

1./ Texas Red-el jelölt dextransamint injektáltunk kecskebékák (*Rana esculenta*) thalamusának lateralis neuropiljébe, és retrográd úton jelölt idegsejteket lokalizáltunk a tectum opticumban. Ugyanabban az állatban immunhisztokémiai módszerrel met-enkephalin vagy nitrogén monoxid szintáz immunreaktív (NOS-IR) neuronokat azonosítottunk és vizsgáltuk, vannak-e kettősen jelölt sejtek. Annak ellenére, hogy korábbi vizsgálatainkban azonosítottuk a thalamusra vetítő neuronokat, és ezen projektív neuronokhoz hasonló morfológiai sajtságokkal rendelkező enkephalin-IR sejteket, kettősen jelölt sejteket nem találtunk. Ennek részben technikai oka lehet, mert a rendelkezésünkre álló anti-met-enkephalin igen gyengén festett, és jóval kevesebb sejtet, mint a korábbi vizsgálatainkban, amit egy másik antisavóval végeztünk. A tectum opticumban számos neuron mutatott NOS immunreaktivitást, kettősen jelölt sejteket azonban nem találtunk. Fluorescens szekundér antitesteket használva vizsgáltuk, vannak-e olyan tectális sejtek, amelyekben nitrogén monoxid szintáz (NOS) és GABA együtt fordul elő. Sajnos, a GABA antiszerum olyan gyengén kötődött, hogy kettős jelölést nem sikerült kimutatnunk. A vizsgálatokat tovább folytatjuk.

Hasonló vizsgálatokat végeztünk a tecto-isthmikus pálya eredősejtjeinek felderítésére is. A retrográd jelölő anyagot a nucl. isthmibe juttattuk, a tectumban sejteket mutattunk ki met-enkephalin és NOS antiszerumokkal, és kerestük a kettősen jelölt sejteket. Találtunk néhány enkephalin IR projektív neuront, de jóval kevesebbet, mint amennyit korábbi vizsgálataink alapján vártunk. Kettős jelölést NOS antiszerummal nem láttunk. Ezt a pályát is tovább vizsgáljuk. Az eddigiek alapján úgy tűnik, hogy a NOS-IR sejtek lokális kapcsolatokkal rendelkező neuronok, a thalamusba és a nucl. isthmibe nem küldenek axont.

2./ Lezártuk a melanin koncentráló hormon (MCH) agyi eloszlásával kapcsolatos vizsgálatainkat, amelyeket amerikai kollaborációban végeztünk, a partnerektől kapott anyagok segítségével. Megállapítottuk, hogy lazac és patkány MCH-szerű, valamint a patkány pre-pro-MCH-jában jelenlévő glutamat-izoleucin (NEI)-szerű immunreaktivitás a béka agyban és gerincvelőben számos helyen előfordul. A telencephalonban csak idegrostokban lehetett immunreaktivitást kimutatni a bulbus olfactoriusban, a pallium lateraleban, a diagonalis kötegben, a septumban és az amygdalában. A diencephalonban a tractus opticus, a retinális rostokat fogadó agyrészek és a habenula kivételével mindenhol volt immunreaktív (ir) rost. Ir sejtek a nucl. centralis thalamiban, nucl. suprachiasmaticusban és a hypothalamus dorsalis részében voltak. A mesencephalonban, rhombencephalonban és a gerincvelőben csak ir rostokat találtunk. Ezek sűrűbben csak a mesencephalonban fordultak elő.

3./ Amerikai kollaborációban, a partnerektől kapott patkány urocortin ellen termelt poliklonális antiszerum segítségével feltérképeztük a béka központi idegrendszerében az urocortin-szerű immunreaktivitást mutató struktúrákat. Az urocortin a CRF családba tartozó, 40 aminosavból álló peptid. Urocortin-ir rostokat a következő struktúrákban találtunk: septum, a stria terminalis magja, számos thalamikus és hypothalamikus mag, tectum és tegmentum mesencephali, torus semicircularis, a gerincvelő hátsó szarva és intermedier zónája. Idegrost végződéses sűrű fonatot képeztek a kisagy szemcsés rétegében és a hallómagban. A legtöbb és a legintenzívebb immunreaktivitást mutató idegsejt a preoptikus area elülső részében, a nucl. ventromedialis thalamiban, a tuberculum posteriusban, a fasciculus longitudinalis medialis magjában és az Edinger-Westfal magban volt. A jelölt struktúrák különböztek a CRF és a sauvagine-ir struktúrák megoszlásától, ezért feltételezhető, hogy a CRF peptid családnak egy harmadik tagja is jelen van a békák központi idegrendszerében.

