

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar  
Anatómiai és Szövetteni Tanszék

# A GANGLIONSEJTEK MORFOLÓGIÁJÁNAK ÉS ELOSZ- LÁSÁNAK VIZSGÁLATA JUHOK RETINÁJÁBAN

**Készítette:** Turbók Janka, V. évfolyam

**Témavezető:** Dr. Jancsik Veronika tudományos főmunkatárs  
SZIE Állatorvos-tudományi Kar  
Anatómiai és Szövetteni Tanszék

Budapest

2011

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>I. Bevezetés</b>	<b>3</b>
I. 1. A retina felépítése	3
I. 2. A látóidegfő és az éleslátás helye	8
<b>II. Irodalmi áttekintés</b>	<b>9</b>
II. 1. A látósáv és a tapetum lucidum	9
II. 2. A fotoreceptorsejtek	12
II. 3. A fotoreceptorok és az egyéb sejtek közötti összeköttetések	15
II. 4. A receptorsejtek eloszlása a retinában	16
II. 5. A ganglionsejtek	18
II. 6. A ganglionsejtek eloszlása a retinában	28
<b>III. A vizsgálat célja</b>	<b>30</b>
<b>IV. Anyag és módszer</b>	<b>31</b>
IV. 1. A minták előkészítése	31
IV. 2. Nissl-festés	31
IV. 3. A sejtek vizsgálata	32
<b>V. Eredmények és következtetések</b>	<b>34</b>
V. 1. A látósáv és a dorsotemporalis látómező	34
V. 2. A ganglionsejtek száma és eloszlása	38
<b>VI. Összegzés</b>	<b>41</b>
<b>VII. Summary</b>	<b>42</b>
<b>VIII. Köszönetnyilvánítás</b>	<b>43</b>
<b>IX. Irodalomjegyzék</b>	<b>44</b>

# I. Bevezetés:

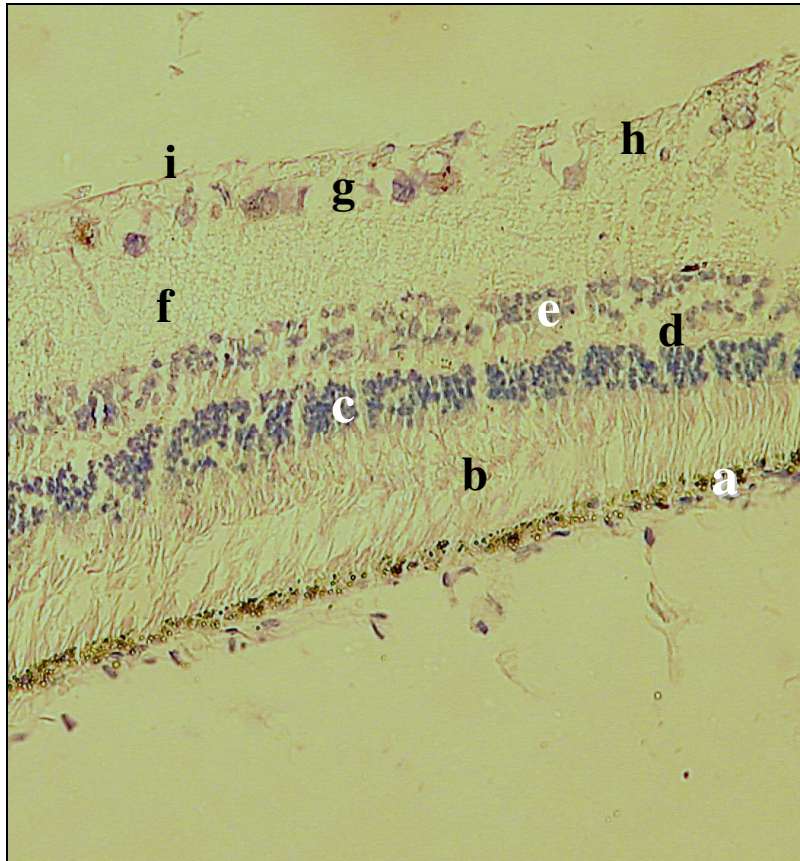
## I.1. A retina felépítése:

A retina, azaz a szem ideghártyája, a szemgolyó belső felületének nagy részét borítja. Felépítésében a fényérzékelő receptorsejtek, jeltovábbító idegsejtek, ezen kívül pedig különféle gliasejtek vesznek részt. Ezek a sejtek körülveszik és táplálják az egyes neuronokat, valamint közvetett módon kapcsolatot teremtenek az idegsejtek között.

Funkcionálisan két nagyobb területet különböztethetünk meg a retinán. A perifériás részeket beborító, úgynevezett vakretina (pars caeca retinae) az ideghártyának egy redukált formáját jelenti, mivel benne már nincsenek fotoreceptorok, tehát a látás kialakításában nem vesz részt. Feladata a retina alatt közvetlenül helyeződő érhártya kapilláris-hálózatából a csarnokvíz filtrálása, ezen kívül pedig a sugártest nyúlványaiból kiinduló lencsefüggesztő rostok is legbelső rétegéből származnak.

Az ideghártya nagyobb részét kitevő valódi retina (pars optica retinae) a sugártest határától, az úgynevezett ora serratától kiindulva borítja be a szemfenék egészét. Fénymikroszkóppal vizsgálva tíz réteget lehet benne megkülönböztetni (**1. ábra**), melyek az érhártya felől a szemgolyó belseje felé haladva a következők:

- pigmentsejtek rétege, benne a pigmentszemcséket tartalmazó hámsejtekkel (**a**)
- csapok és pálcikák rétege, mely a fotoreceptorsejtek nyúlványait tartalmazza (**b**)
- külső határhártya, ahol az úgynevezett Müller-féle gliasejtek végtalpai és a fotoreceptorok közötti kapcsolóstruktúrák, szorosan egymás mellett éles határvonalat alkotnak (**a felvételen nem különíthető el egyértelműen**)
- külső szemcsés réteg, amely a csap- és pálcikasejtek magjait és perikaryonját foglalja magába (**c**)
- külső hálózatos réteg, azaz a receptorsejtek és a bipolaris idegsejtek nyúlványai között létrejövő synapsisok sávja (**d**)
- belső szemcsés réteg, itt található a bipolaris neuronok, az amakrin- és horizontális sejtek, valamint a Müller-gliasejtek sejtteste (**e**)
- belső hálózatos réteg, ahol a ganglionsejtek és a bipolaris sejtek axonjai és dendritjei egymással kapcsolódnak (**f**)
- ganglionsejtek rétege (**g**)
- idegrostok rétege, melyet tulajdonképpen a ganglionsejtek axonjai alkotnak, és ahonnan összeszedődve, egységes kötegekként haladnak tovább a látóidegben (**h**)
- belső határhártya, ez választja el a retinát a szemgolyó üregét kitöltő üvegtesttől (**i**).



**1. ábra: A retina keresztmetszeti képe 100x-os nagyításban (saját preparátumról készített felvétel, Nissl-festés)**

Annak ellenére, hogy a rétegek szemmel láthatóan élesen elkülönülnek egymástól, funkcionálisan mégsem választhatók szét, mivel a retinát felépítő sejtek több réteget átívelően helyezkednek el. Ebből adódóan az ideghártyát a felépítő sejtek szempontjából négy főbb részre tagolják:

### **I.1.a. Pigmenthám**

Közvetlenül az érhártya alatt húzódó réteg, melyet a choroidea felől alaphártya borít. Benne a szabályos hatszögletű pigmenthámsejtek egy rétegben helyezkednek el. A sejtek alapjánál sok apró felszínnövelő struktúra található (nyúlványok és bemélyedések), melyek segítségével a hámsejtek egymással és az alattuk helyeződő receptorsejtekkel szorosan kapcsolódnak. A sejtek cytoplasmája általában nagyszámú pigmentgranulumot (melanosoma) tartalmaz, azonban a tapetum lucidum területén nagyon keveset. A pigmenthámsejtek szerepe egyrészt a csap- és pálcikasejtek táplálása az érhártya felől, valamint a fotokémiai reakcióhoz szükséges anyagok (például: A-vitamin) felvétele, szintetizálása, raktározása és továbbítása a receptorsejtek felé.

### **I.1.b. Neuron recipiens**

Ez a tulajdonképpeni elsődleges érzékhám (neuroepithel) sejtréteg, ebben található az unipolaris, finom nyúlványokkal rendelkező receptorsejtek. Mind a pálcika-, mind pedig a csapsejtek a retina fent említett rétegei közül összesen négyet ívelnek át. Nyúlványaik közvetlenül a pigmenthám alatt, sejtmagjuk a külső szemcsés rétegben, míg axonjaik a külső hálózatos rétegben foglalnak helyet.

#### ***Pálcikasejtek:***

Három fő részre tagolhatók: külső rész, a pálcika; sejtmag és perikaryon; axon, más néven neurit. A pálcika egy hosszú, henger alakú nyúlvány, melynek pigmenthámhoz közelebb eső részében, azaz kültagjában lapos, korong alakú membránkettőzetek találhatóak. Ezek a membránkorongok (körülbelül 600-800 db/sejt) egymás alatt szabadon helyezkednek el a sejtplazmában, a közöttük és körülöttük lévő teret cytoplasma tölti ki. A kültag az alatta lévő beltaggal egy vékony összekötő rész által kapcsolódik, mely csillós szerkezetű, benne sok microtubulus található. A beltag felső része nagyszámú mitochondriumot, alsó része pedig kisebb-nagyobb vesiculumokat, vacuolumokat és mikrotubulusokat foglal magába.

A sejtmag kerekded-ovális alakú, közepes chromatintartalmú. Ez alól indul ki a sejttestből eredő nyúlvány (neurit), melynek synapticus vége kiszélesedik. Ennek segítségével tartja fenn a sejt a kapcsolatot a bipolaris és horizontalis idegsejtekkel.

#### ***Csapsejtek:***

Külső része a csap, melynek felépítése sok hasonlóságot mutat a pálcikáéhoz, azonban van közöttük néhány lényeges eltérés. A csapok kültagjaiban is membránkettőzetek találhatóak, melyek tulajdonképpen a sejthártya invaginációi, ebből adódik, hogy a csapsejtek elektronmikroszkópos képe hosszanti metszetben fésűszerű. A beltagok rövidebbek és vaskosabbak, felépítésük azonban hasonló a pálcikasejtekéhez.

### **I.1.c. Neuron intercalare:**

Ebben a rétegben helyezkednek el a kétnyúlványú, úgynevezett bipolaris idegsejtek. Sejtmagjaik a belső szemcsés rétegben találhatóak, kifelé irányuló nyúlványuk a receptorsejtekkel, míg befelé nyúló axonjuk a ganglionsejtekkel synaptizálódik. Szerepük a primer érzékhámsejtek által felvett ingerület továbbítása a ganglionsejtek felé, valamint az egyes sejtek közötti integrációs hálózat létrehozása.

### **I.1.d. Neuron centripetale:**

A legelső sejtréteget a nagy multipolaris idegsejtek, vagyis a ganglionsejtek képezik. Rövid nyúlványaik (dendritjeik) a bipolaris idegsejtektől kapják az információt, míg

axonjaikon keresztül valósul meg az ingerület továbbítása a látóközpont felé. Hosszú axonjaik összeszedődve egymás mellett, mint velőhüvely nélküli idegrostok, haladnak a látóidegfő (papilla optica) felé, majd innen, velőhüvellyel borítva, mint látóideg lépnek be a központi idegrendszerbe.

#### **I.1.e. Horizontális neuronok és amakrin sejtek:**

Az imént megtárgyalt három fő ingerület-képző, és –továbbító sejttypuson kívül más idegsejtek is megtalálhatók a retinában. Ezek közül a belső szemcsés rétegben, ennek is a külső részén találjuk a horizontális sejteket, melyek a pálcika- és csapsejtek között teremtenek kapcsolatot. A ganglionsejtek közti összeköttetést pedig szintén a belső szemcsés rétegben helyeződő amakrin sejtek valósítják meg. Ezeknek köszönhetően a látás élménye nem csak a sejtek közötti vertikális információáramlás révén alakul ki, hanem a sejtek bonyolult, horizontális integrációs hálózatok kialakításával, egy sokkal érzékenyebb és pontosabb rendszert hoznak létre.

#### **I.2.f. Gliasejtek:**

Három fő gliasejtet lehet megkülönböztetni a retinában. Legnagyobb mennyiségben az úgynevezett Müller-gliasejtek találhatók, melyek az egyes sejtek között az ideghártyát szinte teljes szélességében átívelik. Sejttesteik a belső szemcsés rétegben találhatók, míg nyúlványaik a külső és belső határhártya között húzódnak. A retina fejlődése során ezek a sejtek az idegsejtekkel egy időben alakulnak ki. Miközben önmaguk is növekednek, differenciálódnak és kezdik elfoglalni végső helyüket az ideghártyában, a körülöttük lévő idegsejtek fejlődését és elhelyezkedését is segítik. Számos funkciójuk közül a legjelentősebbek, hogy az idegsejtek metabolikus folyamatait támogatják, szabályozzák az anyagforgalmukat (főként az egyes ionok mozgását), valamint részt vesznek az ingerület-átvivő anyagok szintézisében és újrahasznosításában is.

Jóval kisebb számban található a retinában az astrocyták, melyek a látóideg fejlődése során jutnak el az ideghártyába, előfordulásuk is leginkább a látóidegfő területén és ennek szoros környezetében jelentős. A Müller-gliasejtekhez hasonlóan körülveszik a ganglionsejtek axonjait, valamint a látóidegben futó vérereket, ezzel egyrészt kapcsolatot teremtenek a sejtek és az ellátó erek között, ezen kívül pedig a vér-agy gáttal megegyező védelmi vonalat is létrehozhatnak, így szabályozva a sejtekhez eljutó anyagok minőségét és mennyiségét.

A harmadik glia sejttypust a microgliasejtek képezik. Szoros értelemben véve nem valódi gliasejtek, az embrionális fejlődés során egyrészt a látóidegből, másrészt a vérerekből jut-

nak be a retina egészébe, minden réteget elfoglalva. Feladatuk elsődlegesen a szöveti macrophagokhoz hasonlóan az elhalt idegsejtek és idegen anyagok bekebelezése, eltávolítása.

## **I.2. A látóidegfő és az éleslátás helye:**

### **I.2.a. A látóidegfő:**

Állatfajonként némi eltéréssel, de jellemzően a szemfenék belső, ventralis részén található a papilla nervi optici, azaz a látóideg kilépésének helye. Szabad szemmel vizsgálva egy kerek, sárgásfehér terület, melynek peremszerűen vastag a széle, közepe pedig tölcsérszerűen, enyhén behúzódik. A retina ganglionsejtjeinek nyúlványai a papillához térnek. Ezen a területen csupán gliasejteket és idegrostokat találunk, receptorsejteket nem, ezért nevezik ezt a részt vakfoltnak is. A papilla körül helyezkedik el a rugalmas falú artériákat és vénákat tartalmazó érhálózat, melyből egy háromszintű kapillárisrendszer indul ki, és a receptorsejtek zónáját leszámítva, az ideghártyát teljes mélységében ellátja.

### **I.2.b. Az éleslátás helye:**

A látóidegfő felett néhány milliméterrel található a retinának, a vizuális érzet kialakulásának szempontjából, egyik legfontosabb része, az éles látás helye, melyet sárga foltnak (macula lutea) neveznek. E speciális terület középső régiójában állatfajoktól függően változó alakú látómező, fovea centralis illetve area centralis található.

#### ***Fovea centralis:***

Jellemzően a főemlősökben és az emberben fordul elő ez a túlnyomórészt csapsejteket tartalmazó terület. Ezen a helyen a retina gödörszerűen behúzódik, szerkezete módosult az ideghártya többi részéhez képest.

#### ***Area centralis:***

A foveához hasonló zóna az állatok retináján, de annál elmosódottabb kerekded vagy sávyszerű terület. Mindhárom idegsejt nagyobb arányban van jelen ezen a területen, és a szemcsés rétegek is szélesebbek. A csapsejtek a pálcikákhoz képest itt is jóval nagyobb számban találhatóak, ezen kívül pedig a ganglionsejtek egymás felett, több rétegben helyeződnek.

