

Ph.D. Thesis

**Visszatérő görcsök által kiváltott neuronális változások immunhisztokémiai vizsgálata epilepszia állatmodellben**

Károly Norbert M.Sc.



Szegedi Tudományegyetem  
Általános Orvostudományi Kar  
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

**Szeged**

2017





Ph.D. Thesis

**Visszatérő görcsök által kiváltott neuronális változások immunhisztokémiai vizsgálata epilepszia állatmodellben**

Károly Norbert M.Sc.

Témavezetők:

Dr. Dobó Endre M.Sc., Ph.D.;

Prof. Dr. Mihály András, M.D., Ph.D., D.Sc.

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

**Szeged**

2017

**Rövidítések**

CGRP: calcitonin gene-related peptide

CR: calretinin

GD: gyrus dentatus

GC: "granule cell" (szemcsesejt)

GAP-43: growth-associated phosphoprotein

GluA: AMPA ionotróp glutamát receptor

GluK: kainát ionotróp glutamát receptor

GluN: NMDA ionotróp glutamát receptor

iGluR: ionotróp glutamát receptor

IML: "internal molecular layer" (belső molekuláris réteg)

IR: immunreaktív

MC: "mossy cell" (mohasejt)

MF: "mossy fibre" (moharost)

MFS: "mossy fibre sprouting" (moharost sarjadzás)

NeuN: neuronal nuclear protein

NPY: "neuropeptide-Y"

PC: "pyramidal cell" (piramissejt)

PILO: pilokarpin

SE: status epilepticus

SGL: "supragranular layer" (szupragranuláris réteg)

SL: stratum lucidum

SLM: stratum lacunosum-moleculare

SRS: "spontaneous recurrent seizures" (spontán visszatérő görcsök)

Syn-I: synapsin-I

## BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK

A human temporalis lebeny epilepszia néhány neuropatológiai jellemzőjét modellezni lehet rágcsálókban a muszkarinerg agonista pilokarpin (PILO) egyszeri szisztémás alkalmazásával. Ez a kezelés státusz epileptikuszt (SE) vált ki fél órán belül, amely spontán visszatérő görcsöket (SRS) okozhat egy látens időszak elteltével.

A fősejtek, mint a piramis- (PC) és mohasejtek (MC) különböző mértékű pusztulását figyelték meg a PILO-val kezelt rágcsálók hippokampuszában. A hippokampusz Ammon-szarvának (CA), azaz a hippocampus proprius-nak egy viszonylag széles rétege nagy számban tartalmaz PC-eket, amelyek a CA legfontosabb kimenetét jelentik. Ezen sejtek pusztulása az epileptogenezis egyik jellemző neuropatológiai sajátossága. A csökkenés mértékét a neuronal nuclear protein (NeuN) immunhisztokémia segítségével jól meg lehet határozni.

A gyrus dentatus (GD) MC-i ugyancsak fontos kapcsolatokkal rendelkeznek. Ezek szintén sérülékenyek lehetnek különböző mértékben bizonyos rágcsáló fajokban. Egérben a calretinint (CR) és az AMPA ionotróp glutamát receptor 2-t (GluA2), míg patkányban a calcitonin gene-related peptide-t (CGRP) írták le, mint megbízható immunhisztokémiai markert. Amennyiben e fehérjéknek szinapszisokhoz köthető funkciója van, akkor ezen szinaptikus markerek sűrűségének bármilyen változása a belső molekuláris rétegben (IML) visszajelzést adhat a MC-k aktivitásáról.

A szemcsesejtek (GC) nem mielinhüvelyes axonjaik, melyeket moharostoknak (MF) neveznek, glutamáterg szinapszisokat képeznek a MC-kkel, GABAerg interneuronokkal és a PC-kkel a CA3 régióban. Azon epilepsziás állatoknál, melyeknél SRS tapasztalható, intenzív moharost sarjadzás (MFS) észlelhető az IML szupragranuláris rétegében (SGL), ami jól láthatóvá tehető a Timm-féle ezüstözéssel technikával.

