

**Myelinizáció vizsgálata normál és Down-szindrómás emberi
hippocampusban, valamint az egér központi
idegrendszerében**

Dr. Vincze András

Doktori értekezés (Ph.D.) tézisei

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Ábrahám Hajnalka egyetemi docens

Doktori Iskola és Program vezetője: Dr. Komoly Sámuel egyetemi tanár

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Általános Orvostudományi Kar

Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium



Pécs

2012

I. BEVEZETÉS

Oligodendroglia sejtek, myelinizáció

A központi idegrendszerben az oligodendroglia (OLG) sejt képezi és tartja fenn a myelinhüvelyt. Mori és Leblond elektronmikroszkóppal, világos, közepesen sötét (*intermedier*) és sötét fejlődési alakokra osztotta fel az OLG sejteket. A közepesen sötét OLG sejtek feladata a myelin képzése a fejlődő idegrendszerben. Az érett OLG sejtek felnőtt idegrendszerben az ott található OLG sejtek 90%-át teszik ki, feladatuk a myelin fenntartása. Számos fehérje játszik szerepet a myelinhüvely speciális szerkezetének kialakításában. A proteolipid protein (PLP) és a myelin bázikus protein (MBP) teszi ki a myelin összes fehérjéinek a 80%-át, melyek elengedhetelen funkciót töltenek be a myelin kompakcióban, a myelin lamellái közti távolság megtartásában.

Immunhisztokémiai vizsgálatok alapján az MBP mind a már myelint képző, mind a még nem myelinizáló OLG sejtekben megtalálható. Az MBP-immunhisztokémia lehetővé teszi a myelinizált axonok korai kimutatását, emellett alkalmas a demyelinizáció detektálására is. Nem ismert viszont, hogy az ontogenezis során a myelinizációban megjelenő és elektronmikroszkóppal elkülöníthető, különböző denzitású OLG sejtek expresszálnak-e MBP-t. Az MBP-immunhisztokémia kiváló módszer a myelinizáció és a demyelinizáció vizsgálatára emberi mintákon is, melyekben a postmortem elváltozások miatt nehéz a részleteket is megtartó elektronmikroszkópos preparátumokat készíteni. Az MBP-immunhisztokémia mellett a velőshüvely festésére a rutin patológiában a módosított Klüver-Barrera módszert, a *Luxol Fast Blue* (LFB) festést használják, ami egy sav-bázis reakción alapul és segítségével a magas lipoprotein tartalmú képletek láthatóvá válnak.

A myelinizáció szabályozásában számos, a sejtfelszínhez kötődő és a két sejt fizikai kapcsolatát kialakító faktor (pl. integrin $\beta 1$, neurális sejt adhéziós molekula (NCAM), notch, lingo-1, contactin), illetve különböző mediátor, ((adenozin trifoszfát (ATP), adenzin, leukémia inhibitoros faktor (LIF)), növekedési faktor ((trombocita eredetű növekedési faktor (PDGF), fibroblaszt növekedési faktor (FGF)) vesz részt, mely hatások eredőjeként alakul ki a myelinhüvely az ontogenezis folyamán.

A folyamatban növekedési faktorok mellett trófikus hatású polipeptidek is részt vesznek, mint pl. a hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP). A PACAP egy 38 aminosavból álló polipeptid, mely a szekretin/glukagon/vazoaktív intesztinális polipeptid (VIP) család tagja, melynek neuroprotektív szerepét számos vizsgálat bizonyította. A PACAP a PAC1, valamint VPAC1 és VPAC2 receptorokon keresztül fejti ki hatását. PACAP-

deficiens egerekben az állatok korai mortalitását, a cerebellum szemcsesejtjeinek késői differenciálódását, emelkedett apoptózisra való hajlamukat és a sérült axonok regenerációjának a késését mutatták ki.

Az ontogenezis során a PACAP myelinizációjára gyakorolt hatásairól korlátozott adataink vannak. Ismert, hogy az OLG prekursor sejtek expresszálják a polipeptid receptorait, valamint, hogy a PACAP *in vitro* sejt kultúrában stimulálja az OLG prekursor sejtek proliferációját, viszont késlelteti azok differenciálódását. Az azonban, hogy az endogén PACAP *in vivo* milyen hatással van a myelinizációra, még nem ismert.

Hippocampus anatómiája és kapcsolatrendszere

A hippocampus az archicortex része, mely két fő komponensre, az Ammon-szarvra és a gyrus dentatusra osztható. Az Ammon-szarv a CA1, CA2 és a CA3 régiót tartalmazza. Ezekben belül külön rétegben helyezkedik el a piramis típusú idegsejtek sejttestjeit tartalmazó piramissejt réteg, az ezen sejtek bazális dendritjeit tartalmazó oriens réteg, az axonokat tartalmazó alveus, valamint a piramissejtek apikális dendritjeit magába foglaló stratum radiatum és lacunosum-moleculare. A gyrus dentatus szemcsesejtjeinek sejttestje a granuláris rétegben helyezkedik el. A szemcsesejtek dendritjei a molekuláris rétegben találhatóak, axonjaik a gyrus dentatus hilusában és a CA3 régió piramissejtjeinek apikális dendritjein végződnek a stratum lucidumban. A hippocampussal szoros kapcsolatban lévő entorhinális kéreg valamennyi asszociációs agykérgi területről kap axonokat. Az entorhinális kéregből ered a hippocampus egyik legfontosabb bemenete, a perforáns pálya, melynek axonjai az entorhinális kéreg II. és III. rétegének idegsejtjeiből indulnak, és a gyrus dentatus szemcsesejtjeinek, valamint a stratum lacunosum-moleculare-ban a CA1 régió piramissejtjeinek a dendritjeivel szinaptizálnak. A szemcsesejtek axonjai, a hilus sejtjein, és főleg a CA3 régió piramissejtek apikális dendritjeivel szinaptizálnak. A CA3 régió piramissejtjeinek axon-kollaterálisai (Schaffer-kollaterális) a CA1 régió piramissejtjein végződnek. A perforáns pálya, a szemcsesejtektől a CA3 régió idegsejtjeihez futó moharost köteg és a Schaffer-kollaterális együttesen alkotja a hippocampus belső glutamáterg, izgató funkciót ellátó neuronális körét, a triszinaptikus kört. A CA1 régió piramis típusú neuronjai kapcsolatban állnak a subiculáris komplex idegsejtjeivel, és axonokat küldenek az entorhinális kéreg mélyebb rétegeiben (IV-V.) elhelyezkedő idegsejtjeihez.

