

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Az egyensúlyozó rendszer agytörzsi
neuronhálózatainak morfológiai vizsgálata**

Dr. Deák Ádám

Témavezető: Dr. Matesz Klára



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2010

Az egyensúlyozó rendszer agytörzsi neuronhálózatainak morfológiai vizsgálata

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola (Fogorvostudományi Kutatások)

Témavezető:

Prof. Dr. Matesz Klára

A szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Márton Ildikó, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Szűcs Géza, az MTA doktora

Prof. Dr. Elekes Károly, az MTA doktora

A védési bizottság:

elnök: Prof. Dr. Márton Ildikó, az MTA doktora

opponensek: Prof. Dr. Kálmán Mihály, az MTA doktora

Prof. Dr. Fekete István, Ph.D.

tagok: Prof. Dr. Szűcs Géza, az MTA doktora

Prof. Dr. Elekes Károly, az MTA doktora

Az értekezés védésének időpontja: 2010. július 8.

1. BEVEZETÉS

Az élőlények állandó kapcsolatban állnak az őket körülvevő környezettel. A külvilágból folyamatosan érkező ingerek fogadása és ingerületté való átalakítása receptorok és specializálódott érzékszervek segítségével történik. Az érzékszervek egyike a vestibularis vagy egyensúlyozó rendszer, amely információt kap a test és fej mozgásáról, azok helyzetének megváltozásáról. A vestibularis rendszer működése fenntartja a test egyensúlyi helyzetét a gravitációval szemben, és a fej mozgásaival párhuzamosan koordinálja a szemmozgásokat.

Az egyensúlyozó receptorok már a vízben élő állatoknál megtalálhatók (halak, metamorphosis előtt a kétéltűek), amelyek ennek segítségével tájékozódnak egyrészt a víz áramlásáról, másrészt testüknek a környező vízhez való elmozdulásáról. Ezt teszi lehetővé a törzsön hosszanti vonalban elhelyezkedő, szőrsejteket tartalmazó mechanoreceptor, az oldalvonalszerv. A test belsejében elhelyezkedő, szőrsejt-receptorokkal működő vestibularis (egyensúlyozó) érzékszerv a filogenezis későbbi szakaszában alakult ki. A lineáris gyorsulást érzékelő receptorok emlősök esetében a sacculusban és az utriculusban találhatóak, míg békáknál az ilyen típusú receptorokat az előbbieket mellett a lagenában is megtaláljuk.

Az egyensúlyozó receptorok közül azok, amelyek a szöggyorsulást érzékelik, a félkörös ívjáratokban helyezkednek el. Az egyensúlyozó receptorokon a ganglion vestibulareban található bipoláris neuronok perifériás ágai végződnek, míg a centrális ágai a nervus vestibulocochlearis vestibularis osztatát (pars vestibulare) hozzák létre. A vestibularis afferensek az agytörzs területén lévő négy vestibularis magban végződnek: nucleus vestibularis superior, medialis, lateralis és descendens. Ezek az egyensúlyozó rendszer működésében központi szerepet töltenek be azért, hogy szerteágazó afferens és efferens kapcsolataikon keresztül a test egyensúlyi helyzetének megtartása mellett, számos más létfontosságú funkciót is befolyásolnak. A fentiek alapján elmondható, hogy valamennyi érző rendszer közül az egyensúlyozó rendelkezik a legkiterjedtebb agytörzsi kapcsolatrendszerrel.

Számos vizsgálat ellenére ma sem ismerjük részleteiben az egyensúlyozó rendszerrel kapcsolatos agytörzsi neuronhálózatok szerkezetét és működését. Jelen munkában ezek közül két területet vizsgáltam neuromorfológiai módszerekkel. Vizsgálataink egyik részében választ kerestünk arra, hogy milyen kapcsolat biztosítja a külső szemmozgató izmok motoneuronjainak koordinált és szinkronizált működését. A test elmozdulása során ugyanis folyamatosan szükség van arra, hogy a tekintet az adott testhelyzetnek megfelelően

fixálódjon. Ennek megvalósulásához a vestibularis rendszerből az információnak rendkívül gyorsan el kell jutnia a szemmozgató agyidegi magokhoz, annak érdekében, hogy a szemmozgató izmok motoneuronjainak gyors és összehangolt együttműködése révén a szem korrekációs mozgásai biztosítva legyenek. Ez a kapcsolatrendszer részleteiben máig sem ismert.

Az általunk vizsgált másik kérdés az volt, hogy a vestibularis rendszer működésének hatása milyen útvonalon jut el a vegetatív központokba. Az egyensúlyozó rendszer információt juttat el ezen központokba, hozzájárulva a folytonosan változó testhelyzetben az életfontosságú szervek működésének korrekációjához. A testhelyzet változása mellett különböző környezeti ingerek is jelentősen befolyásolják az egyensúlyozó rendszer és ezen keresztül a vegetatív idegrendszer működését. Az egyik ilyen környezeti tényező a légnyomás, amelynek statikus vagy dinamikus változása az egyensúlyozó rendszer közvetítésével befolyásolja a vérkeringést és a vérnyomást. Emberek esetében is tudományosan elfogadott tény az időjárési frontok negatív/pozitív hatása. Ismert a hőmérséklet és változásának hatása az egyensúlyozó rendszer működésére, ugyanakkor a vestibularis receptoroknak szerepet tulajdonítanak a test hőszabályozásában is.

A klinikai gyakorlatban régóta ismert az a tény, hogy vestibularis izgalom hatására változások lépnek fel a cardiovascularis, légző és a gastrointestinalis rendszer működésében. Ennek ellenére nagyon keveset tudunk a háttérben lévő neuronális hálózat jellemzőiről. A vestibularis rendszer és a vegetatív funkciók kapcsolatával foglalkozó irodalom elég szegényes, ennek illusztrálására álljon itt egy majdnem húsz éves, de tartalmát tekintve ma is aktuális idézet: „...the surprising reluctance of essentially all physiologists to look for an adaptive role of the definitely existing connections between the vestibular complex and the various subunits of the autonomic nervous system” (Erdélyi és mtsai., 1981). A megállapítás nemcsak a fiziológusokra és a fiziológiára igaz: a morfológiai kapcsolatok elemzése csak a modern neuronális jelölési technikák bevezetése után kezdődött és feltehetően a vestibularis rendszer bonyolultságának köszönhetően a mai napig nem vált a morfológusok kedvenc témájává.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A vestibularis rendszer közvetlen és közvetett agytörzsi kapcsolatai fontos szerepet játszanak a test egyensúlyi helyzetének fenntartásában. Ezzel egyidejűleg a vestibularis rendszer a fej mozgásaival párhuzamosan koordinálja a szemmozgásokat annak érdekében, hogy a tekintet az adott testhelyzetnek megfelelően fixálódjon. Az agytörzsi egyensúlyozó rendszer információkat juttat el a vegetatív központokba is, és ezzel biztosítja, hogy az állandóan változó testhelyzetben az életfontosságú szervek működésének folyamatos korrekciója biztosítva legyen.

