

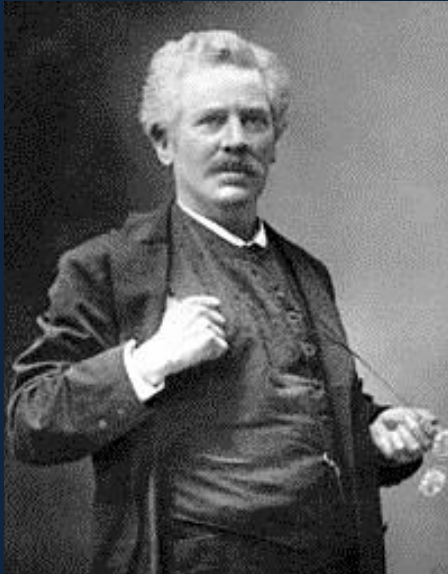
Gliové buňky a patologické stavy *CNS*

M. Anděrová, PhD
Ústav experimentální medicíny, AVČR, v.v.i.
Odd. buněčné neurofyzologie

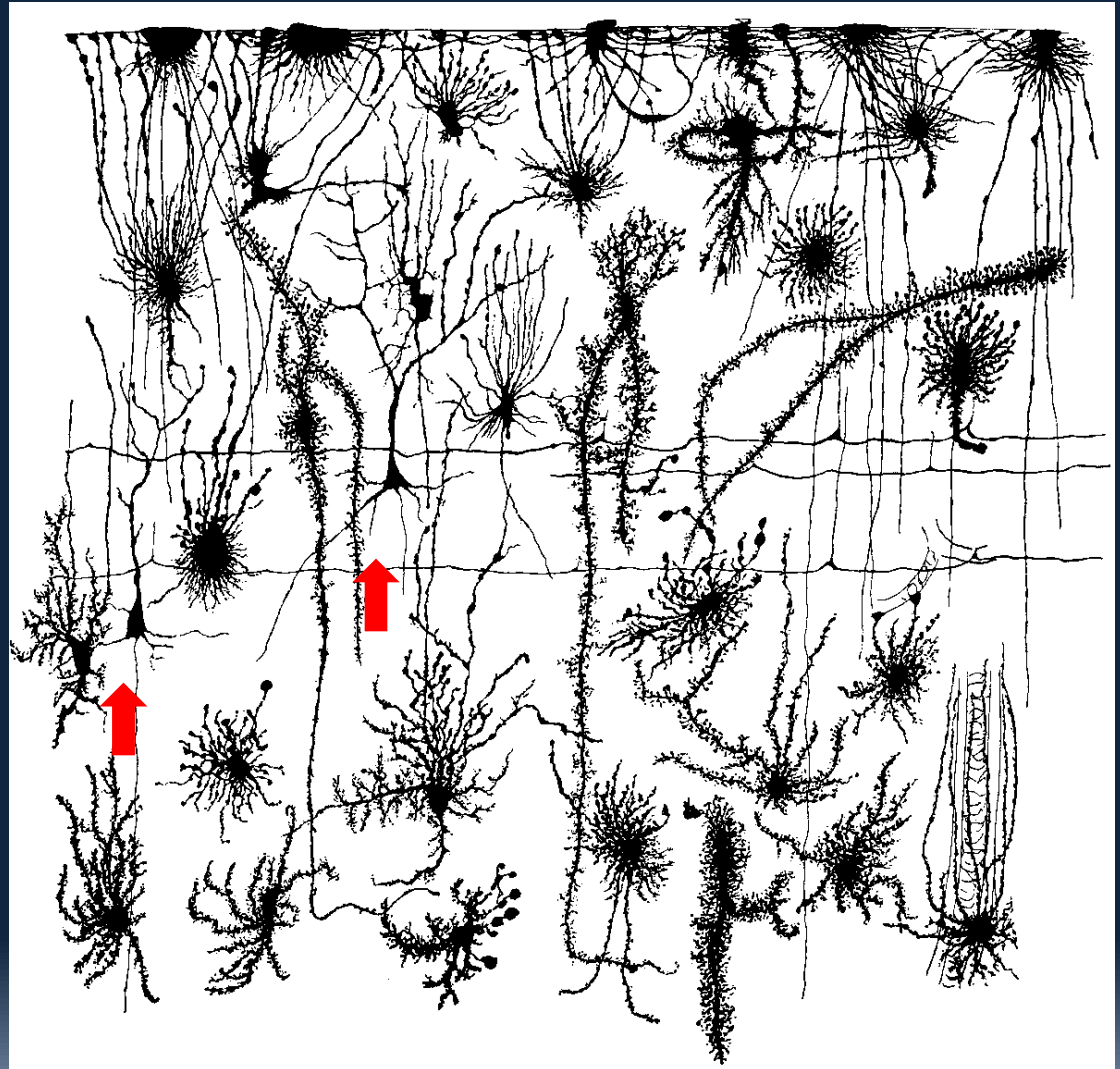
Historie výzkumu gliových buněk

- Gabriel Gustav Valentin (1836)** – existence aktivních (excitabilních) a pasivních (neexcitabilních) buněčných elementů v mozku
- Robert Remark (1838)** – myelinové pochvy kolem axonů v PNS
- Theodor Schwann (1839)** – myelinové pochvy produkují specializované buňky
- Heinrich Muller (1851)** – popsána morfologie radiálních glií v retině
- Rudolf Ludwig Karl Virchow (1858)** – zaveden termín glie
- Otto Deiters (1860)** – popsány „stellate cell“ v šedé a bílé hmotě CNS
- Jakob Henle (1869)** – prvně zobrazena buněčná síť tvořená „stellate“ buňkami v šedé a bílé hmotě míchy
- Lois Antoine Ranvier (1871)** – periferní gliální elementy Schwannovy buňky
- Camilo Golgi (~1890)** - heterogeneita gliových buněk (barvení dusičnanem stříbrným) kontakt gliových buněk a cév mozku
- Ramon y Cajal (~1890)** - heterogeneita gliových buněk
- Michael von Lenhossek (1893)** – zaveden termín *astro* (hvězda) *cyte* (buňka)
- Pio Del Rio-Hortega (1921)** - zaveden termín *oligo* (několik) *dendro* (větev) *cyte* (buňka) -navržen termín mikroglie a jejich mezosermální původ
- Carl Ludwig Schleich (1894)** – aktivní interakce mezi neurony a gliovými buňkami
neurony a glie = rovnocení hráči
- Steven Kuffler, John Nicolls, Richar Orkand (1966)** – gliové buňky jsou vodivě propojeny
- Milton Brightman, Tom Reese (1969)** – glie tvoří funkčně propojenou síť
- Helmutt Kettenmann, Harold Kimmelberg (1984)** - glie exprimují Glu a GABA receptory
- Ann Cornell-Bell , Steve Finkbeiner (1990)** – komunikace glií na velké vzdálenosti – vápníková vlna