A fornix a hippocampus fő bemenő és kimenő axonjait tartalmazza, melyek a hippocampust subcortikális struktúrákkal kötik össze. A hippocampus egyik lényeges subcortikális bemenete a septális idegsejtekből ered, melyek axonjai a fornixon keresztül érik

el a hippocampust. A septumban eredő kolinerg axonok a hippocampus valamennyi régiójának valamennyi rétegét beidegzik. Ugyanakkor a mediális septum GABAerg sejtjeiből eredő axonok specifikusan csak gátló idegsejteken végződnek a hippocampusban. A fornixon keresztül érkeznek a hippocampusba afferens axonok a bazális előagyi és hypothalamikus magvak felől is.

A hippocampus funkciója és szerepe egyes kórképekben

A hippocampus kiterjedt, kérgi és subcortikális agyi régiók felől érkező bemenetei, valamint saját, belső neuronális kapcsolatai révén hatékonyan vesz részt olyan alapvető kognitív folyamatokban, mint a tanulás és emlényomok rögzítése, vagy például a téri tájékozódás. Amnéziával kapcsolatos neuropszichológiai megfigyelések szerint a hippocampus kulcsszerepet játszik emberben egyes memórianyomok kialakításában és valószínűleg átmeneti tárolásában is. A téri tájékozódás és az ehhez szükséges vizuális memória mellett a hippocampus szerepe a verbális memóriaképzésben is ismert. Emberben a jobb oldali hippocampus főként a vizuális memóriában, a bal oldali a verbális memóriában játszik szerepet. A deklaratív memóriát tekintve bizonyos kérgi struktúrák (entorhinális-, perirhinális-, parahippocampalis kérgi részek) is elengedhetetlenek a memóriefunkciókhoz a hippocampus funkcionális épsége mellett. Abban az esetben, ha a hippocampus, a subiculum és az entorhinális kéreg mindkét oldalon sérült, súlyos anterográd amnézia alakul ki az időben gradált retrográd amnézia mellett. Nem meglepő tehát, hogy a rendkívül eltérő kóroki és az életkor különböző szakaszaiban keletkező hippocampalis károsodások (Down-szindróma, Alzheimer-kór, epilepsia) esetében közös jellemző a memóriazavar.

Az emberi hippocampus fejlődése

A hippocampus idegsejtjei az agykamra menti germinatív mátrixból származnak, és innen vándorolnak a későbbi rendeltetési helyükre. A gyrus dentatusba vándorló szemcsesejtek viszont a hilusba vándorolnak először, ahol visszanyerve osztódási potenciáljukat, egy másodlagos germinatív mátrixot alakítanak ki, majd újbóli osztódásuk után a szemcsesejtrétegbe vándorolnak. A 15. terhességi héten már megfigyelhetők a hippocampus egyes rétegei. A 22. terhességi héten jelentős számú osztódó idegsejtet már csak a hilusban látni. A szemcsesejtek és a GABAerg idegsejtek elhúzódo morfológiai és neurokémiai fejlődése az 5-8. életévig tart. Ezt alátámasztja, hogy a felnőttre jellemző, hippocampus-függő memóriaképzés nem jellemző 5-8. éves kor előtt. A hippocampus funkciója, a hippocampus belső neuronális körei mellett, erősen függ a más agyterületekről

beérkező afferens pályák érésétől. Ezek nagyrészt myelinizáltak, ezért a születés utáni myelinizáció jelentősen befolyásolja a struktúra funkcionális érését.

Ismert, hogy a myelinizáció az emberi agykéregben születés után lezajló folyamat. MBP-immunhisztokémiával myelinizált axonokat már a születéskor kimutattak a subiculáris komplexben, az entorhinális kéregben, az alveusban és a CA1 régióban, ami arra utal, hogy a perforáns pálya korán myelinizálódik. Jelenleg nincs adatunk a myelin megjelenésének az időpontjáról, valamint a myelinizáció folyamatáról és arról, hogy az mikor éri el a felnőttre jellemző szintet a hippocampus egyes rétegeiben.

Down-szindróma

A Down-szindróma, melynek oka a számfeletti 21-es kromoszóma (21-triszómia), a leggyakoribb genetikai megbetegedés (1/700-800 élve születés), mely mentális retardációhoz vezet. A betegek intelligencia hányadosa 20-80-as értékek között mozog. Később életminőségüket rontja, hogy Down-szindrómában 35 éves kor után gyakorlatilag valamennyi betegben megjelennek az Alzheimer-kórra jellemző plakkok, és állapotuk a kor előrehaladtával súlyosbodik.

A mentális retardáció pontos patogenezise nem ismert. Számos korai fejlődéssel foglalkozó szerző arra a következtetésre jutott, hogy nem sokkal születés előtt a Down-szindrómások agya nem különbözik lényegesen az egészségesekétől, nevezetesen, mindkét esetben megfelelő volt az agy alakja, súlya, a kérgi régiók aránya, a kisagy, agytörzs mérete, és az egyes neurotranszmitterek előfordulása is. Néhány tanulmány szerint, születés után számos kérgi struktúra térfogata kisebb az egészségesekénél, az egyes idegsejtek a kontrolloktól eltérő dendritfával, dendrittüskével, kevesebb, és abnormális szinapszissal jellemezhető. A hippocampus méretcsökkenésének egyik magyarázata lehet, hogy Down-szindrómában csökkent mértékű idegsejtképződést figyeltek meg az Ammon-szarv és a gyrus dentatus germinális rétegeiben.

A sejtképződés mellett az agy térfogatát az axonok és dendritek növekedése, érése, valamint a szinapszisképződés is jelentősen növeli. A hippocampus születés utáni növekedésében bizonyára szerepet játszik a myelinizáció folyamata is. A myelinizáció jelentősége az egészséges emberi agy funkcionális érése során ismert. Éppen ezért a myelinizációs zavarok fontos szerepet játszhatnak a hippocampus Down-szindrómásokban megfigyelhető térfogatcsökkenésében. Tekintettel a tünetegyüttes komplexitására, joggal feltételezhető, hogy több agyterület károsodása áll e genetikus kórkép tünetei mögött. A Down-szindrómára jellemző mentális retardáció része a memóriazavar, ezért feltételezhető,

hogy a hippocampus fejlődési és funkcionális zavara állhat emögött, beleértve a myelinizáció zavarát.

II. CÉLKITŰZÉSEK

1. Célunk volt a myelinizáció kimutatására használható számunkra legalkalmasabb morfológiai módszer kiválasztása, melyhez modellként az egéragy corpus callosumát (CC) használtuk.

2. Az endogén PACAP myelinizációra gyakorolt hatásának vizsgálatához a myelinizáció folyamatát PACAP-hiányos, és vad típusú egerekben hasonlítottuk össze.

3. Az emberi hippocampus myelinizációját, egyes rétegeiben az első OLG sejtek, valamint a myelinizált axonok megjelenését kívántuk vizsgálni.

4. Célunk volt továbbá a myelinizáció vizsgálata Down-szindrómában és az általunk találtak összehasonlítása a kontrollban megfigyelttel.