Mindezek figyelembevételével munkánk során, neuronális jelölési módszerek felhasználásával, békában, az alábbi kérdések megválaszolását tűztük ki célul:

1. Van-e közvetlen kapcsolat a n. oculomotorius és a n. trochlearis motoneuronjai között?
2. Milyen a kapcsolatok morfológiai jellemzője?
3. Van-e közvetlen kapcsolat a primer afferens vestibularis rostok és a n. glossopharyngeus és n. vagus motoneuronjai között?
4. Milyen a kapcsolatok morfológiai jellemzője?

A vestibularis rendszer közvetlen és közvetett kapcsolatainak felderítése nemcsak az elméleti neurobiológia szempontjából érdekes, de klinikai szempontból is jelentős lehet, mert a vestibularis rendszer kapcsolatrendszerének feltérképezése, és így a meglévő adatok újakkal történő kiegészítése hozzájárulhat ahhoz, hogy pontosabb ismeretekkel rendelkezünk a vestibularis károsodás tüneteinek kialakulásáról és az azok kompenzációjában részt vevő mechanizmusok működéséről.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok, a kísérletekhez szükséges engedélyek, az állatok altatása

Kísérleteink alanya a valódi békák családjába (*Ranidae*) tartozó kecskebéka (*Rana esculenta*) volt. Az állatkísérletek végzéséhez az adott időszakban a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának 18/2006/DEMÁB számú érvényes engedélyével rendelkezünk.

A vizsgálatokat mindkét nemből származó felnőtt békákon végeztük el, összesen 43 állaton. Az altatáshoz 0,01%-os MS-222 (tricain-metán-szulfonát; Sigma, St. Louis, MO) oldatot használtunk, amelyet az állatok hátbőrére csepegtettünk.

3.2. Fluoreszcens kettős jelölés

3.2.1. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis jelölése

Kísérleteinkhez 15 kecskebékát használtunk fel. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis preparálását oropharyngealis irányból végeztük el, melynek során hosszanti metszést ejtettünk a szájpad nyálkahártyáján. Sztereomikroszkóp alatt a koponyát a parasphenoidealis csontok eltávolítása után felnyitottuk, az agyhártyákat eltávolítottuk, majd kipreparáltuk a jobb oldali nervus oculomotoriust és a bal oldali nervus trochlearist (Gaupp, 1896) és az ideget mikrosebészeti ollóval átvágtuk. A nervus oculomotorius átvágása közvetlenül a koponyából való kilépésnél történt. A dorsalis eredő n. trochlearis az ellenoldali tectum opticum lateralis oldalán kerül a látótérbe; itt történt az ideg átvágása.

Annak érdekében, hogy az idegekre helyezendő különböző jelölőanyagok ne keveredjenek egymással, és ne kerülhessenek a környező agyidegekre esetleges aspecifikus jelelődést eredményezve, szilikonolaj és zsír keverékéből mindkét ideg számára külön-külön kis „vályút” képeztünk. Ezt követően kristályos tetramethylrhodamine dextran amint (RDA, 3000 MW, Molecular Probes) helyeztünk a n. III proximalis csonkjára, a nervus trochlearis esetében, pedig fluorescein dextran amint (FDA, 3000 MW, Molecular Probes) használtunk. A folyamat végén az ideget tartalmazó vályút szilikonolaj és zsír keverékével

lefedtük, majd a szájnyálkahártyát szövetragasztó segítségével illesztettük össze. Ezt követően az állatokat 12°C fokon tartottuk (Llinás, 1976), majd 5 nap túlélési időt követően a fent leírt módon újra elaltattuk. A mellkas felnyitása után a pericardiumot felvágtuk, a szívkamrába vezetett kanülön keresztül 0,6%-os fiziológias sóoldattal perfundáltuk az állatot kb. 2-3 percig. Ezt követően ugyancsak perfúzióval juttattuk be a fixáló oldatot (4% paraformaldehid 0,1 M foszfát pufferben oldva, pH 7.4).

Ezután az agyat eltávolítottuk, és a mesencephalont tartalmazó részből egy szövetblokkot készítettünk. A blokkot egy éjszakára, a perfúzióra használt fixálószerben tartottuk hűtőszekrényben, majd 0,1 M foszfát pufferben (PB) mostuk, majd 10%-os, ezt követően 20%-os szacharóz oldatban tartottuk leülepedésig. A mintából Vibratom segítségével 50 µm vastag metszeteket készítettünk, a szeleteket tárgylemezre helyeztük és Vectashielddel lefedtük (Vector, Burlingame, CA).

A mintákról 40x olajimmerziós objektívvel (numerikus apertúra = 1,3) felszerelt, Olympus FV1000 konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével felvételeket készítettünk. Az RDA-val és a FDA-val jelölt részek kapcsolatának feltérképezése 1 µm vastag optikai szeletek készítésével történt. A kapcsolatokat akkor tekintettük szoros appozíciónak, ha a vizsgált profilok ugyanabban a fókusz síkban voltak, és nem volt észrevehető távolság közöttük (Wouterlood és mtsai., 2002). A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis motoneuronjai közötti kapcsolatok manuális számolását a rétegfelvétel-sorozatok áttekintésével végeztük.

