

Palkovits Miklós

az MTA rendes tagja

AGYPÁLYÁK – IDEGI HÁLÓZATOK

Elhangzott 1995. december 13-án

Az agypályák kutatásának és leírásuknak kezdete a múlt századba nyúlik vissza. Hőskora, az agypályák anatómiai leírása, topográfiai részletezése a századforduló idejére esik. E periódus nagy egyéniségeinek – Kölliker, Cajal, Golgi, Lenhossék – munkái az agypályák anatómiáját barokkos színpompával és gazdagsággal mutatták be, mely mintegy fél évszázadig számos részlettel bővült, de szemléletében nem változott (1–4).

Az 1950-es és 1960-as években a pályakutatásban új irányzat alakult ki, az agypályák kémiai természetének vizsgálata. A „klasszikus” neurotranszmitterek – acetylcholin, dopamin, noradrenalin, adrenalin, neurotensin, GABA és más transzmitter aminosavak – kimutatása a pályákat alkotó neuronokban a leíró, topográfiai anatómiát a funkcionális szemléletű kémiai neuroanatómiává egészítette ki és bővítette tovább (7–11). Az idegtudományok vizsgálati módszereinek az elmúlt 20 évben történt óriási fejlődése az agypályák kutatásának is reneszánszát hozta el. Immunhisztokémiai, molekuláris genetikai vizsgálatok, kísérletes műtétek utáni fény- és elektronmikroszkópos pályajelölési módszerek egész arzenálja áll ma már rendelkezésünkre (12), ismereteink szinte napról napra bővülnek (13). A pályakutatás gazdag hazai hagyományaihoz híven igyekeztünk részt venni e felgyorsult folyamatban. Több, korábban ismeretlen neurális kapcsolatot lokalizáltunk a központi idegrendszeren belül, és számos, már ismert pályát tudtunk kémiaiilag karakterizálni (1. táblázat).

Új pályák lokalizálása sok munkával és örömmel jár. Az igazi áttörést a pályakutatásban a nagyszámú új ismeret eredményezte *szemléleti* változás

jelenti. Három olyan pont van, amit ki kell emelni: 1) Az agypályák nem egyszerű neuronláncolatok, hanem többneuronos hálózatokra épülő funkcionális rendszerek. Két agyterület között minden esetben oda-vissza kapcsolat mutatható ki, és axon-kollaterálisok révén ezen kétoldali „intim” kapcsolatról számos más agyterületre is futnak be egy időben információk. 2) Minden neuronban több transzmitter szintetizálódik, transzportálódik axonálisan, raktározódik és szabadul fel az idegvégződésekből. Ebből adódik, hogy minden agypályában – a nagyobb kötegektől az individuális rostokig – többféle neurotranszmitter mutatható ki. 3) A pályakutatás számtalan finom neuro- és molekulárbiológiai módszer alkalmazásával ma már nem (vagy nem csak) leíró neuroanatómiai módszer, hanem az idegi kapcsolatok „hogyanját”, a történéseket nyomon követő interdiszciplináris tudományág. Legyen szabad e szemléleti változásokat példákkal alátámasztanom.

1. táblázat

Munkatársaimmal elsőként lokalizált neuropeptidek és neurotranszmitterek a különböző agypályákban

acetylcholin a fasciculus retroflexusban	(15)
enkephalin az ansa lenticularisban	(16)
dynorphin a striato-nigralis pályában	(17)
VIP-pályák a limbikus rendszerhez	(18,19)
tegmento-hypothalamikus cholecystokinin pálya	(20)
alsó agytörzsi β -endorphin pálya	(21)
CRF az olivo-cerebellaris pályában	(22)
NAAG a retino-hypothalamikus pályában	(23)
felszálló adrenalin pálya	(24)
galanin a septo-hippocampalis pályában	(25)
NPY a tractus spinalis n. trigeminiben	(26)
CRF (27, 28), somatostatin (29), galanin (30), ANF (31) és dynorphin (32) a tractus hypothalamo-hypophyseosban	

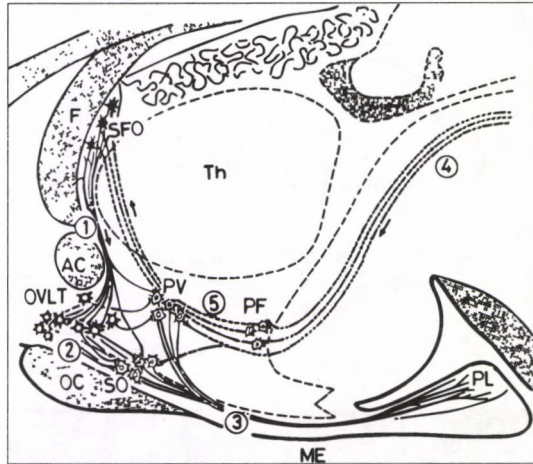
1. Agypályák mint funkcionális rendszerek morfológiai hálózatai

A központi idegrendszer számos regulációs mechanizmusának ismerjük a neuroanatómiai alapjait. Ezekből kettőt mutatok be:

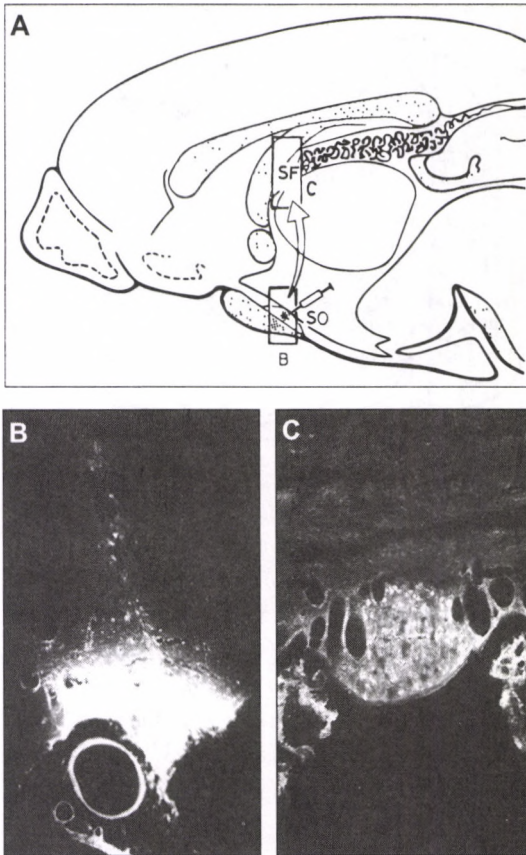
a) A só- és vízháztartás központi szabályozásában részt vevő neuronok hálózata (1. ábra). A keringésben levő angiotensin a subfornicalis szervén át (itt nincs vér-agy gát, ugyanakkor igen magas az angiotensin II receptorok sűrűsége)

kerül kapcsolatba központi idegrendszeri neuronokkal. Innen neurális úton – a subfornicalis szerv angiotensin II-tartalmú neuronjai révén – jut az ingerület az organum vasculosum laminae terminalison (szintén vér-agy gáton kívüli terület) át közvetve, ill. más pályán közvetlenül a nucleus supraopticusba és paraventricularisba. A közvetítő neuronok egy másik, a só- és vízháztartásra ható neuropeptidet – atrial natriuretic peptid (ANP) – használnak transzmitterként. A nucleus supraopticus és paraventricularis magnocellularis neuronjai termelik a szabályozásban résztvevő harmadik neuropeptidet, a vasopressint, mely a magokból axonálisan jut a hypophysis hátsó lebenybe, ahol raktározódik, és adekvát inger hatására a vérpályába jut. A központi idegrendszer más területeiről – főleg a limbikus és autonóm idegrendszeri központokból jövő ingerület az oldalsó hypothalamusban, a nucleus perifornicalisban – levő angiotensin II-tartalmú neuronokhoz fut, melyek a fenti hálózatot a nucleus paraventricularisba és a subfornicalis szervbe futó axonjaik révén befolyásolni képesek (14).