Számos interneuron típust is azonosítottak a hippokampuszban. Sokat közülük az axonjaik által preferált célszinapszisok alapján azonosítottak be. A

legtöbb ezen sejtek közül GABAerg, amelyek neuroaktív peptideket tartalmaznak. A neuromodulátorok egyike a neuropeptide-Y (NPY). Görcsök hatására az NPY szintje lényegesen megemelkedik a GD-ban, ami az NPY-t különlegesen hasznos markerré tette az epileptikus aktivitás immunhisztokémiai kimutatására.

Az epileptikus aktivitás hatására történő idegsejtek elvesztése szinaptikus reorganizációt vált ki; a túlélő neuronokon a posztszinaptikus helyek megüresednek, illetve az idegrostok burjánzásnak indulhatnak. A szinapszisok sűrűsége láthatóvá tehető bizonyos marker fehérjékkel, melyek jelen vannak a serkentő és a gátló szinapszisokban egyaránt. Az aktív szinapszisok egyik ilyen fő fehérje komponense a synapsin-I (Syn-I). A Syn-I immunhisztokémiája ezért jól alkalmazható módszer a szinapszis-sűrűség változásának kimutatására.

Bizonyos GC-k, amelyek vesztettek szinaptikus bemeneteikből, feltehetőleg növekedési faktorokat szabadítanak fel, melyek axonsarjadzást válthatnak ki. Az axonális növekedés egy széles körben használt fehérje markere a growth-associated phosphoprotein (GAP-43), amely alkalmassá teszi az axonnövekedés és szinaptikus reorganizáció, így az MFS kimutatására.

Az MFS megjelenése és más neuronális változások között ok-okozati összefüggéseket tételeztek fel a PILO-kezelt állatokban, annak ellenére, hogy a klasszikus immunhisztokémiát és a cink hisztokémiát korábban nem alkalmazták ugyanabból az állatból származó mintákon.

Valamennyi hippocampális fősejt glutamáterg. Az entorhinális kéregből érkező hippocampopetális rostok, melyek főként a tractus perforans és az ún. temporoammon pályán keresztül érkeznek, szintén glutamátergek. Az egyes rágsálótörzsek válaszreakciói a görcskeltő anyagokra nagyon eltérőek lehetnek. E különbségek feltételezhetően az ionotróp glutamát receptorok (iGluR) számbeli és/vagy összetételbeli különbségeivel magyarázhatók. A korábbi kísérletekkel azonban nem találtak a glutamát receptorok szintjében

különbségeket az állattörzsek között. Ezért tanulmányainkban rétegenként analizáltuk több iGluR alegység sűrűségét.

Munkáinkban Wistar patkányokat és három egértörzset oltottunk PILO-val. Azokat az állatokat, melyek leglább 30 percen keresztül mutattak intenzív görcsöket, a túlélést követő 2-3 hónapon belül áldoztuk fel az összehasonlító morfológiai tanulmányainkhoz, Vizsgálatainkban immunhisztokémia és cink-hisztokémia újszerű kombinálását alkalmaztuk konszekutív metszeteken.

Kísérleteinkkel a következő kérdésekre kerestünk válaszokat:

- (1) Rágcsáló PILO modellben vannak-e fontos fajok közötti különbségek az epileptogenezis során?
- (2) Melyek a legfontosabb neuropatológiai különbségek az egértörzsek között, amelyek indokolhatják a törzsek különböző fogékonyságát a görcskeltő anyagra?
- (3) Hogyan változik az iGluR alegységek sűrűsége az epileptikus egerekben?
- (4) Melyik az a legelőnyösebb hisztológiai módszer, amellyel igazolhatjuk az epileptogenezis meglétét az egyes állatokban?



## **ANYAG ÉS MÓDSZER**

### **Kezelés**

Hím Wistar patkányokat (220-300g) és hím CFLP, Balb/c és NMRI egereket (25-30g) használtunk a tanulmányainkban. Az állatokat intraperitoneálisan PILO-val oltottuk fajonként és törzsenként a megfelelő dózisban (380, 190, 180 és 195 mg/ttkg).

