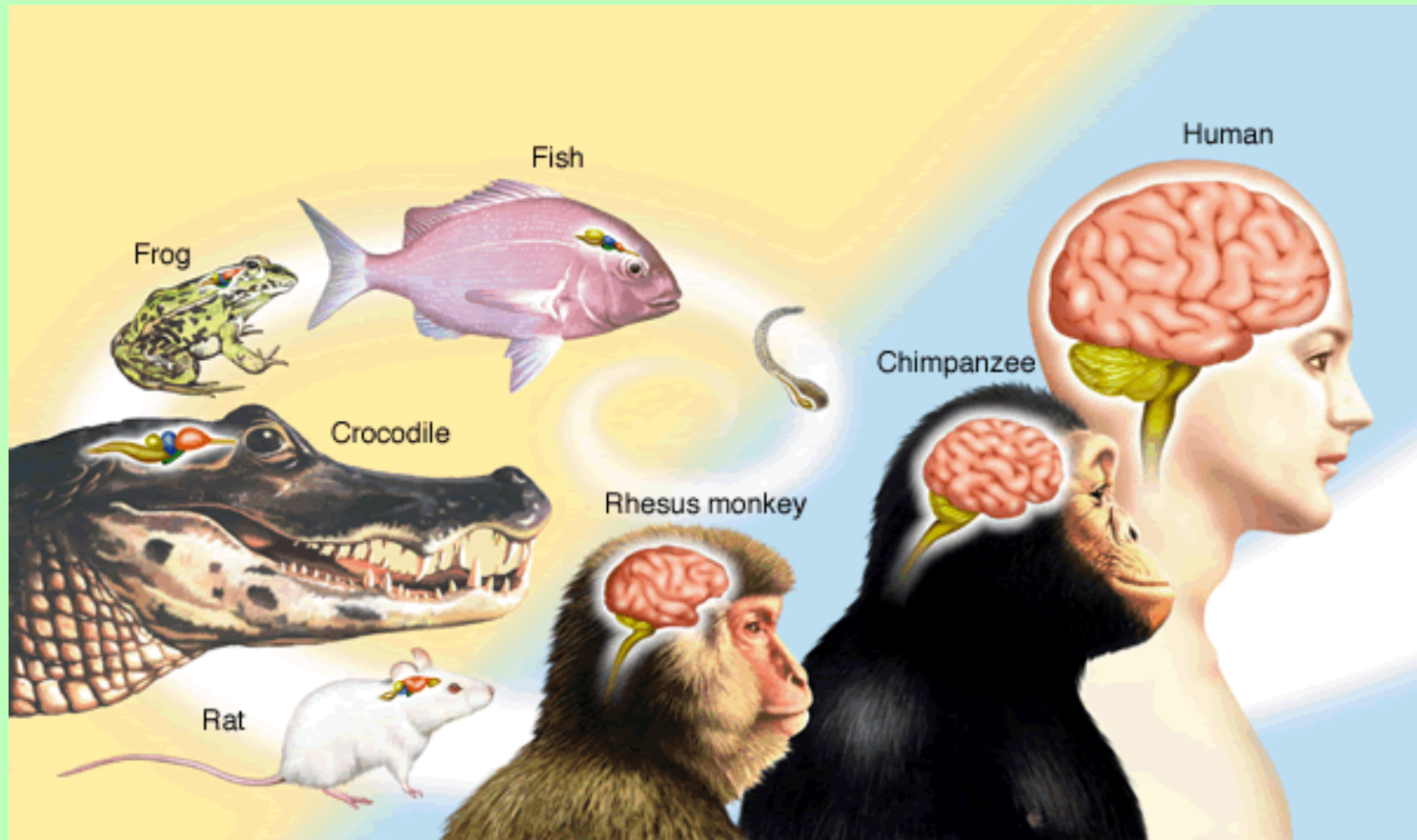


# Vývoj nervové soustavy



přednáška z Embryologie (PřF)

Josef Večeřa  
(ÚEB PřF MU, budova A36 univ. kampus Bohunice)

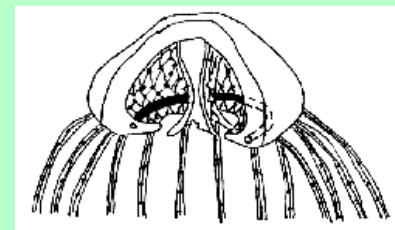
# Evoluční vývoj NS

## Rozptýlená (difúzní)

- Nediferencovaná (polypovci) - bipolární a multipolární **protoneurony** polypovců, axon a dendrit rovnocenné b., vzruch se šíří střejně rychle všemi směry

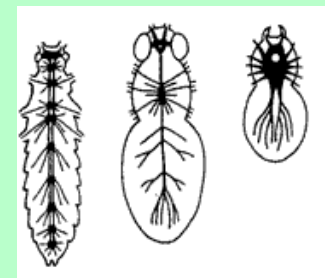


- Diferencovaná (medúzy, korálnatci) - polarizované dráhy neuronů, smysl. orgány (mechano-, chemoreceptory), primitivní ganglia



## Centralizace a cefalizace

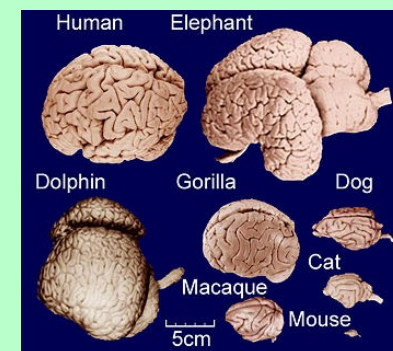
Gangliová – od **žebríčkové** (ploštěnci, kroužkovci) k **nervové pásce** (členovci), shlukování neuronů do ganglií → centralizace, už patrná cefalizace, gliové b.



Hmyz – rozlišení mozkového centra na protocerebrum, deutocerebrum, tritocerebrum; instinkty a podmíněné reflexy; **houbová tělíska** – paměť? Vegetativní nerv.soust. – trávicí trubice; neurohormonální sekrece

Hlavonožci – schopnost učení, nejvyspělejší nerv. systém bezobratlých; obří axony – zrychlené vedení n.vzruchu

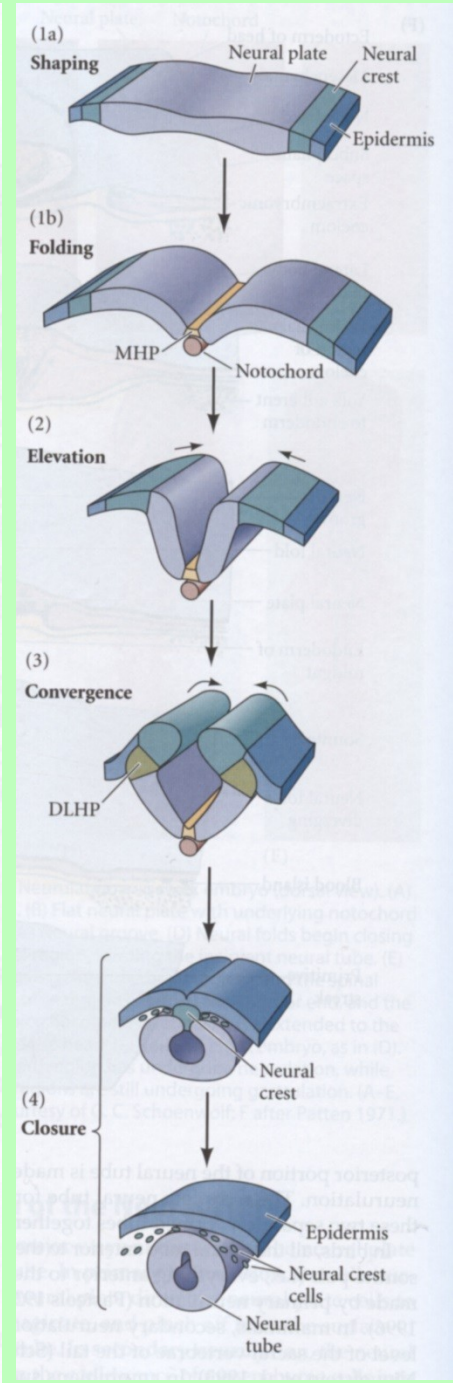
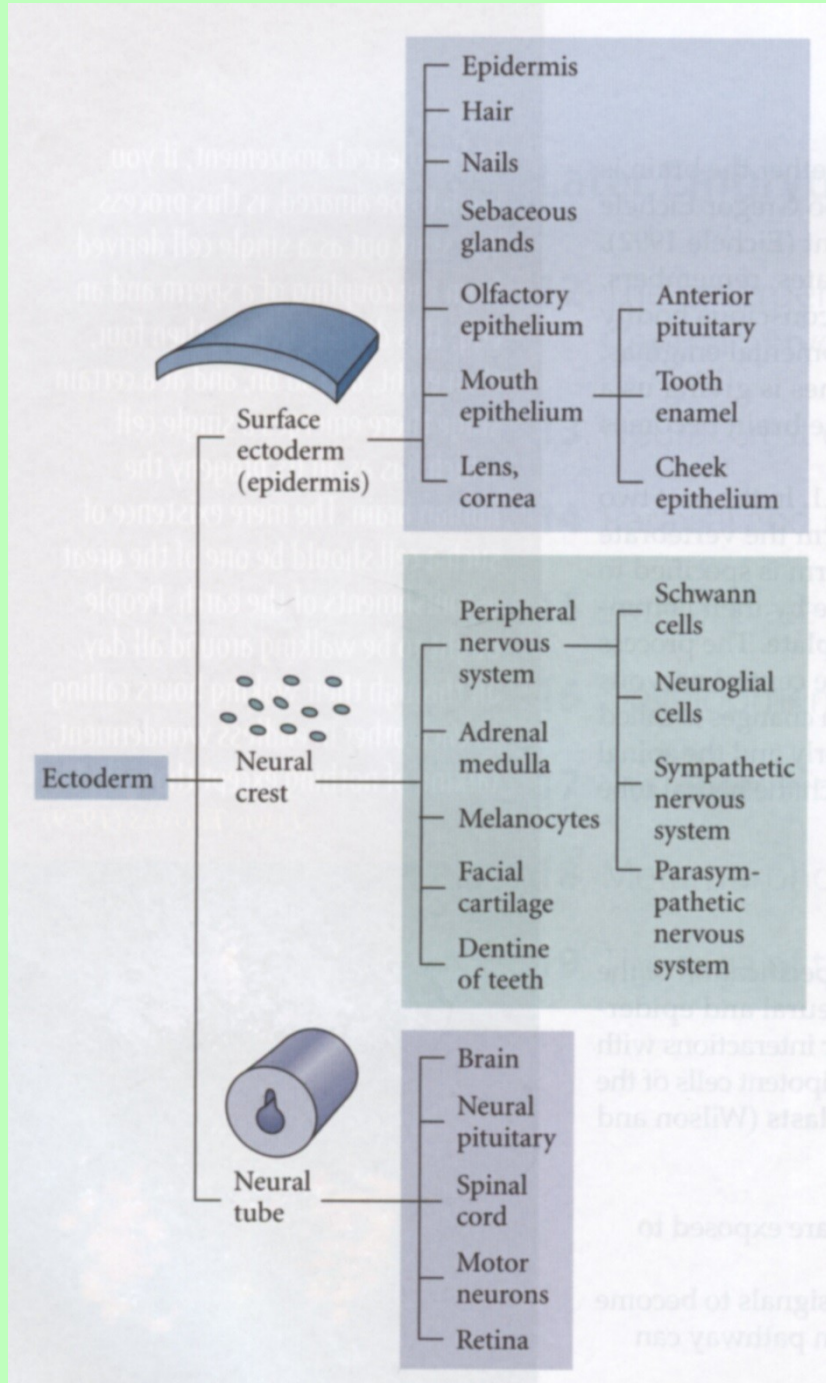
Trubicovitá – strunatci - vývoj z neurální ploténky nad chordou, obratlovčí mozek a mícha, pravé hormony, myelinizace axonů, deriváty neurální lišty



# Deriváty ektodermu

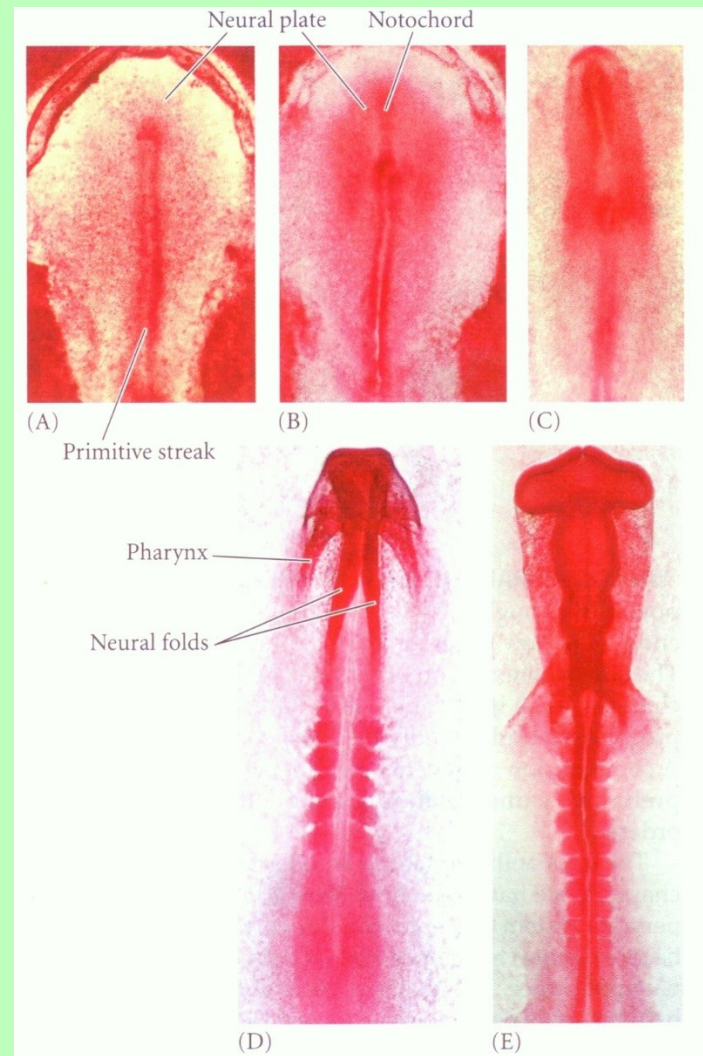
- Pokožka a její deriváty
- Zubní sklovina
- Nervová soustava
- Smyslové orgány
- ...

.. malpigické trubice a tracheje hmyzu, protonefridie larev kroužkovců, zevní žábry vodních živočichů, plicní vaky pavouků,...



# Morfogeneze NS

## Tvarování a anatomická specifika



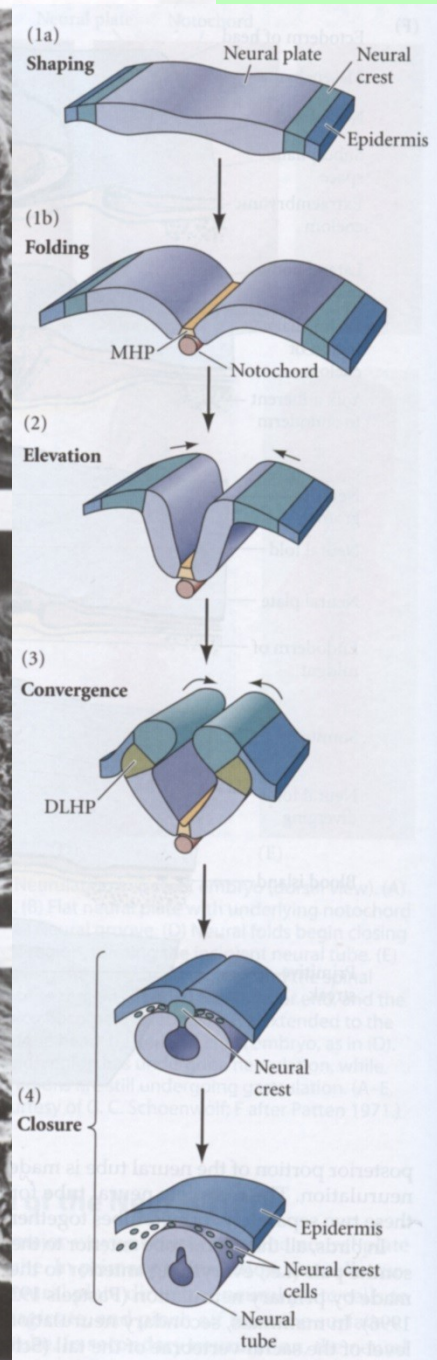
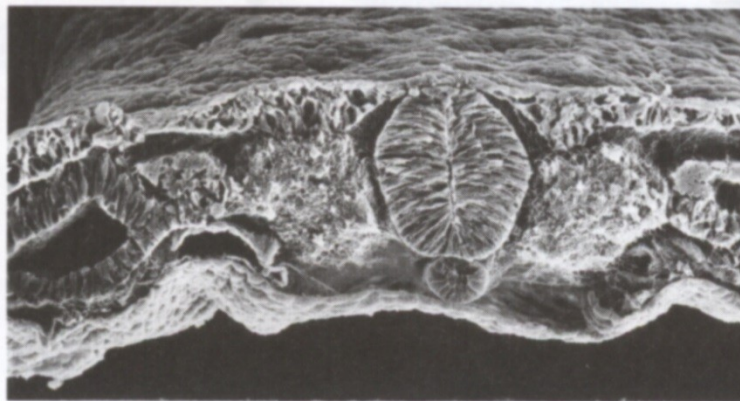
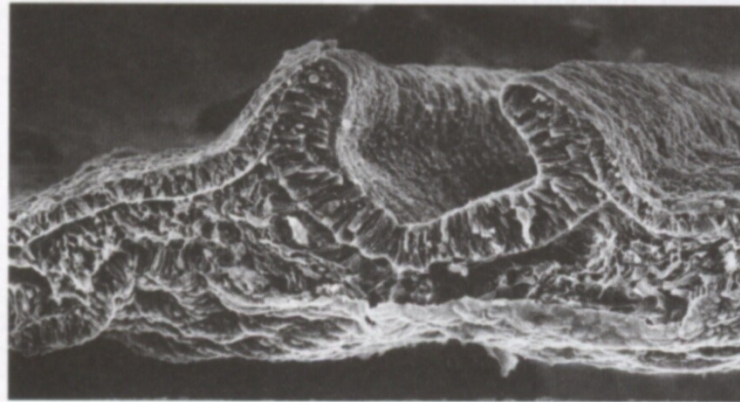
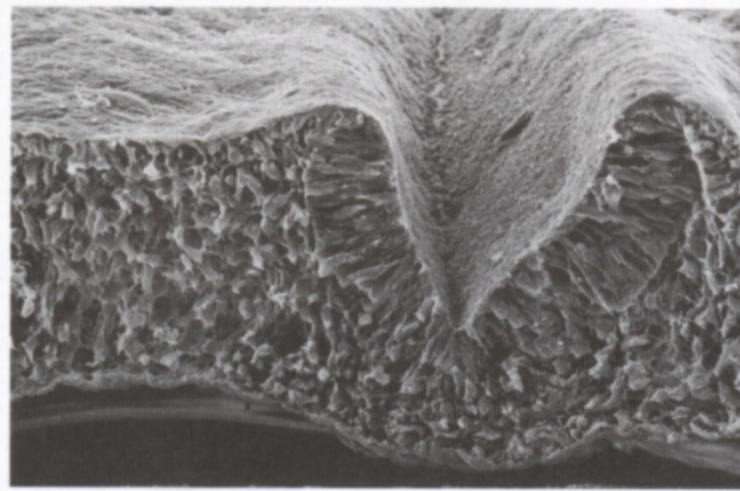
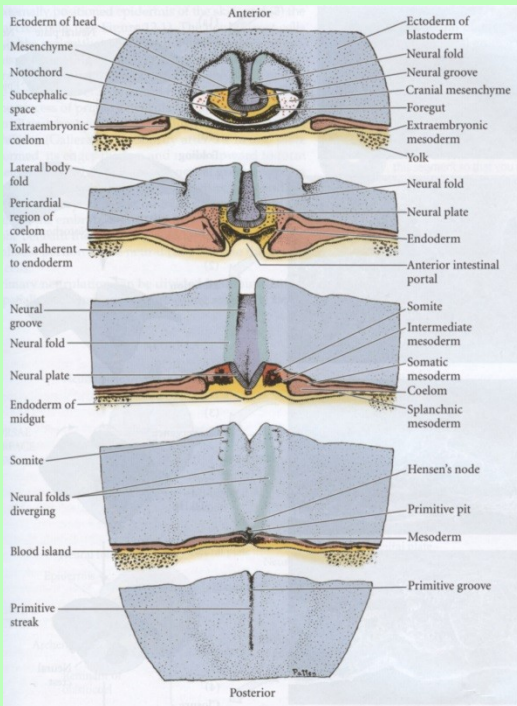
**FIGURE 12.2** Neurulation in a chick embryo (dorsal view). (A) Flat neural plate. (B) Flat neural plate with underlying notochord (head process). (C) Neural groove. (D) Neural folds begin closing at the dorsalmost region, forming the incipient neural tube. (E) Neural tube, showing the three brain regions and the spinal cord. The neural tube remains open at the anterior end, and the optic bulges (which become the retinas) have extended to the lateral margins of the head. (F) 24-hour chick embryo, as in (D). The cephalic (head) region has undergone neurulation, while the caudal (tail) regions are still undergoing gastrulation. (A–E, photographs courtesy of G. C. Schoenwolf; F after Patten 1971.)