III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Felhasznált állatok

Kísérleteinkhez posztnatalis C57BL/6-os törzsbe tartozó hím, vad, és PACAP-deficiens egereket használtunk fel. Az egerek születésének napja a 0. napnak felelt meg. Az állatokat fényamikroszkópos vizsgálatra 4% paraformaldehid oldattal fixáltuk, majd agyukat paraffinba ágyasztuk, és 10 µm vastag metszeteket készítettünk. Elektronmikroszkópiára perfúziós fixáláshoz használt oldat 2,5%-os glutáraldehidet és 4% paraformaldehidet tartalmazott.

Emberi minták

Kontrollként összesen 10 magzat illetve koraszülött, 2 születés körüli újszülött (38-41 hetes) és 8 születés után elhunyt csecsemő, gyermek, fiatal, és felnőttből származó hippocampus szövetblokkot használtunk. Emellett 10 magzat illetve koraszülött, 10 születés után elhunyt csecsemő, gyermek illetve fiatal felnőtt Down-szindrómás emberből származó hippocampus szövetblokkját vizsgáltunk. A Down-szindróma prenatalis diagnózisát a PTE

ÁOK OEC Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján állították fel. Az autopszia a PTE ÁOK Pathológiai Intézetében és a Bécsi Orvostudományi Egyetem Neuropatológiai Intézetében történt. A szekció és a kutatás minden lépése a Magyar Egészségügyi Minisztérium, valamint a Helsinki Deklaráció ide vonatkozó pontjainak figyelembevételével történt. A szövetblokkokat formaldehiddel történt fixálás után paraffinba ágyasztuk, és 10 µm vastag metszeteket készítettünk, melyeken MBP-immunhisztokémiát végeztünk.

Luxol Fast Blue festés

A deparaffinálást követően, a festés *Luxol Fast Blue* (LFB) festék 0,1%-os oldatában történt, majd a metszeteket lítium-karbonát 0,05%-os oldatába helyeztük, majd 70%-os alkoholban differenciáltunk és xilolban mostunk. Krezil-ibolya háttérfestést alkalmaztunk.

MBP-immunhisztokémia

A deparaffinálás, rehidráció, és az antigén feltárása után a metszeteket 1%-os normál lószérum (Vector Laboratories, Burlingame, CA) oldatában inkubáltuk. Az elsődleges, monoclonális anti-MBP antitesttel (1:100, Novocastra, Newcastle upon Tyne, Egyesült Királyság) történő inkubáció után a specifikus kötődést biotinilált, másodlagos antitest, majd az avidin-biotin-peroxidáz komplex használatával tettük láthatóvá (Universal Vectastain ABC Elite Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA). Kromogénként 3,3'-diaminobenzidint (DAB) használtunk. Az immunfestés után Nissl háttérfestést alkalmaztunk.

Elektronmikroszkópia

Az egerek perfundálása után, a CC-ből 1 mm³ nagyságú szövetblokkot immerziós módon ozmium-tetroxid 1%-os oldatában utófixáltuk. A beágyazáshoz Durcupan gyantát (Sigma) használtunk, a metszeteket Leica ultramikrotómmal metszettük. A félvékony metszeteken toluidin-kék festést végeztünk. Az ultravékony metszeteket rácsos rézgridre vettük fel, majd az uranil acetáttal és ólom citráttal végzett kontrasztosítás után Jeol 1200EX-II típusú elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

MBP-denzitometria

Emberi hippocampus metszetein, melyen MBP-immunhisztokémiai módszert alkalmaztunk a gyrus dentatus molekuláris rétegében és hilusában, valamint az Ammon-szarv CA1-3 régiójának lacunosum-moleculare rétegében az AnalySIS szoftver segítségével

Olympus BX51 fénymikroszkóppal készített fekete-fehér digitális képeken megmértük az immunreakció intenzitását.

IV. EREDMÉNYEK

1. Myelinizáció vizsgálata fény- és elektronmikroszkópos módszerekkel az egér CC-ában

A 3. napon MBP-immunhisztokémiával néhány, nagyméretű ($13,3 \pm 1,73 \mu\text{m}$), rövid nyúlványokkal rendelkező OLG sejtet láttunk a CC-ban a septum (septális sík) és a hippocampus felett (hippocampális sík).

Az 5. napon már több, nagyméretű ($12,9 \pm 2,19 \mu\text{m}$) MBP-immunreaktív (IR) OLG sejt látszott a fronto-parietális érzőkéreg alatti CC septális és hippocampális síkjában.

A 7. napon számos, sok nyúlvánnyal rendelkező MBP-IR OLG sejteket ($12,1 \pm 1,77 \mu\text{m}$) láttunk a CC septális és hippocampális síkjában. Az OLG sejtek közelében MBP-IR axonokat láttunk a fronto-parietális érzőkéreg alatt és annak VI. rétegében. Megjelentek az első OLG sejtek a cinguláris kéreg alatt is. Elektronmikroszkópos módszerrel világos és közepes elektrondenzitású OLG sejteket láttunk a CC-ban, LFB festéssel azonban még nem láttunk a CC-ben myelinizációra utaló jelet.

A 10. napon számos, sok nyúlványos MBP-IR OLG sejtet és néhány myelinizált axont láttunk a septális síkban a fronto-parietális érzőkéreg alatti CC-ban. Az OLG sejtek átlagos átmérője $12 \pm 1,68 \mu\text{m}$ volt, ami nagyobb, mint a felnőttben mért érték. A sejtek mellett néhány myelinizált axont is észleltünk a cingulumban és a cinguláris kéreg mélyebb rétegeiben. Elektronmikroszkóppal közepes és sötét elektrondenzitású OLG sejteket láttunk a CC-ban, és több helyen megfigyeltük az OLG nyúlvánnyal körülvevett axonokat is.

Az első, LFB festéssel detektálható myelinizációt csak a 14. napon láttuk a fronto-parietális érzőkéreg alatti CC-ban, a cingulumban illetve a cinguláris kéreg mélyebb rétegeiben. Nagyszámú MBP-IR myelinizált axont láttunk a CC teljes medio-laterális keresztmetszetében. A myelinizált axonok mellett ritkábban OLG sejteket is láttunk, mely sejtek átlagos átmérője kisebb volt ($7,4 \pm 1,42 \mu\text{m}$), mint a fiatalabb állatokban. Nagyszámú, MBP-IR axont figyeltünk meg a cingulumban és kisebb számban az alveusban is. Elektronmikroszkóppal közepes és sötét denzitású OLG sejteket láttunk a CC-ban. Az axonok körül néhány myelin lamellából álló myelinhüvely volt látható.

A 28. napon, LFB festéssel erős, homogén festődést láttunk a CC-ban. MBP-immunhisztokémiával erős myelinizációt figyeltünk meg a teljes CC-ban, cingulumban és a

fimbria fornicisban. Elektronmikroszkóppal már számos, a felnőtt állatokra jellemző, kompaktálódott lemezekkel rendelkező myelinizált axont láttunk a CC-ban. Ultrastrukturális jellemzőik alapján ebben a korban már érettnak tekinthettük a legtöbb OLG sejtet.

