

A vér-agy gátat körülvevő makro- és mikroglia vizsgálata, humán fokális kortikális diszplázia esetén

36. OTDK Biológia Szekció

2023. január 23.

Készítette:

Tóth Katalin Zsófia

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia BSc, Harmadik évfolyam

Témavezetők:

Dr. Maglóczky Zsófia, tudományos tanácsadó

és Dr. Szocsics Péter, PhD hallgató

ELKH, Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet



ELTE
EÖTVÖS LORÁND
TUDOMÁNYEGYETEM



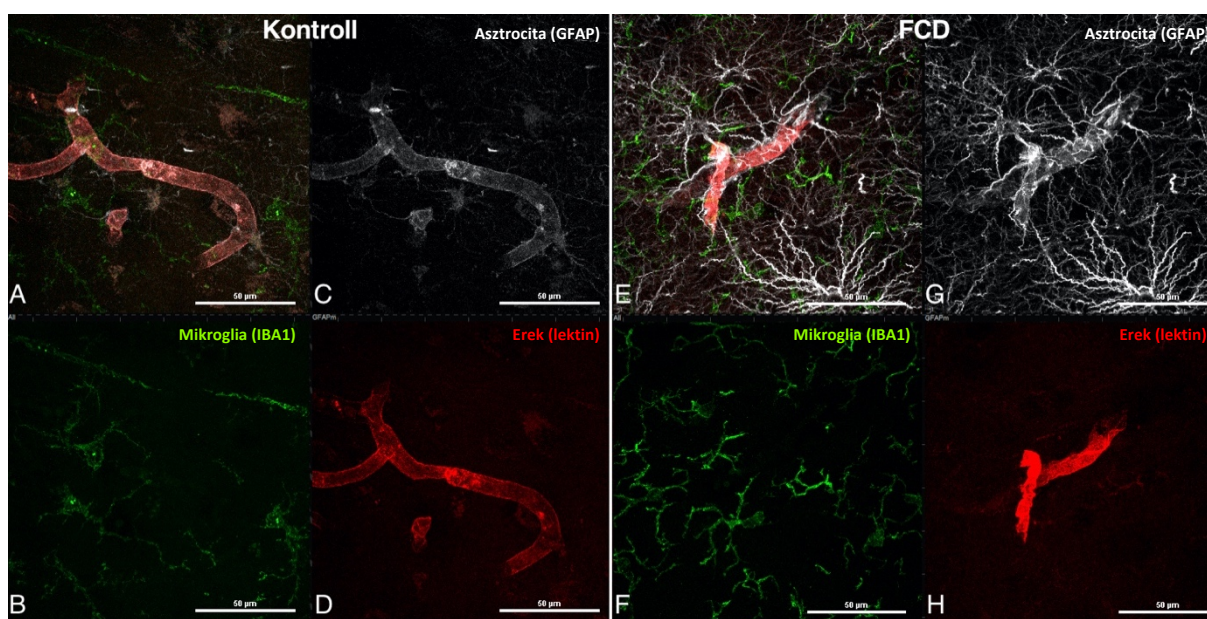
**36. ORSZÁGOS
TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI
KONFERENCIA 2023**

Tartalomjegyzék

Összefoglaló:	3
Rövidítésjegyzék:	4
Bevezetés:	5
Anyagok és módszerek	9
Eredmények és diszkusszió:	14
Köszönetnyilvánítás:	17
Irodalomjegyzék.....	18

Összefoglaló:

Az epilepsziás betegek nagy része rohammentes a megfelelő gyógyszeres kezeléssel, mégis vannak, akiknek betegsége gyógyszer-rezisztens. Sokszor az egyetlen megoldás az epilepsziás góc műtéti eltávolítása. Az egyik háttérben meghúzódó ok a fokális kortikális diszplázia (FCD). Kutatásunkban műtétieltávolított epilepsziás mintákat, illetve rövid post-mortem idővel rendelkező (2-4h) kontroll agyakat vizsgáltunk. A mért adatok alapján arra következtethetünk, hogy a GFAP pozitív asztrociták száma megnő, nyúlványaik megvastagodnak és meghosszabbodnak FCD esetén, gliózist mutatva. Az IBA1-pozitív mikrogliaira nem kaptunk szignifikáns különbséget a két vizsgált csoportra nézve, a későbbiekben több mérést kell végeznünk, hogy konklúziót tudjunk levonni, bár egy-egy ponton kifejezetten észrevehető a mikroglia tömörülése.



1.Ábra: (Nikon C2-es konfokális mikroszkópi képek). A baloldalon a kontroll látható, míg a jobb oldalon az FCD-s páciensről készített képek. A képeket 60x-os olajos objektívvel, 2048-as felbontással készítettem, Z irányú síkból lettek összerakva. A képek: maximális intenzitású projekciókat mutatják. A "C", "D" a GFAP pozitív sejteket, a "B", "H" az IBA1 pozitív mikrogliait, a "D" és "H" kép: a biotinilált lektinre pozitív fehérjéket mutatják, amikből kivehetőek az erek. Megfigyelhető, hogy az asztrociták nem epilepsziás esetben is körül veszik az eret, de nincsenek olyan reaktív állapotban, mint az FCD-nél.

Rövidítésjegyzék:

BBB	blood brain barrier (vér-agy gát)
BSA	Bovine Serum Albumin (szarvasmarha szérum albumin)
CNS	központi idegrendszer
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease (krónikus obstruktív tüdőbetegség)
EEG	elektroencefalográfia
FCD	fokális kortikális diszplázia
FCX	frontal cortex (frontális kéreg)
GFAP	Gliális fibrilláris savas fehérje
IBA1	ionizált kalcium kötő adaptor 1-es molekula
ILAE	International League Against Epilepsy (Nemzetközi Epilepsziaellenes Liga)
mTOR	Mammalian target of rapamycin (emlős rapamicin-célpont)
PB	Foszfát-puffer
PMI	Post-mortem intervallum
ROI	region of interest (vizsgált terület)
TBS	Tris pufferelt sóoldat
TCX	temporal cortex (halánték kéreg)
TLE	temporális lebeny epilepszia
WHO	World Health Organisation (Egészségügyi Világszervezet)

Bevezetés:

Az epilepszia az egyik legrégebben ismert idegrendszeri betegség, az első feljegyzések még i.e. 4000-ből maradtak ránk (Kaculini, Tate-Looney, és Seifi 2021). A WHO adatai szerint a világon jelenleg 50 millió ember szenved az epilepszia valamelyik formájában, és a lakosság 10%-a él át élete során epilepsziás rohamot (World Health Organisation 2022). Több típusának oka jelenleg is ismeretlen, de legtöbbször a háttérben egy trauma, tumor, illetve genetikai okok állnak.

