

Humán cinguláris kérgi neuronok gátló innervációja szkizofréniában

Tudományos Diákkör Dolgozat

37. OTDK Biológia Szekció

2025. január 15.

Készítette:

Tavaszi Tamara

Biológia BSc III. félév

Eötvös Loránd Tudományegyetem

Témavezető:

Török Bibiána

HUN-REN Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet Humán Agyszövet

Laboratórium



ELTE
EÖTVÖS LORÁND
TUDOMÁNYEGYETEM



Tartalomjegyzék

Összefoglaló	3
Rövidítésjegyzék.....	4
Bevezetés	5
Diagnosztikai osztályozási rendszerek szkizofréniában	5
DSM-5-TR.....	5
ICD-10.....	6
A pszichotikus tünetekért felelős jelátviteli útvonalak	7
A Brodmann 23 área és a szkizofrénia kapcsolata	9
Célkitűzések.....	12
Anyagok és módszerek.....	13
Humán minták	13
Mintavétel	13
Immunhisztokémia	15
Képalkotás.....	16
Adatfeldolgozás, statisztika	18
Eredmények	19
Diszkusszió	21
Szerzői hozzájárulás.....	24
Köszönetnyilvánítás	24
Irodalomjegyzék	25

Összefoglaló

A szkizofrénia (SKIZ) a populáció 1%-át érintő mentális betegség. Pozitív (hallucináció, téveszmék, rendezetlen gondolatok), negatív (zárkózottság, motiváció hiány, érzelmek eltompulása), valamint kognitív (memóriazavar, figyelemzavar) tüneteket mutathatnak a betegek. A poszterior cinguláris kéreg egy jelentős területe, Brodmann área 23 (BA23) a nyugalmi állapot fenntartásáért felelős “alpműködési hálózat” (default mode network-DMN) része. Korábbi tanulmányok összefüggésbe hozták a DMN diszfunkcióját a SKIZ negatív tüneteivel.

Célunk megvizsgálni, hogy a BA23 neuronjainak gátló bemenetei megváltoznak-e SKIZ-ben. Rövid posztmortem idejű (2-5h) humán jobb oldali BA23 III. és V. kérgi rétegében az idegsejtek szomatikus gátló bemenetét vizsgáltuk kontroll és SKIZ alanyokban. A 60 µm vastag metszeteken neuronális marker (NeuN), vezikuláris GABA transzporter (vGAT), valamint sejtmagjelölő (DAPI) fluoreszcens immunhisztokémiát alkalmaztunk. Az analízist konfokális fluoreszcens mikroszkóppal, 60x-os objektívvel készült képeken végeztük.

Az V. kérgi rétegben szignifikánsan kevesebb periszomatikus gátló terminális található idegsejteken SKIZ alanyokban a kontrollokhoz képest. Ez befolyásolhatja a BA23 kéreg alatti régiókkal való kommunikációját, továbbá a gyengébb szomatikus gátlás a BA23-ban hatással lehet a DMN működésére, mely a SKIZ negatív tüneteinek megjelenéséhez vezethet. A továbbiakban sejttípus-specifikusan is feltárjuk a vGAT terminálisok végződését SKIZ-ben, illetve a féltekék közti esetleges különbséget is vizsgáljuk.

Rövidítésjegyzék

BA23	Brodmann área 23
BSA	Bovine Serum Albumin (szarvasmarha szérum albumin)
DMN	Default mode network (alapműködési hálózat)
DSM-5-TR	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th ed., Text Revision (Mentális zavarok diagnosztikai és statisztikai kézikönyve ötödik kiadásának átdolgozott verziója)
GABA	Gamma-aminobutyric acid (gamma-aminovajsav)
GAD	Glutamát dekarboxiláz
ICD-10	International Classification of Diseases 10th Revision (Betegségek Nemzetközi Osztályozása X. revízió)
LI	Large Image (nagy látóterű kép)
mPFC	Mediális prefrontális kéreg
NeuN	Neuronal nuclear antigen
NIS	Nikon Instruments Software
NMDA	N-metil-D-aszparaginsav
PB	Foszfát-puffer
PCC	Poszterior cinguláris kéreg
PMI	Posztmortem idő
ROI	Region of interest (vizsgált terület)
SKIZ	Szkizofrén alany
SKO	Kontroll alany
TBS	Tris pufferelt sóoldat
Tris	Trisz-(hidroximetil)-amino-metán
vGAT	Vezikuláris GABA transzporter

Bevezetés

A szkizofrénia egy súlyos mentális betegség, amely a világ népességének körülbelül 1%-át érinti és pozitív tünetek, mint például a hallucinációk, téveszmék, bizarr viselkedés, negatív tünetek, mint a gondolkodás és beszéd csökkent gördülékenysége, örömtelenség (anhedonia), érdektelenség (avolitia), valamint kognitív zavarok jellemzik (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 2022). Az okai lehetnek genetikai, neurobiológiai elváltozások és környezeti behatások által kiváltottak. A jelenleg elérhető terápiák mellett nagyon ritka a teljes tünetmentes állapot kialakulása: negatív és kognitív tünetek továbbra is fennállnak a betegek többségénél (Koch, Kauppi et al. 2023). Emellett a rendellenesség 25%-a terápiarezisztens (Siskind, Orr et al. 2022), ráadásul az érintettek gyakran nem együttműködők (Hui, Poon et al. 2016), így a szkizofrénia kutatása rendkívül fontos a mai napig.

A szkizofrénia élesebb elkülönítése a többi mentális zavartól már az 1900-as évek elején bekövetkezett, amikor Eugen Bleuler megnevezte a betegséget, és diagnosztikai kritériumokat fogalmazott meg (Bleuler 1911). Az azóta tökéletesített, és pontosított kritériumok, melyek felállíthatják a szkizofrénia diagnózisát, két szisztéma alapján történhetnek: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th ed., Text Revision, (DSM-5-TR) és *International Classification of Diseases*, 10th Revision (ICD-10).

Diagnosztikai osztályozási rendszerek szkizofréniában

DSM-5-TR

A DSM-5-TR szerint, melyet 2013-ban publikált az American Psychiatric Association (APA), a következők a diagnosztikai kritériumai a szkizofréniának:

- Kettő (vagy több) a felsoroltak közül egy hónapon belül jelentős ideig jelen van (sikeres kezelés esetén kevesebb). Ezek közül legalább egynek, az (1), (2) vagy (3) pontnak (aktív fázisú tünetek) kell jelen lennie:
 1. Téveszmék
 2. Hallucinációk
 3. Rendezetlen beszéd (pl. gyakori kisiklás vagy inkoherencia)

4. Súlyosan rendezetlen, vagy katatón viselkedés
 5. Negatív tünetek (azaz csökkent érzelmi kifejezés vagy érdektelenség)
- Szignifikáns funkcionális hanyatlás a munkavégzés és a szociális kapcsolatok terén.
 - A tüneteknek legalább 6 hónapig fenn kell állniuk, és jellemző egy egy hónapos intervallum, ahol az aktív fázisú tünetek is jelen vannak (kezelés esetén lehet rövidebb). A tünetek lehetnek prodromálisak (betegség kezdetét jelző), vagy reziduálisak (a kórlefolyás sajátosságaira vonatkozó kategória; legalább egy pszichotikus epizód után pszichotikus tünetek nélkül, a negatív tünetek dominanciája, míg a pozitív tünetek csak csökkent intenzitással vannak jelen), beleértve a negatív és a gyengített aktív fázisú tüneteket.
 - Ki kell zárni a szkizoaffektív, depresszív és bipoláris pszichotikus jellemzőkkel rendelkezőket.
 - A tüneteket nem okozhatja szerhasználat, gyógyszeres kezelés, vagy más egészségügyi állapot.
 - Fejlődési rendellenesség esetén, a diagnózishoz legalább 1 hónapon át tartó, kiemelkedően téveszmék és hallucinációk jelenlétére van szükség (Hany, Rehman et al. 2024).

ICD-10

- Az alábbiak közül legalább egy előfordul a pszichotikus betegség egy hónapig tartó periódusában:
 1. Gondolatvisszhang, gondolatbeillesztés vagy elvonás, visszhang és gondolatsugárzás
 2. Kontrollal, befolyással vagy passzivitással kapcsolatos téveszmék; megtévesztő percepciók
 3. Hallucinált hangok, amelyek folyamatosan kommentálják a beteget, vagy párbeszédet folytatnak egymás között a betegről
 4. Tartós téveszmék

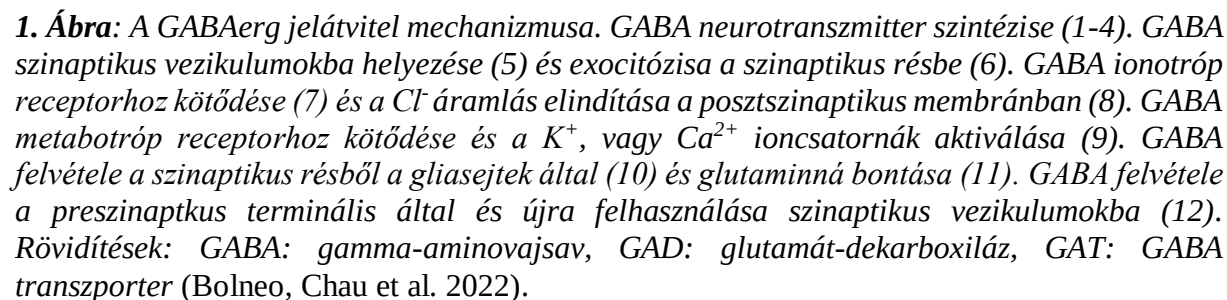
- Az alábbi tünetek közül legalább kettő minimum egy hónapig megfigyelhető:
 1. Tartós hallucinációk bármilyen modalításban, ha röpke vagy félig kialakult téveszmék kísérik
 2. Törések vagy interpolációk a gondolkodásban, amelyek inkoherens, irreleváns beszédet vagy neologizmusokat eredményeznek
 3. Katatón viselkedés
 4. Negatív tünetek
 5. Jelentős és következetes átalakulás a viselkedés általános minőségében, amely érdeklődésvesztésben és társadalmi visszahúzódásban nyilvánul meg (Hany, Rehman et al. 2024).

