

Válasz Dr. Seress László Opponensi véleményére, amit Maglóczky Zsófia akadémiai doktori értekezéséhez készített

Hálás vagyok Seress professzor úrnak, amiért időt szakított értekezésem elolvasására és értékelésére, részletes kérdéseit és tanácsait köszönöm. Válaszom kérdéseire és kifogásaira:

Nem akarok sok szót szaporítani az értekezés stílusára, írásmódjára és szerkesztésére vonatkozóan, mert ez az értekezés még egyszer már nem készülhet el, így nem korrigálható. De nem lehet szótlannul elmenni a betűelütések, szóismétlések, felesleges vagy hiányzó zárójelek garmadája mellett, mert túl sok van. Különösen a 70 és 90 oldalak között feltűnő a sok hiba, talán szerző itt volt a holtponton az értekezés írása során. Az ábráknál és táblázatoknál az a megoldás, hogy az ábramagyarázat rendszeresen az ábra előtt vagy az azt következő oldalon van, még hagyján, de hogy a táblázatok elvágva két oldalra kerüljenek ez már szerkesztési hiba. Az pedig, hogy az ábrának csak a kerete került az értekezésbe, már alacsonyabb tudományos fokozatért írt értekezésnél is erélyes szemöldök felvonást eredményezne.

Elnézést kérek az értekezésben előforduló tördelési hibákért, és nagyon sajnálom a számos elütést.

A hiányzó ábrával kapcsolatban nem mentegetődzésképpen, hanem okulásul említtem meg, hogy az összes ábra megvan az általam készített world dokumentumban, és a hiányzó ábra a pdf formátumba való átalakítás során tűnt el, amit nem ellenőriztem, mert nem is gyanítottam, hogy a pusztán pdf-konverzió okozhat ilyesmit. Elnézést kérek érte.

Ugyanitt és a későbbiek során is a Cornu Ammonis (a napistent, Amon Re-t, jelképező kos szarva, hiszen akármilyen szarv mégsem lehet az agyban !!) megérdemelte volna a nagy betűkkel írást, hiszen a CA 1-3 elnevezés innen adódik. Tudom, hogy angol irodalomban mindkét szót is szokták kis betűvel írni (cornu ammonis), de miért kell a rossz példát követni?

A legtöbb általam olvasott forrásban úgy szerepel a Cornu Ammonis írása, ahogyan a dolgozatban is írtam, ezért használtam így. Több forrást is ellenőriztem, és csupa kisbetűvel, csupa nagybetűvel, valamint kis c-vel, nagy A-val írva is előfordul, nincs konszenzus ennek a régióknak a „helyes” leírásával kapcsolatban. A jövőben megfogadom a bíráló javaslatát.

Maga Lorente de Nó is nagy betűkkel írta le közleményében (1934), ahol a CA1-4 felosztást bevezeti. Amaral érdeme, hogy ezt CA1-3 és hilusra módosította 1978-ban megjelent közleményében (Amaral DG, 1978, JCN). Seress (1988) már csak elfogadta ezt a felosztást és a főemlős agyra is alkalmazta, majomokban és emberben is. Így a nevezéktan említésénél a Bevezetésben nem korrekt utóbbiakat egy sorban említeni Lorente de Nó-val.

Azért írtam le a CA1-4-es nevezéktant is, mert számos forrás, különösen az általunk és sok klinikus által gyakran forgatott Duvernoy könyv (Duvernoy, 1998) így használja. Mi magunk az Amaral-féle nevezéktan Seress László-féle alkalmazását használjuk valamennyi cikkünkben, és a dolgozatban is ezt használtam.

Más spanyol kutatók akik személyesen is ismerték, soha nem említik, vagy referálják a nevét másként mint Lorente vagy Lorente de Nó, de csupán Nó a spanyol szakmabeliek szerint teljesen értelmetlennek tűnik. Szerző nem lehetett olyan baráti viszonyban Lorente de Nóval, hogy egy teljesen egyéni megnevezést alkalmazzon. Miután a referencia jegyzékben is így szerepel (118. oldal) kénytelen vagyok szóvá tenni.

Elnézést kérek Lorente de Nó nevének helytelen idézéséért.

Nem értek egyet a CA3c és a hilus viszonyában a polymorph réteg elnevezés használatával. Duvernoy, az általa polymorph rétegnek nevezett struktúra alatt a szemcses sejtek alatt húzóódó szubgranuláris réteget értette (lásd. Duvernoy 1988 Springer kiadás 19 oldal, 5B ábra) valószínű azért, mert Ramon y Cajal is használta erre a területre a polymorph réteg elnevezést. Viszont ők nem használták (mert nem is ismerhették) a gyrus dentatus vonatkozásában a hilus elnevezést. A polymorph réteg viszont semmiképpen nem szinonímája a CA3/c területnek. Az endfolium sclerosis-ban tehát a CA3c + a hilus sejtei pusztulnak, de CA4+ polymorph réteg csupán a hilust jelenti, mert Lorente de Nó az Ammon szarv CA3 a,b,c területe mellett írta le a CA4 területét. Úgy találtam, hogy az értekezésben a CA1 terület és az endfolium sclerosis is helyesen van ábrázolva és értelmezve, csak a klasszikus leírások említésénél szerző kissé belekeveredett a rétegekbe.

Azért nem értem ezt a kritikát, mert teljesen egyetértek a bírálóval, és semmi olyasmit nem írtam a dolgozatban, hogy a polymorph réteg a hilus szinonímája. Az általam birtokolt 1998-as kiadású Duvernoy könyvben a 7. ábra (Duvernoy, 1998) tökéletesen ábrázolja azt, amit a dolgozatban leírtam, hogy a CA4+polimorph réteg megfelel a hilus+CA3c régióknak, mint együttes, de külön-külön a részek nem felelnek meg egymásnak.

Nem keveredtem bele a rétegekbe, csak bemutattam a Duvernoy (1998) könyv alternatív nevezéktanát, mivel sokan használják, és azt akartam, lássák, hogy miben különbözik attól, amit mi használunk. Nem tartom kizártnak, hogy a Duvernoy könyv 1988-as és 1998-as kiadása közti különbségből adódnak a bíráló kifogásai, de ismételten hangsúlyozom, hogy mi is minden cikkünkben, és ebben a dolgozatban is az Amaral-féle nevezéktant használtuk/használtam.