Számos pályajelölési technika alkalmazásával vált ismeretessé ennek a szabályozó mechanizmusnak a morfológiai alapja. A subfornicalis szervnek a keringésben lévő angiotensin II-höz való kitüntetett érzékenységet a szervben az AII receptorok mRNS-ének az agy bármely más területét meghaladó sűrű-



1. ábra. A só- és vízháztartás központi szabályozásának egyszerűsített sémája. Az előagy sagittális síkú metszete. 1 – a subfornicalis szervtől (SFO) a preoptikus areába és az organum vasculosum laminae terminalishoz (OVLT) futó angiotensin II-tartalmú rostok, 2 – a preoptikus areától és az OVLT-től a nucleus supraopticusba (SO) és nucleus paraventricularisba (PV) futó atrial natriuretic hormon (ANH)-tartalmú rostok, 3 – a SO-ból és a PV-ből a hypophysis hátsó lebenyéhez (PL) futó vasopressin-tartalmú pályák, 4 – a gerincvelőből és az agytörzsből a hypothalamusba (SO, PV és nucleus perifornicalis – PF) felszálló pályák, 5 – a PF-ből a PV-be és az SFO-ba futó angiotensin II-tartalmú rostok. További rövidítések: AC – commissura anterior, F – fornix, ME – eminentia mediana, OC – chiasma opticum, Th – thalamus



2. ábra. Retrográd transzportálódó fluoreszkáló jelzőanyag (fluorogold) mikroinjekciója a nucleus supraopticusba, a subfornicalis szervnek közvetlenül a nucleus supraopticusba projiciáló idegsejtjeinek kimutatására.

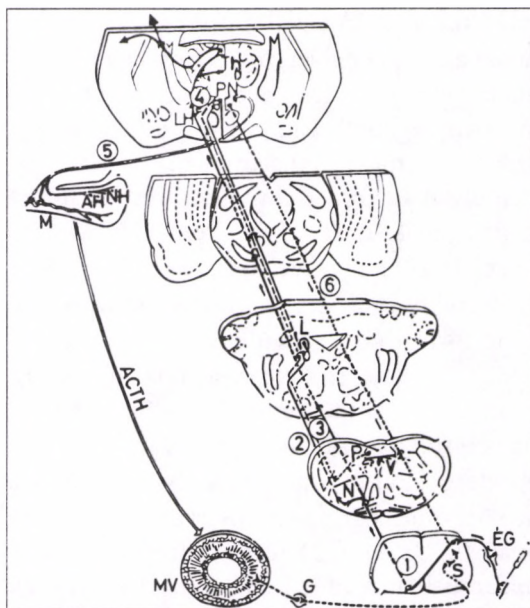
A – Az előagy sagittális sémája (l. 1. ábra) a B és C ábrán látható terület bejelölésével.

B – jelzőanyaggal feltöltött nucleus supraopticus (frontális metszet),

C – subfornicalis szerv jelzett idegsejtjei.

A SO-ba injektált jelzőanyagot az axonvégződések felvették, és retrográd a sub-fornicalis szerv idegsejtjeibe transzportálták

ségével *in situ* hibridizációs hisztokémiai módszerrel lehet igazolni. A subfornicalis szervben levő neuronok közvetlen projekcióját a preoptikus areába és a nucleus supraopticusba ún. retrográd pályajelölési módszerrel demonstráltuk: a nucleus supraopticusba mikroinjektált jelzőanyagot (fluorogold) az idegvégződések felvették, és visszafelé az axonon át a sejttestbe transzportálódtak, ott raktározva a perikaryonokat láthatóvá tették (2. ábra). A preoptikus areában immunhisztokémiai módszerrel mutattuk ki az ANF-pozitív neuronokat, melyekről kísérletes úton (radioimmuno vizsgálatokkal) igazoltuk a só- és vízháztartás változására való kitüntetett érzékenységüket (14). A nucleus supraopticus és paraventricularis vasopressin-termelő neuronjainak morfológiája és szerepe a klasszikus neuroendokrinológia első felismerései közé tartozik, viszont a preoptikus ANP- és perifornicalis AII-neuronokhoz való afferens kapcsolatuk létének igazolása pályajelölési és immunhisztokémiai módszerek együttes alkalmazását igényelte. Ez esetben retrográd pályajelölés helyett „anterográd” technikát alkalmaztunk, amikor egy lec-



3. ábra. A fájdalom okozta stressz és stresszválasz pályái. Az agy és gerincagy frontális átmetszeteinek sémája a felszálló (1–4) és leszálló (5, 6) pályák feltüntetésével. A fájdalomérző rostok a spinális érződuccok (EG) idegsejtjei útján a gerincvelőbe jutnak, és átkapcsolódás után zömmel a spinothalamikus pályán (1) felszállnak a thalamusba. Az ingerület az agytörzsi kollaterálisok révén eljut a ventrolateralis nyúltvelőben (N) és a locus coeruleusban (L) levő catecholamin-tartalmú idegsejtekhez, ahonnan felszálló catecholamin-pálya (2) megy a nucleus paraventricularishoz (PN). A spinothalamikus pálya további axonkollaterálisai végződnek az agytörzs más magjain [nucleus tractus solitarii (P), formatio reticularis], ahonnan további – peptiderg – axonok (3) futnak felfelé és végződnek a PN-ben. A spinothalamikus pálya további kollaterálisai a lateralis hypothalamusban (LH) végződnek, és onnan átkapcsolódva jutnak a PN-be (4). A nucleus paraventricularis CRF, vasopressin- és oxytocin-tartalmú rostjai részben neurohumorális úton (5) a hypophysis elülső

lebenyéből (AH) ACTH-t szabadítanak fel, vagy neurális úton, a gerincvelőbe leszálló pálya (6) révén hatnak a mellékvesekéreg (MV) működésére. További rövidítések: G – perifériás szimpatikus ganglion, M – eminentia mediana, NH – hypothalamus-hipophysis hátsó lebenye, S – gerincvelő oldalsó szarva, szimpatikus preganglionáris neuronok, Th – thalamus, V – paraszimpatikus vagus mag.

tint – Phaseolus vulgaris leucoagglutinin – vittünk be mikroiontoforézissel a perifornicalis magba, ahol azt a sejtek felvették, és axonálisan „előrefelé” transzportálták az idegvégződésekre. Az idegvégződésekre felgyülemelő jelzőanyag preszinaptikusan mutatható ki, miközben a „beidegzett” idegsejt (posztiszinaptikus oldal) immunfestéssel kémiaiilag karakterizálható.