A látómező alakja és elhelyezkedése állatfajonként jelentős eltérést mutat. Többszörösen bizonyított tény, hogy a jellemzően nyílt terepen élő, növényevők (szarvasmarha, juh, kecske) látómezője hosszanti kiterjedésű, keskeny sávként tűnik elő, mely a monokuláris látást segíti elő. Ennek megléte biztosítja, hogy a potenciális zsákmányállatok minél szélesebb területet lássanak be maguk körül, ám ez a térlátásuk rovására történik. Ezzel ellentétben a rejtettebb életmódot folytató növényevők, mindenevők (például a sertések) valamint a ragadozók számára elsődlegesen a megfelelő térlátás áll a középpontban, emiatt látómezőjük is kisebb, jól körülhatárolt, inkább ovális vagy kerek, mely a binokuláris látás szolgálatában áll. Egyes állatfajok, mint például a patások, mindkét látómező-féleséggel rendelkezhetnek.



## **II. Irodalmi áttekintés:**

### **II.1. A látósáv és a tapetum lucidum:**

A retinát mind az egyes sejtek eloszlási arányában, mind pedig funkcionálisan két fő részre, centrális és perifériás területre lehet osztani. A centrális terület nem más, mint a tulajdonképpeni éleslátás helye. Az emlősfajok jórésztében itt a retina vastagabb, és ezen a területen a többi részhez képest jóval több fotoreceptor-sejt, ganglionsejt, bipolaris- és gliasejt található. Főként a csapsejtek száma nő jelentősen a centrális régióban, ezen kívül pedig közelebb is helyeződnek egymáshoz a csapsejtek, mivel itt hozzájuk képest lényegesen kisebb a pálcikasejtek aránya.

A receptorsejtekhez hasonlóan a ganglionsejtek száma is szignifikánsan magasabb a központi régióban, mint másutt. Ennek következtében, egy ganglionsejthez kevesebb receptorból fut be információ, így ha több a receptorsejt, az arányosan több ganglionsejtet igényel. Az éleslátás helyén nem csak a sejtek, hanem az egymással alkotott összeköttetések száma is jelentősen emelkedett, ezen kívül pedig, mivel itt a sejtek nagyobb számban vannak jelen, több nyúlvány halad a látóidegfő felé, ennél fogva itt jelentősen vastagabb a retina.

Külön érdekesség, hogy főemlősökben az éleslátás helyén az ideghártya vékonyabb, és itt a centrális receptorsejtek nyúlványainak lefutása is, eltérően a többi területtől, nem függőleges, hanem ferdén a fovea centralis pereme felé tart, ahol a belső szemcsés réteg is helyeződik. Mivel a fényérzékeny receptorsejtek a retina legbelső rétegében helyezkednek el, a fénynek a fovea centralis területén kívül mindenütt át kell hatolnia az ideghártya teljes vastagságán, hogy elérje a fotoreceptorokat. A fovea centralis területén viszont, azáltal, hogy a nyúlványok lefutása ferde, valamint, hogy a belső szemcsés réteg nem áll a fénysugarak útjában, a fény könnyebben és nagyobb mennyiségben juthat el a legbelső rétegbe.

Az éles látás helye, azaz a sárgafolt színét a csapsejtek axonaiban lévő karotinoidokból (zeaxantin és lutein) nyeri (Balashov és Bernstein, 1997), melyek valószínűleg védelmi funkciót látnak el, vagyis óvják a sejteket az UV-sugárzás negatív hatásaitól (Rodieck, 1979). Humán retinák vizsgálata során (Polyak, 1941) kiderült, hogy a fovea centralis közepén, egy körülbelül 200 µm átmérőjű területen, mutatják a csapsejtek a legsűrűbb eloszlást, ahol pálcikasejtek viszont egyáltalán nincsenek. A receptorsejtek szabályos hatszög alakzatot mutatnak, lejtős elrendeződésben (így kevésbé fogják el egymás elől a fényt).

Az éjszakai életmódot folytató, valamint a sötétedés után is aktív állatfajok retinájának különlegessége egy, az érhártyában lévő, fényvisszaverő réteg, a tapetum lucidum. A szem belsejébe érkező fénysugarak sorsa többféle lehet. Amint bejutottak a retinába, egy részük elnyelődik a receptorsejtekben, és a fotokémiai reakcióban vesz részt, a többi fénysugár visz-

szaverődik a retináról, illetve a retina más sejtjeiben nyelődik el, vagy kijut a szemből. Mivel az éjjel aktív állatoknak a gyenge fényviszonyok között is szükségük van a megfelelő látásra (táplálékfelvételhez, a veszély felismeréséhez), a choroidea egy része oly módon alakult át, hogy a retinában elsődlegesen el nem nyelődött fénysugarak többségét még egyszer a receptorsejtekre vetítse. Ezt tapetum lucidumnak nevezzük. Felépítését tekintve különbség van a ragadozók és a zsákmányállatok tapetumja között. Míg az előbbieknél 10-25 rétegben szabályosan elhelyezkedő sokszögletes sejtek alkotják az úgynevezett tapetum cellulosumot, addig az egypatások és kérődzők tömör, kollagénrostos lemezekből, a köztük lévő fibrocytaszerű sejtekből, valamint melanocytaiból álló tapetum fibrosummal rendelkeznek. Mindkét változat esetén megegyezik, hogy a felépítő sejtek cytoplasmájában szerves kötésben lévő cink-és kénvegyületek képezik a fényvisszaverő anyagot. A tapetum színe és alakja állatfajonként, néha fajtánként és egyedenként is változhat, általában sárgászöld vagy kékeszöld árnyalatú, nagyjából háromszög alakú, alapja a látóidegfő magasságában található. A tapetum és a fotoreceptorok között, vagy teljesen pigmentmentes vagy csak igen kevés pigmentszemcsét tartalmazó sejtek találhatóak, melyek színanyaga egyébként a retina többi részének sötétbarna színét adja.

A látósáv elhelyezkedésének és alakjának vizsgálata a retinában lévő receptorsejteknek és a tőlük információt összegyűjtő ganglionsejteknek, a retina többi alkotójától való elkülönítésével lehetséges. Mivel a látósáv területén ezeknek a sejteknek nagyobb a száma és a sűrűsége, a különféle festési eljárások lehetővé teszik az éleslátás helyének és morfológiájának meglehetősen pontos meghatározását. Több patás állatfaj esetében is bizonyított, hogy hosszant megnyúlt látósávval rendelkeznek a retina alsó szegmensében, mely lehetővé teszi számukra, hogy a körülöttük lévő teret minél nagyobb részen képesek legyenek belátni, anélkül, hogy a fejüket, vagy szemüket elmozdítanák. (Stone és Halász, 1989; Gonzales-Soriano et al., 1997; Harman et al., 1999) Ezen kívül pedig rendelkezhetnek egy kisebb, foltszerű régióval is, mely a látósávtól távolabb, a szemfenék külső-felső részén található, és szintén az éleslátás szolgálatában áll. Sejtösszetétele és –eloszlása alapján azonban ez a terület inkább a térlátás és az egyes objektumok binokuláris megfigyelésében játszik szerepet (Rapaport és Stone, 1984). A juhok retinájában az éleslátás helyére vonatkozólag ezidáig egy tudományos cikk jelent meg, melyben a fotoreceptor-sejtek és a ganglionsejtek segítségével határozták meg az area centralis elhelyezkedését (Shinozaki et al., 2010). (Részletesen lásd a későbbi fejezetekben.)

Jelen munka és a felhasznált adatokat szolgáltató kutatások arra irányultak, hogy az egyes sejtípusok segítségével lokalizálni lehessen a juhok éles látásának helyét és ezeknek a régióknak az alakját.

## II.2. A fotoreceptorsejtek:

A szembe érkező fénysugarakat az ideghártya receptorsejtjei nyelik el, a bennük végbemenő fotokémiai átalakulás révén pedig elektromos jelként továbbítják az információt az agyba. Az emlősök retinájában két, illetve három típusú csapsejtet és egyféle pálcikasejtet tudunk megkülönböztetni. A receptorsejtek közvetlenül a pigmentsejtréteg alatt helyezkednek el, kültagjaikra a pigmentsejtek apicalis nyúlványai borulnak.

Külső nyúlványukban (kültag) található az úgynevezett látópigment (pálcikák esetén rhodopsin, a csapokban pedig jodopsin), mely egy, a sejt Golgi-apparátusában képződő, opsin-molekulából, és egy 11-cisz retinalból áll (ez utóbbi az A-vitaminből származik). Az opsin microtubulusok közvetítésével jut a sejt kültagjába (Papermaster et al., 1985; Deretic és Papermaster, 1995), míg a retinal a pigmenthámsejtekből érkezik {a retinal kötő fehérjék – RBP – közreműködésével (Adler és Martin, 1982; Okajima et al., 1989)}, összekapcsolódásukat követően a kültag membránkettőzeteiben tárolódnak.

A fotoreceptorsejtek fényre adott elektromos válasza a látópigmenten, majd a sejtek által termelt ingerület-átvivő anyagokon keresztül valósul meg. A beérkező fotonok hatására a rhodopsin retinal része 11-cis formátumból -trans formába alakul át, mely egy sor konformációváltozást eredményez a fehérje-molekulán belül, ennek végeredményeként pedig a látópigment aktivált állapotba kerül (metarhodopsin-II) és elszíntelenedik (Hargrave és McDowell, 1992). Sötétben a receptorsejtek membránjaiban helyeződő cGMP-kötő kation csatornák folyamatos ionáramlást tartanak fenn, melynek során főként nátriumionok, kisebb hányadban kalcium- és magnéziumionok haladnak át a membránon. Az ionáramlás során a sejthártya részlegesen depolarizálódik, melynek hatására a sejtben lévő neurotransmitter, a glutaminsav a synapsisokon keresztül a bipolaris sejtekhez jut. Ezzel szemben, ha a receptorsejtet fényhatás éri, az aktiválódott látópigment, a transzducin segítségével aktiválja a cGMP-foszfodiészteráz enzimet, mely zárja a kationcsatornákat, oly módon, hogy az ionáramlást fenntartó cGMP-t GMP-vé (5-guanozin-monofoszfát) hidrolizálja, mely így leválik a kötőhelyéről.

Az ionáramlás megszűnésével a membránpotenciál is megváltozik, vagyis a sejthártya hiperpolarizált állapotba kerül, megszüntetve ezzel a neurotransmitter leadását (Stryer, 1991; Yau, 1994). A receptorsejtek azonban nem csak egyszerűen érzékelik a fényt, hanem képesek a megvilágítás intenzitásához és időtartamához is alkalmazkodni. Ebben leginkább a kalciumionoknak van szerepe, melyek közvetlenül nem vesznek részt a fototranszdukciós kaszkádban, de képesek felgyorsítani az ingerület-átvivő anyagok leadását, ezzel a membrán hamarabb tudja visszanyerni nyugalmi állapotát, ezen kívül pedig a kalciumionok elősegítik a re-

ceptorok érzékenységének csökkenését folyamatos megvilágítás esetén, így a sejtek lassabban merülnek ki (Yau, 1994).

A receptorsejteket látópigmentjeik alapján csoportosítják. A pálcikasejtek rhodopsinja leginkább a kék-zöld tartományba eső fényre érzékeny, érzékenységének maximuma 500 nm hullámhosszúságra tehető. A pálcikasejtek érzékenysége messze felülmúlja a csapsejteket, akár egyetlen foton elegendő lehet ahhoz, hogy beinduljon a fotokémiai reakció. Ennek köszönhetően kiválóan alkalmasak az esti félhomályban és az éjszakai gyér fényviszonyok közötti látásra. Annak ellenére, hogy érzékenységük nagyobb, mint a csapsejteké, a pálcikákban a fényre adott válasz sokkal lassabban jön létre. MacLeod 1972-es vizsgálatai alapján megállapítható, hogy azonos fényviszonyok mellett a pálcikákból kiinduló jel egy tized másodperccel később érkezik meg, mint a csapsejtekből.

A csapsejtek opsintartalmuk alapján, gerincesek esetén összesen négy típusba sorolhatók. A rövid hullámhosszú fény tartományára két csaptípus is érzékeny, az egyik (SWS1) az ultraibolyától az ibolyáig, míg a másik (SWS2) az ibolyától a kékig terjedően reagál a fényre. A közepes hullámhosszúságú, zöld tartományra az úgynevezett RH2-es csapok, míg a sárga-vörös spektrumra a hosszú hullámhosszúságú LWS csapok érzékenyek. A legtöbb emlősfaj esetén kétféle csaptípus található a retinában: a kék-ibolya tartományra eltolódott SWS1, más néven S-típusú, valamint az LWS csapok, melyek érzékenységi tartománya a zöldtől a vörösig terjed, így magukba foglalják a sárga árnyalatokat is, ez utóbbit általában M/L rövidítéssel jelölik. A kétféle csapsejtnek köszönhetően az emlősök dichromaticus látással bírnak, azonban jelentős eltérések lehetnek az egyes fajok között a kétféle csaptípus egymáshoz viszonyított arányában, a retinán belüli eloszlásában (Ahnelt és Kolb, 2000), valamint a csapok fényérzékelési maximumaiban.

A főemlősök egy része és az emberek kivételt képeznek, nekik ugyanis trichromaticus látásuk van, mely abból adódik, hogy az X-kromoszómán található opsin-fehérjét kifejező gén mutációja révén (duplikálódás és szekvenciaváltozás) a retinában a zöld-sárga és a sárga-vörös tartományra külön érzékeny csapsejtek jelennek meg. Ennek köszönhetően ezek a fajok háromféle színt tudnak egymástól elkülöníteni: a kéket (érzékenységi maximuma 425 nm-en található), a zöldet (535 nm-es maximummal), valamint a vöröset (567 nm-es érzékelési maximummal). Egy csapsejt általában csak egyféle opsinmolekulát képes expresszálni. Ettől eltérően azonban néhány fajban kétféle opsin is megtalálható egyazon csapsejtben. Lukáts és munkatársainak 2005-ben közölt vizsgálatai szerint egyes egérfajokban a retina egy részén, vagyis a főként ventralisan elhelyezkedő S-csapok és a dorsalisan helyeződő M/L-csapok átmeneti zónájában olyan csapsejtek is előfordulnak, melyekben mindkét opsinmolekula fel-

lehető. Ezen kívül, csekély mennyiségben ugyan, de humán retinák vizsgálata során is ki tudtak mutatni hasonló minőségű sejteket. Ezzel egybevégtően sertések csapsejtjeinek vizsgálatával megállapították, hogy kismértékben, de egyes S-csapok tartalmaznak M/L-típusú opsinféhrjét is (Hendrickson és Hicks, 2002).

### **II.3. A fotoreceptorok és az egyéb sejtek közötti összeköttetések:**

A csapokból és pálcikákból az információ a bipolaris és horizontalis sejtekhez továbbítódik kémiai synapsisok révén, melyek a retina külső hálózatos rétegében helyezkednek el. A csapok presynapticus nyúlványai szélesek, laposak, egymással többé-kevésbé egyvonalban helyeződnek, ezzel szemben a pálcikák axonjainak végrésze kicsi, gömbszerű, és a csapok végtalpai felett, illetve ezek között található. Mint minden idegsejtre, a receptorsejtekre is jellemző, hogy bennük az ingerületátvivő anyagok vesiculumjai a presynapticus részen halmozódnak fel. A vesiculumok elhelyezkedésében és rögzítésében lényeges szerepet játszik egy sajátos struktúra, mely csupán néhány sejtípusban (a halló- és egyensúlyozószerv szőrsejtjei, valamint a retina bipolaris- és receptorsejtjei) található meg. Tulajdonképpen ez nem más, mint a sejtek presynapticus membránjáról eredő, ahhoz szorosan kapcsolódó, a sejttest irányába nyúló, vékony filamentum, melyet presynapticus szalagnak neveznek. E szalagokhoz kapcsolódva, meghatározott számban csoportosulnak az ingerületátvivő anyagot tartalmazó vesiculumok, melyek, a sejtet ért megfelelő ingerület hatására végbemenő exocytosis folyamán, tartalmukat a sejtek végbunkójába nyomuló postsynapticus membránok irányába továbbítják. (Sterling és Matthews, 2005 – összefoglaló). Számuk a receptorsejtektől függően változik, a csapsejteken egyenként mintegy harminc, míg a pálcikasejtek véggömbjein csupán kettő synapticus szalag található (Ahnelt et al., 1990).