Egyes állítások mellé szerencsés lett volna több helyen referenciák megadása. Például a 20. oldalon a következő mondatnál, hogy „míg a parvalbumin (PV) tartalmú

interneuronokat munkánk megkezdése előtt egyesek (??) nagyon érzékenynek találták epilepsziára, míg mások (??) megőrződésről számoltak be. Itt pl. említhetném deFelippe 2007-ben megjelent közleményét ahol még az absztraktban is kiemelik, hogy a világon először ők írták le a parvalbumin tartalmazó neuronok megőrzöttségét epilepsziában (Andrioli és mtsai, Neuroscience, 149, 131-41, 2007). Addig, amíg a Blümcke csoport munkáival szerző konfrontálódik, a parvalbumin tartalmú neuronokkal és a kosársejtekkel foglalkozó deFelippe és Sloviter féle csoportok eredményeit nem hasonlítja hasonló határozottsággal a saját eredményeihez. Ezt a Bevezetésben és a Megbeszélés fejezetekben is hiányolom és talán néhány mondat erejéig a szabad előadásba érdemes lenne belefűzni.

Az Andrioli cikk (Andrioli és mtsai, 2007) abstractjában az van, hogy ők írták le először, hogy nincs összefüggés a teljes neuron pusztulás és a PV-ir sejtek számának csökkenése között: „...we show for the first time that there is no correlation between total neuronal loss and PV-ir neuronal loss in any of the hippocampal fields.” Ők is csökkenést találtak a PV-tartalmú sejtek számában (Fig 3: „Note the general reduction of PV-immunostaining in both the DG and the CA fields of the epileptic patient.”).

Sloviter munkacsoportja a sejtek számának csökkenéséről ír a szklerotikus mintákban, míg hangsúlyozza a megőrzöttségüket tumoros epilepsziás betegekben, sőt „Dormant basket cell” hipotézisét arra alapozza, hogy a sejtek funkcionálisan nem aktívak, de maguk a sejtek megőrződnek (Sloviter és mtsai, 1991). Ezzel kapcsolatban nincs ellentmondás a szakirodalomban, a mi eredményeink is a PV-immunfestett sejtek számának csökkenését mutatták emberben (Wittner és mtsai, 2001; Wittner és mtsai, 2005) is és modellben (Magloczky és Freund, 1993) is, az alapmegfigyeléssel nem konfrontálódtunk. A PV-immunfestett sejtek számának fénymikroszkóppal vizsgált csökkenéséből viszont sokan vonták le azt a következtetést, hogy a talált sejtszám csökkenés a periszomatikus gátlósejtek eltűnését jelenti, ezzel együtt a periszomatikus gátlás gyengülését (van Vliet és mtsai, 2004; Williamson és mtsai, 1999; Zhu és mtsai, 1997), és ez lehet az epilepsziás rohamok kialakulásának „oka” (DeFelipe és mtsai, 1993; Marco és mtsai, 1997). Ezzel konfrontálódtunk, és erről több cikkünkben is írtunk, és ez az értekezésem egyik alaptézise is, hogy a periszomatikus gátlósejtek nem tűnnek el, kivéve a szklerotikus CA1 régiót, csak a PV-t nem lehet immunfestéssel kimutatni bennük valószínűleg a parvalbumin konformáció változása miatt (Johansen és mtsai, 1990; Scotti és mtsai, 1997). Cossart és munkatársai fiziológiai mérésekkel is bizonyították, hogy a dendritikus gátlás csökken epilepsziában, de a periszomatikus nem (Cossart és mtsai, 2001). Alapmegfigyelésünk, hogy a PV-immunfestett sejtek száma csökken, nem volt ellentmondásban a többi kutató megfigyelésével. CR-immunfestett sejtekkel kapcsolatos adataink viszont ellentétben álltak Blümcke csoportjának adataival. Ezért foglalkoztunk azzal többet.

Felvetődik a kérdés, hogy vajon az axo-axonikus sejtek rezisztensebbek lennének az epilepsziás károsodásra, mint a kosársejtek? Vagy esetleg a sprouting érvényes a kosársejtek axonjára is, és ezért van több szinapszis az axon iniciális szegmentumon, valamint tüskéken?

A feltett kérdést csak töltött sejt esetén lehetne pontosan megválaszolni. Adataink arra utalnak, hogy az epilepsziás betegekből származó gyrus dentatusban jelen lévő sűrű axonhálózat kosársejtektől és axo-axonikus sejtektől keverten származik, mégis, csak az iniciális szegmentumokon találtunk megnövekedett szinaptikus borítottságot. Én azt tartom valószínűnek, hogy az axo-axonikus sejtek axonja sarjadzik, de adatok hiányában nem tudom megmondani, mi történik a kosársejtek axonjaival.

Mi az oka a négy illetve hatszoros szórásnak a PV immunreaktív axonterminálisok posztzinaptikus elemeinek gyakoriságában dendrit tüskéken (7. táblázat)? Kontrollban 2.2-12.2%, Epilepsziában 4.2-16.4 %. Lehet, hogy PV-pozitív tükseszinapszisok csak a dendrit egy bizonyos szakaszán vannak, ezért ha egy másik anyagban egy sejttesttől távolabb eső dendritszakaszt vizsgáltak akkor jóval kevesebb lett a szinapszisok száma? Az axon iniciális szegmentumon talált relatíve állandó érték ezt sugallja.

Minden esetben a strata granulosum+moleculare teljes kiterjedéséből történt a mintavétel, így a különböző dendritszakaszok mintavétele nem lehet a szórás oka. Valószínűbb, hogy a szórást a tüskék mennyiségének egyes alanyok közötti változékonysága okozza. Epilepsziás rohamok hatására képződhetnek/pusztulhatnak tüskék (Represa és mtsai, 1993) (Renier és mtsai, 1988; Swann és mtsai, 2000), és kísérleti patkányokon megfigyelték, hogy ingerszegény-ingergazdag környezet, valamint öregedés hatására is megváltozhat a fősejtek tüskézettsége (Rasin és mtsai, 2011; Schrott, 1997). Ezért a szórást az alanyok életmódbeli, életkorbeli és epilepszia megnyilvánulás közti eltéréseinek tartom.

Lényegében a stiláris hibák egy szép példája a 67. oldalon a „hiláris CB-pozitív interneuronok bemenete..” Az elefánt bemegy az oroszlan barlangjába, de az afferens axon nem megy be a célsejtbe. Tudom, hogy ez bevett laboratóriumi zsargon, de nincs helye egy doktori értekezésben.