A Nemzetközi Epilepsziaellenes Liga (International League Against Epilepsy – ILAE) 2005-ben definiálta hivatalosan az epilepsziát az alábbiak szerint (Fisher és mtsai. 2014).

- Minimum két provokálatlan (vagy reflex) roham történik, legalább 24 óras különbséggel.
- Egy provokálatlan (vagy reflex) roham és az esély egy második rohamra 10 éven belül legalább 60%-os.
- Epilepsziával járó betegség diagnózisa.

Az epilepszia diagnosztizálása általában többlépcsős, a leggyakoribb diagnosztikai módszer az elektroenkefalográfia (EEG) (Rosenow, Klein, és Hamer 2015). Ezen vizsgálat során az idegsejtek szinkron tüzelésének aktivitását vizsgálják és lokalizálják. Maga a betegség rendkívül sokszínű, ahogy a tünetek, úgy a lefolyása is. Az epilepsziás betegek nagy része gyógyszeres kezelés mellett tünetmentes (60-70%), de gyakran a farmakoterápia hatástalan marad (ez akár kialakulhat több évnyi gyógyszeres kezelés után) (O’Connell, Gloss, és Devinsky 2017).

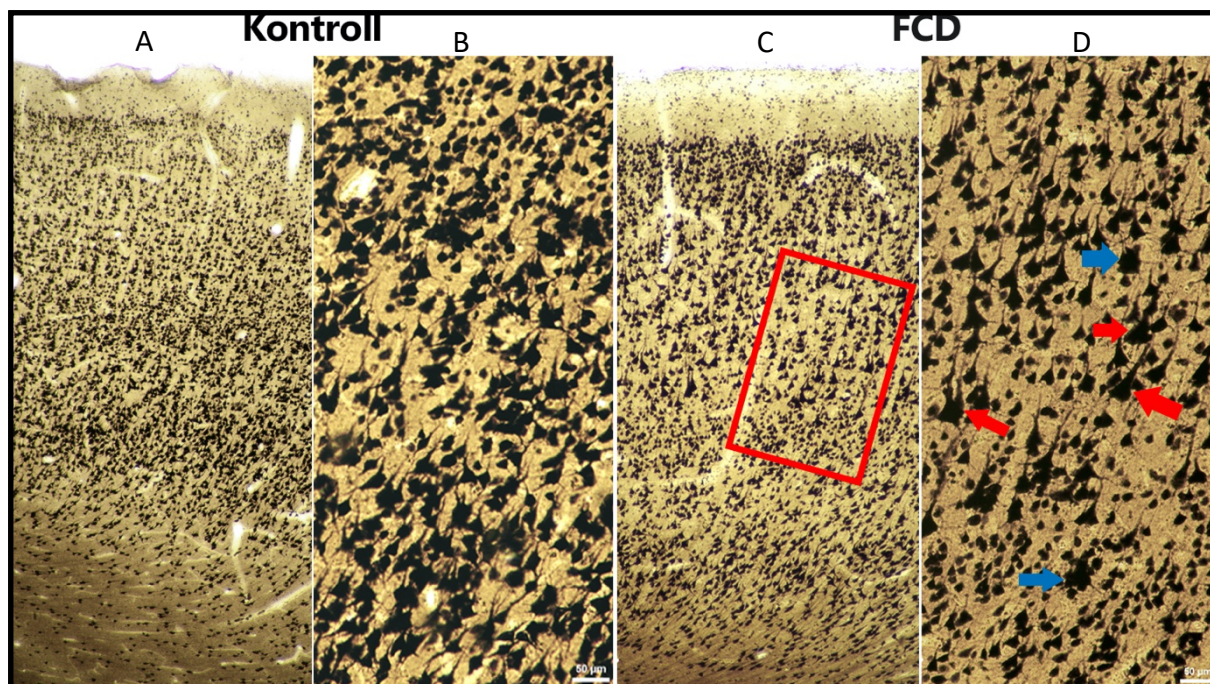
A gyógyszer-rezisztens epilepsziának egyik leggyakoribb oka a fokális kortikális diszplázia (FCD), ami a kérgi részek rendellenes fejlődésével, illetve diszmorfikus sejtekkel jelenlétével jár (Crino 2015).

Magát a betegséget három fő és azon belüli altípusokra osztjuk:

FCD = Fokális Kortikális Diszplázia

FCD típusa	Szerkezeti rendellenességek	Sejtes rendellenességek
FCD I.		
Ia	Rétegek radiális laminációja	Heterotópikus neuronok, kicsi éretlen idegsejtek, piramissejtek megtalálhatóak az V. rétegen kívül is és hipetrófok
Ib	A hatrétegű struktúra elvesztése	Ia és diszorientált dendritek
Ic	Ia és Ib keverten jelentkeznek	Ia és Ib rendellenességek is feltűnnek
FCD II.		
IIa	Kortikális lamináció nem vagy kevésbé felismerhető, elmosódik a szürke és fehérállomány határa	Diszmorfikus sejtek a kortikális rétegekben, de nincsenek ballonsejtek
IIb	Kortikális lamináció nem vagy kevésbé felismerhető, elmosódik a szürke és fehérállomány határa	Diszmorfikus sejtek a kortikális rétegekben és ballonsejtek
FCD III		
IIIa	Kortikális lamináció rendellenes, a temporális lebeny szklerózisával	Szklerotikus hippocampusz és sejtes rendellenességek a temporális lebenyben
IIIb	Kortikális lamináció rendellenes, szomszédos neurogliális vagy gliális tumorral	Neurogliális vagy gliális tumor mellett megjelenő celluláris rendellenességek
IIIc	Kortikális lamináció rendellenes és a vaszkuláris rendszer zavara, vagy gliális hegesedés	Az erek malformációja, gliális hegesedés mellett megjelenő sejtes és strukturális rendellenességek
IIId	Kortikális lamináció rendellenessége egy lézió mellett	IIIa, IIIb, IIIc rendellenességei is feltűnhetnek és ezek mellett a léziókat kísérő celluláris és strukturális rendellenességek

1. Táblázat: Bemutatja az FCD fő és altípusait legfőbb különbségeket (Iffland és Crino 2017), kékkel jelölve az általunk vizsgált FCD fajtát.