3.2.2. A nervus vestibulocochlearis és a nervus glossopharyngeus, nervus vagus és a nervus accessorius jelölése

Kísérleteinket 16 kecskebékán végeztük el. Altatás után oropharyngealis megközelítésből az állatok szájnyálkahártyáját a középvonalban átvágtuk. Jobb oldalon felnyitottuk a capsula oticumot és a falának egy részét, eltávolítottuk. Ezáltal láthatóvá vált a nervus vestibulocochlearis, amelyet a ganglion vestibulare-től medialisán átvágtunk. A részben eltávolított capsula oticum mögött láthatóvá vált a n. glossopharyngeus, a n. vagus és a n. accessorius egyesült idegtörzse, amelyet a ganglion jugularetól (n. X) proximalisan átvágtunk. Az idegek izolálása, jelölése, a seb zárása a 3.2. fejezetnek megfelelően történt. A nervus vestibulocochlearist fluorescein dextran aminnal (FDA, 3000 MW, Molecular Probes), a nervus glossopharyngeust, a nervus vagust és a nervus accessoriust, pedig

tetramethylrhodamine dextran aminnal (RDA, 3000 MW, Molecular Probes) jelöltük meg. Az 5 napos túlélési idő után a minták feldolgozása a fent leírtaknak megfelelően történt. Az eltávolított agyból a kisagy alatti agytörzs részletet használtuk fel.

3.3. Neurobiotin jelölés

Irodalmi adatok alapján ismert, hogy bizonyos kis molekulatömegű anyagok átjutnak a gap junctionokon, és ilyen módon a jelölőanyag kimutathatóvá válik a pre- és a postszinaptikus neuronban is. A jelenséget dye-coupled kapcsolatnak nevezték el (Pereda, 1995) és a módszert a gap junction kapcsolatok fénymikroszkópos szintű kimutatására alkalmazzák (Birinyi és mtsai., 2001; Bácskai és Matesz, 2000; Rácz és mtsai., 2006), miután a gap junction való átjutás bekövetkeztét fiziológiai és elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményei is bizonyították. Annak eldöntésére, hogy a n. III és a n. IV motoneuronjai, illetve a n. VIII rostjai és a n. IX-X motoneuronjai között vannak-e gap junction típusú kapcsolatok, a következő vizsgálatokat végeztük el.

3.3.1.A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis jelölése neurobiotinnal

Ezekben a kísérletekben, egy állatban csak az egyik agyideget jelöltük. Mind a n. nervus oculomotorius mind a nervus trochlearis esetében 3-3 állatot használtunk. Az állatokat elaltattuk és a megfelelő ideget a 3.2. fejezetben leírt módon preparáltuk ki és vágtuk át. Az izolálásra használt szilikon olaj és zsír keverékéből készített vályúba egy vékony egyik végén leforrasztott üvegcsövet helyeztünk, amelybe előzőleg 5%-os neurobiotin-oldatot (Vector) töltöttünk. Kihegyezett végű rovartű segítségével az ideget a folyadékot tartalmazó csőbe helyeztük és a cső végét a szilikonos keverékkel lefedtük. A sebet a korábbiakban leírt módon zártuk. A 12 °C-on tartott békákat 3 nap múlva újraaltattuk a korábban leírt módon. Ezt követően fiziológiás sóoldattal, majd 4%-os paraformaldehiddel (pH=7,4) transcardialisan perfundáltuk. Az agyat eltávolítottuk és egy éjszakán át az előzőekben leírt módon fixáltuk. A mintát 0,1 M foszfát pufferben (PB) mostuk, majd 10% és 20%-os szacharóz oldatban tartottuk ülepedésig. Vibratom segítségével 60 µm vastag metszeteket készítettünk. A szeleteket 10 percig 0,1 M PB-ben illetve PBS-ben mostuk, és egy órán át 0.001% Extravidint (Sigma, St. Louis, MO) tartalmazó PBS-ben inkubáltuk. A mintákat ezután 10 percig mostuk PBS-ben, 0.1 M PB-ben és 0.05 M TRIS pufferben (pH=8), majd 0.075% diaminobenzidint

(Sigma, St.Louis, MO), 0.6% nickel-ammónium szulfátot, és 0.015% hidrogén peroxidot tartalmazó 0.05 M TRIS pufferbe helyeztük a fekete színű csapadék megjelenéséig. A metszeteket végül TRIS pufferben mostuk és zselatinnal borított fedőlemezre tettük. A mintákat egy éjszakán át, száradni hagytuk és DPX-szel (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo) fedtük le. A metszetekről Nikon Eclipse 800 típusú mikroszkóp segítségével készítettünk képeket.

3.3.2. A nervus vestibulocochlearis jelölése neurobiotinnal

A vestibularis afferens rostok és a nucleus ambiguus motoneuronok közötti gap junction típusú kapcsolatok vizsgálatához a nervus vestibulocochlearist a 3.2.2. fejezetben leírt módon kipreparáltuk és a ggl. vestibulare-tól medialisan átvágtuk. A neurobiotin alkalmazása, a túlélési idő és a feldolgozás a 3.3.1.-ban .

A békákat (n=3) 5 napig 12°C-n tartottuk, ezután újraaltattuk. A neurobiotinos minták feldolgozása a fent leírtaknak megfelelően történt.

3.4. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

A nervus oculomotorius és n. trochlearis motoneuronjai közötti dendrodendritikus és dendroszomatikus kapcsolatok morfológiai részleteinek tanulmányozásához elektronmikroszkópos vizsgálatokat végeztünk. A kísérletekhez 3 kecskebékát használtunk. Az állatok altatását a korábban leírt módon végeztük, majd fiziológiás sóoldattal, illetve 2%-os paraformaldehidet és 1,25%-os glutáraldehidet tartalmazó fixálószerrel (pH=7,4) transcardialisan perfundáltunk. A mesencephalonból kivágtuk a nucleus oculomotoriust tartalmazó részt, majd 1%-os 40 perces ozmium-tetroxiddal (TAAB, 0,1 M PB-ben, pH=7,4-ben oldva) történő utófixálásnak vetettük alá. Ezt követően felszálló alkohol sorban dehidráltuk és epoxi-gyantába, (Durcupan ACM, Fluka) ágyasztuk. A blokkokból félvékony metszeteket készítettünk, majd az oculomotorius és trochlearis magokat tartalmazó területekből ultravékony metszeteket készítettünk Reichert ultramikrotóm segítségével. A hártvás gridre helyezett (Formvar-coated nikkel grid) metszeteket, ezt követően uranil-acetáttal (5,0%-os abszolút alkoholban oldva) 20 percig és ólomcitráttal (Reynolds-oldat) 10 percig kontrasztoltuk. Az elektronmikroszkópos felvételeket Jeol 1010 elektronmikroszkóppal készítettük.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