Általánosságban elfogadom és megfogadom a bírálók stiláris gyengeségeimre adott tanácsait, de a „bemenet” szóval kapcsolatban nem értek egyet a bírálóval. Ezt a szót a magyar szaknyelv befogadta. Példaként idézek két magyar nyelven megjelent tudományos publikációt és két tankönyvet, ahol a bemenet szó előfordul. Ez a szó rövid, pontos, közérthető, és magyarul van. Nem csak a laboratóriumi zsargonban mondják, de közleményekben is leírják, sőt így is tanítják, és mivel egy mindenki számára érthető magyar kifejezés, én támogatom a használatát.

Fonyó Attila: Az orvosi élettan tankönyve, Medicina Könyvkiadó ZRT. Budapest, 2011.

„Az entorhinalis kéreg a sorban következő struktúra, a hippocampus fő bemenete, innen kerül az információ a gyrus dentatushoz, a hippocampus CA3 és CA1 mezőjéhez és a subiculumhoz.” VII. Rész, Idegrendszeri működések, 666. oldal

Orvosi pszichológia tankönyv 2003 (Szerk. Kopp, M., Berghammer, R.)

„A gátlás részben a talamusz és a kéreg közötti kölcsönhatás eredménye, ami gátolja az érzékszervi bemenetet, illetve annak feldolgozását.” 40. o.

Somogyi Péter: Szentágothai kandelábersejtje rávilágít tudatunkra és az agykéregről való ismereteink korlátaira. Magyar Tudomány, 2012/11. 1322-1339.; 1324. oldal

„A továbbhaladás érdekében jelenlegi munkahipotézisem, hogy az egy sejtípushoz tartozó egyedi sejtek - a biológiai variabilitás és a neuronális plaszticitás (képlékenység, alakíthatóság) határain belül - az agy egy adott állapotában hasonló bemeneti jelkombinációkat hasonló kimeneti jelkombinációkká transzformálnak.”

Lendvai Balázs: Kétfoton pásztázó lézermikroszkópia Modern képalkotó eljárások a gyógyszerhatások vizsgálatában. Természet Világa, Szakmai Különszám, 2007. január 12.

<http://www.termeszetvilaga.hu/szamok/kulonszamok/k0602/lendvai.html>

„A kétfoton-mikroszkópos képeken a legapróbb elemi egységek: a nyúlványok (dendritek: a más sejtektől érkező információk fogadására - ezek a sejt adatbemenetét jelentik), a dendritek kitüremkedései, a tüskék és az axonok (a sejt más sejtek felé küldött nyúlványai - a kimenetek) varikózus tágulatai jól kivehetőek és bennük az élettani változások vizsgálhatóak (1-2. ábra).”

A 11. ábra minősége gyenge. Talán a kicsinyítésből adódik, hogy az ábrázolandó részleteket inkább sejteni lehet, mint látni. Jobb a 12. ábra, de a D ábrán semmi nem utal arra, hogy ez egy moha terminális, még a mérete sem. Nem vonom kétségbe, hogy szerző azonosított moha terminálisokat a hiláris nagy CB-pozitív sejteken, ezért javaslom, hogy egy meggyőző ábrát mutasson az előadásban.

Elnézést kérek a kicsinyítés miatt rossz minőségű képért. Az ábrán egy CB-immunpozitív, aszimmetrikus szinapszist adó terminális van. Kisméretű mohaterminálisok is előfordulnak epilepsziás gyrus dentatusban (Isokawa és mtsai, 1993).

IV./3.2.2 fejezet: „Az SPR –t expresszázó sejtek általános jellemzői”

A fejezetben a 73. oldal 11-12. soraiban egy súlyos elírás ill. téves információ szerepel, a Substance P, vagy P-anyaggal kapcsolatban, amennyiben: „Az agyban neurotranszmitterként és neuromodulátorként is funkcionál, többnyire (sic) glutamáttal fordul elő, és serkenit (sic) az idegsejteket”. A P anyagról valóban feltételezték, sőt a periférián bizonyították, hogy serkentő hatású neuromodulátor, de számos kísérleti állatban, valamint a majom (Seress és Léránth, 1996) és az ember (Del Fiacco és Quartu, 1989) hippocampusában leírták, hogy P anyag kizárólag a GABAerg interneuronokban van és szimmetrikus szinapszisokban található meg.

A szemcsesejtek, melyeknek transzmittere a glutamát tartalmaz GABA-t is majomban és emberben, de P anyagot nem. Lehet, hogy valahol az agyban van Substance P tartalmú glutamaterg sejt, de a hippocampusban nincs, és a disszertáció a hippocampusról szól. Az is nyilvánvaló, hogy a SPR jó szemmel észrevett markere a különböző GABAerg sejteknek, de nincs köze a Substance P tartalomhoz.

Az a mondat, hogy: „Az agyban neurotranszmitterként és neuromodulátorként is funkcionál, többnyire (sic) glutamáttal fordul elő, és serkenit (sic) az idegsejteket” nem tartalmaz tévedést, mivel az AGYBAN az SP valóban előfordul glutamáttal együtt (Gregg és Siegel, 2001; Hokfelt és mtsai, 2000), például a supramammilláris magban, ahonnan a hippocampus fő SP tartalmú bemenetét kapja (Borhegyi és Léránth, 1997) (Léránth és Nitsch, 1994). Ez a mondat nem a hippocampusról szól, hanem általános bevezetés a P anyagról, amit nem csak a hippocampusban előforduló, receptorát expresszázó sejtek, hanem a hippocampus SP bemenete szempontjából is vizsgáltunk.

Az SPR tartalmú sejtek Substance P tartalmú sejtek által történő beidegzésének kimutatása valóban nem egyszerű feladat, mert az SP tartalmú sejteket és terminálisaikat leginkább csak acrolein fixálás után tudtuk kimutatni majomban is fény – és elektronmikroszkóppal (Seress és Léránth, 1996). Erre emberben nincs lehetőség. Így IV./3.2.2.4. fejezet címe félrevezető: „Az SPR tartalmú sejtek SP tartalmú *bemenete*”, mert igazából az SP-t nem tudta szerző kimutatni. Amit itt leír, az a supramammilláris pálya epilepsziás reorganizációja, ami ugyancsak fontos információ. Miután a szupramammilláris pálya a hippocampus egyik fő szubkortikális bemenete ez legalább olyan fontos, mint egy sejt elem számbeli és morfológiai változása.