A csapsejtek synapsisait „triádoknak” nevezik, mivel a presynapticus részen hármas csoportokban képeznek összeköttetéseket. A triád központi részén lévő betüremkedés a bipolaris sejt dendritjének befogadására szolgál, míg a másik két oldalsó részen a horizontális sejtek nyúlványai kapcsolódnak. Ezen kívül a csapok a horizontalis sejtekkel még egy úgynevezett basalis junctio révén „laposan” is képesek kapcsolódni (Dowling és Boycott, 1966).

A pálcikasejteknek összesen két oldalsó és két középső invaginatumuk van, előbbieken két horizontális, utóbbiak révén két bipolaris sejtrel képesek kapcsolatot létrehozni.

A receptorsejtek nem csak a továbbító sejtekkel, hanem egymással is összeköttetésben állnak. Az intercellularis kapcsolatok kialakulhatnak csapok, illetve a csapok és pálcikák között. Ezeket az elektromos összeköttetéseket (nexusokat) a csapok presynapticus végtalpai-nak oldaláról és alajjáról kiinduló apró kitüremkedések hozzák létre a pálcikák, valamint a szomszédos csapok axonjaival. (Osterberg, 1985; Curcio et al., 1987). Összességében egy csapsejt 3-5 szomszédos csappal és mintegy 10 pálcikával képes kontaktusba kerülni.

A fenti bonyolultnak tűnő kapcsolati rendszer elsődleges célja, hogy kiegyenlítse a receptorsejtek retinán belüli egyenetlen eloszlásának következményeit, valamint a különféle hullámhosszúságra érzékeny csapsejtek számbeli és eloszlásbeli különbségét. Ez oly módon

lehetséges, hogy a csapok képesek az egymástól és a pálcikáktól érkező jeleket felvenni, majd saját maguk továbbítani (Schneeweis és Schnapf, 1995), vagyis a pálcikasejtek egy gyorsabb úton is juttathatnak információt a látókéreg felé, illetve egy zöld fényre érzékeny csapsejt is adhat át olyan jelet, mely eredetileg egy vörösre érzékeny sejtől származott és fordítva.

## **II.4. A receptorsejtek eloszlása a retinában:**

Az egyes állatfajok látómezejének meghatározása mind a fotoreceptorok, mind pedig a ganglionsejtek száma és eloszlása alapján lehetséges. A legtöbb esetben a ganglionsejteket tekintik meghatározónak, így ezek segítségével jellemzik az éleslátás helyét és alakját, ehhez viszonyítva pedig a csapok és pálcikák eloszlását. Nagy általánosságban elmondható, hogy az emlősállatok „pálcikadomináns” retinával rendelkeznek, csapsejtjeik között pedig a legnagyobb számban az M/L-típusúak vannak jelen, míg az S-csapok száma átlagosan csupán 5-10 % az összes csapsejtnél (Lukáts et al., 2005 – összefoglaló). A fentiektől állatfajonként jelentős eltérések mutatkozhatnak, mivel a receptorsejtek eloszlását számos tényező befolyásolja mint például az életmód, a napszaki aktivitás, vagy a szemek anatómiai helyzete, a látószög, valamint a perifériás látómező nagysága.

### **II.4.a. Receptorok és a napi aktivitás:**

Az éjszakai életmódot folytató állatok zömében a csapok száma elenyésző, a receptorsejteknek csupán 0,5-3%-át teszik ki, ez az arány, még az alkonyatkor aktív fajokban sem több 2-10%-nál. Velük szemben a nappali aktivitást mutató állatfajok retinájában a csapok aránya szélesebb skálán mozog, 8%-tól akár a 95%-ig is jelen lehetnek. Ezekben a fajokban a pálcikák sűrűsége is jóval kisebb, mint az éjszaka aktív állatok retinájában (Peichl, 2005 – összefoglaló).

### **II.4.b. Életmóddal kapcsolatos összefüggések:**

Az egyes állatfajok élőhelye, táplálkozási szokásai is jelentősen befolyásolják a receptorsejtek számát és elhelyezkedését. Ezzel kapcsolatban Ahnelt és munkatársai 2000-ben szarvasokon, őzekén és más vadon élő kérődzőkön végzett vizsgálatai kimutatták, hogy a kisebb termetű fajok, mint például az őzek csapeloszlása hasonló képet mutat a nyulakéval és különféle rágcsálókéval, vagyis az S-típusú sejtek legnagyobb sűrűségben a papilla nervi optici és a látószög alatt, hosszant megnyúlt foltszerű alakban találhatók. Ennek a jelenségnek valószínűleg az a magyarázata, hogy a talajhoz közel élő, kistestű fajoknak nem csak oldalirányból, hanem a levegőből is számítaniuk kell a ragadozók támadásaira. Mivel magasba való tekintéskor a szembe érkező fénysugarak az ideghártya alsó szegmensére érkeznek, lo-



gikus, hogy a kék színre érzékeny sejtek a retina alsó részén gyűlnek össze, így ezek az állatok a kék háttér előtt lévő tárgyakat nagy biztonsággal felismerik (Szél et al., 1996)

Ahnelt és munkatársai a 2000-es összefoglalójukban számos kérődző faj adottságait is összehasonlította. Tevéfélékben a legtöbb csapsejt, mintegy  $30.000/\text{mm}^2$ -es mennyiségben közvetlenül a ganglionsejtek felett, hosszú sáv alakjában található, s számuk fokozatosan csökken a széli részek felé. Az eddigi vizsgálatok során más, kiterjedt legelőterületeken élő fajok esetén is hasonló eredményeket írtak le.

Sandmann és munkatársai 1996-ban közölt kutatásai szerint, a nyílt terepen élő lófélék (ló, zebra, szamár, öszvér) határozott látósávval rendelkeznek a látóidegfő magasságában, mely a retina teljes szélességére kiterjed, s receptorsejtjeik sűrűsége e terület felett a legmagasabb, mintegy  $15.000 - 20.000/\text{mm}^2$ , s ez a periféria felé fokozatosan körülbelül  $5000/\text{mm}^2$ -es értékre csökken.

#### **II.4.c. Anatómiai viszonyok és a receptorsejtek kapcsolata:**

Számos vizsgálattal alátámasztott tény, hogy a fej élettani állása, valamint a szemgödörök koponyán való elhelyezkedése, és ebből adódóan a szemek helyzete nagymértékben befolyásolja a látósáv alakját és helyeződését, ezzel kapcsolatosan pedig a receptorok eloszlását is.

Schiviz és munkatársai (2008) kerestek összefüggéseket párosujjú patások látósávja, csapeloszlása, valamint az állatok életmódja, testfelépítése között. Minden általuk vizsgált kérődzőben határozott horizontális látósávot találtak, méghozzá a retina azon részén, ahová a legtöbb fény vetül, ha az állatok a fejüket a normál fiziológiás helyzetben tartják. Itt a ganglionsejtkeivel párhuzamosan nő az M/L-csapok száma és sűrűsége is. Ezen kívül a legtöbb fajban egy, az előbbitől elkülönülő részt is felfedeztek az ideghártya dorsotemporalis részén, ahol szintén nagyobb mennyiségben voltak jelen a receptorsejtek. Amennyiben a vizsgált fajokat jobban megnézzük, látható, hogy szemeik nem teljesen előre tekintenek, hanem laterálisan helyeződnek a fej két oldalán, így növelve az általuk belátható tér nagyságát. Azonban a megnövekedett látószög eredményeként lecsökken annak a területnek a nagysága, melyet a két szemmel együttesen képesek érzékelni, vagyis ahol térbeli látásra van lehetőség. Schiviz és munkatársai valószínűsítik, hogy ez az oldalsó látómező növelni képes a binokuláris terület nagyságát, javítva ezzel az állatok térlátását. A kísérletek során, a különféle csapsejtek eloszlását vizsgálva megállapították, hogy míg az M/L-típusú sejtek a horizontális és dorsotemporalis látómezők területén sűrűsödnek, addig az S-típusú csapsejtek csak a felső-oldalsó régióban fordulnak elő nagyobb számban (ez alól az eddig megvizsgált hegyvidéki fajok kivételt jelentenek, mivel náluk az S-csapok eloszlása pontosan követi az M/L-csapokét).

Azt, hogy a látómező helyeződése és a receptorsejtek eloszlása képes kompenzálni a szemek helyzetéből adódó hátrányokat más vizsgálatok is alátámasztják. Lukáts és munkatársainak 2005-ös összefoglaló munkájában olvasható, hogy főemlősökben a retina perifériás részein gyűrű alakban megnövekszik a fotoreceptorok száma. Ennek oka valószínűleg az, hogy ugyan az előre tekintő szemek által bezárt szög kicsi, és a binokuláris terület, ezzel fordított arányban állva, meglehetősen nagy, addig a perifériás látóterület erőteljesen szűkült. Tehát ebben az esetben épp a fordítottja történik, mint kérődzőkben, vagyis a széli részekben sűrűbben elhelyezkedő receptorok javítják az állatok periférikus látását.

## **II.5. A ganglionsejtek:**

### **II.5.a. A sejtek felépítése, osztályozása:**

Általánosságban a ganglionsejtekről elmondható, hogy nagyméretű multipolaris idegsejtek, sejttesteik átmérője jóval nagyobb, mint a retina többi sejtjéé, velőhüvely nélküli axonjaik kötegekbe szerveződve egységesen, mint látóideg lépnek ki a retinából. A sejtek felépítését tekintve három fő részt lehet megkülönböztetni: sejttest, dendritek, és axon, más néven neurit.

A ganglionsejtek nagyméretű, heterochromatinban gazdag sejttaggal és, tőle fénymikroszkóposan is jól elkülönülő, magvacskával rendelkeznek {1. ábra: a ganglionsejtek a kép felső részén, a retina belső rétegében láthatók (g)}, perikaryonjukban kiterjedt szemcsés endoplasmaticus reticulumot, nagy mennyiségű vesiculumot, szabad ribosomákat és Golgi-apparátust találunk, melyek a sejtben végbemenő erőteljes fehérjeszintézis és egyéb anyagcserre-folyamatok lebonyolításához szükségesek. A feleslegessé vált, a sejt számára szükségtelen anyagok lebontására számos lysosoma áll rendelkezésre, a membránpotenciál fenntartásához, valamint az ingerület-átvivő anyagok előállításához és szállításához szükséges energiamennyiséget pedig a sejtben nagy számban jelen lévő, mitochondrium biztosítja.

Az idegsejtekre általánosan jellemző, hogy cytoplasmájuk jelentős mennyiségű basophil szemcsét, úgynevezett Nissl-rögöket tartalmaz. Ez a megjelenés tulajdonképpen a sejt szabályos mezőkbe rendeződött szemcsés endoplasmaticus reticulumjához köthető, mely a fel-fedezőjéről elnevezett festést követően, fénymikroszkópos vizsgálat során jól szembetűnik (Nissl leírása szerint úgynevezett „tigroid rögök” formájában).

A ganglionsejtek alakjának megtartásában a cytoskeleton egyes elemei, például a microfilamentumok és microtubulusok vesznek részt, mely utóbbiak a sejtben belüli anyagtranszport fenntartásában is elengedhetetlenek.

Multipoláris sejtek lévén a ganglionsejtek számos rövid nyúlvánnyal, vagyis dendritekkel rendelkeznek, melyek a szomszédos sejtekhez kapcsolódva az információ felvételéért és sejtbbe való továbbításáért felelősek. A dendritek mellett minden sejt rendelkezik egy-egy hosszú nyúlvánnyal, azaz axonnal. A ganglionsejtek axonjai adják a tulajdonképpeni látóideg rostjait, melyek a perikaryonhoz hasonlóan microtubulusokat, microfilamentumokat, és csak az axonra jellemző neurofilamentumokat, ezen kívül pedig jelentős mennyiségű mitochondriumot is tartalmaznak. A sejt receptorfunkcióját a sejtest és az információ-felvevő felületet növelő dendritek látják el. Az axon ezzel szemben a sejt effektor feladatait végzi. Az axon eredési helyének, az úgynevezett axondombnak a membránjában található egy körbefutó határzóna, mely a fenti funkciók elkülönülését még az egységes szerkezetű sejthártyán belül is lehetővé teszi. (Forrás: Röhlich Pál: Szövettan, 2006 – Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió)

A retinában lévő idegsejtek, így a ganglionsejtek kimutatására és vizsgálatára is számos szövettani, valamint funkcionális módszer alkalmas. Legelsőként a Golgi-féle festést alkalmazták a különféle sejtek kimutatására, mivel ez specifikus az idegsejtekre nézve. Magát a festési eljárást Camillo Golgi fejlesztette ki 1873-ban, mellyel elsőként sikerült láthatóvá tennie az idegsejteket. A festés során, a szövetet kálium-dikromát tartalmú formaldehid-oldatban fixálva, majd négy napig ezüst-nitrát oldatban tárolva, egyes idegsejtek sejttestei és nyúlványai, a fénymikroszkópos vizsgálat során, a kiváló ezüst hatására fekete színben tűnnek elő. Így, ennek segítségével meghatározható ezen idegsejtek alakja és lefutása. Az eljárás hátránya, hogy nem minden idegsejt válik e módszer segítségével láthatóvá. Mindeztidáig még nem sikerült magyarázatot találni arra, hogy milyen módon következik be ez a látszólag véletlenszerű festődés.

Ezt az eljárást a retina idegsejtjeinek vizsgálatára először Cajal alkalmazta 1892-ben, ennek segítségével azonosítani tudta az ideghártyában lévő főbb sejtípusokat, mint a fotoreceptor-sejteket, a ganglionsejteket, bipolaris-, horizontális- és amacrinsejteket, valamint felismerte, hogy ezek a sejtek egymással kapcsolódva továbbítják az információt a receptorsejtektől a ganglionsejtekeig, vertikális és horizontális irányban egyaránt. Ezen kívül pedig az elsők között vetette fel, hogy a sejtek közötti synapticus kapcsolat biztosítja az információáramlást. Cajal a kutatásai során elsőként dolgozott ki a ganglionsejtekkel kapcsolatos osztályozási rendszert, mely nem csupán a sejtek morfológiai és méretbeli tulajdonságain (a sejtek alakja, mérete, a dendritfa hossza és kiterjedtsége) alapult, hanem figyelembe vette a dendriteknek a retina belső hálózatos rétegében való elágazódási rendszerét is. Ennek kapcsán meghatározta, hogy az egyes ganglionsejtek a belső hálózatos réteg mely szintjébe bocsátják

nyúlványaikat, azaz mely, úgynevezett stratificációs szinten helyezkednek el a synapsisok. Ezzel megalapozta a sejtek funkció szerinti csoportosításának a lehetőségét is (bővebben lásd később).

A ganglionsejtekre irányuló kutatások területén a következő fontos lépést Polyak tette meg 1941-ben, főként főemlősök retináját vizsgálva, később pedig több más kutató is számos hasonló vizsgálatot végzett különféle emlősfajok bevonásával (Boycott és Dowling, 1969; Kolb, 1970; Mariani, 1984; Kolb et al., 1981, 1992). Az 1960-as évekre már egy meglehetősen jól kidolgozott osztályozási rendszert sikerült felállítani, azonban ez még mindig csupán a retina vertikális metszeteinek vizsgálatára alapult. Miután sikerült a Golgi-festést a retina teljes terjedelmében, azonos időben alkalmazni, a dendritek elágazódási rendszerét figyelembe véve átdolgozásra került a korábbi rendszer.

