

Az emlős retina fejlődése számos tekintetben a tudomány kevésbé feltárt területei közé tartozik. A legtöbb kérdést a zöldérezékeny, azaz a közepes és magas hullámhosszakra érzékeny csapok fejlődése veti fel. A mára többszörösen igazolt transzifferenciációs elmélet szerint (Szél és mtsai, 1994) a zöldérezékeny csapok fejlődése nem független a rövid hullámhosszúságú fényre érzékeny, ún. kékérezékeny csapokétól. Az egyedfejlődés során megfigyelhető, hogy a zöldérezékeny csapokban először a kékérezékeny látópigment termelése indul meg, amit egy átmeneti koexpressziós, a kék- és zöldérezékeny opszin egyidejű termelésével jellemezhető fázis után a zöldérezékeny pigment kizárólagos termelése vált fel. Az opszintermelés szabályozása nagyrészt ismeretlen. Sőt, a különböző emlős fajokra jellemző speciális csap-eloszlási mintázatok alapján az is felmerül, hogy az opszinváltás szabályozása –legalábbis részben- fajoként eltérő lehet. A legtöbb kísérletes eredmény egér retinából származik, melynek retinájában a kék- és zöldérezékeny csapok sűrűsége a dorzocentrális tengely mentén jelentősen változik. Más rágcsálókban, így a patkányban a különböző csapok eloszlása egyenletes, a szibériai törpehörcsög minden csapja egyszerre mindkét csapspecifikus opszint expresszálja, míg a szíriai aranyhörcsög retinájában csak a zöldérezékeny opszin expresszálódik (Lukáts és mtsai, 2005).

Az opszin transzifferenciációt szabályozó faktorok közül a tiroxin szerepét többszörösen bizonyították egérben (Ng és mtsai, 2001; Yanagi és mtsai, 2002; Roberts és mtsai, 2006; Glaschke és mtsai, 2010). Knock-out kísérletekkel igazolták, hogy a hormon TR $\beta$ -es receptora egérben nélkülözhetetlen a zöldérezékeny csapok kifejlődéséhez, és hiányában a zöldérezékeny fotopigment termelése elmarad. Mivel az egér retina csapjai bonyolult fejlődési mechanizmust feltételező, igen speciális megoszlást mutatnak, joggal merül fel a kérdés, hogy vajon az egérben leírtak más fajokra is extrapolálhatók-e.

Mivel a saját, a csapfejlődést *in vitro* körülmények között vizsgáló eredményeink és a vonatkozó irodalmi adatok a különböző fajokban található csapok fejlődésében jelentős eltéréseket valószínűsítene, fontosnak éreztük a pajzsmirigyhormon szükségességének tisztázását az egértől eltérő csapmegoszlást mutató fajokban is. Kísérleteinkben immunhisztokémiai és biokémiai módszerekkel is igazoltuk a tiroxin hatását mediáló TR $\beta$ 2 receptor expresszióját a fejlődő patkány és szíriai aranyhörcsög retinában. A receptor expressziója mindkét fajban már az embrionális mintákban kimutatható volt, és a csapnak vélt TR $\beta$ 2-pozitív elemeket a korai posztnatális mintákban is azonosítani tudtuk. A receptor megoszlásának időbeli és térbeli mintázata alapján a tiroxin szerepe feltételezhető ezekben a fajokban is. Hipotézisünket saját *in vitro* kísérleteink mellett egy másik munkacsoport időközben publikált eredményei is alátámasztják (Glaschke és mtsai, 2011).