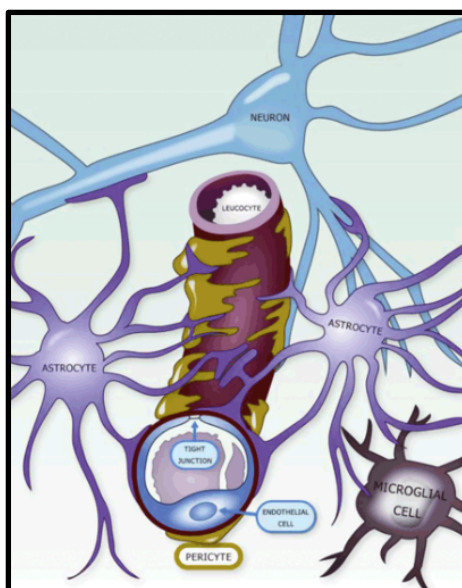


2.Ábra: (forrás: saját kép, Nikon fénymikroszkóp) A sejtek NeuN-nel (neuronal nuclei N-idegsejtet jelölő marker) lettek immunfestve. Az „A” és „C” képek 4x-es objektívvel, a „B” és „D” pedig 10x-essel készülve. Tisztán kivehető, hogy a kontroll esetében a rétegek szépen elkülönülnek, míg az FCD-s páciensnél azok helyenként – pld. fehérállományi határ- el vannak mosódva. Továbbá megjelennek a diszmorfikus sejtek az FCD-s mintában (piros nyilak) és csoportosuló sejteket veszünk észre (kék nyilak).

A vér-agy gát

1967-ben Reese és Karnovsky publikálta először, hogy sikerült kimutatni egérben, immerziós fixálás után a vér-agy gát (BBB) endotél sejtjeit (Reese és Karnovsky 1967).

A BBB rendkívül fontos funkciót lát el az agy működésében. Elsődleges szerepe, hogy megvédje a központi idegrendszert (CNS) a különböző patogénektől, idegen elemektől és sejtektől (Montagne, Zhao, és Zlokovic 2017), továbbá szabályozó feladatokat is ellát, hogy csak a szükséges molekulák jussanak be, illetve ki a CNS-ből (Zhao és mtsai. 2015). A neuronok posztmigrációs aktivitása, illetve diszmorfikus elváltozása kihatással van a vér-agy gátra. Előzetes tanulmányok már rámutattak, hogy FCD-s esetekben a gliasejtek száma megnő, morfológiájuk megváltozik, azaz gliózis alakul ki (Liu és mtsai. 2021), továbbá megfigyelték a BBB megrongálódását is.



3. Ábra: A képen látható az eret körbevevő endotél sejtréget, az azokon lévő periciták és neuronok, és a kutatásunkban most részvevő asztrociták és mikroglia (Abbott és Friedman 2012).

Mikroglia és asztrocita

Az emberi agy nem neuronális sejttálmányának 7%-a mikroglia (az agy immunsejtei), elsődleges feladatuk a makrofágia a központi idegrendszerben, valamint a fagocitózis. Ez a sejt reagál elsősorban a különböző sérülésekre, patogénekre valamint apoptikus sejtekre stb. (Dos Santos és mtsai. 2020). Az utóbbi évtizedekben kimutatták, hogy a mikroglia nem csupán immunfunkciói vannak, hanem részt vesz az idegsejtek és szinaptikus kapcsolatainak homeosztázisának fenntartásában (Borst, Dumas, és Prinz 2021). A mikroglia és az idegsejtek között nemrégiben kommunikációs kapcsolatot mutattak ki (Cserép és mtsai. 2022). Ezzel szemben az asztrociták nagyjából ötször annyian vannak mint a neuronok, elsődleges feladatuk az idegsejtek működésének valamint struktúrájának támogatása (Kucukdereli és mtsai. 2011).

Rapamicin-mTOR

Több tanulmány is bizonyította, hogy a rapamicin (mTOR) jelátviteli út vonal hiperaktivációja szoros összefüggésben van az epilepszia bizonyos formáinak kialakulásával (Meng és mtsai. 2013). Ez a jelátvivő út felelős a sejtek növekedésének kontrollálásáért, lipidek szintéziséért, valamint autofágiáért. Az abnormális mTOR működést különböző kinázok mutációi okozhatják, mint például a PI3K és AKT. Ezeknek az enzimeknek a túlzott működése diszmorfikus sejteket eredményezhet, ami az egyik jellemzője az FCDII-nek, illetve epilepsziás

pácienseknél találtak mTOR jelátviteli útvonallal összefüggésbe hozható génmutációkat is pl.: PIK3CA és TSC1/2 (Guerrini és Barba 2021).

Állatmodellek

Leginkább működő állatmodell az FCDII típusra van kidolgozva itt általánosságban in-utero célozzák meg az mTOR jelátviteli útvonalat (Nguyen és Bordey 2022) viszont az FCDI és III típusnak nincs még megfelelő állatkísérletes modellje. A legnagyobb probléma a betegség sokszínűsége. A rendelkezésre álló állatmodelleket mindig úgy kell kiválasztani, hogy az az adott, specifikus kérdésre választ adjon (Luhmann 2016).

Célkitűzések

Az eddigi megfigyelések szerint az ereket körülvevő glia, asztrociták, endotél sejtek és periciták morfológiai és strukturális változásai kritikus szerepet töltenek be a betegség lefolyásában, megjelenésében.

Kutatásunk célja, hogy megvizsgáljuk a BBB-t alkotó sejtek elváltozásait FCD-ben, és később más epilepsziaformákkal, például temporális lebeny epilepsziával (TLE) is összehasonlítsuk. Eredményeinkkel szeretnénk hozzájárulni a klinikum fejlesztéséhez a vér-agy gátat is érintő problémák esetében (pl.: anti-gliózis gyógyszerek).