Az elektronmikroszkóp megjelenését követően lehetővé vált az egyes sejtek ultrastrukturális vizsgálata is, a tudomány későbbi fejlődésével pedig lehetőség nyílt az adott sejtek különböző tulajdonságainak és funkcióinak megismerésére is. Ezeket lehetővé tevő eljárás például a mikroelektrodákkal történő intracellularis festés, vagy a specifikus antitesteket felhasználó immuncytochemiai technika, mellyel főként a sejtekben lévő enzimek és jelátviteli molekulák meghatározását végzik.

1978-ban Walter W. Stewartnak sikerült tökéletesíteni egy olyan vitális festési eljárást, melynek során egyidejűleg vizsgálható a sejtek fényre adott válaszkészsége és az adott sejt típusa is. A festést üvegből készült mikroelektrodák segítségével végzik, melyekkel a sejtthártyán keresztül egy fluoreszcens anyagot (lucifer yellow) juttatnak a cytoplasmába. A jó vízdékonyságú, lítiumtartalmú szerves vegyület a cytoplasmába jutva (mikroelektrodákon keresztül, esetleg phagocytosis útján) morfológiailag értékelhetővé teszi a sejtet anélkül, hogy az funkcionálisan károsodna, így azonos időben lehetőség nyílik a sejt fiziológiai vizsgálatára is. Ez a technika, kombinálva a retina teljes terjedelmében végzett Golgi-festéssel alapozta meg a mai osztályozási rendszerek alapját.

A ganglionsejtek csoportosítása, amint azt korábban láthattuk, több tulajdonság, például sejt méret és morfológia, a dendritfa elágazódása, valamint funkcionális szempontok alapján lehetséges, melynek végeredményeképpen emlősök esetén ma már közel huszonötféle ganglionsejtet lehet megkülönböztetni. Az osztályozási rendszer azonban még nem állt össze egy egységes szisztémává, melyet minden gerinces vagy akár csak emlős faj esetében alkalmazni lehetne. Az már a XX. század elején végzett vizsgálatok során kiderült, hogy a gerinces fajok esetén a retina idegsejtjei rendkívül hasonló morfológiát mutatnak, azonban a működésüket tekintve az azonos alakú és méretű sejtek némiképp különbözhetnek egymástól az

egyres állatfajok között. Éppen ezért a vonatkozó szakirodalomban az egyes állatfajokat, nemzetségeket illetve rendeket külön-külön írják le, majd a kapott eredményeket igyekeznek összevetni más, nem rokon fajokéval is.

A ma elfogadott rendszer alapjait Boycott és Wassle kezdte el kidolgozni 1974-ben macskák ganglionsejtjeinek vizsgálatával, ennek eredményeként a sejteket élettani válaszkészségük alapján három fő kategóriába sorolták (X, Y, és W), morfológiai szempontokból pedig négy nagyobb csoportba osztották a sejteket ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  és  $\delta$ ). Ezt követően a két osztályozási szempontot együttesen figyelembe véve igyekeztek az egyes típusokat egymásnak megfeleltetni. A kísérleteket tovább folytatva az is világossá vált, hogy az  $\alpha$ - és  $\beta$ -sejteket további altípusokra lehet osztani aszerint, hogy a belső hálózatos réteg mely szintjében ágazódnak el dendritjeik (Famiglietti és Kolb, 1976). Mind az  $\alpha$ -, mind a  $\beta$ -sejtekre jellemző, hogy az area centralis területén rendelkeznek a legkisebb kiterjedésű dendritfával, ettől perifériás irányban haladva a dendritek által lefedett terület nagysága szabályos koncentrikus alakban egyre növekszik. Ez azt jelenti, hogy a retina széli részein elhelyezkedő ganglionsejtek kapcsolatrendszere tízszer terjedelmesebb, mint az éleslátás területén. Az új osztálybasorolás során az egyes sejtípusokat számmal jelölik meg, így az  $\alpha$ -, a  $\beta$ - és a  $\gamma$ -sejtek rendre G1, G2 és G3 jelölést kapnak, míg a többit (korábban  $\delta$ -sejtek) G4-G23-ig terjedően sorolják be a sejtek mérete és a dendritek struktúrája alapján (Kolb et al., 1981). A macskák retinájában a sejtek előfordulási arányát is sikerült meghatározni, megállapítható, hogy az összes ganglionsejt közül az  $\alpha$ -ganglionsejtek 3%-ban, a  $\beta$ -sejtek 45-50%-ban fordulnak elő, a fennmaradó részt pedig a 21 különböző típusú nem  $\alpha$ - és nem  $\beta$ -ganglionsejt foglalja el (Fukuda és Stone, 1974; Kolb et al., 1981).

Főemlősök és emberek retináin végzett vizsgálatok alapján ezekben a fajokban morfológiai szempontból ezidáig legalább 18 különféle ganglionsejtet azonosítottak, melyek, háromat leszámítva, megfeleltek a macskákban található sejteknek, így az elnevezésük során ugyanazt a számozást kapták. Néhány macskákra jellemző sejtet azonban még nem sikerült azonosítani a főemlősökben, de a kutatók feltételezik, hogy ugyanúgy jelen vannak, mint a többi. Az emberek és számos majomfaj retinájában található olyan különleges  $\alpha$ - és  $\beta$ -ganglionsejtek, amelyek feltehetőleg az emberekre jellemző, fejlett vizuális érzékenység és színlátás szolgálatában állnak, ezeket P- és M-sejteknek nevezik (Leventhal et al., 1981). A P-sejtek a macskák  $\beta$ -sejtjeinek felelnek meg, és a belőlük származó ingerület az oldalsó térdes test kissejtes részébe kerül, ezzel szemben az  $\alpha$ -ganglionsejteknek megfelelő M-sejtek az információt ugyanazon agyterület nagysejtes régiójába továbbítják (Perry, 1981, 1984; Shapley 1986). A fent említett két sejtípus megegyezik a Polyak által 1941-ben leírt két típussal, a

kisméretű úgynevezett midget sejtekkel és a nagyméretű, esernyőszerű ganglionsejtekkel. Polyak vizsgálatai szerint a kisméretű ganglionsejtek, melyek dendritfája a legkisebb kiterjedésű, ennek átmérője a fovea területén sohasem haladja meg a sejttest szélességét (9-12 $\mu$ m) és a perifériás területeken is csupán 100 $\mu$ m-es nagyságú (Rodieck et al., 1985; Watanabe és Rodieck, 1989; Dacey, 1993) mintegy 80%-os arányban vannak jelen. Ezzel szemben a nagyméretű, sokszoros elágazódást mutató dendritfával rendelkező ganglionsejtek csak jóval kisebb számban találhatók. A főemlősök többi ganglionsejtje nem az oldalsó térdestestbe közvetíti az információt, hanem a középagyba, és ezek közül is számos sejt azonosítható valamely, macskákra jellemző ganglionsejt-típussal.

Egerek esetében is számos hasonló tanulmányt végeztek, a korábbi Golgi-festés helyett immár intracellularis festék-befecskendezéses eljárással, neurobiotin és lucifer yellow jelzőanyagok segítségével (Badea és Nathans, 2004; Coombs et al., 2006; Völgyi et al., 2009). Ennek eredményeként egyesek 11-12 különféle sejttípust tudtak azonosítani, míg mások szerint 17-22 különböző sejt is jelen van a retinában. A sejtek tipizálása itt is hasonlóképp zajlott, mint a macskák és a főemlősök esetén, és itt is számos egyezést találtak a fajok között (Völgyi et al., 2009).

#### **II.5.b. A sejtek közötti összeköttetések:**

Az ideghártya belső hálózatos rétegének felépítésében három sejttípus nyúlványai vesznek részt: a bipolaris sejteké, a ganglionsejteké, valamint a horizontális sejtekhez hasonlóan horizontális irányú kapcsolatokat létesítő amacrinsejtek nyúlványai (Boycott és Dowling, 1965). A sejteken keresztüli információáramlás elsődleges iránya vertikális, mely a fotoreceptor – bipolaris sejt – ganglionsejt tengelyen keresztül valósul meg. E mellett létezik egy másodlagos jeltovábbító rendszer is, ennek iránya nem az egyes sejtrétegeket átívelve, hanem egy-egy rétegben, vízszintes irányban megy végbe. Az utóbbi célja az, hogy az egymással párhuzamosan futó információs utakból származó jeleket összekösse, vagy épp szétkapcsolja, azaz egyfajta elsődleges elemzést végezzen, még azelőtt, hogy az információ az agyba továbbítódna. Így a látókéreg már előzetesen feldolgozott, komplex információt hordozó jelzéseket kap, például a mozgás leképezése során.

Macskák amacrinsejtjeit vizsgálva kiderült, hogy az area centralis területén egyetlen ganglionsejthez átlagosan 14 amacrinsejt kapcsolódik, melyek mintegy 280, pálcikákhoz kötődő bipolaris sejttel állnak összeköttetésben, ezek pedig 4200 pálcikasejtből jutnak információhoz. Ezen kívül egy amacrinsejt változó számú, általában 28-41 szomszédos amacrinsejttel tart fenn kapcsolatot (Kolb et al., 1979; Wassle et al., 1981).

A fenti vizsgálat során Kolb et al., valamint Wassle et al. azt is megállapították, hogy a macskák area centralisában a  $\beta$ -típusú ganglionsejtek közül az úgynevezett ON-központú receptív mezőben lévők (lásd: II.4.c. fejezet) esetében egy sejthez 4-8 csapsejtből érkezik információ 2-3 bipolaris sejt közvetítésével, míg az OFF-központú mezők (lásd: II.4.c. fejezet) ganglionjai egyenként mintegy 100 csapból kapnak jelet 14 bipolaris sejten keresztül.

Freed és munkatársai 1990-ben, majd Kolb és Nelson 1993-ban az  $\alpha$ -ganglionsejtekkel folytattak kísérleteket. Ennek eredményeként megállapították, hogy az OFF-központú mezők ganglionsejtjeibe érkező információ jelentős része, mintegy 80%-a amacrin sejtekből származik, míg a hozzájuk kötődő bipolaris sejtekből csak jóval kevesebb, 20% érkezik, tehát ebben az esetben sokkal nagyobb jelentősége van a sejtek közötti horizontális összeköttetéseknek, mint azt korábban gondolták.

Ezen kívül azt is meghatározták, hogy egy  $\alpha$ -ganglionsejthez átlagosan 142 bipolaris sejt és összesen 1567 amacrin sejt kapcsolódik. Vizsgálataik szerint átlagosan 5-15 csapsejt jut egy bipolaris sejtre, és egyetlen  $\alpha$ -ganglionsejt nagyjából 15.000 csapsejtből szerez információt (vagyis ekkora az úgynevezett receptív mező nagysága).

A pálcikasejtek kapcsán már korábban leírásra került, hogy a tőlük információt szerző ganglionsejtek receptív mezője még kiterjedtebb, mivel mintegy 75.000 pálcikasejt ad 5000 bipolaris sejtnak információt, ezek pedig 250 AII-típusú amacrin sejttel kapcsolódva juttatják el az információt a központi  $\alpha$ -ganglionsejthez (Sterling et al., 1988).

Humán vizsgálatok szerint az emberi szemben, a fovea centralis területén alacsony szintű a konvergencia-arány a ganglionok és fotoreceptorok között, itt sokkal inkább jellemző az egy csap – egy ganglion kapcsolódás, mely így még nagyobb képfelbontást tesz lehetővé.

Mindezek mellett pedig általánosságban elmondható, hogy az area centralistól, illetve a látósávtól távolodva minden sejt esetében kiterjedtebbé válik a dendritikus terület nagysága, vagyis egyre több receptorsejtből érkezik egy adott ganglionsejtbe információ. Emberek esetén a foveában és a perifériás részekben lévő sejtek dendritikus területének nagysága között akár tízszeres különbség is lehet (Boycott és Wassle, 1974; Kolb et al., 1981).

A fenti számadatokból világosan látható, hogy a ganglionsejtek a többirányú összeköttetések révén bonyolult információs hálózatot hoznak létre már a retinán belül. Azáltal, hogy meghatározták az egyes sejtek kapcsolatainak számát, számos következtetést lehet levonni az idegsejtek működésével kapcsolatban.

### **II.5.c. A ganglionsejtek működése:**

A ganglionsejtek alapvető feladata, hogy a fotoreceptorokból származó és az interneuronok által feldolgozott információt a látókéreg felé továbbítsák. Azonban ezek a sej-

tek nem csupán jeltovábbító funkciót látnak el, hanem egymással szoros összefüggésben olyan mintázatokat alakítanak ki, melyekben a sejtek összehangolt működésével bonyolult vizuális jeleket is képesek felfogni, értelmezni, majd továbbítani. Ilyen összetett sajátosságok például a tárgyak színe, mérete, alakja, kontrasztossága, vagy épp mozgásuk iránya, sebessége. A ganglionsejtekből származó, részben feldolgozott információ az agy látóközpontjába jut, mely elsődlegesen az oldalsó térdes testben és az úgynevezett colliculus superiorban található. Ezen belül az egyes sejtekből a nekik megfelelő, szelektív tulajdonságról közvetített jelzések az erre a tulajdonságra specifikus agyi területre érkeznek. Így például a mozgás detektálására specializálódott sejtek a látóközpont hasonló tulajdonságra szelektív részére továbbítják az információt.

A ganglionsejtek működésére irányuló vizsgálatokat elsőként Granit és Hartline végeztek az 1930-as években. Kutatásaik irányadója Cajal korábbi munkái, valamint Adrian perifériás idegsejteken végzett vizsgálatainak voltak. Adrian volt ugyanis az első, aki leírta, hogy az idegrostokon haladó információ nem más, mint az axonon létrejövő akciós potenciál, mely az úgynevezett „minden vagy semmi” elvnek megfelelően jön létre.

Hartline tulajdonképpen egyetlen látóidegroston a fény hatására bekövetkező membránpotenciál-változásokat vizsgálta. Ennek során már 1938-ban három különféle válaszmintát sikerült leírnia. Az egyik az úgynevezett ON-típusú rostok által közvetített válasz volt, mely a fény beérkezésének pillanatában hirtelen bekövetkező, nagy amplitúdójú depolarizáció formájában volt detektálható, melyet ezután, nagyszámú és hosszan tartó, kevésbé intenzív depolarizációs sorozat követett, amíg a megvilágítás tartott. A második, ON-OFF-típusú rostok esetén az ingerület mind a fény beérkezésekor, mind a megvilágítás megszűntekor rövid idejű, nagy amplitúdójú depolarizáció formájában továbbítódott, de csak igen rövid ideig, és tartós sötét- vagy fényhatás esetében már csupán a nyugalmi potenciál volt mérhető. Az OFF-típusú idegrostok ezzel szemben csak a fényhatás megszűnésével depolarizálódtak, ekkor az ON-típusúakhoz hasonlóan nagy amplitúdóval, de annál elnyújtottabb ideig. Hartline nem csak emlősökön, hanem gerincteleneken is végzett hasonló kísérleteket, és a fentiekkel ellentétben a *Limulus polyphemus* látóidegrostjait vizsgálva úgy találta, hogy ebben a fajban minden rostos ON-típusú válaszreakció következik be. Ebből arra következtetett, hogy a törzsféjlődés során egyre bonyolultabb sajátosságok érzékelésére tettek szert az egyes fajok. Jelenlegi vizsgálatok alapján legalább egy tucat különféle sajátosság leképezésére szolgáló mintázat és kapcsolati rendszer van jelen a gerincesek retinájában (Cleland és Levick 1974; DeVries és Baylor, 1997), melyek közül a fent említett ON és OFF-típusú jeltovábbítás a legkorábban ismert. Az ON- és OFF-típusú ganglionsejtek között nem csupán működésbeli, de számos



morfológiai különbség is fennáll. Az OFF-sejtek dendritjeinek elágazódása például a belső hálózatos réteg azon zónájában található, mely közel helyeződik az amacrin sejtekhez, ezen kívül ezek a sejtek a hasonló működési elvet követő OFF-típusú bipolaris sejtekkel állnak összeköttetésben, ezzel szemben az ON-típusú ganglionsejtek dendritjei a belső hálózatos réteg ganglionsejttestekhez közeli zónájában kapcsolódnak az ON-típusú bipolaris sejtekkel. Az ON-OFF-ganglionsejtek mindkét fent említett zónába bocsátanak nyúlványokat, így kettős megjelenéssel rendelkeznek (Nelson et al. 1978; Peichl és Wässle, 1981; Amthor et al. 1989).