# Neurulace – raný vývoj

## Primární neurulace

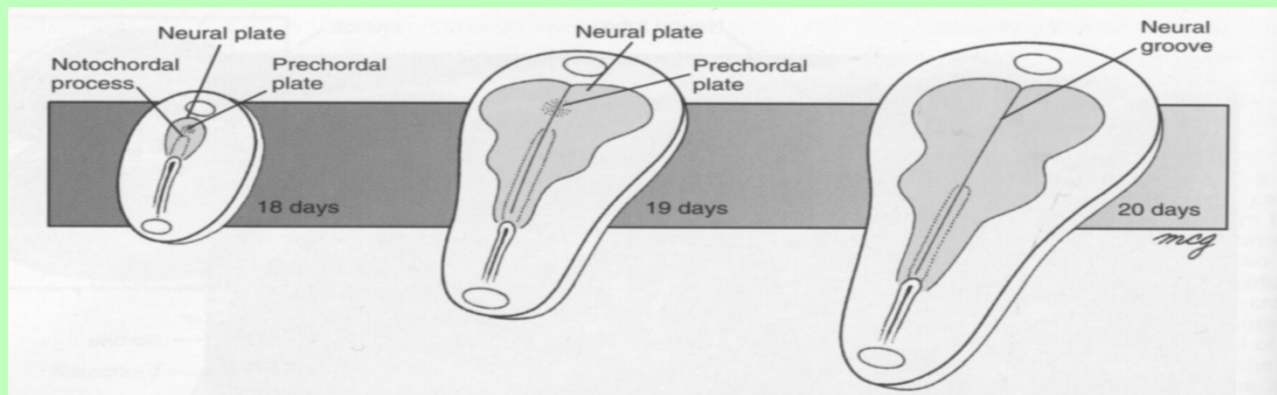
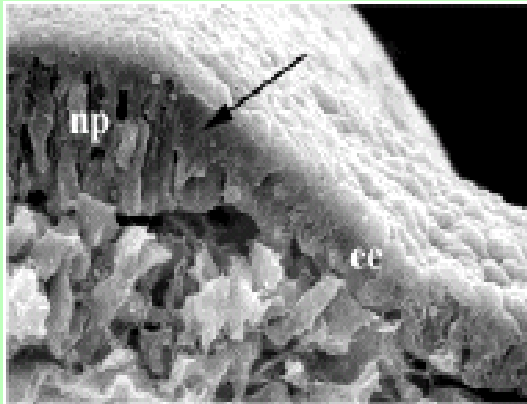
Vznik primární NT, uzavření NT

- 1) Formování neurální ploténky
- 2) Tvarování neurální ploténky
- 3) Zvedání valů a ohýbání
- 4) Uzavírání nervové trubice



## 1) Formování neurální ploténky

- iniciace z dorzálního mesodermu (inhibice BMP4) → prodlužování buněk ektodermu → cylindrické b. neuroektodermu



## 2) Tvarování neurální ploténky

- diferenciace **podél antero-posteriorní osy** po Hensenův uzel, dále se rozbíhá → prodlužování a zužování při konvergentní extenzi, anteriorně rozšíření (základ mozku) - rýčovitý tvar

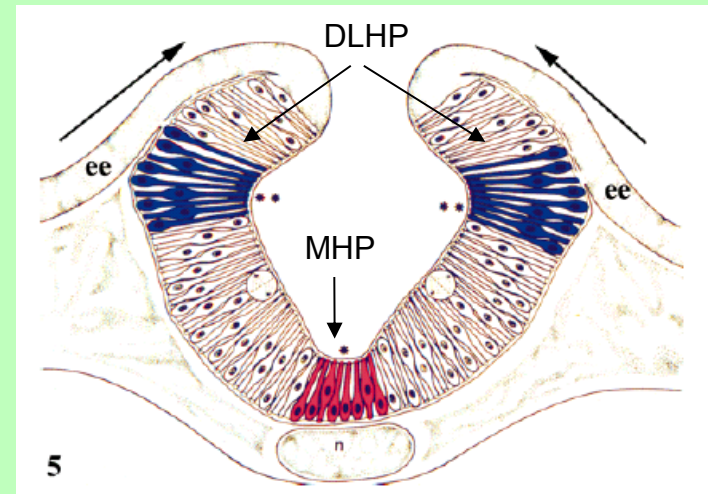
### 3) Zvedání valů - ohýbání

- signál z notochordu (organizér) - dno neurální trubice

- prodloužení buněk (mikrotubuly) a zúžení v apikální č. buněk (aktin)

- „panty“ MHP (medial hinge point) a DLHP (dorsolateral hinge point) – pevně ukotvené k notochordu a ektodermu

- vnější tlak z epidermis

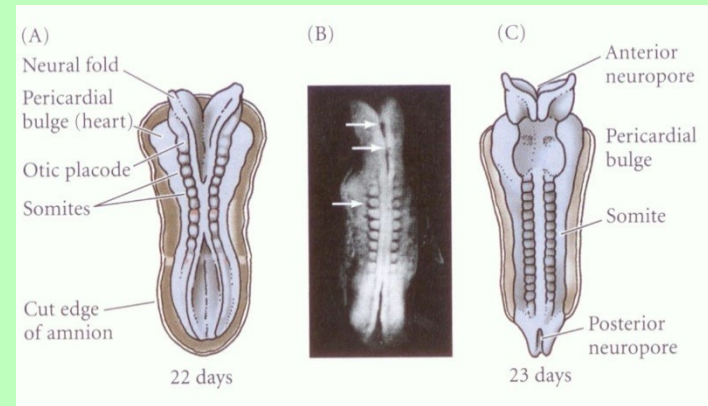


### 4) Uzavírání nervové trubice

- fúze valů – z E-cadherinu na N-cadherin – přerušování adheze ekt. a neuroekt.

- Inicuje na více místech (u člověka 3, 23.den)

- oddělení a migrace buněk neurální lišty (neural crest)



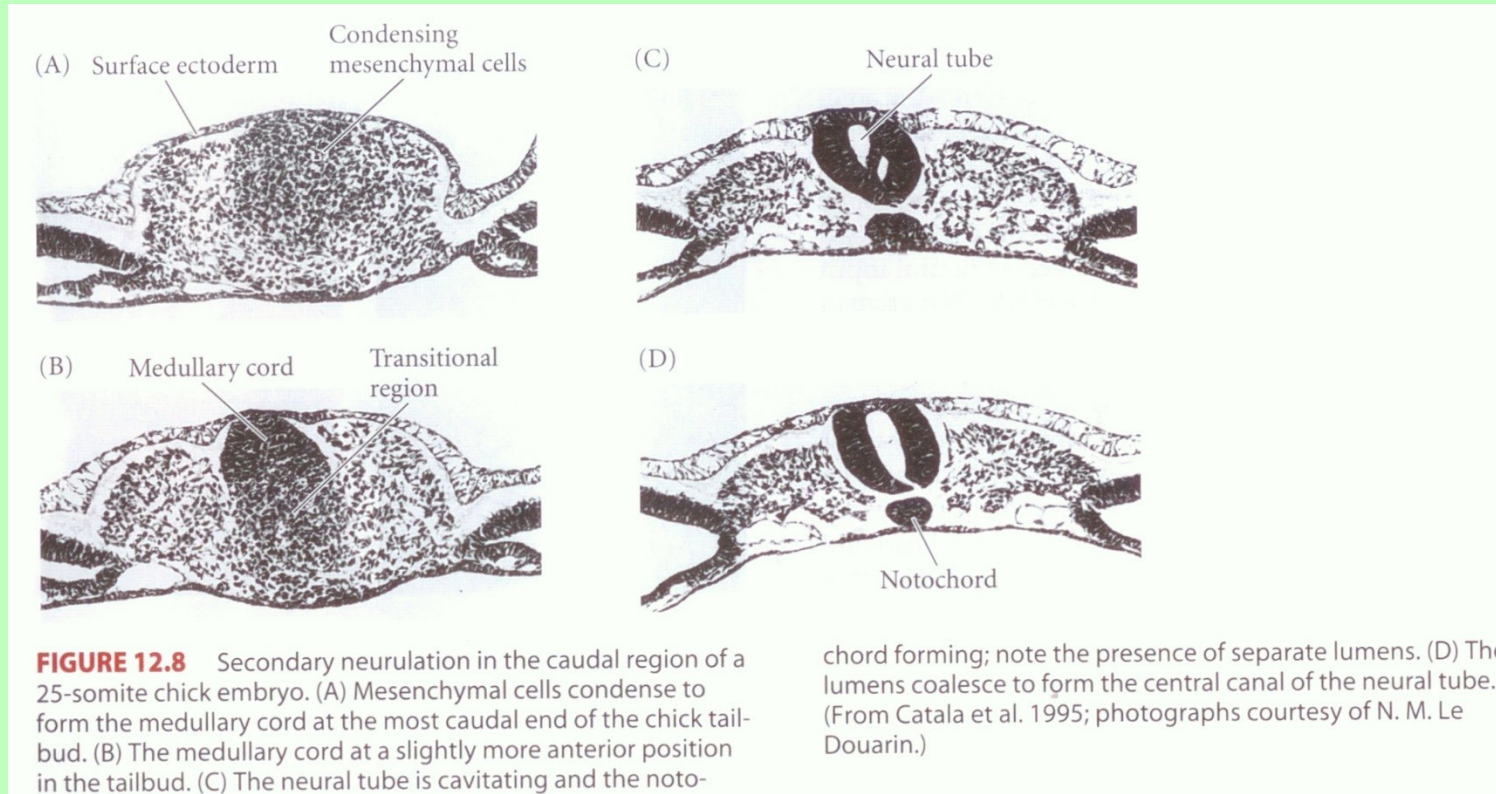
### Defekty neurální trubice

- Neúplné uzavření trubice, geneticko (SHH, Pax3) – environmentální (kyselina listová/B12) faktory – anencefalie, spina bifida, kraniorachischíza



## Sekundární neurulace

vznik definitivní nerv.trubice

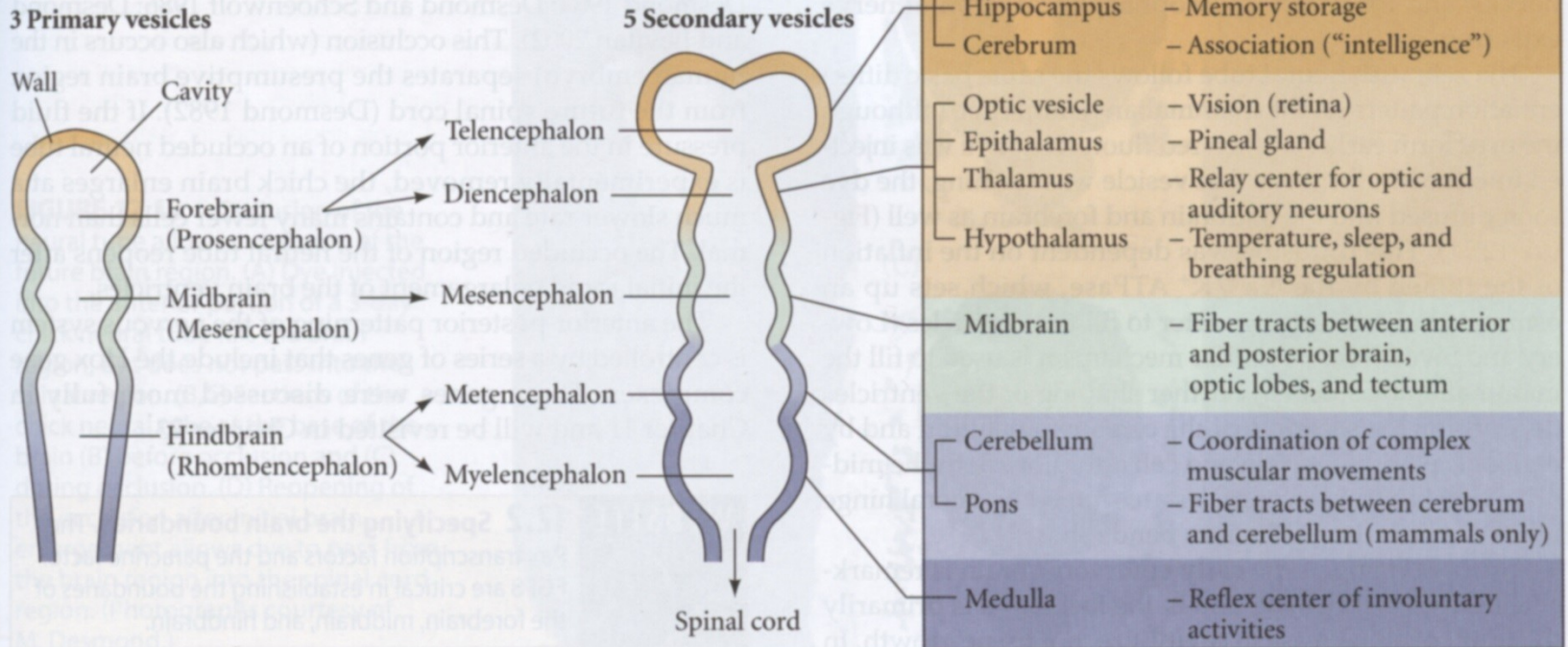


- Segregace buněk budoucí neurální trubice od b. b. epidermis
- Kondenzace mezenchymu pod ektodermem
- tvorba dutin – kavitace (mezidruhové rozdíly)
- splývání dutin v definitivní nervovou trubici



# Cefalizace a pozdní vývoj

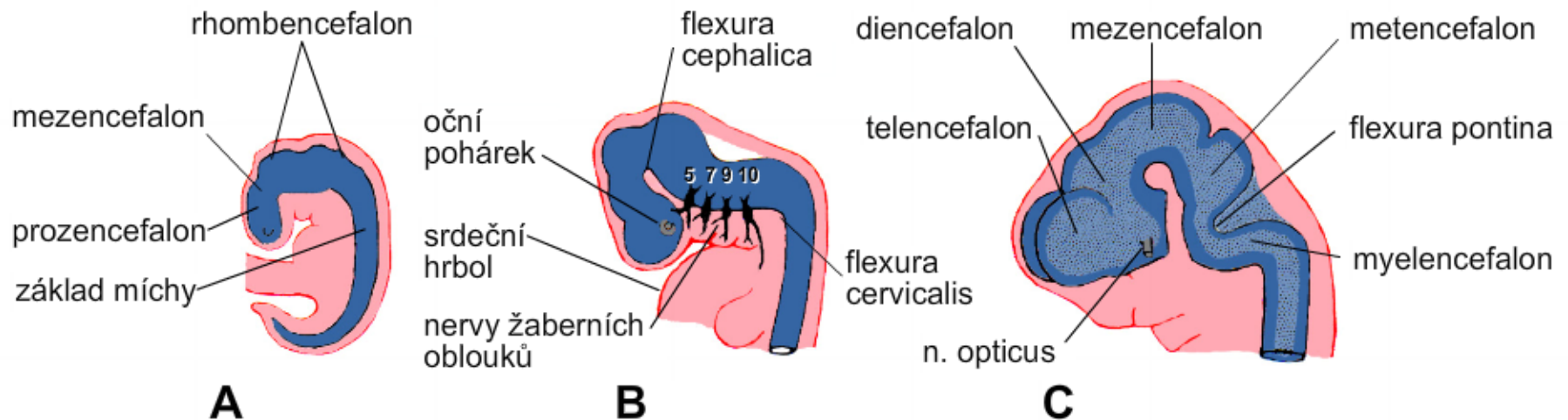
**FIGURE 12.9** Early human brain development. The three primary brain vesicles are subdivided as development continues. At the right is a list of the adult derivatives formed by the walls and cavities of the brain. (After Moore and Persaud 1993.)



- Zvětšování mozku – ne b. růstem, ale vyplňování tekutinou (gradient Na/K ATPáz, přepažení trubice na hranici mícha/mozek, později zaniká)
- Tvarování mozku – sekrece tekutiny, lokální proliferace, adheze a ohýbání
- Rhombomery – diferencované segmenty budoucí míchy (difer. hlavových nervů)

## Ohnutí (flexury):

- temenní - mezi rhombencefalem a mezencefalem – směr dorzální – trvalé
- tylní – mezi prodlouženou a hřbetní míchou – směr dorzální – po 2.měsíci se vyrovnává
- mostu – oblast rhombencefala (metencefala) – směr ventrální – prohlubuje se



Rhombencefalon – **myelencefalon** (prodloužená mícha)

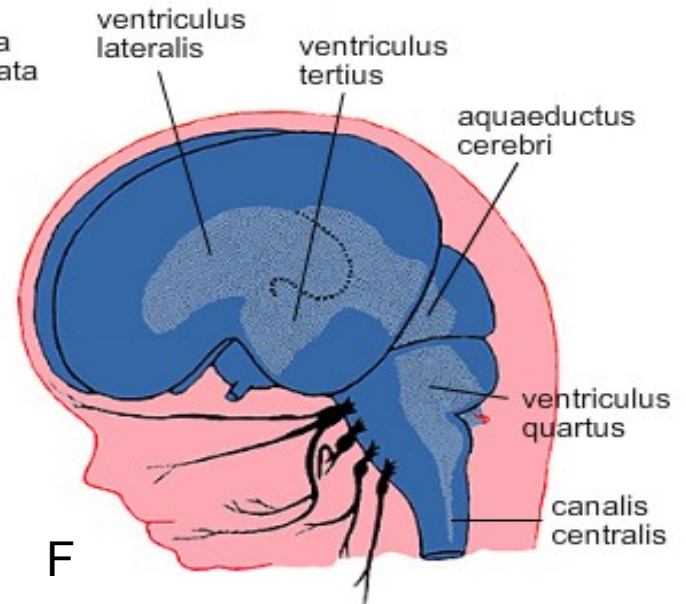
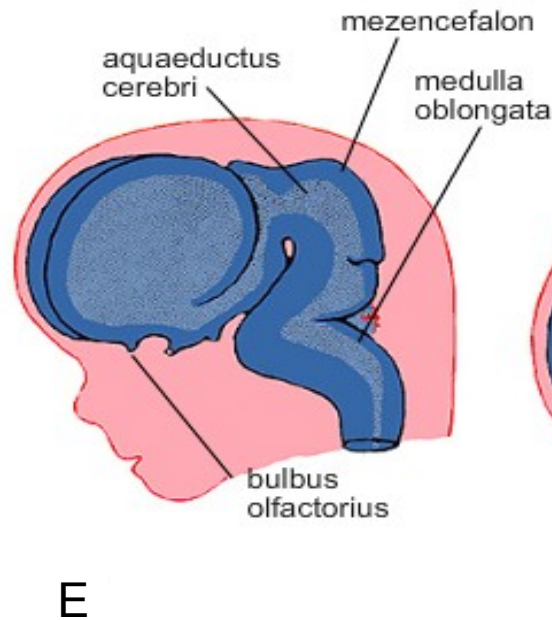
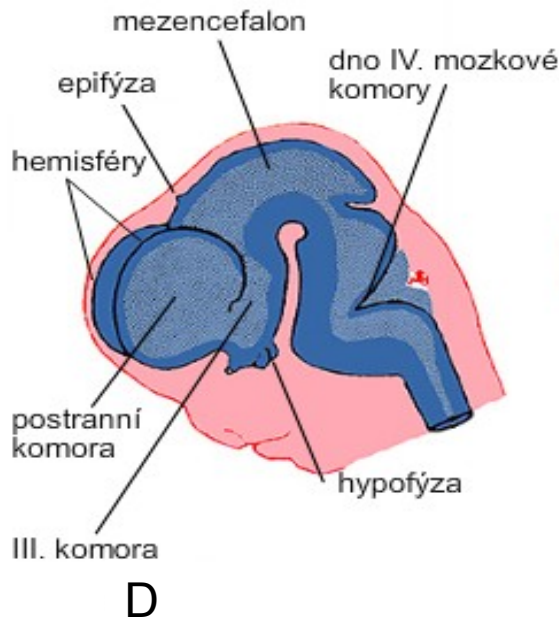
- **metencefalon** (most a mozeček)

Proencefalon – zvětšení dorzální stěny – **telencefalon**

- přední a postranní část – **diencefalon**

**Mezencefalon** zůstává nerozdělen

Lineární uspořádání (za sebou) – různé růstové rychlosti – kladení přes sebe



**Metencefalón** (mozeček, most) – zbytnění dorzální ploténky v mozečkovou (2. měsíc) a rýhování (3. měsíc) až hemisféry (5. měsíc)

**Mezencefalón** (střední mozek) – dorzálně temenní ohnutí (nejvyšší bod mozku), tvorba hrbolků (4. měsíc)

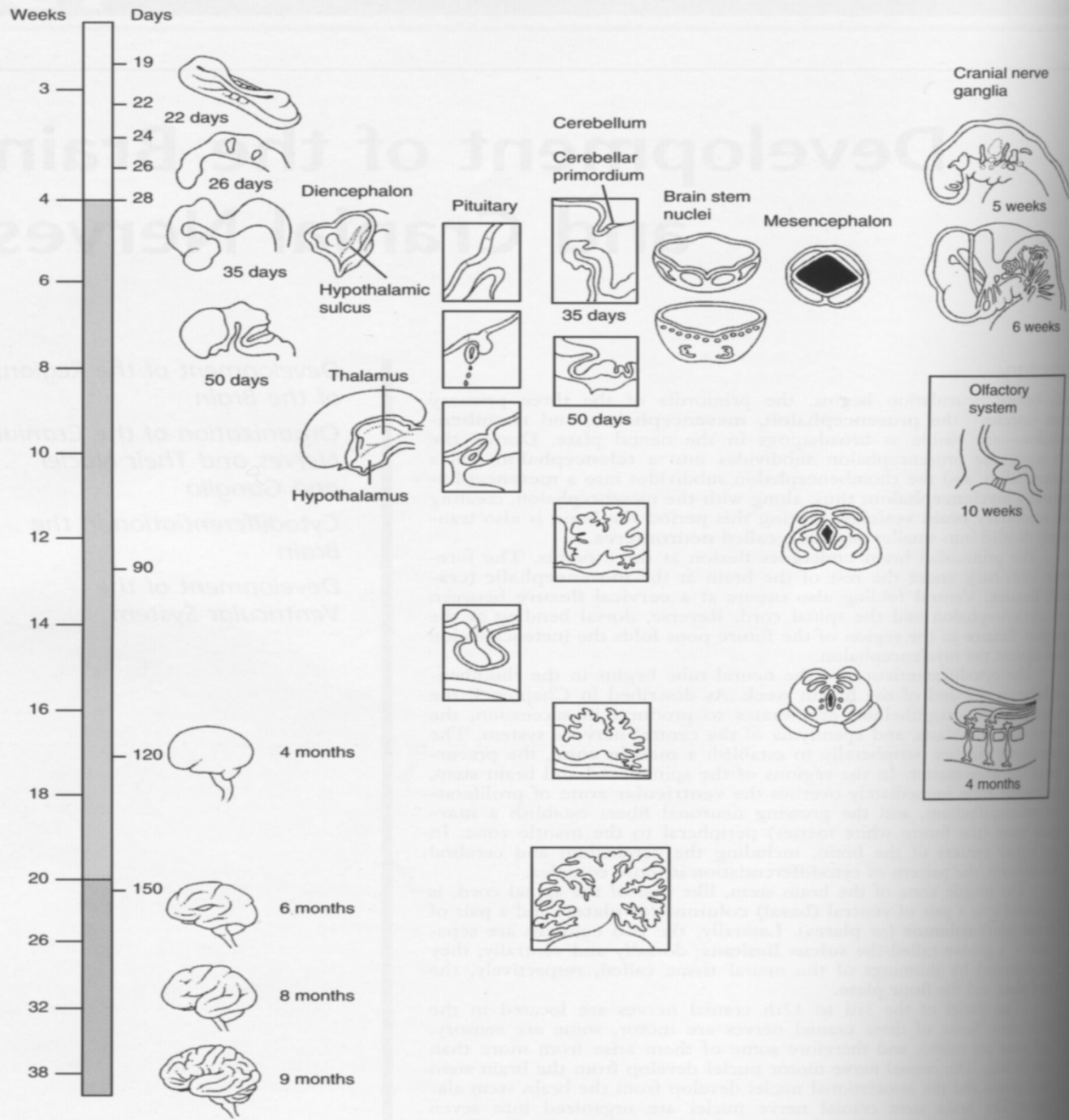
**Diencefalón** (mezimozek) – dorzálně se tvoří výběžek pro epifýzu, sulcus limitans odděluje dorzální thalamus a ventrální hypothalamus (pod ním hypofýza)

**Telencefalón** (konc.mozek) – laterální rozšíření v hemisféry – spojení mezi nimi zaostává v růstu (stopka)

Základ mozkové kůry (pallium) se v 2. měsíci člení na paleopallium a neopallium.

