűek**, béka fajok pineális szerveiről több irodalmi adat ismeretes. A *frontális szerv* (frontal organ, homlok szerv) közvetlenül a koponya felszínénél fekszik, a bőr pigment-mentes foltja alatt, ami a hüllők parietális szeméhez hasonlóan megengedi a „direkcionális fényérzékelést” vagyis a napfénynek kitett területek felkeresését, a

hőreguláció céljából.

A szerv csap és pálcika típusú fotoreceptorsejteket tartalmaz, egyesekben olajcsepp segíti a fény koncentrálását. A kisebb számú pálcika jelenléte elsősorban csap-jellegű fényérzékelésre utal. A fotoreceptor kültagokban bovin rhodopszin és jodopszin mutatható ki immuncitokémiaiilag. A fotoreceptorok axonjai ribbonos szinapszist képez a szerv neuronjain. Az idegsejtekből kiinduló agypálya képezi a *frontális ideget*, amely a tractus pinealishoz csatlakozva halad tovább az epithalamusban (Vigh és Vigh-Teichmann 1986, Ekström és Meissl 1990, Okano és mtsai 2000).

A békák *pineális szerve* differenciáltabb, nem csak egyszerű cső képezi, hanem tasakszerű kiemelkedésekkel növekszik a felszíne és a benne lévő sejtelemelek száma. A fotoreceptorokban immunoreaktív rhodopszin, pálcika típusú transducin, vizinin (retinális csap-specifikus fehérje), S-antigén és vitamin A mutatható ki. Elektrofiziológiailag vizsgálták a pineális neuronok spektrális érzékenységét különböző abszorpciós maximumoknál, ami a pálcika-típusú pinealocytáknál 500 nm és a rhodopszinra jellemző. A csap-típusú fotoreceptorok két típusa közül az egyik jodopszinra jellemző narancssárga fényben, a másik ultraibolya-kék fényben mutat maximumot (Dodt és Meissl 1982; Vigh és mt. 1985, 1988, 1995, Vigh-Teichmann és Vigh 1990).

Az intrapineális neuronok glutamátot, aszpartátot, mások GABA immunreakciót adnak. A sejtek dendritjén centrális rostok képeznek szinapszist. FMRFamid-immúnreaktív centrális rostok a commissura posteriorból lépnek a corpus pinealéba. Kísérletileg glutamát és aspartát excitatorikus hatású a pineális neuronok akromatikus fényreakciójára. A corpus pinealéből centrálisan haladó axonok fény hatásra csökkentik spontán kisüléseiket és csak néhány neuron válaszol hullámhossz-specifikus módon. E vizsgálatok arra utalnak, hogy a szerv elsődlegesen mint luminozítás-mérő funkcionál (Vigh és Vigh-Teichmann 1986, Ueck és mtsai. 1989, Ekström és Meissl 1990b).

A pineális szerv felszínén denz vezikulumokat tartalmazó, neurosecretiós-jellegű terminálisok végződnek. A szerv felett számos melanocyta található kontrahált állapotban. A corpus pineale által éjjel termelt melatonin szerepet játszhat a melanocyták kontrakciójában és a szervhez jutó fény szabályozásában (Korf és mtsai 1989, Vigh-Teichmann és Vigh 1990).

A pineális lumenben makrofágok vannak, amelyekben a fotoreceptor kültagok különböző mértékben lebomlott membránjai láthatók. A jelenség a retinában is ismert kültag újraképződésre utal. Feltehetően a béka corpus pineale fotoreceptor kültagjai naponta újraképződnek (Hartwig és Bauman 1984, Vigh-Teichmann és mt. 1988).

Az eddigi vizsgálatok **halakban** mind pineális, mind parapineális szövet kimutattak.

A *pineális szervnek* hosszú nyele van a nyél elején szélesebb lumennel. A pineális fotoreceptor sejtek fejlett kültaggal rendelkeznek, amelyek rhodopszin és visinin ellenanyagokkal reagálnak. A pineális fotoreceptorok fejlődése megelőzi a retina fotoreceptorainak kialakulását. Ez a nemvizuális fényérzékelés korábbi szerepére utal, hasonlóan a pineális efferenciáció felnőtt állatban való csökkenéséhez.

A pinealocyta axonjai ribbonszerű tartalmú szinapsziszokat képeznek a másodlagos neuronokon (elsődleges neuronnak maga az axonnal rendelkező pinealocyta tekinthető), amelyek az agytörzsbe futó tractus pinealist képezik.

A pinealocytaiban immunreaktív HIOMT (hydroxyindol-O-methyltransferáz) - a melatonin szintézis fontos enzimje - mutatható ki. A melatonin és enzimje napszakos és szezonális variációt mutat (Vigh-Teichmann és mt. 1982, Ekstöm és Meissel 1990, Moutsaky és mtsai 2000).

A kisméretű *parapineális szerv* a pineális nyél baloldalán foglal helyet, neuronokból, gliasejtekből és fotoreceptor parapinealocytaiból áll, amelyek rhodopszint és parapinopszint tartalmaznak. A pineális és parapineális fotoreceptorok eltérő opszin tartalama arra utal, hogy a két szerv eltérő hullámhosszú fény detektálására specializálódott. A neuronokból eredő tractus parapinealis a bal nucleus habenulaeba projiciál. Rostösszeköttetés áll fenn emellett a parapineális szerv és a limbikus rendszer között is (Vigh-Teichmann és mtsai 1980, Blackshaw és Snyder 1997, Philp és mtsai 2000).

A retinális fotopigmentek jelenlétét először mikro-spektrofotométerrel mutatták ki halak és békák pineális szerveiben (Hartwig és Baumann 1974). Opszinokat immuncitokémiailag ugyancsak hal és kételtű fajok pineális fotoreceptor kültagjaiban írtak le először (Vigh-Teichmann 1980).

A *körszájú* Lampetrában a corpus pineale kétfajta fotoreceptort tartalmaz, az egyik

rodopszin immunreaktív, a másik negatív. A parapineális szerv ventrális retinája az ismert retinális fotopigmenteket tartalmazza.

Csontos és porcos halakban a legtöbb pineális fotoreceptor kültág rodopszin immunreakciót mutat. Béka fajokban a corpus pineale és a homlokszem többféle kültágot tartalmaz, amelyek részben rodopszint és OS2-öt, egy csap-specifikus opszint, részben csak OS2-öt, vagy COS1-et.

Hüllőkben az egyik pineális fotoreceptor COS1-et és OS2-öt tartalmaz, míg a másik nem tartalmaz retinális opszinokat.

Madarakban a legtöbb pineális kültág tartalmaz rodopszint. A fotokémiai transdukciónak a folyamatához szükséges proteinek mint visinin, a retina csap specifikus proteinje, S-antigén, alfa-transzducin, IRBP (interstitial retinol-binding protein) és recoverin szintén kimutatható madár pinealocytákban.

Madarakban, opszin immunreakció először pinty, papagály, kanári és fehér leghorn csirke pinealocytáiban került kimutatásra (Vigh és Vigh-Teichmann 1981, Vigh és mt. 1982). Erős immunreakció fiatal állatokban volt kimutatható.

A sejtek nagyrésze rhodopszin immunreakciót mutatott, míg egyrésztük iodopszin antitestekkel is reagált (Araki és mtsai 1992, Masuda és mtsai 1994, Yamao és mtsai 1999).

Visinin (retinális csap-specifikus fehérje), S-antigen, alpha-transzducin, IRBP (interstitial retinol-binding protein) és recoverin - amelyek fototransdukciónak a fehérjék - a madár corpus pinealéban megtalálhatók (Collin és mtsai 1986, Goto és mtsai 1989, Foster mt. 1987, Korf és mtsai 1992).

Emlősökben csak egyes pinealocyták perikaryonja reagál rodopszin antiszérummal (Vigh és Vigh-Teichmann 1981, 1989, Vigh és mt. 1982, Vigh-Teichmann és Vigh 1990, Vigh-Teichmann és mt. 1983, 1986, 1988, 1989, Kuo és mtsai 1988, Kawamura és Yokoijama 1996, Masuda és mtsai 1994).

A **pinopszin** különbözik a retinális fotoreceptor molekuláktól és elsősorban a pineális fényérés szolgálatában áll (Nakamura és mtsai 1999). A pinopsin először csirke corpus pinealéban került leírásra (Wallingford és Zatz 1988). Abszorpciós maximuma 470 nm. Csirke pineális pinopsin gént Okano és mtsai (1994, 1997), Okano és Fukuda (1997),

valamint Max és mtsai (1995) határozták meg. Hasonló opszin gént írtak le galambban (Kawamura és Yokoyama 1996, Kawamura és mtsai 1999).

A madár pinopszinhoz hasonló molekulák reptilákban is találhatóak, amelyek a madarakkal együtt az evolucio sauropsida irányának recens fajait képviselik. E rokonság mellett szólnak azok a biokémiai vizsgálatok, amelyek csak e fajokban mutattak ki pinopszint (Kawamura és Yokoyama 1997, 1998).

Egyéb specifikus opszin („parapinopszin”) került leírásra tengeri Lampetrában (Yokoyama és Zang 1997), a catfish (Siluriformes) parapineális szervében (Blackshaw és Snyder 1997), valamint a zebradanio (*Danio rerio*) pineális szervében (“exo-rhodopsin”, Mano és mtsai 1999, Kojima és Fukada 1999). továbbá az amerikai cameleonban (Kawamura és Yokoyama 1997). Gyíkok és kígyók parietális szerve nem ad pinopszin immunreakciót Debreceni és mtsai 1998).

A *mediátorok* közül GABA, somatostatin, glutamát és aspartát elsősorban a pineális neuronokban volt kimutatható az irodalomban citokémiailag (Bhaskar és Joy, 1989, Lew és Lawson-Willey, 1987, Moller és mt. 1993, Vigh és Vigh-Teichmann 1988, 1992, 1993, Vigh-Teichmann és Vigh 1992, 1994, Vigh-Teichmann és mt. 1991).

A glutamát és aspartát immunreakciót gerincesek fotoreceptor pinealocytaiban és a retinában azonos preszinaptikus lokalizáció található (Vigh és mtsai 1995), ami az excitatorikus aminosavak szinaptikus mediátor szerepére utal az efferens pineális fotoreceptor pályában. Kísérletesen béka corpus pineáléban glutamát és aspartát aktiváló hatását mutatták ki pinealis neuronok akromatikus fényre adott válaszára (Meissl és George 1984).

A pineális calcifikáció vizsgálatát a fotorecepcióval való szoros összefüggése mellett klinikai jelentősége is inspirálta, mivel a koponya-felvételeken jól látható pineális meszesedési gócok kóros diszlokációja segíti pl. tumorok helyes lokalizálását, diagnózisát, prognózisát.

Féloldali agynyomásfokozódáskor a diencephalon diszlokációja jól követhető az acervulusok helyzetén: pl. ha az eltolódás 3-5 mm-es akkor zavartság, ha 6-8 mm-es akkor stupor (sopor), 8 mm-en felül pedig kóma észlelhető (Dyke 1930, Krstic, 1986)

Az acervulusok emberi és általános emlős-faji megjelenésén kívül madárfajokban is

észlelhetők. E munka kapcsán összehasonlítottuk a corpus pineale, a környező agyterületek és a retina viszonyát a calcificáció szempontjából, továbbá vizsgáltuk a calcifikáció és fotorecepció összefüggését.

Régebbi irodalmi adatok szerint (Bargmann, 1943) több száz éve ismert, hogy az emberi corpus pineale számos mésztartalmú konkrementumot, *acervulust*, *corpora arenaceát* tartalmaz (e megnevezést gyakran látjuk helytelenül “*aranacea*”-ként, de a név az “*arena*” = “homok” szóból ered, tehát helyesen: “*corpora arenacea*”).

Az acervulusok fő anyaga calcium és foszfor, kis mennyiségben magnéziumot, stronciumot és kén is tartalmazzak - szerves anyagok mellett. Szerkezetük legtöbbször koncentrikus világos, calciumsókban gazdag és sötét, szerves anyagokat tartalmazó rétegekből áll. Méretük mikroszkópos nagyságtól több milliméterig terjedhet (Krstic 1976, Michotte és mt. 1977, Moller és mt. 1979, Lewczuk és mt., 1994).

A differenciált gerincesek csökkent fotoreceptor differenciációját számos szerző a szerv *retinális afferentációjával* magyarázza.

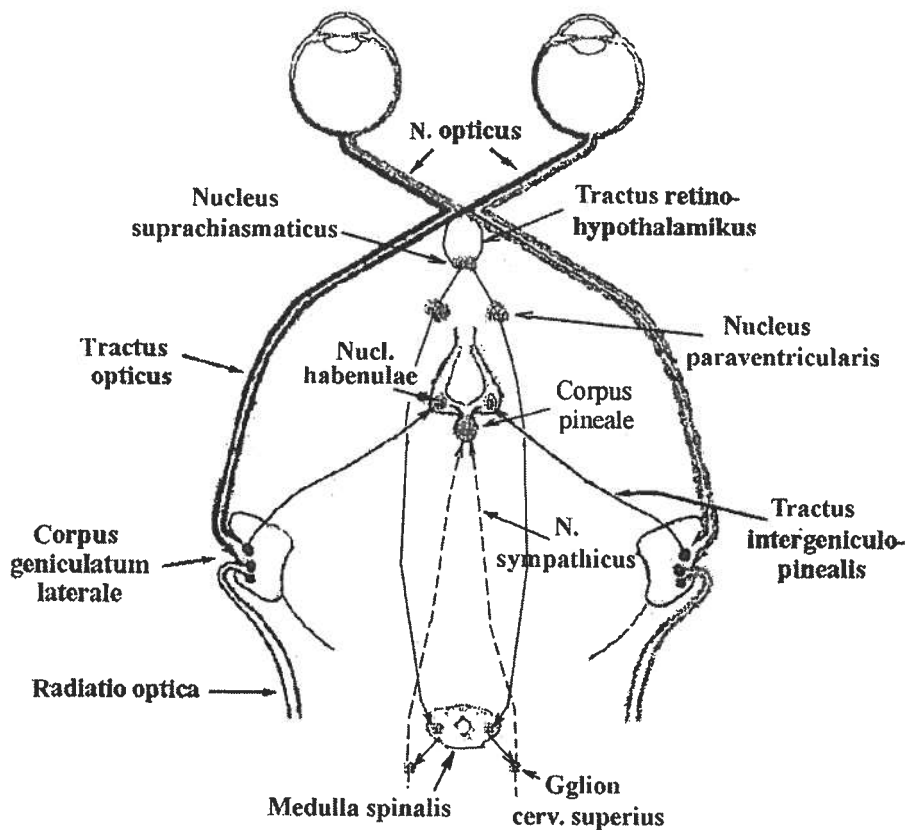
Korábbi vizsgálatok emlősökben a perifériás idegi afferentáció szerepét elsősorban a szerv melatonin-szekréciónak szempontjából vizsgálták és azt találták, hogy szimpatikus idegek a pinealocytákra hatva befolyásolják a pineális melatonin szekréciónak. Feltételezték hogy a perifériás vegetatív idegek képesek fényspecifikus információkat szállítani a retinától - multisynaptikus idegpálya útján – amely a vegetatív ganglion cervicalét is magában foglalja (Heredia Chons éd mt., 1989; Korf, 1996).

A pineális autonóm idegek perivazális lokalizációját már több kísérleti állatban leírták és vazoregulatív szerepét is feltételezték (Quay és Kappers, 1968; Owmann és mt., 1970).

Más szerzők a pinealocytákra található idegvégződéseket szimpatikus axonvégződéseknek tulajdonították patkányban és majomban, nem véve figyelembe, hogy a szervhez centrális afferentáció is érkezik a habenuláris epithalamikus nyelén és a commissura habenularum útján (Huang és Lin, 1984; Ling és mt., 1990; Moller és Liu, 1999).

Az is közlésre került retinális rostok a corpus pinealéba a habenulákon keresztül a corpus geniculatum közvetítésével jutnak el (Mikkelsen és mt. 1991, Moller és mt. 1992)

Az irodalomban feltételezett retinopineális összeköttetéseket az **1. kép** sémája foglalja össze.



1. kép. Feltételezett retinopineális összeköttetések

A felnőtt emberi corpus pineale sorozatmetben való vizsgálata jól mutatja, hogy a szervbe lépő vegetatív idegek perivazálisan haladnak a szerv interlobuláris meningeális sővényeiben. A meningeális szeptumok mélyen behatolnak a szervbe de mindvégig membrana limitans gliae és lamina basalis választja el őket magától a pineális idegszövetől.

Perivazális idegrostok nem csak a ganglion cervicale superioron keresztül érhetik el a tobozszervert hanem a sphenopalatinus és trigeminális dúc útján (Vigh és mt, 2006). E

rostok feltételezhetően vazokonstriktor, vazodilator ill. vazoszenzor idegek – hasonlóan a szervezet általános érbeidegzéséhez.

Mivel korábban a corpus pineálét mirigyszövetből állónak gondolták („pineal gland”, „tobozmirigy”) a retinális kapcsolatot a mirigyeket általában beidegző vegetatív idegrendszeren keresztül keresték (Collin 1976, Reiter 1993, Korf 1996, Ling és mt. 1990, Teclemariam-Mesbach és mt. 1999).

A corpus pineale innervációjáról való általános irodalmi vélemény tehát azért is ellentmondó, mert benne keverednek a perifériás mirigyek és a központi idegrendszer szövetének idegösszeköttetési törvényszerűségei, amit feltehetőleg a tobozszerző finomszerkezetének nem pontos ismerete magyaráz (Moller 1979, Vollrath 1981, Sparks 1998, Al-Hussein 2006).

Az viszont egyértelmű, hogy a pineális szerv vegetatív rostjai a v. cerebri magna mentén haladó, un. *nervus conarii* mentén érkeznek, valamint a szervet ellátó erek periarteriális plexusa útján (Le Gros Clark 1940, Romijn 1975, Ueck 1979, Vollrath 1985, Schröder és Vollrath 1986, Shiotani és mtsai 1989, Reuss és Schröder 1988, Zang és mtsai 1991, Moller 1999).

Az is ismert, hogy a pineális autonóm idegrostok többféle bioaktív anyagot tartalmaznak: tyrosin hidroxiláz tartalmú *noradrenerg* és *NPY*-immunreaktív rostok erednek a ganglion cervicale superiusból. *VIP*-tartalmú rostok a ganglion pterygopalatinumából jönnek, míg a ganglion trigeminalébol *CGRP* és *P-anyag* immunreaktívak erednek (Shiotani és mtsai 1989; Moller és Baeres 2002).

Kísérleti eredmények szerint *VIP* (vasoactive intestinal protein) és histamin-tartalmú idegrostok szerepelhetnek a pineális melatonin termelésben és a napi és évszakos bioritmus kialakításában (Pratt és Takahasi 1989, Zatz és mtsai 1990, Nowak és Sek 1994).

A gyakorlati szempontból fontos hatások indokolják a vegetatív rostok részletesebb finomszerkezeti vizsgálatát és összehasonlításukat különböző fajokban.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Comparatív finomszerkezeti vizsgálatok.

Jelen vizsgálatok megkezdésekor - az 1980-as évek elején - a rendelkezésre álló irodalmi adatok alapján a szerv emberben és különböző gerincesekben való fény- és elektronmikroszkópos összehasonlítása mutatkozott lényegesnek a corpus pineale hisztológiai, citokémiai és rostösszeköttetési kérdéseinek tisztázásához.

A corpus pineale vizsgálata az irodalomban legtöbbször különböző kísérleti állatokban történik de mivel emberben lényeges kórtani szempontokat vet fel, indokolja jelen munka részletes összehasonlító finomszerkezeti és immúncitokémiai vizsgálatait, különös tekintettel az ember, emlősök és a szubmammaliák részlegesen eltérő szerkezetére.

A finomszerkezeti viszonyok pontos vizsgálatát az is szükségessé tette, hogy az újabb eredmények - a szerv korábban mirigyszövetnek tartott felépítésével szemben – annak idegszöveti karaktere utalnak.

A pineális neurohormonális-kijelzés finomszerkezeti alapjának és neurális kijelzésének pontosabb struktúrális ismerete a szerv működésének további tisztázását segítheti elő.

2. Citokémiai vizsgálatok,

A pontosabb finomszerkezet és afferentáció-effferentáció ismerete mellett a pineális szervek kémiai komponenseinek meghatározása mutatkozott lényegesnek a funkció jobb megértésében. E célt szolgálták az immúncitokémiai vizsgálatok, amelyek ugyancsak különböző fajok pineális szerveinek valamint a retinális fotorecepciónak összehasonlításával történtek. A hisztokémiai meghatározásokban a fotokémiai működésben szereplő molekulák mellett a neurális afferentáció és effferentáció mediátor anyagának meghatározása volt a vizsgálatok további célja.

A vizsgálatok megkezdésekor klinikailag a corpus pinealének gyakorlati röntgenológiai szerepe jelentős volt az agyi folyamatok diagnosztikájában. Ennek alapja a corpus pinealében lévő acervulusok jó leképezhetősége, ami segíti a térfoglaló kóros folyamatok korai felismerését. E problémakör motiválta a corpus pineale calcifikációjának vizsgálatát.

E kérdés kapcsán az acervulusok emberen kívül emlős-fajokban és madárfajokban is

kimutatásra kerültek, továbbá összehasonlításra került a corpus pineale, a környező agyterületek és a retina calcificációja is, valamint a calcifikáció és a fotorecepció funkcionális összefüggése.

3. A pineális fényafferentáció.

A magasabbrendű gerincesekben és emberben a koonya fényáteresztő képességének feltételezett csökkenése is hozzájárult a pineális fényérzékelés regressziós elméletének kialakulásához.

E kérdés pontosabb tisztázását célozta az emberi és különböző gerinces koonyák fényáteresztő képességének összehasonlítása. E résztema eredményei segítik az éjjeli ügyelet, ill. váltott műszakú éjjeli munka káros fényhatásainak fényszűréssel való csökkentését is. E kérdés hasonlóan indokolja a koonya árnyékolását pl. éjjeli ügyelet kapcsán a melatoninszekréció csökkenés káros következményeinek megelőzésére.

A beidegzési témárészben kiemelt szerepet kapott a pineális szervek meningeális tereiben lévő autonóm rostok vizsgálata, ezek viszonya a pinealis idegszövethez és a pineális erekhez. E vizsgálatok tették lehetővé – a korábbi nézetekkel szemben – a pineális autonóm beidegzés vazomotor karakterének tisztázását.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1. Fény és elektronmikroszkópos vizsgálatok

Különböző korú és fetális emberi pineálékat a Humánmorfológiai Intézet és a II. sz. Patológiai Intézet 24 oktatási tetemanyagából vettük. 10 emberi pinealét a velünk kollaborációban álló Indiai Varanasi (Benaresz) Banaras Hindu University Pineal Research Laboratoriumából kaptuk. Az emberi anyag vizsgálatát a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottsága engedélyezte (TUKEB 185/2004).

Bouin-fixált, paraffinba ágyazott emberi pineálékból 7 µm-es sorozatmetszeteket készítettünk amelyeket hematoxylin eosinnal festettük.

A védett állatok felhasználásához az Állatvédő és Természetvédelmi Szervezet

engedélyét (43327-2/2008) szereztük meg. Az állatok egyrészét a portugál tengerparton gyűjtöttük, másrészét a benáreszi Zoologiai Intézettől kaptuk. A *Myotis* fajt hazai barlangokban gyűjtöttük, a *Russetus* fajt a budapesti Állatkert tenyészetéből vásároltuk. Különböző, sérült, de céljainkra felhasználható állatokat szintén az Állatkert bocsájtott rendelkezésünkre.

A vizsgált kísérleti állatokat normál laboratóriumi fényben tartottuk, a fixálás előtt éterrel ill. phenobarbituráttal altattuk. A fixálást a fotoreceptor struktúrák érzékenysége miatt perfúzióval végeztük, a perfúzió az aortán át történt. A finomszerkezeti vizsgálatokhoz 0.1-2% glutáraldehid és 2% paraformaldehid tartalmú foszfát pufferrel fixáltunk.

A pineális szerveket és a retinát a pufferes mosást követően etanolban dehidráltuk, majd Poly Bed 812-be (Polysciences, St. Goar, Németország) ágyasztuk. A metszeteket Reichert Ultracut S ultramikrotommal készítettük. Az ultravékony metszeteket uranyl acetáttal és ólomcitráttal kontrasztoltuk. A félvékony metszeteket toluidinkék azur II-vel festettük.

Saját vizsgálatainkhoz használt humán corpus pinealékat és a szomszédos epithalamikus agyszövetet elektronmikroszkópos célra 1% glutaraldehiddel és paraformaldehiddel 0,1 M phosphate bufferben (pH 7,4) fixáltuk, majd 1% OsO₄-el 1,5 óráig utófixáltuk. Dehidráálás után Poly Bedbe (Polysciences, St. Goar, FRG) ágyasztuk. Félvékony és ultravékony metszeteket Reichert Ultracut S ultramikrotommal készítettük. A félvékony metszeteket toluidinkék-azur II-vel festettük. Az ultravékony metszeteket uranyl acetáttal és ólomcitráttal kontrasztoltuk és Hitachi H7600 elektron mikroszkóppal fényképeztük.

A metszeteket JEM6C, OPTON és Hitachi H7600 elektronmikroszkóppal vizsgáltuk és fényképeztük.

2. Immuncitokémiai vizsgálatok

Beágyazás utáni elektronmikroszkópos immunreakciót végeztünk és nyúlban termelt polyclonális antiszérumokat használtunk (Sigma Aldrich, Diesenhofen) *GABA*, *glutamát* és *aszpartát* ellen. Használtunk továbbá birkában és patkányban termeltetett poliklonális antibovín *retinális opszin* antiszérumot, valamint nyúlban termeltetett csirke *pinopszin* molekula elleni antitesteket és csirke csapokra specifikus monoklonális egér

ellenanyagokat, mint az *OS-2*, amely a zöld, a kék és zöld-kék hullámhosszra érzékeny pigmenteket detektálja, és a *COS-1*, a zöldre és pirosra szenzitív pigmentek kimutatására, valamint *cryptochrom* ellenanyagot.

Az állatokat normál laboratóriumi fényviszonyoknál tartottuk, fixálás előtt MS 222-vel altattuk. Az aortán keresztül perfundáltuk 2-4% glutáraldehyddel foszfát ill. cacodylate pufferben oldva (pH 7.1, 310 mosm.). A kivágott pineális szerveket és a retinát pufferben mostuk, etanollal dehidráltuk és aralditban vagy Poly Bed 812-ben (Polysciences, St. Goar, FRG) ágyaztuk be. A metszeteket Reichert Ultracut S ultramicrotómmal készítettük. Az ultravékony metszeteket uranyl acetáttal és ólomcitráttal kezeltük, JEM 6C vagy OPTON 902 electron microszkóppal vizsgáltuk és fényképeztük.

Electronmikroszkópos immunreakciót aranyozott, nikkel rácsra vett ultravékony metszeteken vizsgáltunk poliklonális glutamát és aszpartát antiszérummal, glutáraldehyddel conjugálva hemocyanin vivő-fehérjéhez. A szérum specifitását Sigma-Aldrich (Diesenhofen, FRG) tesztelte. A használt glutamát antiszérum reagált L-glutamáttal, Asp-Glu és Gly-Glu molekulákkal. Gyenge keresztreakció volt megfigyelhető Gly-Asp, GABA, beta-alanin, glycin és 5-aminovaleric savval. Nem reagált L-aszpartát, L-glutamin, L-aszparagin és L-alanin molekulákkal. Az aszpartát antiszérum reagált L-aszpartát, Gly-Asp és Asp-Glu molekulákkal, nem reagált L-glutamát, L-glutamin és L-alaninnal. Gyenge reakciót adott L-aszparaginnal, GABA, beta-alanin, glycin és 5-aminovaleric savval. A fixálástól és beágyzástól függően a primer antiszérumot 1:500-tól 1:5.000 hígításban használtuk.

Nátriummethoxiddal való kezelés után az ultravékony metszeteket PBS-ben mostuk és inkubáltuk a primer antiszérummal szobahőmérsékleten egy órát, majd kecske-antinyúl IgG-arany conjugátummal (szemcsenagyság 5-10 nm, Amersham, England, Sigma-Aldrich, Diesenhofen, FRG). Kontrol metszetek primer antiszérum nélkül lettek inkubálva ill. antiszérumokkal amelyek szaturálva lettek 50-150 ug/ml glutaraldehyd complex glutamáttal vagy aszpartáttal. A kontrolok immúnarany szemcséi alapmennyiségre redukálódtak. Az immúnreakció 5 - 10 nm-es immunarannyal lett vizualizálva. A metszeteken egyrészt glutamát és aspartát reakciót is végeztünk különböző nagyságú immunarany használata mellett. Az ultravékony immúnreakciós metszetek uranyl acetáttal

és ólomcitráttal kontrasztoltuk.

A glutamát irodalmilag általánosan ismert szinaptikus mediátor a retinális fotoszenzoros pályában (Kagejama és Meier 1989, Sherry és Ulshafer 1992). Saját vizsgálataink is megerősítik a glutamát mediator-anyag szerepét a pineális neurális efferenciációban mind kísérleti állatokban, mind pedig emberben (Vigh és mt. 1995).

Az irodalomban elfogadott, hogy az excitatorikus aminosavak synapticus mediator szereppel bírnak a retina photosensor pályájában. Excitatorikus aminosavakat emlős corpus pinealéban is több szerző leírt (Nir és mtsai 1973, 1974, Ebadi és mtsai 1986. Govitrapong és mtsai 1986; McNulty és mtsai 1992, Kus és mtsai 1993; Redeker és Veh 1994). Korábbi vizsgálatokban immunoreactiv glutamátot és aszpartátot lehetett kimutni szubmammáliak pineális photosensor idegpályájában (Vigh és mtsai 1995a, b).