Anyagok és módszerek

Mind a kontroll, mind az epilepsziás anyagok előkészítésének és fixálásának metodikája Szekeres-Paraczký és mtsai. 2022; Szocsics és mtsai. 2021 alapján történt.

Kontroll agyak:

A kutatás a Helsinki Nyilatkozattal összhangban történt, valamint azt az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutásetikai Bizottsága jóváhagyta (ETT TUKEB 15032/2019/EKU).

Ehhez a vizsgálathoz három post-mortem kontroll (n=3) alanyt használtunk, akiknél életük során nem diagnosztizáltak idegrendszeri betegséget, illetve ezt patológiai vizsgálat is

alátámasztotta. Az agyak rövid post-mortem idejűek (2-4 óra), ezeket a tatabányai Szent Borbála Kórház Patológiai Osztályával való együttműködés keretében kaptuk.

	SKO13	SKO19	SKO24
Kor (év)	60	61	79
Nem	nő	nő	férfi
Vizsgált terület	Br46 (jobb)	Br46 (bal)	Br38 (jobb)
Alapbetegség	COPD	Ismétlődő inferior szívizomelhalás	Hipertrófiás cardio myopathia
Halál oka	Légzés leállás	Heveny alsó fali transmuralis szívizomelhalás	Bal szívkamrai elégtelenség
PMI	3:25	2:53	2:30
2.Táblázat: Post-mortem kontroll alanyok klinikai adatai. PMI: post mortem intervallum, a halál és a fixálás között eltelt idő.			

FCD-s minták:

Ezek a blokkok az Országos Idegtudományi Intézetben (jelenlegi nevén Országos Mentális, Ideggyógyászati és Idegsebészeti Intézet), illetve a MÁV Kórházban lettek műtéileg eltávolítva, olyan páciensekből, akik az ILAE osztályzás szerint 2-es típusú FCD-ben szenvedtek (lásd. 1. Táblázat). Az érintett régiót EEG, MRI SPECT, illetve PET Scan használatával lokalizálták.

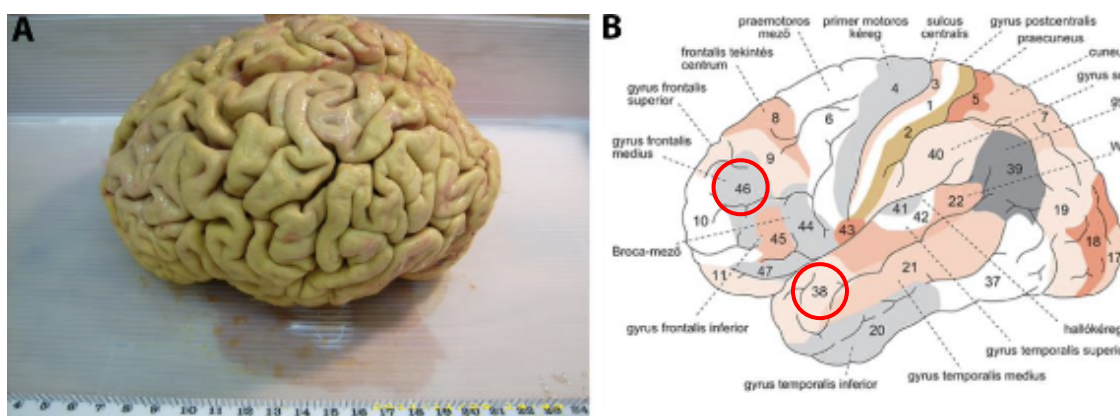
	HE135	HE199	HE220
Betegség kezdete (év)	4	1,5	2
Műtéti kor (év)	24	35	42
Nem	férfi	nő	férfi
Vizsgált terület	TCX (bal)	FCX (jobb)	FCX (bal)
Epilepszia diagnózisa	Balloon sejtes dysplasia	Epilepszia k.m.n., Lokalizáció füddő idiopathiás epilepszia lokális kezdetű roham	Lokalizáció függő epilepszia összetett parciális roham
FCD típusa	Iib	Ila	Ila

3.Táblázat: FCD-s alanyok klinikai adatai. Rövidítések: FCX: frontal cortex TCX: temporal cortex.

Perfúzió és fixálás:

Kontroll:

A halál beállta után 2-4 órával, az agy eltávolítását követően azonnal perfúziós fixálást végeztünk. Először heparinos fiziológiás sóoldatot vezettünk be a carotis internán és vertebrális artériákon keresztül. Miután a távozó folyadék makroszkóposan már nem volt véres, a kanülön keresztül bevezettük a fixáló oldatot (2-2,5 órán át), ami egy 0,1M PB-ben oldott 4% paraformaldehidet, 0% vagy 0,05% glutáraldehid és 0,2% pikrinsavat tartalmazó Zamboni oldat. A kérgi részeket a Brodmann régiók szerint mintáztuk, 0,5-1-cm-es blokkokat távolítottunk el. Fixáltságuk minőségét feljegyeztük, majd másnapig glutáraldehidet nem tartalmazó Zamboni oldatban utófixáltuk.



4.Ábra: (forrás: (Paraczký 2018)) Az "A" kép a perfúzió utáni laterális felszíni kép, a "B" kép pedig a Brodmann-areák térképe (forrás: ((Szirmai 2011))), pirossal bekarikáztuk a vizsgált régiókat.

FCD-s páciensek:

Ebben az esetben az agyak immerziósan lettek fixálva, a műtéti reszekciót követően a mintákat 4-5 mm széles blokkokra vágtuk. Ezeket egy 4% paraformaldehidet 0,05% glutáraldehidet és 0,2% pikrinsavat tartalmazó, 0,1 M PB alapú, Zamboni fixáló oldatba hagytuk. Az oldat az agymintával együtt egy rázóasztalra került, ahol fél óránként friss fixáló oldatra cseréltük a fixálót 6 órán keresztül, majd egy éjszakán át rázás nélkül utófixáltuk, ehhez nem használtunk glutáraldehidet.