*In vitro* kísérleteinket organotipikus retinatenyészetben, újszülött vagy késői embrionális korban kiültetett retinák felhasználásával végeztük. Bár az eljárás segítségével a retina fejlődése definiált környezetben az eredeti szöveti struktúra fenntartásával vizsgálható, az organotipikus retinatenyészetek alkalmazhatósága a csapfejlődés kutatásában mindaddig meglehetősen korlátozott volt. Az elmúlt két évtizedben a differenciálatlan egér és patkány retinák felhasználásával végzett tenyésztési kísérletek rendre kudarcot vallottak, mert bennük a zöldérezékeny csapok fejlődése elmaradt (Söderpalm és mtsai, 1994; Wikler és mtsai, 1996; Liljekvist-Larsson és mtsai, 2003). A munkacsoportunk által bemutatott tenyésztési eljárás a korábbi problémákat kiküszöbölve a korábbi sikertelen próbálkozásokkal szemben a zöldérezékeny csapok kifejlődését is lehetővé tette (Arango-Gonzales & Szabó és mtsai, 2010). Tenyésztési rendszerünkben a késői embrionális vagy korai posztnatális korban izolált retina akár egy hónapig is életben tartható, és a tenyészetekben a zöldérezékeny csapok is az *in vivo*

állapothoz hasonlóan, és azzal összevethető sűrűségben fejlődnek. A módszert eddig már sikeresen adaptáltuk négy, eltérő fotoreceptor elrendezést mutató rágcsáló fajra (patkány, egér, szíriai- és szibériai hörcsög). Megállapítottuk, hogy a tenyésztő médiumunkban az összes fotoreceptor differenciálódása végbemegy még szérumentes környezetben is, így a sejtek fejlődését, a világon először, definitív médiumban is vizsgálhattuk. A fentebb említett két fajban, a patkányban és szíriai aranyhörcsögben is megfigyelhető volt, hogy a pajzsmirigyhormonok megvonása a fejlődési folyamatot leállította. A hormonmentes környezetben tenyésztett retinákban a zöldérzékeny csapok monoklonális ellenanyaggal egyáltalán nem, poliklonális ellenanyaggal pedig csökkent számban tudtunk csak kimutatni. Immuncitokémiai eredményeinket molekuláris biológiai módszerekkel is sikerült alátámasztanunk. A csap-specifikus opszin mRNS szinteket PCR módszerrel összehasonlítva különböző módon tenyésztett retinákban, kimutattuk azt, hogy a vártan megfelelően hormonmentes környezetben az kékérzékeny opszin magasabb, a zöldérzékeny opszin viszont alacsonyabb szinten expresszálódik. Sikerült tehát a pajzsmirigyhormon szerepét az egértől eltérő csapeloszlási fajokban funkcionális vizsgálatokkal is alátámasztanunk.

Saját kísérletes adataink arra utalnak, hogy a tiroxin mellett más szolubilis faktorok is hatással vannak a csapokra jellemző látópigment expressziójának szabályozására. Retinatenyészeteken végzett kísérleteink felvetették az A-vitamin származékainak szerepét, és igazolták az E-vitamin szükségességét is a csapok differenciálódásában.

A csapfejlődést befolyásoló potenciális jelöltként felvetettük a neurotrophin növekedési családba tartozó BDNF (Brain Derived Nerve Factor) és rokon vegyületeinek (neurotrophin-3 és neurotrophin-4) szerepét is, mert ezek tirozin-kináz típusú TrkB receptorának expressziója a felnőtt patkány fotoreceptorai közül kizárólag a zöldérzékeny csapok kültagjaira korlátozódik (*Di Polo és mtsai, 2000*). A receptor posztnatális expresszióját vizsgálva kimutattuk, hogy az patkányban a fejlődő zöldérzékeny csapokon a zöldérzékeny látópigment termelésének beindulásával közel egy időben, a tizedik posztnatális napon jelenik meg. A zöldérzékeny opszin és a TrkB receptor expressziója a fejlődés során mindvégig szoros kapcsoltságot mutatott. A két gén aktiválódása között feltételezett funkcionális kapcsolat feltárására újszülött patkány retina hosszútávú organotipikus tenyésztését végeztük el szelektív neurotrophin antagonisták jelenlétében. Kísérletünkben az *in vitro* fejlődő patkány retinákat BDNF és neurotrophin-4 antitestekkel kezelve az endogén neurotrophin termelés gátlása mellett követhettük nyomon a fotoreceptorok fejlődését. A három hetes tenyésztési fázist követően a tenyészeteket szövettani és statisztikai analízisnek vetettük alá. A retina posztnatális fejlődése a kezelt és a kontroll tenyészetekben egyaránt végbement, és a retina strukturáltsága még a kombinációban alkalmazott anti-BDNF- és anti-neurotrophin-4 kezelés hatására sem változott meg. Tenyészetekben a csapok immuncitokémiai jelölését követően azok mennyiségi analízisét is elvégeztük. A zöldérzékeny csapok mind a kezelt, mind pedig a kontroll tenyészetekben kifejlődtek, és a harmadik hét végén a kontroll tenyészetekben  $\sim 4450 \pm 870$  sejt/mm<sup>3</sup> átlagos sűrűséget értek el. A zöldérzékeny csapok száma a gátló kezelések hatására sem változott: mind az anti-BDNF, mind pedig az anti-neurotrophin-4, mind pedig a kombinált kezelésnek alávetett retinákban hasonló csapsűrűséget találtunk. Bár a TrkB receptor általunk leírt expressziós mintázata a zöldérzékeny csapokra specifikus hatást valószínűsít, a receptor mediálta funkciót mindeddig nem sikerült meghatároznunk.