3. A pineális fényafferenciáció vizsgálata

A pineális fényafferenciációban az irodalomban feltételezett retinális afferenciáció vegetatív rostok által való közvetítését vizsgáltuk, mivel ez a kérdés számos általános neuromorfológiai ismerettel nem egyeztethető, elsősorban azzal, hogy a pineális vegetatív rostok nem lépnek be a pineális idegszövetbe, hanem a szerv meningeális septumaiban haladó erekkel kapcsolatosak. Továbbá neurofiziológiailag nem valószínű, hogy vegetatív idegrostok fényspecifikus információt vezethetnek.

A vegetatív rostok felismerésének elősegítésére *tyrozin hydroxiláz reakciót* végeztünk, polyclonalis és monoclonális ellenanyagokkal (Sigma Bio Sciences, St. Louis, MO., USA). A pineális szerveket 4% paraformaldehydben fixáltuk és Leica EM FCS cryotommal metszettük.

A primer antitestet 1:1000-tól 1:2000-ig terjedő hígításban használtuk, a secunder ellenanyagot (antinyúl, ill. antiegér) 1:100-tól, 1:400-ig hígítottuk. Az avidin biotin-HRP complex vizualizálásához diaminobenzidin reakciót és chloronaphtol festést alkalmaztunk.

A másik vizsgálatcsoportban a korábban irodalmilag nem részletesen vizsgált koponyai fényáteresztő problémát vizsgáltuk, elsősorban emberben, különböző életkort összehasonlítva.

E problémakör kapcsán került sor még a pineális calcifikáció vizsgálatára is, amelyek

klinikai jelentősége mellett kiemeltük a calcifikáció fényrepcióval való kapcsolatát.

Emberben a pineális konkrementumok száma nagyobb idős egyéneknél, bár gyermekekben is előfordul Macpherson és Matheson (1979) adatai szerint 0-3 év között 2%-ban, 10-18 évesek közt 32 %-ban, 20-29 évesek közt 53%-ban és 30 év felett 83 %-ban található pineális konkrementum. Menopausa előtt nőben magasabb acervuluszámot találtak, míg osteoporosisban kevesebbet. Hasonló adat ismert hyperparathyroidizmusban.

Vizsgált fajok

Emberen kívül a különböző emlős fajok, madárfajok, hüllők, kétéltűek, csontos és porcos halak, valamint körszájúak lettek vizsgálva a fejlett pineális fényérzékelésének tartott *submammaliák* és a regresszívnek ítélt *emlősök pineális szerveinek összehasonlításához*. A következő fajokat vizsgáltuk:

Emlősök:

szavannacerkóf, *Cercopithecus aetiops*; Rhesus-majom, *Rhesus macacus*;
laboratoriumi patkány; egér; macska;
északi opossum; *Didelphys virginiana*; keleti sün, *Erinaceus roumanicus*; erdei
cickány *Sorex araneus*;
vadászgörény, *Putorius furo*; amerikai nyerc, *Mustela vison*; nyest, *Martes foina*;
üregi nyúl, *Oryctolagus cuniculus*;

A denevérek közül:

hegyesorrú denevér, *Myotis blythi oxygnatus*; nagy patkósorrú denevér, *Rhinolophus ferrum equinum*; hosszúkarú sírdenevér, *Taphozous longimanus*; ázsiai sárga denevér *Scotophylus hethai*; repülő róka *Pteropus temmincki*; rövidujjú repülőkutya *Cynopterus sphinx*; nilusi repülőkutya, *Rousettus niloticus (egypticus)*.

Madárfajok

Fehér leghorn (*Gallus domesticus*); gyöngytyúk, *Numida meleagris*;
fácán, *Phasianus cochicus*; japánfűrj; *Coturnix coturnix japonica*; pulyka, *Meleagris gallopavo*; szirti galamb, *Columba livia*; nyári lúd, *Anser anser*; tőkésréce, *Anas platyrhynchos*, házi veréb, *Passer domesticus*; zebrahinty, *Taeniopygia guttata*, fekete rigó, *Turdus merula*; léprigó, *Turdus viscivorus*; kanárimadár, *Serinus canaria*;

széncinege, *Parus major*; hullámos papagály, *Melopsittacus undulatus*; egerészölyv, *Buteo buteo*; strucc, *Struthio camelus*.

Hüllők

Zöld gyík, *Lacerta viridis*; fűrge gyík, *Lacerta agilis*, fali gyík; *Lacerta muralis*, zöld leguán; *Iguana iguana*, csodagekkó; *Teratoscincus scincus*, laposfarkú nappali gekkó; *Phelsuma laticauda angularis*; mocsári teknős, *Emys orbicularis*; ékszerteknős, *Pseudemys scripta elegans*; amerikai kaméleon, *Anolis carolinensis*; aranyporos nappali gekko, *Phelsuma laticauda*; zöld leguán, *Iguana iguana*; vizisikló, *Natrix natrix*; kockás sikló, *Natrix tessellata*; erdei sikló, *Elaphe longissima*.

Kétéltűek

Tarajos gőte, *Triturus cristatus*; pettyes gőte, *Triturus punctatus*; spanyol bordás gőte, *Pleurodeles waltlii*; foltos szalamandra, *Salamandra maculosa*; axolotl, *Amblystoma mexicanum*; vöröshasú unka, *Bombina bombina*; sárgahasú unka, *Bombina variegata*; barna ásóbéka, *Pelobates fuscus*; kecskebéka, *Rana esculenta*; mocsári béka, *Rana arvalis*; barna varangy, *Bufo bufo*; zöld varangy, *Bufo viridis*; afrikai karmosbéka, *Xenopus laevis*; álsáska béka, *Hyla regilla*.

Csontos halak

Ponty, *Cyprinus carpio*; fűrge cselle, *Phoxinus phoxinus*; szivárványos pisztráng, *Salmo gairdneri*; ezüstkárász, *Carassius auratus*; európai angolna, *Anguilla anguilla*.

Porcos halak

tövisesrája, *Raja clavata*; kis pettyes macskacápa, *Scyliorhinus canicula*; közönséges macskahal, *Chimaera monstrosa*.

Körszájú

pataki ingola, *Lampetra planeri*.

EREDMÉNYEK

1. A CORPUS PINEALE FELÉPÍTÉSE EMBERBEN ÉS KÜLÖNBÖZŐ GERINCSEKBE

Saját összehasonlító elektronmikroszkópos vizsgálatainkban kiemeltük a corpus pineale egyes sejtelemeinek szerkezetét, különös tekintettel a fotoreceptor strukturákra és a szöveti felépítés idegszöveti jellegére.

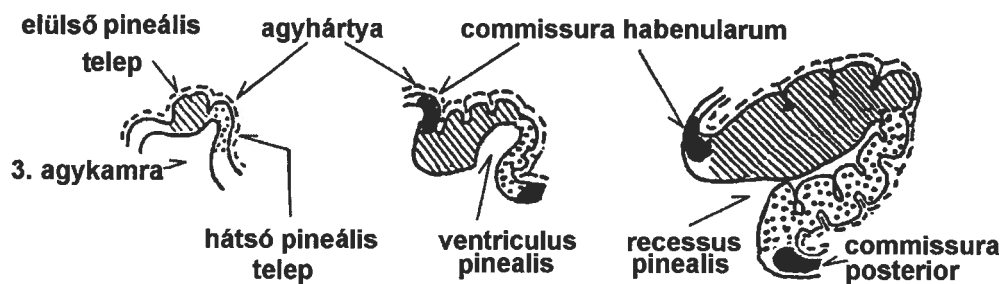
Az emberi corpus pineale szöveti szerkezete

Vizsgálatokban az emberi corpus pineale epithalamikus fejlődését vettük alapul, ami a szerv központi idegrendszeri szerkezetét determinálja (2. kép).

Embryológiailag a corpus pineale a diencephalon tetőlemezéből fejlődik, emberben 8 mm-es embrióban jelenik meg, mint a tetőlemez diverticuluma.

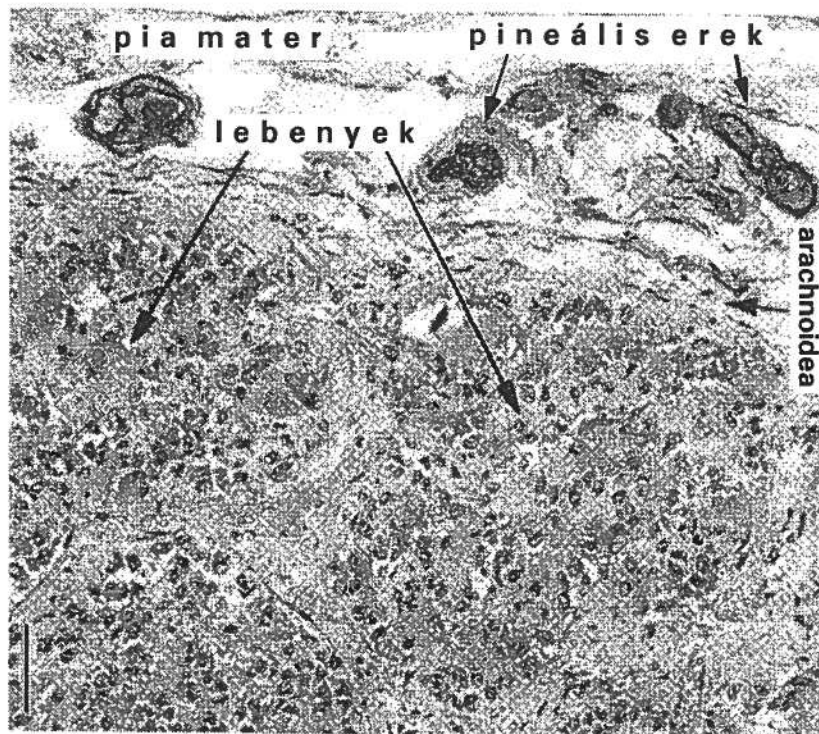
A diverticulum elülső és hátsó fala egy ideig két telepként fejlődik tovább. Különbség az elülső és hátsó telep között, hogy a hátsó teleprész redőzöttebb.

A redők lumeneket képeznek, majd a lumenek fokozatosan eltűnnek és a két pineális telep egységes szervvé olvad össze.



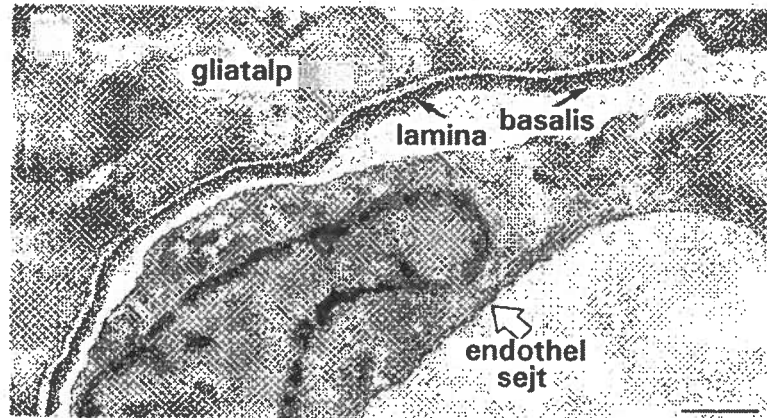
2. kép. Az emberi corpus pineale fejlődése

A fejlődő emberi corpus pinealéban látható *lumenek* megfelelnek a submammaliákban - pl. madárban - látható pineális folliculusoknak. Ezt a folliculáris szerkezet különböző korú felnőtt emlős és emberi tobozszermben is megtaláltuk (3. kép) és fénymikroszkópos alapját képezte a szerv mirigyszerű felépítéséről alkotott korábbi felfogásnak.



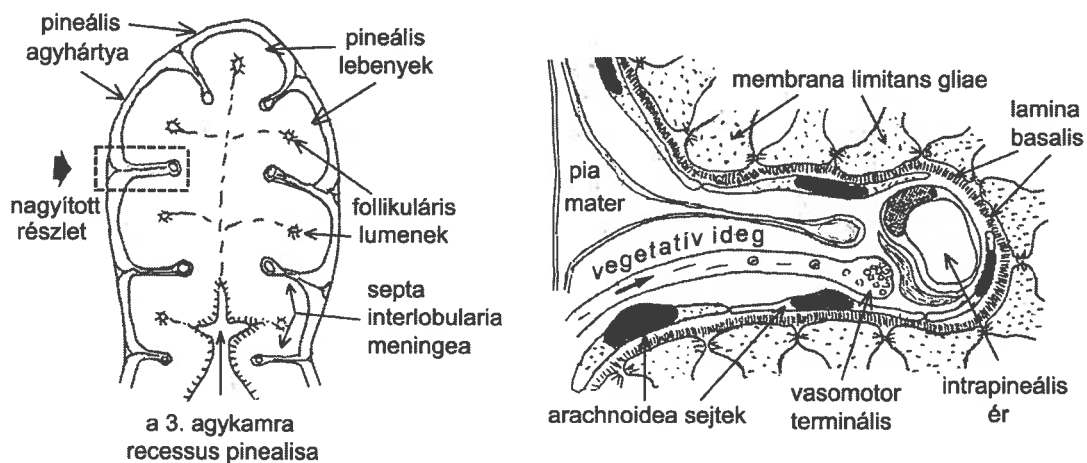
3. kép. Pineális erek és pineális lebenyek. A pineális meninxek és erek viszonya a lebenyekhez, haematoxylin eosin festés. Mértékvonal: 400 nm.

Az epithalamikus idegszövet többi részéhez hasonlóan – és az agyszövet általános beerezési szabályainak megfelelően - a legkisebb ereket is lamina basalis és membrana limitans gliae perivascularis választja el a pineális idegszövettől (4. kép).



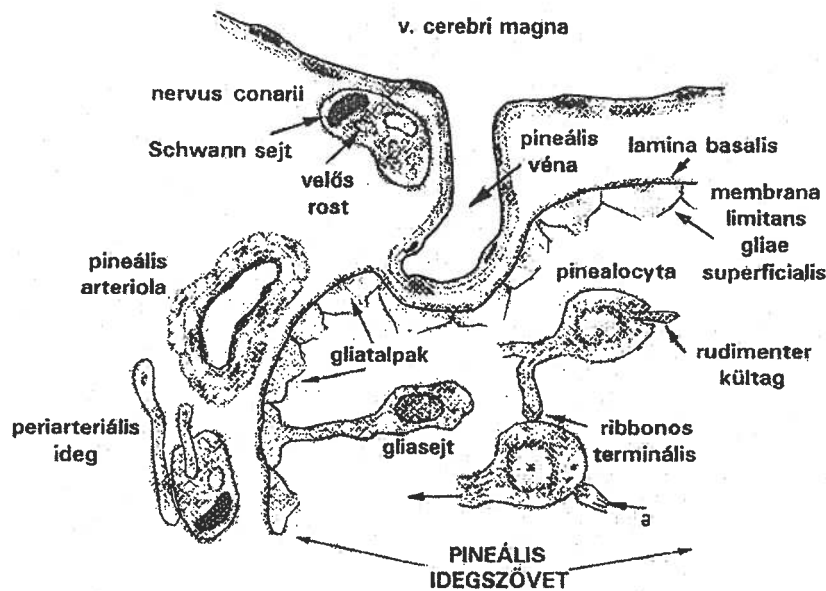
4. kép. A pineális ereket lamina basalis és membrana limitans gliae választja el a pineális szövevtől. Mértékvonal: 400 nm.

A corpus pineale *tokja* - a fejlődő corpus pinealéban jól követhetően - az agyhártyák folytatása. A corpus pinealéban lévő arachnoidea-sövényekkel együtt erek is nyomulnak a szervbe, amelyek azonban mindenütt a meningeális lemezekben maradnak és - az agy egyéb területeivel analóg módon - a pinealis idegszövevtől membrana limitans gliae perivascularis és lamina basalisok választják el őket. (**5. kép**).



5. kép. Az emberi pineális szövet és perifériás idegeinek viszonya.

Saját vizsgálataink előtt felnőtt emberi corpus pineáléról finomszerkezeti adatok nem voltak. A szerv elektronmikroszkópos vizsgálata szerint a corpus pineale az epithalamusból fejlődik, nem perifériás mirigy szerkezetű, hanem retina-jellegű agyszövet, amelyet csap-típusú fotoreceptor pinealocyták, másodlagos pinealis neuronok és gliasejtek képeznek (6. kép).



6. kép. Az emberi corpus pineale szerkezetének sémája.

Hasonló idegszöveti szerkezeteket találtunk további összehasonlító vizsgálatainkban emlősök corpus pinealéjában is, ezért nem használtuk a szokásos „tobozmirigy”, „pineal gland” nevet helyettük a „tobozszerv”, „pineal organ” megnevezést, ami e kérdéssel közvetlenül nem foglalkozók figyelmét is felhívja hogy a szerv nem mirigy - hanem idegszövet jellegű.

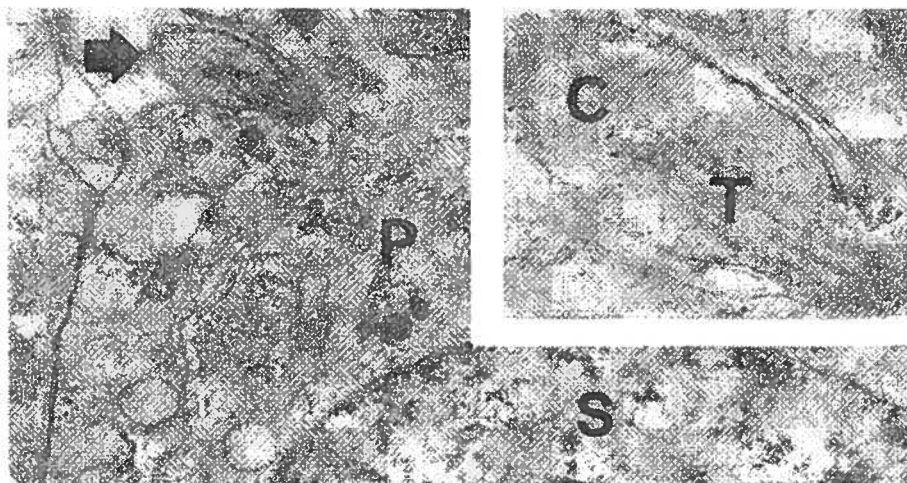
A pineális szerv szöveti felépítése gliasejtek mellett pinealocyták és idegsejtekből áll. A pinealocyták a retinális fotoreceptorokhoz hasonlóan szintén neuronjellegű sejtek: dendritjük fotoreceptor beltágot képez, amin a neuronális csilló alkotja a fotoreceptor struktúrákat. Bazális nyúlványuk axon jellegű, a pineális neuronokon képez szinapszist ill. az erek felé neuroendokrin terminálist a hormonális kijelzésre. E sejtes összetétel is a szerv idegszöveti jellegét mutatja

Az emlős corpus pineale felépítése

Saját vizsgálatainkban az általánosan használt laboratóriumi egér, patkány és macska mellett denevérfajok, valamint két majomfaj lett vizsgálva.

A vizsgált emlős fajok tobozszerve erősen lebenyezett, ezért keltheti a “mirigyszövet” benyomásáti. Az epithalamus folytatását képező pineális szövet egyes lebenyeit a felszínről benyomuló meninx részletek választják el, amelyek a szerv ereit és perifériás idegeit tartalmazzák.

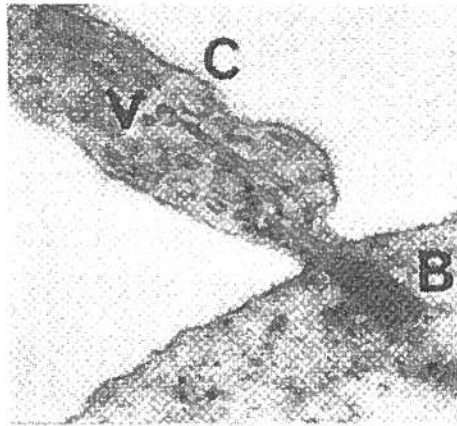
A szerv szövetét– emlősökben is - pinealocytákon kívül neuronok és gliasejtek alkotják. A pinealocyták csillói fiatal állatokban fotoreceptor kültag jellegű fejlődést mutatnak (7, 8. kép).



7. kép.

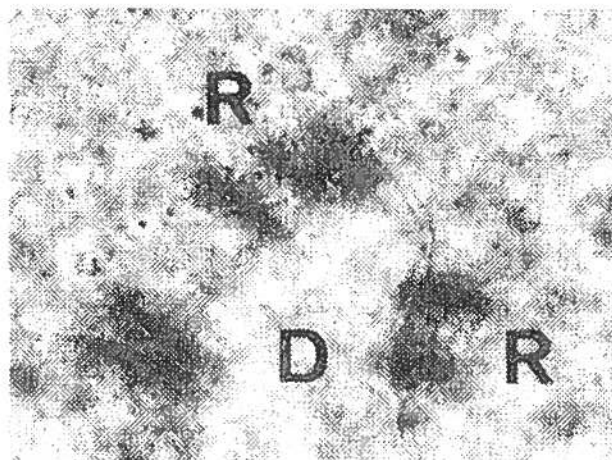
Sündisznó pinealocytyája (P), S: sejtmag, nyílnál receptor-jellegű csilló (19000x).

C: a csilló nagyobb nagyítással, T: mikrotubulusok. (46000x)



8. kép. Menyét (*Putorius furo*) fotoreceptor kültag-jellegű pineális csillója (C) tubulusokat és vezikulumokat tartalmaz. B: bazális test. (42000x)

A neuronok többsége a corpus pineale proximális részére lokalizálódik, a commissura habenularum és commissura posterior közelében helyezkedik el. A neuronok perikaryonján és dendritjein idegvégződések találhatóak amelyek egyrésze szinaptikus ribbont tartalmaz (9. kép) hasonlóan a retinális fotoreceptorok terminálisaihoz. A pineális neuronok multipolárisak, axonjuk a tractus pinealisban a habenuláris magokig követhető sorozatmetszeteken, ill. egyéb agytörzsi magok felé halad.



9. kép. Synaptikus ribbonok (R) pineális neuronon végződő pinealocytá axonterminálisban, nyérc (*Mustela vison*). D: pineális neuron dendritje. (30500x)

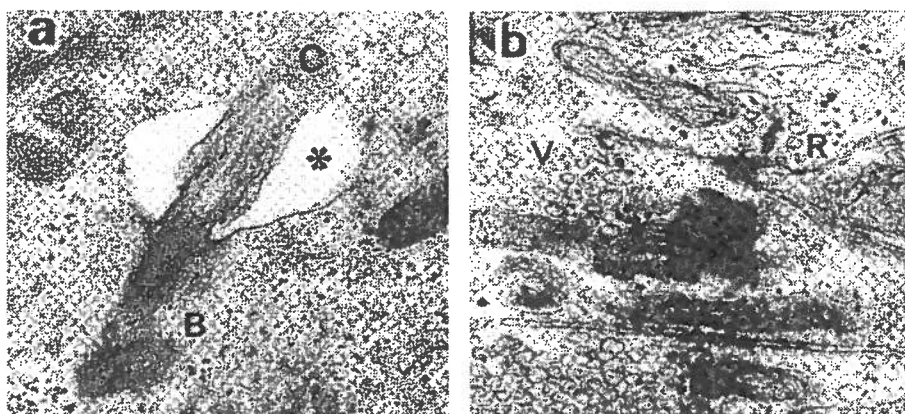
Denevérfajok

Jelentős számú új adatot elsősorban a denevérek vizsgálata szolgáltatott. Denevérfajokat az emlősök közül a diurnális ritmus szempontjából fontos éjjeli életmódjuk miatt vizsgáltuk részletesebben. A denevér corpus pinealéja, mind pedig retinája az éjszakai életmódja miatt speciális felépítésű.

A retina éjjeli tájékozódási funkcióját hanglokátor egészíti ki (ami a denevérek közismert éjjeli “cittégésének” felel meg) és a napi fényváltozás fordított hatású a pineális diurnális életritmus kialakításában (Petney és Cotter 1976, Vigh és Vigh-Teichmann 1999).

E specialitásokat figyelembe véve hasonlítottuk össze denevér fajokban a corpus pineale és a retina finomszerkezetét.

A vizsgált fajokban a *pinealocyták* polarizáltak. A sejtek “receptor pólusát” 9+0-ás csilló jellemzi. Fejlődő retinális kültagokhoz hasonlóan a csillók egyrésze megvastagodik és benne vesiculumok találhatóak. A csillóhoz két bazális test és csillógyökér tartozik (10a, b kép).



10. kép a. A pinealocyták receptor pólusán lévő szenzoros csilló hegyesorrú denevériben (*Myotis blythi oxignathus*). Fotoreceptor jellegű csilló (C) a pinealocyta mélyedésében (*), B: a csilló bazális testjei. (28500x)

b. Szinaptikus ribbont tartalmazó pineális terminális (R), synaptikus vezikulákat (V) tartalmazó idegvégződések denevériben (*Myotis blythi oxignathus*). 45100x

A terminálisok pineális neuronokon végződnek. Egyrészt neurohormonális végződéseket képez. A neurohormonális terminálisok nagyrésze a corpus pineale vasculáris felszínénél végződik a lamina basalisra. A végződések a pineális membrana limitans gliae externa (perivascularis) gliatálpai között átfúródva érintkeznek a külső lamina basalisal.

Egyes fajokban, mint a *Myotis blythi oxignatus* a *vena cerebri internák* közvetlenül érintkeznek a corpus pineale lateralis részével. Számos axonterminális található a vénákkal szemben amelyek 60-120 nm átmérőjű granuláris és szinaptikus vesiculákat, valamint szinaptikus ribbonokat tartalmaznak.

A pineális axonok egyrészt belép a perivascularis térbe és közvetlenül a vénafalnál végződik. A meningeális pia mater sejteken pórusok figyelhetők meg. Pinealocyta axonok nincsenek a pineális nyélben, vagy a nucleus habenulae irányában. Hasonló nyúlványok a recessus pineális ependymasejtjei között a kamrai lumennel is érintkezhetnek. A lumenben szemcsés vezikulákat tartalmazó vékony axonok figyelhetők meg.

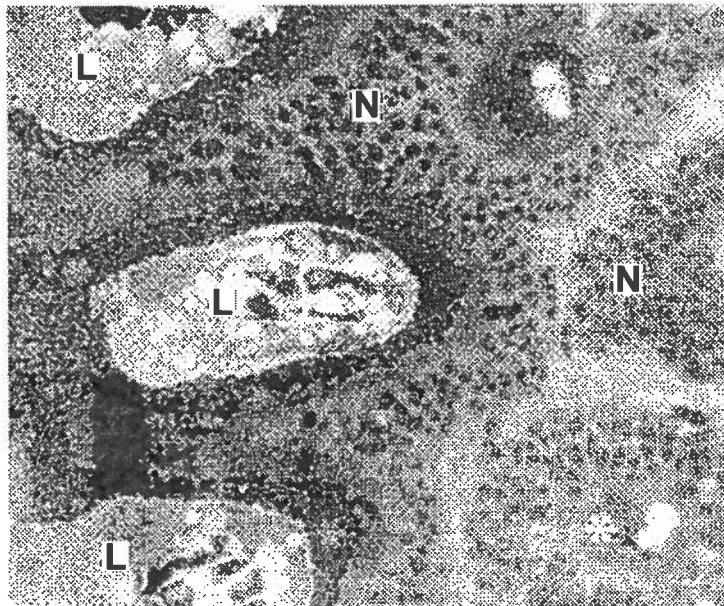
A *pinealis neuronok perikaryonja* - a pinealocyttákkal ellentétben - világos cytoplazmájú, jól fejlett endoplazmás retikulumot és szemcsés vezikulákat tartalmaz. A perikaryonokon hasonló szemcsészettségű somatodendritikus szinapszisok vannak. A sejtek közötti pineális idegrost-zónákban velőshüvelyű és csupasz axonok, valamint axodendritikus szinapszisok találhatóak. Helyenként részben velőshüvelyű, részben velőshüvely nélkül futó rostok is megfigyelhetők.

A *corpus pineale tokja*. A szervet a diencephalon meninx rétegei borítják. Az arachnoidea és a pia mater sőtényszerűen beterjed a szerv lobulusai közé. A sőtényekben haladnak a meningeális erek és az őket kísérő autonóm idegrostok. Az ereket magától a pineális idegszövetből lamina basalis és lamina limitans perivascularis választja el, hasonlóan mint a szomszédos epithalamikus idegszövetben. A meningeális tokban *corpora arenacea* helyezkedhetnek el.

A vizsgált *mikrochiroptera* fajok szeme kisméretű és *retinája* fejletlen. A fotoreceptor kültagok pálcika-típusúak, a beltagokban számos mitochondrium található. A retina külső szemcsés rétege relative fejlett, míg a ganglionáris rétegben kevés sejt foglal helyet. Néhány nagy ganglionáris sejt a bipoláris rétegben található.

A **corpus pineale** és **retina** finomszerkezetét a gyümölcssevő *megachiropterák*ban összehasonlítva - a mikrochiropterákkal ellentétben - a retina fotoreceptor rétege fejlett, sejtjei hosszú kültagokkal rendelkeznek, spherulusai szinaptikus ribbont tartalmazzák.

E fajokban a retina jellegzetessége, hogy a fotoreceptor réteg, a kül- és beltagok redőket és kriptákat képeznek. A belső retinális szinaptikus zóna, a ganglion sejtréteg és az optikus rostok rétege redőzetlen marad (**11. kép**).



11. kép. Megachiroptera gyümölcssevő denevér (*Rusettus niloticus*) retinája.

A: a retina a corpus pineáléhoz hasonló folliculáris szerkezetet mutat. L: a folliculusok lumene, N: a fotoreceptorok sejtmagjai. 40x

Az eredményeket összefoglalva az emlősök pinealocytái az emberéhez hasonló finomszerkezetűek. Csak néhány emlősben mutatják az alacsonyabbrendűekre jellemző differenciált fotoreceptor kültag felépítést, többségükben a kültagot speciális érzőcsilló képviseli. Ugyancsak vannak pineális neuronok is emlősben és emberben, amelyeken a

pinealocyták axonja végződik, saját axonjuk a corpus pineale nyelén át a habenuláris magokba fut. A pinealocyta axonok egyrésze neurohaemális idegvégződést képez a szerv vasculáris felszínén. Másrészük ribbon traktumú szinapszist képez pineális neuronokon, ami a retinális fotoreceptor-bipoláris neuron kapcsolatának felel meg. Az axonok jelenléte és azok szinapszis-képzése ugyancsak a pinealocyták neuronális jellege mellett szól.