Neopallium – diferenciací směrem k povrchu – 6 vrstev různých typů neuronů

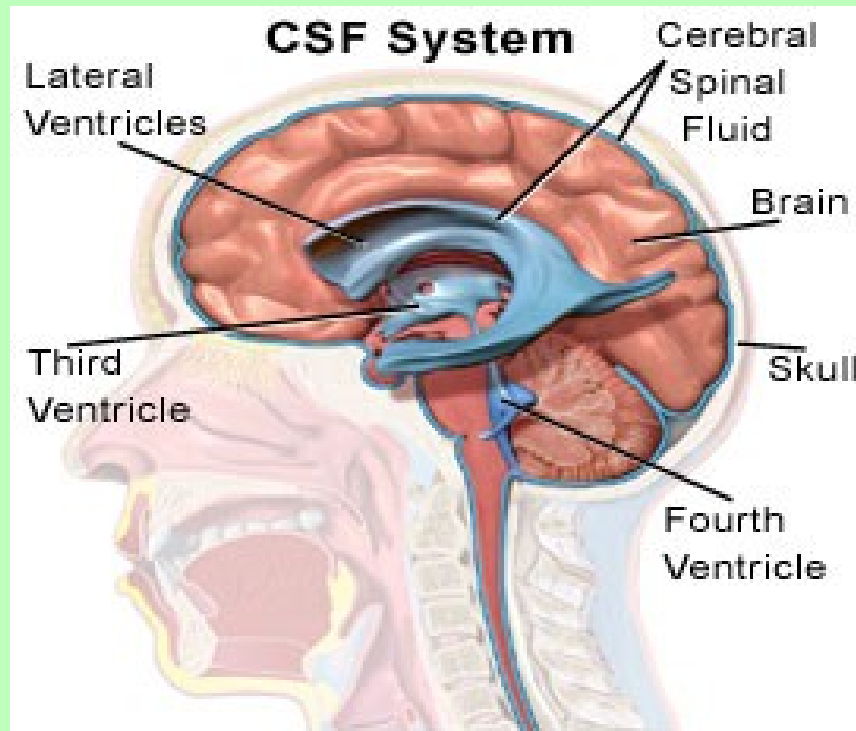
Rychlý nestejný růst → rýhy (sulci) a závitě (gyri) (od 6. týdne)



## Vývoj mozkových komor

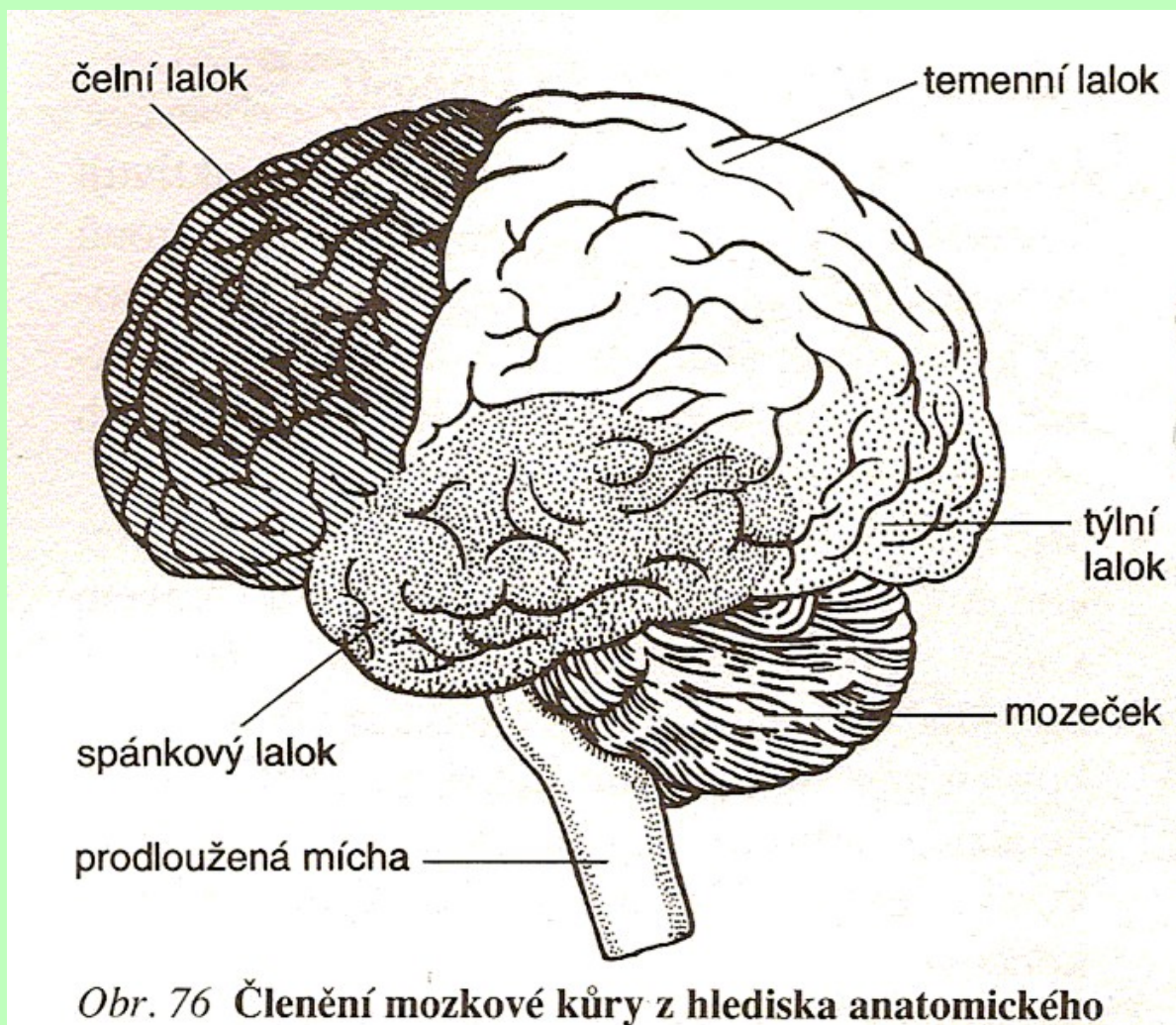
Se vznikem sekundárních mozkových váčků se rozčlení i mozková dutina

- dvě postranní mozkové komory uvnitř hemisfér (I. a II.)
- III. Mozková komora – dutina diencefala
- Sylviov kanálek - mohutná komora ve středu mezencefala později zúžená v kanálek
- IV. mozková komora – přeměna dutiny původního rhombencefala



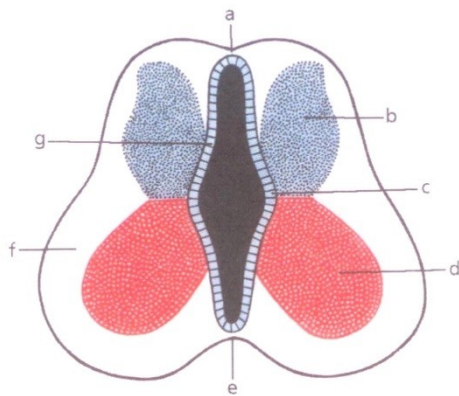
Mozková kůra se dělí na **laloky** (*lobus*), které se skládají ze **závitů** (*gyrus*) a ty jsou od sebe odděleny **zářezy** (*sulcus*).

Členitá stavba mozkové kůry, výrazně zvětšuje její funkční plochu, která u člověka činí průměrně 2000 cm<sup>2</sup>.



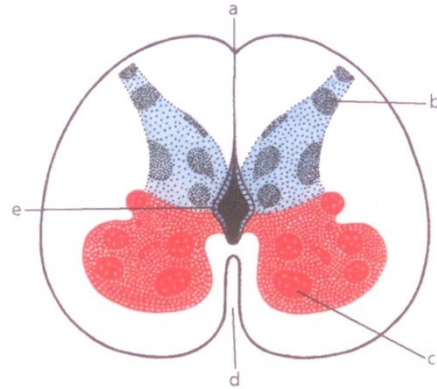
# Mícha

- Vznik z kaudálního úseku neurální trubice
- Laterální mohutnění proliferací buněk a přikládáním nervových vláken – inervace ze spin.ganglií
- Spojení výběžků neuroblastů a spinálních ganglií → spinální nervy
- dorzálně zbytnění ependym.vrstvy
- ventrálně zářez – fissura mediana
- **Sensorické neurony/spinální ganglia mají původ v buňkách neurální lišty!**



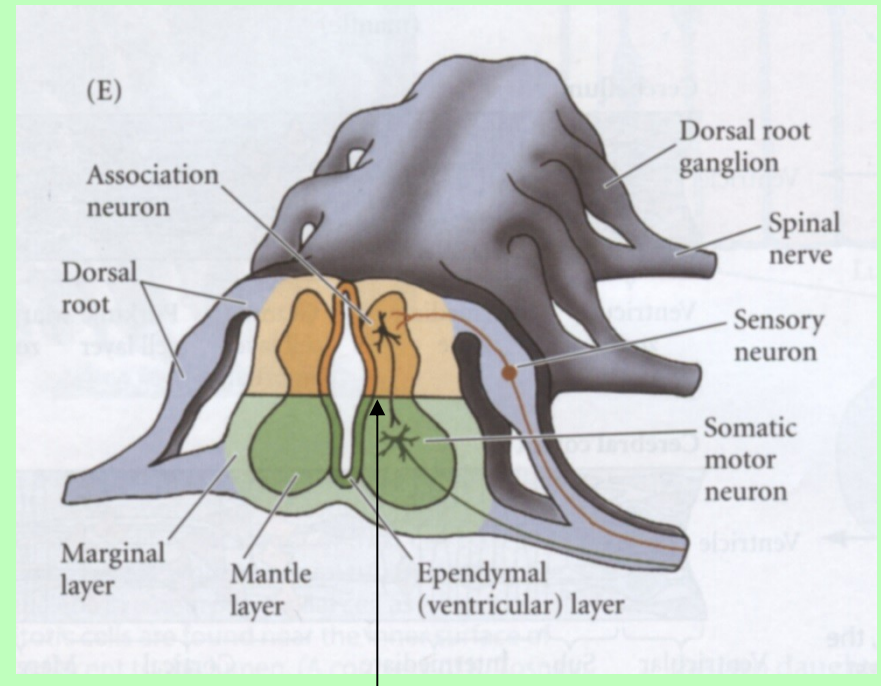
Obr. 8.146 Schéma vývoje míchy. Příčný řez míchou embrya 15 mm dlouhého, asi 6 týdnů starého.

a – dorzální ploténka, b – alární ploténka, c – sulcus limitans, d – bazální ploténka, e – ventrální ploténka, f – plášťová vrstva, g – ependymová vrstva.



Obr. 8.147 Schéma vývoje míchy. Příčný řez míchou embrya 40 mm dlouhého, asi 9 týdnů starého.

a – septum medianum posterius, b – senzitivní jádro v zadním sloupci šedé hmoty, c – motorická jádra v předním sloupci šedé hmoty, d – fissura mediana anterior, e – sulcus limitans v centrálním kanálu míšním.



Sulcus limitans

- Hranice mezi alárními a bazálními ploténkami – sulcus limitans



# Morfogeneze NT – identita, gradienty morfogenů

## Iniciace neuroektodermu (člověk cca 2.týden)

- gradient BMP4 určuje vývoj ventrálního mezodermu a epidermis

- Inhibicí BMP4 se určuje dorzálně osud notochordu a nerv.soustavy

- Aktivní FGF podporuje tvorbu mezodermu, zároveň blokuje BMP a aktivuje proneurální geny (Sox3)

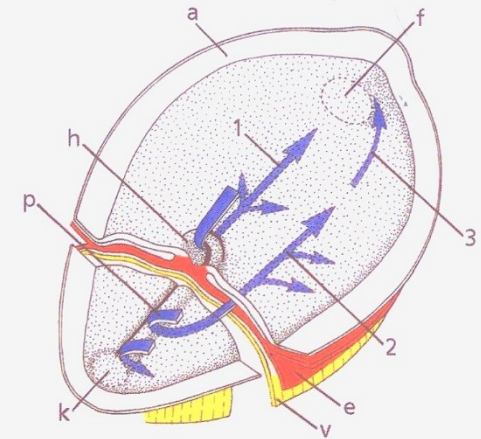
2 signální centra pro neurální diferenciaci:

**AVE** (anterior visceral endoderm) blokována Wnt (Dickkopf) a Nodal (Lefty, Cerberus), podporuje „organizer“

**Hensenův uzel** (též uzel nebo „organizer“) blokována Wnt (Dickkopf) a BMP (**Chordin, Noggin**), inicijuje vznik notochordu

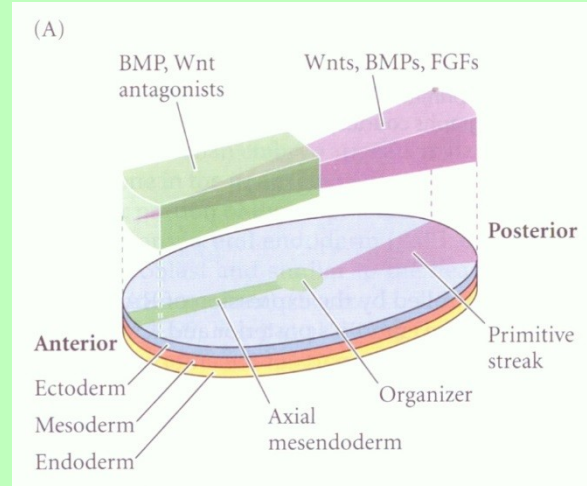
- obě centra určují **anteriorně** vývoj nervové trubice a hlavové části (proencef., mezencef.), inhibice BMP, Wnt a RA (Cyp26)

- **posteriovní** část má stále aktivní Wnt, BMP, FGFs, RA (retinová kyselina) a dává vzniknout rhombencefalu a míše

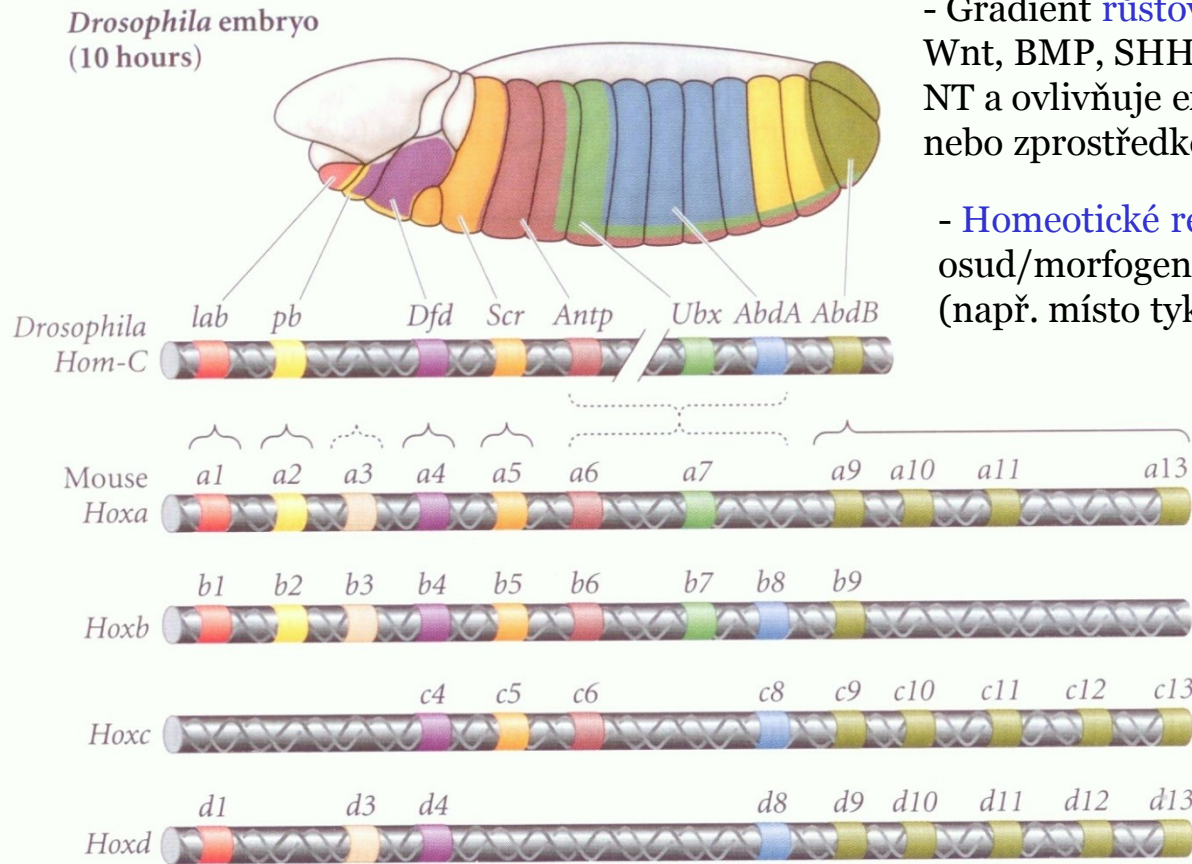


**Obr. 5.3** Pohled na dorzální plochu zárodečného terčiku lidského embrya v presomitovém stadiu.

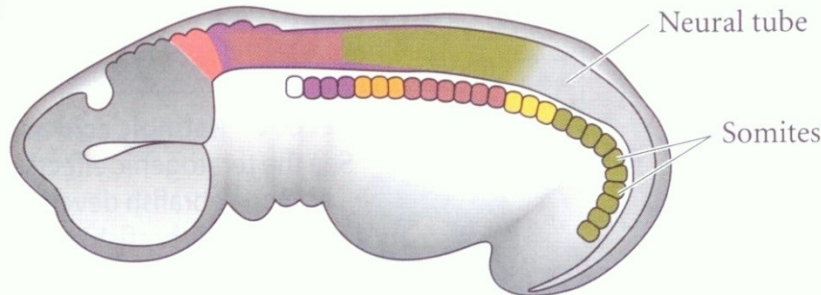
Proliferace mezodermu naznačena šipkami. 1 – mezoderm šířící se od primitivního uzlu kranálně a laterálně, 2 – mezoderm šířící se od primitivního proužku kranálně a ventrálně, 3 – šířící se hlavový mezoderm, a – stěna amniového váčku, e – extraembryonální mezoderm, f – prechordová ploténka, h – primitivní uzel Hensenův, k – kloaková membrána, p – primitivní proužek, v – stěna žloutkového váčku.



# Řízení morfogeneze (anterior-posteriorní)



Mouse embryo (12 days)

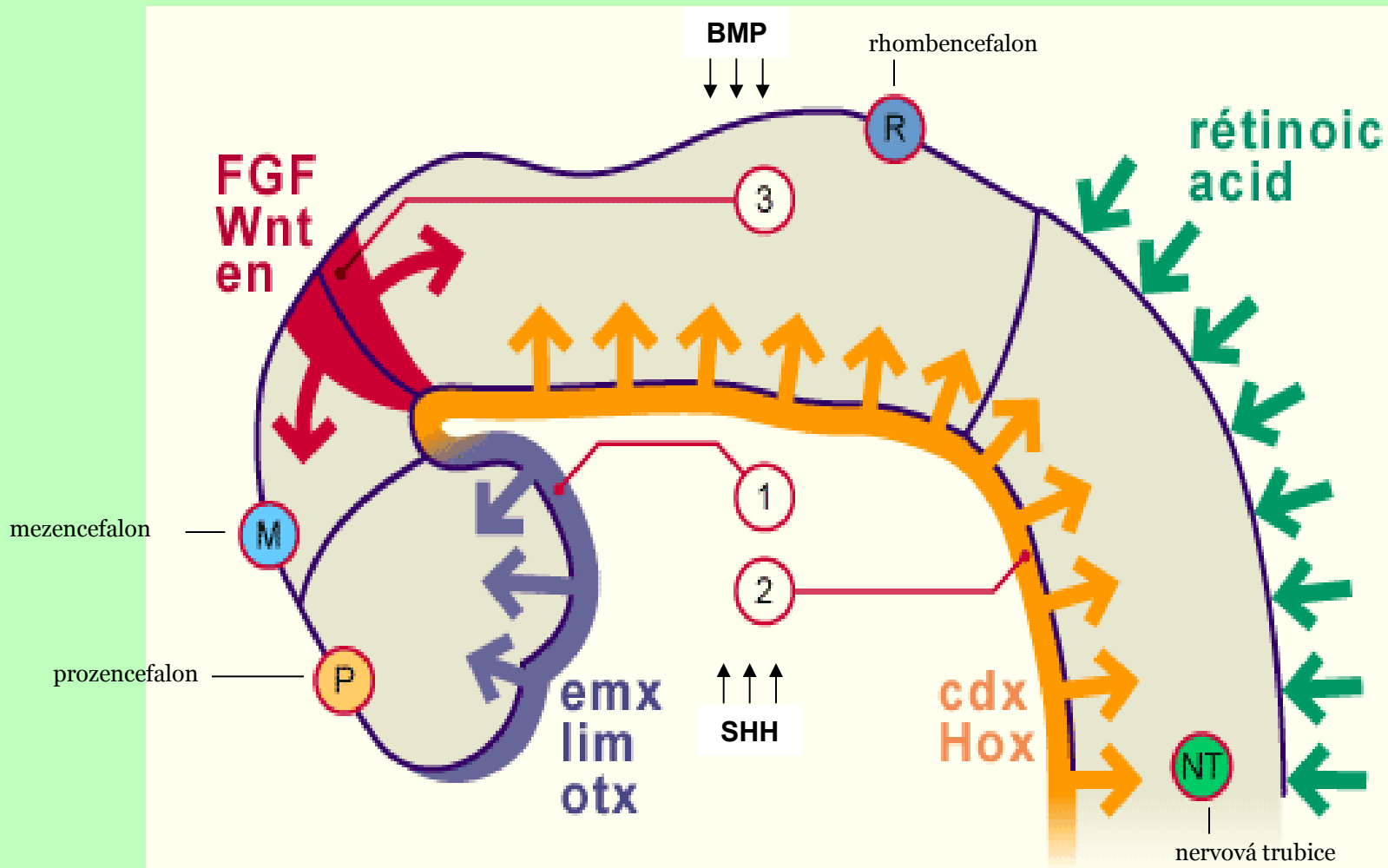


- Gradient **růstových faktorů a morfogenů** (FGF, RA, Wnt, BMP, SHH) určuje základní geografické rozlišení NT a ovlivňuje expresi homeotických genů (přímo nebo zprostředkovaně přes jiné TF)

- **Homeotické regulační geny** (*Otx*, *Emx*, *Hox*..) určují osud/morfogenezi jednotlivých tělních segmentů (např. místo tykadla nevyroste zadní noha)

**FIGURE 11.42** Evolutionary conservation of homeotic gene organization and transcriptional expression in fruit flies and mice is seen in the similarity between the *Hom-C* cluster on *Drosophila* chromosome 3 and the four Hox gene clusters in the mouse genome. The mouse genes of the higher numbered paralogous groups are those that are expressed later and more posteriorly. Genes having similar structures occupy the same relative positions on each of the four chromosomes, and paralogous gene groups display similar expression patterns. The comparison of the transcription patterns of the *Hom-C* and *Hoxb* genes of *Drosophila* and mice are shown above and below the chromosomes, respectively. (After Carroll 1995.)