2. Myelinizáció vizsgálata PACAP-deficiens egerekben

A. 3. illetve az 5. napon mindkét állatcsoportban láttunk MBP-IR OLG sejteket a CC-ban és kisebb számban a fimbria fornicisban is. Nem voltak MBP-IR OLG sejtek az agykéreg régióiban, és a hippocampus egyes régióiban.

A 8. napon megjelentek az első myelinizált axonok a CC ventro-laterális részén, de PACAP-deficiens egerekben több myelinizált axon volt, mint vad típusban. Az agykérgi régiók közül megjelentek az első myelinizált axonok a PACAP-deficiens egerek cinguláris kéregének V-VI. és szomatoszenzoros kéregének VI. rétegében. Emellett már erős myelinizációt láttunk a PACAP-deficiens egerek CC-ában, cingulumában és fimbria fornicisában, míg vad típusban myelinizációja gyengébb volt. A hippocampusban nem láttunk MBP-IR axonokat és OLG sejteket egyik csoportban sem.

A 10. napon sok myelinizált axont láttunk a PACAP-deficiens állatok CC-ában, valamint több agykérgi régióban figyeltünk meg myelinizált axonokat. A myelinizált axonok a cinguláris kéregben érték el a legfelületesebb réteget. Továbbá, a myelinizált rostok száma nagyobb volt, és felületesebb réteget értek el a PACAP-deficiens egerek minden kérgi területén, mint vad típusban. Erőteljes myelinizációt észleltünk a PACAP-deficiens egerek fimbria fornicisában, a hippocampusban a lacunosum-moleculare rétegben és az alveusban, valamint gyenge myelinizáció volt az oriens, a CA3 régió piramissejt és radiatum rétegeiben. Ezzel szemben gyenge immunreakciót láttunk a vad típus fimbria fornicisában, és csak néhány myelinizált axont az alveusban. Egyik csoportban sem láttunk myelinizált axont a gyrus dentatus rétegeiben.

A 21. napon felnőttre jellemző mértékű myelinizációt láttunk a PACAP-deficiens egerek CC-ának teljes kiterjedésében. Hasonló mértékű myelinizációt láttunk a vad típusú egerekben is, de csak a CC ventro-laterális részén. A CC dorso-mediális részén csak kevés MBP-IR axont figyeltünk meg. A PACAP-deficiens egerekben több MBP-immunpozitív axon volt a kéreg azonos rétegeiben, mint a vad típusban, Több myelinizált axont láttunk a PACAP-deficiens egerek entorhinális kérgében, mint vad típusban.

A 44. napon a CC és a motoros kéreg myelinizációja mindkét csoportban eléri a felnőttre jellemző mértéket. Több myelinizált axont figyeltünk meg PACAP-deficiens egerek cinguláris, entorhinális és érzőkéregében, mint a vad típusban.

A 60. napon mindkét csoportban a felnőttre jellemző mértékű myelinizációt és azonos myelin denzitást figyeltünk meg minden vizsgált területen. Ez alól csak az érzőkéreg kivétel, ahol a vad típusú egerekben kevesebb myelinizált axont láttunk, mint a PACAP-deficiens állatokban.

Annak érdekében, hogy igazoljuk azt, hogy azonos életkorokban, nem csupán az MBP mennyisége nagyobb a PACAP-deficiens állatokban, mint a vad-típusban, hanem több myelin is található bennük, LFB festést is végeztünk a születés utáni 10. és 15. napon, illetve 10 napos állatokat dolgoztunk fel elektronmikroszkópos vizsgálatokra. LFB festéssel a születés utáni 10 és 15 napos PACAP-deficiens egerek CC-ában intenzívebb myelin festődést láttunk, mint vad-típusban. Elektronmikroszkóppal 10 napos vad-típusú egerek CC-ában az OLG sejtek nyúlványa körülvevett néhány axont, de az axonok többsége nem myelinizált. Ezzel szemben PACAP-deficiens egerekben már számos, nagy átmérővel rendelkező, myelinizált axon volt a kisebb, nem myelinizált axonok között. Ezek az eredmények alátámasztják, hogy az MBP-immunhisztokémiával észlelt különbség a myelinizáció különbségére utal.

3. Myelinizáció az emberi hippocampusban

Myelinizáció magzati korban és a születés körüli időszakba kontrollban

A 20-22. héten megjelentek az első MBP-immunfestett OLG sejtek a fimbria fornicisban és az alveusban és elvéve az oriens rétegben. Ezek nagyméretűek, számos rövid sejtnyúlvánnyal rendelkeznek. Az ezt követő hetekben számuk emelkedett az alveusban és a stratum oriensben, valamint az első MBP-IR OLG sejtek is megjelentek a CA1 régió lacunosum-moleculare rétegében is. A 37. héten több MBP-IR OLG sejt volt a fimbria fornicisban, alveusban és a stratum oriensben, mint a magzati korban. Az MBP-immunfestett OLG sejtek körül megfigyeltünk kevés, vékony, myelinizált axont is, ami alapján a myelinizáció kezdetét a 37. hétre tehetjük a hippocampus fenti rétegeiben. Ebben a korban néhány OLG sejt is volt a CA1 régió stratum lacunosum-moleculare-ban, környezetükben pedig néhány, vékony, myelinizált axon. A korábbi életkorokhoz képest tovább emelkedett az MBP-immunfestett OLG sejtek és axonok száma a 39-41. héten a fimbria fornicisban és az alveusban, az Ammon-szarv CA1 régiójának lacunosum-moleculare rétegében. Megjelentek az első OLG sejtek és myelinizált axonok a CA3 régió lacunosum-moleculare rétegében. A fenti eredmények arra utalnak, hogy ebben az életkorban a perforáns pálya myelinizációja már megkezdődött, míg a fornixon érkező septális és más subcortikális afferensek 1-2 héttel korábban myelinizálódnak. Mivel ebben a korban a hippocampus piramissejt rétegében és

azok körül nincs immunoreaktivitás, nagyon valószínűtlen, hogy a hippocampális efferensek myelinizálódnak születés körül.

Myelinizáció magzati korban és a születés körüli időszakban Down-szindrómában

Hasonlóan a kontrollokhöz, az első MBP-IR OLG sejtek Down-szindrómában is a 20. terhességi héten jelentek meg a fimbria fornicisban, viszont nem láttunk MBP-immunpozitív OLG sejteket a 20-22. héten Down-szindrómában az alveusban, az Ammon-szarv CA3 régiójában és a CA1-ben sem. A 37. héten, a korábban látottakhoz képest tovább emelkedett az MBP-immunpozitív OLG sejtek száma a fimbria fornicisban és az alveusban. Az első MBP-IR axonok is megjelentek mindkét fent említett területen. Down szindrómában kisebb számban és rövidebb szakaszon láttunk myelinizált axonokat, mint kontrollban. Továbbá, az Ammon-szarv CA1-3 régiójának oriens rétegében kevesebb és rövidebb MBP-IR axont figyeltünk meg Down-szindrómában, mint kontrollban. Nem láttuk viszont MBP-IR OLG sejtet és myelinizált axont a stratum lacunosum-moleculare-ban Down szindrómában, pedig a kontrollokból már megtalálhatóak ebben az életkorban.