A receptor jellegű pinealocyták mellet *denevérben* is találunk neuronokat és ependyma-ill. gliasejteket. Az általunk vizsgált denevér fajokban a pinealocyták bipoláris jellegűek, "receptor pólusukon" 9+2-es csillót találunk, amely szerkezetileg azonos a retinális kültagok összekötő-részeivel. A csillók disztális része megvastagodhat és benne vesiculumok lépnek fel, hasonlóan a csillóból fejlődő retinális kültagok kialakulásához. A csillókat gliasejtek is körülvehetik, ahogy a pigmenthám veszi körül a retinális kültagokat.

Az éjjeli denevérfajok retinájának finomszerkezete is figyelmet érdemel és erről relative kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. A legtöbb mikrochiroptera retinája regresszív, ami e fajok éjszakai életmódjával és hanglokátor orientációjával kapcsolatos. Gyümölcsevő megachiroptera denevéreknek vizsgálatakor ezzel szemben jól fejlett fotoreceptor réteget találtunk.

Denevérekben részletesebb összehasonlítást végeztünk a corpus pineale és a retina között. A mikrochiroptera fajok retinája megfelelni látszik a vizuális látás éjszakai életmódból eredő csökkent jelentőségének. A megachiroptera fajok redőzött retinája nem lehet alkalmas arra, hogy ernyőszerűen fogadja a külvilágról rávetített képet és lokátorként jelezze a külvilág tárgyait. Ezért feltételezzük, hogy ez a "corpus pineale-szerű retinaszerkezet" a tobozszerkezethez hasonlóan fotométer működésre, tehát elsősorban a fényintenzitás mérésére szolgál ezekben a fajokban.

Az összehasonlító finomszerkezeti vizsgálatok alapján, a pinealocyták általánosan a retinális csapok és pálcikákhoz hasonló szerkezetű és fejlődésű idegelemeknek tekintjük. A pinealocyták emlősökben 9x2+0-ás típusú érzőcsillóval rendelkeznek, amelyek egyes emlősökben (pl. menyétben) a submammaliákban található fejlett fotoreceptor kültagokká differenciálódnak. A pinealocyták dendritikus nyúlványai megvastagodva - a retinális fotoreceptorokhoz hasonló - beltágokat képeznek és a III. agykamra recessus pinealisából képződött pineális lumenekbe nyúlnak be.

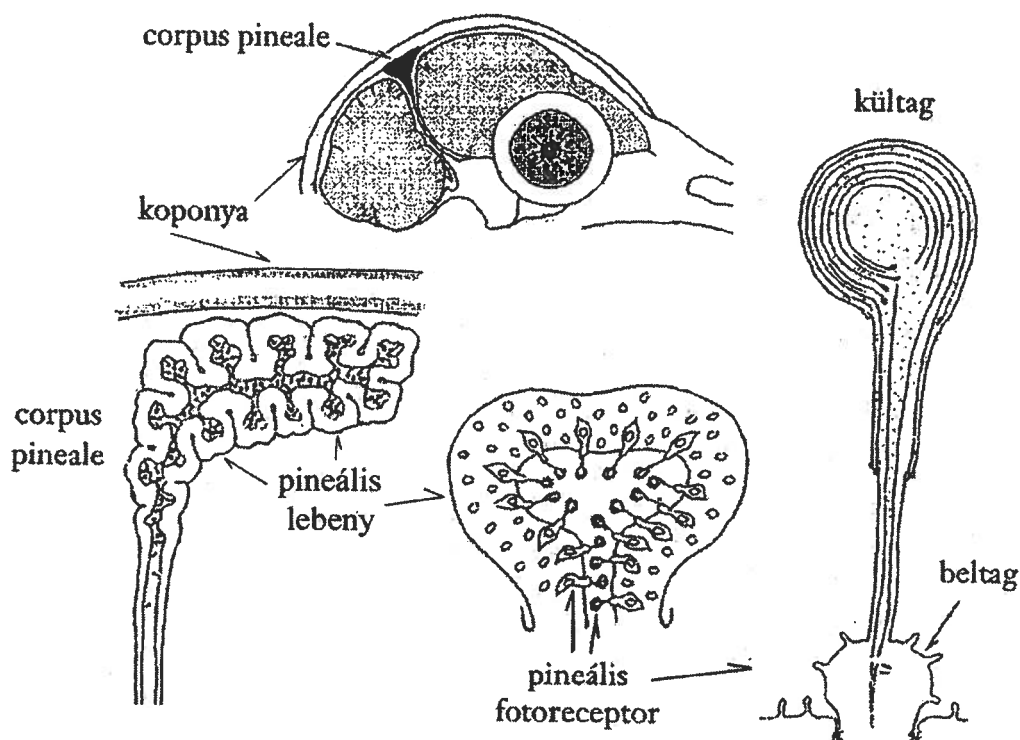
A SUBMAMMÁLIÁK PINEÁLIS SZERVEINEK SZERKEZETE

Submammáliák közül *madár, hüllő, kételtű, hal* és *körszájú* lett vizsgálva.

Madarak corpus pineáléja

Az elmúlt négy évtizedben több mint 700 cikk jelent meg a madarak pineális szervéről, de relative kevés adat ismeretes a szerv finomszerkezetéről. Saját munkánkban ezért először a szerv fény- és elektronmikroszkópos felépítéséről kívántunk részletes adatokat szolgáltatni.

Saját munkánkban vizsgált fajokban a pineális szerv közvetlenül a koponya alatt helyezkedik el és hosszabb pineális nyél köti az epithalamushoz (12. kép). Az általunk vizsgált fajokban a szerv fala zsákszerű kitüremkedéseket képez, s mivel a harmadik agykamra tetőlemezéből fejlődik (Aige-Gil és tsai 1991), külső felszínét a diencephalikus pia mater és arachnoidea borítja.

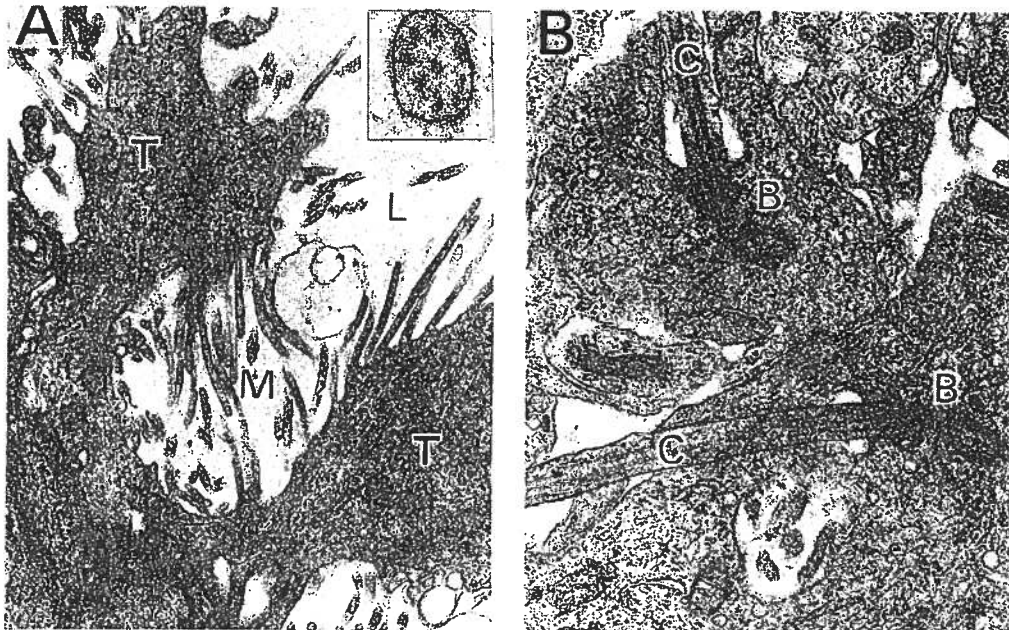


12. kép A madarak pineális szervének elhelyezkedése a koponya alatt és felépítési sémája.

Az agyhártyák mélyen betervednek a recessusok mentén a szervbe, de mindvégig szeparálódnak a pineális idegszövegtől lamina basalisok útján.

A madár *pinealocyták perikaryonja* a pineális folliculusok lumeni felszíne közelében helyezkedik el az ependymasejtek között. Az általános sejtorganelumok mellett a plazmában a különböző fajokban eltérő nagyságú és számú szemcsés vesicula található.

A pinealocyták a neuronokhoz hasonlóan bipolárisak: receptor és effektor nyúlvánnyal rendelkeznek, amelyek a funkciónak megfelelő cytologiai differenciáltságot mutatják. A *receptor nyúlvány* dendrit-jellegű, cytoplasma organelumokat tartalmaz, vége benyúlik az ependymasejtek között a pineális lumenbe. A dendrit terminális megvastagodása a retinális csapokhoz és pálcikákhoz hasonló beltágot képez. A *beltágon* számos mikroboholy és egy szenzoros csilló található. A beltágban számos mitochondrium, bazális test és accesszórius bazális test helyezkedik el. A szenzoros csilló - a retinális kültág összekötő-réséhez hasonlóan - 9x2+0 tubulusképlettel rendelkezik (13. kép).



13. kép. A: galamb pinealocyták beltágjai (T) a pineális lumenbe (L) nyúlnak. M: mikroboholyok (50000x). Betét kép: pinealocytas csilló keresztmetszete kanáriban 9 tubulussal (33600x). B: csirke pinealocytas beltágjai csillóval (C) és bazális testtel (26600x).

A *pineális kültagok* a csillók körtealakú megvastagodásai, amelyek váltakozó számú fotoreceptor lamellából állnak, közöttük szemcsés cytoplazmával.

A pinealocyták *effektor nyúlványa* axon-jellegű, mitochondriumok mellett párhuzamosan futó mikrotubulusokat és szemcsés vezikulumokat tartalmaz. A pinealocyták axonja elágazódhat és vagy a secunder pineális neuronokon végződik, vagy neurohormonális terminálisokat képez a pineális idegszövet felszínén.

A corpus pinealeban a retinához hasonlóan *szekunder neuronok* találhatóak, amelyek egyrésze bipoláris, másrésze multipoláris.

A pinealocyták axonjai *presynaptikus terminálissal* végződnek a szekunder pineális neuronokon.

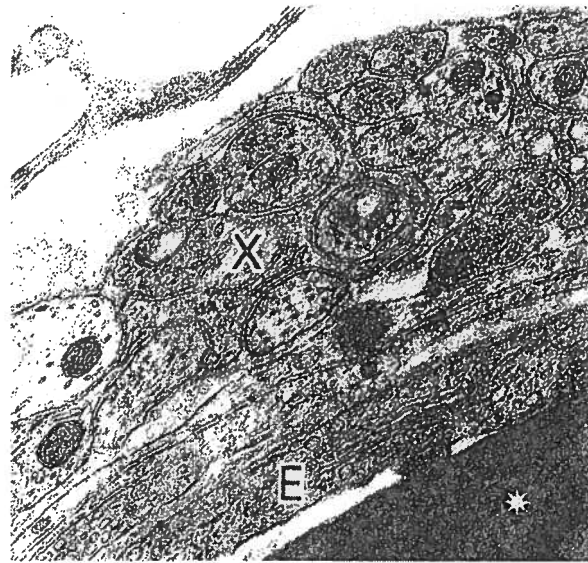
A neuronokon nemcsak pinealocyta axonvégződések találhatóak, hanem azok ribbons végződéseitől eltérő axonterminálisok is, amelyek interneuronális kapcsolatokat, vagy pinealopetális afferentációt képviselhetnek.

A pinealocyta axonok mind axodendritikus, mind axosomatikus synapsisokat képezhetnek, a szekunder pineális neuronokon, amelyek számos synaptikus vezikulát és synaptikus ribbont tartalmaznak. A ribbonok a megvastagodott presynaptikus membránhoz kapcsolódnak.

Pineális ependyma- és glia-sejtek. A pineális lument borító cilindrikus ependyma a harmadik agykamra ependymájának folytatása. A sejtek egyrésze embryonálisan eltávolodott a harmadik agykarma diverticulumát jelentő recessus pinealistól és a pineális idegszövetben, mint astrocyta ill. oligodendrocyta helyezkedik el.

A legtöbb vizsgált madárfajban a harmadik agykamra és a pineális lumen közti kapcsolat kifejlett állatban elzáródik, „*ventriculus pinealis*” képződik. A lument borító ependymasejtek számos stereociliumot és kinociliumot viselnek. A sejtek cytoplazmája világos, kevés sejtorganellumot és számos dense body-t tartalmaz. Az ependymasejtek bazális nyúlványa elvékonyodik, mikrofibrillumokat tartalmaz és a pineális szövet külső, vaszkuláris felszínéhez fut. Itt a nyúlványok kiszélesedve gliatlapokat képeznek, amelyek sejtkepcsoló struktúrákkal összekötve a *lamina limitans gliae superficialist* képezik

elválasztva a pineális idegszövetet a meningeális ér-tértől. A pineális idegszövetet – az agy többi részeihez hasonlóan - lamina basalis is elválasztja a meningeális interfollokuláris térrel. Erek tehát a corpus pinealéban sem lépnek be a pineális idegszövetbe, hanem a szerv meningeális septumaiban futnak (14. kép).



14. kép. Perivascularis axonkötég (X) csirke pineális szervében.

E: endothel. Sejt. Csillag: vörösvértest (32400x).

Saját vizsgálataink alapján a madarakban található pineális szerv feltehetőleg az alacsonyabbrendűekben található két pineális szerv közül az intracraniális corpus pinealének (lásd később) felel meg.

A pinealocyták axonális effector nyúlvánnyal rendelkeznek, amely vagy a szerv vasculáris felszínén végződik *neurohormonális terminális* formájában, vagy ribbon tartalmú idegvégződést képez a secunder pineális neuronokon. E terminálisokban serotonin mutatható ki a szemcsés vezikulákra lokalizáltan. A secunder pineális neuronok szintén tartalmaznak excitatorikus aminosavakat.

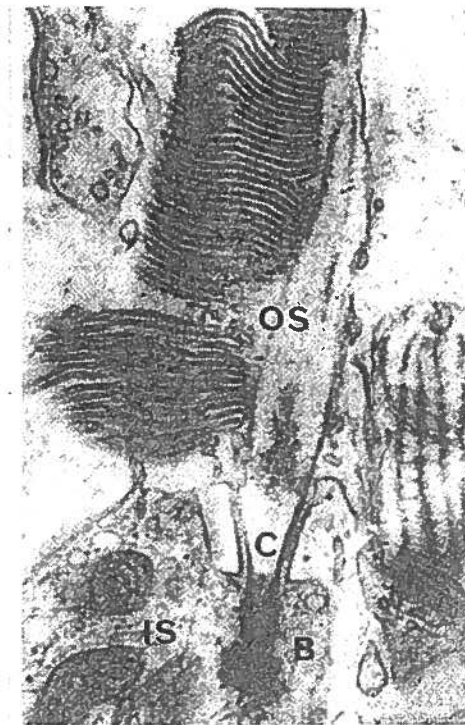
A pineális agyhártyákban a szervhez jövő vegetatív rostok - emlősökhöz hasonlóan - nem pineális sejteken, hanem a szerv erein végződnek, vasomotor terminálisokat képezve.

Hüllők pineális szervei

Az evolúcióban eredetileg kialakult kettős pineális szerv hüllőkben különféle formában jelenik meg. A legtöbb hüllőben csak pineális szerv található, gyíkféléknek emellett parietális szemük is van.

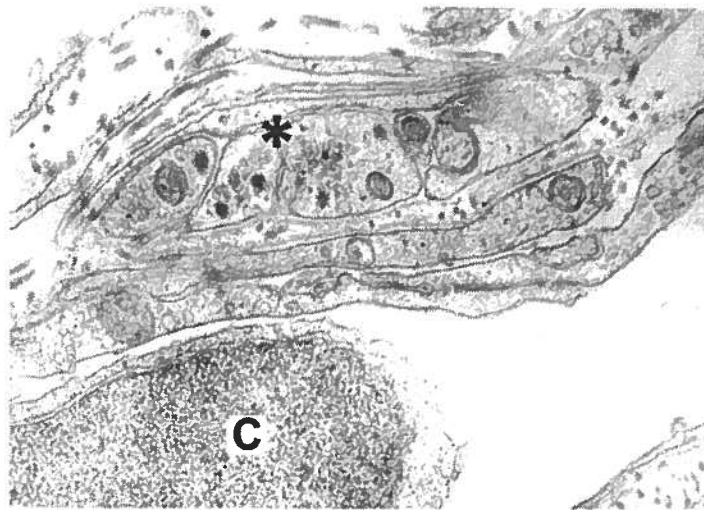
Saját munkánkban a használt hüllő fajokban a kétfajta pineális szervet – a *parietális-szemet* és a *corpus pinealét* - finomszerkezeti és immunitokémiai vizsgáltuk.

A *corpus pineale* intracraniálisan fekszik nagyobb a parietális szemnél és lebenyezett. Az epithalamussal a habenuák, pineális nyelek kötik össze. A pinealocyták differenciált fotoreceptor kültagokat képeznek (15. kép) és a perikarionban számos serotonin tartalmú granuláris vezikulum található. Axonjuk ribbon tartalmú szinapszisokat képez a pineális neuronokon.



15. kép. *Lacerta muralis* pinealocyta bel- (IS) és kültagja (OS) fejlett fotoreceptor membránokkal. C: a kültag csilló-része, B: bazális test (22700x).

Vegetatív idegrostok a hüllő corpus pinealéjában is az erek körül végződnek (16. kép).

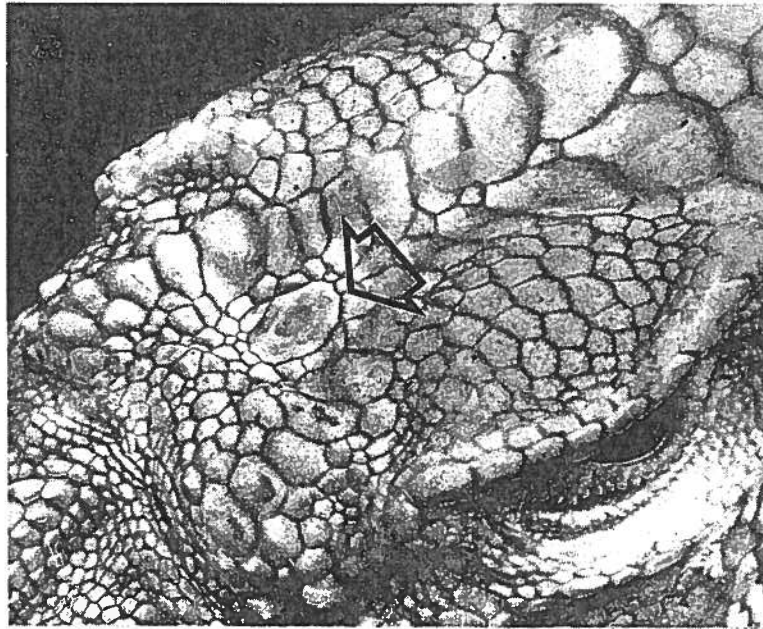


16. kép. Lacertilia corpus pineale vegetatív idegrostja vasomotor terminálisokat (csillag) képez a szerv erein. C vérsejt a capilláris lumenében (23000x).

A *parietális szem* dorzális lencséből és ventrális retinából áll, felette a fejtető transzparens „cornea” része helyezkedik el (17. kép). A parietális *corneát* a koponya membranozus foltja és a felette lévő pigmentmentes bőr képezi. A hólyagalakú szerv nem lebenyezett, de citológiai szerkezete a corpus pinealéhoz hasonló.

Jelen megfigyelések megerősítik a reptiliák két pineális szervének különbözőségét, kiemelten a szervekhez jutó fény eltérő útja miatt.

A parietális szem feletti fejtetői cornea lehetővé teszi a fénynek a szervhez való bejutását, míg a corpus pinealéhoz közvetlenül csak a koponyán keresztül juthat - jelentősen megszárt - fény.



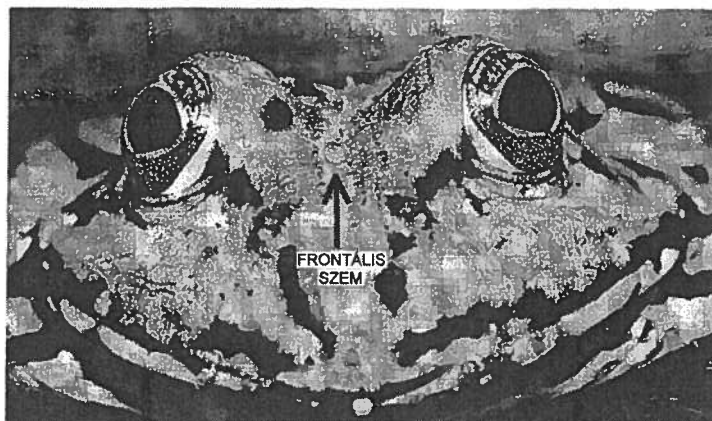
17. kép. A parietális szem feletti transparens koponyarész (nyílnál) leguánban.

Ismert, hogy a hüllők (nevük is innen ered) gyakran tartózkodnak a biotóp napsütötte területein a testhőmérsékletük szabályozására. Feltételezzük, hogy a kétféle pineális receptor szerv eltérő fényérzékelése kétféle feladatot lát el: lehetővé teszi egyrészt a napszakos és évszakos *fényritmus* változásának érzékelését, másrészt pedig a napsütötte területek *lokalizált*, a hőreguláció érdekében való felkeresését. A lokalizálás valószínűleg a parietális szerv feladata, míg a fényritmus érzékelése a corpus pineale feladata lehet.

Kétéltűek pineális szervei

Saját munkánkban kétéltűek közül békafajok pineális szerveit vizsgáltunk.

Békában a *frontális szem* vagy holokszem a corpus pineálnál kisebb, szűk lumennel rendelkezik. Kívülről is jól, látható mert a koponyán kívül helyezkedik el a fejtető bőrében, a szemek feletti és közötti fejterületen (18. kép).



18. kép. Béka homlokszem (frontal organ) elhelyezkedése.
a szemek közötti területen a fejbőr alatt, a koponyán kívül.

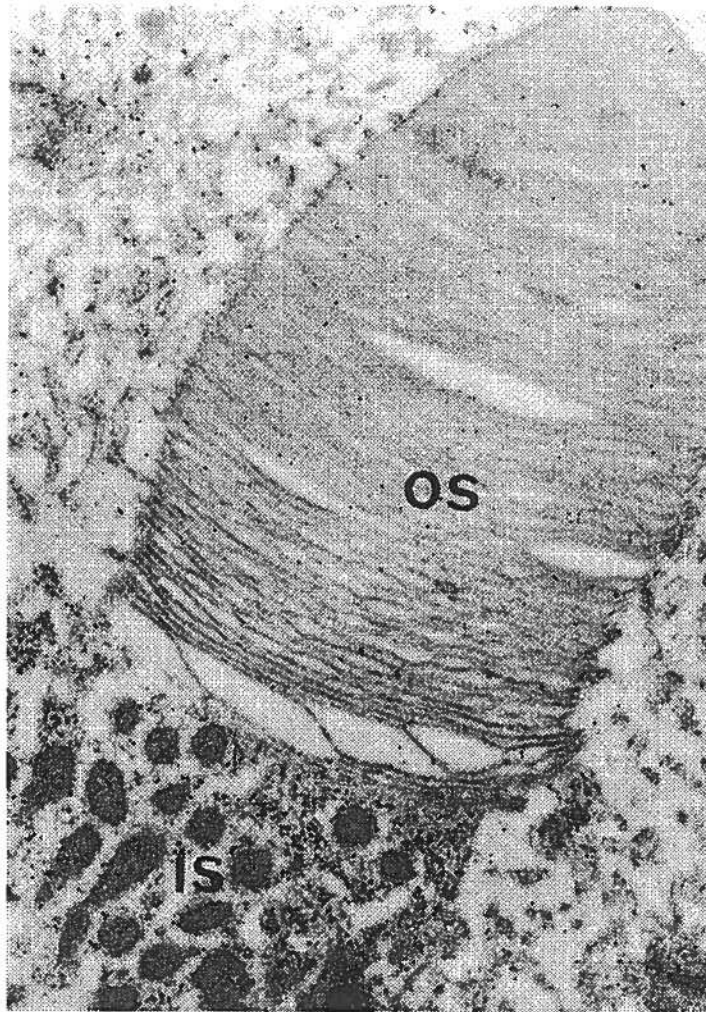
A szervet fedő pigmentmentes bőrfolt teljesen áttetsző és szinszűrő aktivitása nem észlelhető. Különböző korú állatokat összehasonlítva a békalárvák homlokszeme viszonylag nagy a felnőtt állatokéhoz viszonyítva.

A homlokszemet fényérzéksejtek mellett neuronok és gliasejtek építik fel. A fotoreceptorok között mind pálcika, mind csap típusúak előfordulnak. Egyesek belsejében fénygyűjtő, ill. szűrő olajcsepp található.

A kültagok fejlettek, jelentős számú fotoreceptor membránnal rendelkeznek (**19. kép**),

A sejtek cytoplazmája elektrondenz, axon jellegű nyúlványuk ribbonszínapszissal végződik a szerv idegsejtjein.

A neuronok axonjellegű rostjai sorozatmetszeteken jól követhetők: ventrálisan rostköteget alkotnak és mint „homlokideg” csatlakoznak a corpus pinealéból a habenuláris, pretektális és tegmentális agytörzsi régiókhoz és a hypothalamikus periventriculáris areába menő idegrostokhoz.



19. Kép. Béka (*Rana esculenta*) frontális szemének bel (IS) és kültagja (OS),
(14400x).

A békák *pineális szerve* a homlokszemnél nagyobb, hosszúkás. Lumene szintén kiterjedtebb és fala számos oldalzsákot képezve növekszik meg.

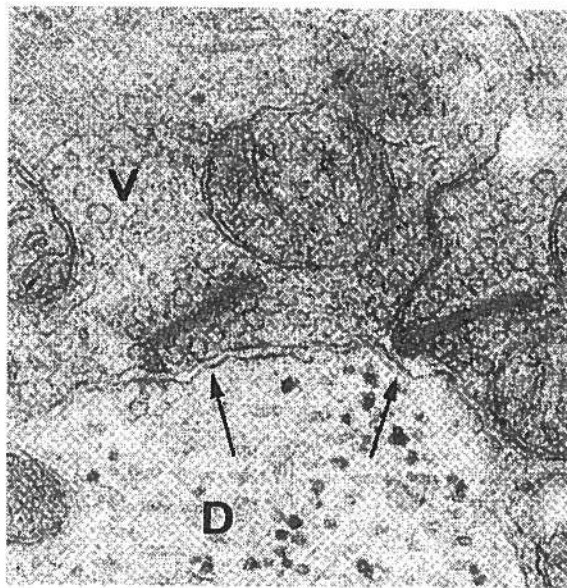
A pineális szerv a koponyatető alatt, a frontális szemnél caudálisabban, parietálisan fekszik, kívülről nem látható, mert felette a frontális szervhez hasonló koponya hiány és pigmentmentes bőrfolt nincsen. A szerv felszínén számos pigmentsejt is található, amelyek sötétadaptált állatban összehúzódott állapotban vannak.

A pineális szövetet ugyancsak fotoreceptor sejtek, neuronok és gliasejtek alkotják. A

fényérzéksejtek között szintén lehet pálcika és csaptípusú sejteket találni.

A zsákszerű pineális szerv üregében fagocytasejtek is vannak, sejtplazmájukban fagocitált fotoreceptor kültágrészek figyelhetők meg.

A fotoreceptorok bipolárisak, receptor és effektor pólussal rendelkeznek. Az effektor nyúlványuk axon jellegű és a pineális neuronokon dendritjén, vagy perikaryonján végződnek. A terminálisokban synaptikus vezikulákon és szemcsés vezikulákon kívül, szinaptikus ribbonok találhatóak (20. kép). A pineális neuronok multipolárisak, több dendrittel rendelkeznek. Axonjuk a pineális rostösszeköttetésekhez követhető.



20. Kép. Béka pinealocyták szinaptikus ribbon (nyílnál) tartalmú terminálisai pineális neuron dendritjén (D). (43200x).

A különböző korú állatok összehasonlításakor a lárvákban a *frontális szemet* viszonylag nagyra találtuk. Mivel a lárvák a vízben élnek ez arra utal, hogy a szerv már vízalatti fotométerként is szolgálhat.

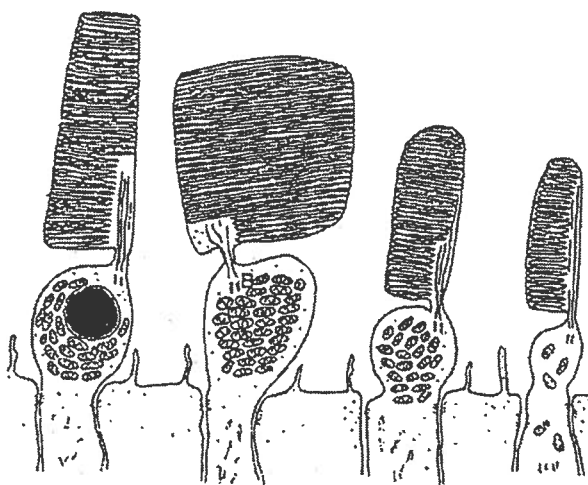
A szerv legjellegzetesebb tulajdonsága frontális helyzete és a felette lévő fényáteresztő koponyarész, ami megerősíti fénylokátor jellegű működését. Állat gyűjtők előtt is ismert, hogy hidegvérű mivoltukból fakadólag a békák a vízpartok napos részén találhatóak, amely

napos rész felkeresésében a frontális szemnek lehet elsődleges szerepe.