Fejlődéstani kísérleteink során figyeltünk fel arra, hogy a rodopszin ellenes antitestek a pálcikák mellett a retina belső magvas és a ganglionsejtes rétegeiben több másik sejtpopulációt is megjelölnek. A kísérleteinkben használt rágcsálók (patkány, egér, szibériai törpehörcsög, szíriai aranyhörcsög) az éjjel aktív fajok közé tartoznak, így retinájukban a

pálcika sejtek jelentős túlsúlyban vannak a különböző hullámhosszúságú fényre érzékeny, színlátásért felelős csapokkal szemben. A belső retina rodopszin-pozitív sejtjeit mind a négy vizsgált rágcsalófajban megtaláltuk. Az első jelölt sejtek a 4-7 napos posztnatális életkortól kezdődően jelennek meg, és a negyedik hét végéig kimutathatók. A sejtek mind a fehérje N-, mind a C-terminálisa ellen termelt ellenanyaggal jelölhetőek. Morfológiájuk a megfelelő retina réteg rezidens sejtjeire hasonlít, és nyúlványrendszerük bipoláris, amakrin vagy ganglionsejt-szerű. Felnőtt egyedekben az alkalmazott ellenanyagok hasonló sejteket nem, csak a külső magvas réteg pálcikáit jelölik meg. A fejlődés alatt átmenetileg megjelenő nyúlványos sejtpopuláció további karakterizálására különböző posztnatális korokban fixált retinakon végeztünk kettős jelöléses vizsgálatokat. Megállapítottuk, hogy e sejtek más fotoreceptor fehérjét (csap-specifikus opszint, melanopszint) nem tartalmaznak. Igazoltuk, hogy ezek a sejtek nem mikroglia, melyek a pusztuló fotoreceptorok felszabaduló opszinjeit fagocitálnák, mert mikroglia/makrofág markerekkel nem jelölődtek. A rodopszin-pozitív sejtek azonosítására és karakterizálására ismert bipoláris, amakrin és ganglionsejt populációkat jelölő ellenanyagokkal is kettős jelöléseket végeztünk. Az eddig vizsgált kb. 20 féle ellenanyaggal csak a recoverin kalciumkötő fehérje esetében sikerült kolokalizációt kimutatni, amely a vizsgált fajokban az összes fotoreceptor sejtet is jelöli. A lokalizációtól függetlenül a sejtek mindegyike pálcika-specifikus arresztin ellenes ellenanyagokkal is jelölődött. Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy e sejtek pálcikák lehetnek, melyek nem tudtak integrálódni a fejlődő retina külső magvas rétegébe, és a belső retinában rekedtek.