Szövetteni előkészítés

Miután befejeződött a fixálás, a blokkokat PB-ben mostuk, majd rázóasztalon hagytuk hűtőben, 30%-os szacharóz oldatban, egészen addig amíg le nem szálltak az tartóedény aljára, legalább két napig. Ez után folyékony nitrogén felett megfagyasztottuk és -80 °C-on ultramélyhűtőben tároltuk őket felhasználásukig.

A gyors fagyasztás és az azt megelőző szacharózos inkubáció segít megelőzni a nagy jégkristályok kialakulását, ami a minták víztartalma miatt alakulhatna ki, ezzel rontva a szövet struktúráján.

A blokkokat vibratommal 60 µm vastagságra metszettük, 3-5 kör PB-s mosás után 1-2 napig 30% szacharózban tartottuk őket, majd háromszor fagyasztottuk folyékony nitrogén felett. Ezt követően felhasználhatóvá váltak, a kívánt metszeteket újra PB-be raktuk háromszor, hogy kimosódjon belőlük a szacharóz.

Immunohisztokémia

A felhasznált metszeteket először PB-ben mostuk majd váltottunk Tris puffereelt sóoldatra (TBS). Az endogén peroxidáz működést TBS-ben oldott 1%-os hidrogén peroxiddal blokkoltuk, majd ezt is kimostuk. Ez után 2% Bovine Serum Albumin (BSA) blokkolóhoz hozzáadtunk 0,1% Tritont (Polietilén-glikol-tercier-oktilfenil-éter). Ebben a kísérletben a három felhasznált primer: Iba1 (ionizált kalcium kötő adaptor 1-es molekula) poliklonális antitest (izotípus: kecske), ami egy mikroglia és makrofág specifikus antitest. GFAP (gliafibrilláris savas fehérje) egy fehérje, amit az asztrociták tartalmaznak, (izotípus: egér). Az ereket az endotelium glikakalixhoz kötő biotinilált lektinnel tettük láthatóvá. Ezeket a primereket egy-két napig hagytuk rajtuk, szobahőmérsékleten, rázóasztalon inkubálódtak.

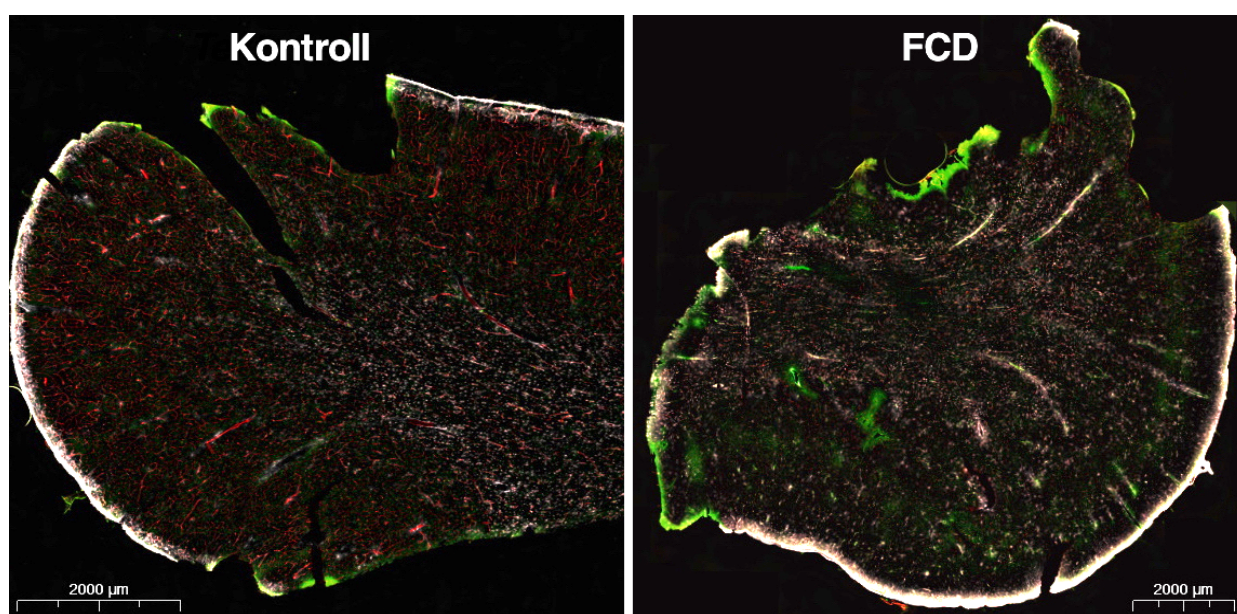
Szekunder

Kecske, illetve egér ellen, számarban termelt, Alexa fluorofórokkal jelölt IgG szekunder antitesteket (Alexa488 donkey-anti-goat, Alexa647 donkey-anti-mouse) használtunk 1:500 hígításban, a biotinilált lektinhez pedig Alexa fluorofórral jelölt sztreptavidint (Alexa594-SA) 1:250 koncentrációban használtunk. Ezeket TBS-ben beoldottuk és 1 napig rázóasztalon, hűtőben inkubáltuk. Ezt három 10 perces mosás követte, utána egy rövid desztillált vizes mosás,

majd 40 percig autofluoreszcencia csökkentés céljából 50 mmol/l ammónium-acetátot és 3 mmol/l réz-szulfátot tartalmazó, pH=5-ös oldattal mostuk. Majd megint egy desztilláltvizes öblítés történt, ezt követően két rövid TBS mosás és a végén 0,1M -os PB-ből szedtük ki a metszeteket tárgylemezre. A metszeteket AquaMount-tal fedtük, egy napos száradási idő után sötétben tároltuk.

Képkötés

A metszeteket Panoramic Midi Slide Scannerel (Pannoramic Scanner 3.0.2-MIDI) mindhárom használt fluoreszcens csatornában beolvastuk. Minden alanyból hat, véletlenszerűen kiválasztott szürkeállományi területről (region of interest, ROI) csatornánként képkivágásokat végeztünk. Egy ROI 1090.89x640.90 μm területet fedett le. A képkivágásokhoz a Slide Scannerhez tartozó Case Viewer programot használtuk. A képeken szoftveres autofluoreszcencia-csökkentést végeztünk.