A pszichotikus tünetekért felelős jelátviteli útvonalak

A szkizofrénia elsődleges pozitív, negatív és kognitív tünetei számos neurotranszmitterrel kapcsolatba hozhatóak, de a szubkortikális dopamin diszfunkció a pszichotikus tünetek kulcsfontosságú tényezője. A preszinaptikus dopamin diszfunkció idézi elő a pszichózist szkizofréniában (McCutcheon, Krystal et al. 2020).

A dopamin hipotézis alapján, szkizofréniában az agy dopaminerg hálózatának neurotranszmissziós zavara lép fel, mely során dopaminerg jelátvitel hiperfunkció jelenik meg a mezolimbikus rendszerben, és hipofunkció a mezokortikális rendszerben (Keshavan and Song 2024). A pszichotikus tünetekért felelős elsődleges útvonal a talamusz, agykéreg és striatum között alakul ki, ezek bármelyik elemének elváltozása pedig károsodást válthat ki a teljes hálózatban. Antipszichotikumokkal való kezelés során, mely szerek dopamin antagonisták, azonban nem magyarázhatók a szkizofrénia mechanizmusai teljes egészében, hiszen ezek a szerek nem, vagy kevésbé hatnak a negatív, illetve kognitív tünetekre (Correll and Schooler 2020). Tanulmányok kimutatták, hogy a dopaminerg neuronok glutamát és gamma-aminovajsav (GABA) kotranszmittereket is felszabadítanak a jelátvitel során. A glutamát a serkentő, a GABA a gátló útvonalban szabályozza a dopamin neuronok aktivitását (Luvsannyam, Jain et al. 2022).

Mindkét hipotézisre farmakológiai vizsgálatok vezettek, emellett a szkizofrénia patomechanizmusát posztmortem agyi vizsgálatok által felállított GABA hipotézis is alátámasztja. A gátló GABA neurotranszmitter a glutamát dekarboxilezésével bioszintetizálódik. Egy, ezt a folyamatot segítő katalizátor, a glutamát dekarboxiláz 67 (GAD67) lecsökkent értéket mutat a szkizofrén alanyokban. A GABA rendszer zavara, például a GAD aktivitás lecsökkenése, megfigyelhető az agykéregben, talamuszban és a hippokampuszban is (Gonzalez-Burgos and Lewis 2008). A vGAT a gátló beidegzés vizsgálatának egyik markere, mivel funkciója a GABA szinaptikus hólyagocskába történő felvétele (**1. Ábra**).