Az egyes sejtek önmagukban nem képesek olyan bonyolult tulajdonságokról információt adni, mint a tárgyak mérete, vagy mozgása, éppen ezért az összetett működések megértéséhez a sejtek között fennálló kapcsolati rendszert kell jobban megismerni. Ennek kapcsán Hartline vezette be elsőként az úgynevezett „receptív mező” fogalmát. Ezen azt értjük, hogy a ganglionsejtek a retinában nem véletlenszerűen, hanem sajátos rendben, mozaikosan helyezkednek el. Hartline által végett „pont-térképezési” eljárással derült fény a fent említett mozaikosság okára. A kísérlet során kis átmérőjű ponton, gyenge erősségű fényt bocsátott a retinára, majd figyelte a sejtek reakcióját. A gyenge megvilágításra akkor válaszoltak ingerületleadással a ganglionsejtek, mikor a fénypont a receptív mező középső régiójára irányult, amint továbbvitték a mező széli részei felé, a válasz elmaradt, és csupán a fényerősség növelésével sikerült ingerületleadásra készíteni a periféria sejtjeit.

Hasonló megállapításra jutott Kuffler 1953-ban, mikor hasonló pont-térképezéssel a sejtekben létrejött akciós potenciálok mértékét vizsgálta. Megállapításai szerint a sejtek azonos fényerősségre adott válaszkészsége a receptív mező centrumától távolodva egyre csökken, emellett különbözik a sejtek depolarizációjának mértéke is. A fentieket összegezve Hartline fontos következtetéseket vont le, ezek szerint a receptív mező térben állandó, átmérője általában nem haladja meg az 1 mm-t, a mező sejtjei között érzékenységbeli különbségek vannak, valamint a mező kiterjedtsége sokkal nagyobb, mint az a fotoreceptorok eloszlása alapján várható lenne. Ez utóbbinak oka valószínűleg a sejtek között lévő jeltovábbító és integráló kapcsolatrendszerben keresendő.

Kuffler, vizsgálatait tovább folytatva, újabb meglepő tulajdonságot fedezett fel a receptív mezőkkel kapcsolatban. Megállapította, hogy azokban a mezőkben, melyek közepén fény hatására depolarizálódtak a sejtek, a széli részeken pedig nem következett be válasz, a megvilágítás megszüntetésével, a periféria sejtjei depolarizálódtak. A mező centruma és perifériája közti távolság felénél pedig mindkét esetben detektált jelleadást. Hasonló eredményre jutott azokkal a mezőkkel, melyek központi része OFF-működést mutatott, vagyis sejtjei a fény

megszűnésekor depolarizálódtak. Ezt a jelenséget „ON-központ – OFF-perifériá”-nak, illetve „OFF-központ – ON-perifériá”-nak, vagy röviden antagonista perifériának nevezte el.

Wiesel által 1981-ben közölt kísérleti eredmények alátámasztották Kuffler eredményeit, miszerint a receptív mező központjának depolarizációjával egyidőben a periféria sejtjei hyperpolarizált állapotba kerülnek, így nem jön létre bennük akciós potenciál. Ezen kívül bizonyította, hogy nagyméretű fénypont esetén az ON-központú mezőben létrejön ugyan akciós potenciál, azonban kisebb mértékű az ingerületleadás (mivel a periférikus sejtek gátolják azt), mint a kisebb fénypont esetén. Így megállapítható, hogy minden mező rendelkezik egy bizonyos „méret-optimummal”, mely a méret-szelektivitás egyik alapja.

A retina által közvetített összetett információk egyike az úgynevezett méret-szelektivitás, azaz, hogy különbséget tud tenni a leképezett tárgyak nagyságában. Ezt a sejtek többféleképpen is el tudják érni. Legegyszerűbben a már említett, Wiesel által leírt jelenség kapcsán állapítható meg az egyes receptív mezők érzékenysége. A másik mód önállóan a sejtekhez köthető. A vizsgálatok ugyanis azt mutatják, hogy minden ganglionsejtre jellemző egy bizonyos optimális mérettartomány, amelyen belül maximális ingerületleadás figyelhető meg. Nelson és munkatársainak 1993-ban végzett vizsgálatai szerint az a feltételezés, miszerint a sejtek dendritfájának kiterjedtsége egyenes arányban áll a rájuk jellemző mérettartománnyal, vagyis minél több receptorsejttel állnak kapcsolatban, annál nagyobb tárgyról képesek információt adni, önmagában nem teljesen igaz, mivel a sejtek méret-optimumát a perifériáról érkező jelek nagymértékben befolyásolják.

A ganglionsejtek működésével kapcsolatos kutatások további tulajdonságokat határoztak meg. Az egyik ilyen a sejtekre jellemző térbeli linearitás, vagyis az a jelenség, hogy az egyes sejtek ugyanolyan mértékben adnak le ingerületet a receptív mező minden régiójából, a tér bármely részén elhelyezkedő objektum leképezése során. Ezt Shapley és Victor 1979-ben végzett vizsgálatai részben be is bizonyították. *In vitro* kísérleteik során a sejtek megvilágításához használt fényforrást jobbra-balra mozgatva, térbeli szinusz-görbének megfelelő, egyre erősödő intenzitású fényhatásnak tették ki a sejteket. A kapott eredmények alapján kétféle ganglionsejtet tudtak megkülönböztetni: az úgynevezett X-sejtek esetén, mikor a váltakozó fényhatás sötét-világos átmenete a receptív mező központjára esett, a sejtek nem adtak jelet, míg egyenletes fényhatás esetén képződött ingerület, az Y-sejtek viszont a váltakozó fényhatás átmeneténél és az állandó fénypont esetében is, a stimulus kezdetén és megszűntekor elhúzódozó jellegű jelleadást mutattak. Ebből arra következtettek, hogy az X-sejtekre jellemző a térbeli linearitás, vagyis a fényre és a sötétre reagáló sejtek azonos mértékben adtak le ingerületet, melyek azonos időben kioltották egymást, míg az Y-sejtek esetén az egyes

akciós potenciálok nagysága eltérő volt, így minden esetben, még ha lassabban is, de tovaterjedhetett az ingerület. Ezzel összefüggésben morfológiai különbségeket is meghatároztak a két sejttípus között. Eszerint az X-sejtek megfelelnek a macskák  $\beta$ -sejtjeinek, melyek jóval nagyobb számban fordulnak elő a retinában, s receptív mezőjük viszonylag kis átmérőjű, a sejtek hiperérzékenysége (lásd később) azonban az összes közül a legnagyobb. Ezzel szemben az Y-sejtek a macskák  $\alpha$ -sejtjeivel azonosíthatók, elszórtan helyeződnek, viszonylag széles receptív mezőkben, axonjaik átmérője jóval nagyobb, és rajtuk az ingerület is gyorsabban terjed, mint az X-sejteken (Cleland és Levick, 1974).

Az összetett tulajdonságok közül talán az egyik legérdekesebb az irányszelektivitás, vagyis az a jelenség, hogy az egyes sejtek a méretoptimumhoz hasonlóan rendelkeznek egy bizonyos preferált mozgásiránnyal. Ennek segítségével valósulhat meg a mozgó tárgyak irányának és sebességének a meghatározása. E tulajdonság felderítésére a pont-térképezéshez hasonló eljárást alkalmaztak, melyben két egymás melletti fénypont egymás utáni felvillantásával szimulálták a mozgó objektumot, először jobbról balra, majd fordítva, közben pedig a sejtek ingerület-leadását figyelték. A preferált irányból érkező mozgás során képződött akciós potenciál, míg az ellenkező irányból jövő tárgyról a sejtek nem adtak le jelzést, a szemből érkező esetén pedig csupán kismértékű ingerület-leadást lehetett megfigyelni (de ezeket valószínűleg nem az irányszelektív sejtek generálták). Ebből megállapítható, hogy ezek a sejtek csak a számukra megfelelő irányból érkező tárgyról képesek információt adni, míg a többi irányból, vagy szemből érkezőkről nem.

Külön érdekesség, hogy a jelleadás független a megfelelő irányból érkező tárgy természetétől, lehet sötét, vagy világos, kicsi, vagy nagy, az ingerület-leadás mértéke azonos (Barlow és Hill, 1963). Ezen kívül a vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy nem csak az irány meghatározó, hanem a mozgás sebessége is, és az egyes sejtek a gyors, míg mások a lassú mozgást részesítik előnyben. Az irányszelektív sejtek legtöbbször az ON-OFF-központú mezők centrumában helyeződik, míg az ON- és OFF-központúakéban jóval kevesebb található. Az, hogy pontosan hogyan alakul ki az irányszelektivitás, még nyitott kérdés. Egyesek a ganglionsejtek dendritjeinek helyeződésében és elágazódásában látják a megoldást, mások szerint a ganglionsejtekhez kapcsolódó interneuronok rendelkeznek szelektív tulajdonságokkal, melyeket a ganglionsejtek felé közvetítenek (Michael, 1968; Mariani, 1982). Egy érdekes elmélet szerint a fotoreceptorsejtek játszanak kulcsszerepet a jelenségben. E szerint az egymás közelében lévő, egy ganglionsejthez kapcsolódó receptorsejtek egy része gátló, míg a másik serkentő funkcióval rendelkezik. Az általuk közvetített „szelektív gátlási” mechanizmus során a preferált irányból érkező mozgás esetén a serkentő sejtcsoportot éri először fényhatás, a

gátlókat csak később, így a serkentő sejtekből érkező ingerület (mivel ez gyorsabban is halad) hamarabb megérkezik a ganglionsejthez, mint a gátló sejteké. Az ellenkező irányból jövő fényhatás esetében viszont, a receptorok sajátos elhelyezkedése révén, elsőként a gátló sejtcsoport tud ingerületet leadni, s habár az ingerület terjedésének sebessége (valószínűleg a többszöri átkapcsolódásból eredően) lassabb, mire a serkentő sejtek akciós potenciálja elérné a ganglionsejt dendritjét, a gátló akciós potenciál kioltja azt.

## **II.6. A ganglionsejtek eloszlása a retinában:**

Azokban a fajokban, melyek nyílt, főként alacsony növényzettel borított területeken élnek, a ganglionsejtek sajátos sávszerű elrendezést mutatnak, mely terület a retina ventralis részén helyeződik, mind a nasalis, mind pedig a temporalis részt lefedve (Hughes, 1977). Ez az úgynevezett látósáv főként a nyílt terepen élő zsákmányállatokra jellemző, mint például a nyulak, lovak, különféle kérődzőfajok, melyek szemei kifejezetten oldalt helyeződnek, így az általuk belátható tér meglehetősen nagy (Provis, 1979; Oyster et al., 1981). A sűrű növényzettel borított területek lakói, valamint a ragadozók nagy része, melyek szemei sokkal inkább előre tekintenek, a fenti látósávval nem rendelkeznek, ehelyett retinájukban a ganglionsejtek egy többé-kevésbé kör alakú mezőben, az úgynevezett látófoltnak helyezkednek el nagy számban. Ez alól csak néhány faj, például a farkasok és a gepárdok jelentenek kivételt, melyekben ugyancsak megtalálható a növényevőkhöz hasonló látósáv (Hughes, 1977; Peichl, 1992). Ez a sávszerű látómező teszi lehetővé az állatok számára, hogy a fejük elmozdítása nélkül is, egy szemmel képesek legyenek a körülöttük lévő tér nagy részét figyelemmel kísérni. A látósávval rendelkező fajoknál megállapították, hogy a sávon belül a retina alsó temporalis részén egy kisebb megnyúlt ovális területen a ganglionsejtek még sűrűbben helyezkednek el, ezt a részt, *area centralis*-nak nevezték el (Hughes, 1977), s 1984-ben Rapaport és Stone kiderítették, hogy ez a rész nem csak a horizont megfigyelésére alkalmas, de az itt lévő sejtek biztosítani tudják a megfelelő binokuláris látást és a mélység felismerését is.

Számos páros- és páratlanujjú patásban, így a juhokban is létezik, a fent említett régiókon kívül még egy ganglionsejtek által sűrűn elfoglalt terület, melyet *anakatabatikus mező*-nek neveznek, s elsőként Hughes írta le 1977-ben. Ennek a régióknak Stone és Halász 1989-es, valamint Schiviz és munkatársainak 2008-ban végzett vizsgálatainak alapján a feladata az állatok binokuláris látóterének kiterjesztése.

Hebel 1976-ban közölt cikkében leírta, hogy juhokban a látósáv területén a ganglionsejtek sűrűsége maximum 5400-5500 ganglionsejt/mm<sup>2</sup>. Ezzel szemben a japán Shinozaki és munkatársai 2010-ben közzétett publikációjukban azt írják, hogy a saját kísérle-

teikben, ugyan egyedenként és életkor szerint is változó mértékben, de Hebel eredményeinél jóval magasabb arányban találtak ganglionsejteket a juhok retinájában. Saját vizsgálataik alapján úgy találták, hogy a ganglionsejtek a látósáv temporalis részén helyezkednek el a leg-sűrűbben, számuk itt átlagosan  $18000/\text{mm}^2$  kifejlett juhokban, míg bárányok esetében körül-belül  $23000/\text{mm}^2$ . Az életkorbeli eltéréseket azzal magyarázzák, hogy megszületéskor már az összes ganglionsejt megtalálható a retinában, és ahogy az állat növekszik, az ideghártya is egyre nagyobb lesz, így a sejtek mind távolabb kerülnek egymástól, ennél fogva sűrűségük csökken, abszolút mennyiségük azonban változatlan marad.

A látósáv nasalis részén a sejtsűrűséget  $4000$  sejt/ $\text{mm}^2$ -ben, a dorsotemporalis, más néven anakatabatikus régióban több, mint  $2000$  sejt/ $\text{mm}^2$ -ben határozták meg. Ezzel szemben a felső nasalis területeken a sejtsűrűség  $1500/\text{mm}^2$  alatt maradt, a retina perifériáján pedig nem volt több, mint  $730$  sejt négyzetmilliméterenként.

### **III. A vizsgálat célja:**

Munkám célja az volt, hogy beállítsam a retina teljes területén elvégzendő Nissl-festés optimális körülményeit juh retinán, a ganglionsejtek morfológiájának és eloszlásának vizsgálata céljából.

Munkám során az általam végzett vizsgálatok eredményeit összehasonlítottam más, hasonló céllal és módszerrel végzett kutatásokéval is.

Az elvégzett vizsgálat távoli célja annak megállapítása, hogy fennáll-e szoros korreláció a csapsejtek és ganglionsejtek eloszlása között az éleslátás helyén.

## **IV. Anyag és módszer:**

### **IV.1. A minták előkészítése:**

A vizsgálat tárgyát képező retinákat a D-Meat Kft. dabas-gyóni vágóhídjáról származó juhszemekből nyertük ki, a kísérletbe bevont állatok fajtája, kora illetve neme ismeretlen volt. Az állatok levágását követően a szemek kivételére azonnal sor került. Ezt követően, a szaruhártya átvágása után, a szemlencsét és az üvegtestet maradéktalanul eltávolítottam, mivel előzetes vizsgálataim alapján bebizonyosodott, hogy jelenlétük jelentősen befolyásolja a későbbi feldolgozást. A kipreparált szemek a következő fixáló oldatba kerültek: 4%-os paraformaldehidet tartalmazó 0.1 M-os pH 7.4 foszfát puffer.

A retina teljes terjedelmében végzett (wholemout) festés kivitelezése érdekében a szemeket 24 óra múltán egyenként négy egyenlő részre vágtam, így minden szem esetében egy alsó és felső temporalis, valamint egy alsó és felső nasalis negyedek kaptam. Ezt követően 0,1 M, 7,4 pH-jú, 38°C-ra melegített  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -ot és  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -ot tartalmazó pufferoldatba (PB) téve őket, vékony ecset segítségével a retinát leválasztottam az egyes darabokról. A leválasztást követően a retinákat szükség szerint, egyenként további két részre osztottam, hogy méretben megfelelőek legyenek ahhoz, hogy később fel lehessen vinni őket a tárgylemezre, a minták ezután külön-külön, jelölt üvegekbe, szintén 38°C-os PB puffer oldatba kerültek.

