

ONTOGENETICKÝ VÝVOJ NERVOVÉ SOUSTAVY

Složitost uspořádání a vzájemného spojení jednotlivých struktur vyskytujících se v nervové soustavě nenechává nikoho na pochybách, že se tento systém nemůže vytvořit na základě náhodného spojení svých jednotlivých komponent. V následujícím textu budou uvedeny základní celulární a molekulární mechanizmy, které zabezpečují vznik uspořádanosti nervové tkáně, to znamená, které vedou ke spojení konkrétních neuronů pro vytvoření nové kvality zpracování informací. Tyto mechanizmy nejsou dosud zcela dobře prozkoumány, ale to, co je o nich známo, má význam nejen teoretický, ale vzhledem k jejich uplatnění při regeneračních procesech také význam klinický.

Základy embryogeneze nervové soustavy byly vysvětleny v kurzu embryologie a neuroanatomie. Budeme se proto zabývat některými dalšími buněčnými a molekulárními procesy a faktory, které zásadním způsobem ovlivňují vývoj nervové soustavy.

Obecně můžeme v ontogenetickém vývoji nervové soustavy savců identifikovat čtyři základní typy procesů:

- **segmentace embrya a nervové soustavy** (metamerismus) v antero-posteriorní ose; tato fáze vývoje je kontrolována pouze geneticky, význam tkví v tom, že v jednotlivých segmentech mohou probíhat oddělené variace genových programů
- **určení osudu neuronu** na základě vlivu epigenetických faktorů jejich mikroprostředí; tato fáze je spojena s migrací a vzájemnou interakcí neuronů za vzniku spojů mezi nimi
- s posledně jmenovaným procesem souvisí **navigace axonů k cílovým strukturám** (další neurony, cílové periferní tkáně); v této fázi se uplatňují interakce adhezivních molekul mezi axonem a celulárním nebo extracelulárním substrátem, svou úlohu zde pravděpodobně hrají i procesy souhrnně označovány termínem **tropizmus**
- po dosažení kontaktu s cílovými strukturami probíhá **konečná diferenciacce neuronů** na základě vlivu tzv. trofických molekul, které jsou produkovány cílovou tkání (**trofizmus**)

OBECNÁ HISTOGENEZE CNS

Současný výklad histogeneze CNS je založen na existenci koncentrických zón, které se vytvářejí seřazením rychle se dělicích buněk neuroektodermu. Ve vyvíjející se CNS lze popsat čtyři základní zóny: **ventrikulární, subventrikulární, intermediální a marginální**.

Ve **ventrikulární zóně** vznikají samostatné linie prekurzorů buněk pro neurony a

makroglie, které se **mitoticky dělí**. Mitotické dělení prekurzorů buněk je doprovázeno charakteristickou **migrací buněčných jader**, ke které zde dochází v určitých časových periodách. Nejdříve probíhá migrace jader směrem k bázi ventrikulárních buněk, které přiléhají ke canalis centralis. Poté se buňky zaoblují a mitoticky dělí, po dělení migrují jádra do apikálních částí své mateřské buňky. Ventrikulární zóna se s postupující diferenciací neustále ztenčuje až úplně vymizí.

Subventrikulární zóna obsahuje malé, mitoticky se dělící buňky, ve kterých však **nedochází k migraci jader**.

Neuroblasty, které projdou ventrikulární a subventrikulární zónou jsou již definitivní postmitotické buňky, které dále neproliferují. V míše tato vrstva existuje jen několik dní, ale v oblasti mozkových hemisfér zůstává zachována mnohem déle. V současné době se připouští, že např. v hippocampu mohou neuroblasty perzistovat několik měsíců až rok a jejich diferenciace na neurony probíhá i v postnatálním období.

Intermediální (plášťová) zóna obsahuje shluky migrujících postmitotických neuronů a gliových buněk. V této zóně dochází hlavně k vytvoření podmínek pro rozvoj šedé hmoty CNS, vzniká zde tzv. **kortikální ploténka**.

Marginální zóna je na buňky chudá vrstva, ve které se již nevyskytují žádné primární neuroblasty, tvoří ji hlavně výběžky vyvíjejících se neuronů. Tato zóna se hlavně podílí na vytvoření bílé hmoty.