4.1. Az oculomotorius és a trochlearis motoneuronok közötti kapcsolatok vizsgálata

4.1.1. A n. oculomotorius és a n. trochlearis fluoreszcens jelölése

A nervus oculomotorius RDA-val történt jelölése után a mesencephalon tegmentumának ventromedialis részében jelölődtek a motoneuronok. A jelölt sejtek legnagyobb számban az azonos oldalon voltak, ezeknek a sejteknek az axonjai egyenes lefutás után hagyták el az agytörzset. Az RDA alkalmazásával ellentétes oldalon is jelölődtek perikaryonok az oculomotorius mag caudalis végében, amelyeknek az axonjai térdet képeztek az azonos oldali sejtek körül és a jelölés oldalán, hagyták el az agytörzset. A dendritek legyezőszerűen ágazódtak el, ezen belül a leggazdagabban elágazódó dendritfát dorsomedialis és ventrolateralis irányban találtuk. Mindezek mellett, egy erőteljes dendritköteg a mag caudalis pólusától indulva benyomul a trochlearis motoneuronok közé.

A n. trochlearis FDA-val történt jelölése után a trochlearis motoneuronok a mesencephalon caudalis részében jelölődtek. Az axonok dorsolateralis eredés után a szürke és a fehérállomány határán haladtak dorsalis irányba, majd az ellenkező oldalra kereszteződve léptek ki az agytörzsből. A dendritek kisebb része dorsalis, nagyobb része lateralis irányba követhető, ezen kívül egy rostral felé irányuló dendritköteg is megfigyelhető, amely az oculomotorius mag perikaryonjai közé követhető. Mindkét mag esetében a jelölődött motoneuronok elhelyezkedése és morfológiája hasonló volt, amit korábban az irodalomban leírtak. A kétféle jelöléssel készült felvétel egymásra vetítésekor megfigyeltük, hogy az oculomotorius perikaryonok és dendritek között nagy számban voltak trochlearis dendritek, és fordítva: a trochlearis motoneuronok sejtteste és dendritjei között az RDA-val jelölődött oculomotorius dendritek voltak jelen. Az oculomotorius és trochlearis neuronok dendritjei nagy számban keveredtek egymással a magok által határolt területen kívül is. Konfokális mikroszkópos felvételeken nagyszámú érintkezést tudtunk detektálni mindkét mag területén. Az oculomotorius magban 2210 kapcsolatot számoltunk meg, amelynek 86%-a dendrodendritikus volt, a maradék 14% dendroszomatikusnak bizonyult. Hasonló eloszlást tapasztaltunk a trochlearis mag területén is: az ide érkező oculomotorius dendritek 82%-a dendrodendritikus kapcsolatot alakított ki, a maradék 18% pedig dendroszomatikus

kontaktusokat létesített. A trochlearis magban összesen 485 szoros összefekvést találtunk $0,1 \text{ mm}^2$ -en. A kapcsolatok száma és azok típusának aránya hasonló volt az egyes állatokból származó mintákban. Az egymással szomszédos részletek közötti távolság a membránok igen közeli elhelyezkedésére utalt.

4.1.2. A n. oculomotorius és a n. trochlearis jelölése neurobiotinnal

A nervus oculomotorius neurobiotinnal történő jelölése esetén csak ott jelölődtek motoneuronok, ahol azokat korábban akár kobalt jelöléssel, akár RDA-val láttuk. Hasonlóképpen, amennyiben a nervus trochlearist jelöltük meg, a jelölőanyag csak a trochlearis motoneuronokban volt kimutatható. Tehát egyetlen esetben sem találtunk dye-coupled kapcsolatokat az oculomotorius és a trochlearis mag motoneuronjai között.

4.1.3. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

Az oculomotorius és a trochlearis mag területéről származó elektronmikroszkópos mintákban a neuronok a jól ismert morfológiai képet mutatták. A sejttesteken és a dendriteken végződött axonterminálisok egy része kerek, más része lapos vesiculákat tartalmazott. A neuropil területén számos, egymáshoz közel elhelyezkedő dendritet lehetett megfigyelni. Gyakori volt, hogy 4-8 szomszédos dendrit kötegeket alkotott. Ezeket az aggregátumokat a szakirodalom dendrodendritikus "thickets"-eknek nevezte el. Ezen "thickets"-ben, az egymással összefekvő dendritek párhuzamosan vagy merőlegesen futottak egymáshoz képest. A dendritek átmérője $0,5$ - $4,5 \text{ }\mu\text{m}$ között volt, és viszonylag nagy felületen, 2 - $3 \text{ }\mu\text{m}$ hosszú membránszakaszokon, érintkeztek egymással. Az összefekvő membránok közötti rés vastagsága egyenletes volt, nem találtunk gap junctionra utaló keskeny réseket. Ugyancsak nem találtunk szinaptikus denzitásra jellemző képleteket, sem pedig szinaptikus vesiculákat.

A gap junctionok hiányára utal, hogy a n. oculomotoriusra helyezett kis molekulatömegű jelölőanyag alkalmazása esetén nem találtunk jelölődött dye-coupled neuronokat a trochlearis magban vagy fordítva, a n. trochlearis felől sem jelölődtek neuronok az oculomotorius magban. A dye-coupled kapcsolatokat általánosan elfogadják az irodalomban, mint a gap junction kapcsolatok fénymikroszkópos detektálására alkalmas módszert.