## Proencefalon a mezencefalon



- Hlavová část: Inhibice BMP a Wnt → *Otx/Emx* geny, určují identitu hlavové části
- Isthmus (předěl mezenc. a rhombenc.): *FGF/Wnt* → *En/Wnt1*, důležité pro vývoj mozečku
- Posteriorní část: Aktivní *FGF/RA/Wnt* gradient → *Cdx* → *Hox* geny, určují identitu od rhombomerů dál dorzálně
- Indukce dorso-ventrální – BMP a SHH gradient (např. oddělení hypotalamu od thalamu)

SHH – Sonic hedgehog

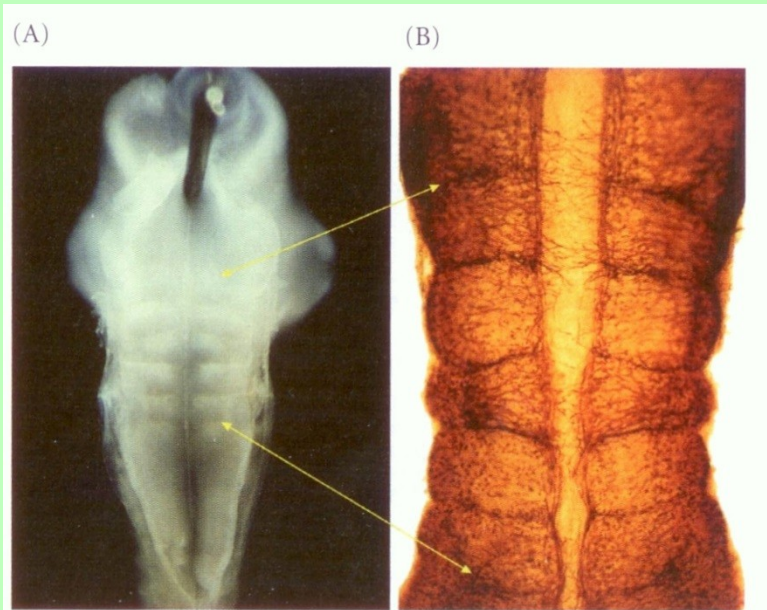
RA – retinoic acid

FGF – fibroblast growth factor

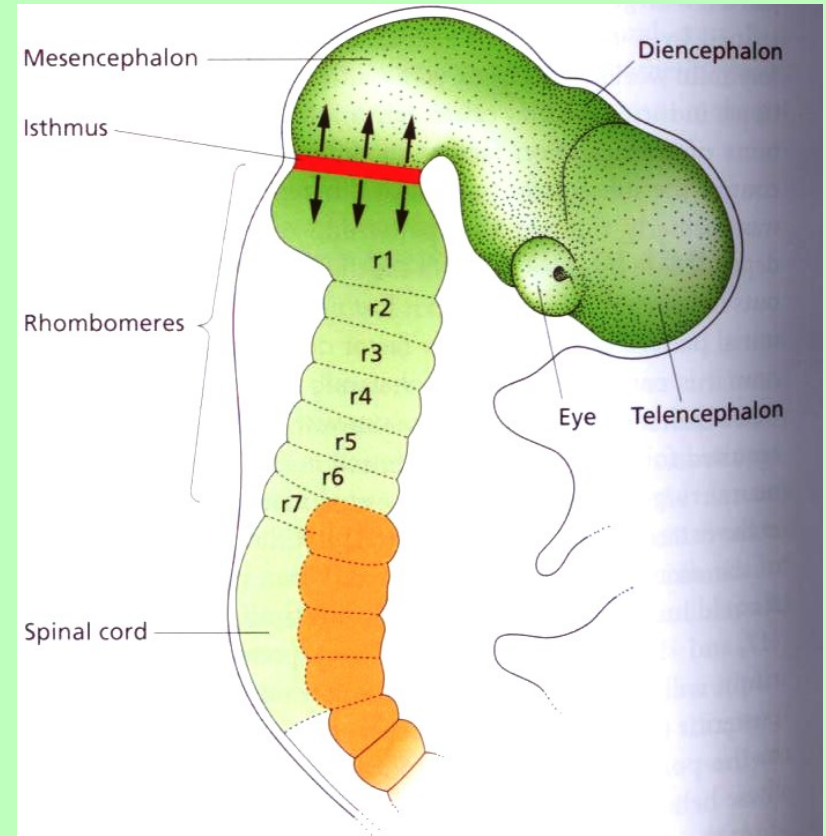
BMP – bone morphogenetic protein

## Rhombencefalon - rhombomery – prodloužená mícha

- Z jednotlivých segmentů se vyvíjí hlavové nervy - interakce s buňkami neurální lišty!
- *Hox* geny a interakce Ephrinů s jejich receptory určuje hranic segmentů

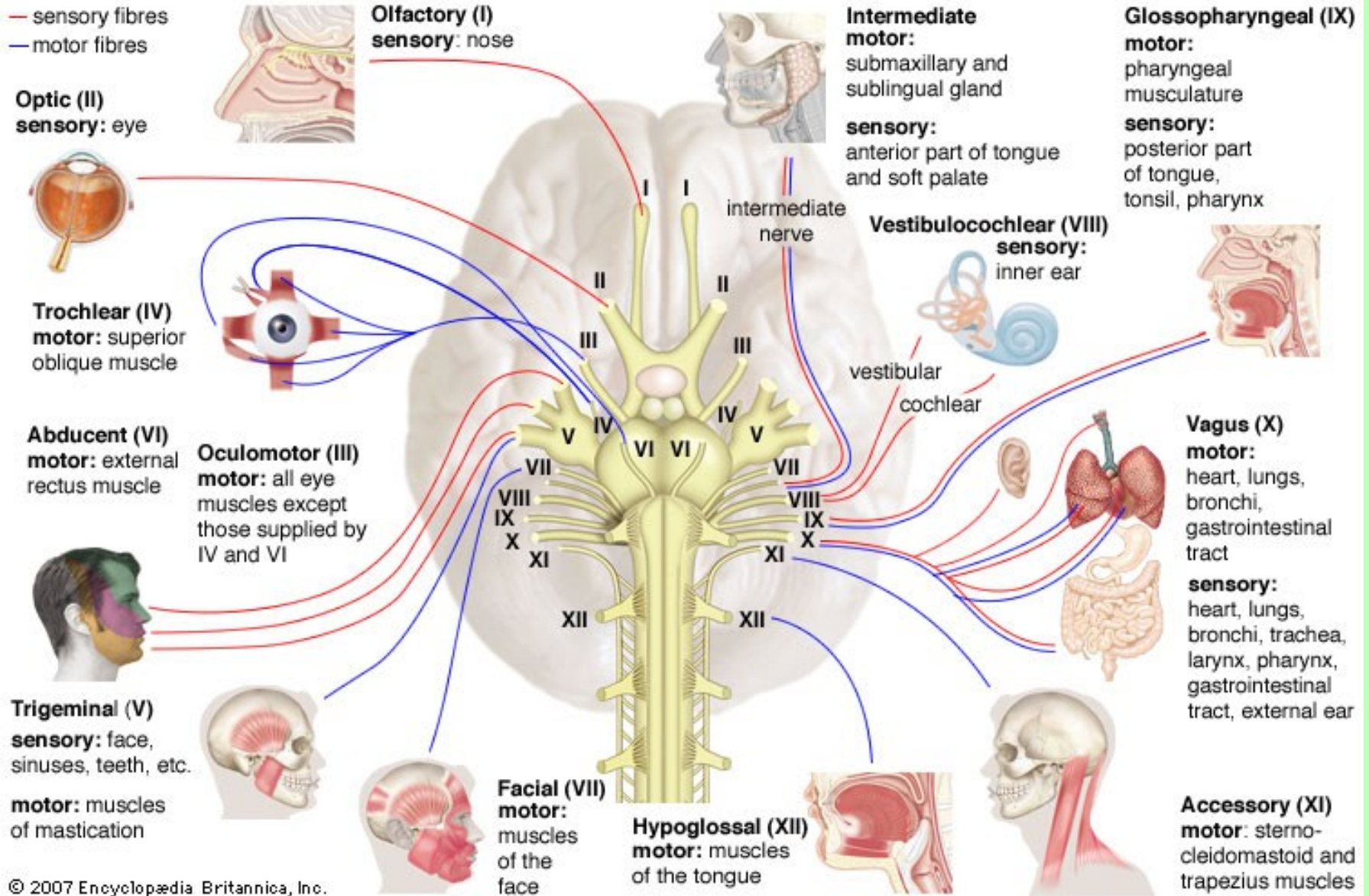


**FIGURE 12.10** Rhombomeres of the chick hindbrain. (A) Hindbrain of a 3-day chick embryo. The roof plate has been removed so that the segmented morphology of the neural epithelium can be seen. The r1/r2 boundary is at the upper arrow, and the r6/r7 boundary is at the lower arrow. (B) A chick hindbrain at a similar stage stained with antibody to a neurofilament subunit. The rhombomere boundaries are emphasized because they serve as channels for neurons crossing from one side of the brain to the other. (After Lumsden 2004, photographs courtesy of A. Lumsden.)

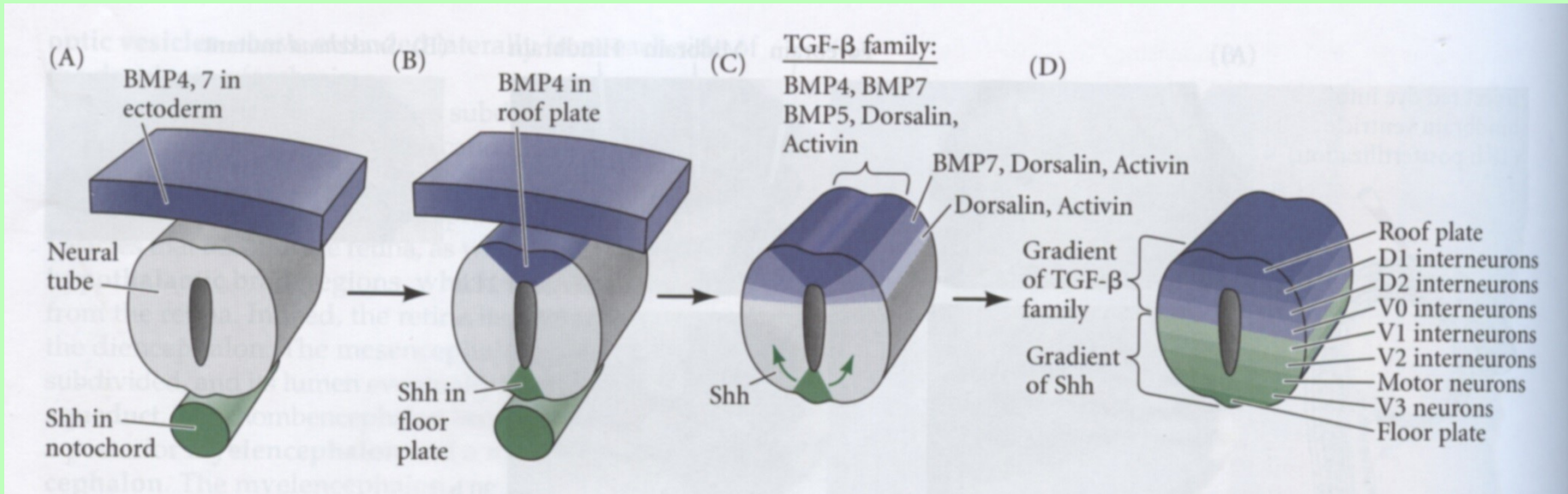


**Fig. 14.6** Position of the isthmus organizer in relation to main parts of the brain of the chick embryo.

# Hlavové nervy



# Řízení morfogeneze (dorzo-ventrální)



- **primární** indukční centrum **ventrální** – notochord (morfofen SHH)

sekundární signální centrum – ventrální ploténka (floor plate)

→ motorická dráha

- **primární** indukční centrum **dorzální** – epidermis (morfofeny BMPs)

sekundární signální centrum – dorzální ploténka (roof plate)

→ sensorická dráha

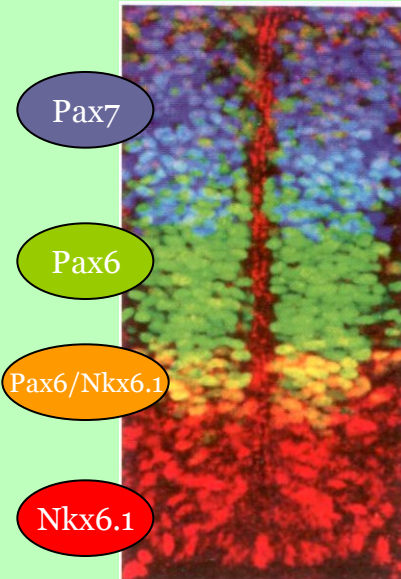
- Dorso-ventrální gradient BMP a SHH určuje identitu motoneuronů

(Pax6/Nkx6.1), ventrálních (Pax6) a dorzálních (Pax7) interneuronů

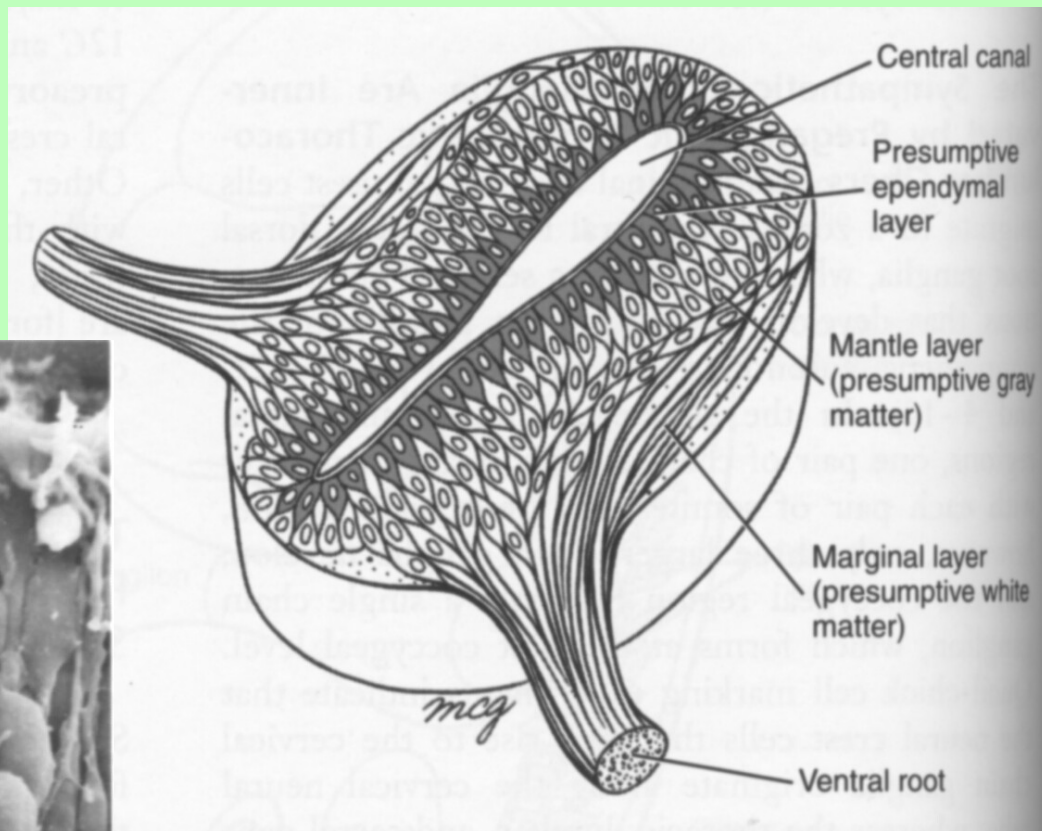
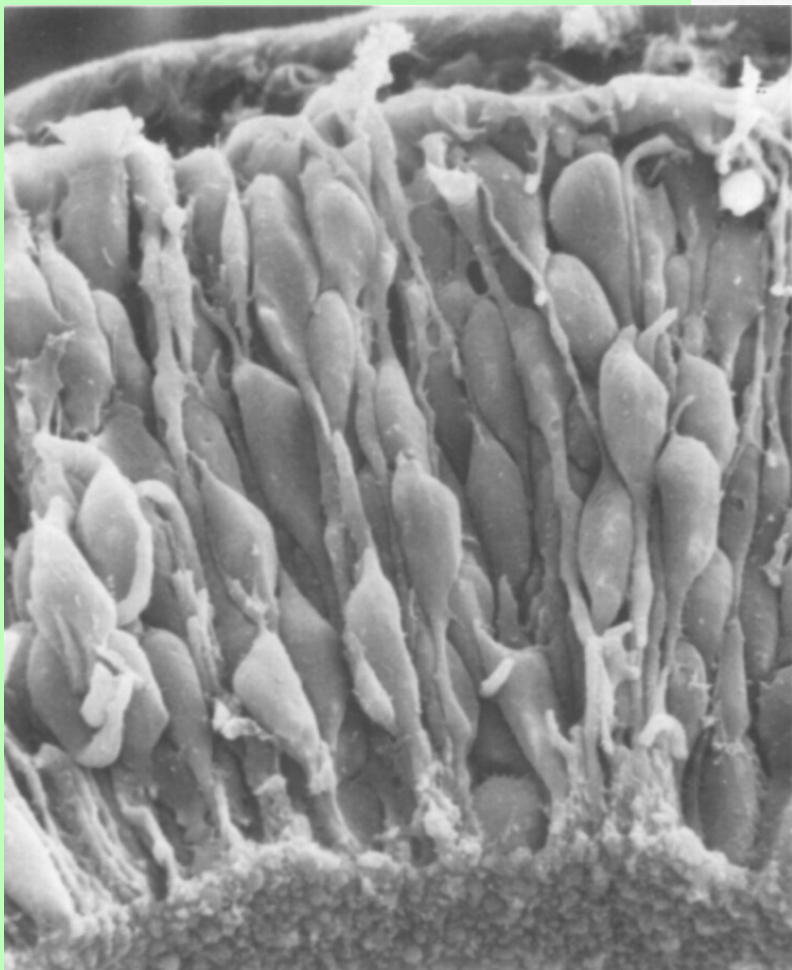
- gradient morfofenů také určuje raný nástup neurogeneze

(SHH→Ngn+Olig) oproti pozdější gliogenezi (BMP→Nkx+Olig)

- Kombinací gradientů morfofenů z ant-post (HoxC) a dorz-vent osy specifikace neuronů (např. motoneurony pro přední a zadní končetiny)



# Architektura tkání CNS

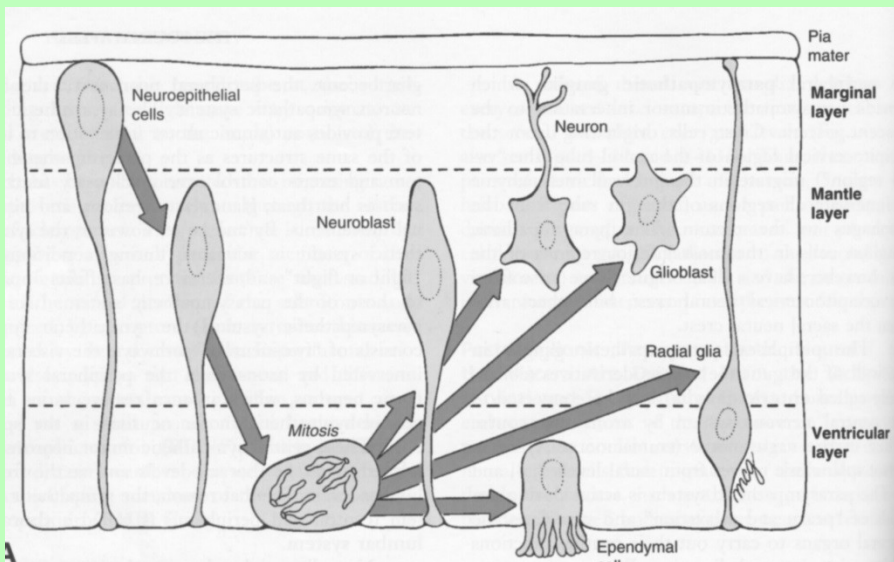
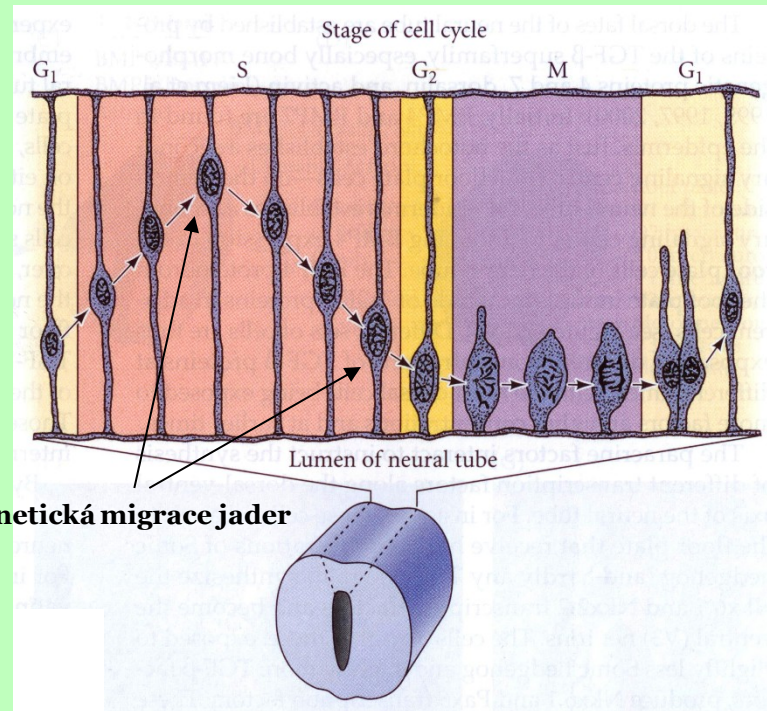


