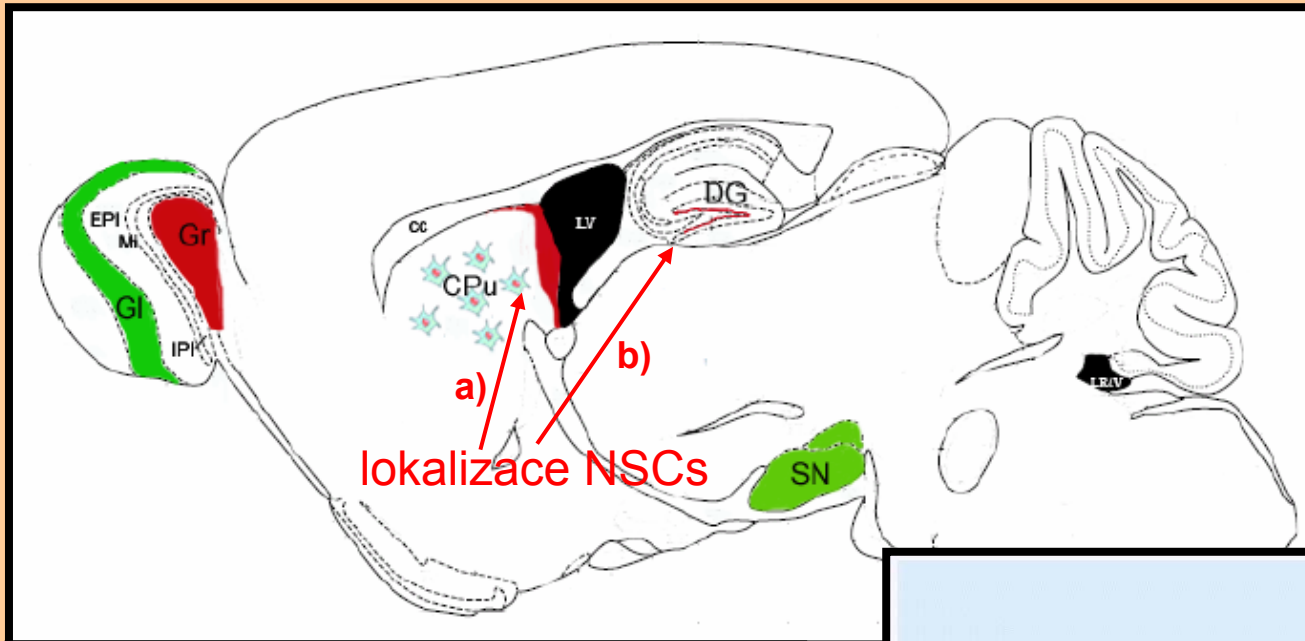
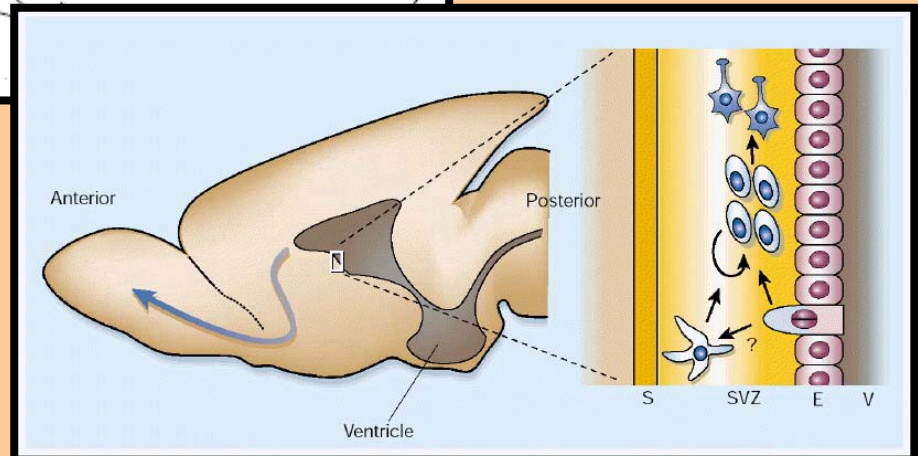


Neurální kmenové buňky – NSCs (Neural stem cells)



a) subventrikulární zóna (SVZ), postranní komory
b) subgranulární zóna DG

GI – glomerulární vrstva
Gr – granulární vrstva
EPI – vnější plexiformní vrstva
Mi – vrstva mitral buněk
IPL – vnitřní plexiformní vrstva
cc - corpus callosum
LV - lateral ventricle
CPu - caudate putamen (striatum)
DG - dentate gyrus
SN - substantia nigra