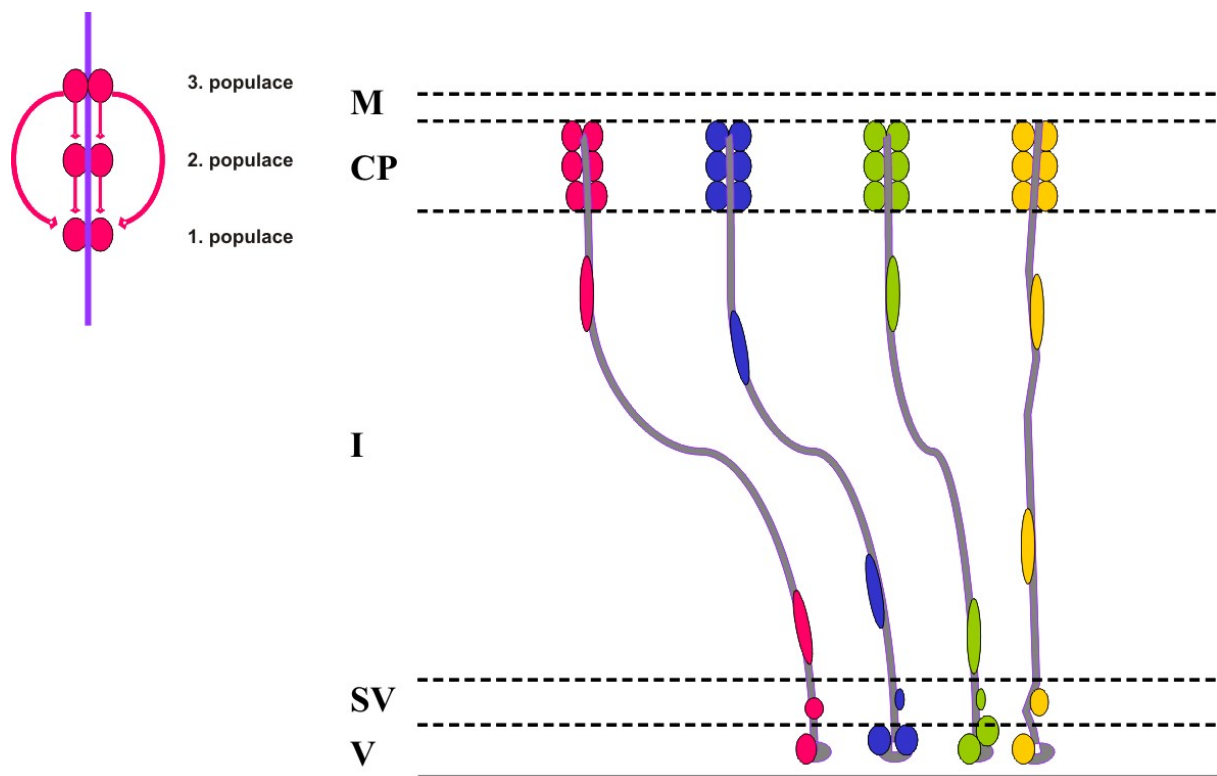
Výše uvedené uspořádání jednotlivých zón je zachováno pouze při vývoji míchy. V jiných místech CNS je vývojové zonální uspořádání mnohem komplikovanější. Například v hemisférách při formování kůry telencefala dochází ke změnám v uspořádání jednotlivých vývojových zón tak, že marginální zóna je postupně prorůstána dalšími sekundárními neuroblasty z plášťové vrstvy, které vytváří **sekundární kortikální ploténky**.

Migrace jednotlivých shluků neuronů probíhá podél **marginální glie**¹, která představuje přechodnou populaci gliových buněk, jejichž těla jsou uložena ve ventrikulární zóně a jejich výběžky procházejí všemi ostatními vrstvami vyvíjející se CNS až do marginální zóny. Zde jsou výběžky marginální glie fixovány na primitivní pia mater. Marginální glie zabezpečuje uspořádanou migraci neuronů, které například odpovídá pozdější sloupcovitá stavba kortexu. Marginální glie tak zabezpečuje přesnou pozici neuronů vyprodukovaných ve ventrikulární

¹ U člověka existuje marginální glie v první třetině gestace.

zóně a zabraňuje jejich chaotickému přeskupování, např. z pozice A'-C' migrují podél marginální glie a tvoří sloupce A-C.