A parietálisan elhelyezkedő *pineális szerv* fényérzéksejtjei közt látható jelentős strukturális eltérései egyrészt a sejtek folyamatos ujraképződésével kapcsolatosak. A pineális szerv lúmenében talált fagocytasejtek és a plazmájukban megfigyelhető kültárgyszemek ugyancsak a kültárgok leválására és folyamatos képződésére utalnak. Hasonló jelenség a retinális fotoreceptorokkal kapcsolatban is ismert.

A szerv agyfelé néző felszínén talált szemcsés hólyagokat tartalmazó pinealocytarostok neurohormonális idegvégződéseket is képeznek. Ez a pineális neurohormonok közöttük a melatonin lokális hormonnaként való ürülését jelentheti. A legfeltűnőbb jellegzetessége a béka pineális szerveinek, a több típusú fényreceptor pinealocyták jelenléte (**21. kép**).

A nagyszámú csapszerű fényérzéksejt jelenléte a színek közt különbséget tevő fényérzékszervre utal, másrészt többféle fényinformációra való alkalmasság jele, amire az immuncitokémiai fejezetben még visszatérünk.



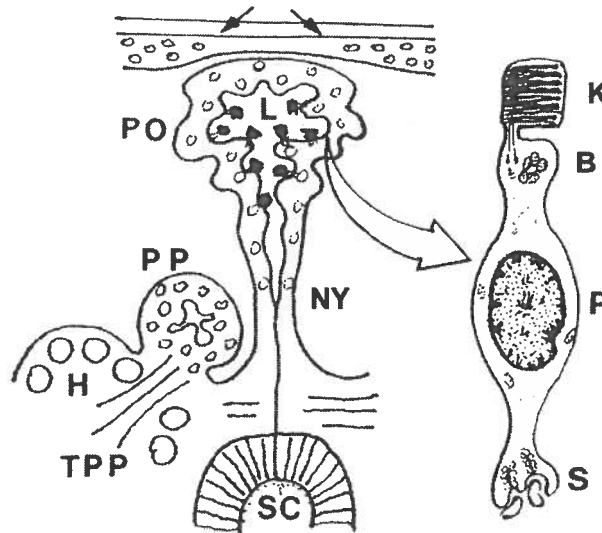
21. kép. Béka pineális szerveinek retinális csap és pálcika jellegű fotoreceptor érzéksejttípusai.

Hal és körszájú pineális szervei

Halak közül mind csontos, mind porcos halakat vizsgáltunk, körszájúakból pedig *Lampetra fluviatilis* pineális szerveit.

Saját munkánkban csontos halat és a porcos halak közül ráját vizsgáltunk.

Csontos halakban a *corpus pineale* lumene folytatása a harmadik agykamrából a subcommissurális szervnél dorsális irányban kiemelkedő pineális recessusnak (22. kép).



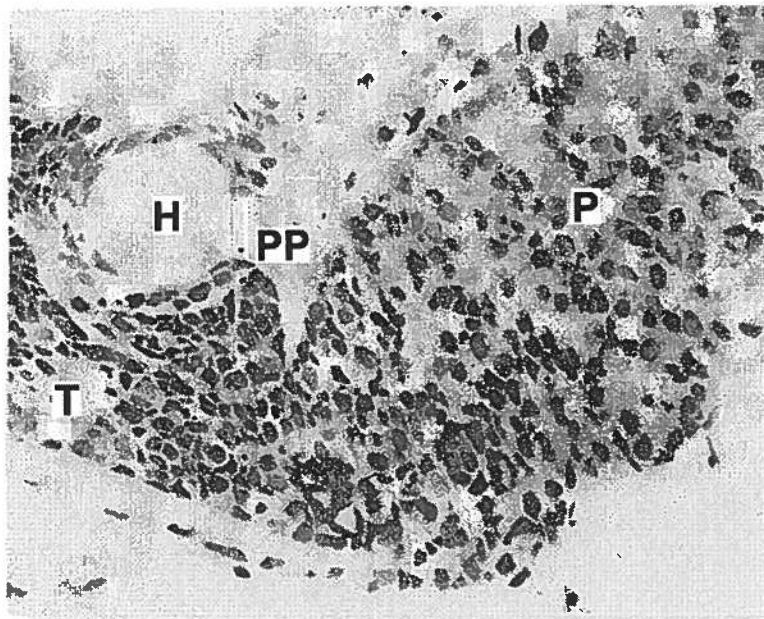
22. kép. Hal pineális szervek sémája. Nyilak: a koponya fényáteresző helye, PO: pineális szerv, PP: parapineális szerv, H: nucleus habenulae, NY: pineális nyél, L: a pineális szerv lumene, SC: subcommissurális szerv, TPP: tractus parapinealis, jobbra a pinealocytá kültagja (K), beltágja (B), perikaryonja (P), synapsisa (S).

A szerv falát az ependyma sejtek mellett a lumenbe beemelkedő csillós dendritek alkotják a csillók – más fajokhoz hasonlóan – a pineális fotoreceptorok kültagját képezik.

A másodlagos pineális neuronok a retina secunder neuronjaihoz hasonlóan a fotoreceptor pinealocyták fényinformációját veszik át és továbbítják a tractus pinealis útján.

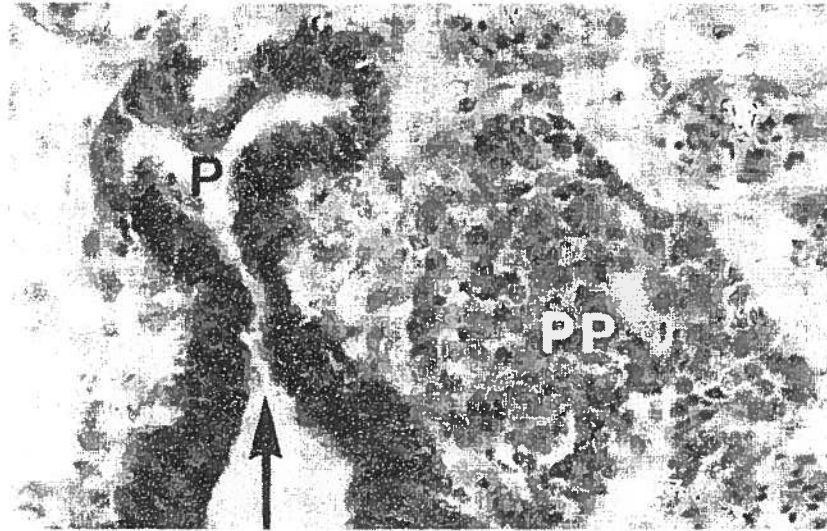
A szervet borító meningeális réteg alatt közvetlenül gliasejtek találhatóak, amelyek a szervet ellátó erek felé is membrana limitans alkotnak.

A *parapineális szerv* felépítése hasonló, de az egyes elemek differenciáltsága a corpus pineale sejtjeinél alacsonyabb. Maga a szerv sem éri el a corpus pineale nagyságát, jellegzetes emellett, hogy tömöttebb, kifejezett lumenrendszer és a harmadik agykamrához csatlakozó recessus felnőtt állatban nem marad fenn (23., 24. kép).



23. kép.

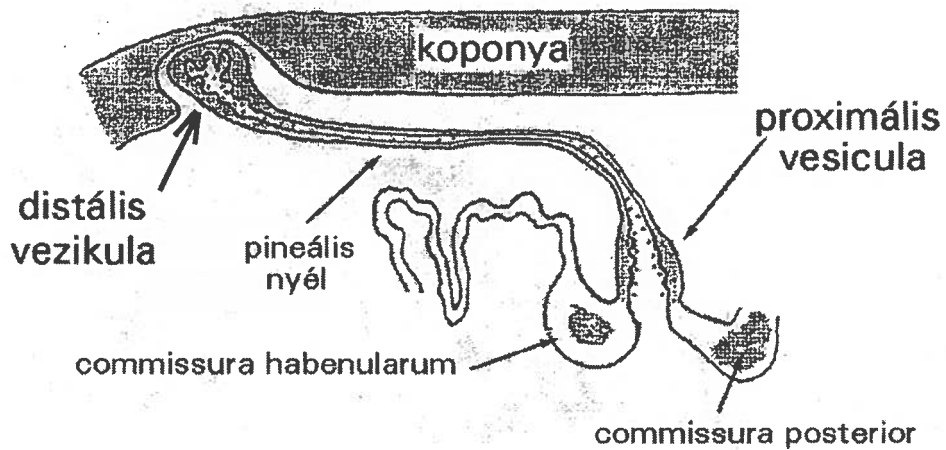
Ponty pineális (P) és parapineális szervének (PP) fénymikroszkópos képe. H: commissura habenularis, T: tractus pinealis. (280x).



24. kép. Ponty parapineális szerve (PP), P: pineális nyél, nyíl: a harmadik agykamra recessus pinealisa. Haematoxylin eosin festés. (280x).

Porcos halak,

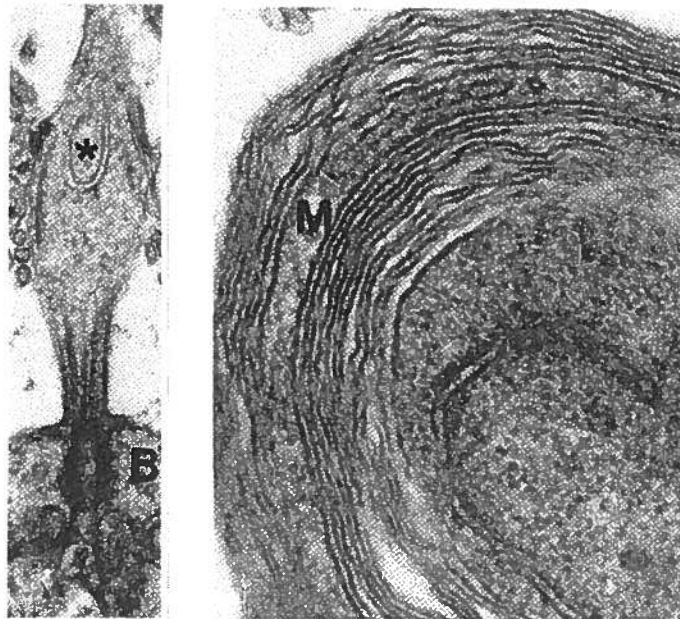
A porcos halakhoz tartozó rájákban és cápákban - a csontos halaknak megfelelő parapineális szerv nincsen, a corpus pineale hosszabb cső formájában differenciálódik, ahol a szerv kettősségét proximális és disztális kiszélesedés jelzi (25. kép).



25. kép. Porcos halak pineális szerve.

Az eddigi irodalmi adatok szerint a fotoreceptor pinealocyták túlnyomórészt pálcika jellegűek és kétféle glutamáterg neuronnal szinaptizálnak. A neuronok bipolárisak, axonjai képezik a tractus pinealist amelyről ismert, hogy a thalamus preectalis areájában, a tuberculum posterius idegsejtjein, a tegmentum mesencephaliban és a közepagi GnRh neuronokon végződik (Vigh-Teichmann és mtsai 1990, Machado és mtsai 2001).

Saját vizsgálatainkban elsősorban a fotoreceptor kültagok fejlettségét hasonlítottuk össze differenciáltabb fajokkal és azoknál fejlettebbnek találtuk (26. kép)



26. kép. Rája pineális kültagok finomszerkezete.

M és csillag: fotoreceptor membránok, B: basalis test. (22000x, 43000x).

Emellett a secunder pineális neuronok szerkezetét vizsgáltuk különös tekintettel azok dendritrendszerére és liquorkontakt dendritek képződésére. E fajokban a szerv lumenébe és a harmadik agykamra recessus pinealisába nyúló jelentős számú dendrit figyelhető meg, amelyekre szintén a csillós végződés jellemző. A gliasejtek által képzett membrana limitans gliae a szerv nyelének megfelelően elsősorban a felszíni ependymasejtek talpai

alakítják ki, a szerv recessus körüli falának vékonysága miatt.

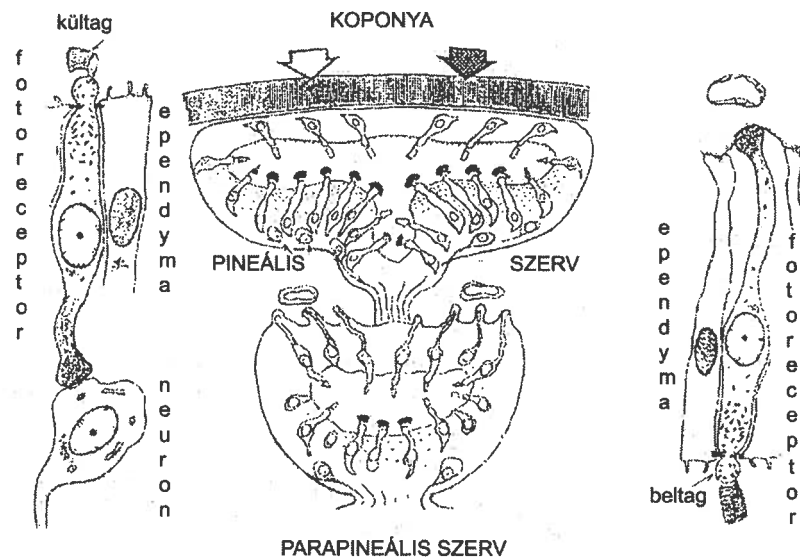
Körszájúak

A körszájú Lampetra fajokban a pineális szerveket a corpus pineale és a parapineális szerv képviseli. A *pineális szerv* kisméretű lapos vezikula, amelynek dorsális fala – az un. *pellucida* - áttetsző, ventrális fala – az un. *retina* - fotoreceptor sejtekből, neuronokból és fényvisszaverő kristályokat tartalmazó ependymasejtekből áll.

A szerv lumene folytatódik a pineális nyélbe és *átrium*nak nevezett tágulatot képez. A nyél mint tractus pinealis folytatódik, rostjai a jobb nucleus habenulae-ban és számos agytörzsi magban végződnek (Cole és Yuson 1982, Yanez és mtsai, 1993).

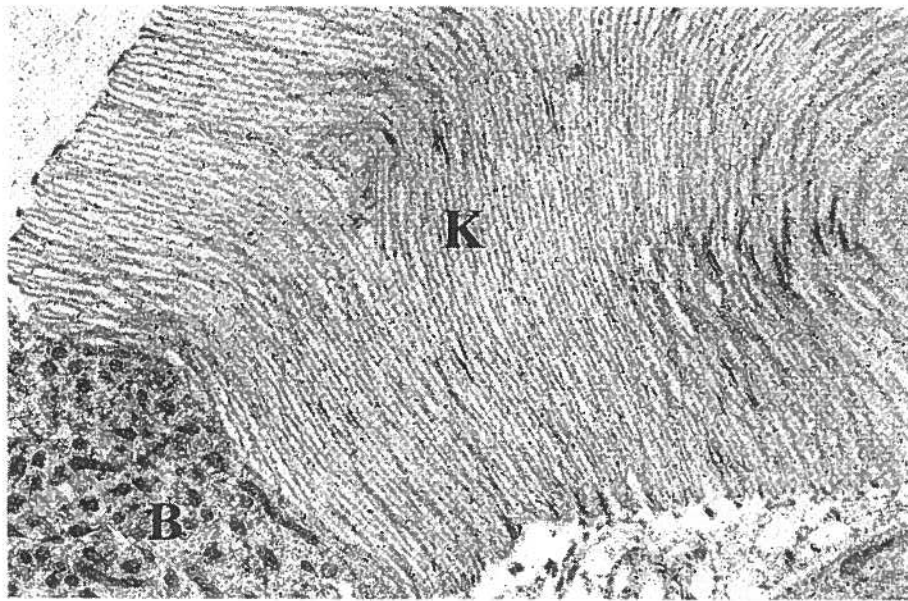
Saját megfigyelések alapján mind a pineális szerv, mind a parapineális szerv fotoreceptor sejtekből és secunder neuronokból valamint ependymasejtekből áll.

A pineális szerv közvetlenül a koponya alatt helyezkedik el, míg a parapineális érzékszerv mélyebb helyzetű (27. kép).



27. kép. A körszájú ingola pineális szervei. Bal oldalt a pineális jobb oldalt a parapineális sejtek.

Az általunk vizsgált *Lampetra fluviatilis* pineális fotoreceptorsejtek fejlettsége jellegzetes amit a kültagok membránrendszerének fejlettsége mutat (28. Kép). A membránok kifejezett rhodopsin immunreaktivitást mutatnak, amit részletesen az immuncytokémiai fejezetben tárgyalunk.



28. kép. *Lampetra fluviatilis* fejlett pineális fotoreceptora. K: kültag, B: beltág
(35000x)

II. A CORPUS PINEALE CITOKÉMIAI VIZSGÁLATA

A citokémiai vizsgálatokban a pineális szervek fotorecepciójában szereplő molekulák (1), a pineális afferentáció ill. efferentáció mediátoranyagai, (2) valamint a pineális calcifikáció (3) lett vizsgálva.

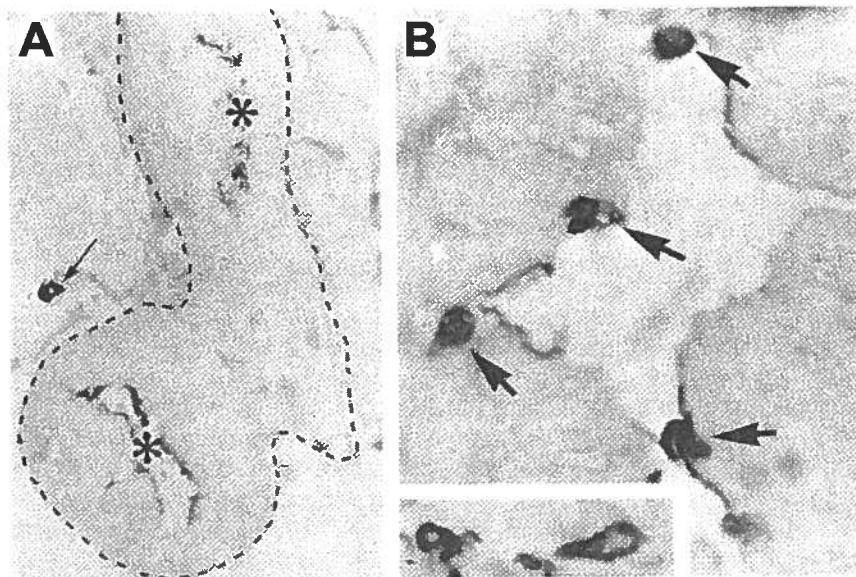
1. Különböző fénycsuhullámhosszra érzékeny molekulák a corpus pineáléban

A fotoreceptióban szereplő molekulák közül retinális (A) és pineális (B) opszinok lettek vizsgálva.

A. Retinális opszinok vizsgálata pinealocytákban

Saját vizsgálatainkban porcos halat és körszájút vizsgáltunk

Rájában (*Raja clavata*) vizsgáltuk porcos halak közül proximális és disztális pineális szervét pineális nyél köti össze, a pinealocyták itt is bel és kütagból állnak, rajtuk fénymikroszkópos immunreakciót végeztünk, ami a kütagokban adott pozitivitást (29. kép).

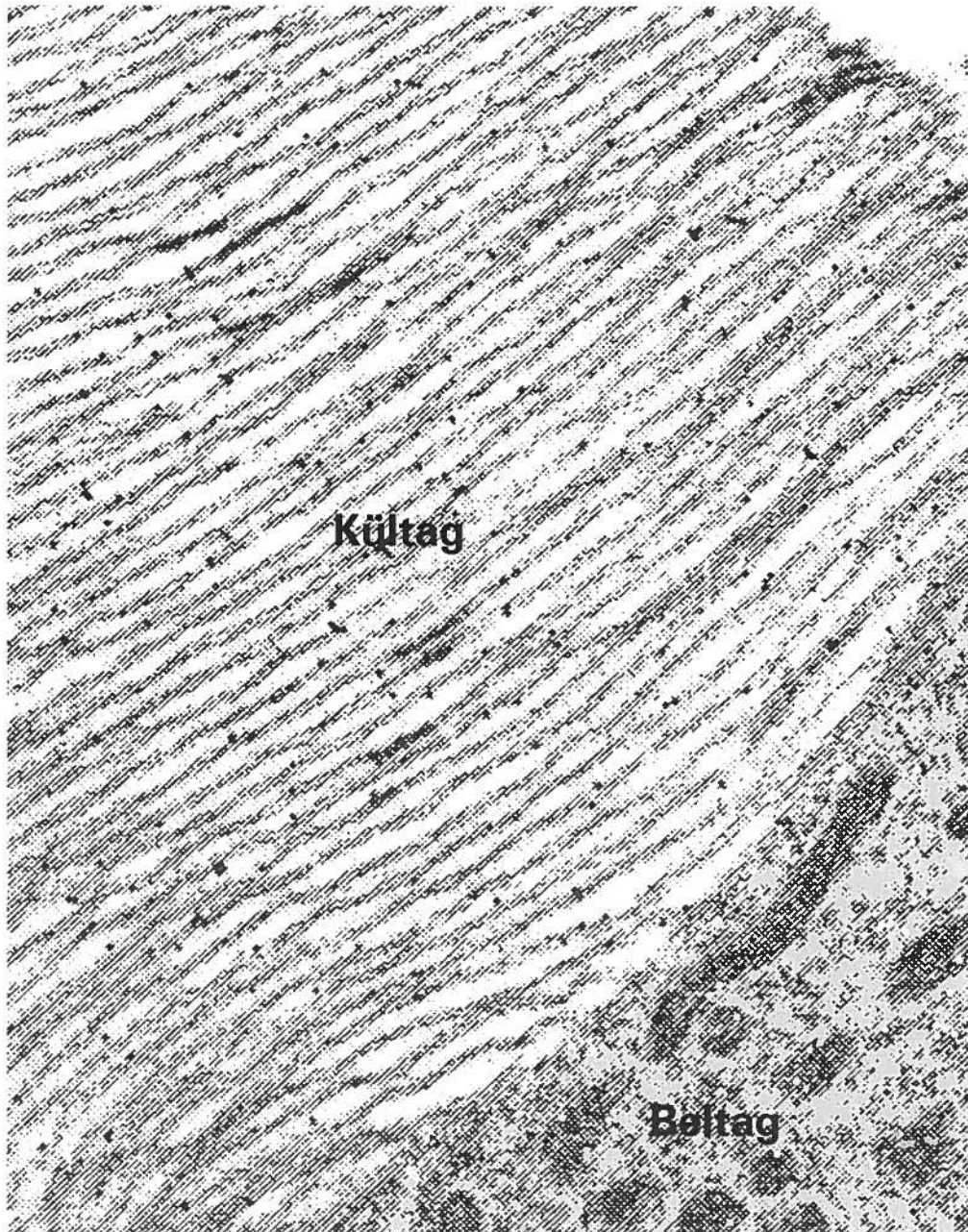


29. kép. A pineális kütagok felszíni membrájainak opszin reakciója rájában.

A: immunreakció a pineális lumenekbe (csillagok) nyúló pineális végződéseken. Szaggatott vonal: a disztális tágulat felszíne, nyíl: melanocytá (820x).

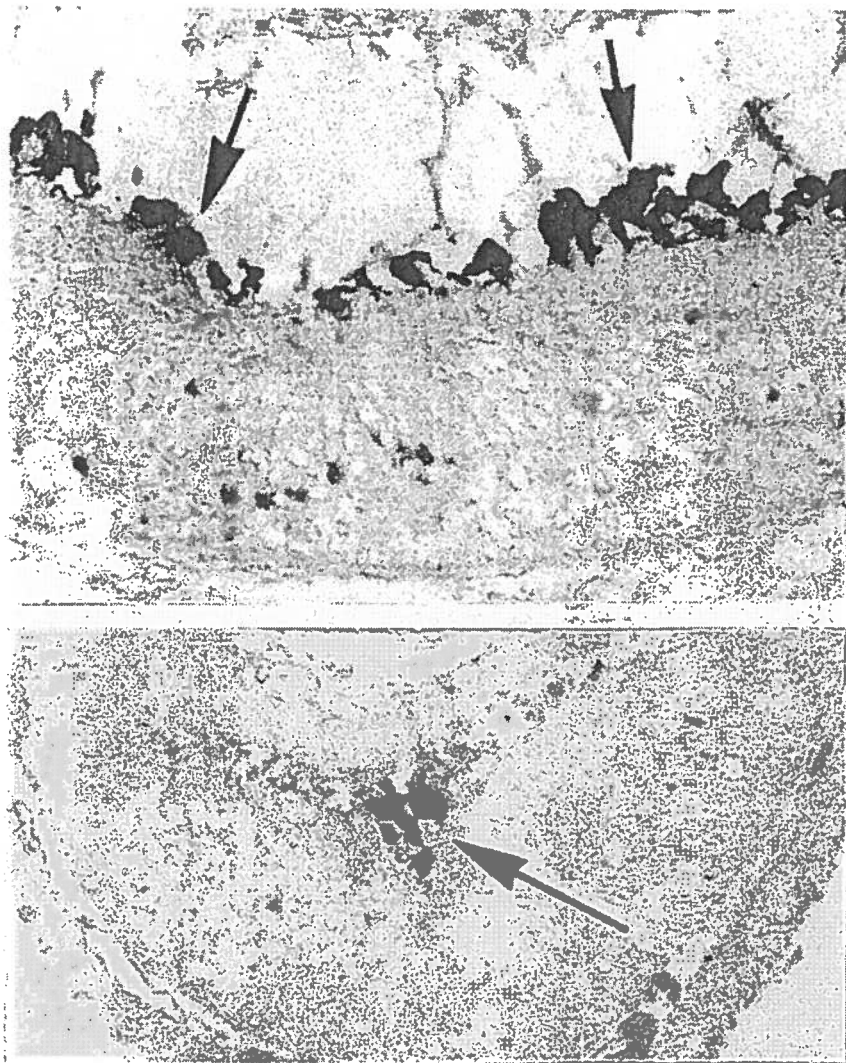
B: opszin immunoreaktív kütagok (nyilaknál). Betétkép: immunreakció a fotoreceptor lamellák külső zónájában (1050x).

A körszájú Ingola, (*Lampetra fluviatilis*) pineális fotoreceptor-sejtjének bel és kültagján (30. kép) lévő szemcsék a rhodopszin immunarany reakcióját jelzik, ami a fotoreceptor membránokra lokalizált.



30. kép. Ingola pinealocyta kültag opsin immunreakciója. (600000.x).

Az ingola parapineális szerve a corpus pineáljánál kisebb méretű. Fotoreceptor sejtjei szintén mutatnak opszin immunreakciót, ami elsősorban a szerv centrális részében lévő parapinealocytákra jellemző, szemben a corpus pinealéval, ahol a pinealocyták nagyrésze mutat immunreakciót (31.kép).



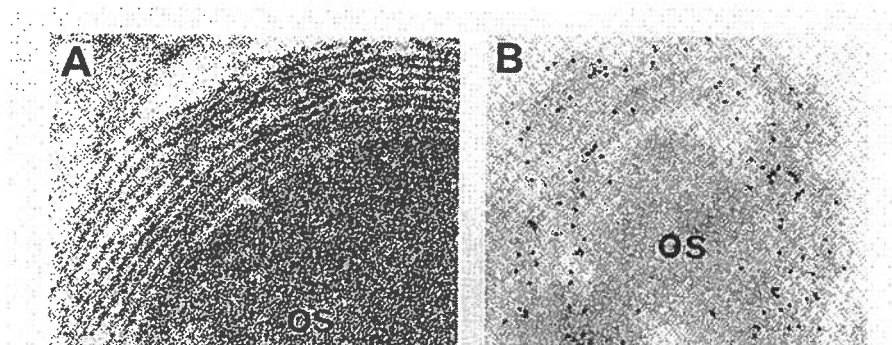
31. kép. Fent: rhodopszin immunreakció (nyilaknál) ingola pineális fotoreceptorsejtjeinek kültagján. (100x). Lent: rhodopszin immunreakció (nyílnál) ingola parapineális szervének centrális fotoreceptorain.(210x).

B. Pinopsin lokalizációjának vizsgálata pineális fotoreceptorokban

Saját munkánkban a pineális szervek különböző fotoreceptorainak immúnreakcióját hasonlítottuk össze körszájútól madarakig fény- és elektronmikroszkópos szinten a retinális csapok és pálcikák pinopsin immúnreakciójával. Immunhisztokémia céljára a 14 aminosav tartalmú csirke pinopsin molekula ellenes - nyúlban termelt - antiszérumot használtunk.

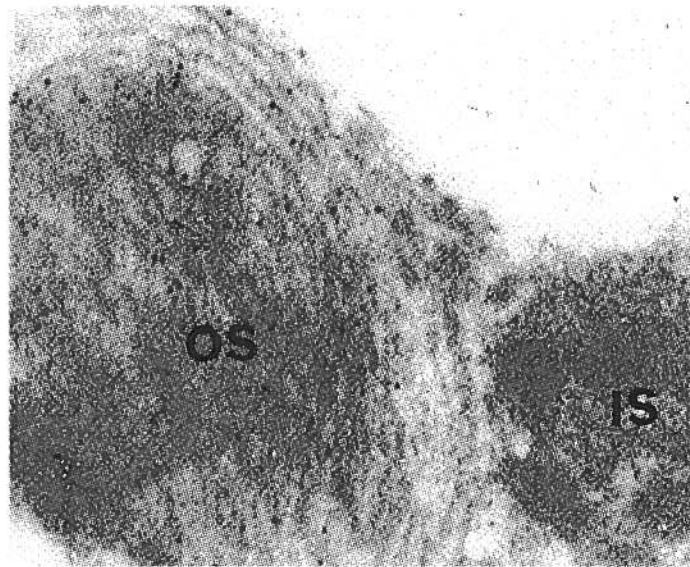
Pinopszin specifikus antitestekkel *számos madárfaj* pinealocytainak kültagjában (**32. A kép**) találtunk reakciót. Abszorpciós maximum mérések alapján e fotoreceptorok zöld-kék érzékenyek.