Majomban kimutatták, hogy a supramammilláris pálya sejtjei SP-t és CR-t tartalmaznak (Léránth és Nitsch, 1994; Nitsch és Léránth, 1993). Ezért én relevánsnak tartom a fejezetcímet, mert valóban a hippocampus legnagyobb külső SP forrásának reorganizációja történik epilepsziás hippocampusokban.

A 98. oldalon szerző leírja, hogy PV-pozitív sejteken végződnek PV-pozitív axon terminálisok. Kérdésem, hogy PV-pozitív axon iniciális szegmentumon találtak-e PV-pozitív axon terminálist?

Nem. PV-tartalmú sejt axon iniciális szegmentumán nem találtunk PV-immunpozitív terminálist, de csak kevés sejtet vizsgáltunk meg. Nagy számban vizsgáltuk viszont a PV-immunpozitív axonterminálisok célelemeit, és közöttük sem volt soha PV-immunpozitív axon iniciális szegmentum.

Van egy számomra ellentmondásos adat a 13. és 15. Táblázatokban. A 13. Táblázat azt mutatja, hogy a PV-pozitív axon terminálisok szinaptikus célelemei között a kontrollban 14.5%-ban az epilepsziásban 28%-ban szerepel axon-iniciális szegmentum. A 15. Táblázat azt mutatja, hogy a CA1 piramissejtek axon iniciális szegmentumán hasonló arányban vannak gátló szinapszisok és ezekből hasonló arányú a PV-pozitív terminális kontrollban és epilepsziában. Akkor, a 13 Táblázatban látható kétszeres arányú növekedés miből adódik? Elképzelhető, hogy a PV-pozitív axon terminálisok a nem piramissejtek axon iniciális szegmentumán végződnek nagyobb arányban?

Csak egyetlen betegben volt 28 % ez az érték, összesen négy betegben vizsgáltunk, és az átlag 17.3 %-ra jött ki. Erősen variábilis volt mind kontrollban, ahol 7.3%-25% között, mind epilepsziás betegekben, ahol 6.2%-28% között változott, 13. táblázat, 105. oldal.

A 125. oldalon a 19. Táblázat számomra nem egyértelmű, mert a 41. ábra alapján nem ezt a következtetést vontam volna le. Úgy gondolom a fluoreszcenz kettős festéssel be kellett volna mutatni valamennyi lehetséges kolokalizációt és ehhez megadni azok gyakoriságát, majd levonni a következtetést. Negatív kolokalizáció bemutatása után nem szokás a kolokalizáció frekvenciájáról beszélni, mert bemutattuk, hogy nincs.

A kis gyakorisággal előforduló kolokalizációkat azért nem mutattuk be pozitív példával, mert nagyon ritkák voltak, és nem akartunk az ábrával félreérthető eredményeket sugallni. Ha pld. a 2.6% kolokalizációt mutató CR-SPR fedést kolokalizációt mutató sejteken ábrázoljuk, az olvasó esetleg az ábrát jegyzi meg, és nem a táblázat adatait a gyakoriságról, és hamis benyomás marad benne a kép alapján. Az ábrával a fő eredmények bemutatására törekedtünk, miszerint a CCK-val, CR-nel és PV-nal nagyon ritkán kolokalizál az SPR-expresszió.

A fentiek alapján szerző 128. oldalon tett megállapítása is megkérdőjelezhető, nevezetesen, hogy miért biztos a szerző abban, hogy az SPR-pozitív sejtek között nincs kosársejt? Van rá 4% arányban lehetőség, hiszen az axon terminálisok azonosítására nem volt direkt lehetőség, viszont ilyen arányban kolokalizációt találtak PV-pozitív neuronokkal.

Az adatok alapján teljesen biztos vagyok benne, hogy CCK- és PV-tartalmú kosársejt nem expresszál SPR-t. Ugyanis a PV-tartalmú sejtek közül csak a stratum oriensben előfordulóknak mutattak SPR-expressziót, a stratum radiatum és pyramidale sejtjei, amik kosársejtek és axo-axonikus sejtek lehetnek a rendelkezésre álló adatok alapján, nem. A stratum radiatum és pyramidale PV-immunpozitív sejtjeinek sejttestje kb. 1.5-2-szer nagyobb, mint az ugyanitt elhelyezkedő SPR-expresszáló sejté, és teljesen más a dendritfájuk. Viszont nem zárható ki, hogy CB-tartalmú axo-axonikus sejt expresszál SPR-t. Ezeket a sejteket sohasem láttuk, nem tudjuk mennyi van belőlük, csak az axonterminálisok eloszlásából következtettünk a létezésük lehetőségére. De a CB-SPR kolokalizáció miatt ez előfordulhat, noha nem lehet domináns mennyiség, mivel a CB-tartalmú sejtek jelentős része a dendritikus gátlásban vesz részt, és a maximális kolokalizáció, amit CB-dal találtunk, kontrollban 8 % volt. Vagyis az SPR-expresszáló sejtek 90%-a biztosan nem fed át neurokémiai azonosított periszomatikus gátlósejtekkel kontrollban, még ha az ismeretlen mennyiségű és elhelyezkedésű CB-tartalmú axo-axonikus sejteket beleszámítjuk is. Szklerotikus epilepsziás betegekben pedig, ahol a legnagyobb arányú, 20%-os átfedést találtuk CB-SPR között, nincs piramis sejt a CA1 régióban, és a CB-tartalmú terminálisok célelemei között nincs axon iniciális szegmentum (Wittner és mtsai, 2002).

Érdekes, és sokszor látott elváltozás epilepsziában vagy hypoxiában a dendritek gyöngyfüzér-szerű megjelenése, amit a 43 D, E, G ábrákon látunk. Az ultrastruktúra szintjén mivel korrelált ez az elváltozás? Hol van a befűződés, mi van a befűződött szakaszban és mi van a tágult szakaszban? Itt vannak a mitokondriumok, vagy itt végződnek axon terminálisok?

A varikozitásokban számos mitokondrium volt, és a leggyakrabban itt végződtek szinapszisok, a befűződéseken ritkábban.

A szklerotikus hippocampusban az alveusban illetve a stratum lacunosum-molekulárisban mennyire lehetett megfigyelni axon terminálisokat? Gondolok arra, hogy a perforáns pálya axon terminálisai innerválhatnak, így életben tarthatnak GABAerg neuronokat a CA1 területén. A szklerotikus mintákban leírt tüskés dendriteken (48. ábra) talált aszimmetrikus szinapszisok arra utalnak, hogy az afferens pályák axonjainak egy része megmarad.