V kortikální ploténce přerůstají nejhlubší vrstvy neuronů, které migrovaly dříve, dalšími vlnami neuronů směrem k povrchu. Tato postupná migrace neuronů umožňuje vytváření spojů mezi neurony jednotlivých vrstev, ale vždy ve sloupcovém uspořádání, což zabezpečují výběžky marginální glie.



Obr. XX. Schéma znázorňující úlohu marginální glie pro uspořádání kortexu do sloupců. V – ventrikulární zóna, SV – subventrikulární zóna, I – intermediální zóna, CP – kortikální ploténka (upraveno podle Rakice, 1972). V kortikální ploténce migruje vždy následující populace neuronálních progenitorů skrze stávající populaci a vytváří přitom spoje.

Morfogeneze kortexu telencefala probíhá podle obecného schématu neuromorfogeneze:

- Postupné vytváření rozdílných typů neuronů a gliových buněk a jejich migrace do určité charakteristické pozice.
- Perioda růstu, kdy je vytvořeno nadbytečné množství neuronálních výběžků, které tvoří přechodné spoje s okolními neurony.
- Zjednodušení nadbytečných kontaktů a zánik nadbytečných neuronů, diferenciace zůstávajících neuronů.

Konečné uspořádání CNS je výsledkem mnohých složitých procesů, které probíhají v prostoru a v čase. Některé obecné celulární a molekulární principy probíhají stejně v centrální i periferní nervové soustavě, pro zjednodušení budou proto vysvětleny u vývoje PNS.

KRITICKÉ FAKTORY A PERIODY VE VÝVOJI CNS

Centrální nervová soustava se formuje jako integrovaný systém, to znamená, že vývoj jedné části CNS podmiňuje vývoj a diferenciaci jiné struktury. Pro normální vývoj vysoce organizované strukturální uspořádanosti CNS musí existovat vzájemná souhra faktorů genetických, nutritivních, hormonálních a v neposlední řadě i vlivů elektrické aktivity (aferentace). K normální diferenciaci určité struktury CNS dojde pouze v těch případech, kdy uvedené faktory působí v určité posloupnosti a ve vývojovém stádiu, kdy dochází k rozhodujícím momentům diferenciaci. Všeobecně se takové vývojové období, ve kterém je vliv určitého faktoru nezbytný pro další vývoj struktury, označuje jako **kritická vývojová perioda**.

Vliv genetických faktorů na vývoj CNS

Genetické faktory hrají rozhodující úlohu zvláště v počátečním období vývoje nervové soustavy, kdy dochází k její segmentaci. Předpokládá se, že v pozdějších obdobích vývoje nervové soustavy převládají faktory epigenetické. Z klinické praxe je však známo, že některé genetické faktory (např. chromozómové aberace) spojené se změnou metabolismu mají výrazný vliv na vývoj CNS i v pozdějších fázích. Například trisomie 21. chromozomu, známá jako Downův syndrom (mongolismus) je spojena s velmi těžkou poruchou inteligence. Dalším příkladem metabolicky zprostředkovaného vlivu genetických faktorů na vývoj nervové soustavy jsou změny ve stupni diferenciaci struktur mozku při fenylketonurii.

Nutritivní faktory a vývoj CNS

Mozek novorozence váží přibližně 350 g, po roce to je kolem 1000 g a u dospělého ženského pohlaví asi 1250 g, zatímco mozek mužského pohlaví má váhu kolem 1375g². Bylo již uvedeno, že jen malé procento neuronů si zachovává schopnost dělení i postnatálně, např. v hippokampu nebo mozečku. Je proto zřejmé, že váhový přírůstek mozku v postnatálním vývoji je způsoben hlavně růstem neuronů a jejich spojů, eventuálně zmnožením gliových

² Nutno uvést, že rozdíly ve váze mozku u ženského a mužského pohlaví jsou podobné jako rozdíly ve velikosti mozku bez spojitosti s inteligencí.

elementů. Z těchto důvodů mají nutriční faktory významný vliv na vývoj nervové soustavy.