A preparátumokat legalább 30 percen keresztül, többszöri oldatcserével átmostam. Ezután a retinadarabokat egyesével, a ganglionsejt-réteggel felfelé, zselatinózott tárgylemezre húztam fel, majd teljes száradásig szabad levegőn, szobahőmérsékleten tároltam.

Ezen kívül egy juhszeméből a felvágást követően nem távolítottam el a retinát, hanem a négy negyedből a fixálószer desztillált vizes öblítéssel eltávolítottam, majd felszálló alkohollal (50-, 70- 80- és 96%-os, végül abszolút alkohollal) víztelenítettem. Klasszikus paraffinos beágyazást követően, az elkészült blokkokból szánkamikrotom segítségével keresztmetszeti preparátumokat készítettem. Ezeket tárgylemezre húztam, majd hó segítségével fixáltam. Ezután a preparátumok deparaffinálása következett, melynek során a metszetek körülbelül 12 órán keresztül xilol oldatban (minimum 98,5%-os) áztak. Ezt követően a preparátumok 5 percre friss xilol oldatba kerültek, majd kétszer 5 percre 96%-os alkohol oldatba tettem őket, a két bemerítés között az alkoholt friss oldatra cseréltem. Ezután desztillált vízzel öblítettem le a preparátumokat, kivonva belőlük az alkoholt, így előkészítve azokat a Nissl-festésre.

### **IV.2. Nissl-festés:**

Ez a festési eljárás specifikus az egyes idegsejtekre nézve, így kiválóan alkalmas a retina ganglionsejtjeinek kimutatására is. A festék erősen kötődik a DNS-hez és az RNS-hez, így

láthatóvá téve a sejtmagot, valamint a sűrűn egymás mellett elhelyezkedő szemcsés endoplasmaticus reticulum sacculusokon elhelyezkedő ribosomákat is. Ez utóbbiakat az idegsejtekben Nissl-testeknek (más néven tigroid rögöknek) nevezzük, és jelenlétük könnyen felismerhetővé teszi a neuronokat. Fénymikroszkópos vizsgálat során a Nissl-festésen átesett szövetben a sejtek magja és az endoplasmaticus reticulumja sötétkékes-lilás színben tűnnek elő, míg a cytoplasma és egyéb komponensei csupán halványkék színt kapnak.

#### **IV.2.a. A festék összetevői:**

- 0,1 g kristályos krezilbolya
- 0,2 ml vízmentes ecetsavoldat (99-100%-os)
- desztillált vízből annyi, hogy az oldat összesen 100 ml legyen

#### **IV.2.b. Módszer:**

A tárgylemezre száradt szövetekre, valamint a deparaffinált metszetekre Pasteur-pipetta segítségével vittem fel a festéket, majd az aspecifikusan kötődött festéket 4 perc után 96 térfogatszázalékos alkohollal vontam ki. Addig folytattam az alkoholos öblítést, míg víztiszta nem lett a mosófolyadék. Ezt követően a mintákat ismét szobahőmérsékleten hagytam megszáradni, majd a szövettani metszetek lefedéséhez használt műgyantával (DEPEX) és fedőlemezrel fedtem. A műgyanta megkötése után a preparátumok fénymikroszkóppal vizsgálhatók voltak.

### **IV.3. A sejtek vizsgálata:**

#### **IV.3.a. Eszközök:**

A ganglionsejtek vizsgálatát Olympus BX51 típusú fénymikroszkóp segítségével, 10-szeres, 20-szoros és 40-szeres objektívvel végeztem, a sejteloszlás meghatározásához szükséges felvételeket a mikroszkópra illesztett Olympus C4040 Zoom Camedia típusú fényképezőgéppel készítettem. Az egyes látóterekről készült felvételeken csupán a színnel, kontraszttal és fényerősséggel kapcsolatos (az elbíráláshoz szükséges mértékű) módosításokat végeztem a Nero PhotoSnap képmegjelenítő és -szerkesztő program segítségével.

#### **IV.3.b. Morfológia és sejteloszlás:**

A megfelelően festődött preparátumok felhasználásával összesen 37 felvétel készült a retina különböző régióiról, főként a horizontális látósáv, illetve a felső temporalis látófolt területéről, ezen kívül a sejtekben szegényebb felső nasalis részről, és az úgynevezett átmeneti régiókról is. Minden fent említett részről 10 x 10-szeres, 20 x 10-szeres és 40 x 10-szeres nagyításban is készült felvétel.



Az egyik juhszemből készült paraffinos keresztmetszeti preparátumokat a fenti módszerrel megegyező módon Nissl-festéssel megfestettem, és erről több fényképfelvételt készítettem.

A retina teljes terjedelmében végzett (whole mount) festés felvételeinek mindegyikét a sejtsűrűség és –eloszlás meghatározásához használtam fel. A nagyobb (200- és 400-szoros) nagyításról és a retina keresztmetszetéről készült képeken a sejtek egyszerű morfológiai vizsgálatát is el lehetett végezni.

A sejtek morfológiáját tekintve az elkészített képeken, a sejttestek alakja és egymáshoz viszonyított mérete alapján jól el lehet különíteni a nagy mennyiségben előforduló kis ganglionsejteket a hozzájuk képest kevesebb számban jelen lévő, nagyméretű ganglionsejtektől. Ennél pontosabb meghatározást azonban a fenti módszer nem tesz lehetővé, mivel a dendritek, ezek hossza és kiterjedése sem a sejt számláláshoz felhasznált, sem pedig a retina keresztmetszetéről készült felvételeken nem látszottak megfelelően.

A sejteloszlás és sejtsűrűség meghatározásához az egyes látóterekről készült felvételeken hat-hat, egymástól független, minden esetben azonos méretű, négyzet alakú mintaterületet vettem fel. A sejt számlálást a mintaterületeken belül szabad szemmel, manuálisan végeztem, majd a hat terület eredményeit átlagoltam, és ezt az értéket rendeltem az adott felvételhez. A kapott sejtsűrűséget  $1 \text{ mm}^2$ -re számoltam át, oly módon, hogy egy előre megadott, úgynevezett aránymértéket használtam. Ez nem más, mint egy olyan skála, mely megmutatja, hogy a felvételen a látótérben, adott objektívnel, maximális nagyításnál egy milliméter mekkora távolságnak felel meg, így ennek segítségével a mintaterületek értékeit könnyedén át lehet számolni  $1 \text{ mm}^2$ -re. Az aránymérték objektív mikrométer segítségével készült oly módon, hogy a skála mikroszkópba helyezése után a látótérről 100x-os, 200x-os és 400x-os nagyítású, a preparátumokat ábrázoló felvételekkel megegyező módon, fényképfelvételek készültek.

Az aránymértékes és a preparátumokról készített felvételeket egybevetve meghatároztam, hogy az adott felvételen  $1 \text{ mm}$  mekkora távolságot jelent. Ezt követően kiszámítottam, hogy az általam felvett mintaterületek nagysága 100x-os nagyításnál  $0,130 \text{ mm}^2$ , 200x-os nagyításnál  $0,0324 \text{ mm}^2$ , a 400x-os nagyításnál pedig  $0,0081 \text{ mm}^2$  volt. Ezeket felhasználva meg tudtam határozni a sejtek számát  $1 \text{ mm}^2$ -re vonatkoztatva.

## V. Eredmények és következtetések:

### V.1. A látósáv és a dorsotemporalis látómező:

A saját vizsgálatok során 13 juhszem került feldolgozásra, ebből hat bal és hét jobb oldali volt. Ezekből összesen 70 preparátumot<sup>1</sup> készítettem, 31-et a bal, és 39-et a jobb oldali szemekből (lásd: 1. táblázat).

A minták előkészítése és festése során nem minden esetben sikerült értékelhető preparátumot készíteni, mivel a kísérlet kezdeti szakaszában az alkalmazott technikát optimalizálni kellett. Ennek oka egyrészt az volt, hogy a fixálást megelőzően az üvegtestet nem sikerült maradéktalanul eltávolítani, másrészt szobahőmérsékletű pufferoldat nem volt megfelelő a retina leválasztására.

Kezdetben nem sikerült teljes mértékben elválasztani az üvegtestet a retinától, így azok, a fixáló oldat hatására, szorosan egymáshoz tapadtak, ez pedig meggátolta a festék penetrációját. Miután felmerült a fenti probléma, az ideghártya szabadabbá tételéhez Pasteur-pipettát használtam oly módon, hogy a retinára tapadt sűrűn folyó üvegtestet a pipettával óvatosan leszívogattam a szemfenékről. Így, a fixálást megelőzően, az üvegtestet teljes egészében eltávolítottam anélkül, hogy a retina károsodott volna.

A másik probléma a fénymikroszkópos vizsgálat során jelentkezett azoknál a szemeknél, melyeket a vágóhídon a feldolgozás előtt néhány óráig + 4°C-on tároltak. Ezek esetében a megfestett preparátumok értékelhetősége nem volt megfelelő, mivel a retinát egy szabad szemmel nem látható vékony réteg fedte be, mely a Nissl-festés hatására sötétszürke, hálószerű képletként borult a retina belső felszínére. Ez a réteg valószínűleg az üvegtest körüli vékony lipidburok maradványa lehetett, mely az állatok levágását követően azonnal feldolgozottaknál nem, de a hűtve tárolt szemek esetén a retinán maradt. Ezt az akadályt a feldolgozás során alkalmazott pufferoldat 38°C-os hőmérsékletre való melegítésével lehetett elhárítani, mivel a meleg oldat hatására ez a réteg elvált a retinától, így tovább már nem gátolta az elbírálást.

A fent említett technikai problémák kiküszöbölése után nyolc juhszemből készültek olyan preparátumok, összesen 53, melyek fénymikroszkóposan vizsgálhatók voltak, ezek közül 21 bal, míg 32 jobb szemből származott (az ellentétes oldali szemek nem feltétlenül tartoztak azonos egyedekhez). A látósáv lokalizációjához összesen hat szemet, két bal oldalt és négy jobb oldalt használtam fel, melyekből összesen 38 preparátum készült, ezek közül 13 a bal, 25 pedig a jobb oldali szemekből (lásd: 1. táblázat)

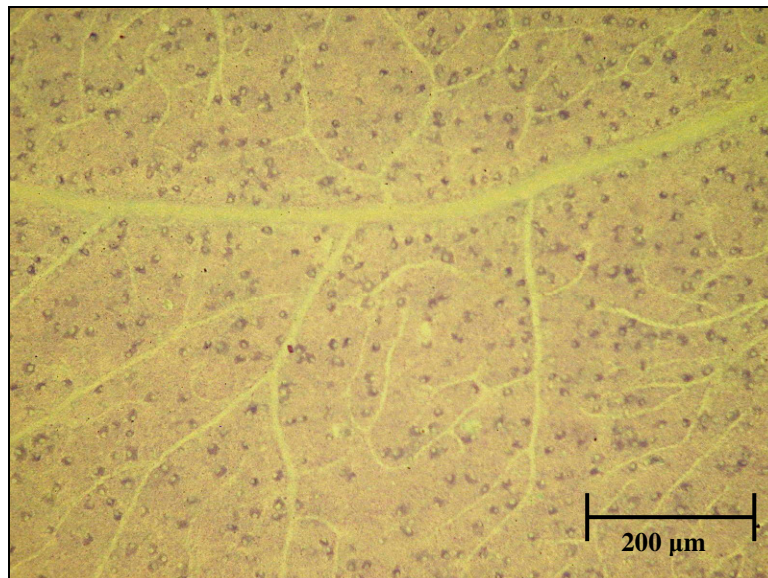
---

<sup>1</sup> Jelen esetben a „preparátum” az egy tárgylemezre felvitt és megfestett retinarészletet jelenti, mely mérettől függően a teljes retina körülbelüli egynegyed vagy egynyolcad része.

	BAL OLDALI	JOBB OLDALI	ÖSSZESEN
FELHASZNÁLT SZEMEK	6 db	7 db	<b>13 db</b>
VIZSGÁLT SZEMEK	3 db	5 db	<b>8 db</b>
ÉRTÉKELT SZEMEK	2 db	4 db	<b>6 db</b>
PREPARÁTUMOK	31 db	39 db	<b>70 db</b>
VIZSGÁLT PREPARÁTUMOK	21 db	32 db	<b>53 db</b>
ÉRTÉKELT PREPARÁTUMOK	13 db	25 db	<b>38 db</b>

**1. táblázat: A vizsgálatban felhasznált szemek és a belőlük készített preparátumok**

A festett preparátumok értékelése során a retinán kétféle területet lehetett fénymikroszkóppal, vagy akár szabad szemmel is elkülöníteni: azok a részek, ahol a ganglionsejtek viszonylag ritkán (körülbelül 150 sejt/mm<sup>2</sup>) láthatók, vagyis a látósávon kívüli területek, valamint a tulajdonképpeni látósáv, illetőleg látófolt régiója, ahol a sejtek denzitása jóval nagyobb (átlagosan 800-900 sejt/mm<sup>2</sup>).



**2. ábra: Ganglionsejtek a látósáv területén 100x-os nagyításban (saját preparátumról készült felvétel, Nissl-festés)**

A juhok látósávjának és feltételezett látófoltjának meghatározása során a sejtsűrűséget alapul véve a preparátumokon az említett területek méreteit milliméter pontossággal, vonalzó segítségével vettem fel. Ez egy leegyszerűsített, durva megközelítés, az eredményeket pedig a vizsgálat során számos tényező befolyásolhatta (például a viszonylag kevés mintaszám, vala-

mint a preparátumok fixálás és festés közbeni kismértékű zsugorodása, illetve az is, hogy némely esetben a sejtsűrűség alapján nem lehetett egyértelműen elkülöníteni az egyes régiókat). Mindemellett a fenti módszer viszonylag jó megközelítéssel egy általános képet adhat a vizsgált területek nagyságáról és helyzetéről.

A mérési eredmények alapján elmondható, hogy a juhok látósávja a retina alsó régiójában helyezkedik el, mind a nasalis, mind pedig a temporalis részen, megnyúlt ovális mezőként, melynek nagysága, a legszélesebb részen mérve átlagosan 14,7 mm, de a vizsgált szemek közül akadt ennél keskenyebb, 8 mm-es és jóval szélesebb, akár 21 mm-es sáv is. A hosszúságukat tekintve a látósávok átlagosan 33,5 mm-esek voltak, ezek közül a legrövidebb is elérte a 31 mm-t, és a leghosszabb sem haladta meg a 37 mm-es hosszúságot. Minden esetben megmértem az egyes mezők látóidegfő középpontjától való távolságát is, mely átlagosan 5,7 mm volt, a legmesszebb helyeződő mező 8, míg a legközelebb lévő 4 mm-es távolságra volt a papillától. (Részletesen lásd a 2. táblázatban.)

PREPARÁLT SZEMEK	SZÉLESSÉG	HOSSZÚSÁG	LÁTÓIDEGFŐTŐL VALÓ TÁVOLSÁG
1.	16 mm	35 mm	8 mm
2.	8 mm	34 mm	4 mm
3.	18 mm	37 mm	4 mm
4.	13 mm	32 mm	8 mm
5.	21 mm*	32 mm	4 mm
6.	12 mm	31 mm	6 mm
<b>LEGKISEBB</b>	<b>8 mm</b>	<b>31 mm</b>	<b>4 mm</b>
<b>LEGNAGYOBB</b>	<b>21 mm</b>	<b>37 mm</b>	<b>8 mm</b>
<b>ÁTLAGOSAN</b>	<b>14,7 mm</b>	<b>33,5 mm</b>	<b>5,7 mm</b>

**2. táblázat: A ventralis látósáv méretei és a látóidegfőtől való távolsága**

A fenti látósávon kívül minden esetben sikerült egy, a legtöbbször jól elkülönülő régiót is meghatározni, mely a retina külső felső részén helyezkedik el, és benne a ganglionsejtek sűrűsége megegyezik a ventralis látósávban mért értékekkel. Ennek a területnek a szélessége minimum 3, maximum 18, átlagosan pedig 10 mm volt. A hosszúsága leginkább 12-13 mm-

ben határozható meg, de akadt ennél kisebb, 6 mm-es és nagyobb, 21,1 mm-es régió is. A felső temporalis látómező alsó határa a látóidegfő közepétől körülbelül 16,5 mm-re húzódik, a legtávolabbi régió 28, míg a legközelebbi mintegy 7 mm-re volt a nervus opticus kilépési helyétől. (Részletes adatokat lásd a 3. táblázatban.)