Az aszimmetrikus terminálisokat nem válogattuk szét morfológiai jellemzők alapján, de találtunk köztük az entorhinalis kéregre jellemző lapos, ovális, viszonylag kevés vezikulát tartalmazó terminálisokat. Modellekben kimutatták már az entorhinalis és septális bemenet sarjadzását (Tang és mtsai, 2006), sőt a CA1-be vetítő subiculáris axonok megerősödését is (Lehmann és mtsai, 2001).

Nem tudom megállni, hogy ne tegyek fel három átfogóbb kérdést:

1. Kérem, indokolja meg a szerző, felsorolva érveit amellet, hogy miért alkalmazza a proszubikulum terület önálló megkülönböztetését? Tudvalevő e terület elnevezése Lorente de Nó-tól származik (1934), de Amaral és munkatársai számos érvet hoznak fel amellet pl. a Hippocampus Book című könyvben, hogy a terület nem különálló egység és csupán arról van szó, hogy a subikulum ékszerűen elvékonyodik az oriens felé, míg a CA1 hasonlóképpen a molekuláris réteg felé és így a két terület egymásra csúszik. Magam híve vagyok e terület elkülönítésének, mert meggyőződésem, hogy az átmeneti területeknek vannak különleges jellemzői, melyek betegségekben jelentőséggel bírnak (mint pl. a transzentorhinalis kéreg Alzheimer kórban). Találtunk is, máshol nem létező NOS-pozitív piramissejteket, melyek más piramissejteket innerválnak, a szubikulum ezen területén patkányban, míg CART-pozitív piramissejteket ugyanitt emberben. Ezek egyenlőre sporadikus megfigyelések és ezek alapján nehéz védeni a proszubikulumot mint önálló területet. Várom a szerző érveit.

Azért különítem el a prosubiculumot, mert elkülönül az általam használt immuncitokémiai festésekkel, és más a sejtes szerkezete. A PV-immunfestett sejtek mennyisége megnő, a rostok sűrűsége ugrásszerűen megemelkedik a CA1-prosubiculum határon, valamint a stratum lacunosum-moleculare-radiatum határon elhelyezkedő CR-tartalmú multipoláris sejtek kompakt fonadéka is széthúzódik ugyanitt. A subiculumra jellemző piramisrétegek viszont még nem jelennek meg. Ha egy terület szerkezetében és sejtes összetételében eltér más területektől, és a határai megállapíthatóak, érdemes elkülöníteni. Az a megállapítás pedig, hogy ez egy átmeneti terület a CA1 és subiculum között, félreértésekre adhat alkalmat. Egyszer bíráltam egy cikket, amiben a szerzők az emberi hippocampus CA1 régiójának piramissejtjein bizonyos rostdenzitást vizsgáltak, és külön fejezetben tértek ki a szklerotikus CA1 régió piramissejtjeinek beidegzésére. Kiderült, hogy a prosubiculum piramissejtjeit „csapták hozzá” a CA1 régióhoz, Amaral munkájára hivatkozva, hogy ez egy átmeneti régió, tehát a CA1-hez is tartozik. A bírálóval értek egyet a prosubiculum elkülönítésével kapcsolatban, én nem változtatnék a Lorente de Nó-féle nevezéktanon itt.

2. Mi a szerző elképzelése arról, hogy egy szklerotikus hippocampusban, ahol praktikusán a CA1-3 piramissejtek hiányoznak, mi tartja fenn az izgalmi állapotot, ami ráadásul áterjed a kérgi területekre? Ha nem itt lenne a fókusz, akkor a műtéti eltávolításnak nem lenne értelme.

Az általam kapott mintákban ritkán fordult elő, hogy a CA3 régió piramissejtjei teljesen hiányoztak volna. Ez gyakorlatilag csak a gliotikus típusban volt megfigyelhető, de ott a szemcsesejtek is pusztultak, és az ilyen minták előfordulása kivétel volt. A CA3-CA2 régió piramissejtjei gyakran hiányosak voltak, de nem hiányoztak teljesen a többi beteg mintáiban. Adataink szerint a szklerotikus CA1 nem halott régió, a nagymennyiségű gliális elem mellet

zsúfolva van terminálisokkal és axonokkal, és interneuronok is maradnak életben benne (Toth és mtsai, 2007; Wittner és mtsai, 2002). A CA2 régióban (Wittner és mtsai, 2009), sőt a CA1-ben is találtunk mohaterminálisokra emlékeztető elemeket (Wittner és mtsai, 2002), melyek életben maradt interneuronokkal és/vagy piramis sejtekkel szinaptizáltak, mind szklerotikus mind nem-szklerotikus hippocampusokban. Azt gondolom, az axonpályák átnőnek ezen a szklerotikus régión, és az életben maradó interneuronok is vetíthetnek más agyi régiókba, pld. a subiculumba. Ezért még a szklerotikus, elgliásodott hippocampus kiemelése is javíthat az epilepsziás beteg állapotán, mert megszakítja az egyik területről a másokra átnövő axonok hálózatát. Ulbert István munkacsoportjával történő kollaborációból kiderült, hogy a subiculum önálló tüskéfókus (Fabo és mtsai, 2008), Wittner Luca pedig Richard Miles laboratóriumában ugyanezt találta a CA2 régióra (Wittner és mtsai, 2009). A sarjadzás jelensége nem csak a hippocampusra korlátozódik, hanem más agyi területek is bevonódnak, a subiculum (Andrioli és mtsai, 2007) és az entorhinális kéreg bizonyosan (Tang és mtsai, 2006), ezt a saját mintáinkban is láttam. A szklerotikus régión pedig keresztül nőnek a CA2 és a gyrus dentátus életben maradó sejtjeinek rostjai, további elektromos aktivitást és sarjadzást gerjesztve más régiókban. Én amellet vagyok, hogy a parahippocampális gyrust is ki kell emelni a temporális lobectomia során, mert a subiculum neuronhálózata, és ezen keresztül minden vele kapcsolatos régió hálózata is egyre több abnormális kapcsolatot fog létrehozni, hiszen az elektromos impulzus hatására létrejövő axonsarjadzás máshol is létrejöhet, nem csak a hippocampusban. A sarjadzás progresszív, és valószínűleg a műtétileg nem kiemelt területeken kialakuló abnormális hálózatok járulnak hozzá ahhoz, hogy az eltelt idővel párhuzamosan nő azon betegek száma, akik visszaesnek és újra rohamaik lesznek, esetleg újra terápia rezisztenssé válnak, amit megoperált betegek hosszútávú nyomonkövetése igazolt (Janszky és mtsai, 2006).