Az alkalmazott PILO dózisokkal nagyjából a rágcsálók fele, melyek SE-t mutattak, elpusztultak a kezelés napján. Kilencven perccel a rohamok után az állatokat diazepam (Seduxen) injekcióval nyugtattuk. A kontroll állatok a PILO oldószerét (fiziológiás sóoldat) kapták azonos térfogatban. A későbbiekben azokat az állatokat tanulmányoztuk, melyeknél a SE kialakult. Ezeket a továbbiakban "PILO-reagált"-nak hívjuk.

### **Fornix lézió**

A fimbria-fornix léziót nyolc egéren végeztük, Na-pentobarbitál anesztéziában, majd a fejüket sztereotaxiás készülékben rögzítettük. Egy L alakú, 0.7 mm széles huzalkést vezettünk be megfelelő mélységbe, melyet Franklin és Paxinos (1996) atlasz szerinti bregmától mért távolságokban fúrtunk.

### **Minta előkészítés**

A PILO-reagált és a kontroll állatokat 2-3 hónap után áldoztuk fel, dietil-éteres túlaltatás után. A transzkardiális perfúziót nátrium-szulfidos, oldattal végeztük. Az állatokat 0,3%-os nátrium-szulfid tartalmú 4%-os formaldehiddel, immerziósan fixáltuk. Az agyakat kivettük, majd fagyaszó mikrotómmal 24 µm-es koronális síkú metszeteket készítettünk. Az immunhisztokémiára szánt metszeteket nátrium-azidos oldatban, a Timm-festésre szántakat pedig tárgylemezre szárítva tároltuk felhasználásig.

### **Immunhisztokémia**

A szabadon úszó metszeteket 0,5%-os Triton X-100 és 3% hidrogén-peroxiddal kezeltük, majd normal sertés szérummal (1/10). A következő elsődleges antiszérumokat használtuk: nyúl anti-Syn-I (1/1000), birka anti-NPY (1/48000), kecske anti-CR (1/2000), nyúl anti-CGRP (1/10000), egér anti-GAP-43 (1/1000), egér anti-NeuN (1/8000), nyúl anti-GluA1 (1/500), nyúl anti-GluA2 (1/200), nyúl anti-GluA2/3 (1/400); monoklonális nyúl anti-GluK2 (1/3000); egér anti-NMDAR1 (1/5000).

A mintákat szobahőmérsékleten, folyamatos keverés mellett egy éjszakán keresztül inkubáltuk. Mosás után a metszeteket a megfelelő biotinilált másodlagos antitesttel (1/500) inkubáltuk 90 percig, végül peroxidázzal jelölt sztreptavidinnel (1/1000) 90 pecig. Az immunreakció helyét 3,3'-diaminobenzidinnel tettük láthatóvá.

### **Timm-ezüst-szulfid módszer**

Az oldat összetétele: 60 ml 50%-os gumi arábikum, 10 ml 2 M-os nátrium-citrát puffer (pH 3.7), 30 ml 5.67%-os hidrokinon és 0.5 ml 17%-os ezüst-nitrát oldat. A metszeteket 50-60 percig sötét kamrában folyamatosan kevertettük. A folyamatot 2%-os nátrium-acetáttal állítottuk le és a maradék ezüst ionokat 5%-os nátrium-tioszulfáttal távolítottuk el. A mintákat DPX-el fedtük le

### **A fornix lézió láthatóvá tétele**

A sérülés pontos helyét a vörösvértestek sérült véredényekből való extravazációjával igazoltuk, melyek peroxidáz-szerű aktivitással rendelkeznek. A lokációt 0,05%-os diaminobenzidin 0,01% hidrogén-peroxiddal okozott barna reakcióterméke mutatta. Ezután a metszeteket hematoxilinnal festettük a sejtmagok és a Nissl-rögök láthatósága miatt.