<b>PREPARÁLT SZEMEK</b>	<b>SZÉLESSÉG</b>	<b>HOSSZÚSÁG</b>	<b>LÁTÓIDEGFŐTŐL VALÓ TÁVOLSÁG</b>
1.	6 mm	7 mm	12 mm
2.	3 mm	6 mm	28 mm
3.	11 mm	22 mm*	7 mm
4.	6 mm	13 mm	26 mm
5.	18 mm*	13 mm	11 mm
6.	16 mm	12 mm	15 mm
<b>LEGKISEBB</b>	<b>3 mm</b>	<b>6 mm</b>	<b>7 mm</b>
<b>LEGNAGYOBB</b>	<b>18 mm*</b>	<b>22 mm*</b>	<b>28 mm</b>
<i>ÁTLAGOSAN</i>	<i>10 mm</i>	<i>12,2 mm</i>	<i>16,5 mm</i>

**3. táblázat: A felső temporalis látómező méretei és a látóidegfőtől való távolsága**

A második és harmadik táblázatban felsorolt mérési adatok az egyes vizsgált juhszemekre vonatkoznak, a \*-gal jelölt értékek olyan preparátumokból származnak, melyek esetében az alsó látósáv és a felső látófolt szabad szemmel nem különült el élesen egymástól, így valószínűleg emiatt alakultak ki ezek, az átlagtól jelentősen eltérő értékek.

Az általam feldolgozott, a látósáv és a dorsotemporalis látófolt elhelyezkedésével kapcsolatos irodalmi források csupán a két régió retinán belüli helyeződését tartalmazzák, pontos méreteket, vagy akár a látóidegfőtől való távolságokat nem közölnek. Shinozaki és munkatársai publikációjában is csupán az szerepel, hogy a látósáv a retina ventralis részén húzódik, magába foglalva a papilla nervi optici területét is, azaz a köztük lévő távolság gyakorlatilag nulla. Ezen kívül pedig a dorsotemporalis látómező területét még a sejtsűrűség alapján sem különítették el a látósávtól, hanem a két mezőt gyakorlatilag egybefüggő területként ábrázolták, így nem volt értelme meghatározni, hogy a látósáv ténylegesen milyen méretekkel rendelkezik hosszúság és szélesség tekintetében, vagy hogy a dorsotemporalis mező önmagában pontosan milyen kiterjedtségű, és hol lokalizálható.

Mint az a saját vizsgálataim alapján is egyértelműen megmutatkozik, az egyedek között igen jelentős eltérések tapasztalhatók mindkét régió tekintetében, ennek számos oka lehet, például a fajtán belüli, nemek közötti, vagy épp életkorbeli különbségek. Ezen kívül pedig igen nehéz objektív módon megadni az egyes régiók határait, azaz még a sejtsűrűség alapján sem lehet egyértelműen meghatározni, hol kezdődik vagy épp hol ér véget a látósáv, illetve az anakatabatikus terület. A két régió elkülönítése mégis fontos lehet, főként a ganglionsejtekkel kapcsolatban álló fotoreceptorsejtek tekintetében. Mivel a két látómező területén eltérő típusú és eloszlású receptorsejtek találhatók, így a horizontális látósáv és a dorsotemporalis látómező nem csak morfológiailag, hanem funkcionálisan is különbözik. Ennek felderítésére további vizsgálatok szükségesek.

## V.2. A ganglionsejtek száma és eloszlása:

A sejtek számának és eloszlásának vizsgálatához a retina 37 különféle területéről, látóterenként egy-egy felvételt készítettem, melyek közül 400-szoros nagyítással 11, 200-szoros nagyítással 9 és 100-szoros nagyítással összesen 17 kép készült.

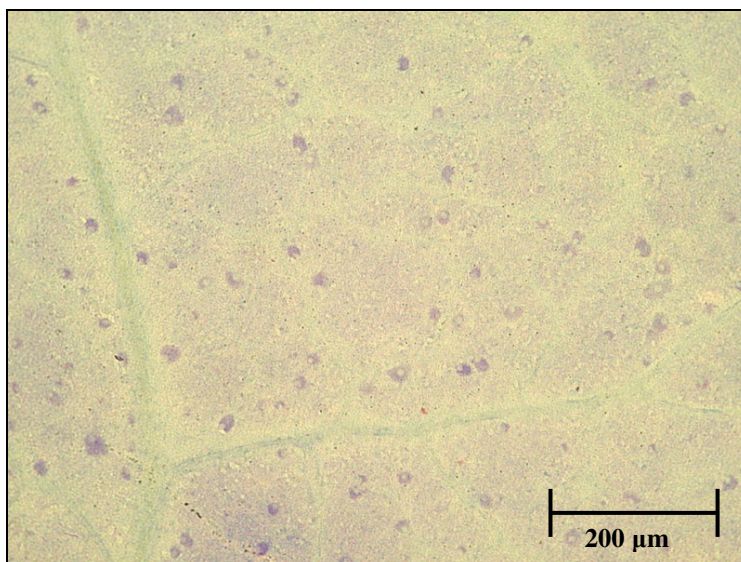
	MINIMÁLIS SEJTSŰRŰSÉG	MAXIMÁLIS SEJTSŰRŰSÉG	ÁTLAGOS SEJTSŰRŰSÉG
SŰRŰ RÉGIÓ	615 sejt/mm <sup>22</sup>	1360 sejt/mm <sup>23</sup>	<b>815 sejt/mm<sup>2</sup></b>
RITKA RÉGIÓ	40 sejt/mm <sup>2</sup>	232 sejt/mm <sup>2</sup>	<b>135 sejt/mm<sup>2</sup></b>
ÁTMENETI RÉGIÓ	193 sejt/mm <sup>2</sup>	618 sejt/mm <sup>2</sup>	<b>317 sejt/mm<sup>2</sup></b>

**4. táblázat: A ganglionsejtek sűrűsége a retina egyes részein**

A kapott sejtsűrűség alapján három fő területet különböztettem meg. Az egyik az úgynevezett *sűrű régió*, ahol a sejtek száma átlagosan 815 sejt/mm<sup>2</sup>, ide tartozik a horizontális látósáv (2. ábra), az ezen belül elhelyezkedő area centralis (lásd: II. 6. fejezet), valamint a dorsotemporalis látómező területe is. A sűrű régióon belül az egyes területeken széles határok között mozgott a sejtek száma. A legnagyobb sejtsűrűség 1360 sejt/mm<sup>2</sup>, míg a legkisebb 615 sejt/mm<sup>2</sup> volt. Habár ezek pontos lokalizációját a sejtsűrűség alapján nem végeztem el, az irodalmi adatok szerint a nagyobb sűrűség az area centralis, a kisebb pedig az úgynevezett anakatabatikus régió területét jelenti (4. táblázat).

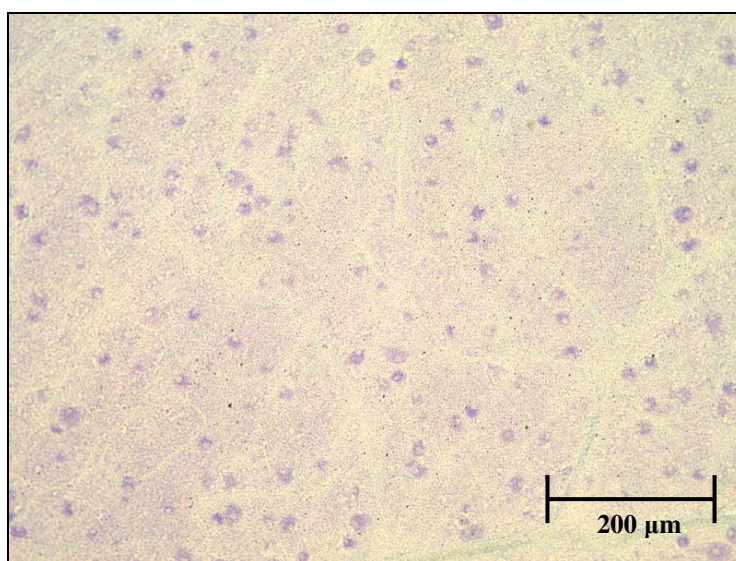
<sup>2</sup> A dorsotemporalis látómező területe.

<sup>3</sup> A horizontális látósávon belül az area centralis területe.



**3. ábra: Ganglionsejtek a retina felső nasalis részén 100x-os nagyításban (saját preparátumról készült felvétel, Nissl-festés)**

A ganglionsejtek *legritkábban* a retina felső nasalis részén, illetve a perifériás területeken helyeződnek (3. ábra), számuk itt minimum  $40 \text{ sejt/mm}^2$ , maximum  $232 \text{ sejt/mm}^2$ , átlagosan  $135 \text{ sejt/mm}^2$  (4. táblázat).



**4. ábra: Ganglionsejtek a látósáv és a dorsotemporalis látófolt közötti területen 100x-os nagyításban (saját preparátumról készült felvétel, Nissl-festés)**

A fent említett sűrű és ritka területek mellett a sejtszámok alapján még egy harmadik, *átmeneti régiót* is meg lehet különböztetni, mely terület a látósáv, illetve a dorsotemporalis látómező és a sejtekben szegény részek között húzódik (4. ábra). A sejtsűrűség itt átlagosan 317 ganglionsejt négyzetmilliméterenként (4. táblázat).

Az általam elvégzett mérések és számítások szerint a ganglionsejtek sűrűsége lényegesen alacsonyabb a 2010-ben közölt vizsgálatok eredményeihez képest (lásd: II.6. fejezet), és jelentős mértékben különbözik Hebel 1976-os kísérleteinek eredményeitől is, mely szerint a ganglionsejtek legnagyobb sűrűsége 5400-5500 sejt/mm<sup>2</sup>, vagyis az általam kapott számérték közel négyszerese. Ennek az eltérésnek számos oka lehet, így például a kísérletekhez felhasznált állatok kora, neme, fajtája, továbbá a viszonylag kevés mintaszám, vagy a sejtszámlálás módszereinek különbsége (sejtszámlálás fényképfelvételről vs. denzitometria, szubjektívitas a sejtek, valamint az egyes területek határainak azonosításakor). Mindezek tükrében az általam kapott eredmények valószínűleg alulbecsülik a valós értékeket.

A Shinozaki és munkatársai által végzett kísérletben a látósáv területén elhelyezkedő ganglionsejtek száma körülbelül négyszerese a látósávon kívüli területekén lévőknek, míg a saját méréseim szerint a sűrű és ritka területek között a ganglionsejtek sűrűségének aránya körülbelül 4,5 : 1. Tehát, amennyiben összehasonlítjuk a kérdéses területek adatait, arányait tekintve a két vizsgálat hasonló eredményeket mutat.



## VI. Összegzés:

Irodalmi adatok alapján a juhok kifinomult látással rendelkeznek, mind az egyes objektumok pontos felismerésével, mind pedig a színek és a mozgó tárgyak érzékelésével kapcsolatban, melyhez elengedhetetlen a különféle fotoreceptorsejtek, valamint a tőlük információt gyűjtő ganglionsejtek megfelelő, összehangolt működése.

A juh retinákon végzett kísérletek során elsőként a ganglionsejtek láthatóvátételére alkalmas festési eljárást optimalizáltam. Mivel a preparátumok előkészítése során az üvegtestet nem sikerült teljes mértékben eltávolítani a retináról, az alkalmazott festék penetrációja nem volt megfelelő, a preparátumokat nem lehetett értékelni. Miután kidolgoztam a retina szabaddá tételére alkalmas technikát, az elvégzett Nissl-festéssel sikerült azonosítanom és lokalizálnom a feltételezett horizontális látósávot, valamint a dorsotemporalis látómezőt. Az előbbi régió a retina alsó részén, megnyúlt sávszerű foltként húzódik, a benne lévő ganglionsejtek sűrűsége itt a legnagyobb. Az úgynevezett anakatabatikus terület a retina felső temporalis részén helyezkedik el, ahol a ganglionsejtek sűrűsége ugyan nem éri el a látósávban mérhető értékeket, de a sejtek száma a többi területhez képest itt is kimagasló. Mivel az általam végzett vizsgálatok során a feldolgozott minták száma meglehetősen csekély volt, ezeknek a régióknak a pontos feltérképezéséhez további vizsgálatokra lesz szükség.

Az általam végzett kísérletek alátámasztották, hogy az alkalmazott festési eljárás megfelelő a sejtek számának és eloszlásának meghatározására. Habár az itt közölt saját adatok a sejtsűrűséggel, illetve az egyes területek kiterjedtségével kapcsolatban, a viszonylag kevés mintaszám és a fajon belüli, egyedek közötti különbségek tükrében csupán tájékoztató jellegűek, egyértelműen bizonyítást nyert, hogy a juhok retinájában a ganglionsejtek az alkalmazott Nissl-festéssel láthatóvá tehetők. Ahhoz azonban, hogy ezen sejtek retinán belüli eloszlását nagy pontossággal meg lehessen határozni, további vizsgálatok szükségesek. Ezeket a vizsgálatokat a későbbiekben célszerű lesz több, különböző életkorú, nemű és fajtájú egyed bevonásával, minél több preparátum készítésével elvégezni. A denzitometerrel meghatározott sejteloszlás pontos ábrázolásához pedig elengedhetetlen statisztikai programok alkalmazása, valamint az úgynevezett retinatérképek készítése is.

Mindezekon felül, az előbbieken leírtásra került technika, immunhisztokémiai vizsgálatokkal kombinálva alkalmas lehet arra is, hogy a fotoreceptorsejtek helyeződését és a ganglionsejtekhez való arányát az egyes régiókon belül feltérképezzük, így a retina egyes területein belül az információ konvergenciájával kapcsolatos következtetéseket vonhassunk le.

## **VII. Summary:**

Literature data and farm experience equally show that sheep have refined sense of vision. They are able to recognize objects accurately and they detect colours and movements. These capabilities necessitate the appropriate functioning of photoreceptor cells as well as ganglion cells collecting information from these cells.

The goal of my work was to establish optimal conditions for the identification of ganglion cells in whole mount sheep retina preparations by Nissl staining, followed by the application of this technique for the localization and quantification of ganglion cells in the various retinal regions. After careful optimization of several steps in the sampling and fixation technique Nissl staining has proven to be appropriate to determine the morphology and density of ganglion cells.

In the course of my studies I identified and localized the supposed visual streak and the dorsotemporal visual field (also called anacatabatic area) in the sheep retina. The density of ganglion cells is the highest in the visual streak, which represents an elongated oval patch in the lower part of the retina. The dorsotemporal visual field has been located in the upper temporal part of the retina. The density of ganglion cells in the anacatabatic area is prominent as compared to the other regions of the retina, but it does not reach the cell density observed in the visual streak.

As the number of processed samples in my own experiments was rather low further studies are going to be required to do accurate mapping of the areas mentioned above.

The density of cells as well as the size and localization of the above areas were different from each other and from literature data. I suppose that these discrepancies are due to the small number of samples investigated as well as to species differences and/or within-species individual differences due to age and gender.

Further investigations are planned to clarify the above points by using more retinas originating from animals of known breeds, ages and genders. Cell distributions will be determined by densitometry and data will be evaluated by statistical softwares to construct refined retinal maps.

Moreover, the method described above combined with immunohistochemical examinations aimed at localizing and quantifying photoreceptor cells would allow for the determination of the ratio of ganglion cells and photoreceptors in the different regions. These data will help to draw conclusions on the convergence of the visual information in various areas of the retina.