Myelinizáció a születés után kontrollban

Az életkor előrehaladtával a myelinizáció egyre nagyobb mértékű az alveusban, a stratum oriensben és a stratum lacunosum-moleculare-ban. A CA1-3 régió piramissejt rétegeiben viszont csak a 3. hónapban jelennek meg az első OLG sejtek és néhány, vékony, myelinizált axon. A CA3 régió mellett a CA1 régió radiatum rétegében, a gyrus dentatus hilusában, valamint a molekuláris rétegben is megjelentek az első OLG sejtek és myelinizált axonok. Az utóbbi rétegben viszont a réteg külső egyharmadára korlátozódtak az MBP-IR OLG sejtek és axonok. Az 5. hónapra a fent említett összes rétegben tovább emelkedett a myelinizált axonok száma. Nagyobb számban láttunk myelinizált axonokat a CA3 stratum radiatumban és piramissejt rétegében, mint a CA1 hasonló rétegeiben. Az OLG sejtek száma és a myelinizált axonok sűrűsége magasabb volt a hilusban, mint 3 hónapos korban. Egy éves kor körül a myelinizáció mértéke elérte a felnőttre jellemző szintet az alveusban és a fimbria fornicisban, míg más rétegek, mint pl. a gyrus dentatus molekuláris rétege, még mindig kevésbé myelinizáltak. A CA3 és a CA1 régió myelindenzitása között korábban megfigyelt különbség továbbra is megfigyelhető volt a stratum radiatumban és az Ammon-szarv piramissejt rétegeiben. A fenti rétegekben több myelinizált axont láttunk a CA3 régióban, mint a CA1-ben. A lacunosum-moleculare rétegben viszont a különbség fordított, ugyanis a myelinizált axonok denzitása nagyobb volt a CA1 régióban, mint a CA3-ban. A gyrus

dentatusban az első myelinizált axonok a molekuláris réteg belső egyharmadában jelentek meg a szemcsesejtréteg közvetlen szomszédságában. A 2. életévben a myelinizáció eléri a felnőttre jellemző mértéket a stratum lacunosum-moleculare-ban is. A CA3 stratum radiatumban és a piramissejt rétegben nagyobb immunreaktivitást láttunk, mint a CA1 hasonló rétegeiben. A gyrus dentatus molekuláris rétegében tovább emelkedett az OLG sejtek és a myelinizált axonok száma. A 8. életévben felnőttre jellemző myelinizáció volt a CA3 régió stratum radiatumban, az Ammon szarvban a stratum oriensben és a gyrus dentatus molekuláris rétegének külső kétharmadában. Ezzel szemben, a CA1 régió stratum radiatumában, az Ammon-szarv piramissejt rétegében és a gyrus dentatus hilusában kisebb myelindenzitást figyeltünk meg, mint felnőttekben. Tizenegy éves korban minden régióban felnőttre jellemző MBP-immunreaktivitást láttunk, kivéve a gyrus dentatus hilusát, melyben az MBP-immunreaktivitás még mindig nem érte el a felnőttben megfigyelhető mértéket. Ez alapján arra következtethetünk, hogy a myelinizáció korai serdülőkor után is zajlik még a hilusban.

Myelinizáció a születés után Down-szindrómában

A korábbi időpontokhoz képest emelkedett az MBP-immunpozitív OLG sejtek és myelinizált axonok száma a fimbria fornicisban, az alveusban és az oriens rétegben 2 hónapos korban Down-szindrómában. Az OLG sejtek morfológiáját tekintve nem láttunk különbséget az 1 hónapos kontroll csecsemő és a Down szindrómás csecsemő hippocampusában. Ugyanakkor, a kontrollhoz képest elmarad a myelinizáció Down-szindrómában. A CA1 stratum lacunosum-moleculare mellett a CA3 hasonló rétegében is láttunk MBP-IR axonokat mindkét csoportban, Down-szindrómában viszont kevesebbet, mint kontrollban. Mindkét csoportban a gyrus dentatus stratum moleculare-ban megjelentek az első MBP-IR OLG sejtek. Kontroll esetekben voltak myelinizált axonok a CA3 régió piramissejt rétegében is, Down-szindrómásokban viszont nem.

Az 5-6. hónapban Down-szindrómásokban megjelentek az első myelinizált axonok a hilus és a CA1-3 régió piramissejt rétegeiben. Kevesebb és rövidebb MBP-IR axont figyeltünk meg az Ammon-szarv piramissejt rétegének teljes hosszában, a stratum radiatumban és a gyrus dentatus hilusában, mint kontrollban. Az MBP-immunreaktivitás mindkét csoportban számottevően nagyobb volt a stratum moleculare külső egyharmadában, mint a középső harmadban. A születés utáni 8-11. hónapban erős, homogén MBP immunreaktivitást láttunk a fimbria fornicisban és az alveusban. A hippocampus további rétegei mindkét esetben kevésbé voltak myelinizáltak, és Down-szindrómásokban a

myelinizáció kisebb mértékű volt a kontrollhoz képest. Kevesebb MBP-IR axont figyeltünk meg a Down-szindrómások hilusában is, mint kontrollban.

A 2. életévben a CA1-3 régió oriens rétege is a felnőttre jellemző homogén MBP-immunfestődést mutatott a kontrollhoz hasonlóan Down szindrómában is. Kontroll esetekben az Ammon-szarv radiatum és piramiselt rétegének teljes hosszában, valamint a gyrus dentatus hilusában és a stratum moleculare-ban erősebb myelinizációt láttunk, mint Down-szindrómában. Nyolc-11 éves kor körül az Ammon-szarv egyes rétegei, valamint a gyrus dentatus rétegei Down szindrómában is elérik a felnőttre jellemző MBP-immunpozitivitást. Ez alól csak a hilus kivétel, ahol még mindkét csoportban kevesebb myelinizált axont láttunk, mint felnőttben. Továbbá, az MBP-immunreaktivitás kisebb volt a Down-szindrómás esetek hilusában, mint a kontrollban. A két csoport közötti fent leírt különbség felnőttkorban is megmaradt.