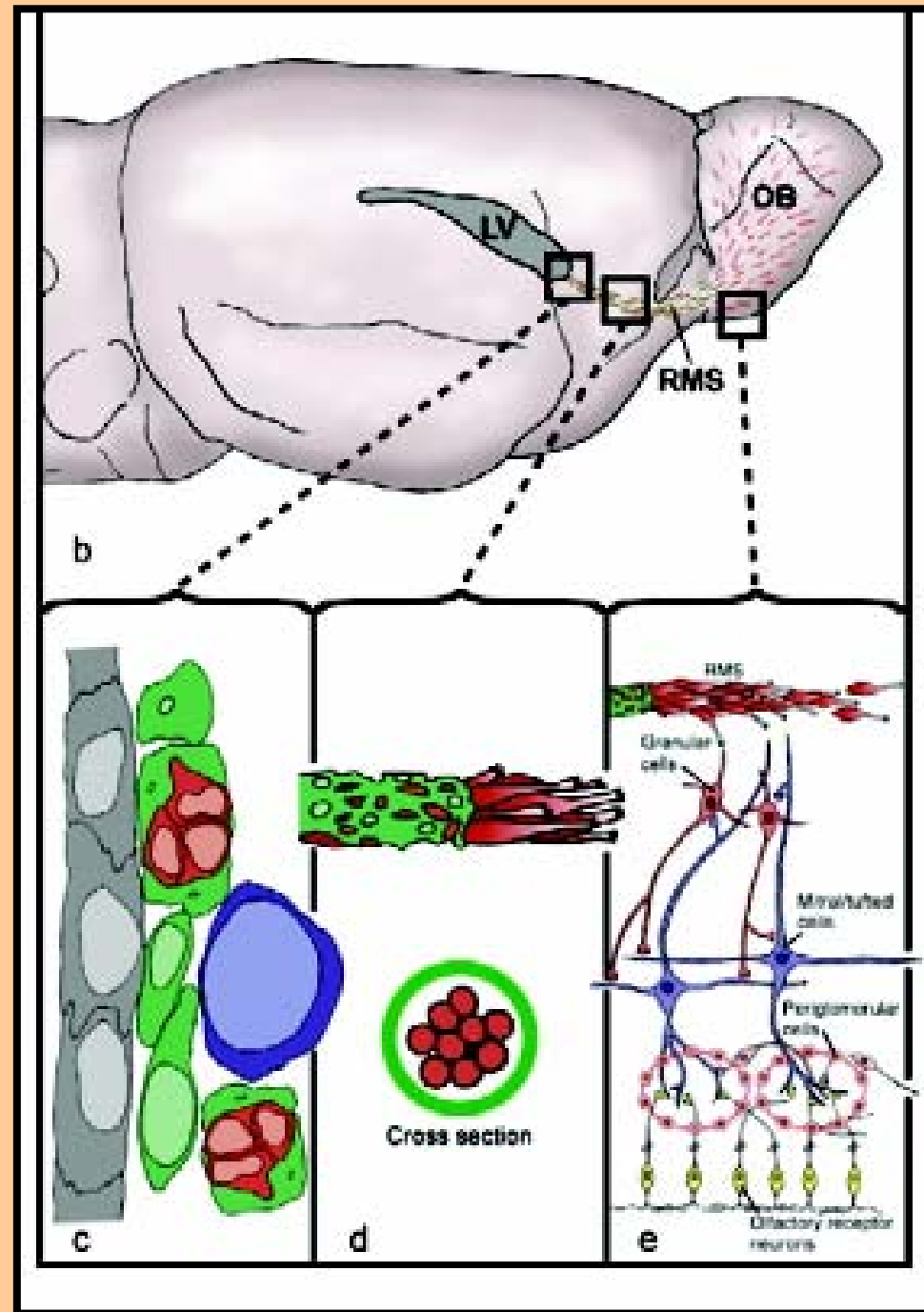
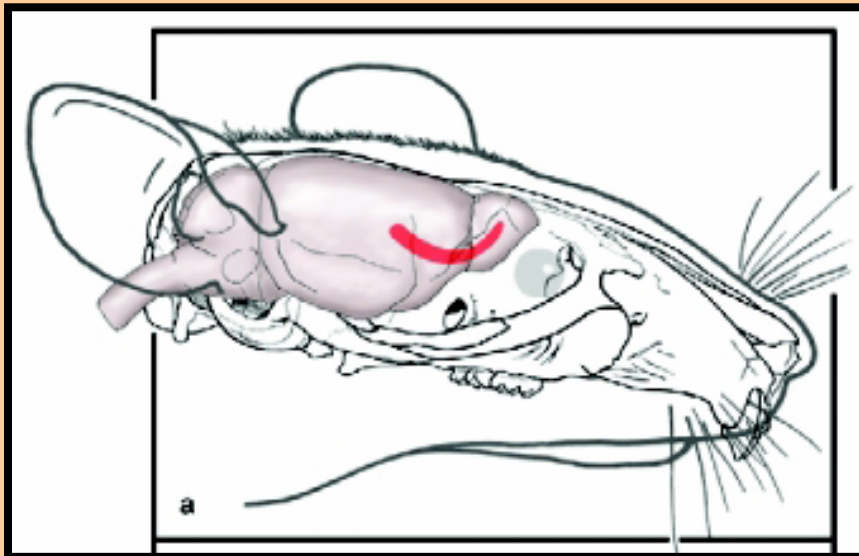


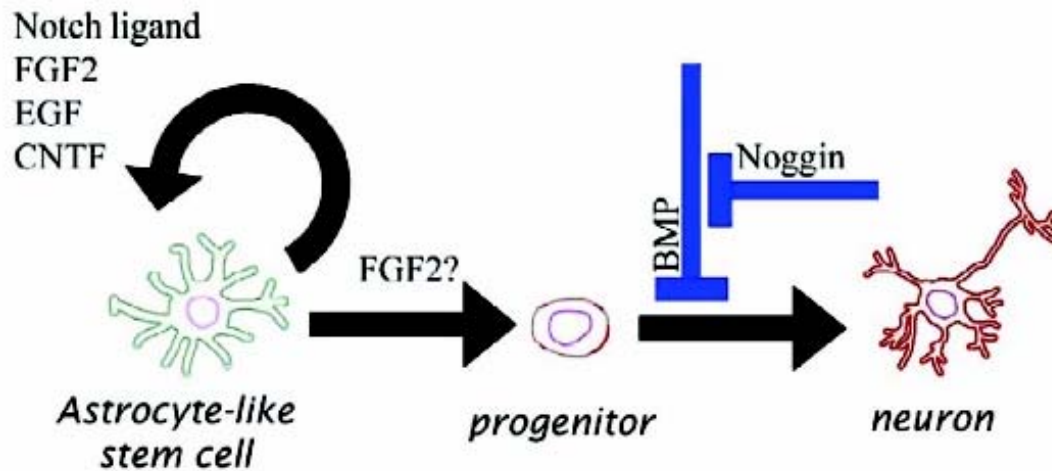
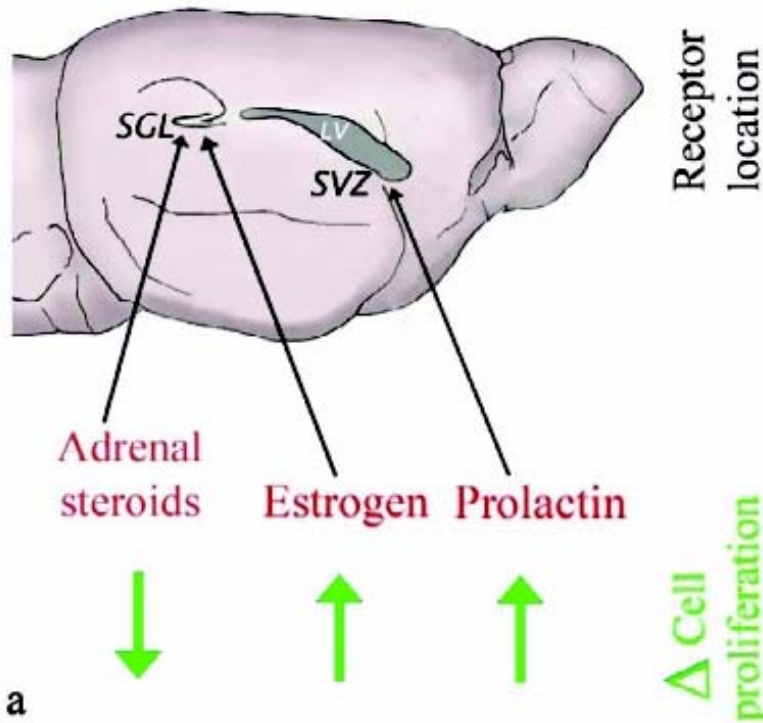
Migrace neurálních progenitorů