b) A fájdalomstressz és a stresszválasz anatómiai pályája. A fájdalom a tudatos érzékelésen, valamint a tudatos és reflex-válaszokon kívül autonóm idegrendszeri és hormonális választ is eredményez. Ez utóbbi mechanizmusok morfológiai alapjait a fel- és leszálló pályák nyomon követésével mutathatjuk be (3. ábra). A fájdalmat kísérletünkben 4%-os

formalinnak subcutan injekciójával váltottuk ki. A fájdalomingerületet szállító érzőpálya első neuronja az érződúcokban foglal helyet, nyúlványai a gerincvelő hátsó szarvában, ill. a nyúltvelőben végződnek. Innen indul ki az érzőpálya második neuronja, mely a thalamusban végződik (tractus spinothalamicus). Ezen második neuronok axonjai azonban nemcsak a thalamus magvaiban végződnek, hanem kollaterálisai révén olyan agyterületekre is szállítanak információt, melyek a stressz-választ organizálják. Ezek a következők: 1) Az agytörzs catecholaminerg neuronjai. Ezek közül a nyúltvelő hátsó ventrolateralis sejtcsoportja a hypothalamusba és a limbikus rendszerbe, a locus coeruleusban lévő zömmel az agykéregbe és a törzsdúcokba, a nyúltvelő elülső ventrolateralis sejtcsoportjában lévő pedig a gerincvelőbe projiciálnak (3. ábra). 2) Axon-kollaterálisok végződnek az autonóm idegrendszer elsődleges központjában, a nyúltvelő dorsomedialis területén (nucleus tractus solitarii) és a formatio reticularisban. Innen peptiderg axonok indulnak ki és végződnek a hídban lévő másodlagos autonóm központokban, ill. a hypothalamus és az agykéreg ún. modulációs központjaiban (3. ábra). 3) A felszálló érzőpálya az agytörzsön kívül a lateralis hypothalamusban is ad le kollaterálisokat, melyek átkapcsolódás után zömmel a nucleus paraventricularisban végződnek (3. ábra). – A hypothalamus nucleus paraventricularisának sejteiből (corticotrop releasing hormont – CRF –, vasopressint, oxytocint termelő neuronok) két irányba indulnak ki pályák, melyek a stresszválasz szempontjából központi szerepet vivő mellékvese működését (mind a mellékvesekéreg corticosteron-termelését, mind a mellékvesevelő catecholamin-produkcióját) szabályozzák (3. ábra): 1) neurohumorális pálya: a nucleus paraventricularisból kiinduló tractus hypothalamo-hypophyseos rostjai az eminentia mediana kapillárisain végződnek, ahonnan humorális úton (portális keringés) a hypophysisbe jutnak, és ACHT-t szabadítanak fel (3. ábra), 2) neurális pálya: a nucleus paraventricularisból leszálló rostok a nyúltvelő (vagus-magok), valamint a gerincvelő (oldalsó szarv) preganglionaris vegetatív idegsejteken végződnek (3. ábra). Az innen kiinduló axonok a perifériás vegetatív dúcokban átkapcsolódnak, és jutnak el a mellékveséhez (33).

2. Neuropeptidek együttes szintézise és összetett szerepük az idegsejtek működésében

Az idegsejtek által termelt peptidek (neuropeptidek) szerepének intenzív kutatása az 1970-es évektől vette kezdetét. A már korábban megismert vasopressin és oxytocin mellett a neuropeptideknek egy csoportját fedezték fel a hypothalamusban, melyek a hypophysishormonok elválasztásáért felelősek („releas-

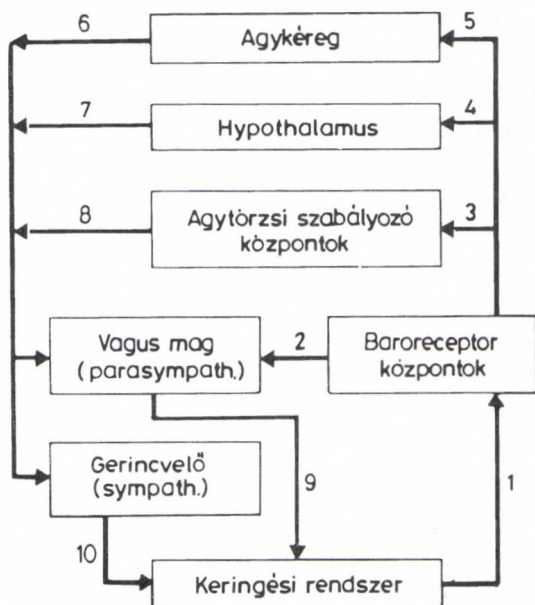
ing” és „release-inhibiting” hormonok). Igazolást nyert azonban, hogy e neurohormonális szerep mellett a hypothalamo-hypophysis rendszeren kívül ugyan ezen neurohormonok (és számos további neuropeptid) szinaptikus végződéseken is jelen vannak, és onnan felszabadulva, neurotranszmitter- (vagy a klasszikus neurotranszmitterektől elkülönítendő „neuromodulátor”-nak nevezett) szerepet tölthetnek be (34–36). Beigazolódott, hogy a) egy-egy funkcionális rendszeren belül számos neuropeptid visz neurotranszmitter- (neuromodulátor-) szerepet, b) ugyanazon idegsejt több neuropeptidet, ill. neuropeptidet és klasszikus neurotranszmittert képes szintetizálni, c) igazolni tudtuk, hogy ugyanazon idegsejt kollaterálisai végződhetnek idegsejteken és kapillárisokon egyaránt, miáltal ugyanazon neuropeptid a hatáshelyétől függően – neurohormonális és neurotranszmitter-szerepet egyaránt betölthet (36), d) e kettős hatáson kívül – adott élettani vagy kóros szituációkban – neuropeptidek szerepet vihetnek az idegsejt regenerációjában, ill. egyes szituációkból való túlélésben (25). Az itt felsorolt neuropeptid-tevékenységekre egy-egy példát mutatok be.

a) Számos peptiderg idegsejt részvétele a központi baroreceptor-szabályozó mechanizmusban

A központi idegrendszer egyes szabályozó mechanizmusában több peptiderg idegsejt vesz részt. Valamennyi központi idegrendszeri szabályozásban több sejtszövet („központ”) vesz részt, ezek számos helyről kapnak információt, és a „fő” szabályozási vonalon kívül az idegrendszer számos más területéhez (más szabályozó központokhoz) szállítanak információkat. E széles körű afferens és efferens idegi kapcsolatokban a neuropeptidek és a klasszikus neurotranszmitterek egész arzenálja vehet részt. Erre példa a központi baroreceptor-szabályozó mechanizmus (4. ábra, 2. táblázat). A szabályozásban részt vevő, a perifériától a különböző központokig felszálló, onnan az efferens neuronokhoz leszálló, majd a perifériára visszafutó neuronokat – csupán didaktikai szempontból – minimum tízlépcsős pályarendszerbe csoportosíthatjuk (37). A pályarendszer minden szakaszában számos peptiderg, aminerg és cholinerg neuron vesz részt.

b) Neuropeptidek és klasszikus neurotranszmitterek kollokalizációja ugyanazon idegsejteken

Az elmúlt két évtized vizsgálatai egyértelműen igazolták, hogy túlhaladott az a szemlélet, mely szerint egy idegsejt csak egyféle neurotranszmittert képes termelni. Sőt, nincs olyan idegsejt a központi idegrendszerben, amely csak egyet-