Počty gliových buněk převyšují počty neuronů

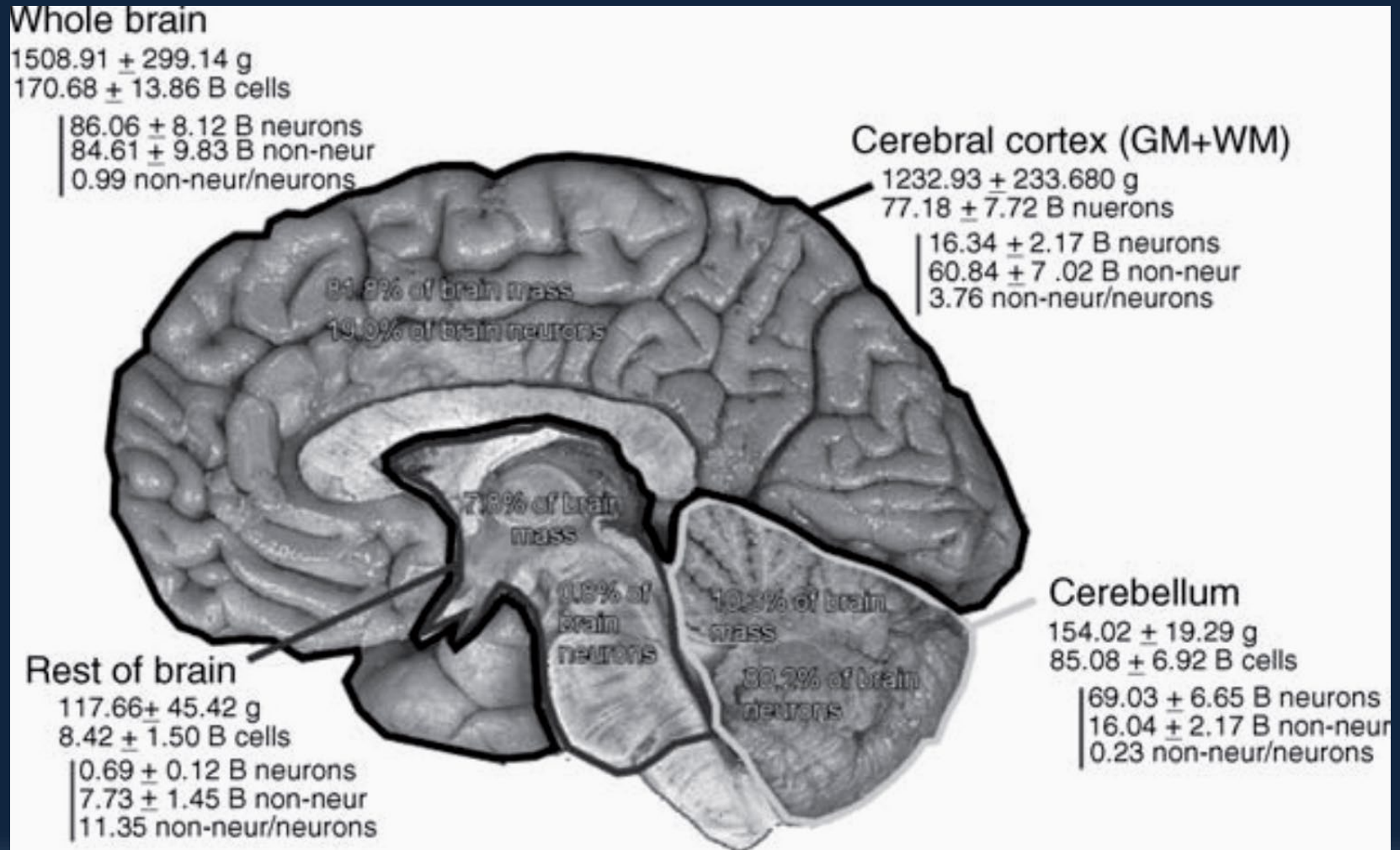


Magnus Gustaf Retzius
1842 – 1919

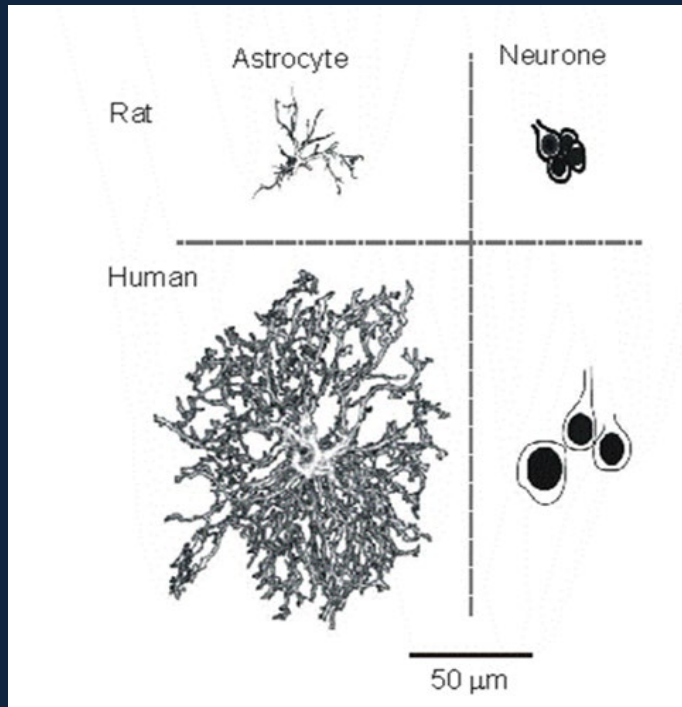


Gustaf Magnus Retzius (1842 - 1919) Biologische