(hlodavci)

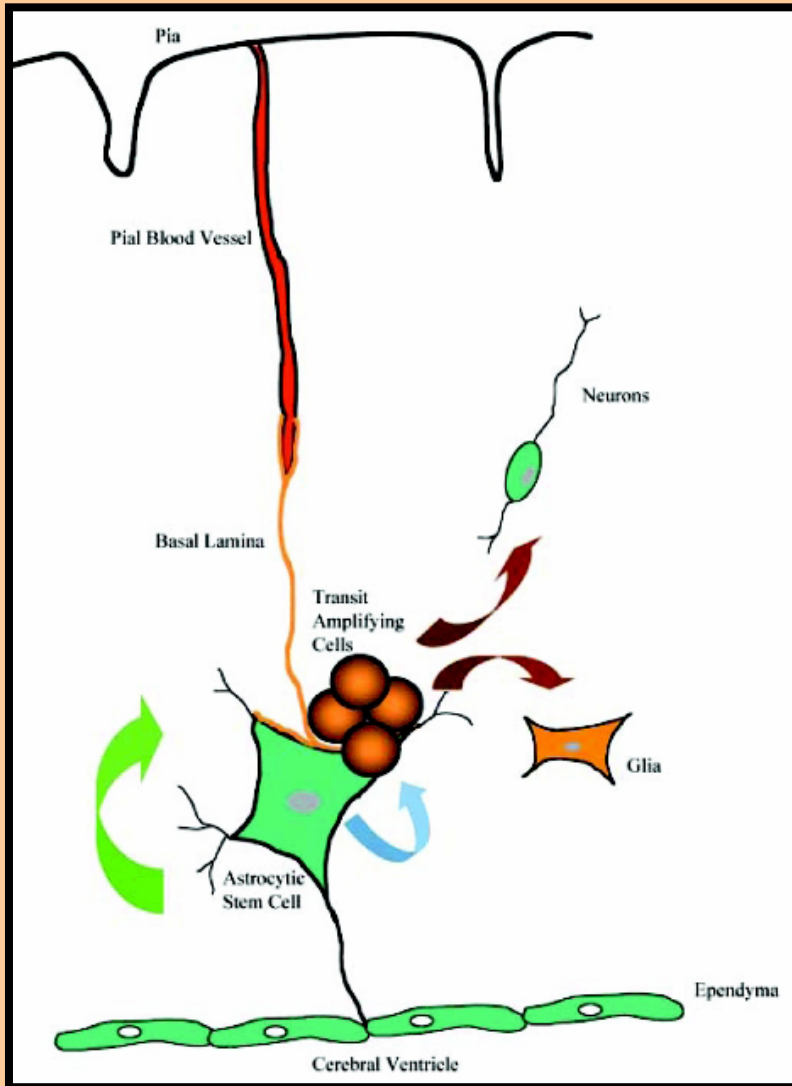
- ❖ neurogeneze v důsledku březosti
- ❖ neurogeneze regulovaná hormony

RMS – rostrální migrační tok
(rostral migratory stream)

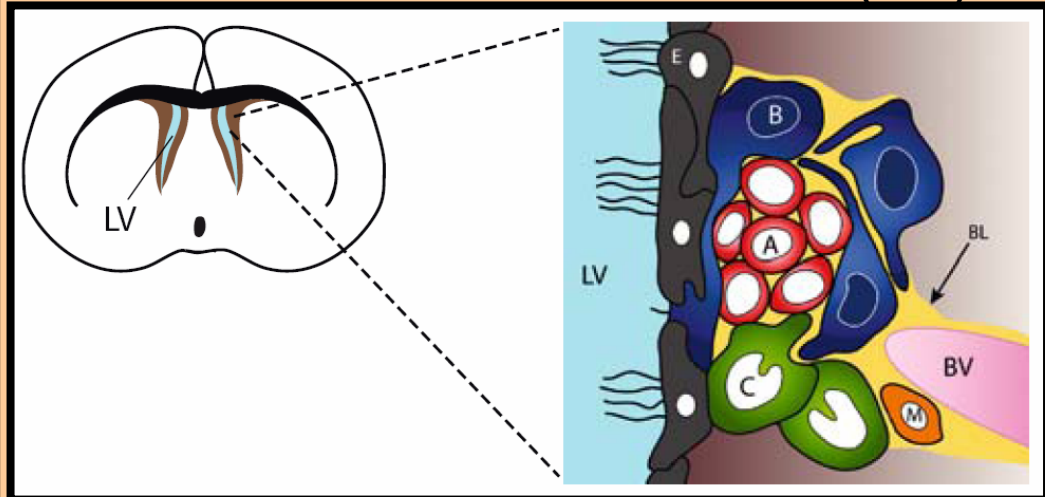




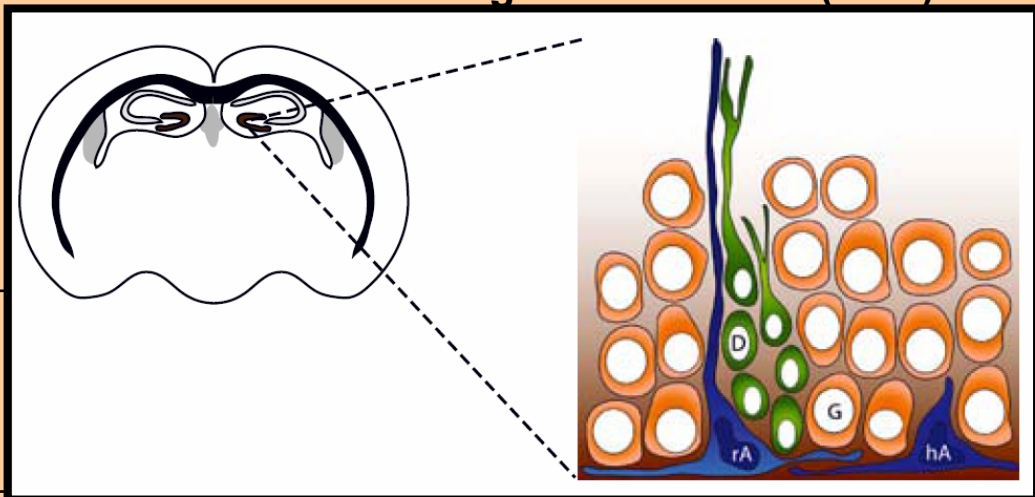
„Niche“ neurálních kmenových buněk



Architektura v subventrikulární zóně (SVZ)