Másik, kicsit bizarr lehetőség a gliasejtek esetleges részvétele epilepsziás rohamok fenntartásában (Vessal és mtsai, 2005). Számos szerző által bizonyított, hogy a gliasejtek követik az idegsejtek aktivitását, és depolarizációt mutathatnak (Amzica és Steriade, 2000; Sugaya és mtsai, 1975). Egy olyan nagytömegű glia-szorulat, mint amilyen a szklerotikus hippocampusban van, amiben annyi axonterminális találtunk, talán maga is részt vehet kóros elektromos aktivitás generálásában, így kiemelése javíthatja a betegek állapotát.

3. Blokk rezekció esetében, amit pl. a Bakay féle iskola következetesen eltávolítanak minden temporális lebeny struktúráját, de pl. a pécsi gyakorlatban gyakran látjuk, hogy még a szubikulumot és entorhinális kérgét is megkímélik, mégis van pozitív hatás az epilepsziás görcsök számát és súlyosságát illetően. Szerző nagyszámú műtétből származó szövettani anyagot dolgozott fel alaposan. Látott valami összefüggést a kiterjedtebb műtétek hatásosságát illetően?

Saját vizsgálatot én nem végeztem a kiemelt műtéti terület és a műtét hatásosságának összefüggéséről, sőt, tudomásom szerint ezen a beteganyagon senki nem végzett ilyen összehasonlítást. Ezért megkérdeztem az OITI-ben dolgozó két kollégát, akikkel együtt

dolgoztunk ezen a témán, Dr. Erőss Lóránd idegsebészt, valamint Dr. Fabó Dániel neurológust, milyen összefüggés van a műtéti eljárás és a kimenetel között.

Dr. Erőss Loránd szerint a resectió a legtöbb műtéti technikában nem korlátozódik csak a hippocampusra, hanem a parahippocampális gyrust is érinti. A kiadott mintában ez nem mindig van benne, mert a sebész a műtéti kockázat csökkentése érdekében kiszívja a struktúrák egy részét, így viszont a kiadott minta nagyságából nem lehet az eltávolított területek méretére következtetni. Szerinte a részlegesen eltávolított sclerotikus hippocampus-parahippocampális gyrus nem mindig elégséges a rohammentességhez. Részletes, műtéti technikákat összehasonlító válaszát mellékletben csatolom.

Dr. Fabó Dániel pedig felhívta a figyelmemet, hogy a szelektív műtetre kerülő betegek klinikai indikációja különbözik a lobectomiás betegekéétől. A két csoportot műtéti kimenetel szempontjából összevetni ezért nem releváns, mert már a műtét előtt is különböztek.

4. Az előző kérdéshez kapcsolódva kérdezem, hogy mi a szerző elképzelése a szubikulum illetve az entorhinális kéreg szerepét illetően?

A subiculum Ulbert Istvánnal és munkacsoportjával végzett kollaborációnk szerint önnálló tüskegenerátor szereppel rendelkezik, és szinkron tüzel a temporális kéreggel (Fabo és mtsai, 2008). A subiculum vetít az entorhinális kéregbe, mely többek között a temporális pólusba és a prefrontális kéregbe vetít (Amaral és mtsai, 1984; Wilson és mtsai, 1990). Figyelembe véve a hozzáférhető adatokat, az entorhinalis kéreg van olyan pozícióban, hogy szinkronizálni tudja a subiculum és a temporális kéreg aktivitását, miközben az entorhinalis kéreg-hippocampus és a subiculum-hippocampus reciprokk összeköttetésein keresztül (Stoop és Pralong, 2000) (Walther és mtsai, 1986) a subiculum és a CA2 mint tüskegenerátor aktivitása eljut a temporális lebeny és távlatilag a limbikus rendszer összes területére. Egyre több adat van arról, hogy mindkét területnek meghatározó szerepe van a memóriafolyamatokban és a limbikus rendszert érintő patológias elváltozásokban is, epilepszia mellett az Alzheimer-kór és drogfüggés, skizofrénia vonatkozásában is (de la Prida és mtsai, 2006) (Braak és mtsai, 1993).

Idézett irodalom

- Amaral, D.G., Insausti, R., Cowan, W.M., 1984. The commissural connections of the monkey hippocampal formation. *The Journal of Comparative Neurology*. 224, 307-36.
- Amzica, F., Steriade, M., 2000. Neuronal és glial membrane potentials during sleep and paroxysmal oscillations in the neocortex. *J Neurosci*. 20, 6648-65.
- Andrioli, A., és mtsai, 2007. Quantitative analysis of parvalbumin-immunoreactive cells in the human epileptic hippocampus. *Neuroscience*. 149, 131-43.
- Borhegyi, Z., Leranth, C., 1997. Substance P innervation of the rat hippocampal formation. *The Journal of Comparative Neurology*. 384, 41-58.