Untersuchungen (Stockholm: Samson and Wallin, 1890-1914). Vol. 6 (1894), plate ii, Fig. 5; Cortex of 45 cm long human embryo).

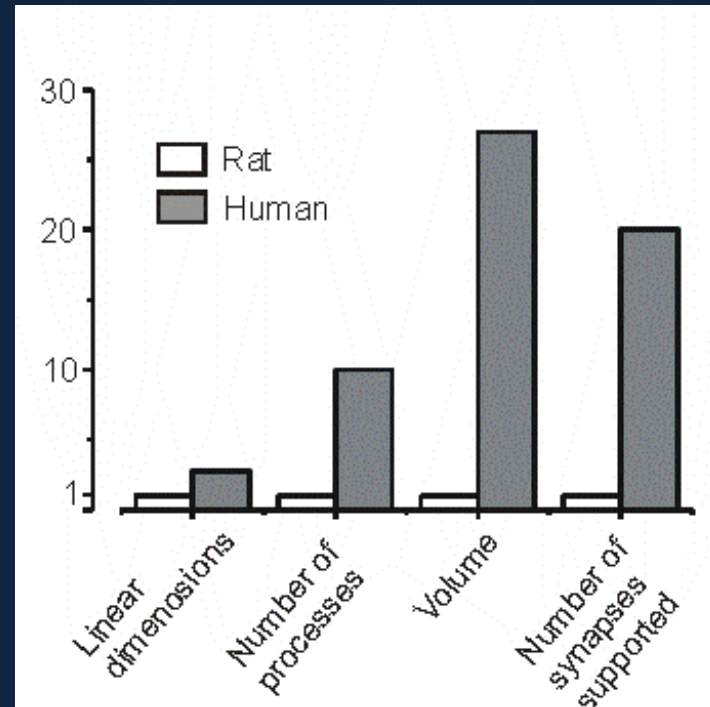
Poměr gliových buněk a neuronů v oblastech CNS