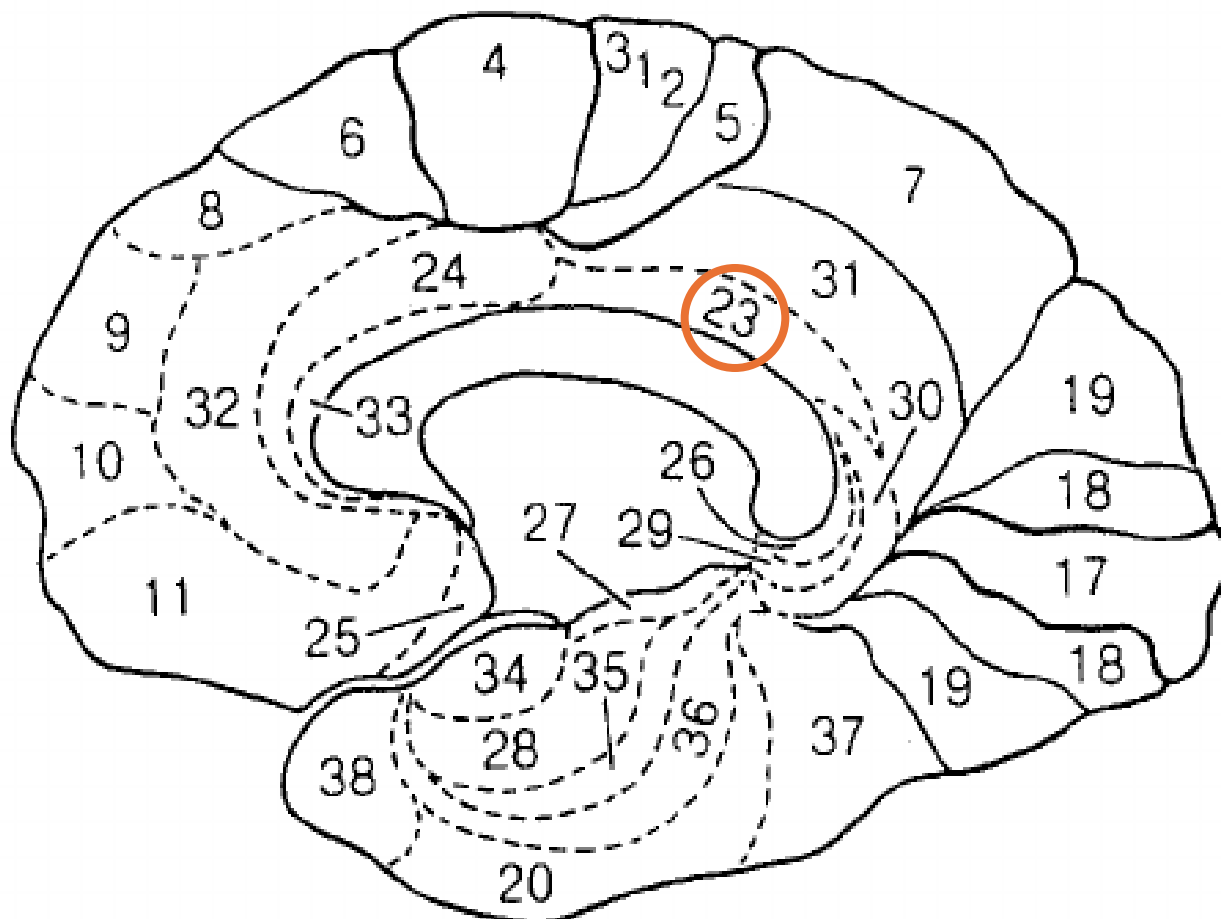


A Brodmann 23 área és a szkizofrénia kapcsolata

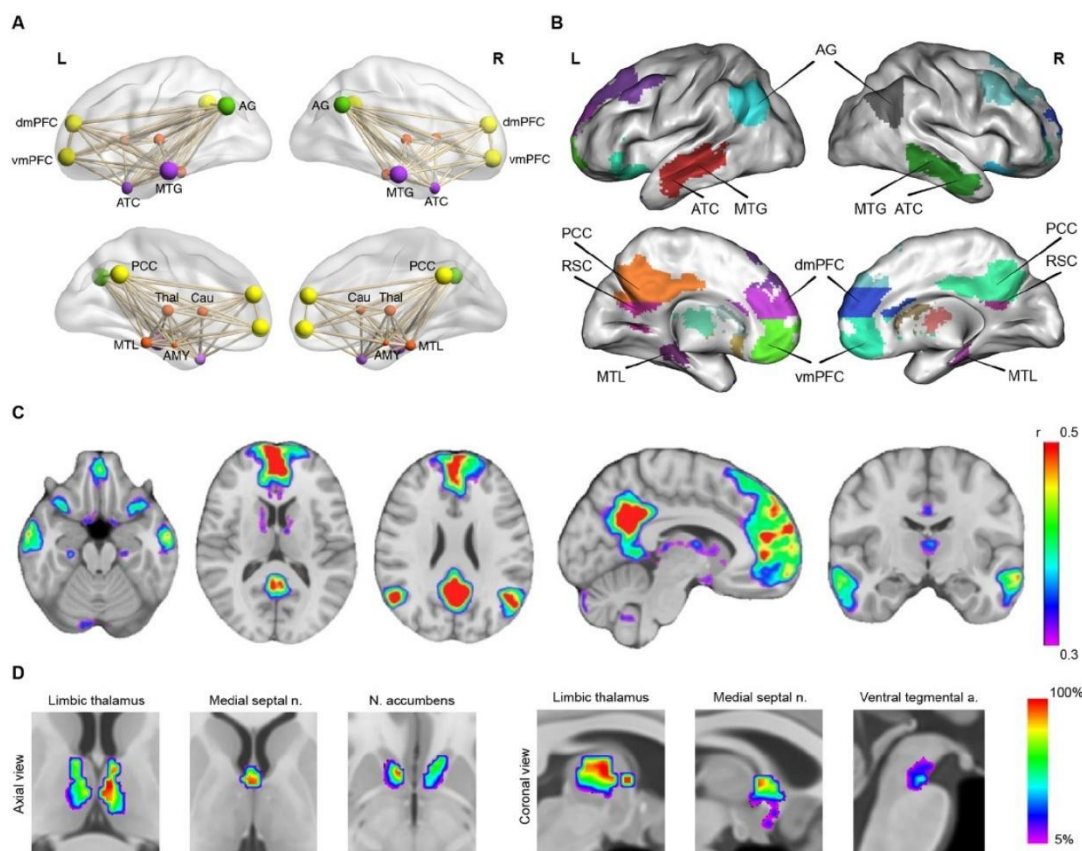
A Brodmann área 23 (BA23, a poszterior cinguláris kéreg /PCC/ egyik alrégiója) a limbikus rendszerek része, amelyek nagy szerepet játszanak az érzelmekben és a memóriefunkciókban (Rolls 2015). A BA23 a parietális kérgi régiók mellett található (**2. Ábra**), és szerepet játszik a gondolkodásban és a figyelemben (Leech and Sharp 2014). Fontos kiemelni, hogy a BA23 az alapműködési hálózat (default mode network-DMN) egyik csomópontja (Whitfield-Gabrieli and Ford 2012), és a DMN diszfunkciója szkizofréniában is megjelenhet (Hu, Zong et al. 2017). A DMN működése az agy belső rendszereként fogható fel, mely az olyan kognitív folyamatokra specializálódott, mint például az álmodozás, az emlékezés, saját magunk és mások érzelmeinek felismerése, valamint a kiegyensúlyozott és stabil belső állapot fenntartása nyugalmi helyzetben (Yeshurun, Nguyen et al. 2021). Az alapműködési hálózatot alkotó régiók, a mediális prefrontális kéreg (mPFC), a PCC és az anguláris gyrus az önreflexiót és nyugalmi állapotot összehasonlító kísérletekben átfedő aktivitást mutattak (**3. Ábra**). Ezen területek kapcsolódási vizsgálatának eredményei alátámasztják a PCC szerepét a DMN csomópontok aktivitásának felerősítésében az önreflexiós folyamatok során. Emelett az mPFC és a PCC az önmagunk és mások megkülönböztetésében, valamint az érzelmek felismerésében tölt be fontos szerepet, kiegészülve az anguláris gyrus funkciójával, mely a szociális interakciók során előrejelzi más emberek viselkedését adott helyzetben (Menon 2023). FMRI vizsgálatok a BA23 csökkent aktivitását rosszabb klinikai kimenetellel hozták összefüggésbe szkizofréniában (Mitelman, Shihabuddin et al. 2005). A DMN elemzése során az mPFC és PCC között megnövekedett kapcsolódást találtak feladat végrehajtás során szkizofrén alanyoknál. Ez a hiperkonnektivitás is szerepet játszik a negatív és kognitív tünetek kialakításában szkizofréniában (Whitfield-Gabrieli, Thermenos et al. 2009).

Hipotézisünk szerint a BA23 gátló bemenetének kétoldalú és regionális változásai szerepet játszhatnak a BA23 csökkent aktivitásában, így a szkizofrénia negatív tüneteinek megjelenésében. A kérgi interneuronok erősen heterogének, és a GABA neurotranszmitteren keresztül más neuronok működését szabályozzák (Petilla Interneuron Nomenclature, Ascoli et al. 2008). Egy korábbi humán posztmortem tanulmány leírta a kosársejtek terminálisainak csökkent denzitását szkizofréniában vizuális- és prefrontális kérgi régiókban (Fish, Rocco et al. 2021), valamint a

mozgató kéregben (Szocsics, Papp et al. 2023), azonban a BA23-at még nem vizsgálták. Ezért a BA23-ban a kosársejtek által adott szomatikus bemenet változásaira koncentráltunk, amely leginkább a piramissejtek periszomatikus gátlásáért felelős.



2. Ábra: Vizuális reprezentáció az általunk vizsgált poszterior cinguláris kérgi (BA23) területről, narancssárgával jelölve humán agy hosszmetzeti képének illusztrációján (Cabeza and Nyberg 2000) alapján, módosítva.



3. Ábra: Az alapműködési hálózat (DMN) kortikális és szubkortikális régiói. (A) Vizuális reprezentáció a DMN csomópontok funkcionálisan és anatómiailag összekapcsolt rendszeréről. (B, C) A DMN kérgi csomópontjai: poszterior cinguláris kéreg (PCC) és retrospleniális kéreg (RSC) a hátsó mediális parietális kéregben; mediális prefrontális kéreg (mPFC) dorsomediális (dmPFC) és ventromediális (vmPFC) alegységekkel; anterior temporális kéreg (ATC); középső temporális gyrus (MTG) a laterális temporális kéregben; mediális temporális lebeny (MTL); és anguláris gyrus (AG) az oldalsó parietális kéregben. (D) A DMN szubkortikális csomópontjai: elülső és mediodorzális thalamusmagok, mediális szeptális magok és nucleus accumbens (Menon 2023).

Célkitűzések

Korábbi tanulmányok arra utalnak, hogy szkizofréniában a cinguláris kéreg fiziológiai különbségei strukturális átrendeződéssel járhatnak együtt. Ezért célunk a BA23 összehasonlítása szkizofrén és kontroll alanyokban, tekintettel a fősejtek gátló beidegzésére.

Hipotézisünk, hogy a BA23-ban a szomatikus gátlás intenzitása megváltozhat szkizofréniában. Kísérletünk tehát a vezikuláris GABA transzporter (vGAT) terminális sűrűségének mérésére irányult a III. és V. kortikális rétegekben humán BA23-ban, mert ezek képezik a principális sejtek fő gátló bemenetét.

Anyagok és módszerek

Humán minták

A humán agymintákat a tatabányai Szent Borbála Kórház Patológiai Osztályának közreműködésével gyűjtöttük. Az anyaggyűjtést és a tudományos vizsgálatokat a Helsinki Nyilatkozat kritériumaival összhangban végeztük, kutatócsoportunk a szükséges etikai engedélyt az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottságától megkapta (eredeti engedélyszám: ETT TUKEB 31443/2011/EKU (518/PI/11), megújított engedély száma: ETT TUKEB 15092-3/2023). A kontroll alanyok (SKO) természetes úton hunytak el, náluk a klinikai adatok alapján, vagy a boncolás során nem igazolódott neurológiai-, vagy pszichiátriai zavar, agyi trauma, vagy szerabúzus. A szkizofréniás páciensek (SKIZ) a BNO-10 klasszifikációja alapján (World Health Organization, ICD-10, 2004) kapták a szkizofrénia diagnózisát, a szkizofrénia mellett más nagyobb neurológiai vagy pszichiátriai eltérés nem volt igazolható, ezek az alanyok is természetes halállal hunytak el (**1. Táblázat**).

1. Táblázat – A vizsgált alanyok főbb adatai. Rövidítések: SKO: kontroll alanyok, SKIZ: szkizofréniás alanyok, PMI: posztmortem idő

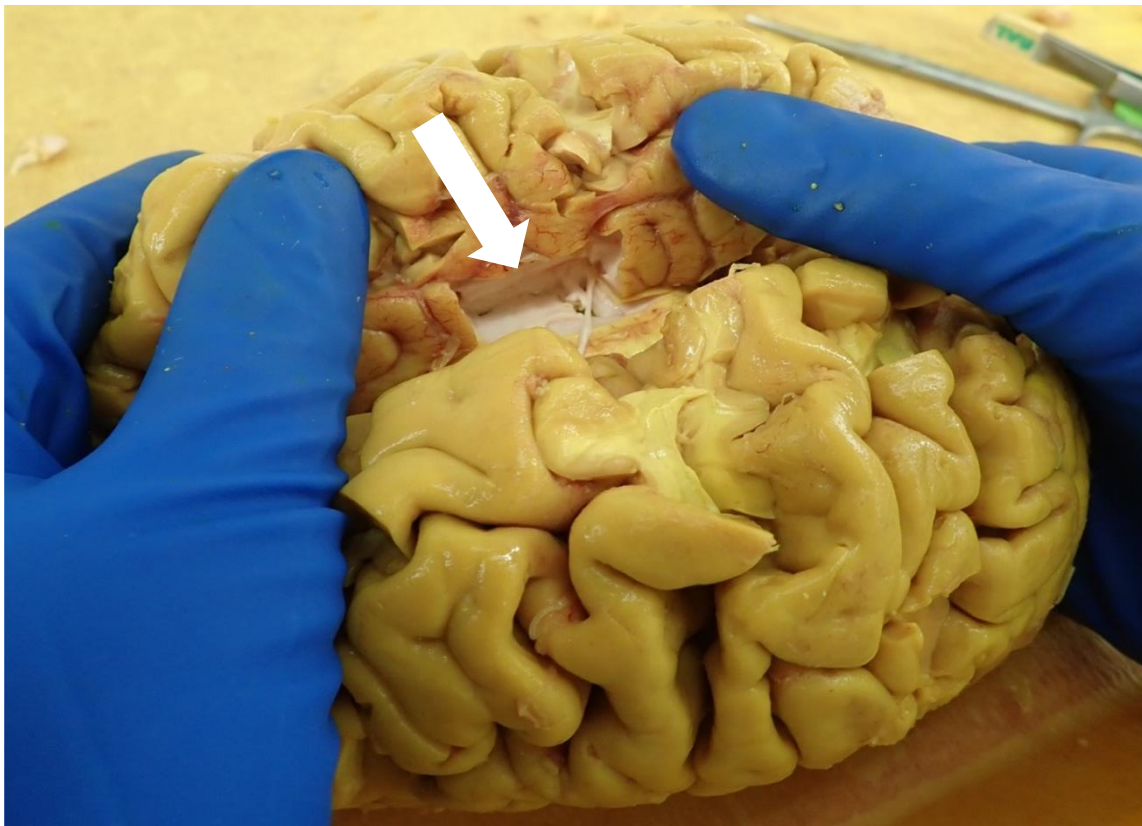
Kontroll	SKO3	SKO24	SKO27	SKO29	SKO19
Kor	59	79	76	69	61
PMI	5:05	2:30	3:15	3:32	2:53
Nem	Nő	Férfi	Nő	Férfi	Nő
Szkizofrénia	SKIZ2	SKIZ3	SKIZ8	SKIZ9	SKIZ5
Kor	78	71	71	84	61
PMI	5:45	4:15	3:15	2:47	3:59
Nem	Férfi	Nő	Nő	Férfi	Nő