5.Ábra: Jobb oldalon látható egy kontroll, baloldalon pedig egy FCD-s páciensből származó Slide Scanner-rel beolvasott metszet. Ilyen metszeteken fotóztuk le a 6-6 szürkeállományi területet (ROI-t), ugyanolyan nagyításban (15,4x). A fehérállományt, illetve az első réteget kihagytuk a mérésből, mert az idős alanyok mintáiban gyakoribb marginális gliózis és a fehérállományi GFAP-gazdag területek torzították volna az eredményt.

A ROI-król csatornánként készült képeket ImageJ-ben dolgoztuk fel, a lektin pozitív erek 5 μm nagyságú környezetében mértük a GFAP és Iba1 festések átlagos intenzitását.

Eredmények és diszkusszió:

Az ImageJ-ben mért adatokat Microsoft Excel táblákba gyűjtöttük, a diagramok is ezzel a programmal készültek. A statisztikai elemzést Statistica 14.0.1.25-ben végeztük nem-paraméteres Mann-Whitney U próbákkal, úgy, hogy az egyénenként hat eredményt (festésenként) átlagoltuk, illetve az összes mérési eredmény csoportonkénti összevonását is elvégeztük.

Alanyok átlagos értékéből számított statisztika:				
Mann-Whitney	U	N1	N2	p (kétoldali, egzakt)
GFAP	0,000000	3	3	0,100000
IBA1	3,000000	3	3	0,700000

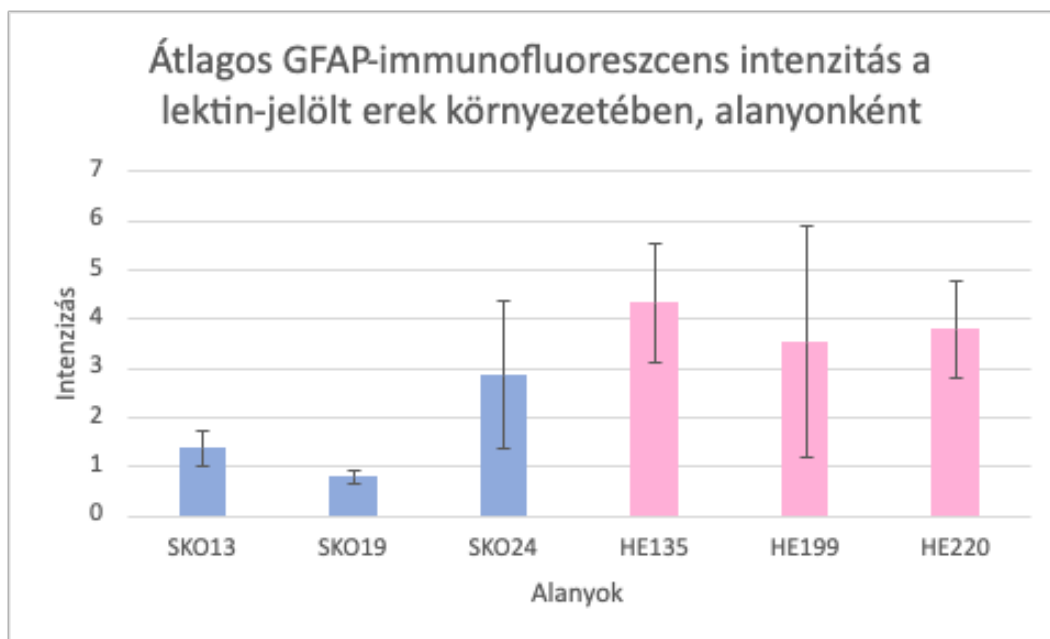
4. Táblázat: az alanyok egyénenként átlagolt értékéből számított intenzitás

Viszont, ha nem átlagoljuk a személyenkénti hat mérést és bele vesszük a szórást, már egészen látványos lesz a különbség (így 6 helyett 36 adatponttal dolgozik a rendszer).

Egyedi mérések értékeiből számított statisztika				
Mann-Whitney	U	N1	N2	p (kétoldali, egzakt)
GFAP	48,0000	18	18	0,000155
IBA1	113,0000	18	18	0,125979

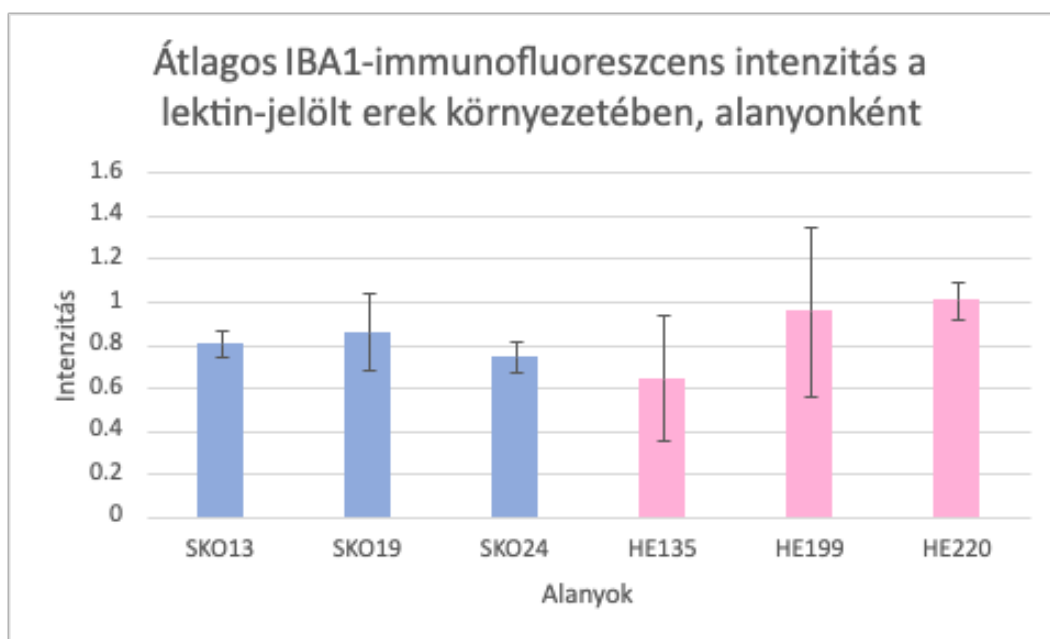
5. Táblázat: az alanyok egyedi értékeiből számított intenzitás

Méréseink arra utalhatnak, hogy FCD esetén a GFAP pozitív sejtek, asztrociták gliózt mutathatnak a BBB körül. A statisztikai feldolgozás különböző eredményét valószínűleg a kicsi esetszám okozza.