## **VIII. Köszönetnyilvánítás:**

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Sótonyi Péter tanszékvezető úrnak a hozzájárulásáért, hogy diplomamunkámat az Anatómiai és Szövettani Tanszéken készíthetem el. Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek Dr. Jancsik Veronikának a dolgozat elkészítésében nyújtott szakmai segítségért és a támogatásért.

Külön szeretném megköszönni Gombár Gabriellának és Pető Klárának a metszetkészítés, valamint a szövettani technika elsajátításában nyújtott odaadó segítséget.

Ezen kívül hálás köszönettel tartozom a D-Meat Kft Vágóhídjának (Dabas-Gyón Tatárszentgyörgyi út hrsz. 0322/3), hogy lehetővé tette a birka szemek begyűjtését.

## IX. Irodalomjegyzék:

- ADLER, A.J., MARTIN, K.J. 1982: Retinol-binding proteins in bovine interphotoreceptor matrix. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 108. vol. 4. no. p. 1601-1608.
- AHNELT, P.K. et al. 1990: Identification of pedicles of putative blue-sensitive cones in the human retina. *The Journal of Comparative Neurology*. 293. vol. 1. no. p. 39-53.
- AHNELT, P.K., KOLB, H. 2000: The mammalian photoreceptor mosaic-adaptive design. *Progress in Retinal and Eye Research*. 19. vol. 6. no. p. 711-777.
- AMTHOR, F.R. et al. 1989: Morphologies of rabbit retinal ganglion cells with concentric receptive fields I. *The Journal of Comparative Neurology*. 280. vol. 1. no. p. 72-96.
- AMTHOR, F.R. et al. 1989: Morphologies of rabbit retinal ganglion cells with concentric receptive fields II. *The Journal of Comparative Neurology*. 280. vol. 1. no. p. 97-121.
- ARRESE, C. et al. 1999: Retinal structure and visual acuity in a polyprotodont marsupial, the fat-tailed dunnart (*Sminthopsis crassicaudata*). *Brain, Behavior and Evolution*. 53. vol. 3. no. p.111-126.
- BADEA, T.C., NATHANS, J. 2004: Quantitative analysis of neuronal morphologies in the mouse retina visualized by using a genetically directed reporter. *The Journal of Comparative Neurology*. 480. vol. 4. no. p. 331-351.
- BARLOW, H.B. et al. 1957: Dark adaptation, absolute threshold and Purkinje shift in single units of the cat's retina. *The Journal of Physiology*. 137. vol. 3. no. p. 327-337.
- BARLOW, H.B. et al. 1957: Change of organization in the receptive fields of the cat's retina during dark adaptation. *The Journal of Physiology*. 137. vol. 3. no. p. 338-354.
- BARLOW, H.B., HILL, R.M. 1963: Selective sensitivity to direction of movement in ganglion cells of the rabbit retina. *Science*. 139. vol. p. 412-414.
- BERNSTEIN, P.S. et al. 1997: Retinal tubulin binds macular carotenoids. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 38. vol. 1. no. p.167-175.
- BOYCOTT, B.B., WÄSSLE, H. 1974: The morphological types of ganglion cells of the domestic cat's retina. *The Journal of Physiology*. 240. vol. 2. no. p. 397-419.
- COOMBS, J. et al. 2006: Morphological properties of mouse retinal ganglion cells. *Neuroscience*. 140. vol. 1. no. p. 123-136.
- CURCIO, C.A. et al. 1987: A whole mount method for sequential analysis of photoreceptor and ganglion cell topography in a single retina. *Vision research*. 27. vol. 1. no. p. 9-15.
- CURCIO, C.A. et al. 1987: Distribution of cones in human and monkey retina: individual variability and radial asymmetry. *Science*. 236. vol. p. 579-582.

DACEY, D.M. 1993: Morphology of a small-field bistratified ganglion cell type in the macaque and human retina. *Visual Neuroscience*. 10. vol. 6. no. p. 1081-1098.

DACEY, D.M. 1993: The mosaic of midget ganglion cells in the human retina. *The Journal of Neuroscience*. 13. vol. 12. no. p. 5334-5355.

DERETIC, D. et al. 1995: rab8 in retinal photoreceptors may participate in rhodopsin transport and in rod outer segment disk morphogenesis. *Journal of Cell Science*. 108. vol. 1. no. p. 215-224.

DEVRIES, S.H., BAYLOR, D.A. 1997: Mosaic arrangement of ganglion cell receptive fields in rabbit retina. *Journal of Neurophysiology*. 78. vol. 4. no. p. 2048-2060.

DOWLING, J.E., BOYCOTT, B.B. 1965: Neural connections of the retina: fine structure of the inner plexiform layer. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 30. vol. p. 393-402.

DOWLING, J.E., BOYCOTT, B.B. 1966: Organization of the primate retina: electron microscopy. *Proceedings of the Royal Society of London Series B. Containing Papers of a Biological Character. Royal Society (Great Britain)*. 166. vol. 2. no. p. 80-111.

DOWLING, J.E., BOYCOTT, B.B. 1969: Retinal ganglion cells: a correlation of anatomical and physiological approaches. *UCLA Forum in Medical Sciences*. 8. vol. 145-161.

FAMIGLIETTI, E.V. JR., KOLB, H. 1976: Structural basis for ON-and OFF-center responses in retinal ganglion cells. *Science*. 194. vol. p. 193-195.

FREED, M.A., STERLING, P. 1988: The ON-alpha ganglion cell of the cat retina and its presynaptic cell types. *The Journal of Neuroscience*. 8. vol. 7. no. p. 2303-2320.

FUKUDA, Y., STONE, J. 1974: Retinal distribution and central projections of Y-, X-, and W-cells of the cat's retina. *Journal of Neurophysiology*. 37. vol. 4. no. p.749-772.

GRANIT, R. URL: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1967/granit-lecture.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1967/granit-lecture.pdf) Letöltés ideje: 2011. 02. 12.

GUILOFF, G.D., KOLB, H. 1992: Ganglion cell types of the turtle retina that project to the optic tectum: Intracellular HRP injections of retrogradely, rhodamine-marked cell bodies. *Visual Neuroscience*. 8. vol. 4. no. p. 295-313.

GUZSAL E. 1963: A háziállatok szövettana. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 430 p.

HARTLINE, H.K. URL: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1967/hartline-lecture.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1967/hartline-lecture.pdf) Letöltés ideje: 2011.02.12.

HARGRAVE, P.A., MCDOWELL, J.H. 1992: Rhodopsin and phototransduction. *International Review of Cytology*. 137B. vol. p. 49-97.

HEBEL, R. 1976: Distribution of retinal ganglion cells in five mammalian species (pig, sheep, ox, horse, dog). *Anatomy and Embryology*. 150. vol. p. 45-51.

HENDRICKSON, A., HICKS, D. 2002: Distribution and density of medium- and short-wavelength selective cones in the domestic pig retina. *Experimental Eye Research*. 74. vol. 4. no. p. 435-444.

HUGHES, A. 1977: The topography of vision in mammals of contrasting life style: comparative optics and retinal organisation. In: *Crescitelli F. (szerk.) 1977: The visual system in vertebrates. Berlin: Springer* p. 613-756.

KOLB, H. 1979: The inner plexiform layer in the retina of the cat: electron microscopic observations. *The Journal of Neurocytology*. 8. vol. 3. no. p. 295-329.

KOLB, H. et al. 1981: Amacrine cells, bipolar cells and ganglion cells of the cat retina: a Golgi study. *Vision research*. 21. vol. 7. no. p. 1081-1114.

KOLB, H., NELSON, R. 1993: OFF-alpha and OFF-beta ganglion cells in cat retina: II. Neural circuitry as revealed by electron microscopy of HRP stains. *The Journal of Comparative Neurology*. 329. vol. 1. no. p. 85-110.

KUFFLER, S.W. 1953: Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *Journal of Neurophysiology*. 16. vol. 1. no. p. 37-68.

KUFFLER, S.W. et al. 1957: Maintained activity in the cat's retina in light and darkness. *The Journal of General Physiology*. 40. vol. 5. no. p.683-702.

LEICK, W.R., CLELAND, B.G. 1974: Receptive fields of cat retinal ganglion cells having slowly conducting axons. *Brain Research*. 74. vol. 1. no. p. 156-160.

LEVENTHAL, A.G. et al. 1981: Retinal ganglion cell classes in the Old World monkey: morphology and central projections. *Science*. 213. vol. p. 1139-1142.

LUKÁTS A. et al. 2005: Photopigment coexpression in mammals: comparative and developmental aspects. *Histology and Histopathology*. 20. vol. 2. no. p. 551-574.

MACLEOD, D.I. 1972: Rods cancel cones in flicker. *Nature*. 235. vol. 173-174.

MARIANI, A.P. 1982: Association amacrine cells could mediate directional selectivity in pigeon retina. *Nature*. 298. vol. p. 654-655.

MARIANI, A.P. 1984: The neuronal organization of the outer plexiform layer of the primate retina. *International Review of Cytology*. 86. vol. p. 285-320.

MICHAEL, C.R. 1968: Receptive fields of single optic nerve fibers in a mammal with an all-cone retina. II: directionally selective units. *Journal of Neurophysiology*. 31. vol. 2. no. p. 257-267.

MILLER, W.H. et al. 1961: How cells receive stimuli. *Scientific American*. 205. vol. 222-238.

Mozaik web-tankönyv: <http://www.mozaweb.hu/> Letöltés ideje: 2011. 03. 15.

NELSON, R. et al. 1978: Intracellular staining reveals different levels of stratification for on- and off-center ganglion cells in cat retina. *Journal of Neurophysiology*. 41. vol. 2. no. p. 472-483.

NELSON, R. et al. 1981: Neural circuitry of the cat retina: cone pathways to ganglion cells. *Vision research*. 21. vol. 11. no. p. 1527-1536.

NELSON, R. et al. 1993: OFF-alpha and OFF-beta ganglion cells in cat retina. I: Intracellular electrophysiology and HRP stains. *The Journal of Comparative Neurology*. 329. vol. 1. no. p. 68-84.

OKAJIMA, T.I. 1989: Interphotoreceptor retinoid-binding protein: role in delivery of retinol to the pigment epithelium. *Experimental Eye Research*. 49. vol. 4. no. p. 629-644.

OYSTER, C.W. et al. 1981: Density, soma size and regional distribution of rabbit retinal ganglion cells. *The Journal of Neuroscience*. 1. vol. p. 1331-1346.

PAPERMASTER, D.S. et al. 1985: Vesicular transport of newly synthesized opsin from the Golgi apparatus toward the rod outer segment. Ultrastructural immunocytochemical and autoradiographic evidence in *Xenopus* retinas. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 26. vol. 10. no. p. 1386-1404.

PEICHL, L. 1992: Topography of ganglion cells in the dog and wolf retina. *The Journal of Comparative Neurology*. 324. vol. p. 603-620.

PEICHL, L. 2005: Diversity of mammalian photoreceptor properties: adaptations to habitat and lifestyle? *The Anatomical Record. Part A. Discoveries in Molecular, Cellular and Evolutionary Biology*. 287. vol. 1. no. p. 1001-1012.

PEICHL, L., WÄSSLE, H. 1981: Morphological identification of on- and off-centre brisk transient (Y) cells in the cat retina. *Proceedings of the Royal Society of London Series B. Containing Papers of a Biological Character. Royal Society (Great Britain)*. 212. vol. p. 139-153.

PERRY, V.H., COWEY, A. 1981: The morphological correlates of X- and Y-like retinal ganglion cells in the retina of monkeys. *Experimental Brain Research*. 43. vol. 2. no. p. 226-228.

PERRY, V.H. et al. 1984: Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience*. 12. vol. 4. no. p. 1101-1123.

PROVIS, I.M. 1979: The distribution and size of ganglion cells in the retina of the pigmented rabbit: a quantitative analysis. *The Journal of Comparative Neurology*. 185. vol. p. 121-138.

RAPAPORT, D.H., STONE, J. 1984: The area centralis of the retina in the cat and other mammals: focal point for function and development of the visual system. *Neuroscience*. 11. vol. 2. no. p. 289-301.

- RATLIFF, F., HARTLINE, H.K. 1959: The responses of Limulus optic nerve fibers to patterns of illumination on the receptor mosaic. *The Journal of General Physiology*. 42. vol. 6. no. p. 1241-1255.
- RODIECK, R.W. 1979: Visual pathways. *Annual Review of Neuroscience*. 2. vol. p.193-225.
- RODIECK, R.W. et al. 1985: Parasol and midget ganglion cells of the human retina. *The Journal of Comparative Neurology*. 233. vol. 1. no. p. 115-132.
- RÖHLICH P. 2006: Szövektan. Budapest: Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió. 532 p.
- SANDMANN, D. et al. 1996: Blue-cone horizontal cells in the retinae of horses and other equidae. *The Journal of Neuroscience*. 16. vol. 10. no. p. 3381-3396.
- SCHIVIZ, A.N. et al. 2008: Retinal cone topography of artiodactyl mammals: influence of body height and habitat. *The Journal of Comparative Neurology*. 507. vol. 3. no. p. 1336-1350.
- SCHNEEWEIS, D.M., SCHNAPF, J.L. 1995: Photovoltage of rods and cones in the macaque retina. *Science*. 268. vol. p. 1053-1056.
- SHAPLEY, R.M. 1986: The importance of contrast for the activity of single neurons, the VEP and perception. *Vision research*. 26. vol. 1. no. p. 45-61.
- SHAPLEY, R.M., VICTOR, J.D. 1979: Nonlinear spatial summation and the contrast gain control of cat retinal ganglion cells. *The Journal of Physiology*. 290. vol. 2. no. p. 141-161.
- SHINOZAKI, A. et al. 2010: Topography of Ganglion Cells and Photoreceptors in the Sheep Retina. *The Journal of Comparative Neurology / Research in Systems Neuroscience*. 518. vol. p. 2305-2315.
- STERLING, P. et al. 1988: Architecture of rod and cone circuits to the on-beta ganglion cell. *The Journal of Neuroscience*. 8. vol 2. no. p. 623-642.
- STERLING, P., MATTHEWS, G. 2005: Structure and function of ribbon synapses. *Trends in Neuroscience*. 28 vol. 1. no. p. 20-29.
- STEWART, W. W. 1978: Functional connexons between cells as revealed by dye coupling with a highly fluorescent naphthalamide tracer. *Cell*. 14. vol. p. 741-759.
- STONE, J., HALÁSZ P. 1989: Topography of the retina in the elephant *Loxodonta africana*. *Brain, Behavior and Evolution*. 34. vol. 2. no. p. 84-95.
- STRYLER, L. 1991-1992: Molecular mechanism of visual excitation. *Harvey Lectures*. 87. vol. p. 129-143.
- SZÉL A. et al. 1996: Distribution of cone photoreceptors in the mammalian retina. *Microscopy Research and Technique*. 35. vol. 6. no. p. 445-462.
- VICTOR, J.D., SHAPLEY, R.M. 1979: Receptive field mechanisms of cat X and Y retinal ganglion cells. *The Journal of General Physiology*. 74. vol. 2. no. p. 275-298.



VÖLGYI B. et al. 2009: Tracer coupling patterns of the ganglion cell subtypes in the mouse retina. *The Journal of Comparative Neurology*. 512. vol. 5. no. p. 664-687.

WÄSSLE, H. et al. 1981: Morphology and mosaic of on- and off-beta cells in the cat retina and some functional considerations. *Proceedings of the Royal Society of London Series B. Containing Papers of a Biological Character. Royal Society (Great Britain)*. 212. vol. p. 177-195.

WATANABE, M., RODIECK, R.W. 1989: Parasol and midget ganglion cells of the primate retina. *The Journal of Comparative Neurology*. 289. vol. 3. no. p. 434-454.

Webvision. URL: <http://webvision.med.utah.edu/> Letöltés ideje: 2011. 01. 30.

YAU, K.W. 1994: Cyclic nucleotide-gated channels: an expanding new family of ion channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91. vol. 9. no. p. 3481-3483.

YAU, K.W. 1994: Phototransduction mechanism in retinal rods and cones. The Friedenwald Lecture. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 35. vol. 1. no. p. 9-32.