Po splynutí valů je neurální trubice tvořena jednovrstevným cylindrickým epitelem (neuroepitel) ohraničeným zevně bazální membránou

-Neuroepitel je polarizován apikálně-bazálně

# Vertikální členění CNS

- **Ventrikulární vrstva** (ependymální/apikální/germinální)
  - diferenciace neuroepitelu (NE) v ependym (výstelka komor a míšního kanálu) a radiální glie (RG)
- **Plášťová vrstva** (intermediální/mantle zone)
  - diferenciace progenitorů (neuroblastů a glioblastů)
  - viditelná jako šedá hmota (těla neuronů)
- **Zevní vrstva** (marginální/bazální/piální)
  - tvořená výběžky RG, později axony neuronů
  - Viditelná jako bílá hmota



- „Narození“ neuronu = diferenciační dělení NE/RG/progenitoru vedoucí ke vzniku (postmitotického) neuronu
- Nejranější neurony cestují na nejkratší vzdálenost v kůře, pozdější neurony cestují do vrchních vrstev neokortexu
- později migrující neurony již nedokážou osídlit spodnější vrstvy

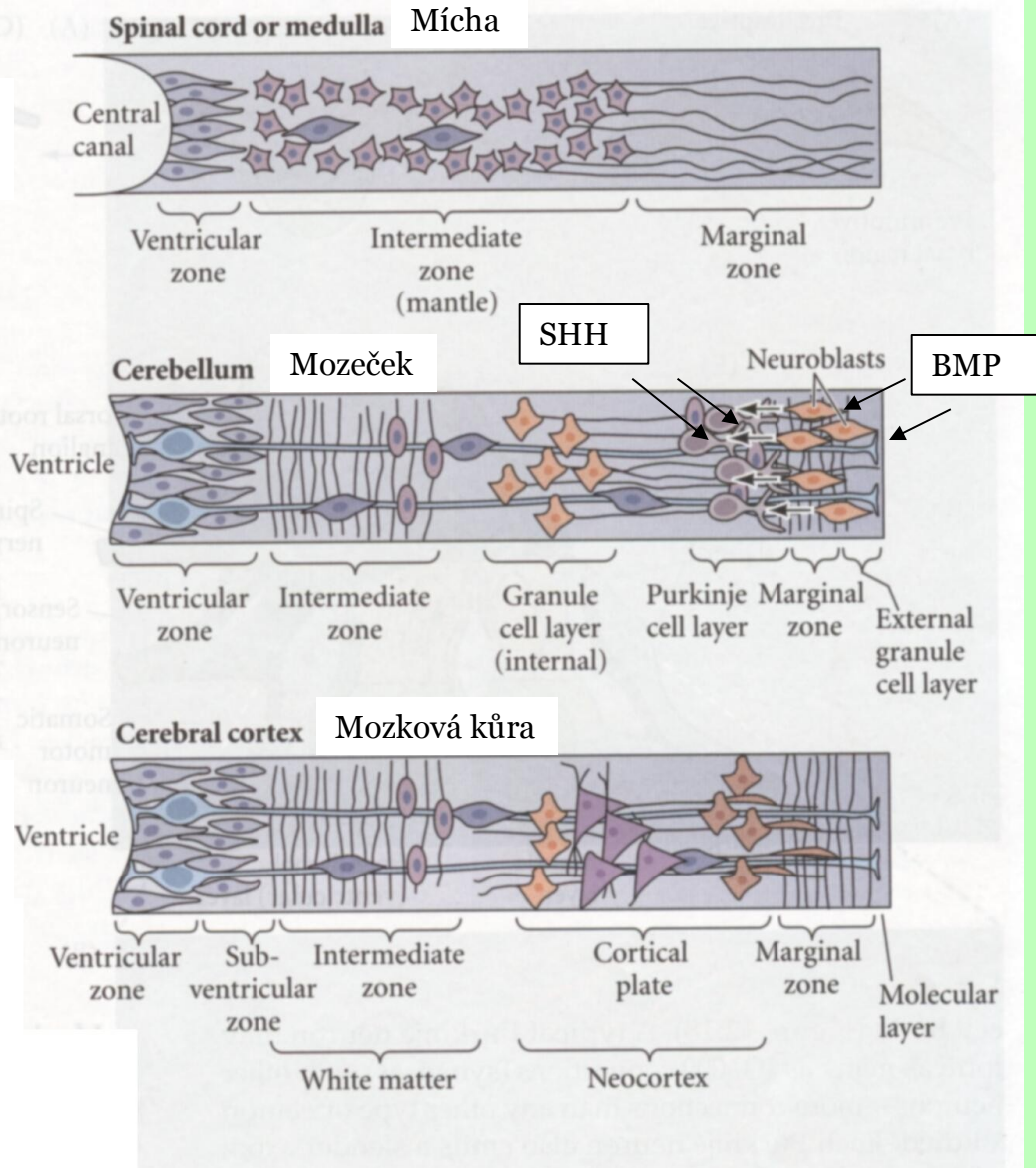


# Diferenciace stěny neurální trubice (NT)

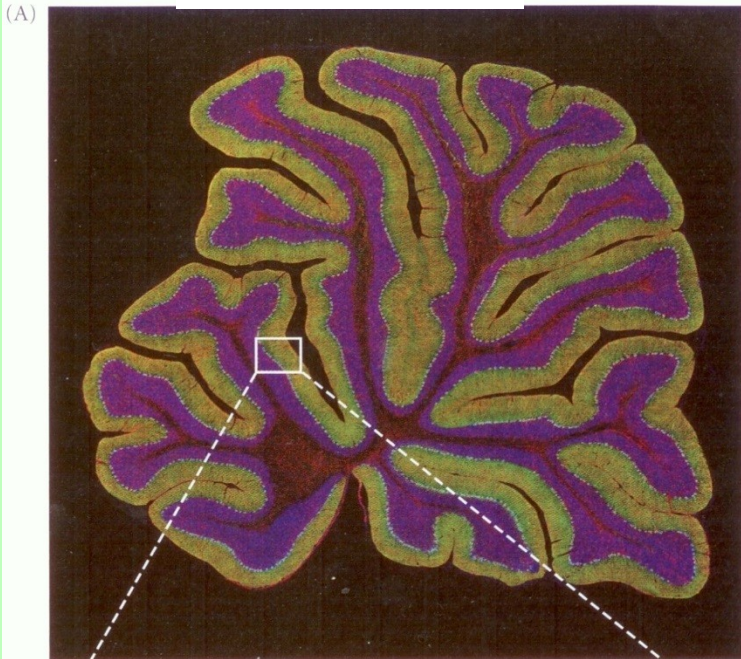
**Mícha** – b. z VZ migrují do IZ a diferencují

**Mozeček** – vznik druhé mitotické vrstvy – EG zóna, z ní migrace neuroblastů do IZ – formace vnitřní granulórní zóny. SHH – z P.buněk udržuje dělení gran.prekursorů. BMP – diferenciace v gran.neurony

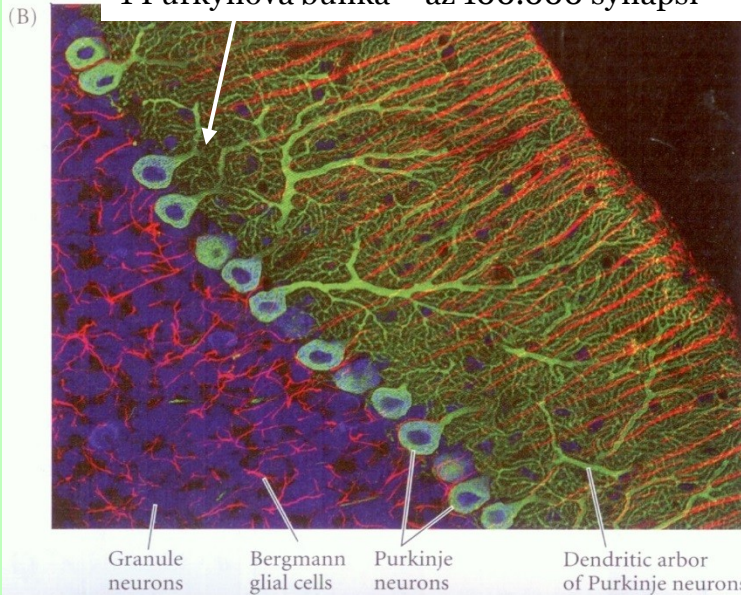
**Mozková kůra** – migrací neuroblastů a glioblastů vzniká 6 vrstev různých typů nervových buněk (neocortex), vývoj ukončen až v pubertě!



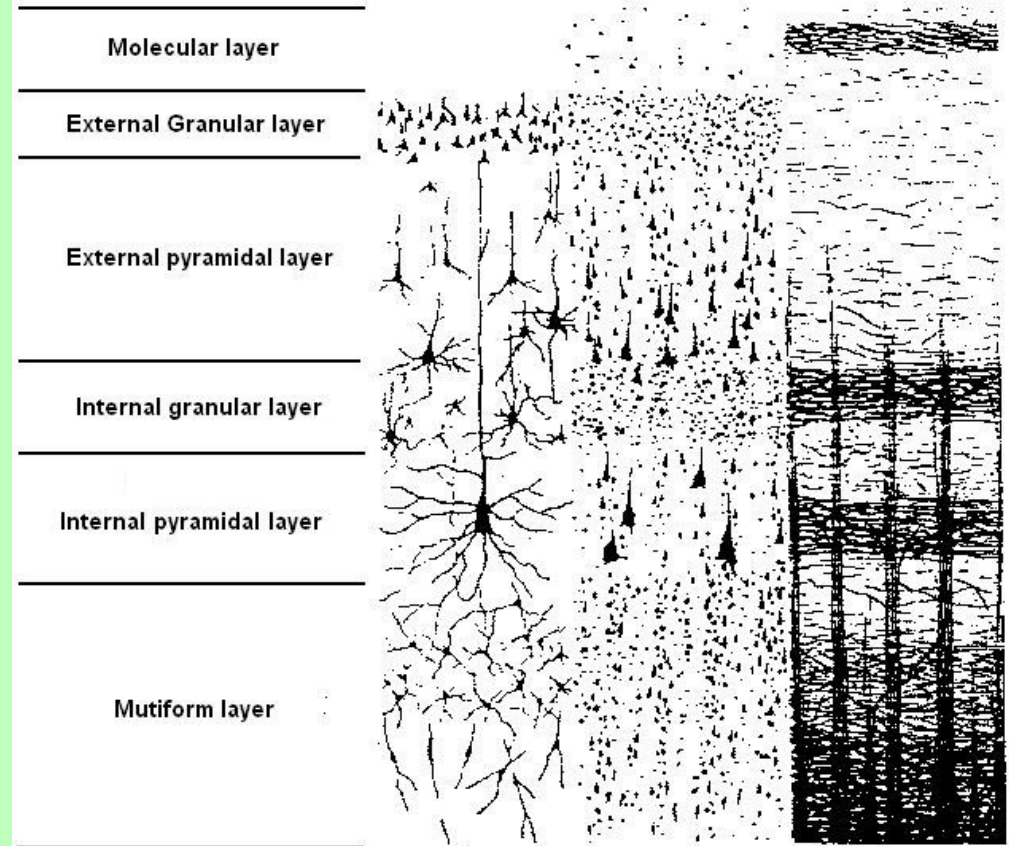
## Struktura mozečku



1 Purkyňova buňka – až 100.000 synapsí



## Struktura mozkové kůry (neokortex)



## Vrstvy neokortexu

**I. vrstva** - molekulární (plexiformní)

**II. vrstva** - vnější granulární

**III. vrstva** - vnější pyramidová

**IV. vrstva** - vnitřní granulární

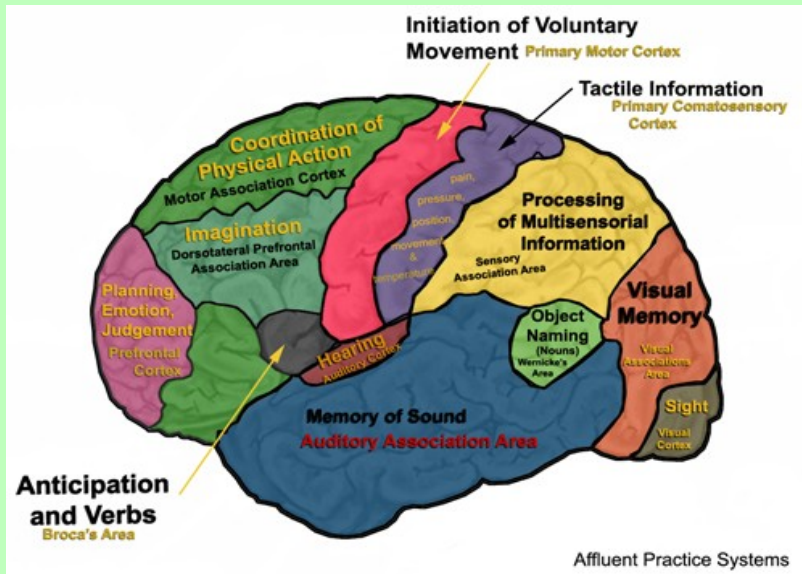
**V. vrstva** - vnitřní pyramidová

**VI. vrstva** - multiformní

} Komunikace **mezi**  
korovými oblastmi  
**příjem** signálu (z thalamu)

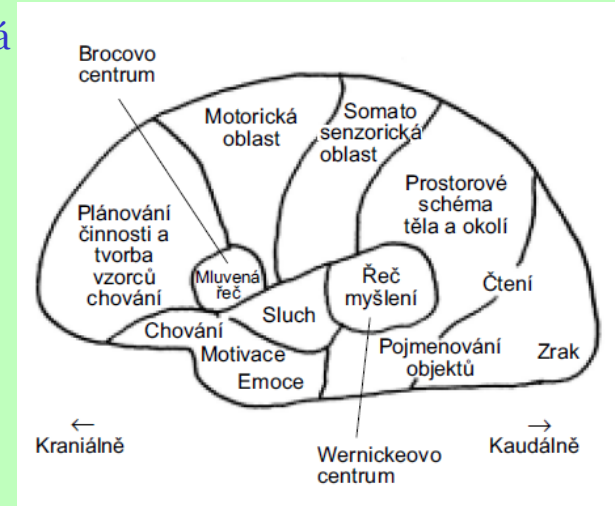
} Vysílání signálu **z** kůry  
ven (thalamus, kmen,  
mícha)

# Horizontální členění mozku



## Cytoarchitektonická mapa

V přední části obecně centra pro motoriku, v zadní somatosenzorická centra



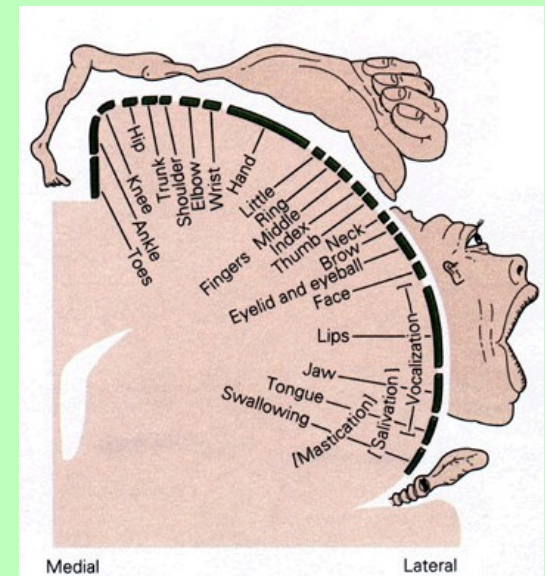
- Buňky stejné vrstvy kůry vysílají axony do různých oblastí převodných (výkonných) center mozku

Př: Neurony VI. vrstvy **zrakové** části kůry vedou axony do **laterální** části thalamu, neurony VI. vrstvy **sluchové** části kůry vedou axony do **mediální** části thalamu

Osud „mapy“ kůry je určité částečně předurčen geneticky, zřejmě i interakcí buněk po migraci do určité oblasti

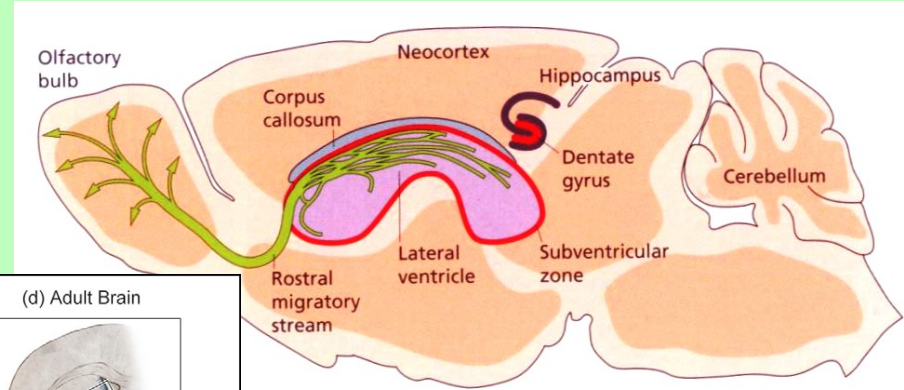
## Somatotopické uspořádání

Konkrétní část mozku odpovídá konkrétní části těla kterou řídí (motorická a sensorická centra)



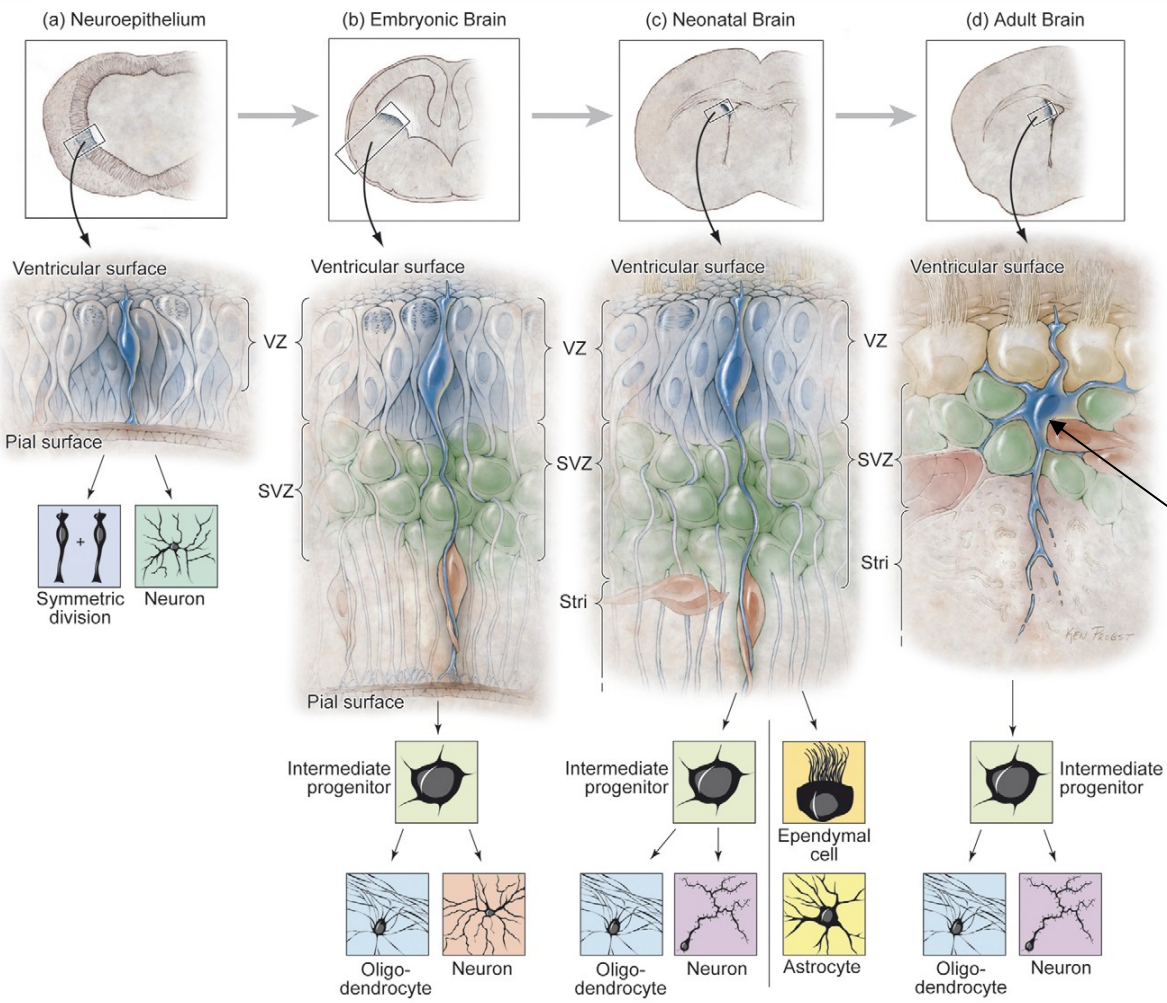
# Neurální kmenové buňky (NSC) – neurogenní potenciál v dospělém mozku

- populace NSC nalezené v oblastech **subventrikulární zóny** postranních komor a **subgranulární zóny DG** v hipokampu dospělého mozku