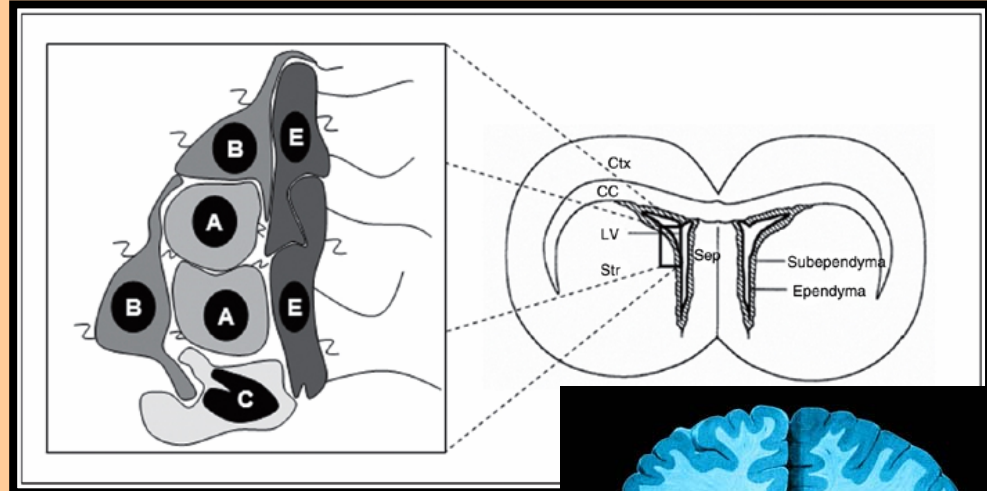
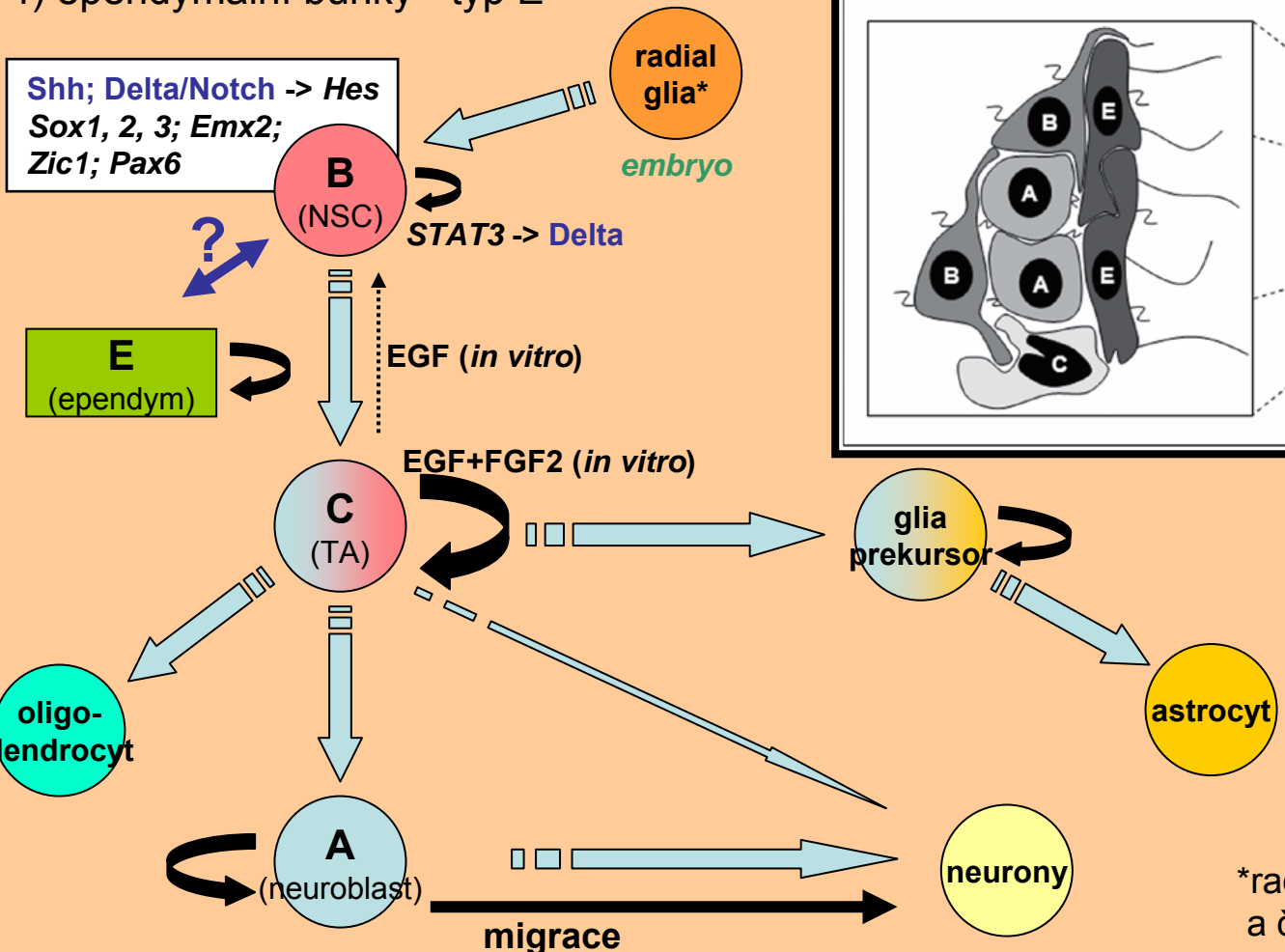
Architektura v subgranulární zóně (SGZ)



rA – radiální astrocyty
hA – horizontální astrocyty
D – nezralá granulární buňka
G – nová granulární buňka