Legkifejezettebb pinopsin immunopozitivitás a *gyíkfélék* nagy pinealocytaiban volt észlelhető (**31. B kép**), a kisméretű pinealocyta OS2 antitesttel mutatnak jelölést.



32. kép. A: galamb, *Columba livia* pineális kültagja (OS) a fotoreceptor lemezeken pinopsin immunreakció (fekete immunarany szemcsék). (40600x). **B:** kifejezett immunreaktivitás zöld gyík, *Lacerta viridis* pineális fotoreceptor membránjain. (42600x).

Béka corpus pineáléjában többféle fényérzéksejt található, amelyek közül ismert a rhodopszin immunoreaktív, zöld érzékeny, pálcika-jellegű pinealocyta és a nagy, lipidcseppes pineális csap. Pálcika-jellegű pinealocytaiban pinopszin immunoreaktív fotoreceptor kültagok is kimutathatók (**33. Kép**).



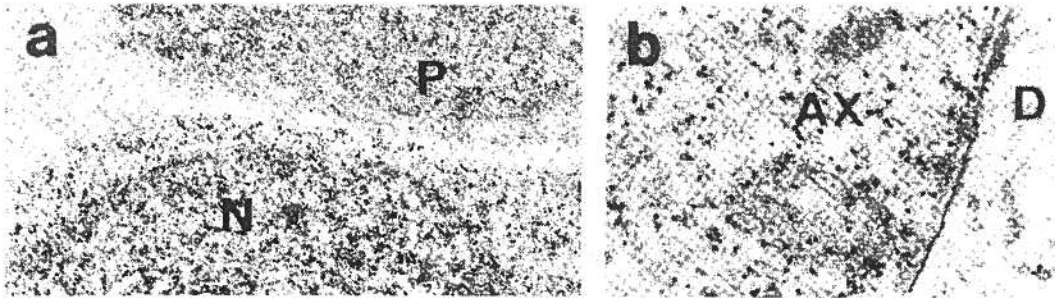
33.kép. Pinopszin immunreakció (fekete immunarany szemcsék) béka (*Bufo viridis*) pélcika-jellegű pinealocyták kültagjában (OS). IS: beltág. (44000x).

2. Szinaptikus mediátorok immuncytokémiai kimutatása a corpus pinealéban

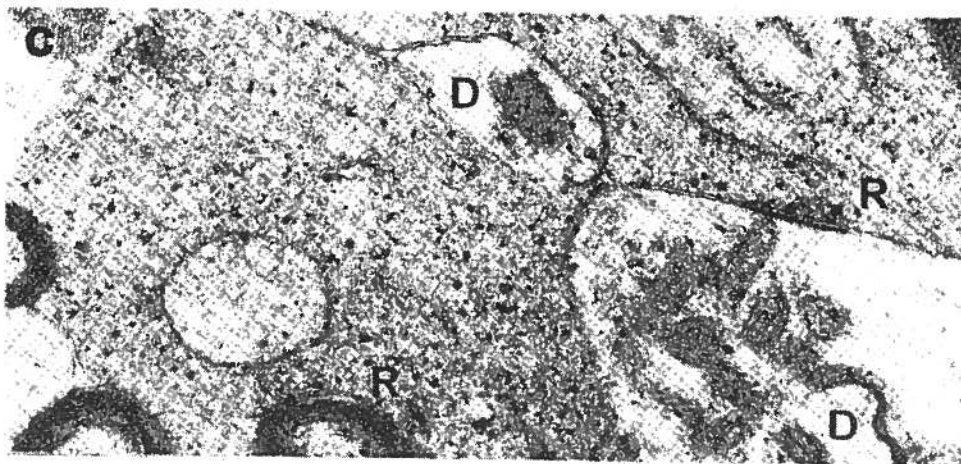
A mediátorok közül az excitatorikus aminosavak: glutamát és aspartát, valamint a gátló GABA került vizsgálatra.

Jelen vizsgálatokban a mediátorok lokalizációját különböző emlősökben és submammaliákban hasonlítottuk össze a pinealocytákban és a pineális neuronokban.

Emlősökben a corpus pineale kisebb méretű secunder neuronjai adnak kifejezett GABA immunreakciót, a pinealocyták és a nagyméretű neuronok negatívak (**34. kép a**). A neuronok GABA-erg terminálisokat képeznek mind a pinealocytákon, mind pedig a nagyméretű neuronokon (**34. kép b**). A pinealocyták axonális végződéseai a nagyméretű pineális neuronokon glutamát immunreakciót adnak (**34. kép c**).

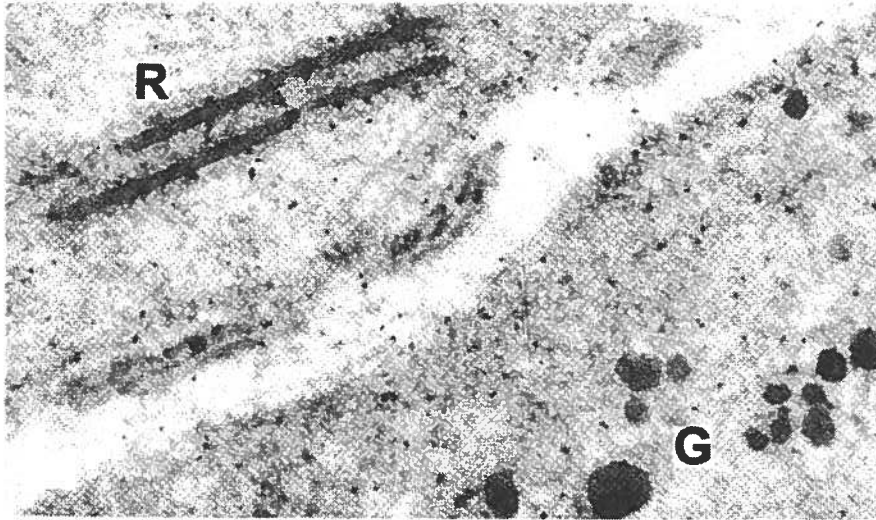


34. kép. Macska corpus pinealéja. **a:** GABA-immunoreakció (immunarany-szemcsék) kisméretű pineális neuronban (N), P: immuno-negatív pinealocyta. (8400x). **b:** GABA-immunoreaktív axonterminális (AX) a nagyméretű pineális neuron dendritjén (D). (12000x).



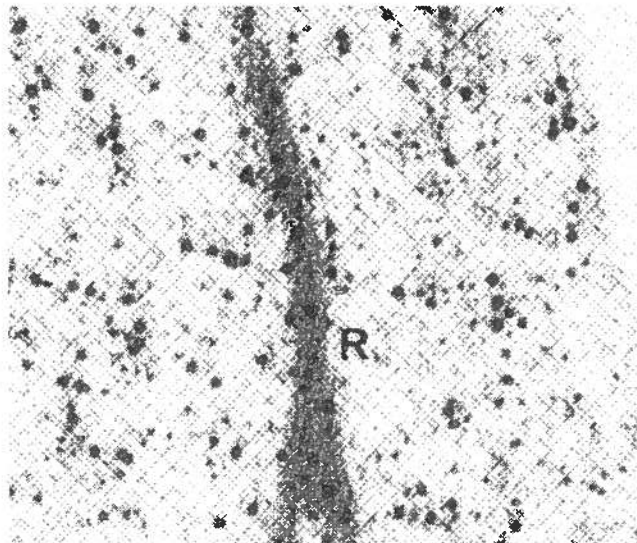
c: glutamát-immunreakció pinealocyták ribbonos (R) terminálisaiban nagyméretű secunder pineális neuronok dendritjein (D). (12600).

Hüllőkben a pinealocyták axon-jellegű nyúlványai glutamát immunreakciót adnak (35. kép). A nyúlványok szemcsés vezikulákat tartalmaznak. A terminálisok, szinaptikus ribbonjai kifejezettebb glutamát reakciót adnak.



35. kép. Glutamát immunreakció (immunarany szemcsék) gyík pinealocytá terminálisán (R). G: szemcsés vezikulák pinealocytá nyúlványban. (33800x).

Kétéltűek pinealocytáiban mind aspartátot, mind glutamátot sikerült együttesen kimutatni kétféle immunarannyal a nyúlványok végződéseiben és a szinaptikus ribbonokon (36. kép).



36. kép. Glutamát (nagy immunarany szemcsék) és aszpartát (kisebb immunarany szemcsék) együttes kimutatása, béka pinealocytá ribbonos (R) végződésében. (90000x).

Jelen munka glutamátot és aszpartátot 10 faj pineális rostterminálisában mutatott ki, köztük rovarevő, húsevő és rágcsáló emlősökben. Az emlős pinealocyták tehát a submammáliákhoz és a retinához hasonlóan efferens presynaptikus strukturákban koncentrálják az excitatorikus aminosavakat, vagyis szinaptikus mediátorként működhetnek.

A pinealocyták perikaryonjain közép-erős glutamát immunreakció és gyenge aspartát reakció volt észlelhető. Glutamát reakció erősebb volt a pinealocyta nyúlványok presynaptikus végződéseiben és a neuronok axonjaiban. A neuronok perikaryonja - a mitochondriumok kivételével - enyhe reakciót mutatott. A szerv egyes fotoreceptorai között lényeges reakciókülönbség nem volt észlelhető.

Az összes **parapineális** perikaryon gyenge, ill. közepes glutamát és aspartát immunreakciót mutat. A reakció erősebb volt a mitochondriumokon, axonokon és az axodendritikus végződéseken. Glutamát kifejezett reakciót adott a fotoreceptorok neurohormonális terminálisai felett. A másodlagos parapineális neuronok közepes glutamát és gyenge aspartát immunreakciót mutattak. Glutamát immunreakció erősebb volt a parapineális neuronok axonjaiban.

Pinealocyták axon-jellegű nyúlványai glutamát-immunreaktív végződéseket képeznek a pineális neuronok dendritjein. A pineális neuronok axonjai alkotják az ugyancsak glutamát immunreaktív tractus pinealist.

A pineális tractust a habenularis magokhoz követve látható, hogy a rostok immunreaktív terminálisokat képeznek a habenuláris neuronok dendritjein, ami a glutamát szerepét jelzi a pineális neurális efferenciációban. A pineális információk egyrésze a hormonálisan jelződik ki, az endokrin terminálisokban szintén kimutatható volt.

A pinealocyták reagáltak glutamát immunszérummal. Csak kevés különbséget találtunk a sötét és világos típusú pinealocyták között.

A körszájúak pineális glutamát és aszpartát tartalmáról nincsenek irodalmi adatok. Jelen munkában *Lampetra fluviatilis* pineális és parapineális szervét vizsgáltuk. Az elvégzett hisztokémiai vizsgálatok megerősítik az immunreaktív aminosavak jelenlétét, ill.

szerepét e fajokban is.

Végül kiemelendő, hogy a glutamát immunoreakció legerősebb a fotoreceptorok és a szekunder neuronok presznaptikus terminálisaiban. Hasonló jelenség ismert a retinára vonatkozólag is. Következésképp valószínű, hogy az excitatorikus aminosavak hasonló szinaptikus mediátor szereppel bírnak a pineális szervekben mint a retinában.

3. Pineális calcifikáció és fotoreceptor funkció

Saját munkánkban a corpus pineálékból készült fénymikroszkópos metszeteket Kossa-féle calciumkimutatással festettük. Elektronmikroszkópos célra pyroantimonátos calciumkimutatást használtunk. Ez utóbbi eljárás a szabad calcium ionokat Ca-pyroantimonát formájában kicsapva, jó lokalizációval, elektrondenz szemcsék formájában teszi láthatóvá. Emberi anyagot az Etikai Bizottság engedélye alapján mintegy száz sectióból tudtunk összegyűjteni és az amyloid testek mennyiségét a pineális szövetben vizsgálni

Emlősök közül elsősorban a szibériai ill. dzsungáriai törpehőrcsög (*Phodopus sungarus*) corpus pinealéját vizsgáltuk különböző korban és hasonlítottuk össze egyéb emlősökkel és a submammaliák fotoreceptor pinealocytaival, valamint a retina fotoreceptor sejtjeivel. A törpehőrcsög tobozszervét azért emeltük ki, mert évszakos bioritmusa a szőrzet színének téli átalakulásával jól követhető. Az állatok szőrzetének kifehéredését kísérletesen is változtattuk úgy, hogy mesterséges megvilágítás alatt tartva az állatokat, a nappalok hosszát a télire jellemzőre állítottuk be.

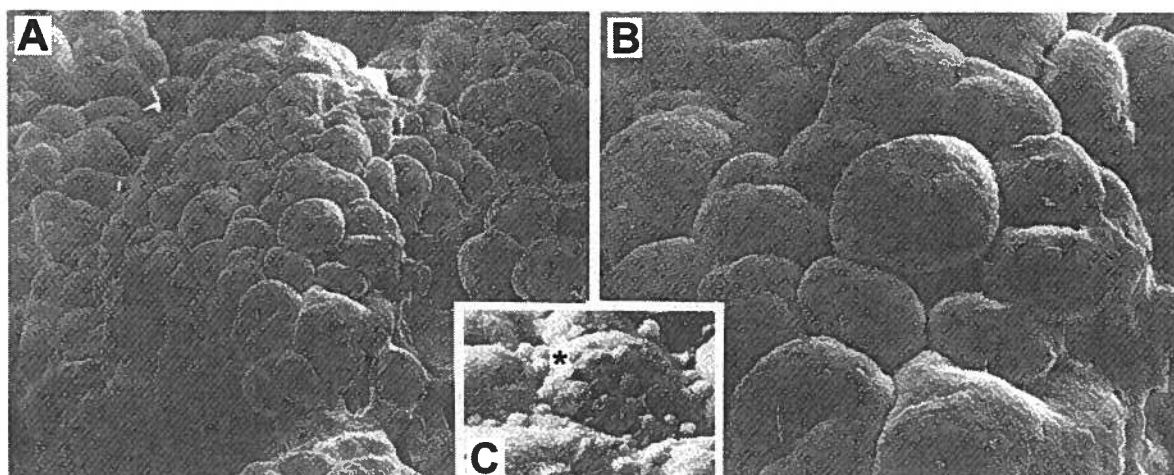
Submammaliák közül madarakat vizsgáltunk részletesen, mivel hüllőben, kételtűekben, halakban és körszájúban nem található kifejezett pineális calcifikáció.

Emberi anyagunkban - az irodalmi adatokkal egybehangzóan - megállapítható, hogy a pineális konkrementumok száma nagyobb idős egyéneknél, bár gyermekekben is előfordul.

A mézlerakódás és az évszakos ritmus közti összefüggésre emberben, saját megfigyelések is utalnak: a tobozszer legnagyob acervulusaiban az alkotó koncentrikus gyűrűket leszámolva, az egyén boncjegyzőkönyve alapján azonosított *életkorát*

megközelítő számot kaptunk. Ez eredmény magyarázható évszakfüggő kalciumlerakódási periodusokkal. Jelen munkában ezért azt is vizsgáltuk, hogy milyen oki kapcsolat lehet a pineális fotorecepció és Ca-felhalmozódása között?

Emberi pineális acervulusokat scanning elektronmikroszkóppal is vizsgáltunk (37. kép), ahol jól megfigyelhető az acervulusok térhelyzete és kisméretű secunder acervulusok megjelenését is megfigyeltük. Feltételezzük, hogy az intrapineális mészszemcsék jellegzetes dudoros felszíne, amit a scannings felvételen láthatunk - a mikroacervulusok appositionális összeolvadása folytán keletkezik.



37. kép. Emberi pineális corpora arenacea scanning elektronmikroszkópos képe. A: 200x, B: 500x, C: kisméretű, szekunder acervulusok (csillag) a primer granulumok felszínén, 650x.

Pineális acervulusokat nemcsak emberben, hanem számos **emlősben** is találhatunk mint majomban, szarvasmarhában, lóban, szamárbán, juhokban, tengerimalacban, mongol futóegérben, nyércben, patkányban és denevérben.

Patkányban 100-200 grammos állatokban acervulusokat csak ritkán találtunk, ezért egy csoportot kísérletesen elkülönítettünk, hogy a szokásos felhasználási időnél magasabb kort érjenek meg.

E vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy 4-500 grammos állatok mindegyikében

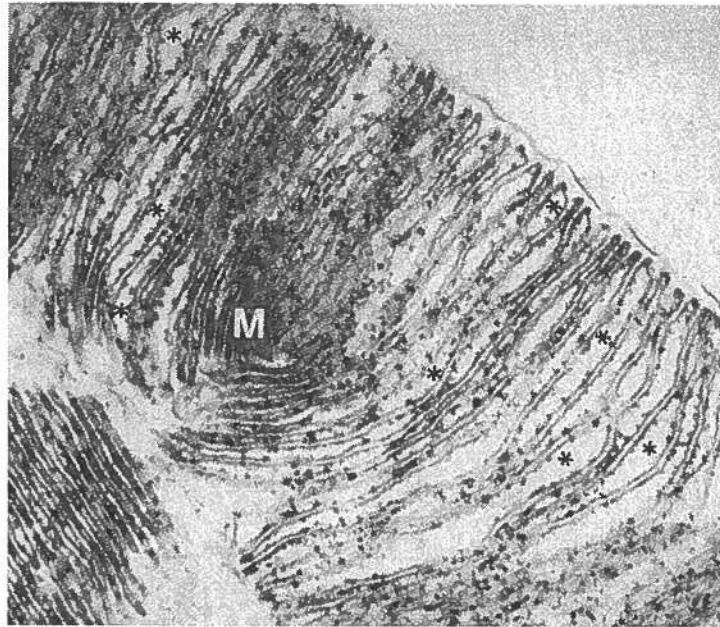
megjelentek a konkrementumok. Az acervulusok nagyobb számmal meningeális típusúak, koncentrikus rétegződésűek voltak.

Elektronmikroszkóppal, jól megfigyelhető a corpora arenacea koncentrikus szerkezete. Az acervulusok körüli sejtekben kisméretű vezikulákban is találhatunk Ca-pyroantimonát szemcséket. Kontrollként a metszeteket EDTA decalcinálásnak vetve alá, e szemcsék elktrondenz anyagukat elvesztik, mutatva azok calcium-jellegét.

Hasonló mészszerű szemcsék találhatók a denevér és nyérc corpus pineálját borító agyhártyában is. Nyércben meningeális acervulusok mellett intrapineális típus is megjelenik. Törpehőrcsögben a konkrementumok korábban lépnek fel és jellegzetesen a szerv kétoldalán halmozódnak.

Egyes acervulusok körül túalakú kristályok is felhalmozódhatnak, amelyek a hidroxilapatit kristályok jellegzetes formáját mutatják.

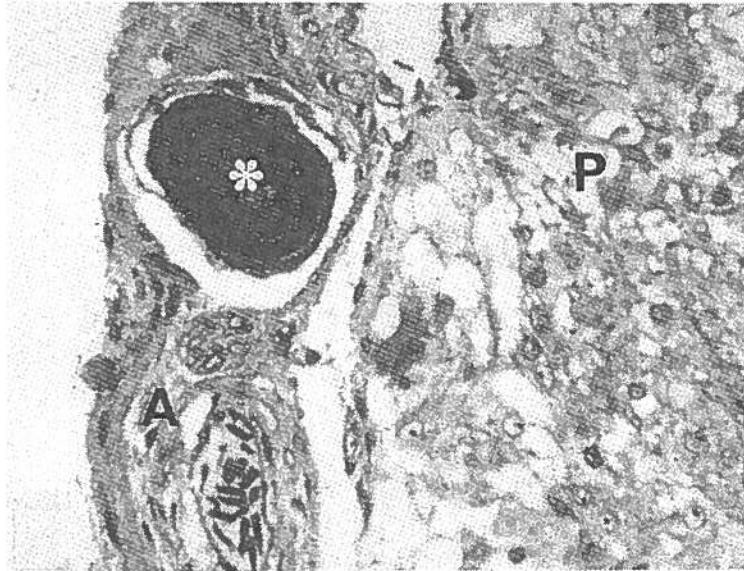
A **retinában** pyroantimonát módszerrel Ca felhalmozódás mutató ki a fotoreceptor sejtmembránja mentén (**38. kép**). Hasonló membrán-lokalizációt emberi corpus pineáleban is sikerült kimutatni. Egyes területeken a sejtközi térben nagyobb mennyiségű Ca-pyroantimonát szemcse gyűlik fel és mikroacervulus jellegű kondenzációt mutat. A sejtmembránon ülő szemcséktől, a kisebb-nagyobb konkrementumokig, a folyamatos átmenet minden formája megtalálható, ezért feltételezzük, hogy a calcium felhalmozódásnak elsődleges forrása valamilyen pineális sejtmembrán-tevékenység.



38. kép. Nyúl fényadaptált retinájának kültagja. M: fotoreceptor membránok. A Ca-pyroantimonát szemcsék a membránok külső felületére lokalizálódnak, a külső felület csillagok jelzik. (57100x)

Nyúl retinájában megvizsgáltuk a pyroantimonát reakció változását sötét- és fényadaptált állatban. Sötétadaptált retinában a Ca-pyroantimonát szemcsék a fotoreceptor membránok mindkét oldalán, míg fényadaptáltban a cisternák lumenében - tehát a membránon kívüli térben - halmozódnak fel.

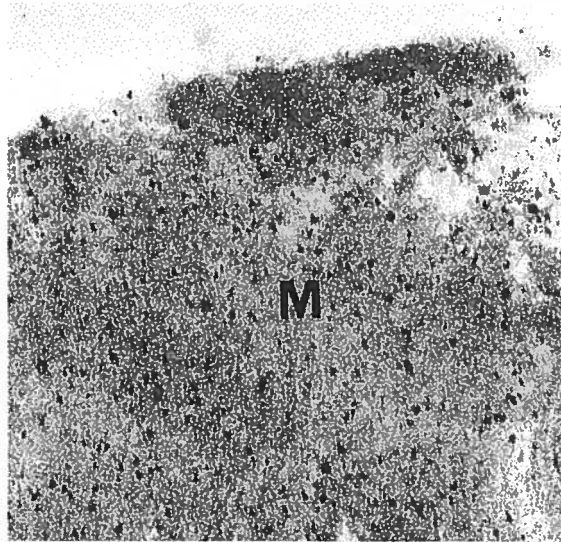
Emlősöket submammaliákkal összehasonlítva, csak **madarakban** figyeltünk meg acervulusképződést (**39. kép**). Felnőtt lúd corpus pinealéjában az emlősökhöz hasonló szerkezetű és elsősorban meningeális elhelyezkedésű agyhomok található.



39. kép. Lúd meningealis acervulusa (csillag), P: pineális szövet (128x).

Madarak pineális sejtjei fényérkésejt jellegűek, fotoreceptor beltagokat és kültagokat fejlesztenek. A kültagokban különféle látóbíbor és a sejtekben a fototransdukciós kaszkád egyéb molekulája is kimutatható. Hasonlóan fényérkésejteket tartalmaz a hüllők, kételtűek és halak corpus pinealéja is.

Kételtűek pineális fotoreceptor kültagjaiban a sejtmembránokon nagyszámú Ca-pyroantimonát szemcse csapódik ki, elsősorban a pálcika-típusú kültagokban (40. kép). Ez a lokalizáció teljesen megegyezik a retina kültagjaiban látható pyroantimonát reakcióval.



40. kép. Ca-pyroantimonát reakció szemcsék a béka pinealocyta fotoreceptor kültag membránjain (M). (11000x).

III. A FÉNYINFORMÁCIÓ PINEÁLIS AFFERENTÁCIÓJA

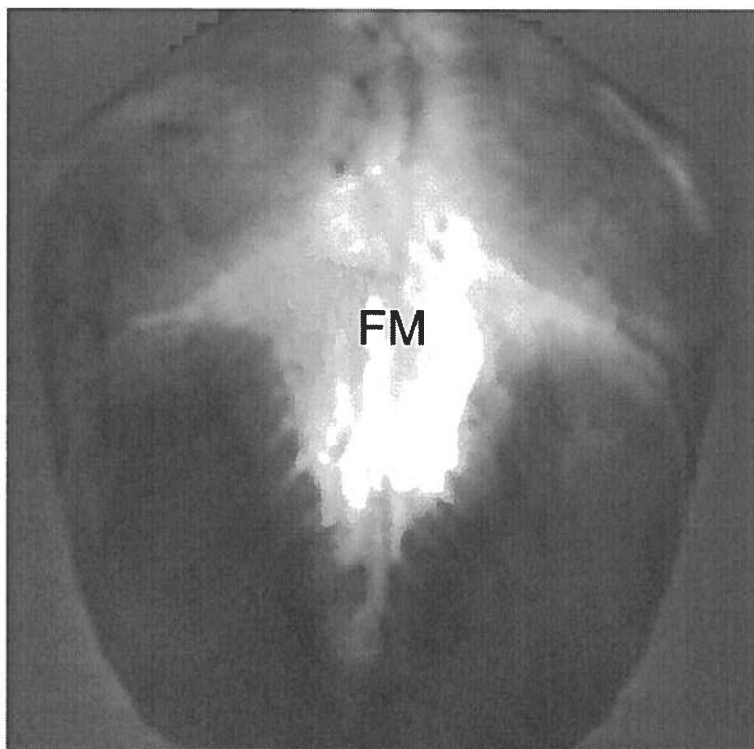
A pineális szervek összehasonlító vizsgálatakor jól látható, hogy az evolúció folyamán a pinealocyta fényreceptorai, fotoreceptor kültagjai redukálódnak. Ugyanakkor a koponya differenciálódásával fényáteresztő képessége csökken. Ezért felmerül a kérdés, hogy a primitív gerincesekben kialakult fényérzékelő pineális szervek működését magasabbrendűekben a fényinformáció hogyan irányítja?

Az egyik lehetőséget a retinából érkező rost-afferentáció jelenti. A másik kérdés, hogy elérheti-e a fény a differenciált koponyán keresztül a szervet?

Saját munkánkban elsősorban a vegetatív afferentáció kérdését vizsgáltuk részletesen. Ezt követően a koponya fényáteresztő képességét tárgyaljuk.

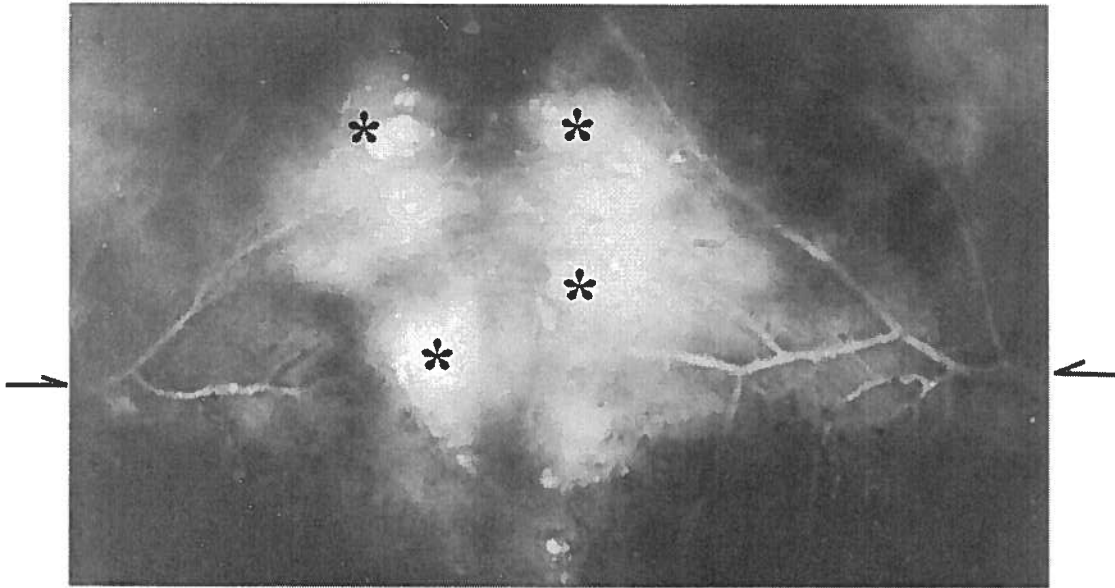
1. A vegetatív pineális afferentáció

Saját munkában emberen kívül emlősök madarak, hüllők, kétélűek lettek vizsgálva.



44. Kép. Emberi újszülött koponya kálvária része. FM: elülső fontanella.

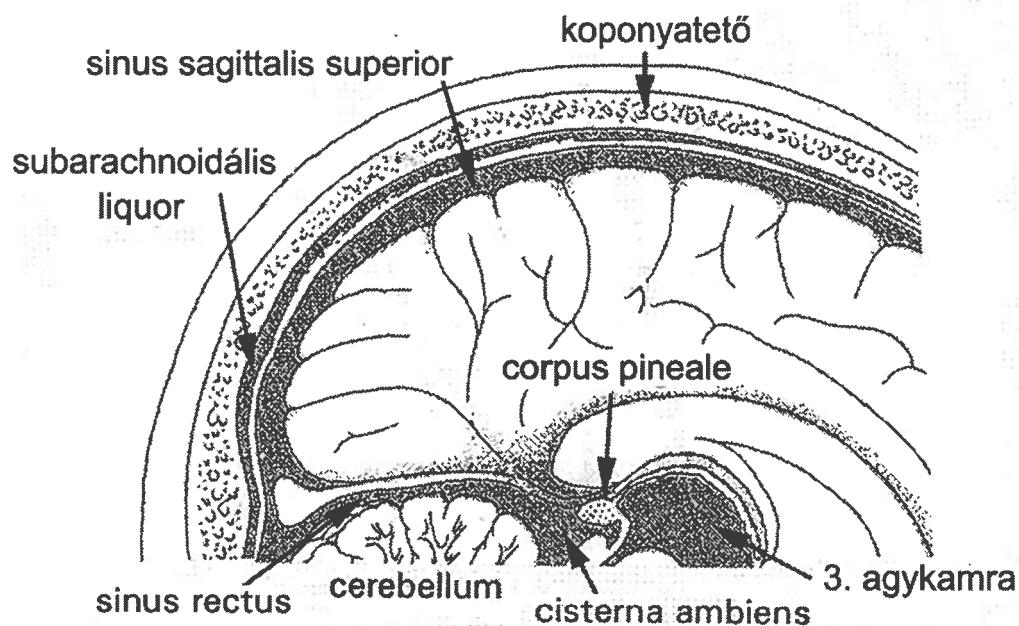
Felnőttben a foveolae granulares és a meningeális erek árka (sulcus arteriae mediae) mutat a legerősebb fényáteresztő képességet (45. kép).