Az MBP-immunreakció denzitása

A hilusban megmért MBP-IR axonok denzitása korrelált az életkorral Down-szindrómásokban ($R=0,85$) és kontrollban ($R=0,7$) egyaránt. Az MBP-immunreaktivitás intenzitását a stratum moleculare-ban mérve a fejlődés során egészen fiatal felnőttkorig (23 év) a denzitás erőssége és az életkor között pozitív korrelációt figyeltünk meg Down-szindrómásokban ($R=0,73$) és kontrollban ($R=0,7$) is. Ezzel szemben csupán gyenge korrelációt mutatott a stratum lacunosum-moleculare denzitása az életkorral kontrollban ($R=0,27$) és Down-szindrómásokban ($R=0,35$) egyaránt.

V. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

1. Myelinizáció vizsgálata egerekben

Munkánk során a myelinizáció vizsgálatára egy hagyományos myelinfestést, az LFB festést, a myelin és OLG sejtek kimutatására alkalmas MBP-immunhisztokémiát és az elektronmikroszkópiát választottuk. Kimutattuk, hogy az MBP-immunhisztokémiával kapott fénymikroszkópos eredmények jól korrelálnak az elektronmikroszkópos eredményekkel. MBP-immunfestéssel az OLG sejtek és nyúlványaik már néhány nappal a myelinhüvely kialakítása előtt IR-ak. Születés utáni 3-10. napon az OLG sejtek átmérője nagyobb volt, mint a későbbi időpontokban, amely eredményeink egyeznek a korábban leírt eredményekkel. A sejtek mérete alapján a 12-13,3 μm átlagos átmérővel rendelkező MBP-IR OLG sejtek az elektronmikroszkóppal megfigyelhető, úgynevezett *intermedier* sejteknek felelnek meg. Korábbi munkák alapján valószínű, hogy az *intermedier* OLG sejtek már képesek

myelinhüvelyt képezni. Eredményeink ezt alátámasztják, hiszen ezek a sejtek már aktívan termelik az MBP-t, valamint valószínűleg más myelin fehérjéket is. A myelinizáció kezdeti elektronmikroszkópos jele, ahogy az OLG sejt néhány myelin lamellával lazán körülveszi az axont. Az első MBP-IR axonok megjelenése szorosan korrelál a myelinizáció fenti kezdeti jeleivel, melyeket elektronmikroszkópban láttunk. Megállapíthatjuk, hogy mivel az MBP-immunhisztokémia képes láthatóvá tenni olyan axonokat, melyek csupán 2-3 myelin lamellával borítottak, a módszer igen érzékeny és megfelelő eszköze a korai myelinizáció tanulmányozásának. Az MBP-immunhisztokémiával szemben LFB festéssel csak akkor láttunk myelin festődést, amikor már nagyszámú myelinizált axon számos lamellával rendelkezett egy adott területen. Következésképpen a myelinizáció tanulmányozására az MBP-immunhisztokémiát ajánljuk a LFB festés helyett.

Mindhárom módszerrel különbség mutatkozott egyes agyi területek myelinizációja között. A CC-ban az első OLG sejtek és myelinizált axonok az érzőkéreg alatt jelentek meg, melyet a cingulum myelinizációja követett. Eredményeink összhangban vannak az idegrendszer myelinizációjára felállított általános szabályokkal is, miszerint az érzőpályák a motoros pályák előtt myelinizálódnak, mely utóbbiak megelőzik az asszociációs pályák myelinizációját. Emellett megfigyeltük azt is, hogy az archicortex asszociációs pályái (pl. cingulum) korábban myelinizálódnak, mint a neocortex asszociációs pályái. A struktúra érése és a myelinizáció folyamata közötti összefüggés megfigyelhető a neocortexben, ahol a myelinizáció először a mélyebb (V-VI.) rétegekben történik

2. Myelinizáció vizsgálata PACAP-deficiens egerekben

Vizsgálataink során az MBP-immunhisztokémiát alkalmaztuk különböző fejlődési stádiumokban, melynek segítségével különbséget láttunk a PACAP-deficiens állatok és a vad-típusú egerek myelinizációja közt. A PACAP-deficiens egerekben jelentősen korábban kezdődött a myelinizáció folyamata az egyes régiókban, mint a vad-típusban. Az egyes agyi régiókat összehasonlítva egy adott korcsoportban nagyobb MBP-immunreaktivitást figyeltünk meg a PACAP-deficiens egerekben, mint a kontrollokban. Az immunhisztokémia önmagában viszont csak az MBP jelenlétéről ad információt. Ezért abban az életkorban, amikor már MBP-immunhisztokémiával is számottevő myelinizált axont, valamint jelentős különbséget láttunk a két csoport között, más, szintén a myelin kimutatását célzó módszert is alkalmaztunk. LFB festéssel szintén erősebb myelinizációt láttunk a PACAP-deficiens egerekben, mint vad-típusban, hasonlóan az MBP-immunhisztokémiával leírt eredményünkhöz. A fenti különbséget elektronmikroszkópia is megerősítette.

Megállapíthatjuk tehát, hogy a PACAP nem csupán az MBP mennyiségét csökkenti a myelinben, hanem gátolja a myelinizációt a fejlődés során.

A myelinizáció a PACAP-deficiens állatokban követte a vad-típusú egerekben látott myelinizációs mintázatot, tehát a szenzoros idegpályák a motoros pályák előtt myelinizálódtak, és a legkésőbb myelinizálódó pályák az asszociációs pályák voltak. Az agykéregben a myelinizáció folyamata mindkét csoportban követte az idegsejtek *inside-out* vándorlási és fejlődési mintázatát. Ezen megfigyeléseink arra utalnak, hogy a PACAP-deficiens egerekben a myelinizált afferens és efferens pályák, valamint az egyes agyterületeket összekötő kapcsolatok a normálisnak megfelelően fejlődnek.

Eredményeink arra mutatnak, hogy a PACAP *in vivo* is gátolja az OLG sejtek érését, következésképpen a myelinizáció kezdete és befejezésének ideje is kitolódik a polipeptid hatására. Ismert, hogy a myelinhüvely egyes fehérjekomponensei gátolják a központi idegrendszerben a sérült axonok regenerációját. Ezért az axonok növekedésének és a neuronok közti szinaptikus kapcsolatok kiépülésének a myelinizáció előtt kell megtörténnie. Ismert, hogy a PACAP elősegíti az axonális és dendritikus növekedést, valamint a dendritfa fejlődését. Logikus, hogy a PACAP-nak a myelinizáció kezdetét is késleltetnie kell ahhoz, hogy a fenti hatásait érvényesíteni tudja. A fentiekből arra következtethetünk, hogy a PACAP hiánya csökkenti az idegrendszer plaszticitását.