Egy másik kísérletünkben az erythropoiein retinális expresszióját vizsgáltuk meg immunhisztokémiai módszerek és Western blot segítségével. Nagyszámú kísérletes eredmény bizonyítja, hogy az erythropoietin a klasszikus, vérképzést serkentő hatásán túl egy általános, a haemopoesistól független szerepet is betölt. Expressziója nem korlátozódik a vesére, lokális termelődését számos szervben leírták. Bár indukált patológiás körülmények között neuroprotektív és antiapoptotikus hatással bír, a retinára gyakorolt normál élettani szerepe és expressziójának kontrollja nem ismert. Eredményeink alapján elmondható, hogy az erythropoietin expressziója időbeni változást mutat a fejlődő patkány retinában. A megszületést követő első napokban expressziója a ganglionsejt rétegben és a túlnyomórészt még fejlődő sejteket tartalmazó neuroblaszt réteg vitreális helyzetű sejtjein volt kifejezett. Az első posztnatális hét második felére, a retina érésével és sejtjeinek elköteleződésével párhuzamosan diffúz pozitív jel jelent meg a belső magvas réteg sejtjein és az elkülönülő külső plexiform rétegben. Kolokalizációs vizsgálatokkal igazoltuk, hogy a belső magvas réteg sejtjei közül a horizontális, az amakrin, a Müller- és a bipoláris sejtek mutattak erythropoietin pozitívítást. Felnőtt retinában a ganglionsejtek mellett a belső magvas réteg sejtjei, a fotoreceptor beltagok és a plexiform rétegek jelölődtek a fejlődés alatt látottaknál alacsonyabb intenzitással. Az elvégzett Western blot vizsgálat igazolta az erythropoietin immunhisztokémiával látott időbeli expressziós változásait. A korai posztnatális fejlődésre jellemző magas expressziós szintekkel szemben a felnőtt állatokban alacsony proteinszintet találtunk. Az erythropoiein termelődését szabályozó hypoxia indukált faktor (HIF) izoformáinak eloszlását is megvizsgáltuk. Születéskor csak a HIF1- $\alpha$  izoforma volt kimutatható, melynek expressziója egyre kifejezettebbé vált az első két élethét alatt. A csak a második posztnatális hét közepétől megjelenő HIF2- $\alpha$  expressziós szintje az összes vizsgált időpontban alacsony maradt. Mindkét hypoxia indukált faktor izoforma expressziója a retina belső rétegeire korlátozódott. Eredményeink valószínűsítik, hogy az erythropoietin hatása nem korlátozódik a kóros folyamatokra, hanem a retina fejlődésében is fontos szerepet játszik. Feltételezzük, hogy expressziója a fejlődés korai szakaszában a HIF1- $\alpha$  szabályozása alatt áll.

A szíriai aranyhörcsög (*Mesocricetus auratus*) az emlősökhöz hasonlóan csukott szemhéjakkal, vakon születik. Az újszülött retinája még éretlen, a retina fejlődése postnatalisan fejeződik be. Először csak három sejtes réteg (ganglionsejtek, neuroblasztok, pigmenthám) alakul ki, majd a neuroblasztok két (külső és belső magvas) rétegre válnak, köztük pedig kialakul a külső szinaptikus réteg. A kültagok közben fokozatosan növekszenek. A szemnyitás idején (14. nap) már érett retinastruktúrát láthatunk.

A szemnyitás után már biztosan éri fény a retinát, beindul a fototranszdukció. A kulcsmolekula a rodopszin, a szabályozásban azonban más molekulák is részt vesznek. A rodopszin kináz az aktivált rodopszin foszforilációjával annak inaktiválását végzi. Kevésbé tisztázott a caveolin-1 és az src-kináz (c-src) szerepe. Az src-kinázok a lipid raftok jellegzetes alkotóelemei. A kültagokból lipid raftokhoz hasonló, detergens-rezisztens membránok izolálhatóak, amelyekben a rodopszin mellett kimutatható a caveolin-1 is. Ez a fehérje a lipid raftok egy alcsoportjának, a caveolának a felépítésében vesz részt és szerepet játszik az intracelluláris jelátvitel, ill. az irányított transzport szabályozásában.