## **Képanalízis**

A képeket számítógéphez kapcsolt mikroszkóp rendszerrel készítettük. A képanalízist Adobe Photoshop 7 programmal végeztük. Az immunreakciók pixel denzitását objektív módon, számozott metszeteken mértük. A PILO-kezelt és kontroll állatok megegyező hippokampális régiói közti különbségeket egymintás Student *t*-próbával vizsgáltuk. Az adatok analízisét és a diagrammokat GraphPad Prism 4,0-val készítettük. Az NPY és Syn-I optikai denzitások kapcsolatainak meghatározására Pearson-féle korrelációs analízist használtunk.

## **EREDMÉNYEK**

### **Moharost sarjadzása**

A Timm-festés mutatta a legnagyobb sűrűségét az erősen festődött varikózus axonoknak, melyek a hilumban és a stratum lucidumban (SL) egyaránt jelen voltak mindkét fajban. Azoknál az állatoknál vizsgáltuk a MFS-t, amelyeknél kifejlődött az SE. A PILO kezelt patkányok 40%-a és az egerek 56%-a mutatott masszív festődést a hilumban és a SL suprapiramidális rétegében. Sötétén festődő, varikózus, cink-tartalmú axonok jelentek meg a GC-ekhez közel eső rétegben, ami az SGL volt. A PILO-reagált patkányok IML-ében, ami már az SGL felett volt, a cink-pozitív elemek eltűntek. Ellentétben a PILO-reagált egereknél, egy homogén festődés maradt az SGL ektopikus MF-ek mögött, amely a fornix lézió után is megmaradt ugyan olyan intenzitással.

### **Syn-I immunhisztokémia**

Erős Syn-I immunreaktivitást találtunk mindkét faj MF-jeiben. A sejtestek nem jelölődtek. Az IML csak gyengén volt pozitív.

A PILO-kezelt egerekben a Syn-I immunreaktivitása nem mutatott szignifikáns változásokat. A 2-3 hónapot túlélő állatokban a PILO kezelés az SL-ben szignifikáns emelkedést mutatott. Továbbá a Syn-I immunfestődést

mutató réteg láthatóan megvastagodott. A hilumban, amely a Timm-festés alapján jelentős mennyiségű MF terminálisokat tartalmaz, a Syn-I festődés jelentősen lecsökkent. Az IML-ben viszont a festődés intenzitása nem változott szignifikánsan. Ugyanakkor egy extra Syn-I-IR sáv jelent meg a SGL-ben, az ektopikus MF-ek megjelenésével párhuzamosan.

A PILO által kiváltott görcsök a patkányban szignifikánsan megnövelték a Syn-I immunreaktivitást mindegyik vizsgált rétegben, beleértve a hilumot is, ami az egérben jóval gyengébb festődést mutatott. A festődési mintázat a PILO-kezelt patkányokban nagy hasonlóságot mutatott a Timm-festés mintázatával, feltételezve azt, hogy a sarjadzó MF-ek tartalmazhatják ezt a szinaptikus marker proteint.

### **Gap-43 immunhisztokémia**

A kontroll állatokban GAP-43 immunfestődés hasonló volt a két rágcsáló fajban. A legintenzívebb immunreaktivitást a stratum lacunosum-molecularéban (SLM) figyeltük meg. Mindkét fajban valamivel kevesebb, de erőteljes homogén festődést találtunk az IML-ben. A MF-et tartalmazó területek (hilum és a SL) valamint a principális sejtek nem festődtek.

A PILO kezelés hatására mind az egérben, mind a patkányban az IML immunreaktivitása jelentős mértékben csökkent. Ugyanakkor a patkányban a sáv középső alrétege további csökkenést mutatott.

### **NPY immunhisztokémia**

A PILO-reagált egerekben lényeges NPY immunreaktivitást találtunk a GD és a SL-en belül. A festődés, legnagyobb valószínűséggel az MF-eknek tulajdonítható mind a hilumban, mind pedig a SL-ban. A molekuláris rétegben is szintén megnövekedett a festődés, de sokkal kevésbé, mint az MF-ek területén, továbbá találtunk egy vékony sávot az IML külső felszínén (SGL). Az erős festődés gyakran eltakarta a neuronokat a MF-eket tartalmazó területeken.