4. ábra. A baroreceptor-szabályozás egyszerűsített blokk-sémája. A perifériás baroreceptorokból kiinduló pálya (1) első átkapcsolóhelye a nyúltvelőben levő primer baroreceptor-központ (nucleus tractus solitarii). Innen rövid (reflex-) pálya fut a paraszimpatikus nucleus dorsalis vagi és nucleus ambiguus sejtjeihez (2), ahonnan preganglionaris efferens rostok mennek a perifériás vegetatív ganglionsejtekhez, majd onnan a szívhez és az erek falához (9). A primer baroreceptor-központból felszálló pálya (3) megy az agytörzsi szabályozó központokhoz („vasomotor”-, „vasodepressor”- központok, tegmentum pontis), a hypothalamushoz (4), az agykéreghez (5) és a limbikus rendszerhez. Az agykéregből (6), a hypothalamusból (7) (paraventricularis, perifornicalis, arcuatus magok), az agytörzsi központokból (8) leszálló pályák mennek a nyúltvelői paraszimpatikus és gerincvelői szimpatikus preganglionaris idegsejtekhez, onnan a perifériára (9,10). Valamennyi pályában számos neurotranszmitter (l. 2. táblázat) visz szerepet a baroreceptor-ingerület, ill. a baroreceptor-válasz továbbításában

lenegy transzmittert szintetizálna (34). Számos anyag együttes szintézise, raktározása és transzportációja lehetséges ugyanazon idegsejten belül. Közülük több állandóan kimutatható mennyiségben van jelen, míg mások látens állapotban vannak, és csak bizonyos extrém szituációkban válnak kimutathatóvá. Létezésük azonban igazolható, mert genetikus kódjuk, *in situ* hibridizációs technikával kimutatható mRNS-ük a sejtben jelen van (38).

c) Neuropeptidek kettős, hormonális és neurotranszmitter-szerepe

Kettős immunhisztokémiai festéssel igazolható, hogy hypothalamikus neuronok az eminentia medianában releasing hormonjaikat az érpályába ürítik, ugyanakkor axon-kollaterálisuk egy másik hypothalamikus sejtben végződve, neurotranszmitter (neuro-modulátor)-hatást fejtenek ki. Példa erre annak igazolása, hogy a hypophysis növekedési hormonjának szabályozása hypothalamikus szinten is végbe megy: a növekedési hormon releasing hormont (GRF) ter-

*Az autonóm idegrendszeri szabályozásban – köztük a baroreceptor-szabályozásban – részt vevő, eddig megismert neurotranszmitterek
(A pályarendszer egyes szakaszainak – 1–10-ig jelölve – ismertetésére l. 4. ábra)*

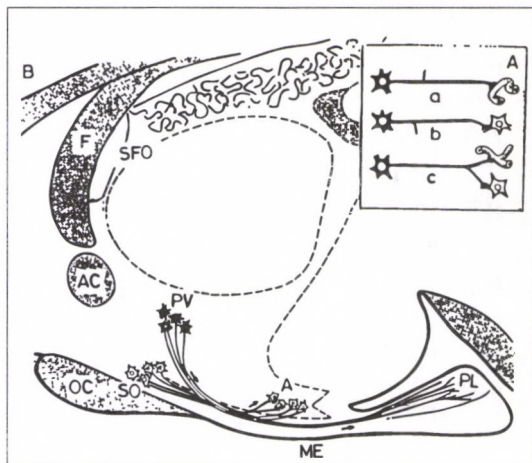
- 1 – glutamát, substance P, cholecystokinin (CCK), vasoaktiv intestinalis polipeptid (VIP) somatostatin, calcitonin gene-related peptid (CGRP)
- 2 – pro-opiomelanocortin hormonok (POMC) = ACTH, β -endorphin, α -MSH, somatostatin
- 3 – glutamát, enkephalin, neurotensin, neuropeptid Y (NPY), substance P
- 4 – enkephalin, somatostatin, substance P, CCK, neurotensin, dynorphin, bombesin, noradrenalin, adrenalin
- 5 – noradrenalin, NPY
- 6 – glutamát, aszpartát
- 7 – corticotropin releasing hormon (CRF), oxytocin, vasopressin, POMC, angiotensin II.
- 8 – adrenalin, GABA, serotonin, substance P, thyreotrop releasing hormon (TRH), enkephalin
- 9 – acetylcholin, galanin
- 10 – acetylcholin

melő hypothalamus-neuronok axon-kollaterálisai a nucleus periventricularis somatostatin-tartalmú neuronjain végződnek, míg ezen somatostatin-tartalmú idegsejtek axonjai az eminentia medianába futnak, ugyanakkor kollaterálisai a hypothalamus GRF neuronjait idegzik be (39).

Másik példa: az eminentia medianába való belépésnél a hypophysis hátsó lebenyébe futó oxytocin-tartalmú tractus hypothalamo-hypophysealis kötegtől rostok válnak le, és bejutnak a nucleus arcuatusba (5. ábra), ahol pro-opiomelanokortin (ACTH, β -endorfin, α -MSH)-tartalmú idegsejteken végződnek (40).

d) Neuropeptidok szerepe az idegsejt regenerációjában

Immunhisztokémiai, majd *in situ* hibridizációs módszerrel megfigyelték, hogy idegsejtek sérülésénél, axotomia esetén az idegsejt bizonyos neuropeptideket termel (41–43). Először kuriózumnak tekintették ezt a megfigyelést, de a növekvő számú adatok mutatják, hogy csaknem minden központi idegrendszeri területen kimutatható ez a jelenség, mely számos neuropeptidre (galanin, CRF, CGRP, VIP, enkephalin, dynorphin) vonatkozik (38). Tovább vizsgálva



5. ábra. Neurohormon és neurotranszmitter karakterű neuropeptidek. A – Az idegsejtekben termelődő neuropeptidek axonális transzport után az idegvégződésekből felszabadulva neurohormonhatást fejthetnek ki, ha az érpályába jutnak (a), neurotranszmitter-hatást, ha másik idegsejten végződnek (b) az idegsejt axon-kollaterálisai – a végződési helytől függően – kifejthetnek mind neurohormonális, mind neurotranszmitter-hatást (c). B – Példa a kettős hatásra: a nucleus supraopticus (SO) és paraventricularis (PV) oxytocin-tartalmú idegrostjai a hypophysis hátsó lebenyében (PL) végződnek. Az itt raktározódó oxytocin az érpályába jutva neurohormonális hatást fejt ki. Axon-kollaterálisok a nucleus arcuatus (A) pro-opiomelanocortin (ACTH, β -endorfin, α -MSH)-sejtjein végződve, neurotranszmitter-funkciót látnak el. További rövidítések: AC – commissura anterior, F – fornix, ME – eminentia mediana, OC – chiasma opticum, SFO – subfornicalis szerv