Dospělý potkaní mozek

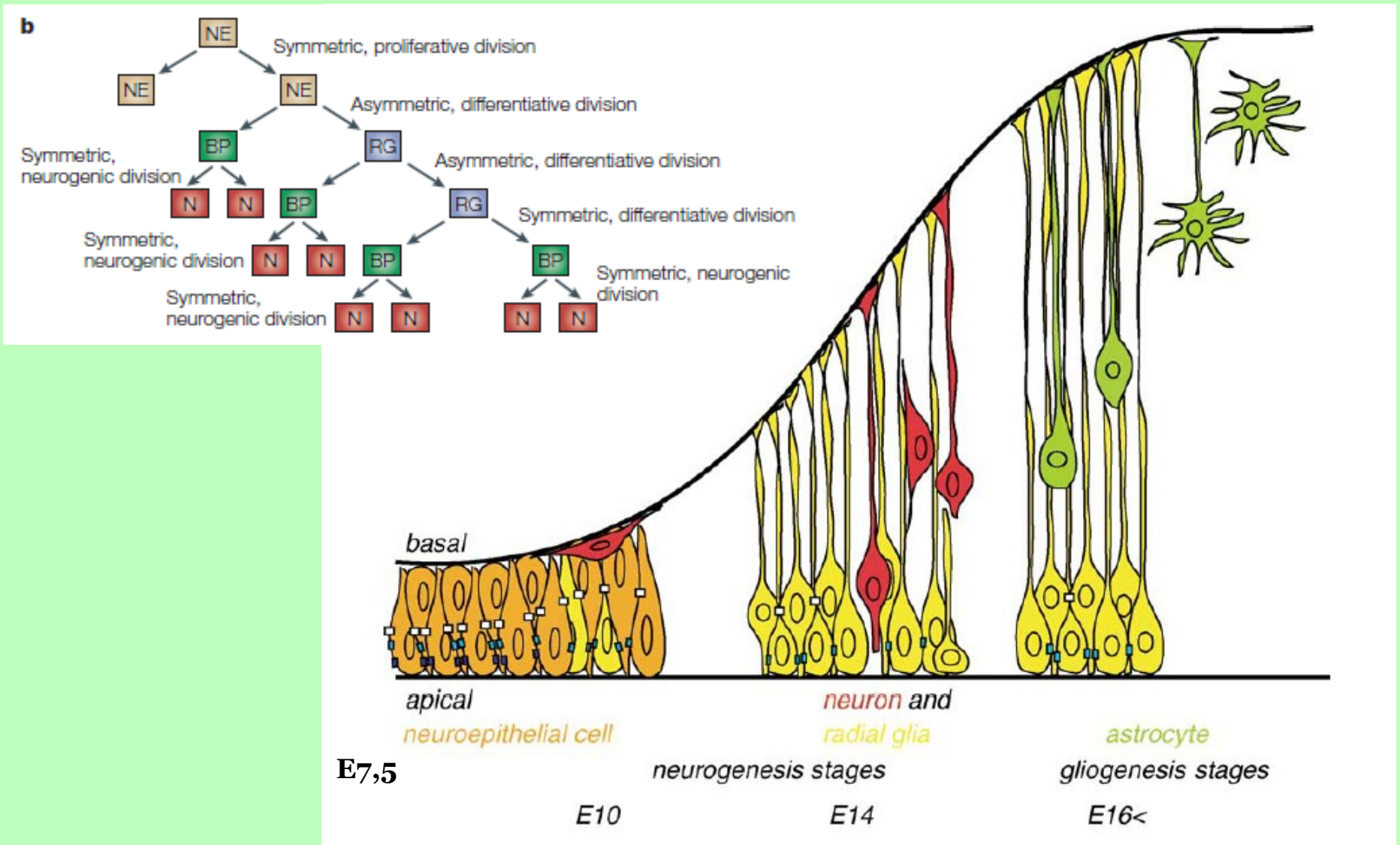
## Embryonální myší mozek



- vznik z b. neuroepitelu během embryogeneze  
- fenotypově se jedná o transformované embryonální RG, tzv. „astrocyte-like stem cells“

- **NSC nemají původ v neuronech!** Více odpovídají gliovým buňkám

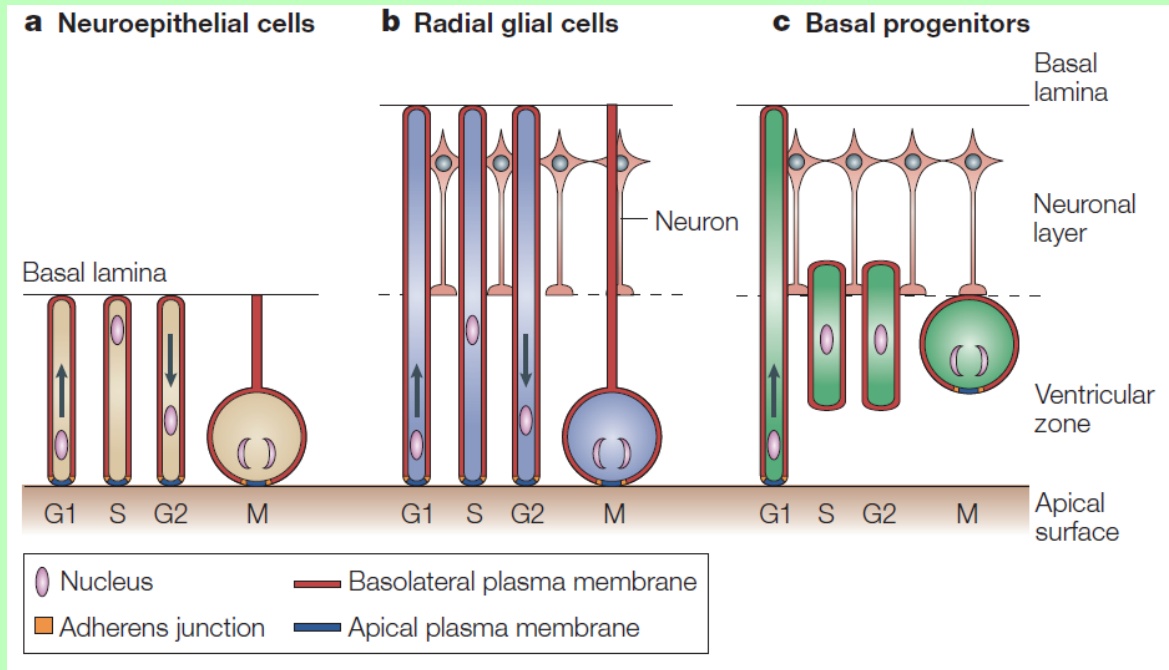
# Vývoj od NT po neokortex



Neuroepitel – VZ, potenciál pro všechny b.typy (astro-, oligodendro-, neurony), zachována u retiny a míchy

Radiální glie – VZ, více determinované pro určitý b.typ (dle polohy v komorové výstelce), typické pro mozek

Bazální (intermediální) progenitory – VZ/SVZ, zodpovědné za nárůst korových neuronů mozku



VZ – ventrikulární zóna

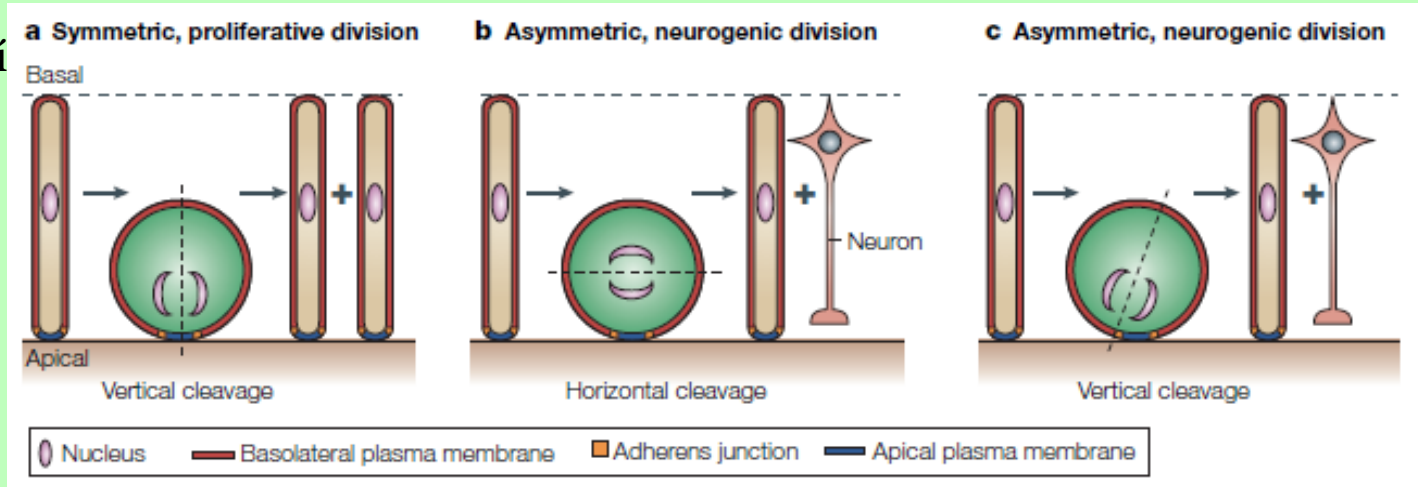
SVZ – subventrikulární zóna

## Řízení symetrie dělení neurálních progenitorů

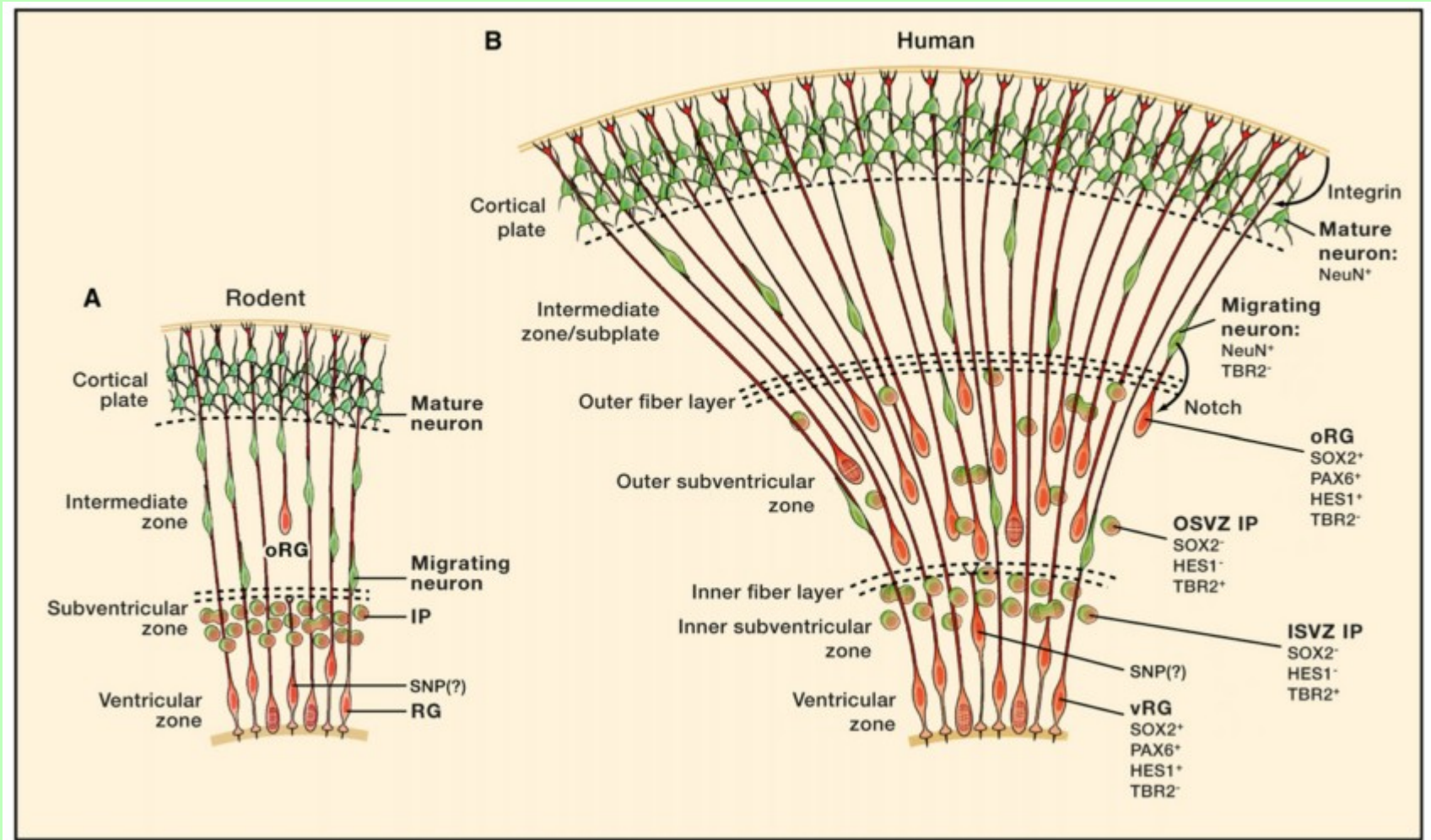
-Expres **Tis21** nutná pro asymetrické dělení NE – první krok k neurogenезi

-Expres **Pax6** řídí asymetrické (neurogenní) dělení

-Expres **Emx2** řídí symetrické, proliferativní dělení



## Vývoj neokortexu primátů



- pro správný vývoj neokortexu nutná expanze bazálních progenitorů v SVZ, následným dělením a migrací rapidní nárůst neuronů

- tento fenomén typický pro vyšší savce a primáty, např. u myši chybí

## Signální dráha Notch – rovnováha NSC a neuronů

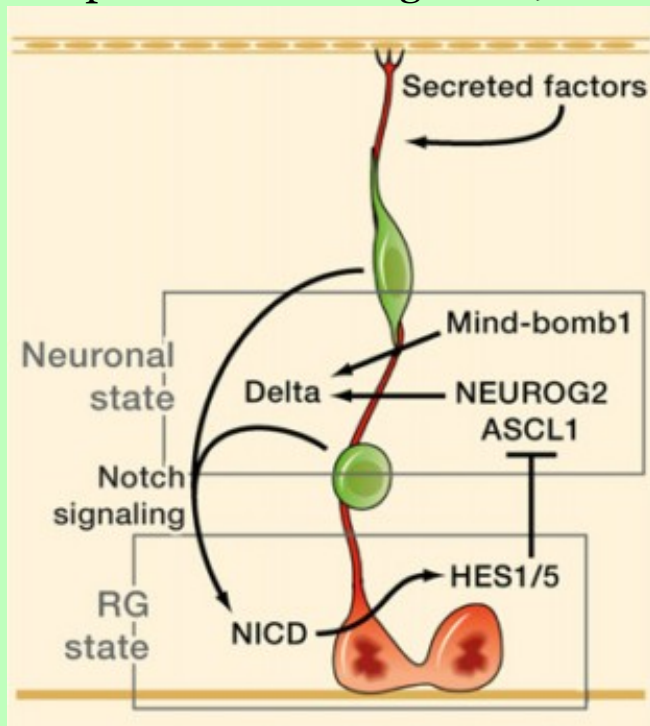
- přímá interakce buňka-buňka

- Vyšší hladina ligandu (např. Delta) u bazálních progenitorů aktivuje receptory (Notch) dělicích se sousedních buněk (r. glií)

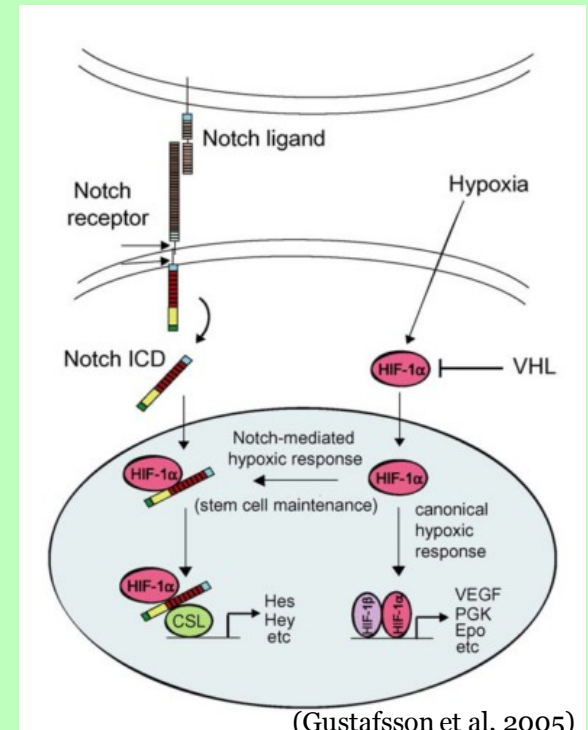
-Aktivovaný Notch způsobí pokles proneuronálních genů Neurog/Ascl (přes expresi represorů Hes)

-Pokles Neurog/Ascl znemožňuje expresi Delta ligandu = princip **laterální inhibice**

-Buňka s aktivní Notch dráhou si tak udržuje nediferencovaný stav, naopak buňka exprimující Delta ligandy podstupuje neuronální diferenciaci (zapojení Tis21 – antiproliferační koregulátor)



Pro udržení populace NSC vlivem aktivního Notch signalingu nutná snížená hladina kyslíku ve tkáni (hypoxie)



(Gustafsson et al, 2005)



# Vývojové unikum lidského mozku – čím se lišíme od opic?

## 1. Růst mozku i po narození

- rychlost růstu mozku po narození se nesnižuje (cca 30.000 synapsí/sekundu/cm<sup>2</sup> kortexu)
- geny zodpovědné za zvětšování (růst, proliferace) jsou pozitivně selektovány u lidí vs. primáti (*ASPM*, *SHH*, *N-CAM*, aj.)

## 2. Posílení paměti (kůra-thalamus)

- migrace neuronů z frontálního laloku do thalamu během vývoje (chemotaxe), specifické posílení informační dráhy vedoucí z thalamu do frontálního laloku
- thalamus důležitý jako koordinátor korových funkcí a centrum paměti a rozhodování

## 3. Vysoká transkripční aktivita mozku

- V rámci primátů extrémní podobnost v exprimovaných proteinech (99%), přesto enormní morfologické a behaviorální rozdíly
- Na rozdíl od jiných orgánů během vývoje transkripční aktivita mozku je asi 5x vyšší, u cílových proteinů až 18x vyšší transkripce mRNA

## 4. „Investice“ do řeči

- Unikátní forma lidského genu (mutace ve 2 AK) *FOXP2* – klíčový pro koordinaci řeči – artikulace i tvorba vět

## 5. Postpubertální „shift“ do dospělého – od emocí k rozumu

- Konec puberty koreluje s masivní myelinizací kůry a řízeným odstraňováním (pruning) neuronů – „třídění“
- Před tímto hraničním obdobím aktivní jiné zóny - na stejný podnět reagují jiná mozková centra (emoce vs. rozumné uvažování)

# Migrace, specifikace a integrace nervových buněk

Dospělý lidský mozek –  $10^{12}$  buněk gliových na  $10^{11}$  neuronů

NSC – prekurzory neuronů

- prekurzory gliových b.

- **neurony**

granulární, motorické, Purkyňovy b.,...

- nejmasivnější tvorba dendritů korových neuronů (až 100tis. synapsí) první rok po narození

- V dospělosti každý neuron kortexu cca 10.000 synapsí

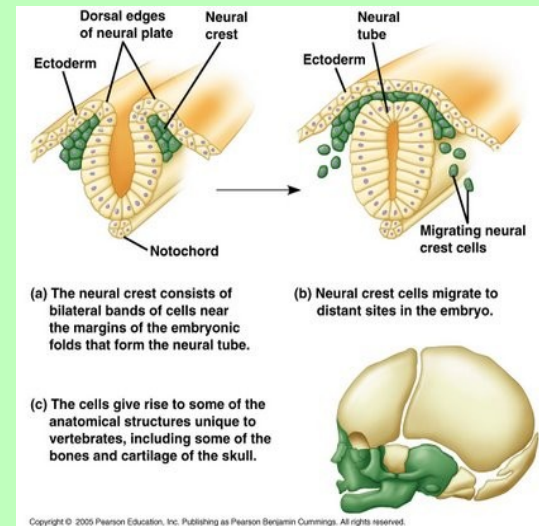
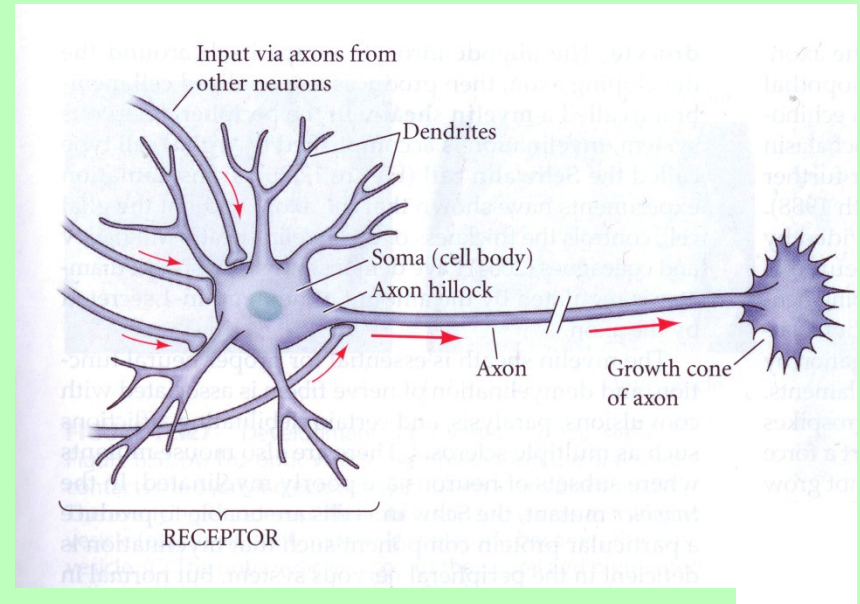
- **gliové buňky**

astrocyty, oligodendrocyty v CNS

Schwannovy b. v PNS

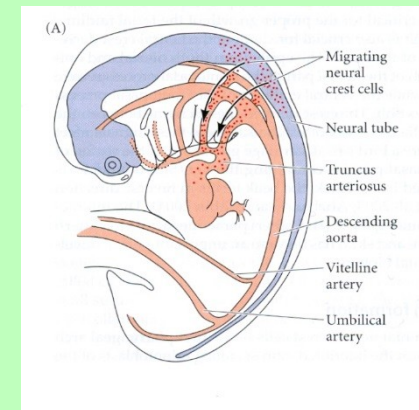
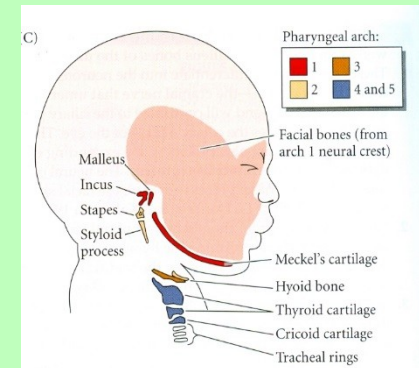
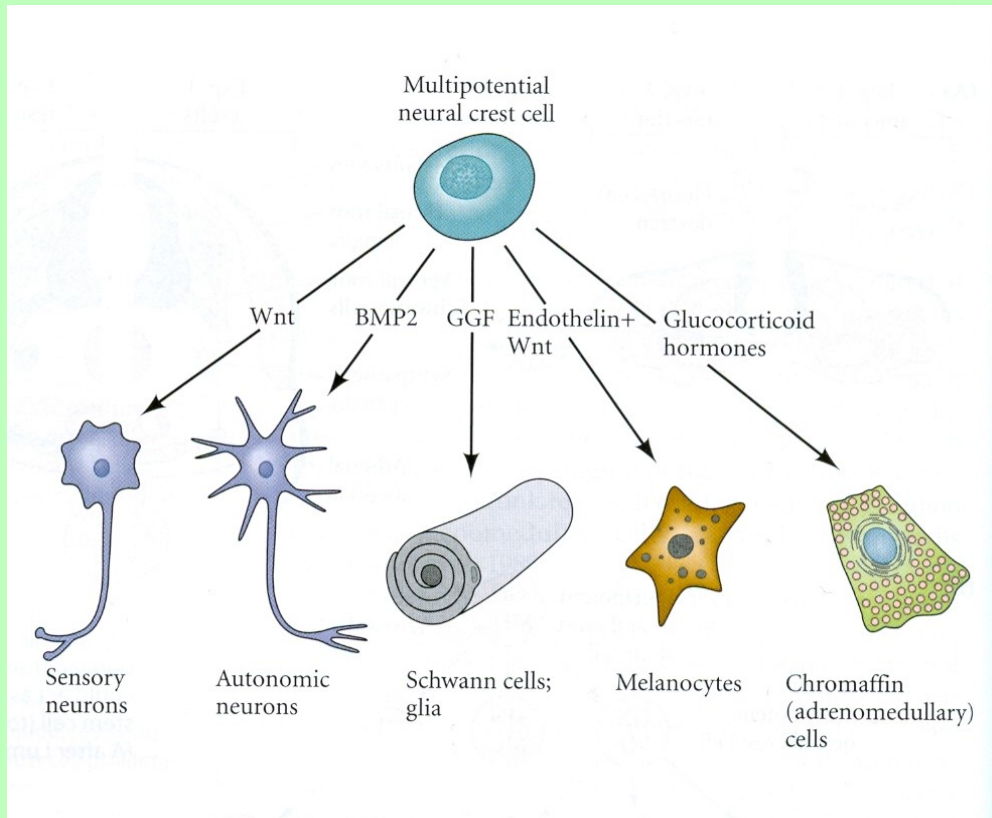
- **buňky neurální lišty** (neural crest cells)