Korábbi elektrofiziológiai vizsgálatokban elektromos szinaptikus transzmisszióra utaló jeleket regisztráltak béka gerincvelői motoneuronok között, ugyanakkor

elektronmikroszkópos vizsgálatokkal nem találtak gap junctionokat. Az eltérések az elektrofiziológiai és a morfológiai eredmények között azokkal a kísérleti adatokkal magyarázhatók, amelyek azt bizonyították, hogy morfológiailag igazolható gap junction nélkül is lehetséges a két neuron közötti ingerület-átvitel. Ennek egyik feltétele az alacsony membrán ellenállás, a másik pedig, hogy a szomszédos membránok nagy felületen érintkezzenek. Ezt a két kritériumot a fiziológiai és az elektronmikroszkópos vizsgálatok igazolták. Az oculomotorius és a trochlearis neuronok esetében fiziológiai adatok nincsenek, de vizsgálatainkban igazoltuk a hosszan összefekvő membránokat a szomszédos dendritek között. Az elektrotónusos ingerület-átvitel hatékonyságát tovább fokozhatják a „dendrit thicket”-ek vagy dendritnyalábok, ahol az egymás mellett futó, szoros membránösszefekvést mutató 4-8 dendrit között nagyon gyors lehet a kommunikáció. A dendritek közötti ingerület-átvitelt különböző emlős fajokban is kimutatták. Gerincvelői motoneuronok esetében azt találták, hogy a motoneuronok dendritkötegei benyúlnak a szomszédos gerincvelői szegmentumba, és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal igazolták, hogy e struktúrák között membrán összefekvések jönnek létre, ahol esetenként gap junctionok ismerhetők fel. Felnőtt macskán végzett elektrofiziológiai kísérletekkel kimutatták, hogy gerincvelői motoneuronok között rövid latenciájú kapcsolatok vannak, ami arra utal, hogy a dendrit kötegeknek jelentősége lehet a motoneuronok működésének szinkronizálásában. A dendrodendritikus ingerület-átvitel lehetőségét béka és egér kétoldali hypoglossus motoneuronjainak dendritjei között is igazolták fiziológiai és morfológia kísérletekben.

A n. III és a n. IV motoneuronjai között ismertett közvetlen kapcsolat a külső szemizmok együttműködését tekintve az alábbi módon interpretálható. A m. rectus inferior (MRI) és a m. obliquus superior (MOS) együttműködnek a szemgolyó süllyesztésekor. Ezen kívül kisebb mértékben hozzájárulnak a szemgolyó kifelé térítéséhez és a horizontális tekintéshez. Az általunk alkalmazott jelölési kombináció – egyik oldali n. oculomotorius és az ellenoldali n. trochlearis jelölése - esetén dendrodendritikus kapcsolatok biztosíthatják a MRI és a MOS szinkronizált összehúzóását. A test elmozdulása során a hártýás labirintusban található receptorok aktiválódnak, ahonnan a vestibularis ganglionsejtek továbbítják az ingerületet az agytörzshez. A belépő primer afferens vestibularis rostok kémiai szinapszison és gap junctionon keresztül létesítenek kapcsolatot a szekunder vestibularis neuronokkal. A gap junctionokon keresztül a szomszédos, addig inaktív vestibularis terminálisok is depolarizálódhatnak. Ennek következtében egyre több szekunder vestibularis neuron aktiválódik, ami növeli a vestibularis bemenetek hatékonyságát. A másodlagos vestibularis neuronok kémiai szinapszison keresztül serkentő és gátló impulzusokat küldenek az

oculomotorius és a trochlearis magokhoz, és a kémiai szinapszis mellett gap junctionokat is igazoltak. A két mag motoneuronjai között lévő elektrotónusos kapcsolat biztosítja az általuk beidegzett izmok szinkron működését. A rendszerben lévő egyéb agyterületek és azok kapcsolatai további finomhangolást tesznek lehetővé. Ezek egyike a kisagyon keresztül valósul meg, amelynek szemcsesejtjei a primer afferens vestibularis rostokból és a szekunder vestibularis neuronokból is kapnak bemenetet kémiai úton és gap junctionokon keresztül. A szemcsesejtekből az ingerület moharostokon továbbítódik a Purkinje sejtek felé. A kisagyi kimenet a Purkinje sejteken és a kisagyi magon keresztül a vestibularis magokba érkezik, módosítva a szekunder vestibularis magok működését. A rendszer további tagja a basalis opticus mag, amely a nervus opticuson keresztül elsősorban az ellenoldali szemből kap bemenetet békában. Ismert a BON reciprok kapcsolata a kisaggyal, azonban ennek serkentő vagy gátló természetéről nincsenek adatok. Morfológiailag igazolt, hogy az oculomotorius neuronok dendritjei közvetlen kapcsolatban vannak a BON-ba érkező retinalis afferensekkel, de ezeknek a kapcsolatoknak a jellegéről sincsenek adatok.

4.2.A nervus vestibulocochlearis, nervus glossopharyngeus és nervus vagus centralis kapcsolatai

4.2.1. A n. vestibulocochlearis és a nervus glossopharyngeus és vagus jelölése különböző fluoreszcens jelölőanyagokkal

Az FDA-val jelölt vestibularis afferens rostok a korábbi kísérletek során leírt mintázatnak megfelelő eloszlást mutattak. A n. IX, n. X és n. XI RDA-val történő jelölése is hasonló megoszlást mutatott, mint ami az irodalmi adatokból ismert. Az RDA és FDA jelölés együttes vizsgálata azt mutatta, hogy a n. accessorius perikaryonjai és azok dendritjei a vestibularis rostok végződési területén kívül esnek, így az accessorius motoneuronokat a továbbiakban nem elemezzük. A n. vestibulocochlearis rostjainak valamint a n. IX és n. X motoneuronjainak és érző rostjainak átfedési területe az obextől kb. 2400 µm-re rostralisán kezdődött, és caudalis irányba 1400 µm hosszúságban folytatódott.

Ezen a területen belül az FDA-val jelölődött primer afferens vestibularis rostokat, amelyek vastag rostok voltak, a vestibularis magkomplexbe tudtuk követni. A rostok egy része, körbevéve a nucleus tractus solitarii dorsalis vagy dorsomedialis oldalát, medial felé folytatódott a formatio reticularis területére, ahol nagyszámú, vékony kollaterálist adtak. A n.

glossopharyngeus gyökerének belépésénél a vestibularis rostok keveredtek a motoneuronok sejttesteivel és dendritjeivel. Ezek a motoneuronok a garat m. petrohyoideus anteriorját látják el. A n. IX gyökerétől caudalisabban a vestibularis rostok jelentős része eléri a formatio reticularis zona reticularis lateraleját, ami egy kissejtes területet a nucleus tractus solitarii közelében. Ezen a területen RDA-val jelölődött kisméretű idegsejtek voltak, hasonló elhelyezkedésben és rostrocaudalis magasságban, mint ahogy a ramus gastricus, cardiacus és pulmonalis szelektív jelölése esetén voltak a kisméretű neuronok. Ezen kívül vestibularis rostokat találtunk azoknak a nagy sejtjeinek perikaryonjai és dorsomedialis dendritjei között is, amelyek a garat m. petrohyoideus posteriorját és a gége izmokat látják el. Nagy számban figyeltünk meg a nucleus tractus solitarii-ba futó, FDA-val jelölt vestibularis rostokat is.

Konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével nagyszámú kapcsolatot tudtunk kimutatni a vestibularis afferens rostok és a nucleus ambiguus sejtteste és dendritjei között. A kétdimenziós (XY) felvételeken nem fedeztünk fel részt az FDA/RDA-al jelölt részletek között, ami arra utal, hogy a szoros kapcsolatok közé nem ékelődnek be gliasejtek és neuronális elemek. Megszámoltuk a közeli kapcsolatokat a nucleus ambiguus rostralis részén, ahol a garatizomzat (m. petrohyoideus anterior) somatomotoros neuronjai helyezkednek el, itt a közeli kapcsolatok száma $48,3 \pm 3,6$ volt $0,1 \text{ mm}^2$ – es területen. A nucleus ambiguusnak a gyomor, a szív és a tüdő visceromotoros neuronjait magában foglaló középső területén, az obextől rostralisán körülbelül $1300 \mu\text{m}$ -re, a közeli kapcsolatok száma $59,4 \pm 3,4$ volt $0,1 \text{ mm}^2$ -enként. Ugyanebben a magasságban a garat m. petrohyoideus posteriorját és a gégeizmokat beidegző somatomotoros neuronok valamint a vestibularis rostok közötti szoros kapcsolatok száma $46,5 \pm 3,8$ volt $0,1 \text{ mm}^2$ –es területen.

4.2.2. A n. vestibulocochlearis jelölése neurobiotinnal

A nervus vestibulocochlearis neurobiotinnal történő jelölése a vestibularis rostokat és végződéseket mutatta ki a vestibularis magokban a korábbi jelölési módszerek eredményeihez hasonlóan. Ezen kívül, a vestibularis magkomplexben elhelyezkedő, másodrendű vestibularis idegsejtek sejtteste közül is sok megjelölődött, és a jelölődés kimutatható volt a nagyobb dendritekben is. Ez a lelet a korábbi eredményekhez hasonlóan dye-coupled kapcsolat jelenlétére utalt a vestibularis afferens rostok és a secunder vestibularis neuronok között. Ugyanakkor sem a nucleus ambiguus területén, sem pedig az agytörzs vestibularis magokon kívüli egyéb részein nem jelölődtek sem perikaryonok, sem dendritek, ami a vestibularis

rostok és a nervus glossopharyngeus, valamint a nervus vagus motoneuronjai közötti gap junction típusú kapcsolatok hiányára utal.

Jelen eredményeink és irodalmi adatok alapján összefoglaltuk a lehetséges neuronális kapcsolatokat béka vestibularis afferens rostjai és nervus glossopharyngeus, illetve nervus vagus efferens idegsejtjei között. A vestibularis receptorok stimulálása aktiválja az afferens vestibularis rostokat, amelyek a vestibularis magok másodlagos neuronjain végződnek, és azokkal gap junction-okat, valamint kémiai szinapszisokat létesítenek. A vestibularis magok neuronjai aktiválják a nervus glossopharyngeus és nervus vagus VM és SM neuronjait, valamint a nucleus tractus solitarii, és a formatio reticularis neuronjait. A labirintusból induló ingerület eljut a formatio reticularisba és a nucleus tractus solitarii-ba is, ahonnan átkapcsolódik a VM és SM neuronokra. Ezek a kapcsolatok poliszinaptikus útvonalat hoznak létre a labirintus és IX, illetve X agyideg efferens neuronjai között. Az elsődleges és a másodlagos vestibularis neuronok közötti gap junction-ok és kémiai szinapszisok kombinációjának valamint a poliszinaptikus útvonalnak köszönhetően a IX és X agyideg motoneuronjai szekvenciálisan aktiválódhatnak. A test hirtelen elmozdulása esetén az impulzus továbbítása a poliszinaptikus útvonalon valószínűleg nem elég gyors a motoneuronok időbeni és pontos aktiválásához, viszont a vestibularis afferens rostok és a n. IX, valamint X agyideg efferens neuronjai közötti monoszinaptikus kapcsolat azonnali választ tesz lehetővé a motoneuronok számára. Mivel ezt a kapcsolatot a vastag vestibularis rostok hozzák létre, ezek gyors ingerületvezetési sebessége ugyancsak hozzájárul a gyors válaszhoz.

A vestibulo-autonom kapcsolatok tekintetében nagyon hiányos ismereteink vannak alacsonyabb rendű gerinces fajok esetében, ezért eredményeinket emlős fajokon, korábban leírtakkal hasonlítjuk össze. Emlős agytörzsben a nucleus tractus solitarii és a formatio reticularis különböző területei, mint például a tegmentum laterale, a vestibularis magokon keresztül ingerelhetők. Topográfiailag az emlősök tegmentum lateraleja a béka zona reticularis laterale-jának felel meg. Ezen a területen figyelhetők meg a vestibularis primer afferens rostok és a n. IX és n. X VM efferens neuronjai is. Emlősök tegmentum lateralejában található szétosztottan a n. IX és n. X VM neuronjai. Az itt végződő kisszámú primer afferens vestibularis rost és a VM-os neuronok lehetséges kapcsolatát a békában általunk alkalmazott kettős fluoreszcens jelöléssel lehetne igazolni vagy elvetni.