Mintavétel

A halál beállta után 2-5 órával az alanyok teljes agyán perfúziós módon történő fixálást végeztünk. A rövid posztmortem időnek köszönhetően a szövet strukturális megőrzöttsége kiváló,

a citoszkeleton megtartotta szerkezetét (Wittner, Eross et al. 2005, Toth, Eross et al. 2010). A perfúzió a két arteria carotis interna, és a két arteria vertebralis kanülálásán keresztül történt, először 30 percen keresztül másfél liter 0,33% heparint tartalmazó fiziológiás sóoldat folyt keresztül az agyon, majd ezt követte a fixáló bevezetése. A fixáló Zamboni oldat 4% paraformaldehidet (Taab), 0- vagy 0,05% glutáraldehidet (Electron Microscopy Sciences), és 0,2 g/100 ml pikrinsavat (Sigma-Aldrich) tartalmazott 0,1 M foszfát-puffer (PB) oldatban (pH=7,4). Az agyon hozzávetőleg 4 liter fixáló oldat folyt át 3 óra alatt.

Perfúzió után a Brodmann-felosztást (Brodmann 1909) követve 0,5-0,8 cm vastag blokkokat távolítottunk el a cinguláris agytekervény hátulsó részéből (BA23, **4. Ábra**).



4. Ábra: (Szocsics Péter fotója, 2024) A jobb oldali BA23 területe, az área eltávolítása után, humán posztmortem fixált agyban.

Kutatócsoportunk korábbi vizsgálatok során kidolgozott egy protokollt az agyszöveti minták feldolgozására (Wittner, Eross et al. 2005, Toth, Eross et al. 2010): a mintázást követően a blokkokat egy éjszakán át glutáraldehidet nem tartalmazó Zamboni oldatban inkubáltuk 4°C-on. A legtöbb esetben ezek a blokkok a mintázást követően közvetlenül még nem lettek felhasználva. Másnap, 4 alkalommal 0,1 M PB oldatot cseréltünk a blokkokon, hogy kimossuk a fixálót, majd 30% szacharózt tartalmazó 0,1 M PB oldatba kerültek (4°C-on, rázógépen, 2 éjszakára, másnapi oldatcserével). A cukor bediffundált a szövetbe, így megakadályozva a nagyméretű jégkristályok keletkezését fagyasztás során (Griffiths, McDowall et al. 1984). A blokkokat folyékony nitrogén felett fagyasztottuk, és -80°C-on ultramélyhűtőben tároltuk felhasználásig. A szacharóz penetrációja, és a gyorsfagyasztásos technika segítségével előzzük meg a nagy jégkristályok keletkezését, mely a szövetet mechanikailag károsította volna.

A metszéshez a blokkokat felolvasztottuk és vibratómmal (Leica VT 1200S) 60 µm vastag metszeteket készítettünk. Ezeken végeztük az immunhisztokémiai festéseket. Felhasználást megelőzően ezeket a metszeteket is egy napig 30% szacharózt tartalmazó 0,1 M PB oldatban inkubáltuk és háromszor folyékony nitrogén felett fagyasztottuk. A metszetek fagyasztásos-felolvasztásos előkezelése növeli az antitestek szöveti penetrációját anélkül, hogy a finom struktúra lényegesen károsodna (Somogyi and Takagi 1982). A fagyasztást követően a metszeteken vagy elindítottuk az immunhisztokémiai kísérleteket, vagy felhasználásig -80°C-on tároltuk azokat.

Immunhisztokémia

A kísérlethez 5-5 alanyt használtunk (lásd **1. Táblázat**), és mindegyik jobb oldali BA23-ból két, egymással nem szomszédos metszetet használtunk fel, kiválasztásuk szisztematikus véletlenszerű mintázással történt (Gundersen and Jensen 1987).

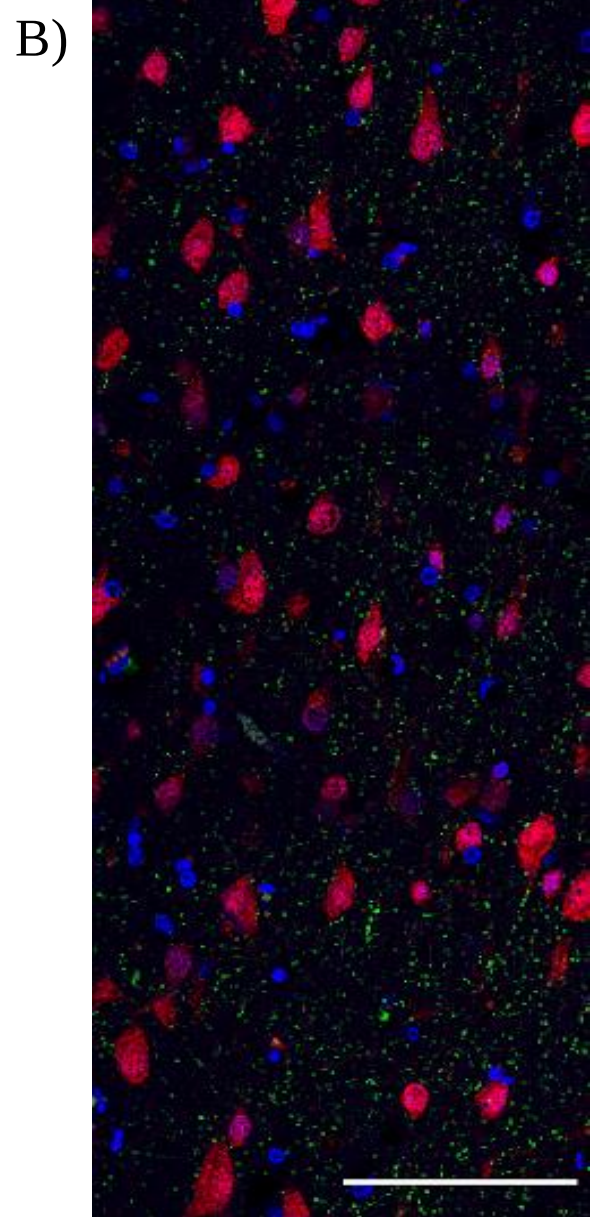
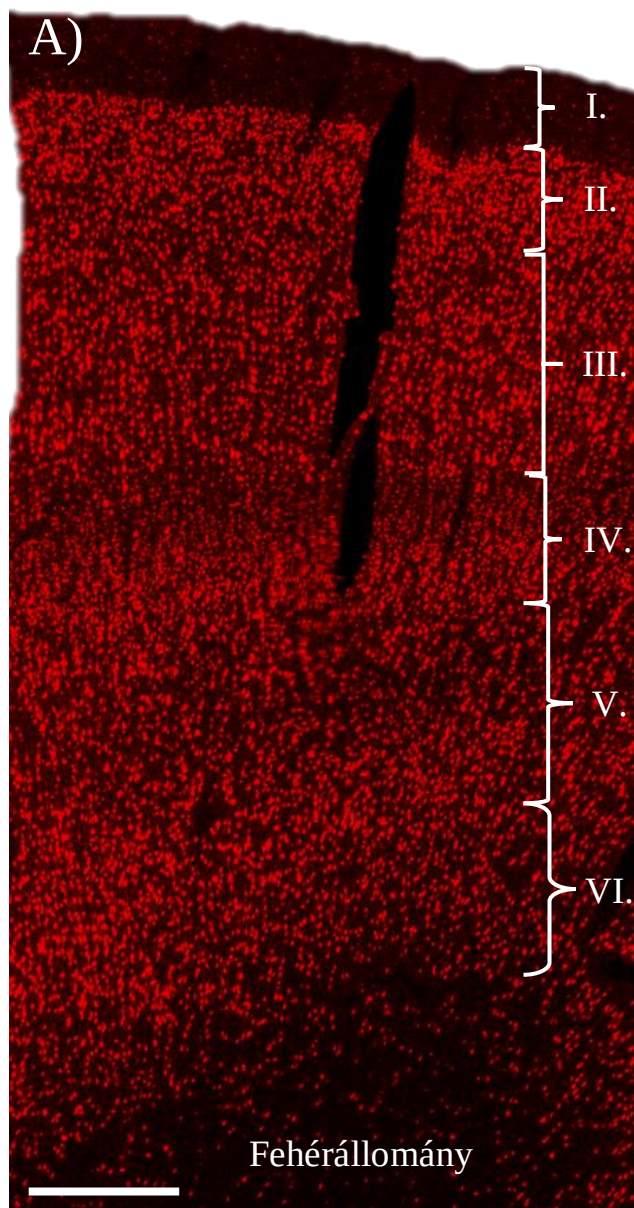
A metszeteket felolvasztást követően 10 percig mostuk 0,1M PB-ben, majd 2x10 percig Tris pufferelt sóoldatban (TBS). Ezután 1% hidrogén peroxidot használtunk TBS-ben oldva, amiben 10 percet hagytuk a metszeteket. Immunfluoreszcens vizsgálatokban a H₂O₂ képes csökkenteni az emberi agyszövetre egyébként nagyon jellemző autofluoreszcenciát (Pesce, Scardigli et al. 2022), így ezzel javítjuk a jel-zaj arányt. Ezt egy újabb 10 perces mosás követte TBS-ben. A nem-