A különböző korú hörcsög retinákban immuncitokémiával vizsgáltuk a fototranszdukcióban résztvevő molekulák elrendeződését (rodopszin, rodopszin-kináz, caveolin-1, c-src). Felnőttben a vizsgált fehérjék többsége a kül- és beltágban helyezkedik el. Az első napon csak caveolin-1 és c-src mutatható ki, majd megjelenik a többi fehérje is. Később a kültagkezdeményekben rodopszin, c-src és caveolin-1 depléción mutatkozik. Szemnyitás után a retina nagy részében lecsökken a szintjük, viszont a kültágban rodopszin és rodopszin kináz, míg a beltágban a többi molekula továbbra is kimutatható. E molekulák a sejttestben szintetizálódhatnak, és így együtt kerülnek a kültágba. A szintézis és a transzport valószínűleg azért olyan intenzív a fejlődés korai stádiumaiban, mivel bizonyos mennyiségű molekulának már a kültágba kell lennie a fototranszdukció beindulásakor (szemnyitás).

Kifejlett retinában a vizsgált molekulák egy része közös lipid rafton helyezkedik el, így elképzelhető, hogy a transzport is egy lipid rafton történik. A kettős jelölések ezt az elméletet támasztják alá. A caveolin-1 szerepe kitüntetett lehet, hiszen a transzport és a fototranszdukció szabályozásában is részt vehet. Kéréseink: a felsorolt molekulák mindegyike egyetlen lipid rafton van-e, a transzport tényleg raftok segítségével történik-e, és a molekulák foszforilációja miként befolyásolja a rendszer együttes működését.

A caveolinok olyan integráns membránfehérjék, melyek egy speciális membránstruktúrának, a caveolának alkotórészei. Később számos közlemény számolt be arról, hogy a caveolinok a caveolákon kívül is előfordulnak különböző sejtekben. Többek között részt vesznek a szignál transzdukcióban ill. transzportfolyamatokban. Az elmúlt egy évtizedben biokémiai és morfológiai témájú közlemények jelentek meg arról, hogy a caveolinok megtalálhatóak a szem ideghártyájában is. A retina egyéb sejtjei mellett a caveolin-1 megtalálható a fotoreceptor sejtekben is. Nagy érzékenységgű biokémiai módszerek segítségével először a fotoreceptorok kültágjában mutatták ki a caveolin-1-et. Különböző fajok retinájának morfológiai vizsgálata viszont arra az eredményre vezetett, hogy a caveolin-1 elsősorban a fotoreceptor egyéb részeiben expresszálódik, míg immuncitokémiával a kültág nem vagy csak minimálisan jelölődik.

Vizsgálataink célja egyrészt a caveolin-1 fotoreceptorokban az eddigiéknél való pontosabb lokalizálása volt, immuncitokémia és kültágizolálás segítségével. Másrészt fontosnak tartottuk a caveolin-1 expressziójának követését a retina fejlődése során, mivel a kültagok fejlődése idején folyik a legintenzívebb transzport a kültagok felé. Ezáltal ez az az időszak, amikor a

caveolin-1-nek, a fotoreceptor sejten belüli transzportban betöltött esetleges szerepe a legkönnyebben vizsgálható. Immuncitokémiai vizsgálatainkat ezen kívül kiegészítettük a caveolin-1 egyik szabályozó enzimének, egy kináznak, a c-src-nek a vizsgálatával. Szintén követtük a caveolin-1 foszforilált formájának a kifejeződését is. Ezekre a célokra elsősorban arany hörcsög, de kontrollként Wistar patkány ill. afrikai karmosbéka retinákat is felhasználtunk.

A fejlődés során 1, 5, 10, és 15 napos korban vettünk mintákat és ezeket hasonlítottunk össze felnőtt mintákkal. Western blot segítségével a fehérjék semikvantitatív analízise vált lehetővé. Mind a foszfo-caveolin-1, mind a caveolin-1 a fejlődés előrehaladtával egyre nagyobb mennyiségben expresszálódik: 1 napos korban még nem kimutathatóak, majd mennyiségük fokozatosan nő a felnőttkor eléréséig. Ezzel ellentétben a c-src expressziója érdekes módon viszonylag állandó. Ezen eredményeinket immuncitokémiával is alátámasztottuk a megfelelő életkorokból nyert fagyasztott metszeteken. A biokémiai vizsgálat mellett morfológia is fontos szereppel bír, hiszen a Western blot-hoz használt retina lysatum-ok a retina minden sejtjét tartalmazzák, viszont specifikus ellenanyagokkal jelölt metszeteken a vizsgált fehérjék a retina egyes sejtjeiben is lokalizálhatóak.