3. Myelinizáció az emberi hippocampusban

Az emberi hippocampus myelinizációja a terhesség félidejében (20. hét) kezdődik, és a születés után több évtizedik tart. A myelinizáció követi a hippocampus afferens, efferens pályáinak érését. Az első OLG sejteket és myelinizált axonokat a fimbria fornicisban figyeltük meg. A fornix afferens és efferens axon köteget tartalmaz, melyek a hippocampust kötik össze a hypothalamikus és a bazális előagyi magvakkal. A fenti két agyi régió a korán fejlődő agyi struktúrákhoz tartozik. Korai myelinizációt figyeltünk meg az alveusban, ahova subcortikális afferensek futnak, a septum, locus coeruleus, raphe-magvak és az elülső thalamikus magvak felől, melyek szintén korán fejlődnek. Továbbá, a korán fejlődő septális afferensek és az amygdala bazális magjának axonjai az Ammon-szarv stratum oriensében végződnek, ahol a myelinizáció már az utolsó trimeszterben megkezdődik. Myelinizált axonokat már a 37. héten láttunk a CA1 régió stratum lacunosum-moleculare-ban, ami utal a perforáns pálya korai myelinizációjára. Ugyanezen a területen korábbi kutatások az első szinapszisokat 15 hetes fetusban írták le, ami arra utal, hogy szinapszisok létesítését

mintegy 20 héttel követi a myelinizáció. A perforáns pálya emellett a szemcsesejtek dendritjein levő tüskékkel is alakít ki szinapszisokat. A gyrus dentatus stratum moleculareban csak későn, a születés utáni 3. hónap körül jelennek meg az első myelinizált axonok. Mivel a szemcsesejtek érése a perinatális időszakon túl is zajlik még, feltételezhetjük, hogy az afferens axonok myelinizációja függ a célsejtek érettségi állapotától. A hilusban levő myelinizált axonok a fornixon keresztül belépő afferenseiből származnak. Annak ellenére, hogy a fornixon belépő axonok eredő idegsejtjei korán differenciálódnak és érnek, az első myelinizált axonok csak viszonylag későn, születés után jelennek meg a hilusban. Ez szintén arra utal, hogy az afferens axonok myelinizációja az általuk beidegzett idegsejtek érésétől függ.

A septum és a hippocampus közötti reciprok kapcsolat fontos szerepet játszik a hippocampus működésében. Kolinerg és GABAerg típusú septális afferensek érkeznek a hippocampusba a mediális septumból. Korábbi adatok alapján ismert, hogy rágcsálókban a GABAerg axonok myelinizáltak. A fentiek miatt a hilusban látott myelinizáció -a locus coeruleusból és a raphe-magvakból érkező afferensek mellett- a septo-hippocampalis pálya GABAerg komponenséről szolgáltat információt. Mivel a GABAerg septális sejtek kizárólag a hippocampus gátló sejtjein végződnek, működésük a hippocampus serkentő sejtjeinek excitációjához vezet, ezért a mediális septumot a hippocampus pace-makerének is nevezik. Bármely idegpálya -így a septo-hippocampalis pálya- felnőttre jellemző vezetési sebességének eléréséhez megfelelő myelinizáció szükséges. A septo-hippocampalis pálya valószínűleg már születés előtt eléri a hilust, a myelinizáció viszont csak a születés utáni 3. hónapban kezdődik, ezért több hónapos késés lehet az axonok megjelenése, a szinapszisok kialakítása, és a myelinizáció kezdete között. A hilusban megfigyelhető késői myelinizáció, tekintve a septális GABAerg afferentáció funkcionális jelentőségét, megmagyarázhatja a hippocampus-függő memória kora-iskolás korra történő megjelenését. Mivel a myelin komponensei gátolják a neuronok axonjának növekedését és regenerációját, a myelinizáció késői megjelenése a gyrus dentatusban időt biztosít a megfelelő szinaptikus kapcsolatok kiépüléséhez, ha szükséges, átépüléséhez. A felnőttre jellemző MBP-immunreakció, ami különböző időpontokban figyelhető meg az Ammon-szarv egyes rétegeiben és a gyrus dentatusban, valószínűleg nem jelenti még a myelinizáció folyamatának a végét. Az MBP-immunreakció intenzitása fénymikroszkópban egy bizonyos myelinizált axon denzitás esetén elér egy maximális értéket, annak ellenére, hogy a myelin vastagsága tovább növekedhet. Ezért valószínű, hogy a myelinizáció a felnőttre jellemző MBP-immunfestés elérését

követően is tart. Ezt erősítik meg MRI tanulmányok, melyek alapján a hippocampus térfogata felnőttkorig folyamatosan nő, aminek oka a myelinizáció lehet.

4. Myelinizáció az emberi hippocampusban Down-szindrómában

Eredményeink arra utalnak, hogy Down-szindrómában szenvedőkben a hippocampus myelinizációja a kontrollhoz képest elmarad. Annak ellenére, hogy az OLG sejtek mindkét csoportban azonos időben jelentek meg, később a hippocampus minden rétegében kisebb mértékű myelinizációt figyeltünk meg a későbbiekben Down-szindrómásokban, mint a kontrollban. A legjelentősebb különbség a születés utáni időszakban volt. A fentihez hasonló különbségeket már más myelinfestési eljárásokkal (pl. Klüver-Barrera módszer) is megfigyeltek a fejlődő agykéreg szürke- és fehérállományában, a CC-ban, a putamenben, valamint a nucleus caudatusban. Immunhisztokémiával, Down-szindrómában elhunyt felnőtt emberi mintákban az egyes myelin specifikus fehérjék, mint pl. az MBP, vagy a 2'-3'-ciklikus nukleotid-3'-foszfodiészteráz (CNP-áz) expresszióját számos neocortikális és kéreg alatti struktúrában alacsonyabbnak találták, mint kontroll felnőttekben.

A felnőttre jellemző homogén intenzitás elérése után nem láttunk különbséget a két csoport között. Ez alól csak a hilus kivétel, ahol Down-szindrómásokban minden életkorban kisebb volt az MBP-immunreakció intenzitása, mint a kontrollban. Down-szindrómában szenvedőknél számos agyterületen, mint pl. a frontális, temporális, occipitális és parietális kéregben is megfigyeltek csökkent idegsejtszámot, mely alapján feltételezhető, hogy a septum verum mediális magjában is kevesebb idegsejt, ezáltal kevesebb, a hilushoz futó axon található a kontrollnál. A septo-hippocampalis pálya axonjainak csökkent száma és/vagy a septális neuronok axonjainak csökkent myelinizáltsága lehet az egyik oka a Down-szindrómásokban megfigyelhető mentális retardációnak.

VI. AZ ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Egérben végzett vizsgálataink során kimutattuk, hogy az MBP-immunhisztokémia, valamint az elektronmikroszkópia külön-külön, vagy kombinálva alkalmas és érzékeny módszer az OLG sejtekérésének, valamint a myelinizáció folyamatának a vizsgálatára. Ezzel szemben az LFB módszer kevésbé érzékeny. A kérgi területek közül a szenzoros pálya a motoros pályák előtt myelinizálódtak, megelőzve az asszociációs pályákat. Emellett az archicortex asszociációs pályái előbb myelinizálódtak, mint az agykéreg hasonló pályái. A

myelinizált axonok megjelenése az agykéregben megfelel az egyes rétegek idegsejteinek érési sorrendjének.