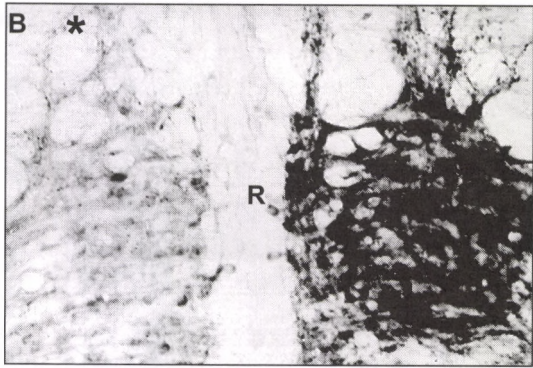
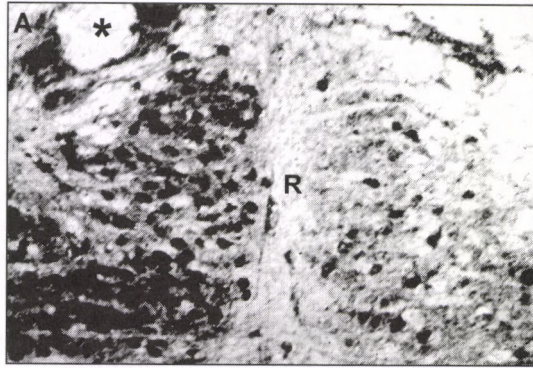
ezt a jelenséget, érdekes megfigyelést tehetünk, ami a különböző anyagoknak ugyanazon idegsejtben való kollokalizációjának funkcionális jelentőségére is utalhat. Átvágva a tractus supraoptico-hypophyseost, a nucleus supraopticus sejtjeinek vasopressin-termelése azonnal lecsökken, ugyanakkor ugyanazokban a neuronokban egyes neuropeptidek (galanin, dynorphin) fokozottan szintetizálódnak (44). Vagotómia után a dorsalis vagus-magban az acetylcholinesterase termelése leáll, ugyanakkor a sejtek galanint és CRF-t kezdenek termelni (38, 45). Ismeretes, hogy a kisagy kúszórostjai az oliva inferior neuronjaiból erednek, és kereszteződés után az olivo-cerebellaris pályán jutnak a kisagyba. Ha féloldalt átvágjuk ezt a pályát, az ellenkező oldalon az oliva inferior sejtjeiben az aszpartát (ez a kúszórostok „fő” neurotranszmittere) mennyisége drasztikusan lecsökken, míg a sejtekben kortranszmitterként jelenlévő corticotropin releasing hormon mennyisége megnő (6. ábra). Valószínű, hogy az ideg-

sejtek funkciójuk szerint bizonyos neurotranszmittereket, neurohormonokat termelnek, de genetikusan ennél többre vannak kódolva. (Indirekt bizonyítéka ennek az, hogy az embrionális idegrendszeri neuronokban jóval több neuropeptid és klasszikus neurotranszmitter mutatható ki, mint születés után.)

Sérülés esetén a sejtek hormon- vagy transzmittertermelő tevékenysége lecsökken, ugyanakkor egyes peptidek termelése megnő. Feltételezhető, hogy ezek az anyagok a sejt túlélését, regenerációját vannak hivatva biztosítani, mintegy „nerve growth factor”-szerepet töltenek be (25, 38).

3. Funkcionális neuroanatómiai szemlélet a pályakutatásban

Az ingerületátvitel mechanizmusában számos faktor – neurotranszmitter-enzim-receptor-transzporter-ioncsatornák – onkogének-ciklázok – kaskádszerűen vesz részt. Az újabb és újabb információk egyben növekvő igényt jelentettek a neuroanatómiával szemben is, ennek eredményeképpen ma már e kaskád minden tagját neuromorfológiai módszerrel topográfiailag és időviszonyaiban is nyomon tudjuk követni.



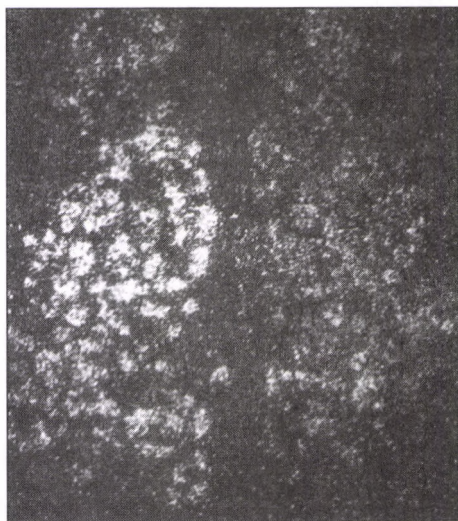
6. ábra. Neurotranszmitterek termelésének változása axotómia után. Nucleus olivaris inferior medialis rész (R = raphe medullaris = középvonal). Az aszpartát-immunpozitivitás lecsökken (A), a corticotropin releasing hormon- (CRF) immunpozitivitás megnő (B) az olivocerebellaris pálya átmetszése után 3 nappal. (* – műtéti oldal – a rostok az olivaris inferior szintjében teljesen átkeresztesződnek, így a fenti hatás kontralaterálisan látható)

a) Biogén aminok transzportereinek szintézisét befolyásoló egyes faktorok

Csupán az elmúlt évek során vált ismeretessé, hogy a szinaptikus végződésekben felszabaduló, de posztzinaptikusan receptorhoz nem kötődő transzmitter molekulák nem passzív úton, hanem speciális anyagok, transzporterek aktív tevékenysége révén jutnak vissza a preszinaptikus végződésbe (46). A kü-

lönböző biogén amin és aminosav transzmittereknek sikerült már transzportereit kimutatni, klónozni és sejtbeli szintézisüket lokalizálni (46). A transzporterek transzmitterekkel együtt szintetizálódnak és axonálisan transzportálódnak. Vizsgálataink közül két megfigyelést emelnék ki: 1) sem a dopamin, sem a serotonin esetében nem tudtunk tökéletes topográfiai átfedést demonstrálni. Találtunk viszont sejteket gazdag dopamin transzporter mRNA-tartalommal tyrozin hydroxiláz szintézis minden jele nélkül. Nincs elegendő adatunk arra, hogy ezt a jelenséget magyarázzuk, de jelzi azt, hogy az „egy transzmitter – egy transzporter” szemlélet (46) bizonyára nem tartható fent. 2) Igazoltuk, hogy nemcsak a neurotranszmitterek, de a transzporterek szintéziséhez is adekvát idegi impulzusok szükségesek. A transzportereket szintetizáló idegsejtekhez menő afferens idegpályák károsodása a transzporterek szintézisét leállíthatja. Pályakutatással foglalkozó szakember számára a megfigyelés logikus folyamatnak tűnik, de funkcionális jelentősége nem kap elég hangsúlyt. Figyelembe kell venni azt a lehetőséget, hogy egyes transzmitterfüggő betegségekben – Parkinson-kór, Alzheimer-kór – lehetséges,

hogy nem (vagy nem csupán) a transzmitterek vagy a receptorok szintézise és érzékenysége, hanem a szinaptikus reuptake-ért felelős transzporterek elégtelen szintézise áll fent, ami – s ezt már hangsúlyozni sem kell – a lehetséges terápiát döntő módon befolyásolhatja.



7. ábra. Axotómia okozta gyors változások az oliva inferior corticotrop releasing hormont (CRF) termelő idegsejtjeiben. A műtét után 3 órával a CRF mRNS felszaporodik az axonátmetszett idegsejtek perikaryonjában (metszet helye és jelölés l.