A felnőtt állatok ideghártyájában a fotoreceptorok vizsgálatára szorítkoztunk, habár a c-src és a caveolin-1 a retina számos más sejtjében ill. az erekben is megtalálható. Konfokális mikroszkóppal, nagy nagyítással lokalizáltuk a caveolin-1-et, foszfo-caveolin-1-et és a c-src-t a hörcsög fotoreceptoráiban. Sajnos a rágcsálók fotoreceptorai jellegzetesen vékonyak, így a pontos lokalizáció lehetőségei korlátozottak. Ezért próbáltuk a vizsgálatokat kiterjeszteni a karmosbéka fotoreceptoraira, melyek a rágcsálók hasonló sejtjeivel összehasonlítva jóval nagyobbak. Sajnálatos módon az ellenanyagaink közül csak a foszfo-caveolin-1 működött a karmosbékán, a többi nem adott specifikus reakciót. Ugyan a karmosbéka retinája viszonylag nagy fotoreceptorai miatt praktikus lehetne morfológiai vizsgálatokra, azonban az elérhető ellenanyagok nagy része rágcsálók antigénjei ellen vannak termeltetve. Ez sajnos korlátozza a karmosbéka felhasználhatóságát. Mind a hörcsög, mind a karmosbéka fotoreceptoráiban megfigyelhető, hogy a foszfo-caveolin-1 csak a kültágokban mutatható ki. Hörcsög retinákban a caveolin-1-et viszont mi is (hasonlóan a korábbi közlemények eredményeihez) elsősorban a fotoreceptor egyéb (kültágon kívüli) részeiben tudtuk lokalizálni.

Ezek az eredmények ellentmondani látszanak azon biokémiai vizsgálatokkal, melyek a caveolin-1-et a kültágban lokalizálták. Éppen ezért mi is elvégeztünk hasonló kísérleteket hörcsög retinák felhasználásával. Kimutattuk, hogy mindhárom fehérje (caveolin-1, foszfo-caveolin-1 és a c-src) kimutatható izolált kültág-membrán preparátumokban. Így az immuncitokémiai eredmények legvalószínűbb magyarázata, hogy az ellenanyagok egyszerűen nem férnek hozzá a fehérjékhez a kültág kompakt membrán rendszerében. Persze az is lehetséges, hogy a fehérjék mennyisége olyan kicsi, hogy azt az immuncitokémia nem, csak a Western blot képes őket detektálni.

Az eddigieknél pontosabb lokalizáció már csak fagyasztott ultravékony metszeteken lehetséges. Ezek elkészítése igen időigényes folyamat, de izgalmas eredményekkel kecsegtet, mivel olyan kérdésekre adhat választ, hogy pontosan milyen membránkompartmentekben ill. sejtalkotókban található meg a caveolin-1 a fotoreceptor sejten belül.

Specifikus antitestekkel vizsgáltuk a caveolin-1 az c-src, és a caveolin-1-et foszforiláló kináz eloszlását a retinában. Ennek a fehérjecsoportnak az eloszlását a rodopszinnal és a rodopszin kinázéval vetettük össze. Mindezt különböző korú fejlődő és felnőtt Szíriai hörcsög retináin

végeztük el. Különösen arra a fejlődési időszakra koncentráltunk, amikor a kültagok megjelenése és formálódása a legjellemzőbb volt. Kettős jelöléses immuncitokémiával megállapítottuk, hogy a fejlődés folyamán a rodopszin kolokalizációt mutat a caveolin-1 és a c-src elhelyezkedésével is. Mindhárom fehérje pontszerű struktúrákban jelent meg a külső limitáló membrán és a külső szinaptikus zóna között a 10 posztnatális fejlődési naptól. A rodopszint külön vizsgáltuk a caveolin-1-gyel, illetve a c-src-vel szemben. Ezek a vizsgálataink arra mutatnak, hogy a membrán raft fehérjék közösen fordulnak elő a fejlődés során, és ráadásul ez a komplex feltehetően komoly szerepet játszik a kültagok fejlődésében is. A pontszerű elrendeződésből pedig arra következtetünk, hogy a kültagfejlődés során ezen fehérjék komplex formájában transzportálódnak a fotoreceptorokban.