6.Ábra: GFAP-pozitív elemek átlagos intenzitása az erek környezetében. Kék szín: kontroll alanyok, rózsaszín: epilepsziás alanyok értékei.

Az Iba1 pozitív sejteknél nem jött ki ez a különbség egyik típusú mérésnél sem.



7.Ábra: IBA1-pozitív elemek átlagos intenzitása az erek környezetében. Kék szín: kontroll alanyok, rózsaszín: epilepsziás alanyok értékei.

(TDK-s dolgozatomban leadása óta újabb mérésekkel egészítettem ki adataimat, így 6 FCD-s és 6 kontroll alany eredményeit tudom majd prezentálni az előadáson. A bővített adatsorral kijött az, hogy a GFAP jel intenzitása szignifikánsan nőtt, míg az IBA1 nem változott.)

Összességében láthatjuk, hogy az IBA1-immunpozitivitás intenzitása nem nő. Ennek oka lehet az például, hogy nem az IBA1 pozitív mikroglia aktiválódtak (hanem más, pl.: P2Y12 pozitív mikroglia). Vagy pedig, nem volt olyan általunk kimutatható folyamat, ami aktiválta a mikrogliait.

A GFAP pozitív immunfestés intenzitása megnőtt, valószínűleg a gliózis miatt. Ennek több oka is lehet, például: a tápanyagok iránt megnőtt igényt kellett kielégíteni, a neurotranszmitterek felszabadulása vagy ionhomeosztázis szabályozásához kellene, illetve részt vesznek a nem működő terminálisok eliminációjában fagocitózissal (Paolicelli és mtsai. 2011).

Régóta ismert, hogy különböző patogének agyba jutásakor, gyulladásakor, sztrók, illetve egyes neurodegeneratív esetekben megnő az asztrociták mennyisége, a nyúlványai meghosszabbodnak, ezzel gliózist idézve elő (Pekny és Nilsson 2005). Azonban az, hogy az epilepsziával milyen kapcsolatban áll, még nem teljesen felderített. A gyulladásos folyamat, amire az asztrociták reagálnak, több okból is létrejöhet, pl: a BBB megrongálódása, vagy az anti-epileptikumok és epilepsziás rohamok mellékhatása, esetleg ezekkel összefüggésbe hozható transzporter-, transzmitter-, trófikus faktor- és receptor változások (Vesce és mtsai. 2007).

Viszont ahhoz, hogy ezekről többet megtudjunk további méréseket kell végeznünk. Terveink között szerepel a temporális lebeny eredetű epilepsziás, sztrókos, demens illetve más patológiás típusú FCD-s alanyaink lemerése, valamint új módszer kidolgozása a periciták vizsgálatára is, így még teljesebb képet kapva a vér-agy gátról.

Köszönetnyilvánítás:

Szeretném megköszönni Dr. Maglóczky Zsófiának, témavezetőmnek a lehetőséget, hogy a Humán Agyszövet Laboratóriumban tanulhatok nap mint nap és a rengeteg tudást, amit az évek folyamán adott át. Köszönettel tartozom Dr. Szocsics Péternek, másik témavezetőmnek, aki idejét nem sajnálva vezetett be engem a denzitometriai mérések és statisztika világába, valamint segített pontosítani a kísérlet részleteit. Hálával tartozom Szekeres-Paraczký Cecíliának, hogy megtanította a metodikákat, protokollokat, mikroszkópok használatát és bármikor fordulhattam hozzá kérdéseimmel. Köszönöm Vági Pálnak és a Nikon Mikroszkóp központnak, hogy elkészülhettek a képek a Nikon C2-vel, illetve a Slide Scannerrel.

Köszönettel tartozom az OMIII-ben dolgozóknak, különösen Dr. Erőss Lóránd főorvos úrnak, hogy lehetővé tették számunkra a műtétileg eltávolított agyakkal való munkát.

Továbbá szeretném megköszönni a Szent Borbála Kórház Patológiai osztályán dolgozóknak, leginkább Dr. Havas Lászlónak, illetve Salamon Péternek szakszerű és lelkiismeretes munkájukat.

Támogatások:

NKFI, Magyarország, grant szám: K 125436, Z. Maglóczky) és Nemzeti Agykutatási program 2 (2017-1.2.1-NKP-2017-00002).

Irodalomjegyzék

Abbott, N. Joan, és Alon Friedman. 2012. „Overview and Introduction: The Blood–Brain Barrier in Health and Disease”. *Epilepsia* 53 (s6): 1–6. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03696.x>.

Borst, Katharina, Anaëlle Aurelie Dumas, és Marco Prinz. 2021. „Microglia: Immune and Non-Immune Functions”. *Immunity* 54 (10): 2194–2208. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.09.014>.

Crino, Peter B. 2015. „Focal Cortical Dysplasia”. *Seminars in Neurology* 35 (3): 201–8. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1552617>.

Cserép, Csaba, Anett D. Schwarcz, Balázs Pósfa, Zsófia I. László, Anna Kellermayer, Zsuzsanna Környei, Máté Kisfali, és mtsai. 2022. „Microglial Control of Neuronal Development via Somatic Purinergic Junctions”. *Cell Reports* 40 (12). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111369>.

Dos Santos, Sandra E., Marcelle Medeiros, Jairo Porfirio, William Tavares, Leila Pessôa, Lea Grinberg, Renata E.P. Leite, és mtsai. 2020. „Similar Microglial Cell Densities across Brain Structures and Mammalian Species: Implications for Brain Tissue Function”. *The Journal of Neuroscience* 40 (24): 4622–43. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2339-19.2020>.

Fisher, Robert S., Carlos Acevedo, Alexis Arzimanoglou, Alicia Bogacz, J. Helen Cross, Christian E. Elger, Jerome Engel, és mtsai. 2014. „ILAE Official Report: A Practical Clinical Definition of Epilepsy”. *Epilepsia* 55 (4): 475–82. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>.