Proteinová deficiencie v období 3. trimestru se na vývoji CNS plodu projeví hlavně zmenšením počtu neuronů. Je všeobecně známo, že u gravidních žen trpících podvýživou dochází k vážným poruchám ve vývoji mozku plodů. Rovněž nedostatek proteinů v průběhu prvního roku života má vážné následky a vyvolává nevratné poruchy spojené s rozmnožováním gliových buněk. Mozek takto postižených jedinců je signifikantně lehčí.

Vliv hormonů na vývoj CNS

V perinatálním období působí hlavně některé steroidní hormony. Androgenní hormony mají vliv zejména na vývoj hypothalamu a limbického předního mozku, tedy struktur, které později ovlivňují sexuální chování. Zvýšený přísun androgenních hormonů v tomto období vývoje se může projevit na zvýšené agresivitě jedince. V poslední době byla prokázána souvislost mezi hladinou sexuálních hormonů a zánikem neuronů v průběhu prenatálního vývoje.

Výrazné změny ve vývoji mozkové kůry nastávají při nedostatku hormonů štítné žlázy v období od začátku 7. měsíce i.u. Neurony takto postižených jedinců jsou výrazně menší a byl zaznamenán i výrazný pokles počtu axo-dendritických synapsí.

Vliv aferentace na vývoj CNS

Vliv aferentace na vývoj organizace CNS je dobře popsán u zrakové dráhy. Jak již bylo uvedeno, je diferenciaci a přesné synaptické napojení na sebe navazujících neuronů podmíněno nejen geneticky, ale také četnými epigenetickými faktory. V případě vývoje zrakové dráhy patří mezi epigenetické faktory i dostatečné množství světelných podnětů, které musí být v období kritické periody přítomny v určitém množství.

Základní vývojové etapy zrakové dráhy jsou naprogramovány geneticky a nezávisí na přítomnosti světelných stimulů. Dojde-li například u koček k fotické deprivaci v období kritické periody, to je mezi 4.-11. týdnem postnatálně, nastanou výrazné morfologické a funkční změny ve vývoji zrakové dráhy³.

³ Zkušenosti ukazují, že děti do 5. roku mají být vystaveny dostatečnému množství rozmanitých zrakových podnětů.

NĚKTERÉ ZÁKLADNÍ CELULÁRNÍ A MOLEKULÁRNÍ MECHANIZMY PŘI VÝVOJI NERVOVÉ SOUSTAVY

Nadprodukce a následující selektivní zánik neuronů

Výklad o některých dosud známých buněčných a molekulárních mechanismech ontogenetického vývoje nervové soustavy začneme výkladem o smrti neuronů. Tento zdánlivý paradox odráží významnou skutečnost, že programovaná a podmíněná selektivní smrt určité části neuronů je jedním ze základních mechanismů ontogenetického vývoje nervové soustavy.

Selektivní zánik neuronů probíhá na základě dostupnosti limitovaného množství neurotrofických faktorů, které je k dispozici pro jednotlivé neurony po vzniku spojení s cílovými neurony nebo mezi neurony a cílovou periferní strukturou.

Jednoduše a s nadsázkou můžeme říci, že neurony během vývoje musí podobně jako člověk v průběhu svého života najít odpověď na tři základní otázky své existence:

1. Jak přežít? Odpověď pro neuron zní: Drž se zdrojů trofických molekul.
2. Jak najít svého správného partnera pro život? Odpověď pro neuron zní: Zkus vytvořit kontakty s jinými buňkami nebo neurony, během svého života utvoř minimálně jeden trvalý svazek.
3. Jaký je můj základní životní cíl? Odpověď pro neuron zní: Vyměňuj si informace s jinými neurony.

Zánik neuronů během vývoje nervové soustavy není předem geneticky naprogramován a tím se významným způsobem odlišuje od apoptózy (buněčné smrti) při vývoji jiných orgánů. Zánik neuronů z jejich původního nadpočetného množství probíhá na základě limitujících zdrojů neurotrofických faktorů poskytovaných cílovou strukturou. Jedná se vlastně o **kompetitivní selekci**.