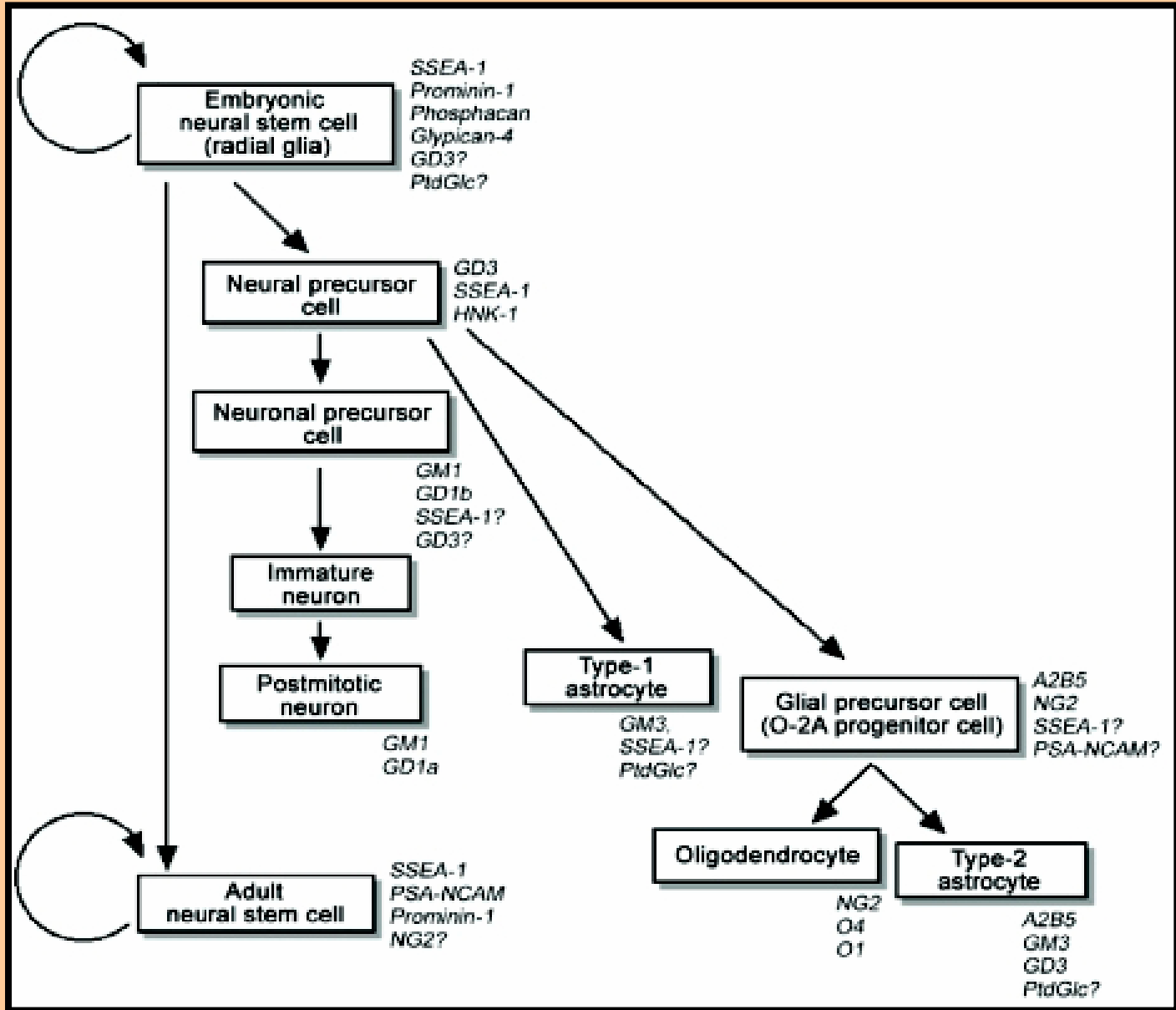
Oblast s NSCs obsahuje čtyři typy buněk

- 1) pomalu proliferující, astrocytům podobné (GFAP⁺/nestin⁺/SSEA1⁺/CD133⁺) buňky - typ B = NSCs (přesný fenotyp není dosud úplně objasněn - ±GFAP??, ± nestin ??)
- 2) spící, případě potřeby intenzivně proliferující buňky vzniklé z buněk B - typ C (TA progenitory, přechodně/transientně se dělící progenitory)
- 3) z buněk typu C vznikají buňky A = neuroblasty
- 4) endymální buňky - typ E