- Braak, H., Braak, E., Bohl, J., 1993. Staging of Alzheimer-related cortical destruction. *Eur Neurol.* 33, 403-8.
- Cossart, R., és mtsai, 2001. Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci.* 4, 52-62.
- de la Prida, L.M., és mtsai, 2006. The subiculum comes of age. *Hippocampus.* 16, 916-23.
- DeFelipe, J., és mtsai, 1993. Selective changes in the microorganization of the human epileptogenic neocortex revealed by parvalbumin immunoreactivity. *Cereb Cortex.* 3, 39-48.
- Duvernoy, H.M., 1998. The human hippocampus, Vol., Springer-Verlag, Berlin.
- Fabo, D., és mtsai, 2008. Properties of in vivo interictal spike generation in the human subiculum. *Brain.* 131, 485-99.
- Gregg, T.R., Siegel, A., 2001. Brain structures and neurotransmitters regulating aggression in cats: implications for human aggression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 25, 91-140.
- Hokfelt, T., és mtsai, 2000. Multiple messengers in descending serotonin neurons: localization and functional implications. *Journal of Chemical Neuroanatomy.* 18, 75-86.
- Isokawa, M., és mtsai, 1993. Single mossy fiber axonal systems of human dentate granule cells studied in hippocampal slices from patients with temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 13, 1511-22.
- Janszky, J., és mtsai, 2006. Prognostic factors for surgery of neocortical temporal lobe epilepsy. *Seizure.* 15, 125-32.
- Johansen, F.F., és mtsai, 1990. Short-term changes of parvalbumin and calbindin immunoreactivity in the rat hippocampus following cerebral ischemia. *Neurosci Lett.* 120, 171-4.
- Lehmann, T.N., és mtsai, 2001. Fluorescent tracer in pilocarpine-treated rats shows widespread aberrant hippocampal neuronal connectivity. *Eur J Neurosci.* 14, 83-95.
- Leranth, C., Nitsch, R., 1994. Morphological evidence that hypothalamic substance P-containing afferents are capable of filtering the signal flow in the monkey hippocampal formation. *J Neurosci.* 14, 4079-94.
- Magloczky, Z., Freund, T.F., 1993. Selective neuronal death in the contralateral hippocampus following unilateral kainate injections into the CA3 subfield. *Neuroscience.* 56, 317-35.
- Marco, P., és mtsai, 1997. Loss of inhibitory synapses on the soma and axon initial segment of pyramidal cells in human epileptic peritumoral neocortex: implications for epilepsy. *Brain Res.Bull.* 44, 47-66.
- Nitsch, R., Leranth, C., 1993. Calretinin immunoreactivity in the monkey hippocampal formation--II. Intrinsic GABAergic and hypothalamic non-GABAergic systems: an experimental tracing and co-existence study. *Neuroscience.* 55, 797-812.
- Rasin, M.R., és mtsai, 2011. Effect of environmental enrichment on morphology of deep layer III and layer V pyramidal cells of occipital cortex in oldest-old rat - A quantitative golgi cox study. *Coll Antropol.* 35 Suppl 1, 253-8.
- Renier, W.O., Gabreels, F.J., Jaspar, H.H., 1988. Morphological and biochemical analysis of a brain biopsy in a case of idiopathic Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsia.* 29, 644-9.
- Represa, A., és mtsai, 1993. Epilepsy induced collateral sprouting of hippocampal mossy fibers: does it induce the development of ectopic synapses with granule cell dendrites? *Hippocampus.* 3, 257-68.
- Schrott, L.M., 1997. Effect of training and environment on brain morphology and behavior. *Acta Paediatr Suppl.* 422, 45-7.

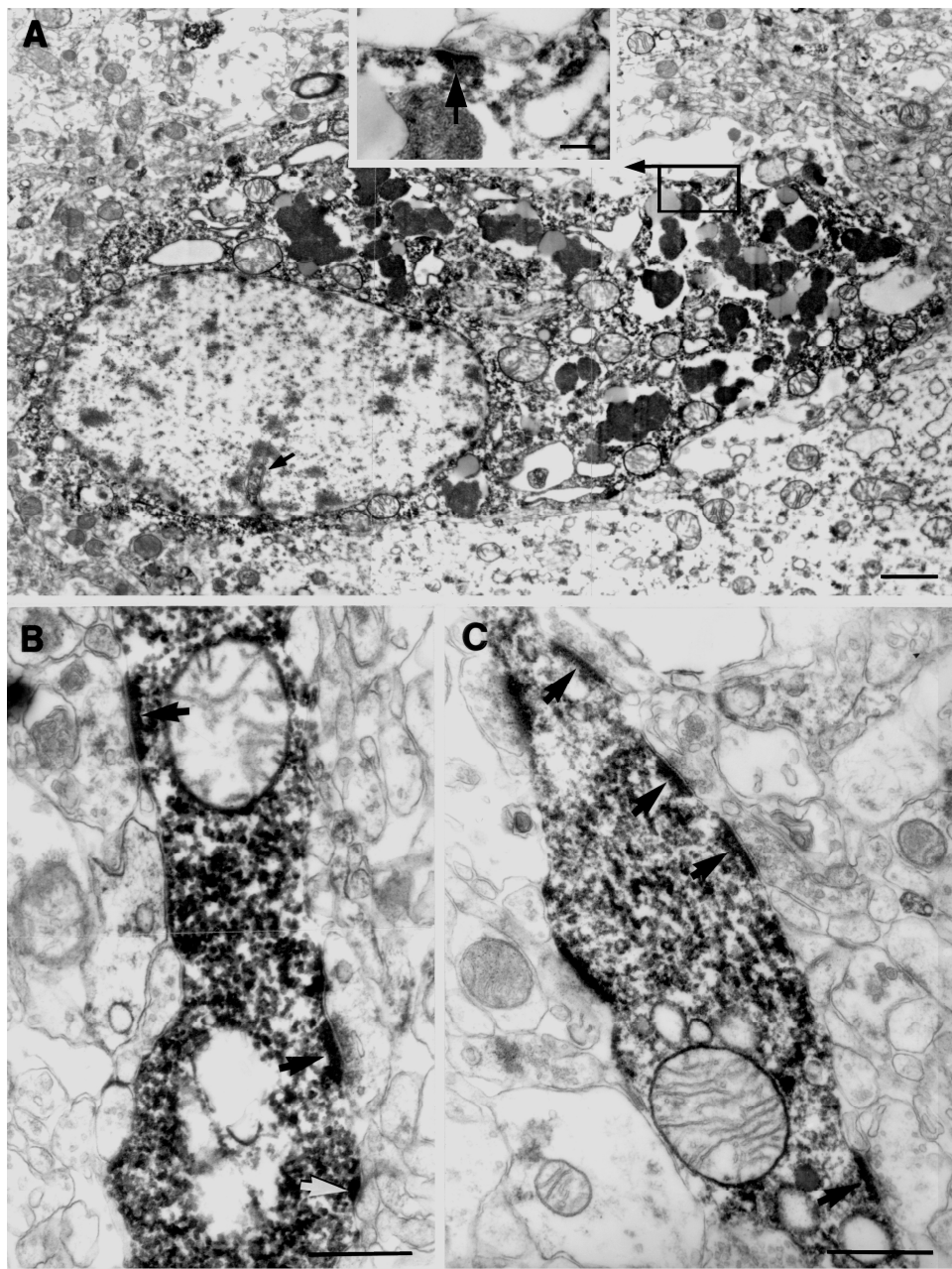
- Scotti, A., és mtsai, 1997. Loss of perikaryal parvalbumin immunoreactivity from surviving GABAergic neurons in the CA1 field of epileptic gerbils. *Hippocampus*. 7, 524-535.
- Sloviter, R.S., és mtsai, 1991. Calcium-binding protein (calbindin-D28K) and parvalbumin immunocytochemistry in the normal and epileptic human hippocampus. *J Comp Neurol*. 308, 381-96.
- Stoop, R., Pralong, E., 2000. Functional connections and epileptic spread between hippocampus, entorhinal cortex and amygdala in a modified horizontal slice preparation of the rat brain [In Process Citation]. *Eur J Neurosci*. 12, 3651-63.
- Sugaya, E., Takato, M., Noda, Y., 1975. Neuronal and glial activity during spreading depression in cerebral cortex of cat. *J Neurophysiol*. 38, 822-41.
- Swann, J.W., és mtsai, 2000. Spine loss and other dendritic abnormalities in epilepsy. *Hippocampus*. 10, 617-25.
- Tang, F.R., és mtsai, 2006. Calcium binding protein containing neurons in the gliotic mouse hippocampus with special reference to their afferents from the medial septum and the entorhinal cortex. *Neuroscience*. 140, 1467-79.
- Toth, K., és mtsai, 2007. Morphology and synaptic input of substance P receptor-immunoreactive interneurons in control and epileptic human hippocampus. *Neuroscience*. 144, 495-508.
- van Vliet, E.A., és mtsai, 2004. Progression of temporal lobe epilepsy in the rat is associated with immunocytochemical changes in inhibitory interneurons in specific regions of the hippocampal formation. *Exp Neurol*. 187, 367-79.
- Vessal, M., és mtsai, 2005. Might astrocytes play a role in maintaining the seizure-prone state? *Brain Research*. 1044, 190-6.
- Walther, H., és mtsai, 1986. Epileptiform activity in combined slices of the hippocampus, subiculum and entorhinal cortex during perfusion with low magnesium medium. *Neuroscience Letters*. 69, 156-61.
- Williamson, A., Patrylo, P.R., Spencer, D.D., 1999. Decrease in inhibition in dentate granule cells from patients with medial temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol*. 45, 92-9.
- Wilson, C.L., és mtsai, 1990. Functional connections in the human temporal lobe. I. Analysis of limbic system pathways using neuronal responses evoked by electrical stimulation. *Exp Brain Res*. 82, 279-92.
- Wittner, L., és mtsai, 2001. Preservation of perisomatic inhibitory input of granule cells in the epileptic human dentate gyrus. *Neuroscience*. 108, 587-600.
- Wittner, L., és mtsai, 2002. Synaptic reorganization of calbindin-positive neurons in the human hippocampal CA1 region in temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*. 115, 961-78.
- Wittner, L., és mtsai, 2005. Surviving CA1 pyramidal cells receive intact perisomatic inhibitory input in the human epileptic hippocampus. *Brain*. 128, 138-52.
- Wittner, L., és mtsai, 2009. The epileptic human hippocampal cornu ammonis 2 region generates spontaneous interictal-like activity in vitro. *Brain*. 132, 3032-46.
- Zhu, Z.Q., és mtsai, 1997. Disproportionate loss of CA4 parvalbumin-immunoreactive interneurons in patients with Ammon's horn sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*. 56, 988-98.