Azokon a területeken, ahol a MF-ek nincsenek jelen, az NPY-IR perikaryonok jóval intenzívebben jelölődtek, mint a kontroll egerekben.

A patkányok hippocampuszában a PILO kezelés hasonló változásokat eredményezett, mint az egerekben. Az NPY antitestek alkalmazása, hasonlóan jól körülhatároltan és intenzíven jelent meg a hilumban és a SL-ban. Továbbá, a SGL-ben szintén megjelent az NPY-IR vékony sáv.

### **Az NPY és Syn-I immunreaktivitás változásának korrelációs analízise**

Mivel a PILO kezelés megváltoztatta az NPY és a Syn-I immunreaktivitását mindkét faj minden rétegében, összefüggés állhat fent a két antigén sűrűség változásai között bizonyos hippocampális területeken. A szemikvantitatív mérés adatait összegyűjtöttük és Pearson-féle korrelációs vizsgálatot végeztünk el a két marker változásaival kapcsolatban.

Mindkét fajban, mindkét marker immunreaktivitása egyenesen arányos növekedést mutatott az SL-ben. Ezzel szemben az egérben a megnövekedett NPY immunreaktivitást a Syn-I optikai denzitásának csökkenése kísérte a hilumban, míg a patkányban mindkét marker immunreaktivitása növekedett ugyanezen a területen.

### **A mohasejtekre gyakorolt hatások**

#### ***Egér mohasejtek***

Két széles körben elfogadott immunhisztokémiai markert, CR-t és a GluA2/3 alegységet használtuk az egér MC-jeinek kimutatására.

A kontroll CFLP egerekben a legerőteljesebb CR immunreaktivitást az IML-en belül találtuk, de több multipoláris sejttest is jelölődött a GD-ben.

A PILO kezelés ebben a törzsben nem változtatta meg az CR immunreaktivitás mintázatát és intenzitását a hippocampusban.

Mivel Rhesus majmokon elvégzett pályajelölési vizsgálatokból szerzett eredmények alapján feltételezhető volt, az IML-ben található CR

immunreaktivitásért felelős rostok jelentékeny része a fornixon keresztül a szupramamilláris magból érkezhethet. Éppen ezért 4 kontroll állatban átvágtuk a fornixot és CR-t mutattunk ki a műtött állatok hippokampuszában, hogy ellenőrizzük a fenti feltevés helyességét egérben. A fornix átvágás semmilyen változást nem eredményezett a CR-IR elemek megjelenésében.

A Balb/c és NMRI törzsekben a MC-k másik markerét, a GluA2/3-at is alkalmaztuk. A PILO kezelés az AMPA alegység immunreaktivitásának jelentős gyengülését eredményezte a hilumban, amely mind a neuropil gyengülésében, mind pedig az MC-k sűrűségében megmutatkozott.

### ***Patkány mohasejtek***

Az MC-k, és főként azok axonterminálisainak kimutatására a patkányokban a CGRP immunhisztokémiát, mint elfogadott módszert alkalmaztuk. A kontroll állatokban erős homogén festődést találtunk az IML teljes szélességében. A hilumban elszórtan, több, viszonylag gyengén festődő CGRP-IR multipoláris neuront figyeltünk meg. A GD egyéb területein nem találtunk immunreaktív neuronális elemeket.

A PILO-reagált patkányok esetében jelentős változásokat figyeltünk meg a CGRP-pozitív elemekkel kapcsolatban. Az IML festődése teljesen eltűnt az összes olyan állatban, amelyek a Timm-festéssel MFS-t mutattak. CGRP-IR hiláris neuronokat csak elvétve, vagy egyáltalán nem láttunk a metszetekben.

### **A piramis sejtekre gyakorolt hatások**

A PILO-val történt kezelésre eltérően reagáltak a vizsgálatunkba bevont rágcsáló törzsek PC-jei. NeuN immunhisztokémia és Nissl-festés alkalmazásával a Wistar patkányokban és a CFLP egerekben nem figyeltünk meg változást még a legerőteljesebb MFS mellett sem. Ugyanakkor a Balb/c és NMRI egér törzsek CA3a és CA3b területein gyakran találtunk látványos PC pusztulást.