6. ábra)

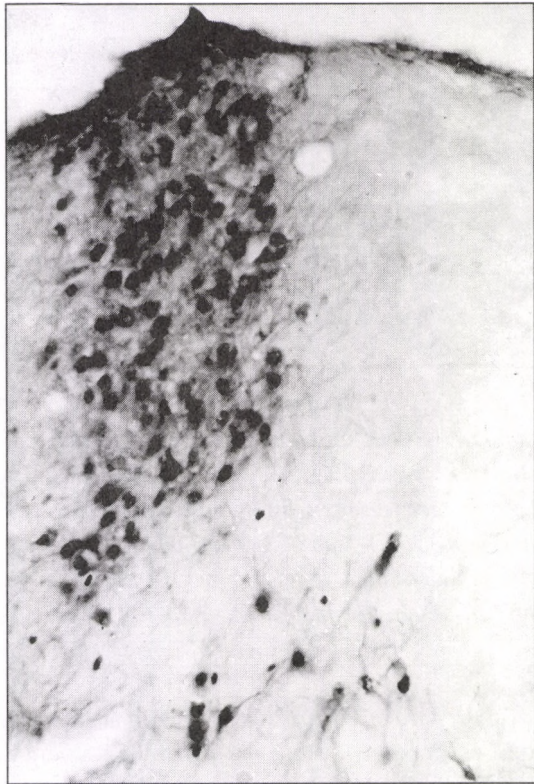
b) Neuropeptidek és neurotranszmitterek nyomon követése idegsejtekben

Immunhisztokémiai festéssel kimutatható – megfelelő kvantitatív módszerrel mérhető – az idegsejtek által termelt neuropeptidek vagy transzmitterek. Kimutatásuk optimális ideje (perikaryonban, axonban, végződésben) a beavatkozást követő 1–3 nap, és nem a szintetizált mennyiséget, hanem a szintézis és a felhasználás

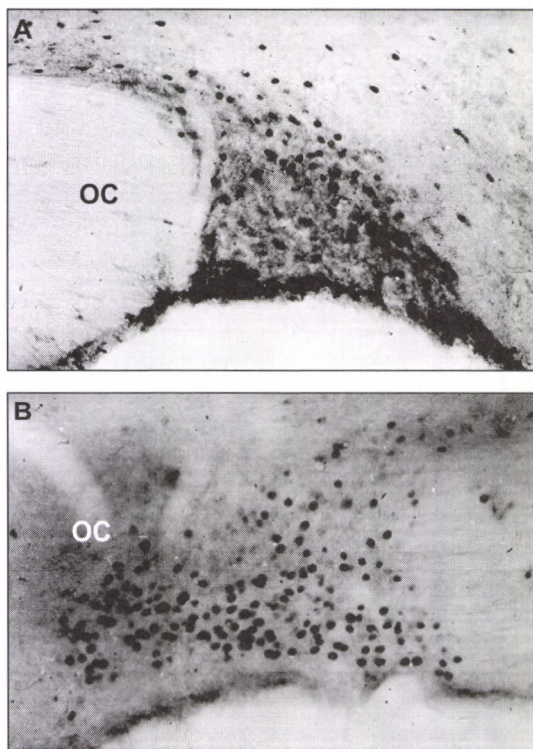
(transzport) különbségét mutatja. A történés időbeli nyomon követéséhez nem a szintetizált terméknek, hanem a szintézis tényének kimutatása, az adott neuropeptid vagy transzmitter mRNS-ének változása már bizonyítóbb, specifikusabb és hamarabb kimutatható. Erre szolgál az *in situ* hibridizációs hisztokémiai technika, ahol a neuronokban levő speciális mRNS-t tesszük láthatóvá. Az immunhisztokémiai és *in situ* hibridizációs módszer összehasonlításaként használhatjuk az oliva inferior sejtjeiben az olivo-cerebellaris pálya átmetszését követő változásokat. Az axotómiát követő CRF-immunreakció 1 nappal a műtét után már kimutatható volt, majd 3 nap után markánsná vált (6. B ábra). Hasonló beavatkozást követően viszont már 3 órával kifejezett változás volt kimutatható a sejtek CRF mRNS-tartalmában (7. ábra). Megjegyzendő, hogy a változások időbeli lefolyása a neurontípusonként, neurotranszmitterenként változó, és természetesen függ a beavatkozás milyenségétől. Általánosan elfogadható, hogy az immunhisztokémiai változások a mRNS-változásokat 18–24 órával később követik, ugyanakkor 2–6 nappal tovább mutathatók ki.

c) Az onkogének szerepe a pályakutatásban

Az onkogének (vagy az angol nomenklatúrában használatos nevük szerint „immediate early gene”-k) kimutatása a neuronokban a pályakutatás egyik komoly fajsúlyú eszközévé vált. Ezek az anyagok (a *c-fos* a leginkább használatos közülük) azonnal aktiválódnak, ha az idegsejt ingerületbe jön, és a sejtmagba jutva a specifikus neuropeptid vagy neuro-



8. ábra. Fájdalomstressz okozta gyors változás a locus coeruleus noradrenalint termelő sejtjeiben (tirozin-hydroxiláz immunfestés). 30 perccel a stressz után *c-fos* onkogén mutatható ki – fekete pontként – az idegsejtek magjaiban



9. ábra. Szelektív és gyors (30 perc) *c-fos* onkogén válasz a nucleus supraopticus sejteiben különböző stressz hatására. Fájdalomstressz hatására a mag felső részében lévő oxytocin-corticotropin releasing hormon (CRF)-sejtek (A) magvában, véreztetési stressz hatására a mag alsó részében levő vasopressin-sejtek (B) magjában mutatható ki *c-fos*.
OC – chiasma opticum

vasopressin-tartalmú sejtek negatívak maradtak (9. A ábra). Megfordítva: véreztetési stressz hatására *c-fos*-pozitivitás a mag vasopressint termelő sejteiben volt látható (9. B ábra), míg az oxytocin-CRF sejtek negatívak voltak.

A modern pályakutatás eszköztára – amit vázlatosan és egy-egy példával kívántam bemutatni – óriási, de egyben roppant költséges is. Mindegyikének megvannak a speciális előnyei és korlátai is. Pontosan kell ismerni, mit, miért és meddig használhatunk. A pályakutatás mai csúcst a különböző technikák együttes alkalmazása jelenti. Számos paraméter együttes vizsgálata azt mutatja,

transzmitter mRNS-ének szintézisét indítják el (47, 48). Felhasználásának három előnye van: a) morfológiailag kimutatható gyors válasz (30–90 perc) az adott inger hatására, b) nemcsak egy neuronban, hanem a funkcionálisan összefüggő pályarendszer minden neuronjában aktiválódik, c) immunhisztokémiai, ill. *in situ* hibridizációs technikával való kimutathatósága ugyanezen technikákkal alkalmazott kettős jelöléssel az aktivált neuron kémiai karaktere is meghatározható. Ezen előnyök jól demonstrálhatók az alábbi példán: Fájdalom-stressz hatására a locus coeruleus noradrenalin-tartalmú neuronjaiban 30 perccel a formalininjekció után *c-fos*-pozitivitás volt kimutatható (8. ábra). A szelektív hatást igazolandó a nucleus supraopticus két különböző stressz alkalmazása után vizsgáltuk. Fájdalomstressz hatására a mag oxytocint és corticotrop releasing factor-termelő sejteiben találtunk *c-fos*-aktivitást, míg a

hogyan különböző stresszorok hatásukat különböző módon hozzák létre (49). Az egyik stressz- (fájdalom) pálya vizsgálatát mutatom be példaként a pályakutatás számos módszerének összetett alkalmazására (zárójelben tüntetjük fel az adott vizsgálati fázisban alkalmazott technikát). A kérdés, amire választ kívántunk kapni: vajon a fájdalom a nucleus paraventricularis CRF-sejtjeinek aktiválása révén okoz-e stresszválaszt (ACTH- és corticosteron-aktiválás), és vajon a stressz okozta válaszban közvetlen szerepe lehet-e az agy catecholamin-rendszerének? E két kérdés adekvát megválaszolására – a válasz mindkét esetben igen – hét különböző kísérletben hét különböző technika alkalmazására került sor:

1. a fájdalomstressz aktiválja a paraventricularis CRF-sejteket (*c-fos* + immunfestés);
2. a fájdalomstressz percek alatt aktiválja a nyúltvelő ventrolaterális noradrenalin-sejtjeit (*c-fos* + tirozin-hidroxiláz immunfestés);
3. a fájdalomstressz percek alatt emeli a nucleus paraventricularisból mikrodialízissel vett extracelluláris folyadékban a noradrenalin koncentrációját (microdialysis-noradrenalin mennyiségének mérése HPLC rendszerben)
4. a stresszre reagáló nyúltvelői noradrenalin-sejtek a nucleus paraventricularisba projiciálnak (retrográd pályajelzés);
5. a nyúltvelő féloldali átmetszése után az ipsilateralis nucleus paraventricularisból a noradrenalin-tartalmú rostok zöme eltűnik (műtét + tyrosine hydroxiláz immun-hisztokémia);
6. a nyúltvelő féloldali átmetszése után az átvágott oldalon elmarad a stressz okozta noradrenalin-szint-emelkedés a nucleus paraventricularisban (műtét + microdialysis + noradrenalin-mikromérés);
7. a nyúltvelő féloldali átmetszése után az ipsilateralis nucleus paraventricularis sejtekben a CRF mRNS-szint erősen lecsökken (műtét + *in situ* hibridizációs hisztokémia).

Látható, hogy a látszólag egyszerű két kérdés megválaszolása milyen erőfeszítéseket igényel. Sőt, a téma még nem zárult le, mert úgy találtuk, hogy a műtött állatokon alkalmazott fájdalomstressz képes volt emelni a CRF mRNS-szintet mind a műtött, mind az ép oldali nucleus paraventricularisban, jelezvén, hogy a nyúltvelői catecholamin neuronok nem kizárólagos regulátorai a formalin okozta CRF-szintézisnek a nucleus paraventricularisban. További vizsgálatok szükségesek, hogy további, e stresszválaszban szerepet vivő neuronokat, pályákat ismerhessünk meg, és azokat anatómiailag lokalizálhassuk.

Összefoglalva: a bemutatott példák csupán kiragadott illusztrációi napjaink neuroanatómiai pályakutatásainak. Bemutatása a lehetőségeknek és azoknak az erőfeszítéseknek, melyek e roppant költségessé váló, gyönyörű tudományág hazai művelésére irányulnak.

Irodalom

1. Golgi, C. : *Untersuchungen über den feinerischen Bau des centralen und periphehen Nervensystems*. Gustav Fischer, Jena, 1894.
2. Ramón y Cajal, S.: *Histologie du systeme nerveux l'homme et des vertébrés*. N. Maloine, Paris, 1911.
3. Brodal, A. (Ed.): *Neurological Anatomy in Relation to Clinical Medicine*. 3rd Ed., Oxford Univ. Press, New York, 1981
4. Carpenter, M. B., Sutin, J. (Eds): *Human Neuroanatomy*. Eighth Ed., Williams Wilkins, Baltimore/London, 1983.
5. Koelle, G. B.: The histochemical localization of cholinesterases in the central nervous system of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 1954. 100, 211–228.
6. Fuxe, K.: Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand.*, 1965. 247, Suppl. 64, 38–85.
7. Björklund, A., Hökfelt, T. (Eds): *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol 2. Classical Transmitters in the CNS, Part I*. Elsevier, Amsterdam–New York–Oxford, 1984.
8. Björklund, A., Hökfelt, T. (Eds): *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol. 4: GABA and Neuropeptides in the CNS, Part I*. Elsevier, Amsterdam–New York–Oxford, 1985.
9. Björklund, A., Hökfelt, T., Kuhar, M. J. (Eds): *Handbook of Chemical Neuroanatomy: Vol. 9: Neuropeptides in the CNS*. Elsevier, Amsterdam–New York–Oxford, 1990.
10. Björklund, A., Hökfelt, T., Swanson, L. W. (Eds): *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol. 5: Integrated Systems of the CNS, Part I: Hypothalamus, Hippocampus, Amygdala, Retina*. Elsevier, Amsterdam–New York–Oxford, 1987.
11. Björklund, A., Hökfelt, T., Swanson, L. W. (Eds): *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol. 7: Central Visual, Auditory, Somatosensory, Gustatory*. Elsevier, Amsterdam–New York–Oxford, 1989.
12. Heimer, L., Záborszky, L. (Eds.): *Neuroanatomical Tract-Tracing Methods, Vol. 2: Recent Progress*. Plenum Press, New York and London, 1989.
13. Palkovits M.: Neurotranszmitterek a központi idegrendszer pályáiban. In: *Humán farmakológia: a racionális terápia alapjai*. (Szerk.: Vizi E. S.), Medicina, Budapest, 1997.
14. Palkovits, M., Bahner, U., Geiger, H.: Preoptic neuronal circuit: Atrial natriuretic peptide-containing neurons are sensitive to acute and chronic alterations in body fluid homeostasis. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1995. 21. 423–427.
15. Léránth, Cs., Brownstein, M., Záborszky, L., Járányi, Zs., Palkovits, M.: Morphological and biochemical changes in the rat interpeduncular nucleus following the transection of the habenulo-interpeduncular tract. *Brain Res.*, 1975. 99, 124–128.
16. Palkovits, M., Epelbaum, J., Gros, C.: Met-enkephalin concentrations in individual brain nuclei of ansa lenticularis and stria terminalis transected rats. *Brain Res.*, 1981. 216, 203–209.
17. Palkovits, M., Brownstein, M., Zamir, N.: On the origin of dynorphin A and α -neo-endorphin in the substantia nigra. *Neuropeptides*, 1984. 4, 193–199.
18. Palkovits, M., Besson, J., Rotsztejn, W.: Distribution of vasoactive intestinal polypeptide in intact, stria terminalis transected and cerebral cortex isolated rats. *Brain Res.*, 1981. 213, 455–459.