- vznik během uzavírání nerv. trubice,  
hranice mezi epidermis a neuroektodermem



# Neurální (gangliová) lišta

- Někdy nazývaná „čtvrtou zárodeční linií“, evolučně nejmladší
- **spinální (dorzální) ganglia** – z každého svazek nervových vláken do nervové trubice (zadní kořen) a do periferie (senzitivní vlákna spinálního nervu)
- **ganglia sympatiku a parasympatiku**
- Vznik také **hlavového mezenchymu, dřeně nadledvinek, štítné žlázy, melanocytů,..**



## Autonomní nervový systém

Autonomní (vegetativní) nervy

- původ v buňkách neurální lišty
- nepodléhají vůli, průběh přerušují ganglia

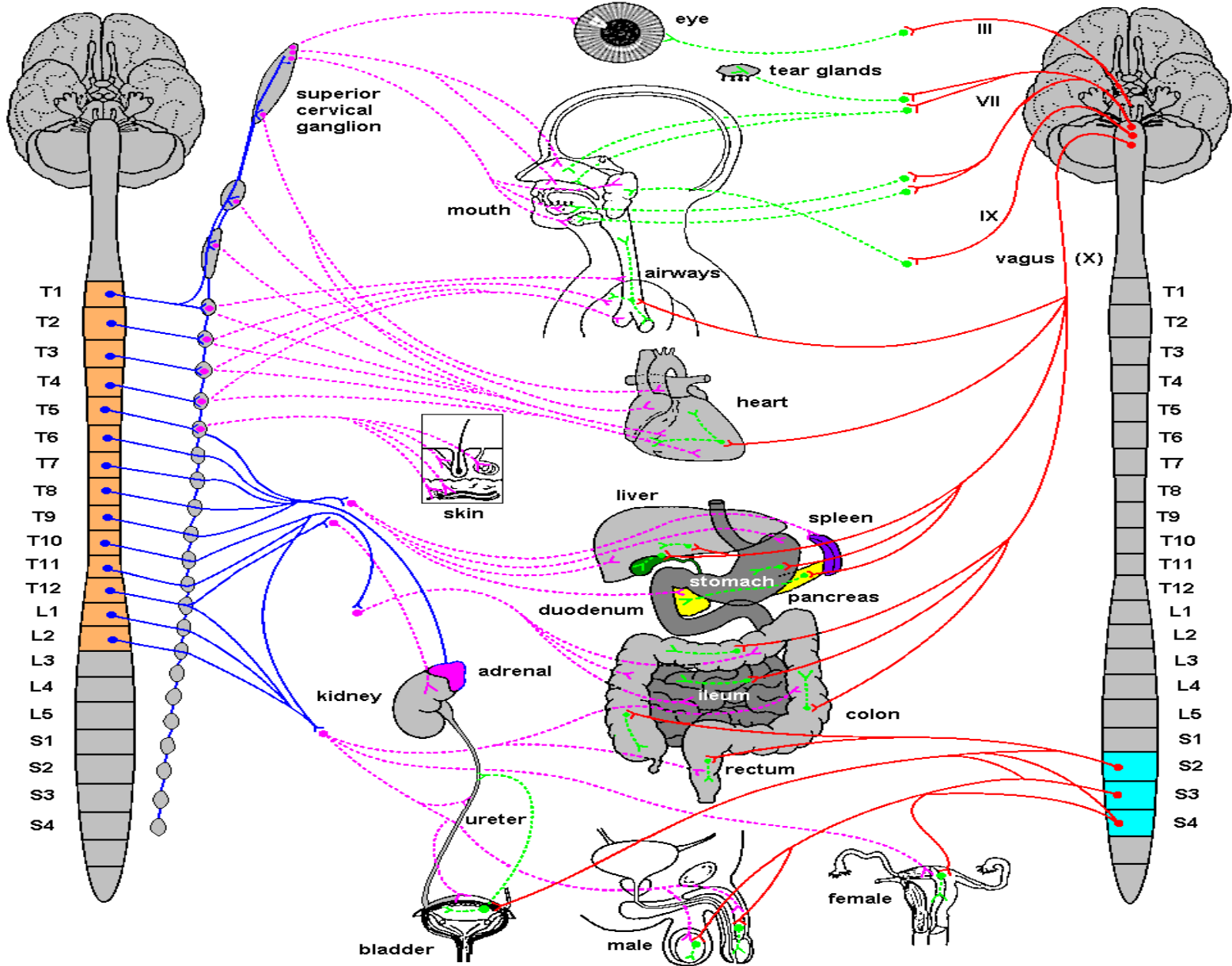
**Sympatické vegetativní nervy** vystupují z míchy krční, hrudní a bederní. Ganglium je v blízkosti míchy. Sympatická ganglia se tvoří agregací buněk neurální lišty podél tělní osy

**Parasympatické vegetativní nervy** vystupují z prodloužené a křížové míchy. Ganglium je blízko inervovaného orgánu.

**- r.2014 – nové paradigma ve vývoji parasympatiku založené na existenci multipotentních prekurzorů (tzv. „Schwann cell precursors“), které cestují (dávno po vzniku sympatiku) po neuronálních výbězcích k cílovým orgánům a zakládají zde ganglia nutná pro inervaci.**

**sympathetic**

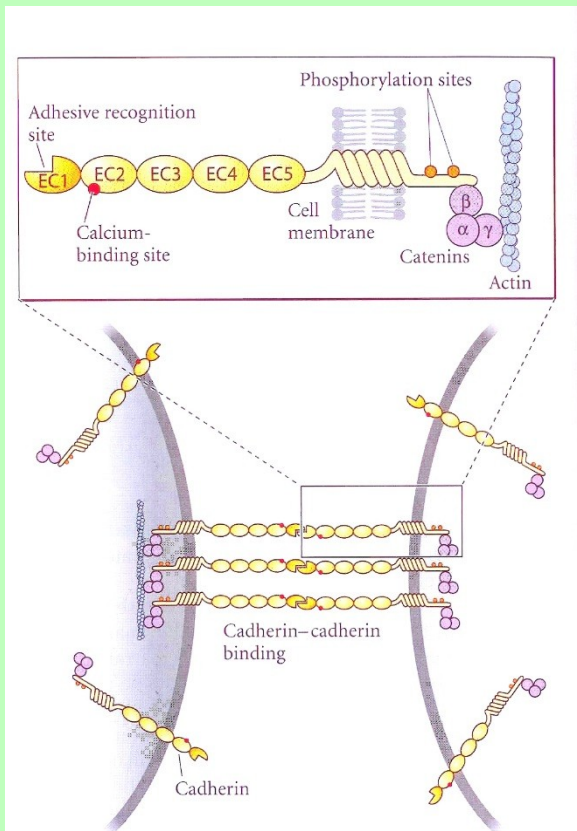
**parasympathetic**



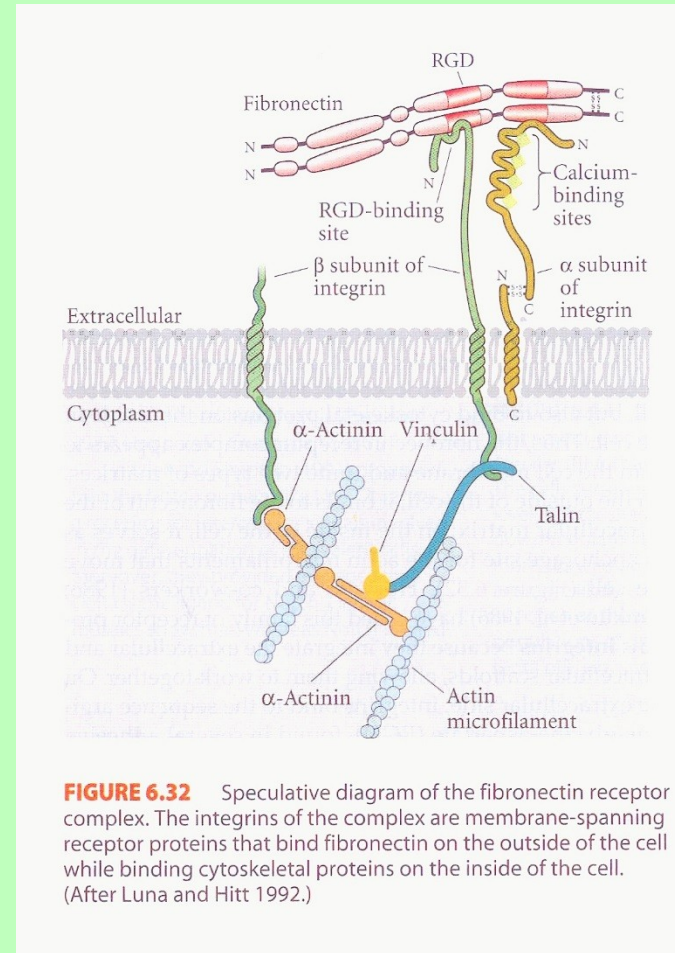
## Naváděcí signály – nespecifická migrace

**CAM** (**cell** adhesive molecules) – N-CAM (neural), Ng-CAM (glial), N-cadheriny (Ca dependentní, vysoká specifita), TAG1 (transiently expressed axonal glycoprotein)

- exprimovány buňkami, spojení buňka-buňka, také **fascikulace** (tvorba nerv.vlákná)



**FIGURE 3.28** Cadherin-mediated cell adhesion. Cadherins are associated with three types of catenins. The catenins can become associated with the actin microfilament system within the cell. (After Takeichi 1991.)



**FIGURE 6.32** Schematic diagram of the fibronectin receptor complex. The integrins of the complex are membrane-spanning receptor proteins that bind fibronectin on the outside of the cell while binding cytoskeletal proteins on the inside of the cell. (After Luna and Hitt 1992.)

**SAM** (**substrate** adhesive molecules) – integriny (Ca dep., zprostředk. vazbu buňka-extracel.matrix, v růst. vrcholu axonů) vážou komponenty extracelulární matrix (ExM) - fibronectin, kolagen, laminin, tenascin, trombospondin

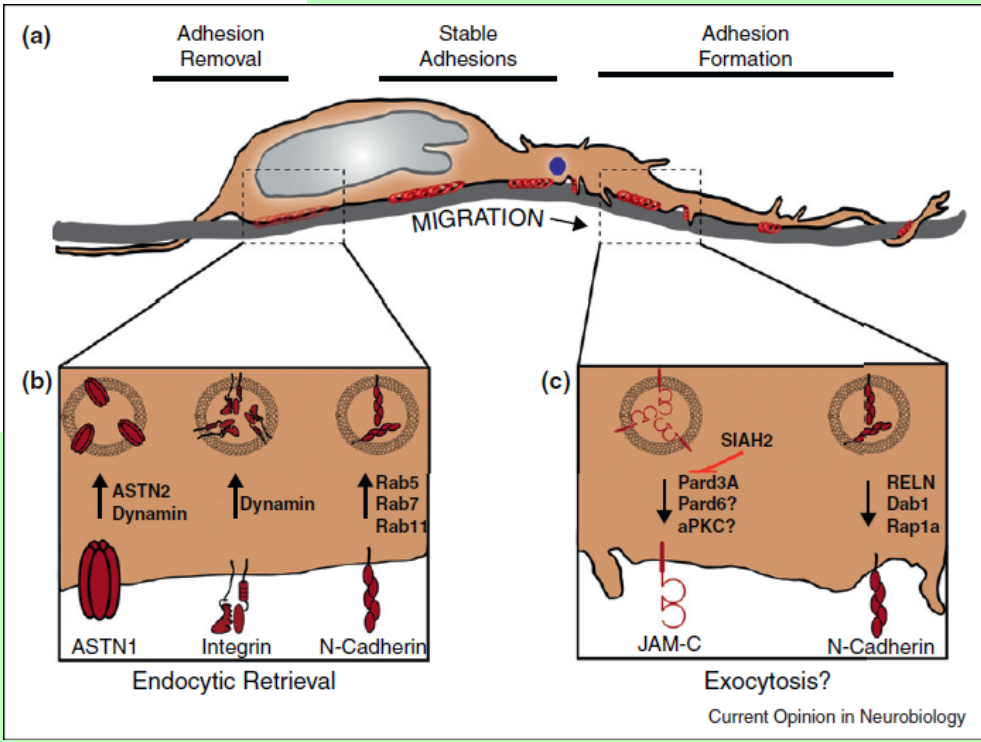
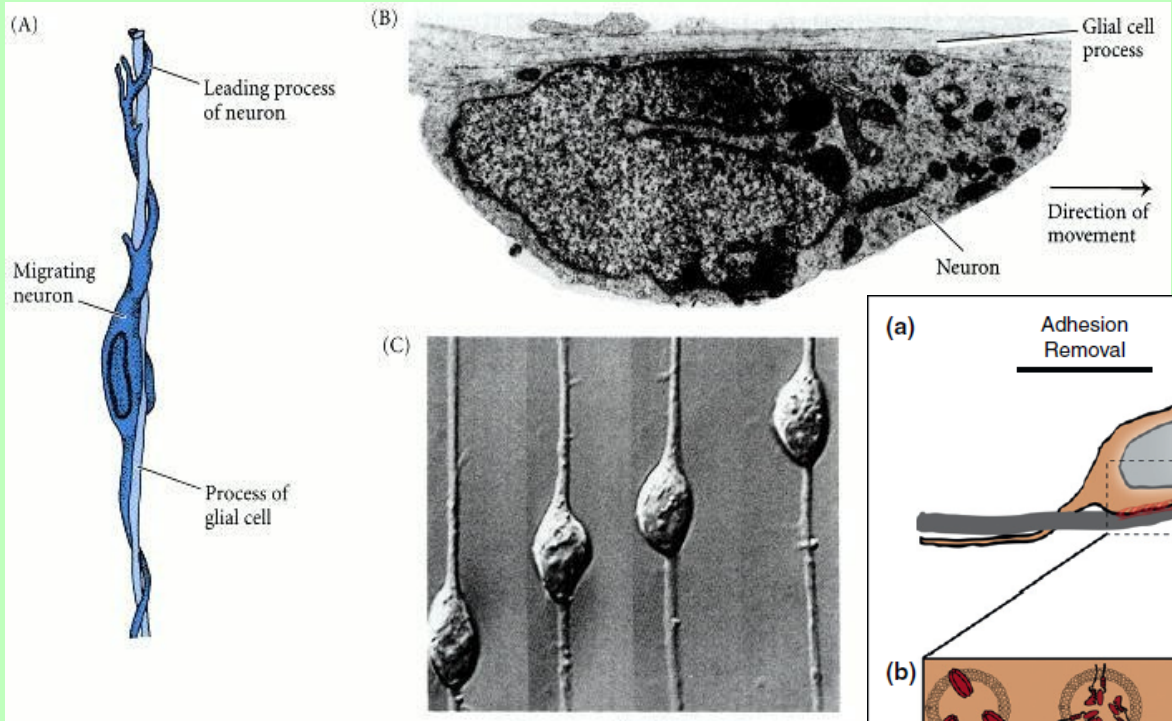
- signály z ExM (hlavně **laminin**) primárně určují **nespecifickou** cestu pro axony

# 1. Migrace neuronů na kratší vzdálenost

m. kůra a mozeček - gliové „lešení“ (cadheriny, astrotactin) – radiální glie

- endocytóza adhez.molekul → odlepení od substrátu, zadní část neuronu

- exocytóza adhez.molekul → přilepení k substrátu přední části neuronu



## 2. Migrace na dlouhé vzdálenosti – axony neuronů

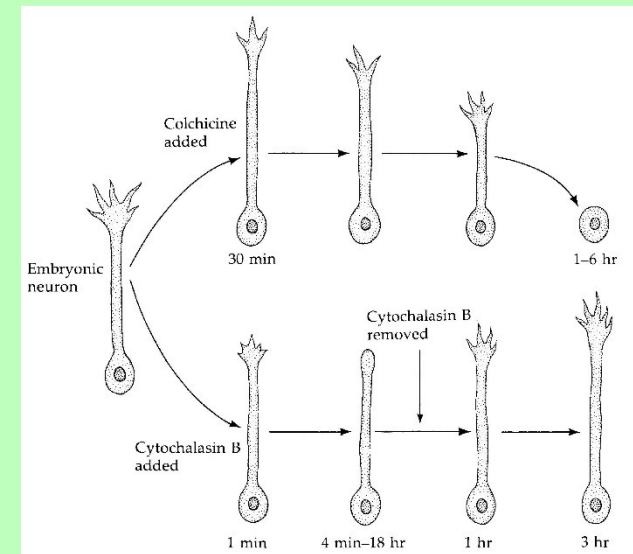
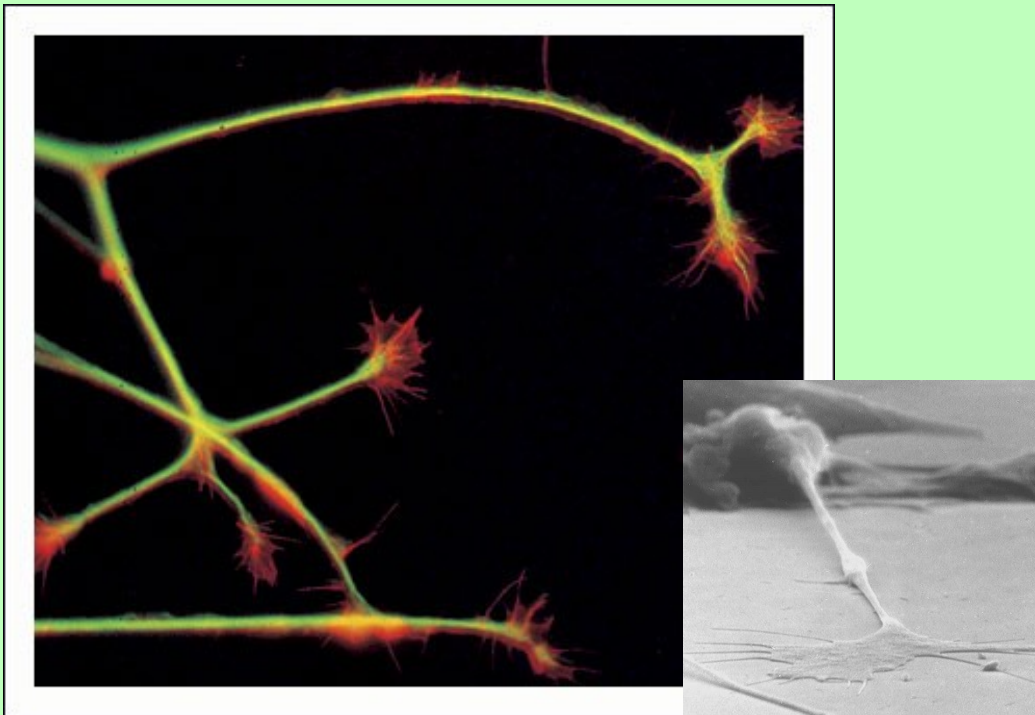
- **tubulin** určuje růst axonu (inhibitor kolchicin)

- **aktinová** vlákna určují růst synaptických výběžků v **růstovém výběžku/vrcholu** (growth cone) (inhibitor cytochalasin B), nutnost adheze k substrátu ECM

- 3 etapy axon. růstu: nalezení **správné cesty** – nalezení **cíle** („města“) – výběr **konkrétních buněk** („adresy“)

**Diverzita neuronů** – kam povede axon motorického nervu?

Skupina **Hox** (mícha) a **Lim** (hlava) TF – exprese konkrétními neurony konkrétního segmentu (ještě před migrací axonu do periferie) → vliv na typ exprimovaného Eph



**FIGURE 23**

Effects of cytochalasin B and colchicine on axon elongation in cultured embryonic neurons. Colchicine causes the collapse of the axon, an event that correlates with the disruption of the microtubules. Cytochalasin B causes the reversible depolymerization of microfilaments, thereby leading to the disappearance of the microspikes. When cytochalasin B is removed from the medium, the growth cone reappears.



## 2. Migrace na dlouhé vzdálenosti – buňky neurální lišty

Vyčlenění populace b. neurální lišty:

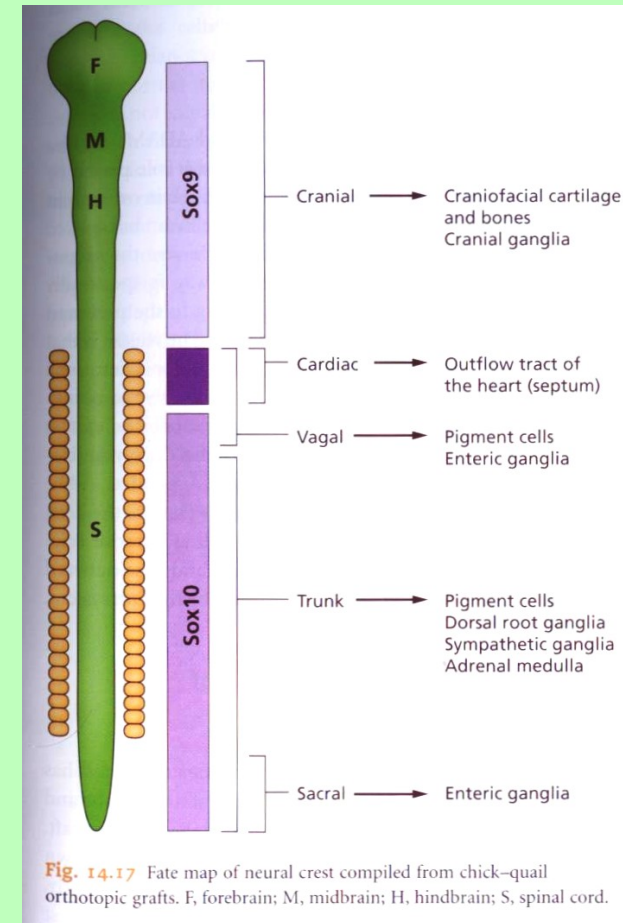
- souhra morfogenů BMP, Wnt, FGFs → Pax3, Distalles5 (ohraničení neurální ploténky) → Slug (migrace buněk), FoxD3 (diferenciace). Dochází k epitel-mezenchymální transformaci

**Vycestování:** RhoB spouští polymerizaci aktinu (adheze k substrátu), Slug „ruší“ mezibuněčné spoje (E-cadheriny)

- Po migraci dochází k shlukování b. (ganglia) a re-expresi E-cadherinů

**Ventrální migrace:** usnadnění migrace extracel.matrix – fibronectin, laminin, tenascin – interakce s integriny na migrujících buňkách. Anteriorní sklerotomy – **atrakce** (thrombospondin), posteriorně **repulzivní** molekuly **ephriny** (receptory Eph) a **semaforiny** (receptor neuropilin).