Az STK38L gén homozigóta mutációja kutyában jelentősen befolyásolja a fotoreceptorok fejlődését. Sejthalál (TUNEL) és proliferáció (PCNA, PHH3) egyaránt és egymástól függetlenül megfigyelhető különböző sejtípusokban a 7-14 posztnatális napok során. Ezen idő alatt a külső magvas rétegben nem észleltünk elváltozást. Az osztódó sejtek fotoreceptor eredetűek, rodopszin jelölést mutatnak, de nem jelölődnek makrofág-, mikroglia (CD18)-specifikus vagy Müller-sejt-specifikus markerekkel (glutamin szintáz, PAX6). Bár a retina perifériás része és a ciliáris marginális zóna mind a normális, mind a mutáns retinában jelölődik nestinnel, a külső magvas rétegből teljesen hiányzik a nestin jelölés. A sejtproliferációt megnövekedett cyclin A1 és LATS1 mRAS expresszió kíséri, de a CRX fehérje expressziója nem változik. A fotoreceptorok proliferációjával egyidejűleg azok összetétele is változik. Míg a sejthalál előtti időszakban a fotoreceptor mozaikot L/M és S csapok, illetve pálcikák alkotják, a proliferációt követően a kétféle csap mellett hibrid fotoreceptorok jelennek meg, amelyek a pálcikák többségét alkotják, és amelyek pálcika opszint (rodopszin), kisebb mértékben S-opszint expresszálnak, ugyanakkor hiányzik bennük az NR2E3 expresszió. A hibrid fotoreceptorok a csapokra jellemző módon diffúz kültag-megújulási mechanizmussal fejlődnek. Eredményeink azt mutatják, hogy a terminálisan differenciált, de mutáns fotoreceptorok az újonnan felfedezett degenerációs gén mutációja hatására képesek megőrizni osztódási képességüket.

A caveolin izoformák eloszlását korábban számos fajban vizsgálták már, de az emlős retinában nem állt rendelkezésünkre semmilyen adat. Ezúttal a fekete-fehér sávós lemúr retinájában vizsgáltuk izoform-specifikus ellenanyagokkal a fehérjék eloszlását. Mivel emberi anyag nem hozzáférhető, a lemúr retinát a humán retina modelljének tekinthetjük. Megállapítottuk, hogy az izoformák a retina számos rétegében előfordulnak.

A corpus pineale melatonin termelése fontos szerepet játszik a szervezet circadian és circannuális ritmusának hormonális irányításában. A melatonin éjszaka termelődik, az éjjeli világítás a hormontermelés gátlásával patológias folyamatokat von maga után, nőben mamma carcinomát, férfiben colorectalis carcinomát okozhat. Kísérletes vizsgálatok a pineális vegetatív rostok hatását mutatták ki emlősök melatonin termelésére. Több szerző feltételezi, hogy a submammaliák fotoreceptor pineális szervei emlősben és emberben elvesztették fotoreceptor működésüket és szimpatikus rostok közvetítésével a retinától kapnak fényinformációt a melatonintermelés szabályozására.

Saját vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a tobozszerű emlősökben is a retinához hasonló finomszerkezetet mutat: a retinális csapokhoz hasonló pinealocyttákat, secunder pineális neuronokat és gliasejteket tartalmaz. Az epithalamusból fejlődve a retinához hasonlóan speciálisan differenciálódott agyszövet. A vegetatív perifériás idegek – ahogy egyéb

agyterületeken sem lépnek vissza a központi idegrendszerbe – tobozszervben is a pinealis meningealis sövényekben futnak és a szerv erein végződnek.

Mivel neurológiai ismereteink szerint autonóm rostok fényspecifikus információt nem szállítanak és vasomotor terminálisokat képeznek, feltételezzük a pineális idegszövet circadián és circannuális változásának megfelelő anyagcsere-változások alátámasztásával segítik a pineális melatonin hormon termelését.