2. Megállapítottuk, hogy PACAP-deficiens egerekben minden vizsgált régióban hamarabb kezdődik a myelinizáció, mint a hasonló korú vad-típusú állatokban. Továbbá vékonyabb és rövidebb myelinizált axonokat és kisebb myelindenzitást láttunk a vad-típusú állatokban, mint a hasonló korú PACAP-deficiens egerekben. Eredményeink arra utalnak, hogy az endogén PACAP-nak gátló hatása lehet a myelinizáció folyamatára.

3. Az emberi hippocampusban végzett vizsgálataink során kimutattuk, hogy a hosszan tartó, egyes rétegekben (pl. hilus) egészen felnőttkorig elhúzódó myelinizáció lehet az egyik magyarázat a hippocampus hosszan tartó funkcionális érésére.

4. Az emberi hippocampus myelinizációja a kontrollhoz képest elmarad 21-triszómiában. A Down-szindrómában megfigyelhető mentális retardáció kialakulásában fontos szerepet tölthet be a hippocampus rétegeiben megfigyelt, a kontrollhoz képest kisebb mértékű myelinizáció.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, dr. Ábrahám Hajnalka egyetemi docensnek, aki munkámat irányította, mindvégig figyelemmel kísérte és hasznos tanácsokkal látott el. Köszönöm a PTE ÁOK Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium vezetőjének, dr. Seress László professzornak, hogy munkámat végezhettem a laboratóriumban és munkámban támogatott. Köszönettel tartozom a PTE ÁOK Neurológiai klinika vezetőjének, dr. Komoly Sámuel professzornak, aki az Idegtudományok Doktori Iskola vezetőjeként lehetővé tette és támogatta doktori munkámat az Iskolában. Szeretnék köszönetet mondani dr. Mázló Máriának, aki a PTE ÁOK Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium nyugalmazott vezetőjeként pályámon elindított. Köszönöm dr. Herbert Budka és dr. Kovács Gábor professzornak, hogy lehetővé tették a Bécsi Orvostudományi Egyetem Neurológiai Intézetében megtalálható Down-szindrómás emberi metszetek felhasználását. Köszönöm dr. Reglődi Dóra és dr. Helyes Zsuzsanna egyetemi docenseknek, hogy biztosították számomra, hogy a PACAP-deficiens egereket dolgozhassam. Szeretnék köszönetet mondani Papp Emesének az immunhisztokémiában, dr. Lórándné Mishley Juditnak és Domján Gábornének az elektronmikroszkópos metszetek készítésében nyújtott segítségükért. Köszönöm Dolgos Bélának az elektronmikroszkóp használatának és dr. Ács Péternek a Luxol Fast Blue festés technikai hátterének elsajátításában nyújtott segítségét. Végül, de nem utolsó sorban köszönöm szüleimnek és közeli barátaimnak támogatásukat, és megértésüket.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Vincze A, Mázló M, Seress L, Komoly S, Ábrahám H. A correlative light and electron microscopic study of postnatal myelination in the murine corpus callosum. *Int. J. Dev. Neuroscience*. 2008. 26:575-584. IF: 1.869
2. Ábrahám H, Vincze A, Jewgenow I, Veszprémi B, Kravják A, Gömöri E, Seress L. Myelination in the human hippocampal formation from midgestation to adulthood. *Int. J. Dev. Neurosci*. 2010. 28:401-410. IF: 1.938
3. Vincze A, Reglődi D, Helyes Zs, Hashimoto H, Shintai N, Ábrahám H. The role of endogenous PACAP on myelination in the rodent brain. Lessons from PACAP deficient mice. *Int. J. Dev. Neurosci*. 2011. 29 :923-935. IF: 1.938 (2010)
4. Ábrahám H, Vincze A, Veszprémi B, Kravják A, Gömöri E, Kovács GG, Seress L. Impaired myelination of the human hippocampal formation in Down-syndrome. 2011. [doi:10.1016/j.ijdevneu.2011.11.005](https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2011.11.005) IF: 1.938 (2010)

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT NEM KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

1. Kasza G, Kollár L, Róth E, Vincze A, Gömöri É. Histological examination of vascular lesions resulting from stent implantation in humans and in comparative experimental animal model. *Acta. Biologica. Hungarica*. 2011. (Közlésre elfogadva) IF: 0.793 (2010)
2. Vincze A, Kapás I, Molnár MJ, Kovacs GG. Clinicopathological variability in neurodegeneration with brain iron accumulation. *Ideggyógy. Sz.* 2010. 63:129-35.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁBAN KÉSZÜLT KONFERENCIA ABSZTRAKTOK

1. Vincze A, Mária M, Seress L, Komoly S, Ábrahám H. Comparative study of myelination in the developing murine corpus callosum using immunohistochemistry, electron microscopy and conventional myelin staining. IBRO International Workshop, Debrecen, 2008. január 24-26. Abstract: *Ideggyógy. Sz.* 2008. 61(S1): 69. old.
2. Vincze A, Veszprémi B, Kravják A, Gömöri É, Seress L, Ábrahám H. Myelination in the developing human hippocampal formation. Magyar Idegtudományi társaság XII. konferenciája, Budapest, 2009. január 22-24. Abstract: *Front. Syst. Neurosci.* doi: 10.3389 / conf.neuro. 01.2009.04.081
3. Vincze A, Kravják A, Veszprémi B, Seress L, Ábrahám H. Myelination of the human hippocampal formation in Down-syndrome. IBRO International Workshop, Pécs, 2010. január 21-23. Abstract: *Front. Neurosci.* doi: 10.3389/conf.fnins.2010.10.00018
4. Vincze A, Reglődi D, Helyes Zs, Hashimoto H, Shintani N, Ábrahám H. Myelination in the pituitary adenylate cyclase activating polipeptid (PACAP) deficient mice.

5. Magyar Idegtudományi Társaság XIII. konferenciája, Budapest, 2011. január 20-22.
Abstract: Front. Syst. Neurosci. (megjelenés alatt)
6. Vincze A, Reglódi D, Helyes Zs, Hashimoto H, Shintani N, Ábrahám H. Az endogén PACAP szerepe a központi idegrendszer myelinizációjában PACAP-deficiens egérben végzett vizsgálatok alapján Magyar Anatómiai Társaság konferenciája, Pécs, 2011. június 20-22.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT NEM KÉPEZŐ KONFERENCIA ABSZTRAKTOK

1. Vincze A, Budka H, Kovács GG. Correlation of taupathy and alpha-synucleinopathy with tissue lesioning in neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA). XVIIth International Congress of Neuropathology, Ausztria, Salzburg, 2010. szeptember 11-15. Brain. Pathology. 20(S1): 45.

Kumulatív impakt faktor (absztraktok nélkül): 8,476

Független citációk száma: 10