Az NMRI törzsnél tapasztaltuk a legjelentősebb sejtpusztulást. A 18 PILO-reagáltból 3 állatnál kiterjedt PC pusztulást láttunk a CA3a/b és c al régiókban. Ezeket az állatokat, melyek a NeuN festéssel ezt a fajta PC pusztulást mutatták, a továbbiakban szklerotikusnak nevezzük a tanulmányainkban. A 18 PILO-reagált állatból 8-nál tapasztaltunk foltokban neuron pusztulást a CA1 és CA3 régiók PC-jei között. A szklerotikus egerekben a PC-k elvesztése mellett, a GC-k rétegének "felső éle" nagy kiterjedésben szintén degenerációt mutatott.

### **Az iGluR-ok változása a Balb/c és NMRI egerekben**

#### ***AMPA receptor alegységek***

A megvizsgált receptor alegységek csaknem azonos megoszlási mintázatot mutattak a két törzsből. Azonban az alegységek sűrűségének rétegenkénti szemikvantitatív kiértékelése a két törzs közötti néhány fontos különbségre utal. Pl. az NMRI-ben a hiláris GluA2 alegység sűrűsége jóval alacsonyabb értéket mutatott, mint a Balb/c-ben.

A GluA1 immunreaktivitása csökkent minden hippocampális rétegben, kivéve az NMRI egerek CA1 régiójának stratum radiatumát. Minden további rétegben, nagyon hasonló változásokat észleltünk mindkét törzsből. A legjelentősebb redukció a hilumban volt megfigyelhető a Balb/c és NMRI egerekben.

A GluA2 immunreaktivitás mindkét törzsből csökkent, ami a MF-ek szinaptikus területén volt a legmarkánsabb. A GluA2/3 immunhisztokémia statisztikai analízise az előbbi AMPA receptor alegységéhez nagyban hasonló eredményeket mutatott. A legnagyobb mértékű csökkenést a Balb/c és az NMRI egerek hilumában találtuk.

#### ***NMDA receptor alegységek***

PILO kezelés hatására mérhető változások jelentek meg a GluN1 immunfestésben, a két vizsgált egértörzs hippocampusában. A Balb/c egerek CA1 régiójának stratum radiatumában és az SLM-ben a festés intenzitása

jelentősen csökkent. A kezelés nem okozott az immunfestésben változást a GD molekuláris rétegében, viszont a hozzá közel eső SGL-ben, a szemikvantitatív kiértékelés szignifikáns csökkenést mutatott. Az NMRI egértörzsben az egyedüli jelentős változás a CA1 régió SLM-ben talált növekedés volt.

### ***Kainát receptor alegységek***

A korábbi irodalmi adatoknak megfelelően a három iGluR közül mi is a kainát receptorból találtuk a legkevesebbet a hippocampusban.

A Balb/c és az NMRI törzsek rétegenkénti vizsgálataival nyert adatainak összehasonlítása szerint az NMRI törzsben a molekuláris réteg és a hilum magasabb GluK2 immunreaktivitást mutatott, mint a Balb/c egerekben.

PILO kezelés után a GluK2 immunreaktivitása megnövekedett a hippocampusban. A legnagyobb emelkedést a Balb/c egerek hilumában figyeltük meg, míg az NMRI törzs ezen régiójában a GluK2 denzitás lecsökkent. A Balb/c egerek CA1 stratum radiatum és a CA3 régió SLM-je szignifikáns intenzitás emelkedést mutatott, míg az NMRI törzs ezen területein az növekedés mértéke jóval kisebb volt. A Balb/c egerek molekuláris rétege intenzitás emelkedést mutatott, míg az NMRI törzs e területén semmilyen változás nem volt mérhető.

## **MEGBESZÉLÉS ÉS ÖSSZEFOGLALÁS**

A PILO-val kiváltott epilepszia rágcsló modelljét alkalmaztuk. A hasonló módon kezelt patkány és egér törzsek összevethető viselkedési mintázatot és SRS-t mutattak. A kezelt állatok hippocampusát cink hisztokémia és immunhisztokémiai markerek egy új kombinációjának segítségével vizsgáltuk meg, a jelöléseket szemikvantitatív módszerrel kiértékeltük.