4.3. Az alkalmazott módszerek kritikai értékelése

4.3.1. A neuronális jelölési technikák

A neuronális jelölési módszerek alkalmazásával kapott eredmények értékelésekor számos kérdés és kétely fogalmazódik meg a vizsgálóban, amelyek mindegyikére csaknem lehetetlen egyértelmű választ adni. Az egyik lényeges kérdés a módszer szelektivitása, azaz hogy valóban a kívánt struktúrát jelöltük-e meg. Általánosságban elmondható, hogy jelen kísérletekben az agyidegeket egyértelműen tudtuk azonosítani és ezt követően az alkalmazott jelölőanyagokat a megfelelő agyidegek perifériás részére helyeztük. A másik általános kérdés, hogy mennyire volt sikeres a jelölés, a jelölőanyag eljutott-e a neuron minden részébe. Erre a kérdésre a jelenlegi ismereteink szerint csak indirekt választ tudunk adni a korábbi irodalmi adatok figyelembevételével. Így a fluoreszcens jelölőanyagok alkalmazása során a motoneuronok esetében sikeresnek tekintettük a jelölést akkor, ha a motoros magoszlop rostrocaudalis kiterjedése megegyezett az irodalomban található adatokkal és a ventrolateralis dendritfa elérte az agytörzs felszínét. A n. vestibulocochlearis agytörzsi projekciójának kiterjedését illetően is a korábbi irodalmi adatokat vettük irányadónak.

A neurobiotin jelölés alkalmazásával azt kívántuk vizsgálni, hogy az oculomotorius és a trochlearis motoneuronok dendritje, illetve a primer afferens vestibularis rostok valamint a nervus vagus és glossopharyngeus motoneuronjai között vannak-e gap junction típusú kapcsolatok. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy az alacsony molekulatömegű jelölőanyagok átjutnak a gap junctionokon és megjelölik a postszinaptikus neuront, ami dye-coupled kapcsolatnak neveznek és a gap junctionok fénymikroszkópos szintű azonosítására alkalmazzák. A módszer specifikusságát korábban teszteltük békában glycyrrhetin sav (GRA) segítségével, mely a gap junction gátlószere. Ha a neurobiotin jelölést megelőzően GRA-t injektáltunk a primer afferens vestibularis rostok végződési területére, vagy a neurobiotint a GRA-val együtt alkalmaztuk, a dye-coupled jelölődés elmaradt. Mivel jelen munkában nem találtunk dye-coupled kapcsolatokat a vizsgált agyidegek neuronjai között, negatív eredmény kell interpretálni és annak valódiságát alátámasztani. A negatív eredmény hitelességét az támasztja alá, hogy ugyanabban a metszetben a primer afferens vestibularis rostok és a secunder vestibularis neuronok között kimutatható volt a dye-coupled kapcsolat a korábbi eredményekhez hasonlóan, míg a glossopharyngeus és a vagus motoneuronok egyetlen esetben sem jelölődtek.

4.3.2. Mennyiben értékelhetők a különböző fluorokrómokkal jelölt neuronok közötti szoros összefüggések közvetlen kapcsolatoknak?

A neuronok közötti kapcsolatok pontos és egyértelmű morfológiai megítélése elektronmikroszkópos vizsgálatokkal lehetséges. Ugyanígy, csak elektronmikroszkópos vizsgálatokkal lehet egyértelműen kimondani, hogy a két szomszédos dendrit profil közé nem ékelődik be egy harmadik dendrit, vagy éppen egy gliasejt részlete. A konfokális pásztázó mikroszkóp kifejlesztése, majd az egymással feltételezett kapcsolatban lévő neuronok különböző színű fluorokrómokkal történő megjelölése tette lehetővé azt, hogy a munkaigényes elektronmikroszkópos vizsgálatokat részben ki lehessen váltani a neuronok közötti kontaktusok tanulmányozására. Ennek igazolására korrelatív vizsgálatokat végeztek, amelynek során konfokális pásztázó mikroszkópban készített felvételekből három dimenzióban rekonstruálták az egymás mellett lévő, különböző színű fluorokrómokkal jelölt neuron profilokat és meghatározták azok távolságát. A kapott eredményeket összevetették a kiegészítő elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményeivel, és azt találták, hogy megfelelő paraméterekkel rendelkező objektív lencse, fluorokrómok és a Z tengely mentén történő gondos mintaelemzés esetén a konfokális pásztázó mikroszkópban és az elektronmikroszkópban talált kontaktusok száma jó egyezést mutatott.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során azoknak az agytörzsi neuron-hálózatoknak két elemét vizsgáltuk, neuronális jelölési módszerekkel, békában, amelyek a szemmozgások és a vegetatív működések szabályozásának agytörzsi kontrolljában vesznek részt.

Tanulmányoztuk a n. oculomotorius és a n. trochlearis motoneuronjai közötti kapcsolatot. A különböző színű fluorokrómokkal jelölt motoneuronok közötti kapcsolatok konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal történt elemzésével megállapítottuk, hogy a két agyidegi mag motoneuronjai között közvetlen, dendrodendritikus és dendroszomatikus kapcsolatok vannak. A motoneuronok között nem tudtuk a gap junction jelenlétét igazoló dye-coupled kapcsolatokat kimutatni, amit az elektronmikroszkópos vizsgálatok is megerősítettek. Ezekben a vizsgálatokban a szomszédos profilok között szoros membrán-összefekvéseket találtunk, azonban semmilyen membrán specializációt nem sikerült kimutatni. A nagy felszínen történő membrán összefekvés a motoneuronok között elektrotónusos ingerületátvitel lehetőségét biztosítja, amely lehetővé teszi a musculus rectus bulbi inferior és a musculus obliquus bulbi superior szinkronizált összehúzódását a vertikális szemmozgások során.

Eredményeinkkel igazoltuk, hogy közvetlen kapcsolat áll fenn a béka primer afferens vestibularis rostjai és a nervus glossopharyngeus, valamint a nervus vagus somatomotoros és visceromotoros neuronjai között. A kapcsolatokat a vastag vestibularis rostok hozzák létre, amelyeknek a gyors ingerület-vezetési sebessége hozzájárul a gyors válaszhoz. Mivel dye-coupled kapcsolatokat nem tudtuk kimutatni, a n. VIII és a n. IX/X között, valószínűsíthetjük a kémiai ingerületátvitelt. A lehetséges monoszínaptikus kapcsolatok képezhetik a morfológiai alapját annak a hatásnak, amelyet a vestibularis rendszer a vegetatív idegrendszerre, valamint a nyelésben és a légzésben szerepet játszó harántcsíkolt izmokra gyakorol. Ez a kapcsolat teszi lehetővé, hogy az állandóan változó testhelyzetben az életfontosságú szervek működésének folyamatos korrekciója biztosítva legyen.