**Dorzální migrace** – pozdnější, migrace po vzniku dermis – silné chemotaktické faktory pro migrující b. Tvorba **melanocytů**, nutný faktor **SCF**, diriguje budoucí melanocyty do vlasových folikulů – melanocyte stem cells. Ephriny zde **atrahovány(!)** svými receptory



## Naváděcí signály – navádění k cílové tkáni

**Naváděcí buňky** – skupina nezralých neuronů, tvorba dočasných synapsí s axonem, po vytvoření cílové populace (např. granulárních neuronů) se dočasná synapse zruší a axon vytvoří definitivní synapsi

## Buněčné interakce – kontaktní atrakce a repulze

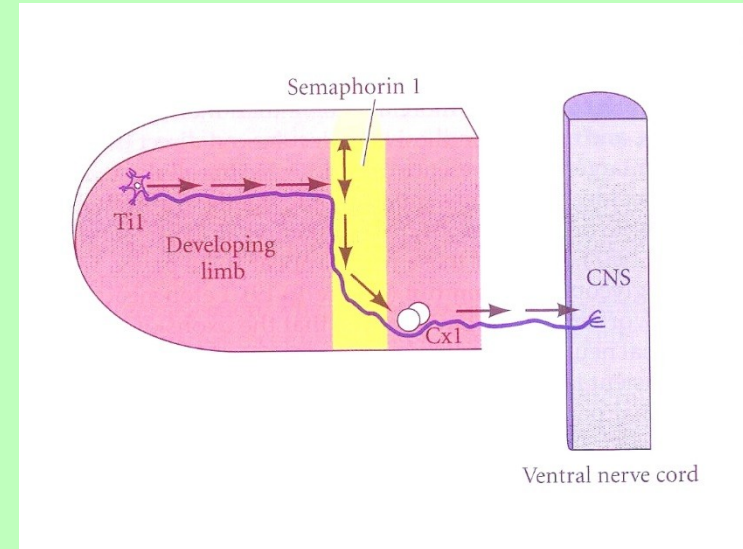
**Ephriny a semaforiny** – membránové proteiny, **specificky** exprimované určitými tkáněmi

- ephriny repulz. i atrakt., semaforiny hlavně repulz.

-př: buňkám neur. lišty (a později i axonům míšních neuronů) je během ventrální migrace zabráněno v průchodu post.částí sklerotomu (exprese semaforin 3) – přitahuje pouze specif.receptor

- migrující **axon** exprimuje **specif.receptory** pro ephriny a semaforiny

- hranici mezi atrakcí a repulzí určuje alternativní splicing RNA (např. EphRA7 – tyrosin kinázová aktivita ústí v repulzi) – EphA5 a EphA7 interakce důležitá pro uzavření NT



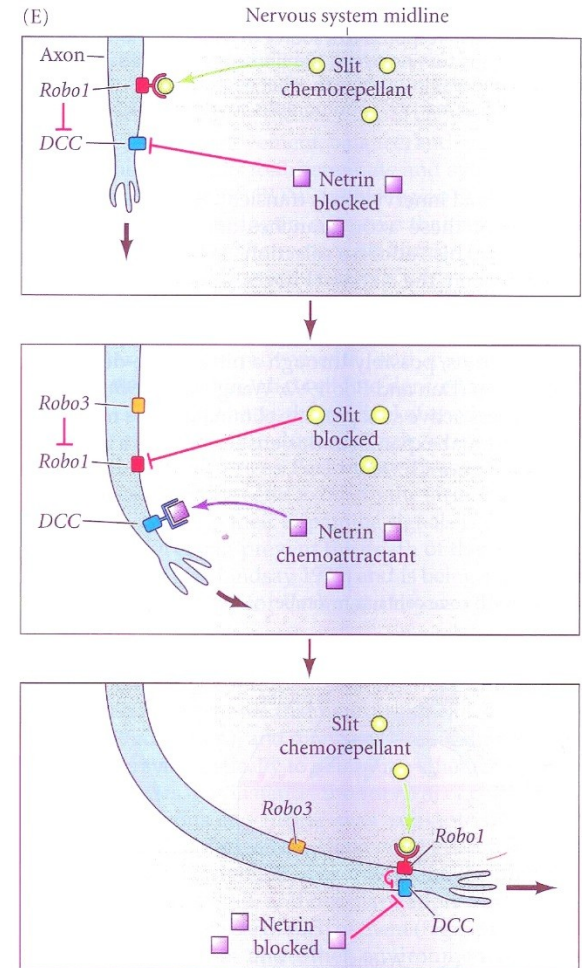
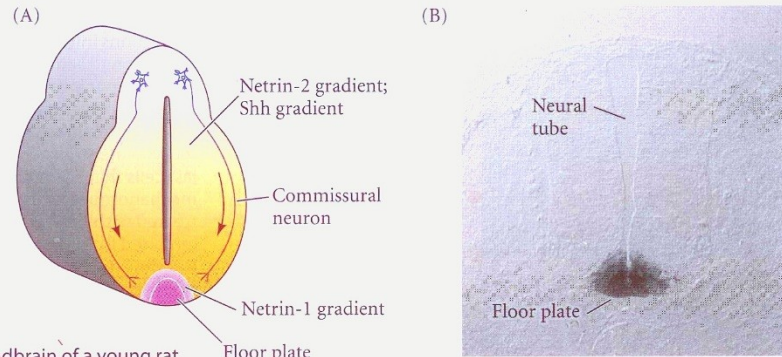
# Naváděcí signály – navádění k cílové tkáni

## Difuzibilní molekuly – chemotaktická atrakce a repulze

**1. Netriny a DCC receptor** – gradient SHH spolu s netrinem 1 a 2 určuje trajektorii komisurálních interneuronů v míše – axon exprimuje DCC receptor → atrakce, může být i repulzivní charakter

- netriny jsou produkovány buňka mi jako součást ECM

**FIGURE 13.23** Trajectory of the commissural axons in the rat spinal cord. (A) Schematic drawing of a model wherein commissural neurons first experience a gradient of Sonic hedgehog and netrin-2, and then a steeper gradient of netrin-1. The commissural axons are chemotactically guided ventrally down the lateral margin of the spinal cord toward the floor plate. Upon reaching the floor plate, contact guidance from the floor plate cells causes the axons to change direction. (B) Autoradiographic localization of netrin-1 mRNA by in situ hybridization of antisense RNA to the hindbrain of a young rat embryo. Netrin-1 mRNA (dark area) is concentrated in the floor plate neurons. (B from Kennedy et al. 1994; photograph courtesy of M. Tessier-Lavigne.)



**2. Slit a Robo receptor** – repulsní charakter, kooperace s Netrin/DCC

## Dosažení cílového orgánu a integrace

### Neurotrofiny\* – (NGF, BDNF, GDNF,..)

- chemotaktické molekuly produkované v místě určení, působí na krátkou vzdálenost.

- opět atrakce či repulze

**- jeden axon.výběžek odpovídá během své pouti mnoha atraktantům a repelentům**

- pokud se axon octne „doma“, vzniká synapse

(ukotvení axonu např. sval.lamininem (nervo-sval.ploténka) nebo N-cadherinem (neuron-neuron))

### Neurální pruning (cílená apoptóza)

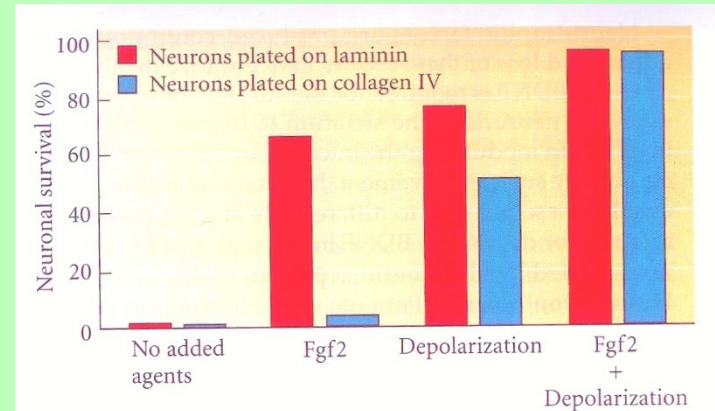
- během vývoje téměř polovina všech funkčních neuronů zaniká (př. svaly)

- neurotrofiny zásadní pro určení daného neuronu pro apoptózu

- synergický efekt **neurotrofinů, substrátu** (např. laminin) a **aktivity neuronu** (depolarizace)

→ **zajišťuje přežití daného neuronu během pruningu** (i patologie – mutace v neurotrofinech → Huntington, Parkinson)

\* neurotropní – neuron přitahující, neurotrofní – neuron vyživující



**FIGURE 13.31** Interactions between the effects of substrate, depolarization, and the neurotrophin Fgf2 in the survival of ciliary ganglion neurons. Neurons were plated either on laminin (a survival-enhancing substrate) or collagen IV (a neutral substrate) and observed after 24 hours of culture in the presence or absence of depolarization or Fgf2. When cells were depolarized and grown in the presence of Fgf2, it did not matter on what substrate they grew. However, when Fgf2 was present without depolarization, the substrate made a great deal of difference. (After Schmidt and Kater 1993.)

# Dodatek: Myelinizace neuronů

= obtočení axonu myelinem (lipoprotein) - dvojvrstva membrán buněk

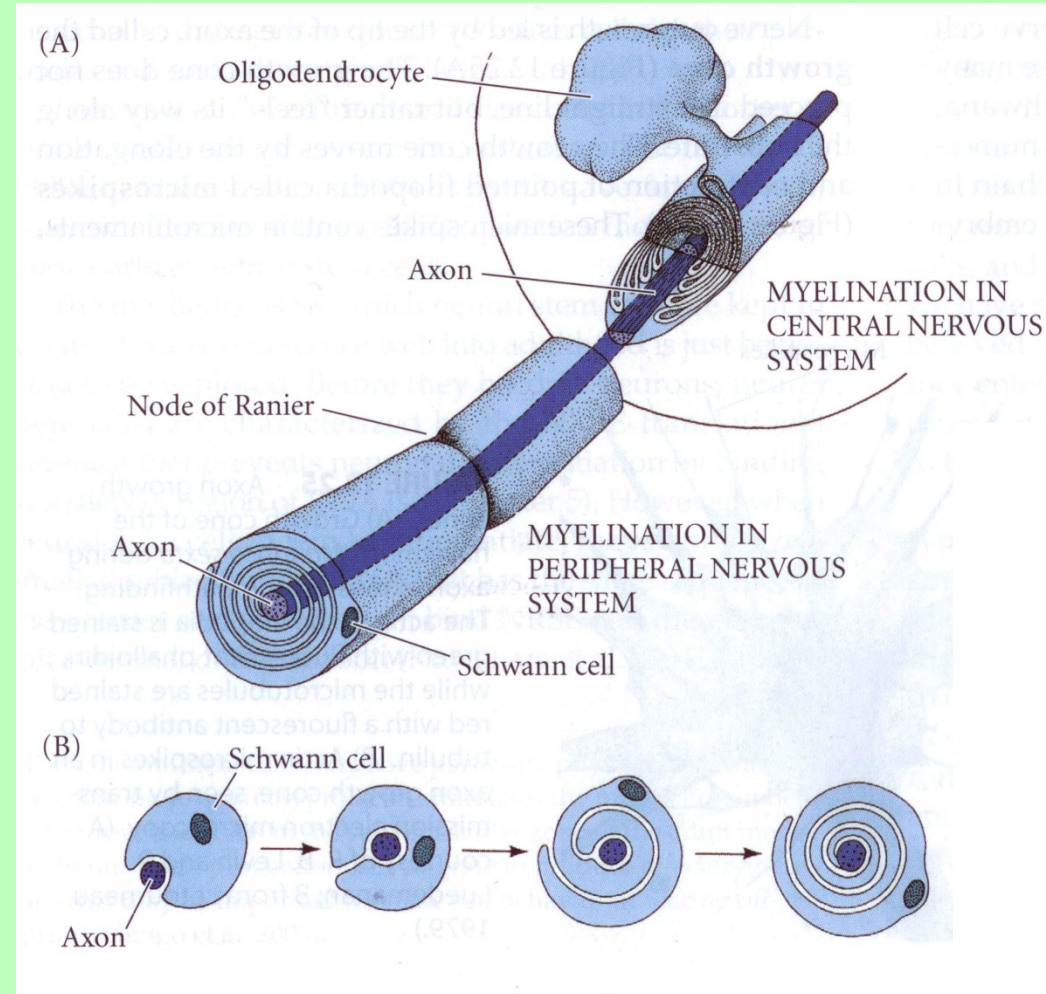
Myelinizace neuronů CNS pomocí oligodendrocytů – rotuje výběžek

- jeden až pro 40 centrálně vedoucích axonů

U periferních nervů Schwannová pochva ( Schw. b.) – rotuje buňka

- přerušovaná Ranvierovými zářezy

Myelinizace neprobíhá všude současně – nejprve přední a zadní kořeny míšní, naposledy kortikospinální dráhy (po narození) – viz. postpubertální shift (s.31)



## Zdroje:

### - **Towards a Cellular and Molecular Understanding of Neurulation**

JEAN-FRANCOIS COLAS AND GARY C. SCHOENWOLF, 2001

### - **Human embryology**

WILLIAM J. LARSEN, 2001

### - **Developmental biology**

SCOTT F. GILBERT, 2006

### - **Embryologie**

ZDENĚK VACEK, 2006

### -**Srovnávací fyziologie živočichů**

MARTIN VÁCHA a kol., 2004

### -**Essential developmental biology**

J.M.W. SLACK, 2013

## Videa - odkazy:

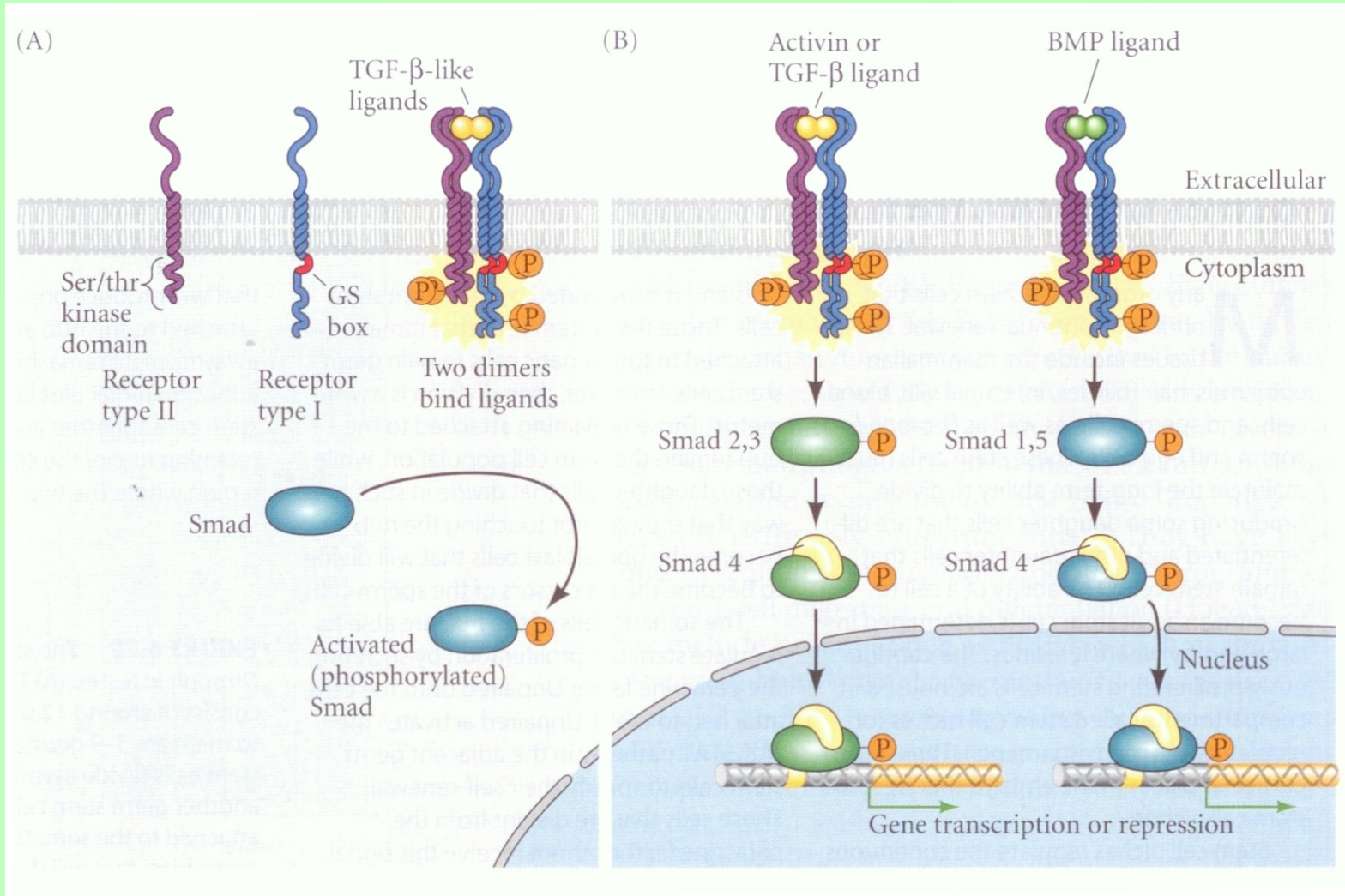
[http://www.youtube.com/watch?v=x-p\\_ZkhqZoM&feature=related](http://www.youtube.com/watch?v=x-p_ZkhqZoM&feature=related)

<http://www.youtube.com/watch?v=ZRF-gKZHINk&feature=related>

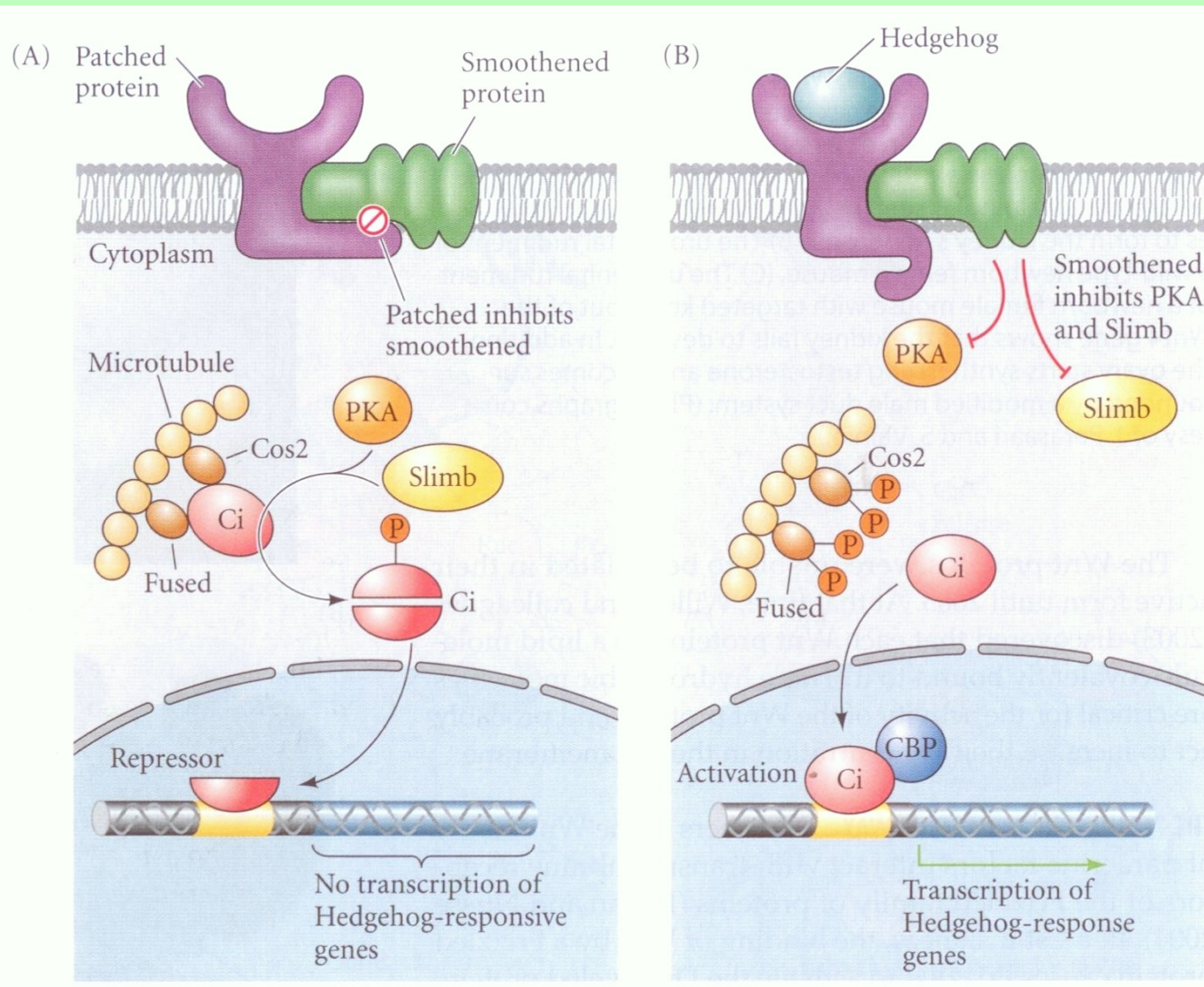
# Příloha

## Signální dráha růst.faktorů z rodiny transforming growth factors (TGF- $\beta$ )

Ligandy: TGFs- $\beta$ , Nodal, BMPs, Activin, ..



# Signální dráha růst.faktorů **sonic hedgehog (SHH)**





# Signální dráha růst.faktorů fibroblast grow factors (FGFs)

Ligandy: FGFs, EGF, PDGF, SCF