Trofické vztahy v nervové soustavě

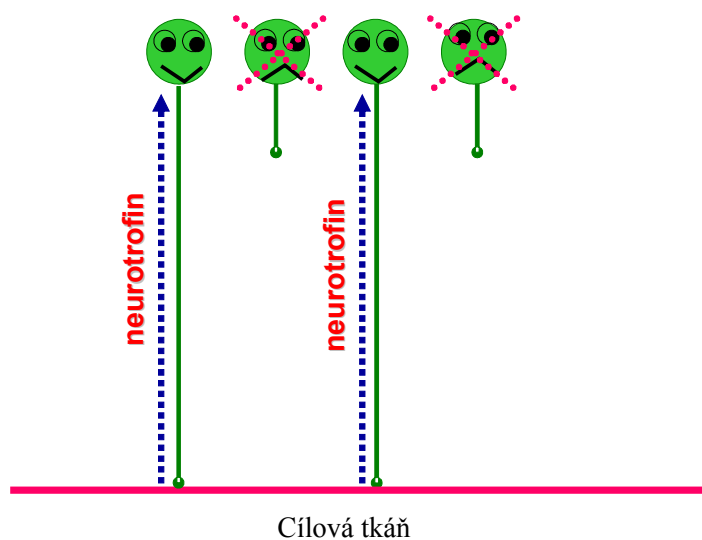
Trofický vztah (vliv) obecně vyjadřuje působení specifických substancí (trofických faktorů) uvolněných buňkou nebo tkání na druhou buňku či tkáň.

V nervové soustavě existují dva typy trofických vztahů:

- neurony mají trofický vliv na cílové periferní tkáně

- neurony mohou být příjemci trofických faktorů z jiných tkání

Trofické vztahy se projevují v průběhu celého života organismu od doby embryonálního vývoje až do dospělosti, existuje však jejich progresivní redukce s věkem.



Obr. XX. Schéma neurotrofického vztahu neuronů a jejich cílové tkáně.

Neurotrofické faktory jsou obecně definovány jako faktory (molekuly), které jsou nezbytné pro přežívání a diferenciaci určitých typů neuronů, na rozdíl od obecně růstových faktorů, které převážně stimulují proliferaci buněk. Typickým příkladem neurotrofického faktoru je NGF (nerve growth factor)⁴, který zásadním způsobem ovlivňuje přežívání somatosenzorických a sympatických neuronů, a je typickým zástupcem skupiny molekul označované jako **neurotrofiny**.

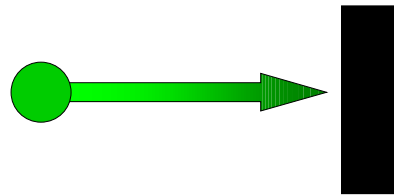
Kontakt mezi terminálou axonu a periferní strukturou je základem pro přežití a další diferenciaci neuronu. Určité množství neurotrofických faktorů (molekul) je nejdříve internalizováno (nabráno) a pak retrográdně transportováno axonem k perikaryu neuronu, kde složitou kaskádou molekulárních reakcí zablokuje mechanismy, které by vedly k zániku neuronu.

⁴ NGF je historický, do současné doby akceptovaný termín. Za objev NGF a rozpracování teorie neurotrofických vztahů obdrželi Rita Levi-Montalciniová a S. Cohen Nobelovu cenu za rok 1986.

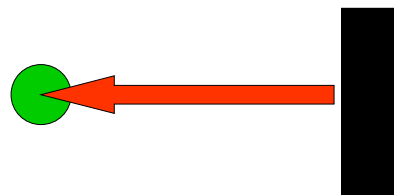
Neurotrofické vztahy lze dobře ilustrovat na vývoji končetiny. Za normálních okolností zanikne 50-75% motoneuronů určených pro inervaci svalů končetin. Naproti tomu po experimentálně stimulované polydaktylii (nadměrný počet prstů) dochází ke zvýšení počtu přežívajících motoneuronů i somatosenzorických neuronů inervujících končetinu.