Vizsgálataink az alap kutatások körébe tartoznak, így közvetlen gyakorlati hasznosításról nem beszélhetünk. Ugyanakkor eredményeink hozzájárulhatnak az egyensúlyozó rendszer kóros működésével kapcsolatos eltérések megértéséhez, hiszen a különböző súlyosságú szédülések, egyensúlyzavarok hatásmechanizmusa nem ismert és kezelésük ma sem megoldott.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Az értekezést megalapozó in extenso közlemények:

1. Tímea Bácskai, Gábor Veress, Gábor Halasi, **Ádám Deák**, Éva Rácz, György Székely, Clara Matesz: Dendrodendritic and dendrosomatic contacts between the oculomotor and trochlear motoneurons of the frog, *Rana esculenta*. Brain Res Bull 75: 419-423. 2008. **IF: 2,281**
2. **Ádám Deák**, Tímea Bácskai, Gábor Veress, Clara Matesz. Vestibular afferents to the motoneurons of glossopharyngeal and vagus nerves in the frog, *Rana esculenta*. Brain Res 1286: 60-65. 2009. **IF: 2,494**

Az értekezést megalapozó könyvfejezet:

1. Matesz, C., Bácskai, T., **Deák, Á.**, Rácz, É., Veress, G., Székely, G.: Using of confocal laser scanning microscope in the examination of neural network underlying the gaze and posture control. In: Fiber Lasers: Research, Technology and Applications. Nova Science Publishers, Inc. New York. pp.1-5.

Az értekezéshez szorosan nem kapcsolódó egyéb in extenso közlemények:

1. Clara Matesz, Gabriella Kovalecz, Gábor Veress, **Ádám Deák**, Éva Rácz, Tímea Bácskai: Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*. Brain Res Bull 75: 371–374. 2008. **IF: 2,281**
2. Barna Kelentey, **Adam Deák**, Tivadar Zelles, Klara Matesz, István Foldes, Gabor Veress, Tímea Bácskai. Modification of innervation pattern by fluoroquinolone treatment in the rat salivary glands. Anat. Rec. 293: 271-279. 2010. **IF: 1,569**
3. Zoltan Zaborszky, Klara Matesz, **Ádám Deák**, Marta Jackel, Gellert Karvaly, Jozsef Furesz, Bakity Boldizsár .Pathological examination of the abdominal compartment syndrome in animal experiment. Közlésre benyújtva a J. Amer. Surgery-hez.2010.

A megjelent közlemények összesített impakt faktora: 8,625.

Kongresszusi absztraktok:

1. Bácskai T, Kelentey B, **Deák Á**, Matesz K: Effect of fluorokinolone treatment on the structures innervating the salivary glands of the rat. IBRO International Workshop, 2006 Budapest, Clin. Neurosci. 2006; 59 (S1):1-72
2. **Deák Á**, Bácskai T, Veress G, Rácz É, Matesz K: Vestibular afferents to the brainstem: morphological substrate for vestibulo-autonomic interaction. IBRO International Workshop, 2006 Budapest, Clin. Neurosci. 2006; 59 (S1):1-72

3. Szabó, Zs., Bácskai, T., **Deák, Á.**, Matesz, K., Veress, G., Sziklai, I: Localization and dendro-dendritic connections of the cochlear efferent neurons in Guinea pig. Congress of The Hungarian Neuroscience Society, 2007 Szeged Clin. Neurosci. 2007; 60 (S1): 1-72.
4. Bácskai T, Kelentey B, **Deák Á**, Zelles T, Skopkó B, Matesz K: Effect of chronic fluorokinolone treatment on the structures innervating the salivary glands of the rat. Congress of The Hungarian Neuroscience Society, 2007 Szeged, Clin. Neurosci. 2007; 60 (S1): 1-72.
5. **Deák Á**, Bácskai T, Rácz É, Matesz, K: Vestibular lesion-induced changes in the expression of hyaluronan in the brainstem. Congress of The Hungarian Neuroscience Society, 2007 Szeged, Clin.Neurosci.2007;60(S1):1-72.
6. Matesz K, Kovalecz G, Veress G, **Deák Á**, Rácz É, Bácskai T. Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta* 5th: ECCN European Conference on Comparative Neurobiology, Paris, 2007
7. **Deák, Á**, Bácskai, T, Rácz, É, Matesz, K Vestibular lesion induced changes in the expression of hyaluronan in the rat brainstem. PENS/Hertie Winter School, "The Design of Neuronal Networks: Contributions from Invertebrates“, Obergurgl, Austria, 2008
8. **Deák, Á.**, Bácskai, T., Matesz , K. Effect of labyrinthectomy on the molecular composition of the perineuronal net in the vestibular nuclei of the rat. IBRO International Workshop, 2008 Debrecen,Clin.Neurosci.2008;61(S1):1-71.
9. **Deák, Á.**, Bácskai, T., Matesz , K. Vestibular lesion-induced changes in the extracellular matrix molecules of the vestibular nuclei of the rat. 6th FENS Forum of European Neuroscience, Geneva , Switzerland, 2008
10. **Deák, Á.**, Bácskai, T., Matesz , K. Vestibular lesion-induced changes in the extracellular matrix molecules of the vestibular nuclei of the rat. Congress of The Hungarian Neuroscience Society XII. Konferenciája Budapest, 2009. In press.
11. Kelentey B., Bácskai T., **Deák Á.**, Skopoko B., Matesz K. Effect of fluorokinolone treatment on the peptidergic innervation of the salivary glands. 73rd Congress of Hungarian Physiological Society, Budapest, 2009.
12. **Deák Á.**, Bácskai T., Veress G. , Matesz K. Effect of labyrinthectomy on the expression of extracellular matrix molecules in the vestibular nuclei of the rat. Influence of degeneration and repair in the CNS and periphery. International workshop, Budapest 2009
13. **Deák, Á.**, Ali Jack Nikkha, Katalin Szakszon, Gaál Botond, Tímea Bácskai, Klara Matesz: Distribution of extracellular matrix macromolecules in the brainstem of rodents, IBRO International Workshop, 2010, Pécs