19. Eiden, L. E., Hökfelt, T., Brownstein, M. J., Palkovits, M.: Vasoactive intestinal polypeptide afferents to the bed nucleus of the stria terminalis in the rat: an immunohistochemical study and biochemical study. *Neuroscience*, 1985. 15, 999–1013.
20. Záborszky, L., Beinfeld, M. C., Palkovits, M., Heimer, L.: Brainstem projection to the hypothalamic ventromedial nucleus in the rat: A CCK-containing long ascending pathway. *Brain Res.*, 1984. 303, 225–231.
21. Palkovits, M., Mezey, É., Eskay, R. L.: Pro-opiomelanocortin-derived peptides (ACTH/ β -endorphin/ α -MSH) in brainstem baroreceptor areas of the rat. *Brain Res.*, 1987. 436, 323–338.
22. Palkovits, M., Léránth, Cs., Görcs, T., Young, W. S. III.: Corticotropin-releasing factor in the olivocerebellar tract of rats: Demonstration by light- and electron-microscopic immunohistochemistry and in situ hybridization histochemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987. 84, 3911–3915.
23. Moffett, R., Williamson, L., Palkovits, M., Nambodiri, M. A. A.: N-acetylaspartylglutamate: A transmitter candidate for the retinohypothalamic tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990. 87, 8065–8069.
24. Palkovits, M., Mezey, É., Skirboll, L. R., Hökfelt, T.: Adrenergic projections from the lower brainstem to the hypothalamic paraventricular nucleus, the lateral hypothalamic area and the central nucleus of the amygdala in rats. *J. Chem. Neuroanat.*, 1992. 5, 407–415.
25. Ágoston, D. V., Komoly, S., Palkovits, M.: Selective up-regulation of neuropeptide synthesis by blocking the neuronal activity: Galanin expression in septohippocampal neurons. *Exp. Neurol.*, 1994. 126, 247–255.
26. Fodor, M., Palkovits, M.: Neuropeptide Y-containing neuronal pathway from the spinal trigeminal nucleus in the pontine peribrachial region in the rat. *Neurosci. Lett.*, 1991. 133, 195–198.
27. Makara, G. B., Stark, E., Kárteszi, M., Palkovits, M., Rappay, Gy.: Effects of paraventricular lesions on stimulated ACTH release and CRF in stalk-median eminence of the rat. *Am. J. Physiol.*, 1981. 240, E441–E446.
28. Antoni, F. A.: Immunoreactive corticotropin-releasing hormone in the hypothalamo-infundibular tract. *Neuroendocrinology*, 1983. 36, 415–423.
29. Makara, G. B., Palkovits, M., Antoni, F. A., Kiss, J. Z.: Topography of the somatostatin-immuno-reactive fibers to the stalk-median eminence of the rat. *Neuroendocrinology*, 1983. 37, 1–8.
30. Palkovits, M., Rökaeus, A., Antoni, F. A., Kiss, A.: Galanin in the hypothalamo-hypophyseal system. *Neuroendocrinology*, 1987. 46, 417–423.
31. Palkovits, M., Eskay, R. L., Antoni, F. A.: Atrial natriuretic peptide in the median eminence is of paraventricular nucleus origin. *Neuroendocrinology*, 1987. 46, 542–544.
32. Palkovits, M., Brownstein, M. J., Zamir, N.: Immunoreactive dynorphin and -neo-endorphin in rat hypothalamo-neurohypophyseal system. *Brain Res.*, 1983. 278, 258–261.
33. Palkovits, M.: Organization of the stress response at the anatomical level. In: *Progress in Brain Research, Vol. 72: Neuropeptides and Brain Function*. E. R. De Kloet, V. M. Wiegant, D. de Wied (Eds). 47–55, Elsevier, Amsterdam–New York–Oxford, 1987.
34. Hökfelt, T., Meister, B., Everitt, B., Staines, W., Melander, T., Schalling, M., Mutt, V., Hulting, A.-L., Werner, S., Bartfai, T., Nordström, Ö., Fahrenkrug, J., Goldstein, M.: Chemical neuroanatomy of the hypothalamo-pituitary axis: focus on multimessenger

- systems. Geoffrey Harris Memorial Lecture. In: *Integrative Neuroendocrinology: Molecular, Cellular and Clinical Aspects*. S. M. McCann, R. I. Weiner (Eds.). Karger, Basel, 1987. 1–34.
35. Sawchenko, P. E., Imaki, T., Vale, W.: Co-localization of neuroactive substances in the endocrine hypothalamus. In: *Functional Anatomy of the Neuroendocrine Hypothalamus: A Wiley-Interscience Publication. CIBA Foundation Symp. 168*. John Wiley & Sons, 21 Chichester, 1992.
36. Palkovits, M.: Peptidergic neurotransmitters in the endocrine hypothalamus. In: *Functional Anatomy of the neuroendocrine Hypothalamus: A Wiley-Interscience Publication. CIBA Foundation Symp. 168*. John Wiley & Sons: Chichester, 1992.
37. Palkovits, M.: Neuropeptides in central baroreceptor reflex pathways. In: *Central Neural Mechanisms in Cardiovascular Regulation*. G. Kunos, J. Ciriello (Eds.), Chapt. 12, Birkhauser: Boston–Basel–Berlin, 1991. 153–164.
38. Palkovits, M.: Neuropeptide messenger plasticity in the CNS neurons following axotomy. *Mol. Neurobiol.*, 1995. 10, 91–103.
39. Horváth, S., Palkovits, M., Görcs, T., Arimura, A.: Electron microscopic immunocytochemical evidence for the existence of bidirectional synaptic connections between growth hormone-releasing hormone- and somatostatin-containing neurons in the hypothalamus of the rat. *Brain Res.*, 1989. 481, 8–15.
40. Csiffáry, A., Ruttner, Z., Tóth, Zs., Palkovits, M.: Oxytocin nerve fibers innervate β -endorphin neurons in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*, 1992. 56, 429–435.
41. Cortés, R., Villar, M. J., Verhofstad, A., Hökfelt, T.: Effects of central nervous system lesions on the expression of galanin: A comparative in situ hybridization and immunohistochemical study. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1990. 87, 7742–7746.
42. Villar, M. J., Cortés, R., Theodorsson, E., Wiesenfeld-Hallin, Z., Schalling, M., Fahrenkrug, J., Emson, P. C., Hökfelt, T.: Neuropeptide expression in rat dorsal root ganglion cells and spinal cord after peripheral nerve injury with special reference to galanin. *Neuroscience*, 1989. 33, 919–931.
43. Moore, R. Y.: Cranial motor neurons contain either galanin- or calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity. *J. Comp. Neurol.*, 1989. 282, 512–522.
44. Young, W. S. III., Horváth, S., Palkovits, M.: The influences of hyperosmolality and synaptic inputs on galanin and vasopressin expression in the hypothalamus. *Neuroscience*, 1990. 39, 115–125.
45. Palkovits, M., Horváth, S.: Galanin immunoreactive neurons in the medulla oblongata of rats. *Acta biol. hung.*, 1994. 45, 399–417.
46. Amara, S. G., Kuhar, M. J.: Neurotransmitters transporters: recent progress. *Annu. Rev. Neurosci.*, 1993. 16, 73–93.
47. Bullitt, E.: Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 1990. 296, 517–530.
48. Doucet, J. P., Squinto, S. P., Bazan, N. G.: Fos-jun and the primary genomic response in the nervous system. In: *Molecular Neurobiology*, N. G. Bazan (Ed.). Humana, Clifton NJ, 1990. 27–55.
49. Pacak, K., Palkovits, M., Kopin, I. J., Goldstein, S.: Stress-induced norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and pituitary-adrenocortical and sympatho-adrenal activity: In vivo microdialysis study. *Front. Neuroendocrinol.*, 1995. 16, 89–150.