Množství zaniklých motoneuronů podstatně vzroste po amputaci končetiny v době tzv.

neurony mají trofický vliv na cílové periferní tkáně



cílová tkáň má trofický vliv na neurony



Obr. XX. Schéma obecných trofických vztahů v nervové soustavě.

kritické periody experimentálního zvířete. U laboratorního potkana je kritická perioda pro vývoj periferní nervové soustavy v období prvního postnatálního týdne. Po amputaci končetiny u dospělých jedinců není množství zanikajících neuronů tak významný jako v neonatálním období. Neurony dospělého jedince atrofují, eventuálně zanikají až po dlouhodobější ztrátě kontaktů s cílovou strukturou a přísunu neurotrofických faktorů. Podobné trofické vztahy mezi neuronem a cílovou strukturou byly potvrzeny u člověka.

Obecně se neurotrofické faktory kromě regulace přežívání neuronů (kompetitivní selekce) patrně účastní i procesů, které souvisí s **redukcí nadpočetných axonálních kolaterál, tzv. multiaxonalita**. Tato redukce axonálních kolaterál nesouvisí se zánikem neuronů. Multiaxonalita se opakuje v dospělém organismu při reinervaci po poškození periferního nervu a způsobuje určité klinické problémy (např. hypersenzitivita reinervované kůže).

Molekulární mechanismy navigace axonů

Pro růst axonů a jejich správnou navigaci má značný význam rozšířená koncová struktura označovaná jako **růstový kónus**. Ten vytváří na svém povrchu časově omezené struktury typu filopodií a lamelipodií, které "ohmatávají" okolí růstového kónu, eventuálně registrují stimulační nebo inhibiční molekuly.

Při vývoji uspořádanosti PNS se uplatňují molekulární mechanismy, které se zčásti opakují při reinnervaci po poškození periferního nervu. Na podobných principech probíhá navigace axonů při vývoji CNS. K těmto mechanismům patří:

- kontaktní adheze na permissivním povrchu
- kontaktní inhibice na nepermissivním povrchu
- fascikulizace
- chemotropismus – uvolnění atraktivních molekul z cílové tkáně

Kontaktní adheze a inhibice

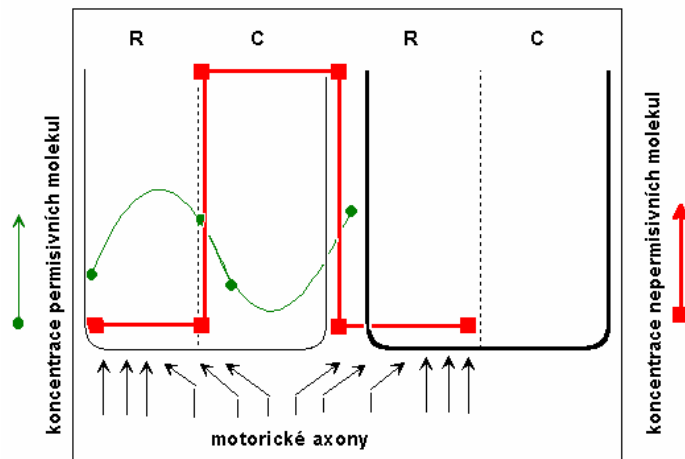
K těmto dvěma procesům dochází na základě vytvoření vhodného (permissivního) nebo nevhodného (nepermissivního) povrchu. Kontaktní adheze a inhibice je založena na expresi permissivních a nepermissivních molekul na povrchu buněk, které přicházejí do kontaktu s růstovými kónusy při jejich růstu k cílové struktuře. Permissivní a nepermissivní molekuly se objevují v přesném časovém sledu podél celé dráhy rostoucích axonů.

Význam kontaktní adheze a inhibice ve vývoji nervové soustavy lze demonstrovat při vzniku segmentálního uspořádání PNS. Axony somatosenzorických neuronů spinálních ganglií rostou mezi dermomyotom a sklerotom. Somatický mezoderm je rozdělen na rostrální (kranální) a kaudální část. Permissivní povrch pro růstové kónusy somatosenzorických axonů je vytvořen pouze v rostrální části. To znamená, že axony pokračují v růstu pouze na této části mezodermu, zatímco jeho kaudální část obsahuje molekuly, které způsobují kolaps růstových kónusů a nepřipustí další růst axonů.

Podobná situace nastává pro růstové kónusy motorických axonů na rostrální (r) a kaudální (c) část sklerotomu. Výsledkem je růst axonů v rostrální části, čímž dochází k posunutí spinálních nervů vůči sklerotomům i myotomům.