Budapest, 2013. május 1.

Maglóczy Zsófia PhD

MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

35. Ábra: Kontroll CA1 régióból zármazó interneuron sejttest (A) és dendritok szinaptikus bemenetei láthatók a képen (B, C). A sejttest kevés szinapszist kapott, egyet találtunk ezen a sejttesten (bekeretezve), az aszimmetrikus szinapszist adó (nyíl) terminális nagyobb nagyítással a bevágott kisképen látható. Az interneuron dendriteken legtöbbször kisméretű aszimmetrikus szinapszist adó terminálisok végződtek (B, C nyilak). Mérce: 1 μm , a kisképen: 0.1 μm



Melléklet: Dr. Erőss Loránd válasza Seress professzor úr műtéti eljárást és kimenetelt érintő kérdésére.

Blokk rezekció esetében, amit pl. a Bakay féle iskola következetesen eltávolítanak minden temporális lebeny struktúrát, de pl. a pécsi gyakorlatban gyakran látjuk, hogy még a szubikulumot és entorhinális kérget is megkímélik, mégis van pozitív hatás az epilepsziás görcsök számát és súlyosságát illetően.

A temporomediális struktúrák sebészi eltávolítása a szakma szabályai szerint a hippocampus és a parahippocampus együttes lehetőleg egy blokkban történő eltávolítását jelenti az OITI gyakorlatában. De akár a transcorticalis, transventricularis amygdalohippocampectomiát (AHE) – (Niemeyer 1958), akár a transylvian transventricularis AHE-t (Yasargil – Wieser 1985), a transzygomaticus feltárást (Shimizu 1989), a subtemporalis AHE-t – (Hori 1993) vagy a transylvian transcysternális feltárást (Vajkóczy 1998) egyikben sincs csak a hippocampusra limitálva a szöveti eltávolítás. A megközelítés más, de a rezekció a hippocampust és a parahippocampust érinti egyaránt. Ennek a morfológiai feldolgozás miatt van jelentősége. Aki csak a hippocampust távolítja el az a parahippocampust, subiculumot, entorhinális kérget valószínűleg subpialisan kiszívja ezzel is csökkentve a műtét rizikóját. Egyszerűsítve a sebész munkáját, de kevesebb lehetőséget biztosít ezáltal a morfológiai vizsgálatok számára. A részleges temporomedialis resectio rohamkimenetelét még senki nem hasonlította össze, a teljes temporomedialis struktúrák eltávolításával járó rohamkimenetellel.

A Bakay féle iskola valójában a klasszikus Penfield-Falconer-Ojemann-Spencer lobectomy lépéseit követi. Ezt a módszert alkalmazzuk Spencer szerint limitálva a lateralis neocortex resectiot a HS is tartalmazó, régóta fennálló epilepsziák esetében.

Szerző nagyszámú műtétből származó szövettani anyagot dolgozott fel alaposan. Látott valami összefüggést a kiterjedtebb műtétek hatásosságát illetően?

Igen, a részlegesen eltávolított sclerotikus hippocampus- parahippocampus nem mindig volt elégséges a rohammentességhez, de ezt az irodalomból is tudjuk, hogy a nagy fokban epileptogén HS teljes eltávolítása mindig jobb eredményt ad mint a részleges resectio.