45. Kép. Felnőtt kálvária középső része. Csillagok: foveolae granulares, nyílak: sulcus arteriae meningae mediae.

A Pacchioni granulációk száma nagyobb idősebb koponyákban. Átlátszó még a sinus sagittalis superior a frontális parietális és occipitális koponyacsont pikkelyrésze, valamint az emissarium vénák járatai és több egyénileg változó átlátszó terület a kálvária különböző részein.

Hüllőkben és kétéltűekben körülírt csontmentes terület található a frontális és parietális szem feletti koponyatetőn amit az első fejezet mutatott be. Szerepet játszik még a fény corpus pineáléhoz való eljutásában a liquor cerebrospinalis is, amit az **46. kép** mutat be.sémásan.



46. kép. A liquor cerebrospinalis szerepe a fény közvetítésében

E vizsgálatok fontos eredménye, hogy a kutacsok záródásáig a koponyába jutott fény könnyen elérheti a corpus pinealét, ami arra utal hogy a napi ritmus és évszakos életritmus szabályozása is kiemelkedő lehet a pineális melatonin segítségével ebben az időszakban. A szülők figyelmét is fel kellene hívni arra, hogy a napi alvásidő alatt a sötétség fenntartása is szükséges a melatonin megfelelő termeléséhez, mert a gyerekek egyrésze világosan alszik.

Az szintén figyelemre méltó, hogy felnőttben is fényátjárhatók a koponyatető foveolae granularisai. Ezenkívül megtartják fényáteresztő tulajdonságukat a sulci arteriae meningeae is. A leginkább a sulci arteriae meningeae medie, amelyek helyztüknél fogva is alkalmasak a fénynek a két félteke közé való vezetésére.

Jelen vizsgálati eredményeket figyelembe kellene venni az éjjeli ügyeletben és a többműszakos munkában dolgozóknak is, ahol ugyancsak az alváshiány mellett a koponya megvilágításának csökkentése a keletkezett melatonhiányt csökkentheti.

MEGBESZÉLÉS

A corpus pineale felépítése emberben és különböző gerincesekben.

Emberi corpus pineale sorozatmetszetekben való fény- és elektronmikroszkópos vizsgálata azt mutatja, hogy a szerv felszínes lebenyeit interlobáris meningeális sövetek választják el egymástól. A lebenyek a szerv centrális részével folyamatosan függnek össze. A meningeális sövetek mélyen behatolnak a szervbe, de mindvégig membrana limitans gliae és lamina basalis választja el őket a pineális szövetről. A septumokban haladó perifériás idegek – az idegszövet többi részéhez hasonlóan - nem lépnek be a szerv szöveti állományába. A membrana limitans gliae és a lamina basalis folytatása a megfelelő epithalamikus struktúráknak, a pineális szövet pedig az epithalamikus idegszövet folytatása. A corpus pineale az epithalamikus evaginációkból fejlődik. Mindezen adatok alapján a corpus pineale nem tekinthető mirigyszövetnek, hanem idegszövetnek.

A corpus pineale citokémiai vizsgálata

A pineális szervek mirigyszövet jellegével szemben szólnak az immúncitokémiai vizsgálatok is, amelyekkel a retinális fototranszdukciós kaszkádjában ismert molekulákat lehetett kimutatni. Fotoreceptor molekulák nemcsak cyclostomatákban, halakban és kétélűekben, hanem hüllőkben, madarakban és emlősökben valamint emberi corpus pinealéban is detektálhatók.

.Laboratoriumunkban végzett korábbi vizsgálatok emlősökben is mutattak rhodopszin immúnreakciót egyes pinealocyták perikaryonjaiban, míg mások immunonegatívak voltak (Vigh és Vigh-Teichmann 1986, 1999, Vigh-Teichmann és mt. 1989, Röhlich és Szél 1993). Halonló eredményt más laboratóriumok is kimutattak (Kuo és mt. 1988, Masuda és mtsai 1994. Yoshikawa és mtsai 1994).

Az irodalomban a 11-cis retinál hiányát tartják az emlős pineale fotorecepciója ellen szóló adatnak (Kramm és mtsai 1993, Korf 1996).

Saját vizsgálatok alapján azt *feltételezzük*, hogy a corpus pinealeban az evolúció során

csak olyan fotoreceptorok maradhattak fenn, amelyek megfelelnek azon szoláris sugárzási tartományoknak, amelyek évszakos ingadozása jól mérhető.

575 lambda maximumú pigment található mikrospektrofotometriásan a béka retina egyes csapjaiban. Hasonló fotoreceptorokat találtunk a béka extrakraniális homlokszemében és intrakraniális corpus pinealéjában. Viszont különbözőnek találtuk az egyes fotoreceptorok arányát, amennyiben a homlokszem csapdomináns a corpus pineale pedig pálcikadomináns fényérzékszervnek bizonyult.

Béka corpus pinealéjában elektronmikroszkóppal többféle fényérzékséjtet találtunk, amelyek közül ismert a rhodopszin immúnoreaktív, zöld érzékeny, pálcika-jellegű pinealocyta és a nagy, lipidcseppes pineális csap. Az utóbbi COS-1 immúnreakciót mutat, amely ellenanyag zöld és vörös érzékeny látóbiborhoz kötődik, feltételezhetően a vöröserzékes jodopszint tartalmazza.

Mivel a pinopsin abszorpciós maximuma 470 nm, a madarak és hüllők immúnreaktív pinealocytaikat, mint zöld-kék fényérzékes fotoreceptorokat tekinthetjük.

Az emlősök fotoreceptoraiban a pinopsin immúnreakció kisebb fokú volt, vagy hiányzott, ez figyelhető meg a kevésbé differenciált speciesekben is. A kígyók pineális szervének és a hüllők parietális szemének fotoreceptorai nem mutattak pinopsin immúnreakciót, valószínűleg a pinopsin típusú zöld-kék fényérzékes fotoreceptorok hiányoznak ezekben a fajokban.

A napsugárzás éves mérési adataiból látható, hogy ezeken a hullámhosszokon a mért napi intenzitás maximumok arányai szezonálisan, vagy az időjárás függvényében változhatnak (pl.: 425 és 650 vagy 475 és 550 nm) tehát alkalmasak a szervezet cirkadián, ill. cirkannuális ritmusának kialakítására.

A tobozszerben az egy sejtre jutó kisebb fotoreceptor membrán terület következtében redukálódott fényérzékesység nemcsak a szerv később redőződött falában lévő pinealocytaszám emelkedésével kompenzálódhat, hanem a benne lévő pinopszin molekula hosszabb működési idejével is, amit Nakamura és munkatársai mutattak ki (1999).

Végül említésre méltó, hogy kültag nélküli, de opsint tartalmazó plazma membránnal bíró sejt is működhet fotoreceptorként. Foster és munkatársai (1993) szerint öröklött retina rendellenességekkel bíró egerekben a cirkadián fényérzékelés kültag nélküli csap, vagy

pálca sejtekkel is történhet.

Pineális calcifikáció

Irodalmilag ismert, hogy a Ca egyik fontos tényezője a fototranszdukciós kaszkádnak. Ha intracelluláris koncentrációja megnő, akkor a cGMP koncentrációja csökken, mivel a guanilát-cikláz-aktiváló-proteinen keresztül gátolja a guanilát-cikláz, ezáltal a sejt hiperpolarizálódik. Ez a folyamat része a fényadaptációnak is. Ca szükséges a recoverin működéséhez, amely a rhodopszin-kinázon keresztül a rhodopszin visszaakulásáért felelős. A Ca-kalmodulin-rendszernek köze van cGMP-függő kation-csatorna működéséhez is. Ennek a csatornának a működése révén jön létre a fényre adott hiperpolarizációs válasza a fotoreceptor-sejtnek (Athanasios és mt., 1984, Welsh, 1985, Bastianelly és Pochet, 1994, Zawlska és mt. 1998).

Ahogy saját vizsgálatainkban is láttuk, a szabad Ca elhelyezkedése függ a fényérzékelő működéstől: sötétadaptált állatokban a fotoreceptor membránok mindkét, intra- és extracelluláris oldalán található, míg fényadaptált állatban a kültagmembránok extracelluláris oldalán. Ez arra utal, hogy az extracelluláris calcium egyik forrását a retinában, illetve a corpus pinealéban a fényérzékeléskor kiválasztott ionok képezhetik.

Felmerül a kérdés, hogy ha a calcium extracelluláris felhalmozódása a fotoreceptor működéssel kapcsolatos, miért nincsenek acervulusok a retinában, vagy az alacsonyabbrendűek fotoreceptor jellegű corpus pinealéjában?

Ennek egyik oka – véleményünk szerint - az lehet, hogy a retina vizuális fotoreceptor, ezért a csapok és pálcikák rétege a filogenesis folyamán egyrétegű marad, hiszen a környezetet ilyen képernyő jellegű struktúra képes leképezni. Feltételezzük, hogy a fotorecepció kapcsán így kiválasztott Ca könnyebben eliminálódhat az extracelluláris térből és nem képez acervulusokat.

Ezzel szemben a corpus pineale mint nemvizuális fotoreceptor nem tartja meg ezt a szerkezetet, hiszen denzitométer funkciójának ellátásához nincs szüksége képernyőszerű elhelyezkedésre, sőt még differenciált kültagokra sem. Elég ha membránjában elegendő mennyiségű fényérzékeny pigment van. Így az evolúció folyamán egyre inkább elvesztette a retinához hasonló felépítését és fokozatosan redőzötté vált, "redőzött retinának" is nevezhetnénk. E szerkezet viszont feltételezhetőleg nehezíti az extracelluláris Ca

eliminációját, ami elősegítheti kicsapódását és az acervulus-képzést.

A calcium felszaporodás másik tényező a pinealis arachnoidea evolúciós fejlődése lehet. Szemben az alacsonyabbrendűek egyszerű agyhártyájával, az emlősök arachnoideáját számos sejtlemez rétegei alkotják, ahol a sejteket sejtkapcsoló stuktúrák, köztük tight junction-ok fűzik össze. Pyroantimonát módszerrel megfigyeltük, hogy a szoros sejtkapcsoló sturtúrák területén hiányzik a Ca-pyroantimonát csapadék ezért feltételezhető, hogy a tight-junction-ok barrier-szerűen viselkedve gátolják a szabad Ca ionok intercelluláris áramlását, ami ugyancsak oka lehet a kalciumfelhalmozódásnak ill. a konkrementumok képződésének.

Eddigi megfigyeléseinket összegezve, megállapíthatjuk, hogy a pineális agyhomok képződése többtényezős folyamat eredménye, amelynek egyik komponense valószínűleg a sejtmembrán tevékenységből eredő extracelluláris calciumfelszaporodás. A felhalmozódásban a membránaktivitáson kívül a szerv evolúciós növekedése és kompaktizációja, valamint arachnoideájának fejlődése és szoros sejtkapcsoló struktúráinak barrier szerepe játszhat közre.

A corpus pineale számos *acervulust* (*corpora arenacea*, agyhomok) tartalmaz amelyek segítik az agyi felvételeken való orientációt. Időskorban számuk növekszik. Acervulusok találhatóak a commissura habenularumban, leptomeningeálisan és a plexus choroideusban is.

Saját vizsgálatainkban kálium pyroantimonáttal *emberi* corpus pinealéban szabad calcium ionok voltak kimutathatók ultrastruktúráisan a sejtmembránok mentén, ami a membránok szerepét húzza alá az acervulusképződésben. Az intrapineális acervulusok globuláris felszín mutatnak, míg az arachnoideában lévőket elsősorban koncentrikus világosabb-sötétebb gyűrűk alkotják. A világos gyűrűk több calciumot tartalmaznak, mint a sötétek. A legnagyobb acervulusok rétegeinek száma az életkorral korrelál.

Emlősök pineális acervulusai főleg meningeális típusúak, a körülöttük lévő sejtek számos sejtorganellummal rendelkeznek és hasonlóan az osteoblastokhoz alkalikus foszfataze reakciót mutatnak - patkányban és nyércben -. Kossa-féle kalcium kimutatással nagyobb pozitivitás található patkány corpus pinealéjában mint a környező agyszövetben. Parathyroidectomiás patkányokban nagyobb számú és méretű acervulus található, ami a

calciumháztartást szabályozó parathyroidea szerepére utal az acervulus képződésben.

A legtöbb *submammaliában* a pineális szervek (corpus pineale, parapineális szerv, frontális szem, parietális szem) szerkezete a retináéhoz hasonló. Acervulusokat csak néhány madár corpus pinealéjában lehetett kimutatni.

Hüllőkben, kétélűekben és halakban pyroantimonát módszerrel magas calciumtartalom mutatható ki elektronmikroszkóppal, de acervulusok nem találhatók. Békában pineális és retinális fotoreceptorokat összehasonlítva, fotoreceptor kültagokban mutatható ki jelentős Ca-pyroantimonát. Sötét-adaptált állatokban calcium ionok a fotoreceptor membránok mindkét oldalán találhatók, míg fényadaptáltakban csak extracellulárisan helyezkednek el.

A vékonyfalú retinában és a submammáliák hasonló szerkezetű corpus pinealéjában az extracelluláris calcium diffúziója feltehetően akadálytalan, szemben a nagyobb és kompakt emlős pineális szövettel, ahol a calcium lokális koncentrációja nagyobb lehet. Differenciáltabb fajokban a pinealocyták nagyobb száma és a többrétegű arachnoidea barrier hatása is növelheti a calcium koncentrációt, valamint az arachnoidea szoros sejtkapcsoló struktúrái.

Calcitonin is regulálja az acervulus képződést, amelyben a periacervuláris arachnoidea sejtek („acervuloblastok”) osteoblast szereppel is bírhatnak.

A corpus pineale efferenciációja és afferenciációja

A differenciáltabb fajok corpus pinealéjának fokozatos mirigyes átalakulása ellen szól, hogy neurohormonális aktivitást jelző neurohormonális axonterminálisok a legegyszerűbb gerincesekhez tartozó cyclostomákban is találhatóak. E neurohormonális idegvégződéseket körszájúakban jól fejlett fotoreceptor kültaggal rendelkező pinealocyták képezik, ami a fényreceptió és neurohormonális tevékenység antagonizmusának is ellene szól.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok mutatják, hogy madarakban több neurohormonális terminális található a corpus pinealeban, mint emlősökben, tehát „szekréciósabb” mint az emlős corpus pineale. Valószínűbb, hogy a corpus pineale „gyors” neurális és „lassúbb” hormonális kijelzése az adott gerinces osztályban, vagy fajban a biotóp specialitásához

való adaptációs igény hatására, individuálisan alakult ki.

A madarak helyzete speciális, mert az evolúcióban az emlősökkel *párhuzamosan* fejlődtek, ezért – az általános felfogással szemben - nem tekinthetők a hüllők és emlősök közti átmenetnek. Elektronmikroszkópos vizsgálataink mutatják, hogy madarakban több neurohormonális terminális található a corpus pinealeban, mint emlősökben, tehát a szerv „szekréción-jellegűbb” mint az emlős corpus pineale. Ezért valószínű, hogy a corpus pineale „gyors” neurális és „lassúbb” hormonális kijelzése az adott gerinces osztályban, vagy fajban a biotóp specialitásához való adaptációs igény hatására, individuálisan eltérő lehet.

A differenciáltabb fajok nagy és redőzött pinelís szervében a pinelocyták száma nagyobb („redőzött retina”), emellett a fotoreceptor pinopszin molekula hosszabb aktivációs ideje is növelheti a fényérzékenységet.

A pineális efferenciációval kapcsolatban szükséges aláhúzni, hogy a pinealocyták effektor polusát axonális nyúlvány képezi, amely vagy secunder pineális idegsejteken *képez szinapszist*, vagy felszíni *neurohaemális terminálissal* végződik. Mivel a neurohormonális terminálisok a felszínen a külső liquortérrel érintkeznek így az általuk kiválasztott melatonin és a pinelocytákban található egyéb neurohormonok közvetlenül a liquorba kerülnek, amelynek mennyisége és aktuális állapota befolyásolhatja e molekulák vérbe kerülését, ill. egyéb lokális hatását.

Galambban a felszíni terminálisok szemcsés vezikuláiban serotonin immunreakció volt kimutatható. Immunreaktív *aszpartát* és *glutamát* is található a végződéseken. Az excitatorikus aminosavaknak a neurohypophysis hormonális efferenciációjában speciális regulatív hatással bír, ami a pineális hormonális efferenciációban is feltételezhető.

A pineális afferenciációval kapcsolatban ki kell emelni, hogy az eddigi irodalomból jól ismert, hogy éjszakai megvilágítástól gátolt melatonin szekréción a fő endokrin faktor, ami előidézi ezeket a kóros jelenségeket (Kayumov és mt., 2005; Reid és Zee, 2004; Copinschi, 2005; Navara és Nelson, 2007; Brainard és mt., 2008; Blask, 2009; Folken és mt., 2010; Haldar és Ahmad, 20010).

Ismert, továbbá, hogy a normál napi- és évszakos ritmust a különböző szervekben található önregulatív genetikusan óra-mechanizmusok irányítják. Ezeket a perifériás órákat a

hypothalamikus nucleus supraopticus szinkronizálja neuronális és hormonális úton. A szinkronizált órarendszer 24 órás periodusú, amit nemvizuális fotoreceptorok állítanak be a lokális környezet fényviszonyaihoz (Shanahan és Czeisler, 2000; Cermakian és Boivin, 2009; Schulz és Steimer, 2009; Reiter és mt., 2010).

A retina – vizuális funkciója mellett – képviseli a fő nemvizuális fényérzékszervet. Melanopszin tartalmú retinális gangliosejtek kék fény-szenzitívek és kapnak információt vizuális fotoreceptoroktól is. A pinealocyták retinális csapokhoz hasonlóak és submammáliákban jól fejlett fotoreceptor kültaggal is rendelkeznek (Foster és mt., 1989; Kojima és Fukada, 1999; Van Gelder, 2005; Falkón és mt., 2009; Gooley és mt., 2010; Csernus, 2006).

Felnőttben, az újszülötben fejlettebb pinealocyták fotoreceptor kültagjai regressziót mutatnak, amit az irodalomban fényérzékelésük visszafejlődéseként értékeltek. E felfogáshoz hozzájárul az emberi koponya fényátersztő képességének csökkenése is a kutacsok záródásával.

Mivel kísérletes vizsgálatok kimutatták sympathicus idegek szerepét a pineális melatoninképzés napi ritmusában, feltételezték, hogy vegetatív rostok közvetítenek fényinformációt a retinától a pineális fotorecepció regressziójakor (Wurtman és mt., 1964; Romijn, 1975; Bowers és mt., 1984; Reiter, 1991; Moore, 1996; Simoneaux és Ribelayga, 2003; Mukda és mt., 2009).

Neurofunkcionális ismeretek alapján valószínűtlen, hogy autonóm rostok fényspecifikus információt tudjanak közvetíteni, de a habenulákon érkező centrális idegrostok szerepét is feltételezték a retinától jövő fényinformáció közvetítésében (Mikkelsen és mt., 1991; Moller és mt., 1999).

Az autonóm idegrostok vénák mentén érik el a corpus pinealét az u.n. nervi conariiban, valamint periarteriális vegetatív fonatokban (Le Gros Clark, 1940; Ueck, 1979; Vollrath, 1981; Matsuura és Sano, 1986; Mikkelsen, 1989; Reuss és Schröder, 1988; Shiotani és mt., 1989; Moller, 1992).

Saját korábbi vizsgálatokban kimutatható volt, hogy a corpus pineale vegetatív idegei – submammáliákhoz hasonlóan – emlősökben sem végződnek pineális sejteken. Ahogy már említésre került - a „tobozmirigynek” nevezett tobozszer felépítése lényegesen különbözik

a perifériás belsőelválasztású mirigyek szerkezetétől és a retinához hasonló központi idegrendszeri szövet alkotja, amely retinális csap-jellegű *pinealocyttákból*, *secunder neuronokból* és *gliasejtekből* áll. A vegetatív rostok a szerv meningeális septumaiban haladnak, amelyek elválasztják a pinealis lebenyeket és ereken végződnek vasomotor terminálisokat képezve (Frank és mt., 2005; Vigh és mt., 2006).

Az irodalomban az emberi corpus pineale autonóm idegrostjait és ereit embriókban vizsgálták (Hülsemann, 1971, Moller, 1976). A szerzők szintén feltételezték, hogy a szervet a vegetatív rostok a belsőelválasztású mirigyekhez hasonlóan idegzik be. A szerv ereinek szerkezetéről felnőttben is találunk adatokat (Duvernoi és mt., 2000).

Laboratoriumunkban végzett korábbi vizsgálatokban nem tudtuk megerősíteni a vegetatív rostok belépését a meningeális szeptumokból a pineális szövetbe. A morfológiai problémát az okozza, hogy a pineális agyhártya mélyen benyomul a szervbe s vele együtt erek és autonóm idegek haladnak, de az agyhártyákat mindvégig lamina basalis és membrana limitans gliae szeparálja magától a pineális szövegtől. Pontos megfigyelést és elektronmikroszkópos sorozatmetszeteket igényel a pineális szerv belsejében látható idegrost egyértelmű lokalizációja.

....Mivel a corpus pineale a központi idegrendszer része nem is tartható valószínűnek, hogy perifériás vegetatív rostok visszalépjenek a központi idegrendszerbe. Emellett a vegetatív idegrendszer működésének ismeretében az sem valószínű, hogy szimpatikus idegrostok fényspecifikus információt vezessenek (Vigh és Vigh-Teichmann 1988, Vigh-Teichmann és Vigh 1994, Vigh és mtsai 2002, 2003).

A *koponya fényáteresztő képessége* emberben újszülöttkorban a legkifejezettebb a kutacsoknak megfelelően. A fonticulus major a második életévben calcifikálódik, a többi kutacs korábban. Ez az időperiódus fontos a napi és évszakor ritmus kialakulásában.

Felnőttben a fény a Pacchioni granulációknál jut át a koponyán és a meningeális arteriák árkaival, valamint a sinusok területén és az os occipitale pikkelyrészén

A vizsgált emberi koponyák felerésztében *individuais átlátszó területek* is találhatóak, ami a pineális melatoninintermelésben egyéni különbségeket hozhat létre. Éjszakai munkát végzőknél a koponya fényáteresztőképességét preventive indokolt vizsgálni.

A koponya foveolae granularisába nyomuló villi arachnoidales fényt vezetnek a subarachnoidalis liquortérbe és összeköttetésben állnak corpus pinealet körülvevő cisterna ambienssel. a sinus rectusba ömlő vena cerebri magna a corpus pineale felett halad és összegyűjti annak vénáit fényt is vezethet a szervbe.

A vizsgált *emlős állatokban* a koponyatető egész területe transparens.

Hüllőkben és kétéltűekben körülírt csontszövet mentes koponyaterület és pigmentmentes bőrterület található a pineális szervek felett.

A *halak* esetében számolni kell a víz sugárszűrő hatásával ami elsősorban a rövid hullámhossz-tartományokban érvényesül.

Vizsgálataink alapján javasolható, hogy éjjeli műszakban a rövid hullámhosszú fényt kiszűrő vörös szemüveg mellett a koponyát is fedni kell - különösen kevés, világos hajmennyiség esetén - a melatonin szekréció patológiai következmények csökkentésére.

Javasoltuk az éjjeli ügyelet megvilágításában a rövid hullámhossz csökkentését is amire a pineális metoninképzés kiemelten érzékeny.

KÖVETKEZTETÉSEK

A pineális szervek nem mirigy jellegűek a pinealocyták a retinális csapoknak felelnek meg és gliasejteken kívül neuronokat tartalmaz, amelyeken a fotoreceptor pinealocyták axonjellelgyű nyúlványa végződik. A neuronok axonjai epithalamikus pályákat képeznek, amelyek többek közt a habenuláris magokban végződnek. Ugyaninnen afferens rostok is lépnek a pinealis szervekbe.

1. A toboz mirigy” kifejezés téves, a pinealocyták egy része a pineális idegszövet vascularis felszínéhez futva, neuroendokrin terminalist képez. Ezek az idegvégződések a neurohypophysis idegvégződéséhez hasonlóan hormonjellelgyű anyagokat, köztük melatonint juttatnak a perivazális térbe.

2. Emberben és a vizsgált emlősökben a pineális szövet photoreceptor jellege megtartott és kifejezettebb. Szubmammaliákban két pineális szerv található, ezek összeolvadása a recessus pinealis rostrális és caudális oldalán alkotja a magasabbrendűek végleges pineális szervét.

3. Citokémiai vizsgálatok szerint különböző hullámhosszra érzékeny retinális opszinok mellett immunreaktív pinopszin tartozik a pineális fényreceptió molekuláihoz. A pineális szervet mint redőzött retinát foghatjuk fel, ami a külső élettér megvilágításának mérésére alkalmas, a képernyő-szerű retinával szemben képérzékelésre nem.

Szinaptikus mediátorok közül glutamát immunreakció mutatható ki a pineális fotoreceptorok és a neuronok presynaptikusterminályaiban. Hasonló eredményt mutat a retina vizsgálata is ami arra utal, hogy az excitatorikus aminosavak hasonló szinaptikus mediátor szereppel bírnak a pineális szervekben, mint a retinában.

4. A kalcium ionok koncentrációja a fényreceptió folyamatával kapcsolatos. Finomszerkezeti lokalizációja a corpus pinealéban és a retinában arra enged következtetni, hogy a vékonyfalú retinában és a submammaliák hasonló szerkezetű corpus pinealéban az extracelluláris calcium diffúziója feltehetően akadálytalan, szemben a nagyobb és kompakt emlős és emberi pineális szövetel, ahol a calcium lokális koncentrációja *acervulusokat* képezhet.

5. A retinális fényinformáció irodalomban feltételezett vegetatív rostok útján történő pineális afferenciáját nem tudjuk megerősíteni, mivel az autonóm idegrostok nem lépnek be a pineális idegszövetbe, hanem a lebenyek közti meningeális septumok erei körül végződnek az erek simaizomsejtjein, tehát vazomotor rostok.

Retinális fényinformáció a corpus pinealéba a habenulán keresztül érkező centrális rostok útján idegszövettenilag és élettanilag is inkább feltételezhető.

6. Emberben a kutacsok záródásáig a koponyába jutott fény könnyen elérheti a corpus pinealét. Felnőttben is fényátjárhatók a koponyatető foveolae granulatae, ezenkívül fényáteresztők a sulci arteriae meningeae is, leginkább a sulci arteriae meningeae mediae, amelyek helyzetüknél fogva is alkalmasak a fénynek a két félteke közé való vezetésére.

Szerepet játszik még a fénynek a corpus pinealehoz való eljuttatásában a liquor cerebrospinalis is (suabarachnoidális liquor – sinus sagittalis superior – sinus rectus – cisterna ambiens).

ÖSSZEFOGLALÁS

A corpus pineale felépítése emberben és különböző gerincesekben.

Emberi corpus pineale sorozatmetszetekben való fény- és elektronmikroszkópos vizsgálata azt mutatja, hogy a szerv felszínes lebenyei a szerv centrális részével és ez epithalamussal folyamatosan függnék össze. Az interlobáris meningeális sővényeket membrana limitans gliae és lamina basalis választja el a pineális szövetől. A septumokban haladó perifériás idegek – az idegszövet többi részéhez hasonlóan - nem lépnek be a szerv szöveti állományába. A corpus pineale az epithalamikus evaginációkból fejlődik, nem tekinthető mirigyszövetnek, hanem idegszövetnek.

Emlősök pinealocytaí az emberéhez hasonló finomszerkezetűek. Csak néhány emlősben mutatják az alacsonyabbrendűekre jellemző differenciált fotoreceptor kültag felépítést.

Denevérekben részletesen összehasonlítottuk a corpus pineale és a retina szerkezetét. A megachiroptera fajok retinája redőzött, nem lehet alkalmas arra, hogy ernyőszerűen fogadja a külvilágról rávetített képet. Ezért feltételezzük, hogy nem látásra, hanem a tobozszerkezethez hasonlóan fényintenzitás mérésére szolgál ezekben a fajokban.

Szubmammáliában az un. pineális complexumot a diencephalon tető-lemezéből képződött két szerv képezi: hüllőkben a corpus pineale és a parietális szem, békafajokban a pineális szerv és a frontális szerv (frontális szem), körszájkúakban és csontos halakban pedig a pineális és parapineális szerv. Feltételezzük, hogy a két szerv egy *ősgerinces* páros dorzális diencephalikus szeméből eredhet. A vizsgált fajok többségében a kültagcsilló változó mennyiségű fotoreceptor membrán multiplikációt tartalmaz.

A corpus pineale citokémiai vizsgálata

Fotoreceptor molekulák nemcsak cyclostomatákban, halakban és kétéltűekben, hanem hüllőkben, madarakban és emlősökben valamint emberi corpus pinealéban is detektálhatók.

Elektronmikroszkópos vizsgálataink mutatják, hogy madarakban több neurohormonális terminális található a corpus pinealéban, mint emlősökben, tehát szekréciósan aktívabb

mint az emlős corpus pineale. A differenciáltabb fajok nagy és redőzött pineális szervében a pinealocyta száma nagyobb emellett a benne található fotoreceptor *pinopszin* molekula hosszabb aktivációs ideje is növelheti a fényérzékenységet.