K dalšímu uplatnění kontaktní adheze a inhibice dochází při růstu vyvíjejících se nervů do končetinového pupene, např. při vývoji inervace dolní končetiny. Po povrchu perinotochondrálního mesenchymu rostou motorické axony až k bazi končetinového pupene

zadní končetiny. Při bazi končetinového pupene se vytváří pelvicový pásek, který diriguje růst axonů v dorzální pozici (plexus sacralis) a ventrální pozici (plexus lumbalis).



Obr. XX. Schéma znázorňující růst axonů v závislosti na koncentraci permissivních a nepermissivních molekul vyskytujících se na sklerotomu (upraveno podle Keynes et al. 1991).

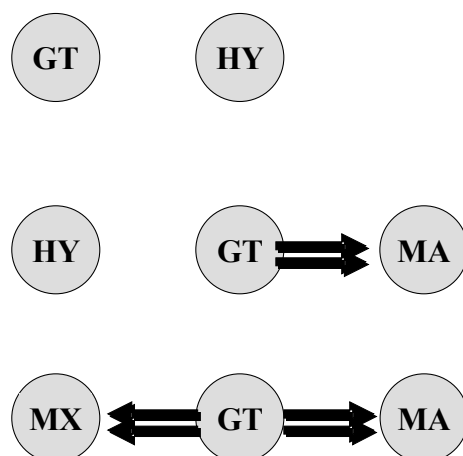
Fascikulizace

Při vývoji periferních nervů dochází ke společnému růstu motorických a somatosenzorických (propriocepčních) axonů do svalu a somatosenzorických axonů (exterocepce) k odpovídajícímu dermatomu. Roli tzv. pionýrských axonů, které jako první pronikají do mezenchymu končetinového pupene, hrají motorické axony, jejichž povrch využívají následně růstové kónusy somatosenzorických axonů.

Chemotropizmus (atraktivní molekuly)

Chemotropizmus je založen na syntéze určitého typu molekul, které difundují do okolí dané struktury a ovlivňují směr růstu axonů; působí na axony jako **atraktans**. Velmi dobrým příkladem pro ilustraci chemotropismu najdeme při utváření tří větví nervus trigeminus (Obrázek 15). Axony neuronů ggl. trigeminale rostou do mandibulárního a maxilárního výběžku a frontální oblasti. Nabídneme-li v podmínkách *in vitro* neuronům separovaný hyoidní výběžek, nevydávají trigeminální neurony žádné axony. Založíme-li společnou tkáňovou kulturu hyoidního výběžku s maxilárním výběžkem, dojde u neuronů ležících na straně přivrácené k maxilárnímu výběžku k vyrůstání axonů.

Kombinace neurotrofických faktorů a vlivu aferentace se patrně významně podílí na vzniku somatotopického uspořádání sensorických a somatosenzorických systémů od periferie



Obr. XX. Schéma ilustrující chemotropizmus při vývoji n. trigeminus. Embryonální neurony ggl. trigeminale (GT), tkáň hyoidního výběžku (HY), tkáň maxilárního (MX) a mandibulárního výběžku (MA).

až do odpovídajících oblastí kůry. Význam periferní tkáně pro vytvoření uspořádanosti neuronů CNS lze dobře demonstrovat na vývoji části somato-senzorického kortexu, který u experimentálních zvířat přijímá informace ze sinusových chlupů, tzv. „barrel cortex“. Tato oblast primární somatosenzorické kůry je například u hlodavců přesně organizována podle uspořádání sinusových chlupů na periférii. Každý okrsek somatosenzorické kůry (barrel) přijímá impulsy z konkrétního sinusového chlupu. Takové přesné uspořádání kůry se u hlodavců (i jiných savců) vyvíjí až postnatálně. Po experimentálním odstranění sinusového chlupu u novorozelých laboratorních potkanů dojde k vytvoření vzorce kortexu bez odpovídajícího okrsku. Provede-li se takové odstranění části periferní struktury u starších potkanů, nemá tento zásah již vliv na vývoj uspořádání odpovídající části kortexu. Podobný vliv periferních struktur, eventuálně sensorických stimulů na vývoj organizované kůry lze najít i při vývoji zrakového kortexu. Přesná somatotopická organizace sensorických a somatosenzorických drah a kůry je známa i u člověka.