(1) Fontos fajok közötti különbségeket találtunk a patkányok és az egerek PILO-kiváltott epilepszia modelljében.

(a) A hiláris MC-k sérülékenyebbek a patkányokban, mint az egerekben.



(b) Az MC-k elvesztése és az MFS között ok-okozati összefüggés tételezhető fel.

(2) Az egér törzsekben különbségek mutatkoztak a PILO-indukált neuronális elváltozásokban.

(a) A CFLP törzs MC-jei ellenállónak tüntek a PILO hatásaira, míg ezek a sejtek nagyon sérülékenyek voltak az NMRI egerekben ugyanarra a kezelésre.

(b) A kalcium impermeábilis GluA2 alegységek denzitása feltűnően alacsonyabb volt az NMRI törzs hímjében, mint a Balb/c-ben, amely indokolhatja az NMRI törzs MC-jeinek magasabb sérülékenységét a PILO kezelés hatására.

(3) A PILO-indukált krónikus görcsök jelentős eltéréseket eredményeztek az egértörzsek iGluR alegységeinek mintázatában. Az NMRI egerekben szignifikáns összefüggéseket találtunk az NPY és a GluA1 valamint a GluA2 immunreaktivitás változásai között.

(a) Az NPY növekedése és a GluA1 csökkenése között pozitív korrelációt találtunk.

(b) Minél jobban nőtt az NPY immunreaktivitás mértéke, annál kevésbé csökkent a GluA2 immunpozitivitása.

(4) Eredményeink szerint az NPY immunhisztokémia egy jól használható és érzékeny technika lehet, amely láthatóvá teszi az epileptikus folyamatot mindkettő rágcsáló fajban.

## A TÉZIS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

- I. **Karoly N**, Mihaly A, Dobo E (2011) Comparative immunohistochemistry of synaptic markers in the rodent hippocampus in pilocarpine epilepsy. *Acta Histochem* 113:656-662.
- II. **Karoly N**, Dobo E, Mihaly A (2015) Comparative immunohistochemical study of the effects of pilocarpine on the mossy cells, mossy fibres and inhibitory neurones in murine dentate gyrus. *Acta Neurobiol Exp* 75(2):220-237.
- III. Dobo E, Torok I, Mihaly A, **Karoly N**, Krisztin-Peva B (2015) Interstrain differences of ionotropic glutamate receptor subunits in the hippocampus and induction of hippocampal sclerosis with pilocarpine in mice. *J Chem Neuroanat* 64-65:1-11.



## SZEGEDI TUDOMÁNY EGYETEM

### Általános Orvostudományi Kar

### Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

6724 Szeged, Kossuth Lajos sgt. 40.

Tel: 62/545665 e-mail: [office.anatomy@med.u-szeged.hu](mailto:office.anatomy@med.u-szeged.hu)

## Szerzői nyilatkozat

**A doktorjelölt neve:** Károly Norbert

Első szerzőként nyilatkozom, hogy nevezett értekezését ismerem.

Az abban hivatkozott (közleménybe foglalt) eredmények

- a jelölttel közös munkánk eredménye,
- az eredmény elérésében a jelölt meghatározó munkát végzett.

Nem ellenzem, hogy a közlemény anyagát értekezésében felhasználja.

Kijelentem továbbá, hogy a közlemény anyaga más Ph.D. értekezésben felhasználásra nem kerül.

Közlemény címe:	<u>Interstrain differences of ionotropic glutamate receptor subunits in the hippocampus and induction of hippocampal sclerosis with pilocarpine in mice</u>
Szerzők:	Endre Dobó, Ibolya Török, András Mihály, Norbert Károly, Beáta Krisztin-Péva
Folyóirat, év, kötet, oldaltól /-ig	J Chem Neuroanat, 2015, 64–65:1–11.

Szeged, 2017-11-21.

Dr. Dobó Endre M.Sc., Ph.D.

egyetemi adjunktus