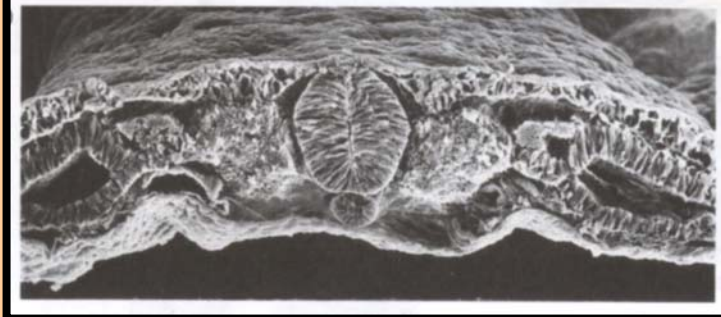
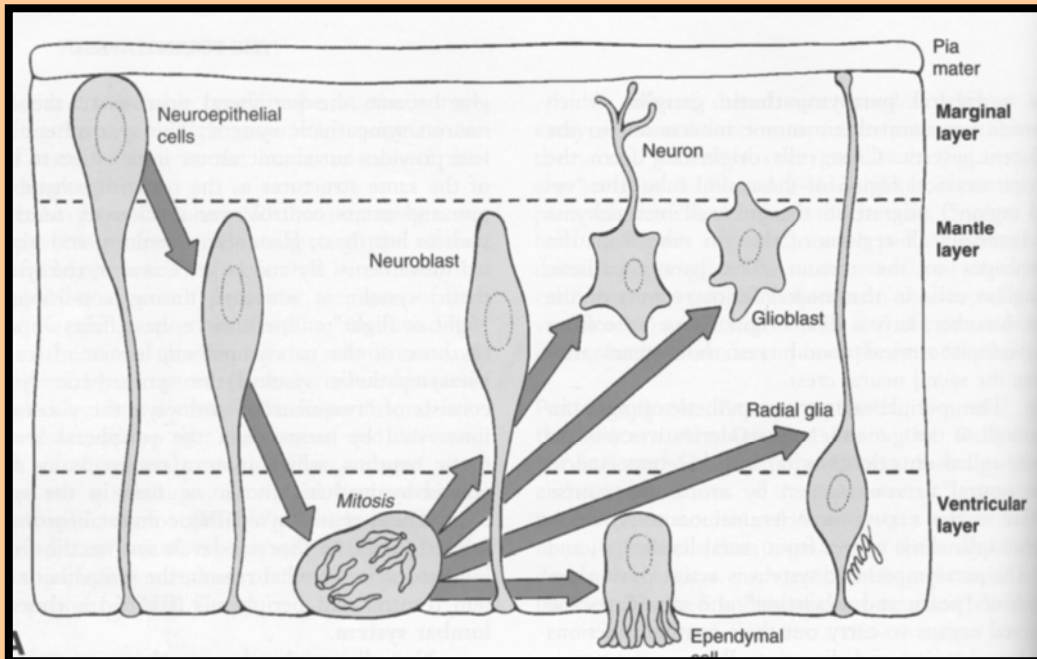
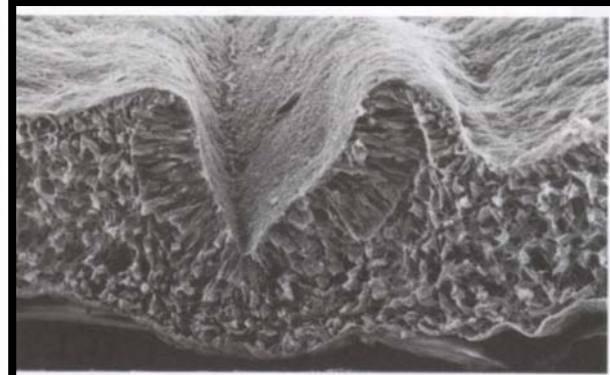
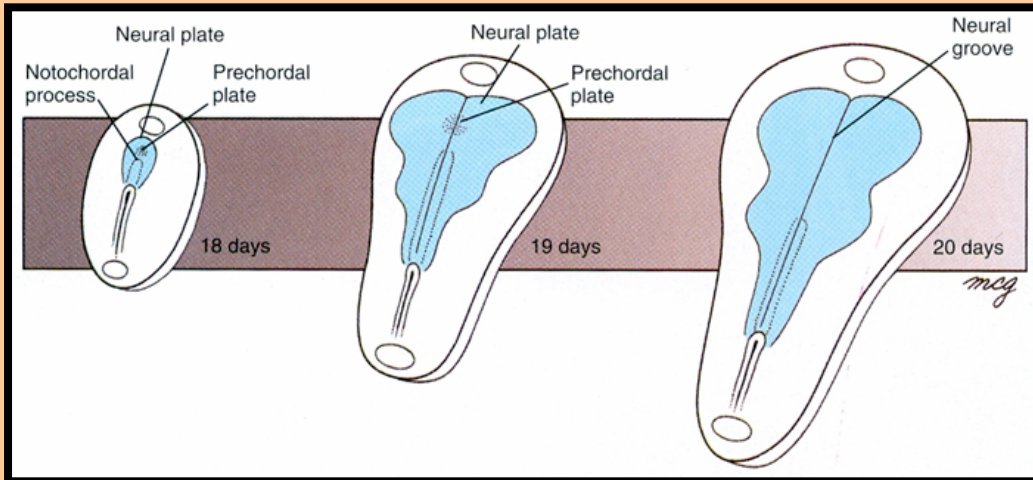
*radiální glie – embryo a časně postnatálně

Fenotyp neurálních kmenových buněk



Původ NSC

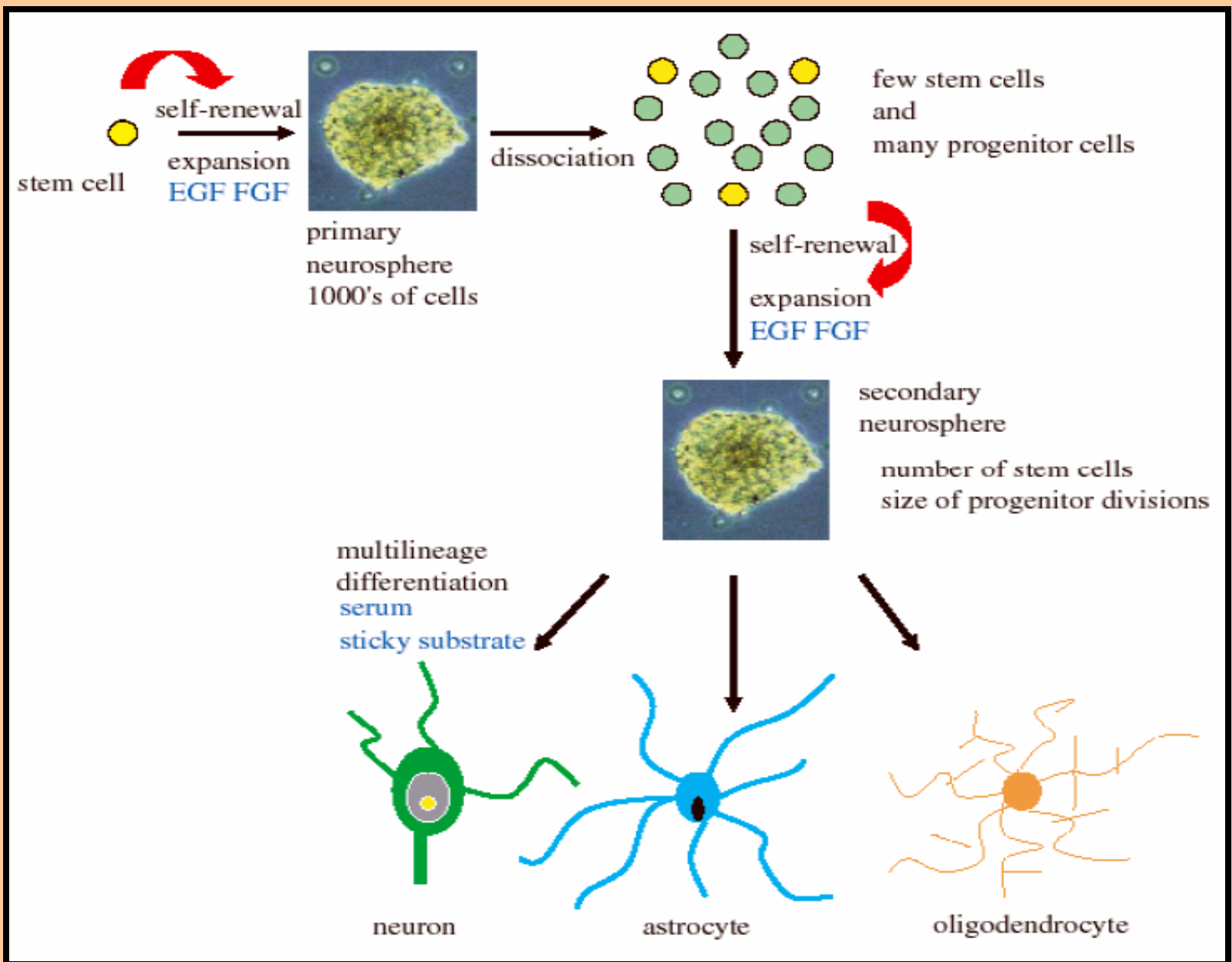
- pozůstatek neurogenní populace z časně embryogeneze