specifikus antigén kötőhelyeket 2% szarvasmarha szérum albuminnal (bovine serum albumin-BSA) blokkoltuk, az antitestek penetrációjának növeléséhez 0,1% Tritont (polietilén-glikol-tercier-oktifenil-éter) használtunk. A 45 perces blokkolás és 5 perces TBS mosás után a primer antitesteket tartalmazó oldatok kerültek a metszetekre, és inkubációjuk két éjszakán keresztül 4°C-on, rázógépen történt. A kísérlet során minden metszeten a következő két elsődleges ellenanyagot alkalmaztuk 1:2000 hígításban: egérben termeltetett neuronális marker (NeuN; Chemicon, MAB377), kecskében termeltetett vezikuláris GABA transzporter (vGAT; Masahiko Watanabe és mtsai készítették és ajánlották fel csoportunknak (Iwakura, Uchigashima et al. 2012, Kudo, Uchigashima et al. 2012)).

A kísérlet során Alexa fluorofórokkal jelölt, számarban termeltetett másodlagos antitesteket alkalmaztunk, mindkét primer ellen 1:500 hígításban (Alexa647 donkey-anti-mouse: Jackson, 715-605-151; Alexa488 donkey-anti-goat: Invitrogen, A11055). Három óra inkubációs időt, majd három 10 perces TBS mosást követően sejtmagjelölő (nukleinsav-kötő) fluoreszcens festékkel (DAPI) 1:20000 hígításban, sötétben 5 percig kezeltük a metszeteket. Újabb 3 mosás után az ún. autofluoreszcencia-csökkentő lépés következett. Az idősödés során az agyban olyan molekulák halmozódnak fel, mint például a lipofuszcín (Baquer, Taha et al. 2009), amik autofluoreszcens jelet adnak, így rontják a jel-zaj arányt, és a kísérletek pontos értékelését. Csoportunk egy, enyhén savas (pH=5), 3 mmol/l réz-szulfátot és 50 mmol/l ammónium-acetátot tartalmazó oldatot használ autofluoreszcencia csökkentésre, ami 40 percig van a mintákon. Ez előtt és után a metszeteket átöblítettük desztillált vízzel. Az utolsó három 10 perces mosás után pedig PB-ben tárgylemezre húztuk a metszeteket és AquaMount-tal fedtük, majd egy nap száradás után tárgylemeztartó dobozban tároltuk.

Képalkotás

A metszeteket konfokális fluoreszcens mikroszkópba helyeztük, és 4x-es objektívvel készült nagy látóterű képeken (**5. Ábra A**) beazanosítottuk a III. és V. réteget von Economo könyve alapján (Economo 2009), majd 60x-os nagyításon rétegenként két véletlenszerűen kiválasztott területről (region of interest, ROI) nagy látóterű képkivágásokat készítettünk (large image, LI, **5. Ábra B**)), melyek az egyes rétegek teljes magasságát lefedték. Minden alany esetében két metszetből készültek a képek, így összesen 8 kép készült egy alanyról. A mikroszkóphoz tartozó program segítségével (Nikon Instruments Software - NIS-Elements) készítettük a képkivágásokat.



5. **Ábra A)** 4x-es objektívvel készült nagy látóterű kép a Brodmann 23 áréáról, az egyes kérgi rétegek jelölésével. Skála: 500 μ m **B)** 60x-os objektívvel a III. rétegben véletlenszerűen kiválasztott területről készített (region of interest, ROI) nagy látóterű képkivágás (large image, LI). Skála: 100 μ m

Adatfeldolgozás, statisztika

A képek analízisének Fiji ImageJ szoftvert alkalmaztunk. Megmértük a sejttestek területét (μm), és meghatároztuk, hogy mennyi vGAT-immunjelölés van a sejttesten. A sejtek és terminálisok kvantifikálását manuálisan végeztük. A neuronok körberajzolása és a vGAT terminálisok számolása több fontos kritérium szerint történt:

1. A terminálisokat csak a sejttesten számoltuk
2. Csak azt a NeuN pozitív sejttestet számoltuk, aminek látszott a sejtmagja a képen
3. A kép bal és alsó részén csak részben lefotózott sejteket NEM számoltuk
4. Azon sejteket, melyek összeértek, és intenzitás alapján nem voltak elkülöníthetők, NEM számoltuk
5. A dendritnyúlványok kezdeményénél lévő részt NEM rajzoltuk körbe

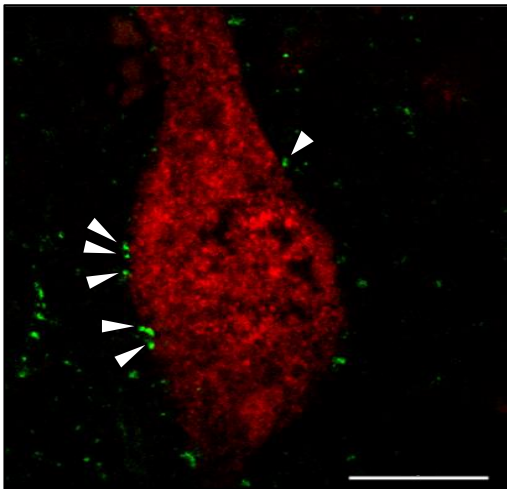
A program segítségével csökkentettük a festés háttérét, kontrasztosítottuk a képeket.

A hosszúságokat, a sejtek és a terminálisok számát Excel táblába vezettük fel, ahol ezeket feldolgoztuk, és megkaptuk a db vGAT terminális/100 μm sejttest terület eredményeket SKO és SKIZ esetében is. A statisztikát GraphPad Prism 8.0.2 szoftverrel készítettük el nem paraméteres Mann-Whitney U próbát alkalmazva.

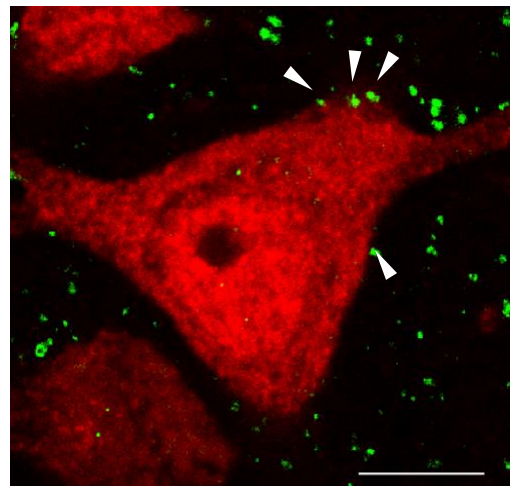
Eredmények

A BA23 III. rétegében nem találtunk különbséget a vGAT terminálisok számában SKO és SKIZ között ($p=0,1508$; Mann-Whitney $U=5$; **6. Ábra A), B)**; **7. Ábra A)**). Az V. kérgi rétegben szignifikánsan kevesebb szomatikus vGAT terminális volt SKIZ alanyokban a kontrollokhoz képest ($p=0,0159$; Mann-Whitney $U=1$; **6. Ábra C), D)**; **7. Ábra B)**). Az 5-5 alanyból származó adatok alapján a NeuN+ neuronok denzitása (**8. Ábra**) és mérete (**9. Ábra**) csoportonként és rétegenként sem mutatott eltérést.