Guerrini, Renzo, és Carmen Barba. 2021. „Focal Cortical Dysplasia: An Update on Diagnosis and Treatment”. *Expert Review of Neurotherapeutics* 21 (11): 1213–24. <https://doi.org/10.1080/14737175.2021.1915135>.

Iffland, Philip H., és Peter B. Crino. 2017. „Focal Cortical Dysplasia: Gene Mutations, Cell Signaling, and Therapeutic Implications”. *Annual Review of Pathology* 12: 547–71. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-052016-100138>.

Kaculini, Christian M, Amelia J Tate-Looney, és Ali Seifi. 2021. „The History of Epilepsy: From Ancient Mystery to Modern Misconception”. *Cureus*, március. <https://doi.org/10.7759/cureus.13953>.

Kucukdereli, Hakan, Nicola J. Allen, Anthony T. Lee, Ava Feng, M. Ilcim Ozlu, Laura M. Conatser, Chandrani Chakraborty, és mtsai. 2011. „Control of excitatory CNS synaptogenesis by astrocyte-secreted proteins Hevin and SPARC”. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (32): E440–49. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104977108>.

Liu, Joan Y. W., Cheryl Reeves, Rianne van der Pijl, és Maria Thom. 2021. „Glial Regenerative Cell Types in the Superficial Cortex in Cortical Dysplasia Subtypes”. *Epilepsy Research* 169 (január). <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106529>.

Luhmann, Heiko J. 2016. „Models of Cortical Malformation—Chemical and Physical”. *Journal of Neuroscience Methods*, Methods and Models in Epilepsy Research, 260 (február): 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.03.034>.

Meng, Xiang-Fei, Jin-Tai Yu, Jing-Hui Song, Song Chi, és Lan Tan. 2013. „Role of the MTOR Signaling Pathway in Epilepsy”. *Journal of the Neurological Sciences* 332 (1–2): 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2013.05.029>.

Montagne, Axel, Zhen Zhao, és Berislav V. Zlokovic. 2017. „Alzheimer’s Disease: A Matter of Blood-Brain Barrier Dysfunction?” *The Journal of Experimental Medicine* 214 (11): 3151–69. <https://doi.org/10.1084/jem.20171406>.

Nguyen, Lena H., és Angélique Bordey. 2022. „Current Review in Basic Science: Animal Models of Focal Cortical Dysplasia and Epilepsy”. *Epilepsy Currents* 22 (4): 234–40. <https://doi.org/10.1177/15357597221098230>.

O’Connell, Brooke K., David Gloss, és Orrin Devinsky. 2017. „Cannabinoids in Treatment-Resistant Epilepsy: A Review”. *Epilepsy & Behavior: E&B* 70 (Pt B): 341–48. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.11.012>.

Paolicelli, Rosa C., Giulia Bolasco, Francesca Pagani, Laura Maggi, Maria Scianni, Patrizia Panzanelli, Maurizio Giustetto, és mtsai. 2011. „Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain Development”. *Science* 333 (6048): 1456–58. <https://doi.org/10.1126/science.1202529>.

Paraczký, Cecília. 2018. „A periszomatikus gátló bemenet módosulása epilepsziás betegek diszgenetikus kérének principális sejtjein”. Diplomamunka, Biológus mesterszak, Eötvös Lóránd Tudományegyetem.

Pekny, Milos, és Michael Nilsson. 2005. „Astrocyte Activation and Reactive Gliosis”. *Glia* 50 (4): 427–34. <https://doi.org/10.1002/glia.20207>.

Reese, T. S., és M. J. Karnovsky. 1967. „Fine Structural Localization of a Blood-Brain Barrier to Exogenous Peroxidase”. *The Journal of Cell Biology* 34 (1): 207–17. <https://doi.org/10.1083/jcb.34.1.207>.

Rosenow, Felix, Karl Martin Klein, és Hajo M Hamer. 2015. „Non-Invasive EEG Evaluation in Epilepsy Diagnosis”. *Expert Review of Neurotherapeutics* 15 (4): 425–44. <https://doi.org/10.1586/14737175.2015.1025382>.

Rossini, Laura, Flavio Villani, Tiziana Granata, Laura Tassi, Giovanni Tringali, Francesco Cardinale, Eleonora Aronica, Roberto Spreafico, és Rita Garbelli. 2017. „FCD Type II and MTOR Pathway: Evidence for Different Mechanisms Involved in the Pathogenesis of Dysmorphic Neurons”. *Epilepsy Research* 129 (január): 146–56. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.12.002>.

Szekeres-Paraczky, Cecília, Péter Szocsics, Loránd Eross, Dániel Fabó, László Mód, és Zsófia Magloczky. 2022. „Reorganization of Parvalbumin Immunopositive Perisomatic Innervation of Principal Cells in Focal Cortical Dysplasia Type IIB in Human Epileptic Patients”. *International Journal of Molecular Sciences* 23 (április): 4746. <https://doi.org/10.3390/ijms23094746>.

Szirmai, Imre. 2011. *Neurológia*. Medicina. Budapest.

Szocsics, Péter, Peter Papp, Laszlo Havas, Masahiko Watanabe, és Zsófia Magloczky. 2021. „Perisomatic innervation and neurochemical features of giant pyramidal neurons in both hemispheres of the human primary motor cortex”. *Brain Structure and Function* 226 (január): 1–16. <https://doi.org/10.1007/s00429-020-02182-8>.

Vesce, Sabino, Daniela Rossi, Liliana Brambilla, és Andrea Volterra. 2007. „Glutamate Release from Astrocytes in Physiological Conditions and in Neurodegenerative Disorders Characterized by Neuroinflammation”. *International Review of Neurobiology* 82: 57–71. [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(07\)82003-4](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(07)82003-4).

World Health Organisation. 2022. „Fact sheets, Epilepsy”. 2022. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>.

Zhao, Zhen, Amy R. Nelson, Christer Betsholtz, és Berislav V. Zlokovic. 2015. „Establishment and Dysfunction of the Blood-Brain Barrier”. *Cell* 163 (5): 1064–78. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.067>.