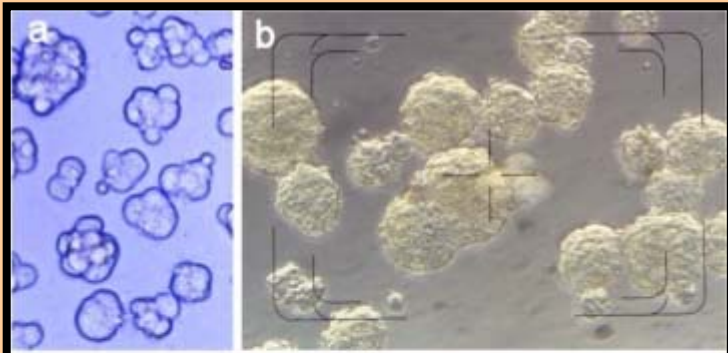


Vlatnosti NSCs

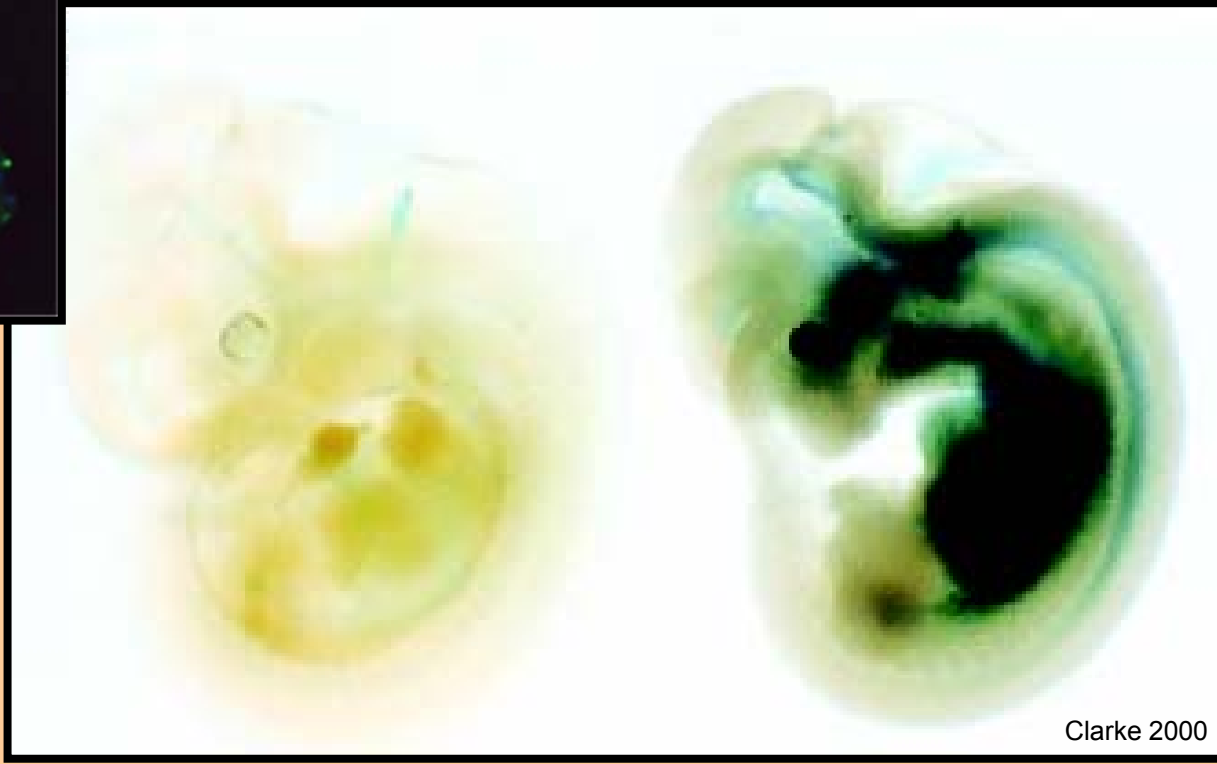
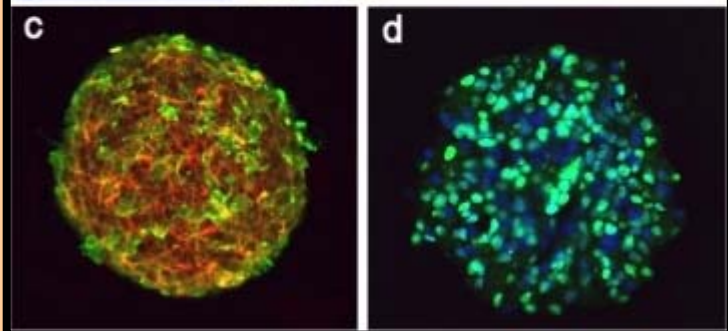
- ❖ NSCs jsou široce multipotentní a experimenty s chimérami ukázaly, že NSCs dávají vznik buňkám všech tří zárodečných listů (netvoří pohlavní buňky, nebylo prokázáno)
- ❖ u chimér se také NSCs nepodílí na hematopoéze i přesto, že v případě likvidace hematopoézy zářením, injikované NSCs ji obnoví (obojí děláno s myši ROSA26)
- ❖ na druhou stranu není jasné, zda NSCs tvoří všechny typy nervů a glií (SC x TA)
- ❖ neurální multipotentní progenitory byly izolovány i z retiny, optického nervu, hypothalamu, čichových laloků, čichového epitelu, a míchy
- ❖ tyto směsné populace nejsou schopné dlouhodobé proliferace *in vitro* tak jako NSCs a také si zachovávají některé epigenetické znaky podle místa původu
- ❖ po poškození mozku je možno neurogenezi detekovat i v striatu, neokortexu nebo v místech kortiko-spinálních motoneuronů
- ❖ NSCs s věkem ubývá, podobně jako ostatní adultní SSCs, každopádně je lze izolovat z mozkové tkáně i několik hodin (4-6h) po diagnóze klinické smrti
- ❖ *in vitro* se NSCs kultivují v podobě tzv. „neurosfér“ ve speciálních médiích určených pro expanzi neurálních progenitorů, bez séra, ale s nadbytkem FGF2 a EGF
- ❖ LIF-gp130 / Notch blokuje diferenciaci NSC, ale nepodporuje proliferaci
- ❖ „neurosféry“ jsou plovoucí útvary s navýšeným množstvím neurálních progenitorů a NSCs, lze v nich detekovat již i množství zralejších typů nervů i glií
- ❖ i neurální progenitory (TA) lze dlouhodobě kultivovat