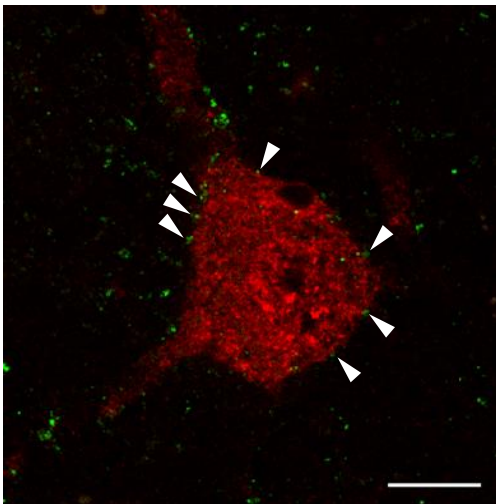
A) SKO29 III. réteg



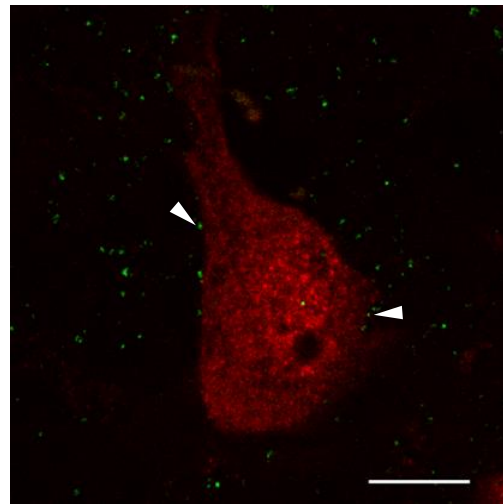
B) SKIZ8 III. réteg



C) SKO24 V. réteg

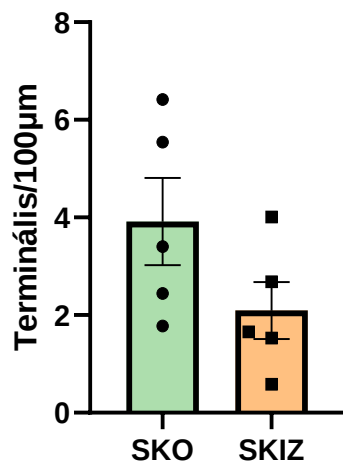


D) SKIZ9 V. réteg

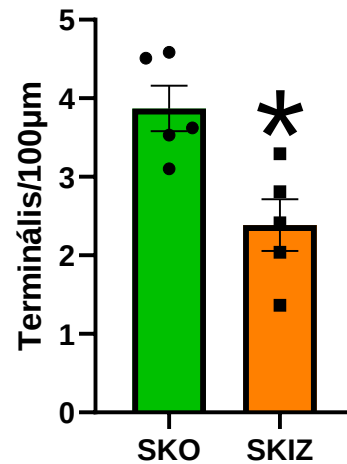


6. Ábra: NeuN (neuronális marker, piros) és vezikuláris GABA transzporter (vGAT, zöld) immunfestett neuron a BA23 III. (A), B)), és V. rétegéből (C), D)) kontroll (A), C)) és szkizofrén (B), D)) alanyokban. Skála: $10\mu\text{m}$

A) vGAT terminálisok száma a BA23 III. rétegében (jobb oldal)

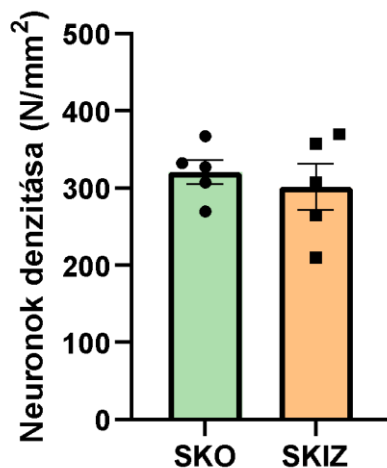


B) vGAT terminálisok száma a BA23 V. rétegében (jobb oldal)

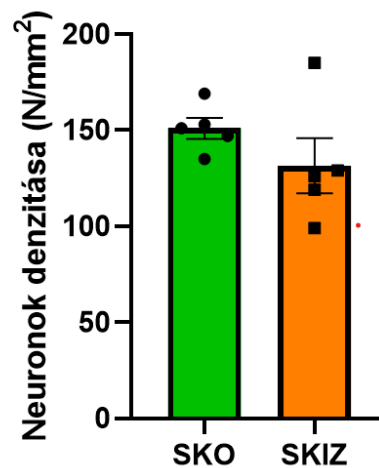


7. **Ábra A)** A BA23 III. rétegben megfigyelhető a kevesebb szomatikus vGAT jelenlétére való tendencia. $p > 0.05$, $n = 5$ /csoport **B)** A BA23 V. rétegben szignifikánsan kevesebb vGAT található a NeuN pozitív sejteken. $n = 5$ /csoport; jobb agyfélteke, Mann-Whitney U teszt; $*p < 0.05$

A) NeuN+ neuronok denzitása a BA23 III. rétegében (jobb oldal)

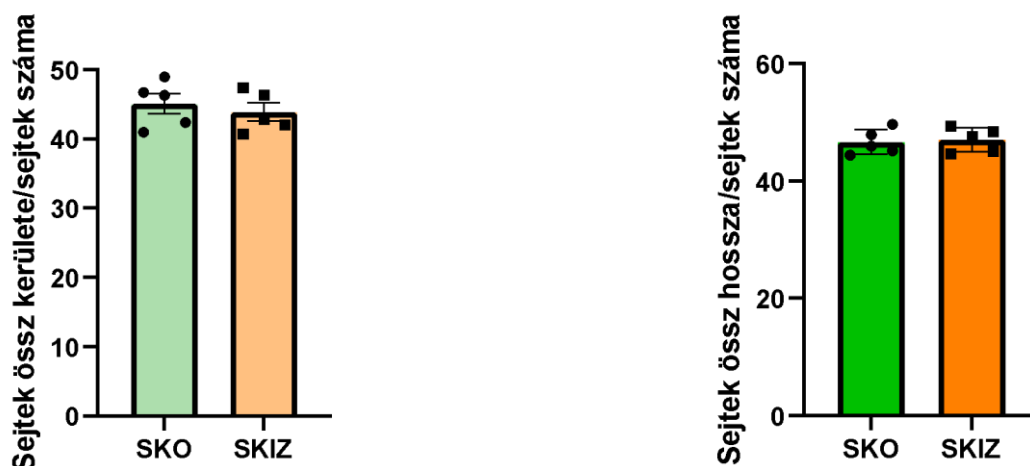


B) NeuN+ neuronok denzitása a BA23 V. rétegében (jobb oldal)



8. **Ábra A III. (A)) és V. (B)) réteg NeuN+ neuronjainak denzitása, csoportonként. A SKO és SKIZ NeuN+ neuronjainak száma között egyik rétegben sincs szignifikáns különbség.**

A) Sejtek nagysága a BA23 III. rétegében B) Sejtek nagysága a BA23 V. rétegében



9. Ábra A III. (A)) és V. (B)) réteg NeuN+ neuronjainak nagysága, csoportonként. A SKO és SKIZ NeuN+ neuronjainak mérete között egyik rétegben sincs szignifikáns különbség.

Diszkusszió

Összefoglalva, kísérletünkben a BA23 nagy piramissejtes rétegeinek gátló bemenetét, sejtjeinek méretét és neurondenzitását vizsgáltuk a jobb agyféltekében.

A jobb BA23 III. és V. kérgi rétegében nem találtunk a neuronok méretében különbséget. Előző tanulmányok kimutattak csökkent sejttest méretet a prefrontális kéreg III. kérgi rétegében szkizofrénia esetén (Pierri, Volk et al. 2001). A sejt méret csökkenése a betegeknél megfigyelhető az elsődleges és másodlagos hallóközpontokban (BA42 és 41) (Sweet, Pierri et al. 2003, Sweet, Bergen et al. 2004), és a munkamemóriáért felelős BA9-ben (Pierri, Volk et al. 2001). A prefrontális kéregbeli piramissejtek csökkenése mellett, a mozgáskoordinációban fontos szerepet betöltő Purkinje sejtek méretének csökkenését is leírták szkizofréniában (Tran, Smutzer et al. 1998). Ezen adatok alapján a piramissejtek csökkenésére szkizofrénia esetében magas a tendencia, főleg a prefrontális kéreg III. kérgi rétegben. Ezért, a funkcionális kapcsoltság miatt, a BA23 esetében további széleskörű vizsgálatok szükségesek a pontosabb eredmények feltárása érdekében.

A jobb BA23 vizsgált területein a neuronok denzitásában nem találtunk különbséget. A szakirodalomban nincs a BA23-ra vonatkozó adat, viszont például a hippocampusban csak a bal oldalon találtak neurondenzitás-csökkenést (Roeske, Konradi et al. 2021), csoportunk pedig

különbséget talált a jobb és baloldali primer mozgatókéregben szkizofréniában (Szocsics, Papp et al. 2023). Így a további vizsgálataink, melyek a bal agyfélteke BA23 régiójára is kiterjednek, a jobb féltekén tapasztalttól eltérő eredményeket is hozhatnak. Emellett több más, kérgi (Brune, Schobel et al. 2010, Gaus, Popal et al. 2023) és kéreg alatti (Kreczmanski, Heinsen et al. 2007) területen egyaránt leírtak neurondenzitás-csökkenést szkizofréniában. Ennek fényében egy széleskörűbb, szisztematikus sztereológiai vizsgálat (Schmitz and Hof 2005) a BA23-ban is pontosabb adatokat szolgáltatathat a jövőbeli vizsgálataink során.

Az V. kérgi rétegben kevesebb szomatikus gátló terminálist találtunk szkizofrén alanyokban, mint a kontrollban. A kisebb mértékű gátló bemenet a BA23 kéreg alatti kommunikációjára is hatással lehet, mivel az V. kérgi réteg piramissejtjei kéreg alatti területekkel állnak kapcsolatban (Jones 1984).

Számos kutatás arra utal, hogy szkizofréniában „alapműködési hálózat” (default mode network-DMN) hiperaktivitás léphet fel (Zhou, Liang et al. 2007, Liu, Kaneko et al. 2012, Guo, Liu et al. 2017). Továbbá a csökkent gátlás befolyásolhatja a DMN működését: például egy fMRI tanulmány leírta, hogy a mediális prefrontális kéreg GABA koncentrációja összefügg a DMN deaktivációval munkamemóriát igénybe vevő feladat teljesítése közben (Chen, Fan et al. 2019). Feltételezhető, hogy a BA23 kevesebb gátló bemenete is a DMN hiperaktivitás egyik kiváltó oka lehet, ami a szkizofrénia negatív tüneteinek kialakulásához is vezethet, ám ennek feltárásához további vizsgálatok szükségesek.