Pineális melatonin termelés téma részjelentése. 2008-2012. A vizsgálatok gyakorlati jelentőségét az éjjeli világitás melatonin termelés gátlása következtében kiváltott patológiás hatások – többek között nőben emlőrák, férfiben colorectalis carcinoma - adják meg. Általános irodalmi felfogás szerint az emlős és emberi corpus pineale elvesztette alacsonyabbrendű gerincesekben fejlett fényérzékelő képességét és a pinealis melatoninképzést a retinából vegetatív rostok által közvetített fényinformáció befolyásolja.

Mivel autonóm rostok fényspecifikus információ-továbbítása neurofiziológiailag nem indokolt, korábbi vizsgálatainkban emlősök tobozszervét vizsgáltuk és megállapítottuk, hogy a vegetatív rostok nem végződnek pinealocytákön, hanem vasomotor természetűek. Jelen vizsgálatainkban emberi corpus pinealét vizsgálva megállapítottuk, hogy emlősökhöz hasonlóan emberben sem végződnek pinealocytákön az autonóm rostok, hanem vasomotor terminálisokat képeznek. A vasomotor rostok a melatonin szekréciót a vérellátás szabályozásával segíthetik.

A pineális sejtek születés után még rendelkeznek citológiai fényreceptor struktúrákkal ezért vizsgáltuk különböző korú emberi koponya fényáteresztő képességét és azt találtuk, hogy a fény eléri az emberi corpus pinealét. Mivel a pineális melatoninképzést elsősorban rövid hullámhosszú fény gátolja, javasoltuk, hogy éjjeli műszakban, éjjeli ügyeletben hosszú hullámhosszú megvilágítást, ill. színszűrő szemüveget használjanak a patológiás hatások csökkentésére.

### Irodalomjegyzék

Arango-Gonzalez B & Szabó A, Pinzon-Duarte G, Lukáts A, Guenther E, Kohler K. In vivo and in vitro development of S- and M-cones in rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:5320-7.

Di Polo A, Cheng L, Bray GM, Aguayo AJ. Colocalization of TrkB and brain-derived neurotrophic factor proteins in green-red-sensitive cone outer segments. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:4014-21.

Glaschke A, Glosmann M, Peichl L. Developmental changes of cone opsin expression but not retinal morphology in the hypothyroid Pax8 knockout mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:1719–1727.

Glaschke A, Weiland J, Del Turco D, Steiner M, Peichl L, Glösmann M. Thyroid hormone controls cone opsin expression in the retina of adult rodents. *J Neurosci.* 2011 Mar 30;314844-51.

Liljekvist-Larsson I, Torngren M, Abrahamson M, Johansson K. Growth of the postnatal rat retina in vitro: quantitative RT-PCR analyses of mRNA expression for photoreceptor proteins. *Mol Vis.* 2003;9:657–664.

Lukáts Á, Szabó A, Röhlich P, Víg B, Szél A. Photopigment coexpression in mammals: comparative and developmental aspects. *Histol Histopathol.* 2005 Apr;20:551-74.

Ng L, Hurley JB, Dierks B, Srinivas M, Saltó C, Vennström B, Reh TA, Forrest D. A thyroid hormone receptor that is required for the development of green cone photoreceptors. *Nat Genet.* 2001;27:94-8.

Roberts MR, Srinivas M, Forrest D, Morreale de EG, Reh TA. Making the gradient: thyroid hormone regulates cone opsin expression in the developing mouse retina. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:6218–6223.

Söderpalm A, Szél Á, Caffé AR, van Veen T. Selective development of one cone photoreceptor type in retinal organ culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35:3910–3921.

Szél A, van Veen T, Röhlich P. Retinal cone differentiation. *Nature.* 1994;370:336

Wikler KC, Szél Á, Jacobsen AL. Positional information and opsin identity in retinal cones. *J Comp Neurol.* 1996;374:96–107.

Yanagi Y, Takezawa S, Kato S. Distinct functions of photoreceptor cell-specific nuclear receptor, thyroid hormone receptor beta2 and CRX in one photoreceptor development. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:3489–3494.