4./ Feltérképeztük a CART peptid idegrendszeri lokalizációját kecskebékában és afrikai karmos békában (*Xenopus laevis*). Eredményeink a következők: CARTp-ir idegsejteket találtunk a bulbus olfactoriusban, nucl. accumbensben, pallium medialeban,

striatumban, a septumban, az amygdala két magjában, a preoptikus területen, nucl. centralis és ventromedialis thalamiban, hypothalamusban, tectumban, Edinger-Westphal magban, az alsó agytörzs több magjában és a gerincvelő nucl. intermediolateralisban. A pallium mediale kivételével varikózus, vékony immunreaktív rostok is voltak a felsorolt területeken, továbbá a thalamus számos magjában, tegmentumban, nyúltagyban és a gerincvelőben. A mozgató agyidegmagok idegsejtjeit és a gerincvelői motoneuronokat sűrű terminális fonatok borítják. A retina belső magvas rétegében kevés CARTp tartalmú sejt van beágyazva immunreaktív nyúlványok közé. Retinális rostok nem mutattak CARTp immunreaktivitást egyetlen végződési helyen sem. Léziós kísérletek eredményeiből arra következtetünk, hogy a bulbus olfactorius idegrostjai a bulbus granuláris sejtjeiből származnak. A tectum opticum CARTp pozitív sejtei a középső thalamikus neuropilhez küldenek rostokat. A látóideg átvágása nem befolyásolta a tectumban lévő, idegrostokra lokalizálódó festődést, és a nucl. isthmi előtti féloldali harántmetszés után nem tűntek el az ir szemcsék a mozgató idegsejtek környékéről. Ezzel szemben a n. trigeminus és a n. abducens kilépése közötti felületes, féloldali metszés után CARTp pozitív végzések nem festődtek, és a mesencephalon caudalis harmadában is eltűntek a terminálisok a periaqueductális régióból a sértett oldalon. Ez arra utal, hogy a motoneuronok körüli és periaqueductális fonatok egy felszálló, valószínűleg gerincvelőből induló pálya végzéseként.

A CARTp agyi előfordulását eddig csak emlősökben vizsgálták immunhisztokémiai módszerrel, és egyetlen térképezés történt patkányban. Öt helyen találtunk lényeges különbségeket kecskebéka és patkány CARTp immunreaktív struktúrái között. A legszembetűnőbb a CARTp pozitív rostfonatok hiánya a mozgató idegsejtek körül patkányban.

A CARTp központi idegrendszeri eloszlása *Xenopus laevis*-ben, az előfordulási helyek többségében megegyezik a kecskebékában látottal. Lényeges különbséget találtunk a tectum opticumban, ahol kecskebékában csak a legmélyebb sejtrétegben volt kevés CART pozitív sejt, míg *Xenopus*-ban sok sejt festődött a legfelületesebb rétegekben. A bulbus olfactoriusban alig volt ir elem *Xenopus*-ban, és ez jobban hasonlít a patkányban látottra, mint a kecskebékában megfigyeltre. A különbség oka összefügghet az állatok táplálkozási módjával. Ismert, hogy a CARTp gátolja a táplálékfelvételt. A karmosbéka és a patkány folyamatosan táplálkozik a természetben, míg a kecskebéka a telet hibernált állapotban tölti.

Ebből a résztémából egy dolgozat készült, amit közlésre beküldtünk a General and Comparative Endocrinology folyóiratnak. A CARTp agyi megoszlásának vizsgálatában Kozicz Tamás, aki az elmúlt 3 évben és jelenleg is Hollandiában dolgozik, folyamatosan részt vett, és egy dán kollégától kapott anti-CARTp antitestet az itthoni munkához is biztosította.

5./ A CARTp pozitív idegfunkciók és a motoneuronok kapcsolatainak felderítésére elektronmikroszkópos vizsgálatokat végeztünk. A CARTp immunreaktivitást mutató boutonok döntő többsége szorosan hozzáfekszik a neuron sejtmembránjához, szinaptikus kapcsolat azonban ritkán, kevesebb mint 10%-ban volt azonosítható. A végzésekben számos kerek vesicula és néhány dense core vesicula fordul elő. A szinapszisok kicsik és szimmetrikusak. A CARTp pozitív axon végződéssel szemben a felszín alatti lapos ciszternák elektrodenz membránjai voltak megfigyelhetők, amelyek esetenként a durva felszíni endoplasmikus reticulummal voltak összekötöttesben. Sorozatmetszetekben a szoros kapcsolatok közelében kémia szinapszist lehetett azonosítani.