Příprava neurosfér, primární a sekundární neurosféry (Dirks, 2008)

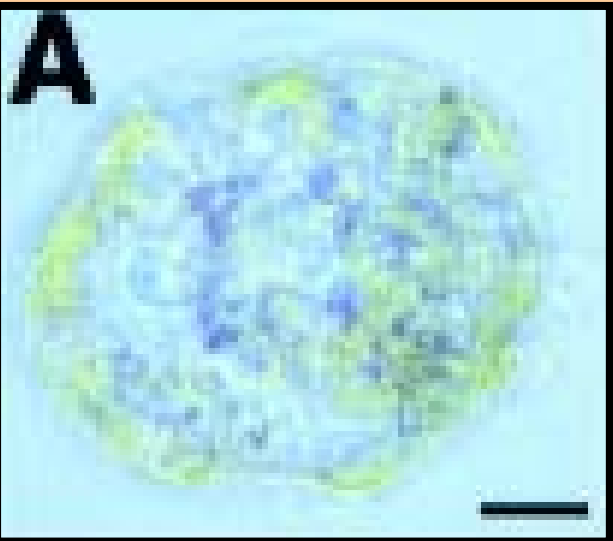




In vitro kultivace NSC – neurosféry
 c) **EGFR** + **nestin**; d) **BrdU** + **buněčná jádra**

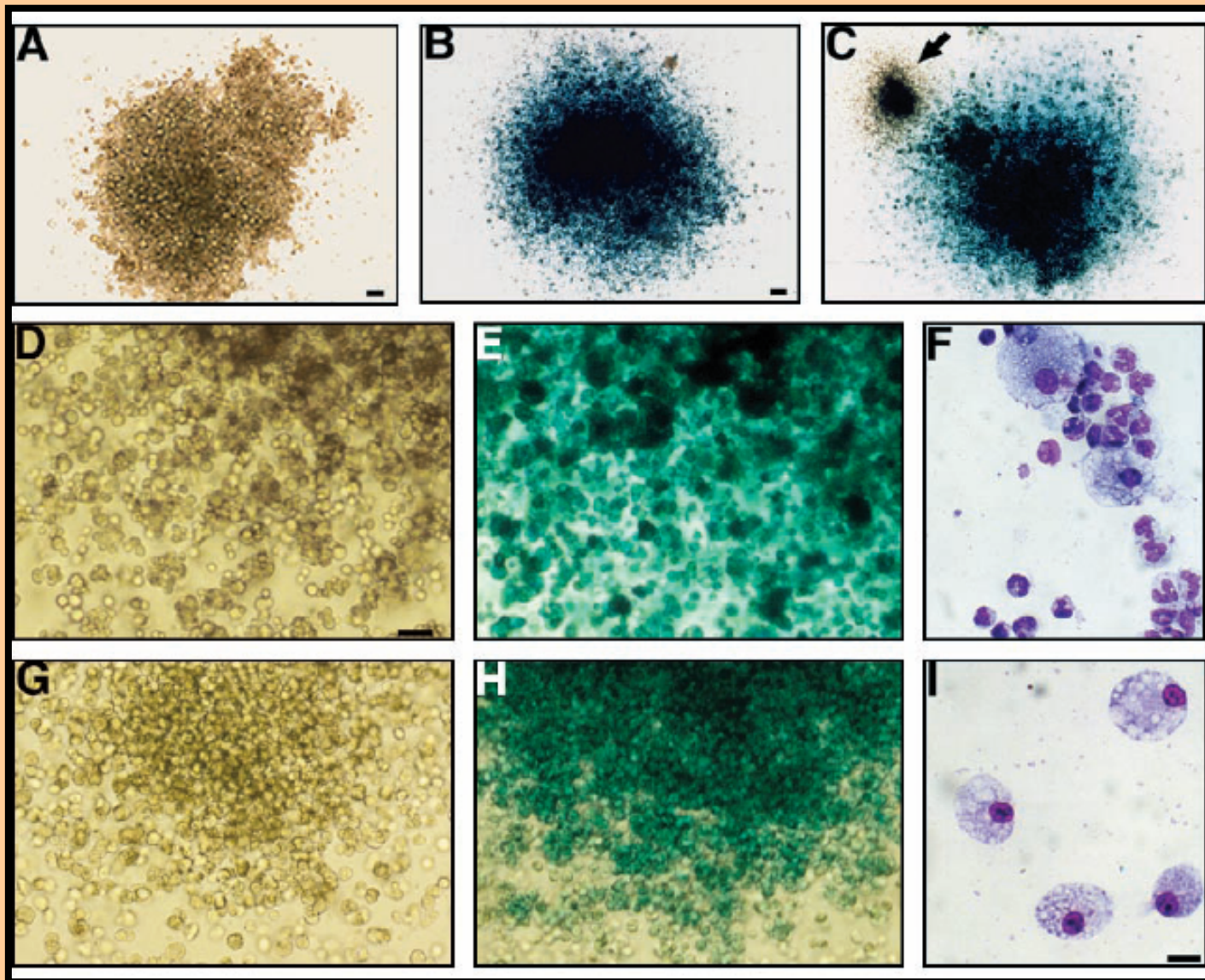


Clarke 2000



← **Chimerická blastocysta**
 vytvořená po smíchání blastomer normální
 a ROSA26 myši a myši embrya (11 dpc)
 normální a s ROSA26 chimerické myši. ↑

NSC jsou také schopny rekonstruovat hematopoézu (Bjornson 1999)



A – kolonie ze zdravé kostní dřeně; **B,C** kolonie z kostní dřeně NSCs (ROSA) transplantovaných myší po ozáření; **D,E** – GM-CFU z transplantovaných NSCs (ROSA); **G,H** - M-CFU z transplantovaných NSCs (ROSA); **D,G** a **E,H** – bez a s X-Gal; **F** – granulocyty + makrofágy & **I** – makrofágy, stanovení May-Grunwald-Giemsa