A corpus pineale efferenciációja és afferenciációja

Emberben, emlősökben és primitívebb gerincesekben egyaránt vannak pineális neuronok amelyeken a pinealocyta axonja végződik. A neuronok axonja a corpus pineale nyelén át a habenuláris magokba fut.

A pinealocyta axonok egyrésze neurohormonális idegvégződést képez a szerv vasculáris felszínén ami a pineális hormonok szekréciójára szolgál.

Vegetatív idegrostok nem végződnek pinealocytákra, nem lépnek be a pineális idegszövetbe, hanem ereken végződve érzékszervi jellegűek.

A pineális idegszövetben is találhatóak centrális rostok, amelyek közvetíthetnek afferenciációt a szervbe.

A corpus pineale a koponyán keresztül is kap fényinformációt, elsősorban submammáliákban, de emberben is. Emberben a kutacsok záródásáig kifejezett a fény bejutása, de felnőttben is átjut a fény a sulci arteriosin és a foveolae granularesen.

SUMMARY

The histology of the pineal organ in human and various vertebrates

According to their morphology and development, the pinealocytes as neuronal cells, bear a lot of resemblance to retinal rods and cones. The dendritic processes of pinealocytes thicken to inner segments that reach the pineal lumen. In the inner segments of all investigated species we found a primary cilium (9x2+0), as well as structures resembling to other segments of rods. The efferent pole of pinealocyte continues in an axon-like process. Some of the processes make ribbon-type synapses with pineal neurons, while others end as a neuro-haemal bulb. These bulbs have contacts with the outer liquor space on the surface, so their products (e.g. melatonin) reach directly it, or indirectly the lumen of blood vessels crossing this space.

IRODALOMJEGYZÉK

- Al-Hussein SN. (2006). The pinealocytes of the human pineal gland: A light and electron microscopic study. *Folia Morphol (Warsz)* 65:181-187.
- Araki M, Fukada Y, Shichida Y, Yosizawa T, Tokunaga F. (1992). Differentiation of both rod and cone types of photoreceptors in the in vivo and in vitro developing pineal glands of the quail. *Brain Res Dev Brain Res.* 17:85-92.
- Athanassious R, Kline MA, Ali MA. (1984). Ultracytochemical evidence of calcium in the visual process. *Mikroskopie (Wien)*. 41:4-11.
- Barayas-López C, Barrientos-Martinez M A, Reyes-Vázquez C. (1987). Persistence of photic evoked responses in pineal gland after its pedunculotomy and superior cervical ganglionectomy. *J Pineal Res.* 4:287-294.
- Bargmann W. (1943). Die Epiphysis cerebri. In: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Bd. 6/4. Möllendorff v. W. (ed). Springer. Berlin. pp 309-502.
- Barrett R K, Underwood G. (1992). The superior cervical ganglia are not necessary for entrainment or persistence of the pineal melatonin rhythm in Japanese quail. *Brain Res.* 569:249-254.
- Bastianelly E, Pochet R. (1994). Calmodulin immunoreactivity in the chicken pineal gland: comparison with calbindin-D28k, calretinin, and S100. *Anat Rec* 238:207-212.
- Bastianelly E, Pochet R. (1994). Calbindin-D28k, calretinin, and recoverin immunoreactivities in developing chick pineal gland. *J Pineal Res.* 17:103-111.
- Bayerowa G, Bayer A. (1960). Contribution on the cytochemical characteristic of various cell types in the human epiphysis. *Acta Histochem.* 10:276-285.
- Bhaskar KS, Joy KP. (1989). Acetylcholinesterase-positive intrapineal neuronal system in the palm squirrel *Funambulus pennanti* (Wroughton). *Biol. Struct. Morphog.* 2:7-11.
- Bischoff M B, (1969). Photoreceptor and secretory structures in the avian pineal organ. *J Ultrastruct Res.* 28:16-25.
- Blackshaw S, Snyder S H. (1997). Developmental expression pattern of phototransduction components in mammalian pineal implies a light-sensing function. *J Neurosci* 17:8074-8082.
- Blask DE. (2009). Melatonin, sleep disturbance and cancer risk. *Sleep Med Rev.* 13:257-264.

- Bowers C W, Dahm L M, Zigmond RE. (1984). The number and distribution of sympathetic neurons that innervate the rat pineal gland. *Neuroscience*. 13:87-96.
- Brainard G C, Sliney D, Hanifin J P, Glickman G, Byrne B, Greeson J M. (2008). Sensitivity of the human circadian system to short-wavelength (420-nm) light. *J Biol Rhythms* 23:379-386.
- Bridges C D, Foster RG, Landers RA, Fong SL. (1987). Interstitial retinol-binding protein and cellular retinal - binding protein in the mammalian pineal. *Vision Res* 27:2049-2060.
- Carcamo B, Hurwitz MY, Craft CM, Hurwitz R L. (1995). The mammalian pineal expresses the cone but not the rod cyclic GMP phosphodiesterase. *J Neurochem*. 65:1085-1092.
- Cermakian N, Boivin DB. (2009). The regulation of central and peripheral circadian clocks in humans. *Obes Rev*. 2:25-36.
- Chakraborty S, (1993). A comparative study of annual changes in the pineal gland morphology with reference to the influence of melatonin on testicular activity in tropical birds, *Psittacula cyanocephala* and *Ploceus philippinus*. *Gen Comp Endocrinol*. 92:71-79.
- Cole WC, Yuson JH. (1982). Morphology of the pineal complex of the anadromous sea lamprey, *Petromyzon marinus* L. *A J Anat*. 165:131-163.
- Collin JP. (1969). Distinction et rapport entre les pédicules basaux des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires et les afférences nerveuses monoaminergiques de l'épiphyse d'oiseau. Recherches chez le poussin de passerau (*Pica pica* L.). *C R Soc Biol (Paris)*. 163:1137.
- Collin JP. (1976). La rudimentation des photorecepteurs dans l'organe pinéal des vertébrés. *Coll Intern CNRS*. 266:393-408.
- Collin JP, Mirshahi M, Brisson P, Falcon J, Guerlotte J, Faure JP. (1986). Pineal-retinal molecular relationships: distribution of "S-antigen" in the pineal complex. *Neurosci*. 19: 657-666.
- Copinschi G. (2005) Metabolic and endocrine effects of sleep deprivation. *Essent Psychopharmacol* 6: 341-347.

- Csernus V, Ghosh M, Mess B. (1998). Development and control of the circadian acemaker for melatonin release in the chicken pineal gland. *Gen Comp Endocrinol.* 110:19-28.
- Csernus V, Becher P, Mess B. (1999). Wavelength dependency of light-induced changes in rhythmic melatonin secretion from chicken pineal gland in vitro. *Neuroendocrinol Lett.* 20: 299-304.
- Csernus V, Mess B. (2003). Biorhythms and pineal gland. *Neuro Endocrinol Lett* 24:04-11.
- Csernus VJ. (2006). The avian pineal gland. *Cronobiol Int.* 23:329-339.
- Darlington TK, Lyons LC, Hardin PE, Kay SA. (2000). The period E-box is sufficient to drive circadian oscillation of transcription in vivo. *J Biol.Rhythms.* 15:462-471.
- Debreceni K, Fejér Zs, Szél Á, Röhlich P, Görcs T, Vigh B. (1998). Photoreceptors sensitive for various wave-lengths in the pineal complex and retina of reptiles immunocytochemical localization of opsins. *Neurobiol.* 6:463-465.
- Doty E, Meissl H. (1982). The pineal und parietal organs of lower vertebrates. *Experientia* 38: 996-1000.
- Duvernoy HM, Parratte B, Tatu L, Vuillier F. (2000). The human pineal gland: relationships with surrounding structures and blood supply. *Neurol Res.* 22:747-790.
- Dyke CD. (1930). Indirect signs of brain tumor as noted in routine roentgen examinations: Displacement of the pineal shadow: A survey of 3,000 consecutive skull examinations. *Am J Roentgenol.* 23:598-606.
- Ebadi M, Govitrapong P, Murrin LC. (1956). The presence and function of glutamate receptors in the pineal gland. *Adv. Pineal Res.* 1:99-109.
- Eström P, Meissl H. (1990). Electron microscopic analysis of S-antigen- and serotonin-immunoreactive neural and sensory elements in the photosensory pineal organ of the salmon. *J Comp Neurol.* 292:73-82.
- Ekström P, Meissl H. (1990). Neural elements in the pineal complex of the frog *Rana esculenta*, I: Centrally projecting neurons. *Vis Neurosci.* 4:389-397.
- Falkón NJ, Besseau L, Fuentés M, Suazet S, Magnanou E, Boeuf G. (2009). Structural and functional evolution of the pineal melatonin system in vertebrates. *Ann N Y Acad Sci* 1163:101-111.

- Fejér Zs, Szabó L., Vigh B. (1989). A corpus pineale fejlődése emberben. SFB Fejlődés-
biológiai Symposium Máj. 5-6. Tihany. Abstr. p. 25.
- Folken LK, Workman JL, Walton JC, Weil ZM, Morris JS, Haim A. (2010). Light at night
increases body mass by shifting the time of food intake. *Proc Natl Acad Sci USA*. 107:
18664-18669.
- Erdinc F. (1977). Concrement formation encountered in the rat pineal gland. *Experientia*
33:514.
- Foster RG, Korf HW, Schalken JJ. (1987). Immunocytochemical markers revealing retinal
and pineal but not hypothalamic photoreceptor system in the Japanese quail. *Cell Tiss Res*.
248:161-167.
- Foster RG, Timmers AM, Schalken JJ, de Grip WJ. (1989). A comparison of some photo-
receptor characteristics in the pineal and retina. II. The Djungarian hamster (*Phodopus*
sungarus). *J Comp Physiol*. 165:565-572.
- Frank CL, Czirok SzJ, Vincze Cs, Rácz G, Szél Á, Vigh B. (2005). Autonomic nerves
terminating on microvessels in the pineal organ of various submammalian vertebrates.
Acta Biol Hung. 56:35-41.
- Gooley JJ, Rajaratnam SM, Brainard GC, Kronauer RE, Czeisler CA, Lockley SW.
(2010). Spectral responses of the human circadian system depend on the irradiance and
duration of exposure to light. *Sci Transl Med* 2:31-33.
- Govitrapong PM, Ebadi M, Murrin L. (1986). Identification of Cl/Ca dependent glutamate
(Quisqualate) binding site in the bovine pineal organ. *J. Pineal Res*. 5:223-234.
- Grevè O, Bernard M, Voisin P, Cogne M, Collin JP, Guerlotte L. (1993). Cellular locali-
zation of hydroxyindole-O-methyltransferase mRNA in the chicken pineal gland. *Neuro-*
report 4:803-806.
- Goto K, Miki N, Kondo H. (1989). An immunohistochemical study of pinealocytes of
chicks and some other lower vertebrates by means of visinin (retinal cone-specific pro-
tein)-immunoreactivity. *Arch Histol Cytol*. 52:451-458.
- Guerlotte J, Voisin P, Brisson P, Faure JP, Collin JP. (1988). Synthesis of melatonin by
the pineal modified photoreceptors of birds immunocytochemical localization of hydr-
oxyindole-O-methyltransferase. *Biol Cell*. 64:93-96.

- Gutte G, Hanna I, Seeger J, Mehlhorn G. (1989). Histologic and histometric studies of the epiphysis cerebri of the fattening guinea fowl (*Meleagris gallopavo*) after the use of different light regiments. *Arch Exp Veterinarmed.* 43:471-480.
- Haldar C, Ghosh M. (1990). Annual pineal and testicular cycle in the Indian jungle bush quail, *Perdica asiatica*, with reference to the effect of pinealectomy. *Gen Comp Endocrinol.* 77:150-107.
- Haldar C, Guchait P. (2000). Pineal gland of a nocturnal bird, Indian spotted owl, *Athene brama*: macroscopical and endocrine observations. *J Exp Zool.* 287:145-150.
- Haldar C, Ahmad R. (2010). Photoimmunomodulation and melatonin. *J Photochem Photobiol* 98:107-117.
- Hartwig H G, Baumann C. (1974). Evidence for photosensitive pigments in the pineal complex of the frog. *Vision Res.* 14:597-598.
- Hartwig H G, Oksche A. (1982). Neurobiological aspects of extraretinal photoreceptive systems: structure and function. *Experientia.* 38:991-996.
- Heredia Chons M, López Costa JJ, Pellegrino de Iraldi A, Pecci Saavedra J. (1989). Immunocytochemical localization of serotonin in the pineal gland. *Microsc Electron Biol Cellular.* 13:65-71.
- Hirunagi K, Ebihara S, Okano T, Takanaka Y, Fukada Y. (1997). Immunoelectron-microscopic investigation of the subcellular localization of pinopsin in the pineal organ of the chicken. *Cell Tissue Res.* 289:235-241.
- Holmgren N. (1917). Zur Frage der Epiphysen-Innervation bei Teleostiern. *Folia Neurobiol. (Lpz.).* 10:1-15.
- Huang HT, Lin H S. (1984). Synaptic junction between adrenergic axon varicosity and the pinealocyte in the rat. *J Pineal Res.* 1:281-291.
- Hülsemann N. (1971). Development of the innervation of the human pineal gland. Light and electron microscopic investigations. *Z. Zellforsch Mikrosk Anat.* 115:396-415.
- Ichsan AM, Kato I, Yoshida T, Takasawa K, Hayasaka S, Hiraga K. (2005). Rhodopsin promoter-EGFP fusion transgene expression in photoreceptor neurons of retina and pineal complex in mice. *Neurosci Lett.* 379:138-143.
- Innocenti A, Minutini L, Foa A. (1993). The pineal and circadian rhythms of temperature

- selection and locomotion in lizards. *Physiol Behav.* 53:911-915.
- John TM, George JC. (1989). Seasonal ultrastructural changes in the pineal gland of the migratory Canada goose. *Cytobios.* 58:179-204.
- Kageyama GH, Meier RL. (1989). Glutamate-immunoreactivity in the retina and optic tectum of goldfish. *Brain Res.* 503:118-127.
- Kalsow CM, Greenhouse SS, Gern W, Adamus G, Hargrave PA, Lang LS, Donoso LA. (1991). Photoreceptor specific proteins of snake pineal. *J Pineal Res.* 11:49-56
- Kappers JA. (1971). The pineal organ: an introduction. In: Wolstenholme G E W and Knight J. (Eds.) *The pineal gland.* Edinburg, Churchill Livingstone, pp. 3-34.
- Karasek M, Reiter RJ. (1992). Morphofunctional aspects of the mammalian pineal gland. *Mikrosk Res Techn.* 21:136-157.
- Kawamura S, Yokoyama S. (1996). Molecular characterization of the pigeon P-opsin gene. *Gene.* 182:213-214.
- Kawamura S, Yokoyama S. (1997). Expression of visual and nonvisual opsins in American cameleon. *Vision Res.* 37:1867-1871.
- Kawamura S, Yokoyama S. (1998). Functional characterization of visual and nonvisual pigments of American cameleon (*Anolis carolinensis*). *Vision Res.* 3:37-344.
- Kawamura S, Blow NS, Yokoyama S. (1999). Genetic analyses of visual pigments of the pigeon (*Columba livia*). *Genetics.* 153:1836-1850.
- Kayumov L, Zhdanova IV, Shapiro CM. (2000). Melatonin, sleep, and circadian rhythm disorders. *Semin Clin Neuropsychiatry* 5: 44-45.
- Kayumov L, Caper RF, Hawa RJ, Perelman B, Chung SA, Sokalsky S, Shapiro CM. (2005). Blocking low-wavelength light prevents nocturnal melatonin suppression with no adverse effect on performance during simulated shift work. *J Clin Endocrinol Metab.* 90:2755-2761.
- pineal calcification. *Indian J Med Res.* 96:139-142.
- Kojima D, Fukuda Y. (1999). Non-visual photoreception by a variety of vertebrate opsins. *Novartis Found Symp.* 242:265-279.
- Korf HW, Vigh-Teichmann I. (1984). Sensory and central nervous elements in the avian pineal organ. *Ophth Res* 16:96-101.
- Korf HW, Rollag MD, Korf HW. (1989). Ontogenetic development of S-antigen- and

- rod-opsin immunoreaction in retinal and pineal photoreceptors of *Xenopus laevis* in relation to the onset of melatonin dependent color-change mechanisms. *Cell Tissue Res.* 258:319-329.
- Korf HW, White BH, Schaad NC, Klein DC. (1992). Recoverin in pineal organs and retinae of various vertebrate species including man. *Brain Res.* 595:57-66.
- Korf H W. (1996). Innervation of the pineal gland. In: *The autonomic nervous system.* Vol. 10. (Burnstock, G. Ed), *Autonomic - Endocrine Interactions* (Unsicker, K. Ed.) Harwood Academic Publishers: Amsterdam. pp. 129-180.
- Kos M, Bulog B. (2000). The ultrastructure of photoreceptor cells in the pineal organ of the blind cave salamander, *Proteus anguinus* (Amphibia, Urodela). *Pflügers Arch Eur J Physiol.* 439: R170-R177.
- Kramm CM, De Drip WJ, Korf H W. (1993). Rod-opsin immunoreaction in the pineal organ of the pigmented mouse does not indicate the presence of functional photopigment. *Cell Tissue Res.* 274:71-78.
- Krstic R. (1976) A combined scanning and transmission electronmicroscopic study and electron probe microanalysis of human pineal acervuli. *Cell Tissue Res.* 174:129-137.
- Krstic R. (1986). Pineal calcification: its mechanism and significance. *J Neural Transm (Suppl).* 21:415-432.
- Kuo CH, Tamotsu S, Morita Y, Shinozawa T, Akiyama M, Miki N. (1988). Presence of retina-specific proteins in the lamprey pineal complex. *Brain Res.* 442:147-151.
- Kus L, Handa RJ, McNulty JA. (1993). Characterization of a (tritiated) glutamate binding site in rat pineal gland: enhanced affinity following superior cervical ganglionectomy. *J. Pineal Res.* 14:39-44.
- Le Gros Clark W E. (1940). The nervous and vascular relations of the pineal gland. *J Anat.* 74: 470-494.
- Lew GM, Lawson-Willey A. (1987). An immunohistochemical study of stomatostatin in the ovine, porcine and rodent pineal gland. *Histochemistry.* 86:591-593.
- Lewczuk B, Przybylska B, Wyrzykowski Z. (1994). Distribution of calcified concretions and calcium ions in the pig pineal gland. *Folia Histochem Cytobiol.* 32:243-249.
- Ling EA, Tan SH, Wong WC. (1990). Synaptic junctions between sympathetic axon

- terminals and pinealocytes in the monkey, *Macaca fascicularis*. *Anat Embryol.* 182: 21- 27.
- Machado CRS, Machado ABM, Wragg LE. (1969). Circadian serotonin rhythm control: sympathetic and nonsympathetic pathways in rat pineals of different ages. *Endocrinology* 85:846-849.
- Macperson P, Matheson MS. (1979). Comprison of calcification of pineal, habenular commissure and choroid plexus on plain films and computed tomography. *Neuroradiology.* 18:67-72.
- Maitra SK, Khaledpour C, Vollrath L. (1989). Day-night differences in “synaptic” ribbon numbers in the pinealocytes of a subtropical wild bird *Psittacula krameri*. *Neuroendocrinol Lett.* 11:171-176.
- Mandado M, Molist P, Anadón R, Yanez J. (2001). A Dil-tracing study of the neural connections of the pineal organ in two elasmobranchs (*Scilliorchinus canicula* and *Raja montagui*) suggests a pineal projection to the midbrain GnRH-immunoreactive nucleus. *Cell Tissue Res.* 303:391-401.
- Mano H, Kojima D, Fukuda Y. (1999). Exo-rhodopsin: a novel rhodopsin expressed in the zebrafish pineal gland. *Brain Res Mol Brain Res.* 10:110-118.
- Masson-Pévet M, Pévet P, Noteborn H P. (1987). Ultrastructural demonstration of exocytosis in the pineal gland. *J Pineal Res.* 4:61-68.
- Masuda H, Oishi T, Ohtani M, Michinomae M, Fukada Y, Shichida Y, Yoshizawa T. (1994). Visual pigments in the pineal complex of the Japanese quail, Japanese grass lizard and bullfrog: immunocytochemistry and HPLC analysis. *Tissue Cell* 26:101-113.
- Matsuura T, Sano Y. (1986). Charasteristic pattern of monoaminergic nerve fibers in the pineal organ of the monkey. *Cell Tissue Res.* 245:453-456.
- Max M, McKinnon PJ, Seidenman KJ, Barrett RK, Applebury ML, Takahashi JS, Margolskee RF. (1995). Pineal opsin a nonvisual opsin expressed in chick pineal. *Science.* 267: 1502-1506.
- McNulty JA, Kus L, Ottersen OP. (1992). Immunocytochemical and circadian biochemical analysis of neuroactive amino acids in the pineal gland of the rat: effect of

- cervical ganglionectomy. *Cell Tissue Res.* 269:515-523.
- Meissl H, George S R. (1984). Photosensory properties of the pineal organ. Microiontophoretic application of excitatory amino acids onto pineal neurons. *Ophthalmic Res.* 16:114-118.
- Mess B, Rékási Z, Ghosh M, Csernus V. (1996). Regulation of pineal melatonin secretion: comparison between mammals and birds. *Acta Biol Hung.* 47:313-322.
- Michotte Y, Lowenthal A, Knaepen L, Collard M, Massart DL. (1977). A morphological and chemical study of calcification of the pineal gland. *J Neurol.* 215:209-219.
- Mikkelsen JD. (1989). Immunohistochemical localization of vasoactive intestinal peptide (VIP) in the circumventricular organs of the cat. *Cell Tissue Res.* 255:307-313.
- Mikkelsen JD, Moller M. (1991). Tyrosine hydroxylase- and neuropeptide Y- immunoreactive nerve fibers in the pineal complex of untreated rats and rats following removal of the superior cervical ganglia. *Cell Tiss. Res.* 265:63-71.
- Mikkelsen JD, Cozzi B, Moller M. (1991). Efferent projections from the lateral geniculate nucleus to the pineal complex of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Cell Tissue Res.* 264:95-102.
- Moller M. (1976). The ultrastructure of the human fetal pineal gland. II. Innervation and cell junctions. *Zell Tissue Res.* 169:7-21.
- Moller M. (1979). Presence of a pineal nerve (*nervus pinealis*) in fetal mammals. *Progr Brain Res.* 52:103-106.
- Moller M. (1992). Fine structure of the pinealopetal innervation of the mammalian pineal gland. *Micr Res Techn.* 21:188-204.
- Moller M, Phansuwan-Pujito P, Govitrapong P, Schmidt P. (1993). Indications for a central innervation of the bovine pineal gland with substance P-immunoreactive nerve fibers. *Brain Res.* 611:347-351
- Moller M. (1999). Introduction to mammalian pineal innervation. *Micr Res Techn.* 46: 235-238.
- Moller M, Liu W. (1999). Innervation of the rat pineal gland by nerve fibers originating in the sphenopalatine, otic and trigeminal ganglia. Anterograde *in vivo* tracing study. *Reprod Nutr Dev.* 39:345-353.

- Moller M, Baeres FMM. (2002). The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res.* 309:139-150.
- Moore RY. (1996). Neural control of the pineal gland. *Behav Brain Res.* 73: 125-130.
- Moutsaki P, Bellingham J, Soni BG, David-Gray ZK, Foster RG. (2000). Sequence, genomic structure and tissue expression of carp (*Cyprinus carpio* L.) vertebrate ancient (VA) opsin. *FEBS Lett.* 473:361-322.
- Mukda S, Moller M, Ebadi M, Govitrapong P. (2009). The modulatory effect of substance P on rat norepinephrine release and melatonin secretion. *Neurosci Lett.* 25:258-261.
- Nagy AD, Csernus V. (2007). *Cry1* expression in the chicken pineal gland: effects of changes in the light/dark conditions. *Gen Comp Endocrinol.* 152:144
- Nakamura A, Kojima D, Imai H, Terakita A, Okana T, Shicida Y, Fukada Y. (1999). Chimeric nature of pinopsin between rod and cone visual pigments. *Biochemistry* 9: 4738-14745.
- Nakamura TJ, Shinihara K, Funabashi T, Mitsushima D, Kimura F. (2001). Circadian and photic regulation of cryptochrome mRNAs in the rat pineal gland. *Neurosci Res.* 41:25-32.
- Nasu T, Nakai M, Murakami N. (1994). Vascularization of the pineal gland of the crow. *J Vet Med Sci.* 56:1185-1186.
- Navara KJ, Nelson RJ. (2007). The dark side of light at night: physiological, epidemiological, and ecological consequences. *J Pineal Res.* 43:218-224.
- Nir I, Briel G, Dames W, Neuhoff V. (1973). Rat pineal free amino acids diurnal rhythm and effect of light. *Arch Int Physiol Biochem.* 81, 617-627.
- Nir I, Briel G, Dames W, Neuhoff V. (1974). Pineal proteins and free amino acids during ontogenesis in rats. *Neuroendocrinology* 14:34-43.
- Nowak J Z, Sek B. (1994). Histamin is a powerful stimulator of cyclic AMP formation in chick pineal gland. *Agents Actions.* 174:C60-61
- Ohshima K, Matsuo S. (1991). Photosensory elements in the pineal gland of the Japanese quail, with special reference to the paraboloid. *Anat Anz* 172:147-155.
- Okano T, Fukada Y. (1997). Phototransduction cascade and circadian oscillator in chicken pineal gland. *Pineal Res.* 22:145-151.

- Okano T, Yoshizawa T, Fukada Y. (1994). Pinopsin is a chicken pineal photoreceptive molecule. *Nature*. 372:94-97.
- Okano T, Takanaka Y, Nakamura A, Hirunagi K, Adachi A, Ebihara S, Fukada Y. (1997). Immunocytochemical identification of pinopsin in pineal glands of chicken and pigeon. *Brain Res Mol Brain Res*. 15:190-196.
- Okano K, Okano T, Yoshikawa T, Masuda A, Oishi T. (2000). Diversity of opsin immunoreactivities in the extraretinal tissues of four anuran amphibians. *J Exp Zool* 286: 136-142.
- Oksche A, Vaupel-von Harnack M. (1965). Vergleichende elektronen-mikroskopische Studien am Pinealorgan. *Progr Brain Res*. 10:237-258.
- Oksche A, Vaupel-von Harnack M. (1966). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Frage der Sinneszellen im Pinealorgan der Vögel. *Z Zellforsch*. 69:41-60.
- Oksche A, Kirschstein H, Kobayashi H, Farner DS. (1972). Electron microscopic and experimental studies of the pineal organ in the white-crowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambelii*. *Z Zellforsch*. 124:247-274.
- Oksche A, Hartwig HG. (1979). Pineal sense organs - components of photoneuroendocrine systems. *Progr Brain Res*. 52:113-130.
- Omura Y. (1977). Ultrastructural study of embryonic and post-hatching development in the pineal organ of the chicken (brown leghorn, *Gallus domesticus*). *Cell Tissue Res*. 183: 255-271.
- Owman C, Rådeberg C. 1970. Light, fluorescence, and electron microscopic studies on the pineal organ of the pike, *Esox lucius L.*, with special regard to 5-hydroxytryptamine. *Z Zellforsch*. 107:522-55.
- Owman C, Rådeberg C, Ueck M. (1970). Fluorescencmikroskopischer Nachweis biogener Monoamine in der epiphysis cerebri von *Rana esculenta* und *Rana pipiens*. *Z. Zellforsch*. 111:550-558.
- Petney RP, Cotter JR. (1976). Retinofugal projections in an echolocating bat. *Brain Res*. 115: 479-484.
- Pévet P, Kappers JA, Voute AM. (1977). Morphological evidence for differentiation of pinealocytes from photoreceptor cells in the adult noctule bat (*Nyctalus noctula*,

- schreiber). *Cell Tissue Res.* 192:93-109.
- Philp AR, Bellingham J, Garcia-Fernandez J, Foster RG. (2000). A novel rhod-like opsin isolated from the extra-retinal photoreceptors of teleost fish. *FEBS Lett* 468:181-188.
- Philp AR, Garcia-Fernandez JM, Soni BG, Lucas RJ, Bellingham J, Foster RG. (2000). Vertebrate ancient (VA) opsin and extraretinal photoreception in the Antarctic salmon (*Salmo salar*). *J Exp Biol.* 203:1925-1936.
- Pratt BI, Takahashi JS. (1989). Vasoactive intestinal polypeptide and α_2 -adrenoreceptor agonists regulate adenosine 3',5'-monophosphate accumulation and melatonin release in chick pineal cell cultures. *Endocrinology.* 125:2375-2384.
- Prusik M, Lewczuk B, Nowiczki N, Przybylska-Gorowicz B. (2006). Histology and ultrastructure of the pineal organ in the domestic goose. *Histol Histopathol.* 21:1075-1090.
- Przybylska-Gornowicz B, Helboe L, Lewczuk B, Moller M. (2000). Somatostatin and somatostatin receptors in the pig pineal gland during postnatal development: an immunocytochemical study. *Anat Rec* 259:141-149.
- Przybylska-Gornowicz B, Lewczuk B, Prusik M, Nowicki M. (2005). Post-hatching development of the turkey pineal organ: histological and immunohistochemical studies. *Neuro Endocrinol. Lett* 26:383-392.
- Quay WB. (1989). Nonretinal photic modulation of melatonin's pineal mechanisms in mammals: analysis of evidence from studies in vivo and in vitro. *Adv Pineal Res.* 3:55-60.
- Quay WB, Kappers JA, Jongkind JF. (1968). Innervation and fluorescence histochemistry of monoamines in the pineal organ of a snake (*Natrix natrix*). *J Neurovisc Rel.* 32:11-25.
- Redecker P, Veh R W. (1994). Glutamate immunoreactivity is enriched over pinealocytes of the gerbil pineal gland. *Cell Tissue Res.* 278:579-588.
- Redins CA, Machado AB. (1984). Ultra-estrutura do organo pineal do *Crypturellus parvirostris* Wagler, 1897 (Aves. Tinamiformes). *Rev Bras Biol.* 44:499-508.
- Reid KJ, Zee PC. (2004). Circadian rhythm disorders. *Semin. Neurol.* 24:315-25.
- Reiter RJ. (1991). Neuroendocrine effects of the light. *Int J Biometeorol.* 35:169-175.