Mivel kísérletünkben a szkizofrén alanyok mindegyike antipszichotikum kezelés alatt állt, felmerülhet a kezelés hatása a gátló bemenetre. A szakirodalomban nincs erre vonatkozó adat a BA23 tekintetében; más agyterületeken rágcslókban leírtak már vGAT szint változást antipszichotikum kezelést követően. Krónikus aripiprazol kezelés hatására csökkent patkányban a vGAT szint például a prefrontális kéregben és a szeptumban (Peselmann, Schmitt et al. 2013), de fontos kihangsúlyozni, hogy a humán kezelés során javasolt dózis (Mace and Taylor 2009) körülbelül 100-szorosát kapták az állatok. Krónikus klozapin és haloperidol kezelés is hasonló eredményt mutatott (Zink, Schmitt et al. 2004), de a dozírozás itt is többszöröse volt a humánban javasoltaknak (Haidary and Padhy 2024, Rahman and Marwaha 2024). Egy másik rágcslókon végzett kísérlet során pedig a krónikus klozapin kezelés növelte a vGAT relatív intenzitását a frontális kéregben (Bragina, Melone et al. 2007). Humán adatok a második generációs

antipszichotikumok neuroprotektív hatására utalnak. A szkizofrénia egyik tünete a szürkeállományvesztés (Haijma, Van Haren et al. 2013), és MRI tanulmányok alapján a progresszívabb szürkeállományvesztés korrelált a magasabb átlagos napi antipszichotikum-bevitellel a legalább egy első generációs antipszichotikum szedése esetén, viszont a csak második generációs antipszichotikumokkal kezelt betegeknél kevésbé progresszív szürkeállományvesztés volt kimutatható (Vita, De Peri et al. 2015). Antipszichotikumok vGAT-ra gyakorolt hatására vonatkozó eredmények humánban még nem találhatók a szakirodalomban, így további tanulmányok szükségesek ennek feltárására.

A továbbiakban tervezünk posztzinaptikus markerrel (neuroligin-2) is festést végezni, hogy megerősítsük a terminális és a sejttest szinaptikus kapcsolatát. Emellett elsődleges célunk a dendritnyúlványokon elhelyezkedő terminálisok, a sejt típus-specifikus vGAT terminálisok vizsgálata és a féltekék közti különbségek feltárása is, hogy pontosabb képet kapjunk a BA23 gátló bemeneteinek változásáról szkizofréniában. Ez a jövőben hozzájárulhat a szkizofrénia patomechanizmusának megértéséhez, és új gyógyszer-célpontok kifejlesztéséhez.

Szerzői hozzájárulás

- Az agyblokkok egy részét én metszettem le.
- Az immunhisztokémiai kísérleteket részben én terveztem meg, és a jegyzőkönyvet is én írtam hozzá.
- A különböző immunhisztokémiai kísérleteket én kiviteleztem.
- A Nikon C2, illetve A1R konfokális fluoreszcens képeket én készítettem.
- Én végeztem a poszterior ciguláris kéreg vGAT terminálisainak számszerűsítését a III. kérgi rétegben.
- A statisztikák elkészítésében és az eredmények kiértékelésében részt vettem.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Maglóczky Zsófiának, a Humán Agyszövet Laboratórium laborvezetőjének, a projektmunka kialakításában való részvételéért, és a folyamatos konzultációkért. Szeretném megköszönni Török Bibiánának, témavezetőmnek a rengeteg segítséget, gyakorlati és elméleti oktatást, a lehetőséget a fejlődésre és az újabb tudás megszerzésére. Hálás vagyok Tóth Katalinnak, amiért bevezetett a laborgyakorlatba, és megtanította a metodikákat. Köszönettel tartozom Szocsics Péternek, a rengeteg elméleti tudásért főként a szkizofrénia kapcsán, melyeket megosztott velem. Továbbá szeretnék köszönetet mondani Vági Pálnak és a Fénymikroszkóp Központnak, a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetnek, valamint a Szent Borbála Kórház Patológiai osztályán dolgozóknak, Salamon Péternek és Salamonné Mihály Orsolyának a kontroll és szkizofrén minták szakszerű kezeléséért.

Irodalomjegyzék

- Baquer, N. Z., A. Taha, P. Kumar, P. McLean, S. M. Cowsik, R. K. Kale, R. Singh and D. Sharma (2009). "A metabolic and functional overview of brain aging linked to neurological disorders." Biogerontology **10**(4): 377-413.
- Bleuler, E. (1911). "Dementia Praecox; or, The Group of Schizophrenias (Dementia Praecox oder Gruppe der Schizophrenien)."
- Bolneo, E., P. Y. S. Chau, P. G. Noakes and M. C. Bellingham (2022). "Investigating the Role of GABA in Neural Development and Disease Using Mice Lacking GAD67 or VGAT Genes." Int J Mol Sci **23**(14).
- Bragina, L., M. Melone, G. Fattorini and F. Conti (2007). "Clozapine upregulates the expression of the vesicular GABA transporter (VGAT) in rat frontal cortex." Mol Psychiatry **12**(7): 612-613.
- Brodmann, K. (1909). "Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde." Leipzig: J. A. Barth.
- Brune, M., A. Schobel, R. Karau, A. Benali, P. M. Faustmann, G. Juckel and E. Petrasch-Parwez (2010). "Von Economo neuron density in the anterior cingulate cortex is reduced in early onset schizophrenia." Acta Neuropathol **119**(6): 771-778.
- Cabeza, R. and L. Nyberg (2000). "Imaging cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI studies." J Cogn Neurosci **12**(1): 1-47.
- Chen, X., X. Fan, Y. Hu, C. Zuo, S. Whitfield-Gabrieli, D. Holt, Q. Gong, Y. Yang, D. A. Pizzagalli, F. Du and D. Ongur (2019). "Regional GABA Concentrations Modulate Inter-network Resting-state Functional Connectivity." Cereb Cortex **29**(4): 1607-1618.
- Correll, C. U. and N. R. Schooler (2020). "Negative Symptoms in Schizophrenia: A Review and Clinical Guide for Recognition, Assessment, and Treatment." Neuropsychiatr Dis Treat **16**: 519-534.
- Coyle, J. T. (1996). "The glutamatergic dysfunction hypothesis for schizophrenia." Harv Rev Psychiatry **3**(5): 241-253.
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, F. E., Text Revision (DSM-5-TRTM). (2022). American Psychiatric Association Publishing. **5. kiadás.**
- Economo, C. v. (2009). "Cellular Structure of the Human Cerebral Cortex." 140-142.oldal.

Fish, K. N., B. R. Rocco, A. M. DeDionisio, S. J. Dienel, R. A. Sweet and D. A. Lewis (2021). "Altered Parvalbumin Basket Cell Terminals in the Cortical Visuospatial Working Memory Network in Schizophrenia." Biol Psychiatry **90**(1): 47-57.

Gaus, R., M. Popal, H. Heinsen, A. Schmitt, P. Falkai, P. R. Hof, C. Schmitz and A. Vollhardt (2023). "Reduced cortical neuron number and neuron density in schizophrenia with focus on area 24: a post-mortem case-control study." Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci **273**(6): 1209-1223.

Gonzalez-Burgos, G. and D. A. Lewis (2008). "GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia." Schizophr Bull **34**(5): 944-961.

Griffiths, G., A. McDowall, R. Back and J. Dubochet (1984). "On the preparation of cryosections for immunocytochemistry." J Ultrastruct Res **89**(1): 65-78.

Gundersen, H. J. and E. B. Jensen (1987). "The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction." J Microsc **147**(Pt 3): 229-263.

Guo, W., F. Liu, J. Chen, R. Wu, L. Li, Z. Zhang, H. Chen and J. Zhao (2017). "Hyperactivity of the default-mode network in first-episode, drug-naïve schizophrenia at rest revealed by family-based case-control and traditional case-control designs." Medicine (Baltimore) **96**(13): e6223.

Haidary, H. A. and R. K. Padhy (2024). Clozapine. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Ranjit Padhy declares no relevant financial relationships with ineligible companies.

Haijma, S. V., N. Van Haren, W. Cahn, P. C. Koolschijn, H. E. Hulshoff Pol and R. S. Kahn (2013). "Brain volumes in schizophrenia: a meta-analysis in over 18 000 subjects." Schizophr Bull **39**(5): 1129-1138.

Hany, M., B. Rehman, A. Rizvi and J. Chapman (2024). Schizophrenia. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Baryiah Rehman declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Abid Rizvi declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Jennifer Chapman declares no relevant financial relationships with ineligible companies.

Hu, M. L., X. F. Zong, J. J. Mann, J. J. Zheng, Y. H. Liao, Z. C. Li, Y. He, X. G. Chen and J. S. Tang (2017). "A Review of the Functional and Anatomical Default Mode Network in Schizophrenia." Neurosci Bull **33**(1): 73-84.

Hui, C. L. M., V. W. Y. Poon, W. T. Ko, H. Y. Miao, W. C. Chang, E. H. M. Lee, S. K. W. Chan, J. Lin and E. Y. H. Chen (2016). "Risk factors for antipsychotic medication non-adherence behaviors and attitudes in adult-onset psychosis." Schizophr Res **174**(1-3): 144-149.

Iwakura, A., M. Uchigashima, T. Miyazaki, M. Yamasaki and M. Watanabe (2012). "Lack of molecular-anatomical evidence for GABAergic influence on axon initial segment of cerebellar Purkinje cells by the pinceau formation." J Neurosci **32**(27): 9438-9448.

Jones, E. (1984). "Laminar distribution of cortical efferent cells, in Cerebral Cortex. ." Szerk.: Peters AJEG. . New York, Plenum.: pp521-553.

Keshavan, M. S. and S. H. Song (2024). "Neuroscience in Pictures: 3. Schizophrenia." Asian J Psychiatr **102**: 104278.

Koch, E., K. Kauppi and C. H. Chen (2023). "Candidates for drug repurposing to address the cognitive symptoms in schizophrenia." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **120**: 110637.

Kreczmanski, P., H. Heinsen, V. Mantua, F. Woltersdorf, T. Masson, N. Ulfing, R. Schmidt-Kastner, H. Korr, H. W. Steinbusch, P. R. Hof and C. Schmitz (2007). "Volume, neuron density and total neuron number in five subcortical regions in schizophrenia." Brain **130**(Pt 3): 678-692.

Kudo, T., M. Uchigashima, T. Miyazaki, K. Konno, M. Yamasaki, Y. Yanagawa, M. Minami and M. Watanabe (2012). "Three types of neurochemical projection from the bed nucleus of the stria terminalis to the ventral tegmental area in adult mice." J Neurosci **32**(50): 18035-18046.

Leech, R. and D. J. Sharp (2014). "The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease." Brain **137**(Pt 1): 12-32.

Liu, H., Y. Kaneko, X. Ouyang, L. Li, Y. Hao, E. Y. Chen, T. Jiang, Y. Zhou and Z. Liu (2012). "Schizophrenic patients and their unaffected siblings share increased resting-state connectivity in the task-negative network but not its anticorrelated task-positive network." Schizophr Bull **38**(2): 285-294.

Luvsannyam, E., M. S. Jain, M. K. L. Pormento, H. Siddiqui, A. R. A. Balagtas, B. O. Emuze and T. Poprawski (2022). "Neurobiology of Schizophrenia: A Comprehensive Review." Cureus **14**(4): e23959.

Mace, S. and D. Taylor (2009). "Aripiprazole: dose-response relationship in schizophrenia and schizoaffective disorder." CNS Drugs **23**(9): 773-780.

McCutcheon, R. A., J. H. Krystal and O. D. Howes (2020). "Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment." World Psychiatry **19**(1): 15-33.

Menon, V. (2023). "20 years of the default mode network: A review and synthesis." *Neuron* 111(16): 2469-2487.

Mitelman, S. A., L. Shihabuddin, A. M. Brickman, E. A. Hazlett and M. S. Buchsbaum (2005). "Volume of the cingulate and outcome in schizophrenia." *Schizophr Res* 72(2-3): 91-108.

Pesce, L., M. Scardigli, V. Gavryusev, A. Laurino, G. Mazzamuto, N. Brady, G. Sancataldo, L. Silvestri, C. Destrieux, P. R. Hof, I. Costantini and F. S. Pavone (2022). "3D molecular phenotyping of cleared human brain tissues with light-sheet fluorescence microscopy." *Commun Biol* 5(1): 447.

Peselmann, N., A. Schmitt, P. J. Gebicke-Haerter and M. Zink (2013). "Aripiprazole differentially regulates the expression of Gad67 and gamma-aminobutyric acid transporters in rat brain." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 263(4): 285-297.

Petilla Interneuron Nomenclature, G., G. A. Ascoli, L. Alonso-Nanclares, S. A. Anderson, G. Barrionuevo, R. Benavides-Piccione, A. Burkhalter, G. Buzsaki, B. Cauli, J. Defelipe, A. Fairen, D. Feldmeyer, G. Fishell, Y. Fregnac, T. F. Freund, D. Gardner, E. P. Gardner, J. H. Goldberg, M. Helmstaedter, S. Hestrin, F. Karube, Z. F. Kisvarday, B. Lambolez, D. A. Lewis, O. Marin, H. Markram, A. Munoz, A. Packer, C. C. Petersen, K. S. Rockland, J. Rossier, B. Rudy, P. Somogyi, J. F. Staiger, G. Tamas, A. M. Thomson, M. Toledo-Rodriguez, Y. Wang, D. C. West and R. Yuste (2008). "Petilla terminology: nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex." *Nat Rev Neurosci* 9(7): 557-568.

Pierri, J. N., C. L. Volk, S. Auh, A. Sampson and D. A. Lewis (2001). "Decreased somal size of deep layer 3 pyramidal neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia." *Arch Gen Psychiatry* 58(5): 466-473.

Rahman, S. and R. Marwaha (2024). Haloperidol. *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Raman Marwaha declares no relevant financial relationships with ineligible companies.

Roeske, M. J., C. Konradi, S. Heckers and A. S. Lewis (2021). "Hippocampal volume and hippocampal neuron density, number and size in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of postmortem studies." *Mol Psychiatry* 26(7): 3524-3535.

Rolls, E. T. (2015). "Limbic systems for emotion and for memory, but no single limbic system." *Cortex* 62: 119-157.

Schmitz, C. and P. R. Hof (2005). "Design-based stereology in neuroscience." Neuroscience **130**(4): 813-831.

Siskind, D., S. Orr, S. Sinha, O. Yu, B. Brijball, N. Warren, J. H. MacCabe, S. E. Smart and S. Kisely (2022). "Rates of treatment-resistant schizophrenia from first-episode cohorts: systematic review and meta-analysis." Br J Psychiatry **220**(3): 115-120.

Somogyi, P. and H. Takagi (1982). "A note on the use of picric acid-paraformaldehyde-glutaraldehyde fixative for correlated light and electron microscopic immunocytochemistry." Neuroscience **7**(7): 1779-1783.

Sweet, R. A., S. E. Bergen, Z. Sun, A. R. Sampson, J. N. Pierri and D. A. Lewis (2004). "Pyramidal cell size reduction in schizophrenia: evidence for involvement of auditory feedforward circuits." Biol Psychiatry **55**(12): 1128-1137.

Sweet, R. A., J. N. Pierri, S. Auh, A. R. Sampson and D. A. Lewis (2003). "Reduced pyramidal cell somal volume in auditory association cortex of subjects with schizophrenia." Neuropsychopharmacology **28**(3): 599-609.

Szocsics, P., P. Papp, L. Havas, J. Loke and Z. Magloczky (2023). "Interhemispheric differences of pyramidal cells in the primary motor cortices of schizophrenia patients investigated postmortem." Cereb Cortex **33**(13): 8179-8193.

Toth, K., L. Eross, J. Vajda, P. Halasz, T. F. Freund and Z. Magloczky (2010). "Loss and reorganization of calretinin-containing interneurons in the epileptic human hippocampus." Brain **133**(9): 2763-2777.

Tran, K. D., G. S. Smutzer, R. L. Doty and S. E. Arnold (1998). "Reduced Purkinje cell size in the cerebellar vermis of elderly patients with schizophrenia." Am J Psychiatry **155**(9): 1288-1290.

Vita, A., L. De Peri, G. Deste, S. Barlati and E. Sacchetti (2015). "The Effect of Antipsychotic Treatment on Cortical Gray Matter Changes in Schizophrenia: Does the Class Matter? A Meta-analysis and Meta-regression of Longitudinal Magnetic Resonance Imaging Studies." Biol Psychiatry **78**(6): 403-412.

Whitfield-Gabrieli, S., H. W. Thermenos, S. Milanovic, M. T. Tsuang, S. V. Faraone, R. W. McCarley, M. E. Shenton, A. I. Green, A. Nieto-Castanon, P. LaViolette, J. Wojcik, J. D. Gabrieli and L. J. Seidman (2009). "Hyperactivity and hyperconnectivity of the default network in schizophrenia and in first-degree relatives of persons with schizophrenia." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(4): 1279-1284.

- Whitfield-Gabrieli, S. and J. M. Ford (2012). "Default mode network activity and connectivity in psychopathology." Annu Rev Clin Psychol **8**: 49-76.
- Wittner, L., L. Eross, S. Czirjak, P. Halasz, T. F. Freund and Z. Magloczky (2005). "Surviving CA1 pyramidal cells receive intact perisomatic inhibitory input in the human epileptic hippocampus." Brain **128**(Pt 1): 138-152.
- Yeshurun, Y., M. Nguyen and U. Hasson (2021). "The default mode network: where the idiosyncratic self meets the shared social world." Nat Rev Neurosci **22**(3): 181-192.
- Zhou, Y., M. Liang, L. Tian, K. Wang, Y. Hao, H. Liu, Z. Liu and T. Jiang (2007). "Functional disintegration in paranoid schizophrenia using resting-state fMRI." Schizophr Res **97**(1-3): 194-205.
- Zink, M., A. Schmitt, B. May, B. Muller, D. F. Braus and F. A. Henn (2004). "Differential effects of long-term treatment with clozapine or haloperidol on GABA transporter expression." Pharmacopsychiatry **37**(4): 171-174.