- Reiter RJ. (1993). The mammalian pineal gland as an end organ of the visual system. In: *Light and biological rhythms in man* (L. Wetttenberg, Ed), pp. 145-160.
- Reiter RJ, Tan DX, Fuentes-Broto L. (2010). Melatonin: a multitasking molecule. *Prog Brain Res.* 181:127-151.
- Reuss S, Schröder H. (1988). Principal neurons projecting to the pineal gland in close association with small intensely fluorescent cells in the superior cervical ganglion of rats. *Cell Tissue Res.* 254:97-100.
- Romijn H J. (1975). Structure and innervation of the pineal gland of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). III. An electron microscopic investigation of the innervation. *Z Zellforsch.* 139:473-485.
- Röhlich P, Szél A. (1993). Binding sites of photoreceptor-specific antibodies COS-1, OS-2 and AO. *Current Eye Res.* 10:935-944.
- Schomerus C., Korf HW. (2005). Mechanisms regulating melatonin synthesis in the mammalian pineal organ. *Ann NB Y Acad Sci.* 1057:372-383.
- Schröder H, Vollrath L. (1986). Neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity in the guinea pig pineal organ. *Neurosci Lett.* 63:285-289.
- Schulz P, Steimer T. (2009). Neurobiology of circadian systems. *CNS Drugs.* 23:3-13.
- Shanahn TL, Czeisler CA. (2000). Physiological effects of light on the human circadian pacemaker. *Semin Prinatol.* 24:299-320.
- Sherry DM, Ulshafer RJ. (1992). Neurotransmitter-specific identification and characterization of neurons in the all-cone retina of *Anolis carolinensis*. II. Glutamate and aspartate. *Vis Neurosci.* 9:313-323.
- Shiotani Y, Jin KL, Kaway Y, Kiyama H. (1989). Immunohistochemical studies on innervation of the mammalian pineal gland. In: *Advances in Pineal Research* vol 3. (Reiter R. J. and Pand, S. F. eds.): Libbey: London. pp. 49-54.
- Simonneaux V, Ribelayga C. (2003). Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev.* 55:325-395.
- Sparks DL. (1998). Anatomy of a new paired tract of the pineal gland in human. *Neurosci. Lett.* 248:178-182.

- Sun JH, Reiter RJ, Mata NL, Tsin ATC. (1991). Identification of 11-cis-retinal and demonstration of its light-induced isomerization in the chicken pineal gland. *Neurosci Lett.* 133:97-99.
- Takahama H. (1993). Evidence for a frontal-organ homologue in the pineal complex of the salamander, *Hynobius dunni*. *Cell Tissue Res.* 272:575-578.
- Teclemariam-Mesbach R, Ter Horst GJ, Postema F, Wortel J, Buijs RM. (1999). Anatomical demonstration of the suprachiasmatic nucleus-pineal pathway. *J Comp Neurol.* 406:171-182.
- Torres G, Lytle LD. (1990). Light affects neonatal rat pineal gland N-acetyltransferase activity by an extraretinal mechanism. *J Neural Transm.* 80:67-77.
- Tosini G, Bertolucci C, Foa A. (2001). The circadian system of reptiles: a multioscillatory and multiphotoreceptive system. *Physiol Behav.* 4:461-471.
- Ueck M. (1970). Weitere Untersuchungen zur Feinstruktur und Innervation des Pinealorgans von *Passer domesticus* L. *Z Zellforsch.* 105:276-302.
- Ueck M, Kobayashi H. (1972). Vergleichende Untersuchungen über acetylcholinesterasehaltige Neurone im Pinealorgan der Vögel. *Z Zellforsch.* 129:140-160.
- Ueck M. (1979). Innervation of the vertebrate pineal. *Progr Brain Res.* 52:45-87.
- Ueck M, Wake K, Kobayashi H. (1989). Nervous organization of the pineal complex in lower vertebrates. *Zool Sci.* 6:817-831.
- Underwood H. (1990). The pineal and melatonin regulators of circadian function in lower vertebrates. *Experientia.* 46:120-128.
- Van Gelder R.N. (2005). Nonvisual ocular photoreception in the mammal. *Methods Enzymol.* 393:746-755.
- Van't Hof TJ, Gwinner E. (1996). Development of post-hatching melatonin rhythm in zebra finches (*Poephilia guttata*) *Experientia* 15:249-252.
- Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1974). Vergleich der Ultrastruktur der liquorkontaktneurone und Pinealocyten. *Anat Anz Suppl.* 68:433-443.
- Vigh B, Vigh-Teichmann I, Aros B. (1975). Comparative ultrastructure of cerebrospinal fluid-contacting neurons and pinealocytes. *Cell Tissue Res.* 158:409-424.
- Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1981). Light- and electron-microscopic demonstration of

immunoreacting opsin in the pinealocytes of various vertebrates. *Cell Tissue Res.* 221:451-463.

Vigh B, Vigh-Teichmann I, Aros B. (1981). The special axonic and dendritic terminals of neurosecretory cells. *Verh Anat Ges.* 75:785-787.

Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1982). The cerebrospinal fluid-contacting neurosecretory cell: A protoneuron. In: *Molecules cells systems* (D. S. Farner, and K. Lederis, Eds), pp.458-460. Plenum Press, New York.

Vigh B, Vigh-Teichmann I, Röhlich P, Aros B. (1982). Immunoreactive opsin in the pineal organ of reptiles and birds. *Z Mikrosk Anat Forsch.* 96:113-129.

Vigh B, Vigh-Teichmann I, Aros B, Oksche A. (1985). Sensory cells of the "rod-" and "cone-type" in the pineal organ of *Rana esculenta*, as revealed by immunoreaction against opsin and by presence of an oil (lipid) droplet. *Cell Tissue Res.* 240:143-148.

Vigh B, Vigh-Teichmann I, Reinhard I, Szél Á, Van Veen T. (1986). Opsin immunoreaction in the developing and adult pineal organ. In: *The pineal gland during development: from fetus to adult* (D. Gupta, and R. J. Reiter, Eds), pp. 31-42. Croom-Helm, London.

Vigh B, Vigh-Teichmann I, Aros B. (1986). Neurohemal areas bordering the internal cerebral veins in the pineal organ of the bat (*Myotis blythi oxygnathus*). *Z Mikrosk- Anat Forsch.* 100:745-758.

Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1986). Three types of photoreceptors in the pineal and frontal organs of frogs: Ultrastructure and opsin immunoreactivity. *Arch Histol Jap.* 49:495-518.

Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1988). Comparative neurohistology and immunocytochemistry of the pineal complex with special reference to CSF-contacting neuronal structures. *Pineal Res Rev.* 6:1-65.

Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1989). The pinealocyte forming receptor and effector endings: immunoelectron microscopy and calcium histochemistry. *Arch Histol Cytol Suppl.* 52:433-440.

Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1992). Electron microscopic cytochemistry of pinealocytes and CSF-contacting neurons. *Progr Brain Res.* 91:299-306.

- Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1993). Development of the photoreceptor outer segment-like cilia of the CSF-contacting pinealocytes of the ferret (*Putorius furo*). *Arch Histol Cytol.* 56: 485-493.
- Vigh B, Vigh-Teichmann I, Debreceni K, Takács J. (1995). Similar finestructural localization of immunoreactive glutamate in the pineal complex and retina of frogs. *Arch Histol Cytol.* 58:37-44.
- Vigh B, Debreceni K, Manzano e Silva M J. (1995). Similar localization of immunoreactive glutamate and aspartate in the pineal organ and retina of various nonmammalian vertebrates. *Acta Biol Hung.* 46:99-106.
- Vigh B, Fejér Zs, Manzano e Silva MJ. (1995). Immunocytochemistry of excitatory amino acids in the pineal organ and related structures of the brain stem. *Clin Neurosci Suppl.* 48:26-27.
- Vigh B, Debreceni K, Fejér Zs, Vigh-Teichmann I. (1997). Immunoreactive excitatory amino acids in the parietal eye of lizards, a comparison with the pineal organ and retina. *Cell Tissue Res.* 287:175-283.
- Vigh B, Röhlich P, Görcs T, Manzano e Silva MJ, Szél Á, Fejér Zs, Vigh-Teichmann I. (1998). The pineal organ as a folded retina: immunocytochemical localization of opsins. *Biol Cell.* 90:653-659.
- Vigh B, Vigh-Teichmann I. (1999). Comparative morphophysiology of the pineal organs of vertebrates. In: *Comparative endocrinology and reproduction.* (Joy K.P, Krishna A, Haldar C. Eds.) Narosa Publishing House: New Delhi. Pp. 479-506.
- Vigh B, Manzano MJ, Zádori A, Frank CL, Lukats A, Röhlich P, Szel A. (2002). Non visual photoreceptors of the deep brain, pineal organs and retina. *Histol Histopathol.* 17: 555-590.
- Vigh B, Manzano MJ, Frank CL, Dávid C, Lukáts Á, Szél Á. (2003). Change in the control of the biological circadian rhythms during evolution. The role of the deep brain photoreceptors, pineal organs and retina. In: *Rhythmic biological processes. The role of the biological clocks.* (Csernus V, Mess B. Eds.) Dialóg Campus Budapest, Pécs. pp. 43-92.
- Vigh B, Frank LC, David C, Racz G, Szel A. (2006). Could autonomic sympathetic nerves

of the pineal organ mediate light-specific information? Proc Zool Soc (Calcutta). 59: 61-70.

Vigh-Teichmann I, Vigh B, Röhlich P, Olsson R. (1980). Phylogenetic aspects of the sensory neurons of the wall of the diencephalon. In: Circulatory and developmental aspects of brain metabolism. Plenum Press New York. Spatz M, Mrsulja BB, Rakic Lj M, Lust WD. (Eds.), Pp: 415-428.

Vigh-Teichmann I, Röhlich P, Vigh B, Aros B. (1980). Comparison of the pineal complex, retina and cerebrospinal fluid contacting neurons by immuno-cytochemical antirhodopsin reaction. Mikrosk Anat Forsch. 94:623-640.

Vigh-Teichmann I, Korf HW, Oksche A, Vigh B. (1982). Opsin-immunoreactive outer-segments and acetylcholinesterase-positive neurons in the pineal complex of *Phoxinus phoxinus* (Teleostei, Cyprinidae). Cell Tissue Res. 227:351-364.

Vigh-Teichmann I, Vigh B, Manzano e Silva M J, Aros B. (1983). The pineal organ of *Raja clavata*: Opsin immunoreactivity and ultrastructure. Cell Tissue Res. 228:139-148

Vigh-Teichmann I, Korf HW, Nürnberger F, Oksche A, Vigh B, Olsson R. (1983). Opsin immunoreactive outer segments in the pineal and parapineal organs of the lamprey (*Lampetra fluviatilis*), the eel (*Anguilla anguilla*), and the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Cell Tissue Res. 230:289-307.

Vigh-Teichmann I, Vigh B, Korf HW, Oksche A. (1983). CSF-contacting and other somatostatin-immunoreactive neurons in the brains of *Anguilla anguilla*, *Phoxinus phoxinus*, and *Salmo gairdneri* (Teleostei). Cell Tissue Res. 233:319-334.

Vigh-Teichmann I, Vigh B. (1986). The pinealocyte: Its ultrastructure and opsin immunocytochemistry. Adv Pineal Res. 1:31-40.

Vigh-Teichmann I, Vigh B, Gery I, Van Veen Th. (1986). Different types of pinealocytes as revealed by immunoelectron microscopy of anti-S-antigen and antiopsin binding sites in the pineal organ of toad, frog, hedgehog and bat. Exp Biol. 45:27-43.

Vigh-Teichmann I, Vigh B, Röhlich P, Wirtz GH. (1988). Immunocytochemical localization of Vitamin A in the retina and pineal organ of the frog, *Rana esculenta*. Histochemistry. 88:533-543.

Vigh-Teichmann I, Vigh B, Wirtz GH. (1989). Immunoelectron microscopy of rhodopsin

- and vitamin A in the pineal organ and lateral eye of the lamprey. *Exp Biol.* 48:203-213.
- Vigh-Teichmann I, Vigh B. (1989). The cerebrospinal fluid-contacting neuron: a peculiar cell type of the central nervous system. Immunocytochemical aspects. *Arch Histol Cytol.* 52: 195-207.
- Vigh-Teichmann I, Vigh B. (1990). Opsin immunocytochemical characterization of different types of photoreceptors in the frog pineal organ. *J Pineal Res.* 8:323-333.
- Vigh-Teichmann I, Szél Á, Röhlich P, Vigh B. (1990). A comparison of the ultrastructure and opsin immunoreactivity of the pineal organ and retina of the deep-sea fish *Chimera monstrosa*. *Exp Biol.* 48:361-371.
- Vigh-Teichmann I, Petter H, Vigh B. (1991). GABA-immunoreactive intrinsic and immunonegative secondary neurons in the cat pineal organ. *J Pineal Res.* 10:18-29.
- Vigh-Teichmann I, Vigh B. (1992) Immunocytochemistry and calcium cytochemistry of the mammalian pineal organ: a comparison with retina and submammalian pineal organs. *Microsc Res Techn.* 21:227-241.
- Vigh-Teichmann I, Ali M A, Vigh B. (1992). Comparative ultrastructure and opsin immunocytochemistry of the retina and pineal organ in fish. *Progr Brain Res.* 91: 307-313.
- Vigh-Teichmann I, de Grip WJ, Vigh B. (1993). Immunocytochemistry of pinealocytes and synapses in the mammalian pineal organ. *Microsc. Electronica.* 14:387-388.
- Vigh-Teichmann I, Vigh B. (1994) Postembedding light and electron microscopic immunocytochemistry in the pineal photoneuroendocrinology. In: *Modern Methods in Analytical Morphology*. Gu J. and Hacker G.W. (eds). Plenum Publ Corp New York. PP 253-270.
- Vollrath L. 1981. The pineal organ. In: *Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Vol. VI/7. (Oksche, A., Vollrath, H. Eds.): Springer : Berlin, Heidelberg, New York. pp.1-665.
- Vollrath L. (1985). Mammalian pinealocytes: ultrastructure and innervation. *Ciba Found Symp.* 1179-22.
- Wallingford J C, Zatz M. (1988). A novel photopigment candidate in membranes of cultured chick pineal cells. *Exp. Eye. Res.* 46, 909-918.

- Welsh M G. (1985). Pineal calcification: Structural and functional aspects. *Pineal Res Rev.* 3: 41- 68.
- Wurtman R J, Axelrod J, Fischer J E. (1964). Melatonin synthesis in the pineal gland: effect of light mediated by the sympathetic nervous system. *Science* 143:1328-1329.
- Zatz H, Kasper G, Marquez C R. (1990). Vasoactive intestinal peptide stimulates chick pineal melatonin production and interacts with other stimulatory and inhibitory agents but does not show α 1-adrenergic potentiation. *J Neurochem.* 55:1149-1153.
- Zawilska J B, Woldan-Tambor A, Nowak J Z. (1998). Effect of calcium ions and substances affecting Ca^{2+} -related mechanisms on histamine-evoked stimulation of cyclic AMP formation in chick pineal gland. *Pol J Pharmacol.* 50:307-314.
- Zhang E T, Mikkelsen J D, Moller M. (1991). Tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y-immunoreactive nerve fibers in the pineal complex of untreated rats and rats following removal of the superior cervical ganglia. *Cell Tissue Res.* 265:62-72.
- Zhao X, Haeseleer F, Fariss R N, Huang J, Baehr W, Milam A, Palczewski K. (1997). Molecular cloning and localization of rhodopsin kinase in the mammalian pineal. *Visual Neurosci.* 14:225-232.
- Zweig M, Snyder S H, Axelrod J. (1966) Evidence for a nonretinal pathway of light to the pineal gland of the newborn rats. *Natl Acad. Sci USA.* 56:515-520.
- Yamao M, Araki M, Okano T, Fukada Y, Oishi T. (1999). Differentiation of pinopsin-immunoreactive cells in the developing quail pineal organ: an in-vitro immunohistochemical study. *Cell Tissue Res.* 296:667-671.
- Yanez J, Anadon R, Holmqvist B I, Ekström P. (1993). Neural projections of the pineal organ in the larval sea lamprey (*Petromyzon marinus* L.). *Neurosci Lett.* 164:213-216.
- Yokoyama S, Zhang H. (1997). Cloning and characterization of the pineal gland-specific opsin gene of marine lamprey (*Petromyzon marinus*). *Gene.* 202:89-93.
- Yoshikawa T, Yashiro Y, Oishi T, Kokame K, Fukada Y. (1994). Immunoreactivities to rhodopsin and rod/cone transducin antisera in the retina, pineal complex and deep brain of the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Zoolog. Sci.* 11:675-680.

M. J. Manzano

saját publikációinak jegyzéke

1. Vigh-Teichmann I., Vigh B., Manzano e Silva MJ, Aros B.: The pineal organ of *Raya clavata*: opsin immunoreactivity and ultrastructure. *Cell Tissue Res.* 1983. 228:139-148. *Impakt: 1,777*
2. Vigh B, Vigh-Teichmann I, Manzaano e Silva M.J, van den Pol A.N.: Cerebrospinal fluid-contacting neurons of the central canal and terminal ventricle in various vertebrates. *Cell Tissue Res.* 1983. 231, 615-621. *Impakt: 1,777*
3. Vigh B, Manzano e Silva MJ, Vigh-Teichmann I.: Pineal organ and retina. Immunocytochemical similarity. VIth Int. Symp. Morphol. Sci. Lisbon July 23-28. 1984. Abstr. p.151.
4. Vigh B, Debreceni K, Manzano e Silva MJ.: Similar localization of immunoreactive glutamate and aspartate in the pineal organ and retina of various nonmammalian vertebrates. *Acta Biol Hung.* 1995. 46:99-106. *Impakt: 0,227*
5. Vigh B, Fejér Zs, Manzano e Silva MJ.: Immunocytochemistry of excitatory amino acids in the pineal organ and related structures of the brain stem. *Clin. Neurosci. Suppl.* 1995. 48:26-28. *Impakt: 1,049*
6. Manzano e Silva MJ, Fejér Zs, Debreceni K, Vigh B.: Neural and hormonal efferentation of pinealocytes. *Cell Biol Internatnl.* 1996. 20. 242. *Impakt: 1,067*
7. Debreceni K, Manzano e Silva MJ, Ghosh M, Haldar C, Vigh B.: Mediator substances in the pineal neuronal network of mammals. *Neurobiol.* 1997. 5: 459-467.
8. Fejér Zs, Szél Á, Röhlich P, Görcs T, Manzano e Silva MJ, Vigh B.: Immunoreactive pinopsin in pineal and retinal photoreceptors of various vertebrates. *Acta Biol Hung* 1997. 48:463-471. *Impakt: 0,136*
9. Debreceni K, Fejér Zs, Manzano e Silva MJ, Vigh B.: Immunoreactive glutamate in the pineal and parapineal organs of the lamprey (*Lampetra fluviatilis*). *Neurobiol.* 1997. 5:53-56.
10. Vigh B, Szél Á, Debreceni K, Fejér Zs, Manzano e Silva MJ, Vigh-Teichmann I.: Comparative histology of pineal calcification. *Histol Histopathol.* 1998. 13:851-870. *Impakt: 2,194*
11. Vigh B, Röhlich P, Görcs T, Manzano e Silva MJ, Szél Á, Fejér Zs, Vigh-Teichmann I.: The pineal organ as a folded retina: immunocytochemical localization of opsins. *Biol. Cell.* 1998. 90:653-659.

12. Vigh B., Szél Á., Röhlich P., Görös T., Saarela S., Hohtola E., **Manzano e Silva M.J.**: Comparison of pinopsin immunoreactivity of pineal and retinal photoreceptors. *Med Sci Monit.* 1998. 4, 17-22. *Impakt: 1,699*
13. **Manzano, M.J.**, Vigh, B.: Immunocytochemistry of pinopsin, a green-blue light-sensitive pineal specific opsin. National Symposium on Recent Advances in Pineal Research, February 5-7. Raipur, India. 1999.
14. Fejér Zs. Röhlich P, Szél Á, Dávid CS, Zádori A. **Manzano e Silva MJ**, Vigh B.: Comparative ultrastructure and cytochemistry of the avian pineal organ. *Micr Res Techn.* 2001, 53:12-24. *Impakt: 1,746*
15. Fejér Zs, Haldar C, Ghosh M, Cs. Frank L, Szepessy ZS. Szél Á, **Manzano e Silva MJ**. and Vigh B.: Pineal organ-like organization of the retina in megachiropteran bats. *Acta Biol Hung.* 2001. 52:17-27. *Impakt:0,291*
16. Vigh B, **Manzano e Silva MJ**, Rohlich P, Szel A.: Comparative fine structural organization and histochemistry of the pineal organ. In: Haldar C, Singaravel, M. and Maitra, S. K. (Eds.) *Treatise on pineal gland and melatonin.* Science Publishers, Enfield, 2001. / Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi, 2002. p.17-50
17. Vigh B, **Manzano e Silva MJ**, Zadori A, Frank CL, Lukats A, Röhlich P, Szel A.: Nonvisual photoreceptors of the deep brain, pineal organs and retina. *Histol Histopathol* 2002.17:555-590. *Impakt: 2,194*
18. C.L. Frank, C. Dávid, **M.J., Manzano e Silva** and B.Vigh: Cerebrospinal Fluid-Contacting Neurons May Convert Nonsynaptic Transmission to Synaptic One and/or To Hormonal Signal Transduction Proceedings of the 21st Conference of European Comparative Endocrinologists, Bonn, August 26-30, 2002. Monduzzi Editore, Bologna. Pp 203-206.
19. Frank, C.L., Dávid, C., Czirok, S., Vincze, C., **Manzano, M.J.**, Vigh, B.: Autonomic nerves terminating on smooth muscle cells of vessels in the pineal organ. *Clin. Neurosci.* 56/2, 19. 2003. *Impakt: 1,190*
20. Vigh B, **Manzano e Silva MJ**, Frank CL, David C, Lukats A, Szel A. (2003): Change in the control of the biological circadian rhythms during evolution. The role of the deep brain photoreceptors, pineal organs and retina. In: Csernus V, Mess B (eds) *Rhythmic biological processes. The role of the biological clocks.* Dialog Campus, Budapest, Pécs, p. 43-92.

21. Vigh B, **Manzano e Silva MJ**, Frank CS, Takács J, Szabó A, Lukács Á, Szel Á.: Fine structural and immunocytochemical comparison between pineal and retinal autonomic nerve endings and efferent fibers. FENS Forum Lisbon July 10-14 2004. Abstracts p. 360.
22. Vigh, B., **Manzano e Silva, M. J.**, Frank, C. L., Vince, C., Czirok, S. J., Szabo, A., Lukats, A. and Szel, A.: The system of cerebrospinal fluid contacting neurons. Its supposed role in the nonsynaptic signal transduction of the brain. *Histol Histopathol.* 19, 607-628. 2004.
23. Vigh, B., **Manzano e Silva, M. J.**, Frank, C. L., David, C., Czirok, S. J., Vincze, C., Racz, G., Lukats, A. and Szel, A.: The circumventricular organs of the brain: do they represent a cerebrospinal fluid dependent regulatory system? *Med Hypotheses Res.* 1, 77-100. 2004. *Impakt: 1,150*
24. David C, **Manzano e Silva MJ**, Vigh B, Magyar A, Szel A.: Blue light-sensitive molecules in the nonvisual photoreceptors regulating diurnal biological periods. Semi-Centennial Conference of Semmelweis University, Faculty of Pharmacy, Smart molecules for therapy Budapest, 12-14. Okt. 2005. Abstr. p. 20.
25. **Manzano e Silva, M.J.**, Vigh, B., David, C., Magyar, A. and Szel, A.: Role of the nonvisual photoreceptors in the regulation of diurnal biological periods. *Shiftwork Internat. Newsletter* 22, 103. 2005.
26. **Manzano e Silva MJ**, David C, Magyar A, Vigh B, Szel A.: Immunocytochemical localization of short wave-light-sensitive molecules in nonvisual photoreceptors. Can blue-light filtering reduce known pathological effects of night-illumination? 10th Conference of SRBR, Sandestin, May 21-25. 2006. Meeting Abstracts 132, p. 100.
27. David C, Czirok S, Vincze C, Szabo L, **Manzano e Silva MJ**, Vigh B, Szel A.: Cerebrospinal fluid-contacting neurons in the mammalian and human central nervous system. IBRO Workshop 26-28 January 2006. Budapest, *Clin. Neurosci. Abstr.* 18-19.
28. Vigh B, Czirok S, David C, **Manzano e Silva MJ**, Szel A.: Cerebrospinal fluid-contacting neurons bearing stereocilia: ultrastructural and immunocytochemical similarity to mechanoreceptors. *European Neuroscience*, Vienna 8-12 July 2006. Abstract Book p.367.
29. Vigh Béla, **Maria Joao Manzano**, Frank Cs. László, Dávid Csaba, Lukács Ákos, Szel Ágoston: Az életritmusokat a környezet megvilágításához igazító fényérzékszervek összehasonlítása gerinces állatokban és emberben. In: Csernus V., Mess B. (szerk): *Biológiai órák. Ritmikus biológiai folyamatok az élővilágban.* Akadémiai Kiadó, pp. 63-80. 2006.

30. B. Vigh, M. J. Manzano, C. David, A. Magyar and A. Szel.: The role of short wave-light sensitivity of pineal melatonin secretion in the pathological effects of night-illumination. National symposium on current trends in pineal research. 5-7 October, Raipur India, 2006.
31. Vigh B, *Manzano e Silva MJ*, Magyar A, Szél Á.: Filtered, short wave-free light may reduce health risks caused by low pineal melatonin secretion during night illumination. 4th Asia Oceania Conference on Photobiology 24-26 November, Varanasi India Proceedings Supplement, 2008.
32. *Manzano e Silva MJ*.: Pineal autonomic nerves of monkey terminating on vessels, their supposed role in melatonin secretion. Magyar Anatómus Társaság XV. Kongresszusa, Budapest 2009. jun. 11-13. Abstr. p. 56.
33. *Manzano e Silva MJ*, David C, Vigh B, Szel A.: Pathological effects of night illumination suppressing melatonin secretion. The role of the pineal organ and its autonomic nerves. 26th Conference for chronobiology, Vigo, Spain July 5-9. 2010. Abstract of papers pp.16-17.
34. *Manzano e Silva MJ*, Vigh B, David C, Szel A.: Light at night penetrating the skull and reaching the pineal organ in newborn and adult possibly results in pathologic effects by suppressing melatonin secretion. 20th Internat. Symp. on Shiftwork and Working Time. Stockholm, Sweden, June 28- Jul. 1. 2011. Abstract of Papers p. 89.
35. *Manzano e Silva MJ*, Sing R, Haldar Ch, Vigh B, Szél Á.: Peripheral autonomic nerves of human pineal organ terminate on vessels, their supposed role in the periodic secretion of pineal melatonin. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 2012. 120, 628-634. *Impact: 1,991*

Az összes publikáció kapcsolódik a disszertációhoz.

A publikációkat doktorandusz társszerzők nem használták fel.

Elsőszerzős cikkek

Manzano M.J., Fejér ZS, Debreceni K, Vigh B. (1996) Neural and hormonal efferentation of pinealocytes. *Cell Biol. Internatnl.* 20. 242. (**Impakt: 1,067**)

Manzano M.J., Vigh, B., David, C., Magyar, A., Szél, A. (2005) Role of the nonvisual photoreceptors in the regulation of diurnal biological periods. *Shiftwork Internat. Newsletter* 22, 103.

Manzano M.J., David C., Vigh B., Szél A.

Pathological effects of night illumination suppressing melatonin secretion. The role of pineal organ and its autonomic nerves. 26th Conference for chronobiology, Vigo, Spain July 5-9. 2010. Abstract of papers pp. 16-17.

Manzano M.J., Singh R., Haldar Ch., Vigh B., Szél Á. (2012) Peripheral autonomic nerves of human pineal organ terminate on vessels, their supposed role in the periodic secretion of pineal melatonin. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 120:628-634. (**Impakt: 1.991**)

A három legfontosabb cikk:

Manzano M.J., Vigh, B., David, C., Magyar, A., Szel, A. (2005). Role of the nonvisual photoreceptors in the regulation of diurnal biological periods. *Shiftwork Internat. Newsletter* 22, 103.

Manzano M.J., David, C., Magyar, A., Vigh, B., Szel, A. (2006). Immunocytochemical localisation of short wave-light-sensitive molecules in nonvisual photoreceptors. Can blue-light filtering reduce known pathological effects of night illumination? 10th Conference of SRBR, Sandestin. May 21-25. 2006. *Meetings Abstracts* 132, p. 100.

Manzano M.J., Singh R., Haldar Ch., Vigh B., Szél Á. (2012) Peripheral autonomic nerves of human pineal organ terminate on vessels, their supposed role in the periodic secretion of pineal melatonin. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 120:628-634.

Publikáció szám: 35

Össz impakt szám: 17.488

Elsőszerzős impakt szám: $1.991+1,067 = 3,52$

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki Oláh Imre és Szél Ágoston professzoroknak az intézet korábbi és jelenlegi vezetőjének akik mindvégig támogattak munkámban,

Prof. Vigh Bélának , témavezetőmnek,

Röhlich Pál professzornak és Magyar Attila adjunktusnak a dolgozat összeállításában nyújtott kritikai észrevételeiért és segítségéért,

a laboratóriumban dolgozott néhai Pál Margit asszisztensnőnek aki a hisztotechnikában nyújtott fontos segítséget,

valamint az intézet összes segítőkész munkatársának.