Počet, velikost a komplexita gliových buněk-fylogeneze



Morfologie a komplexita astrocytů



Typy gliových buněk

CNS

PNS

Ependymové
buňky

Astrocyty

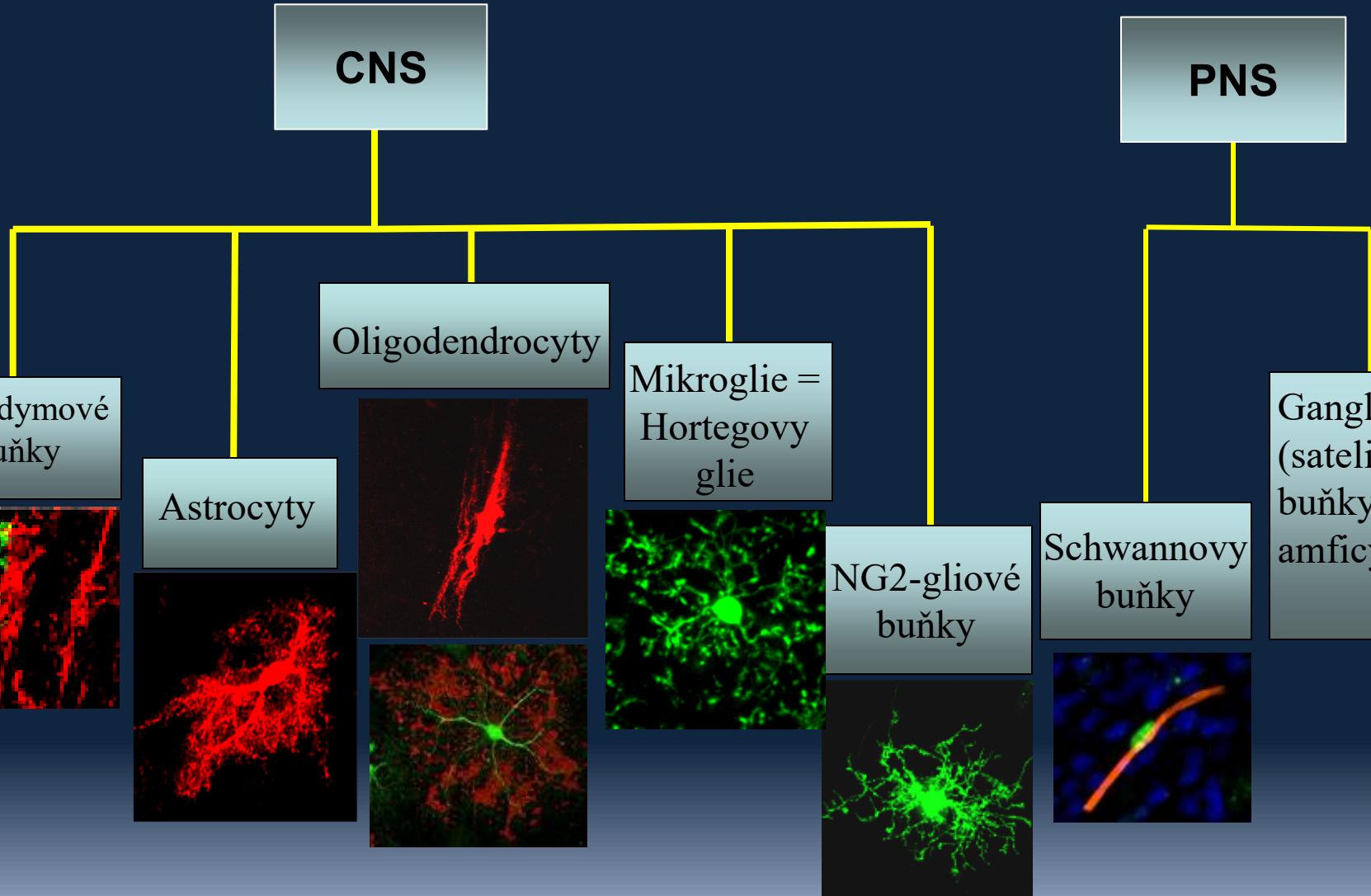
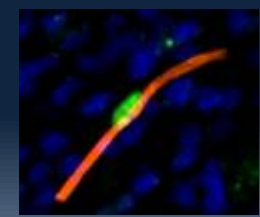
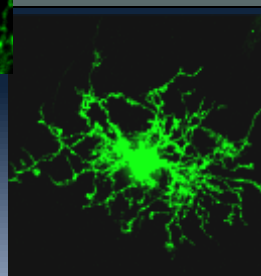
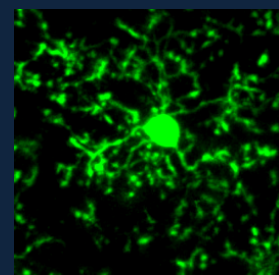
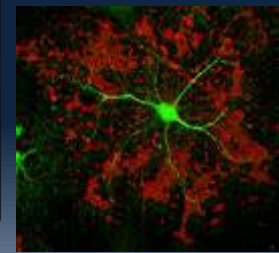
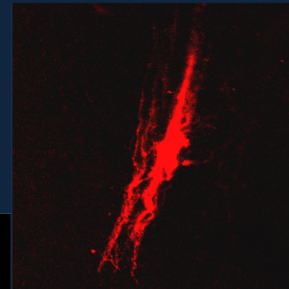
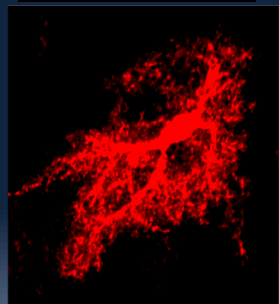
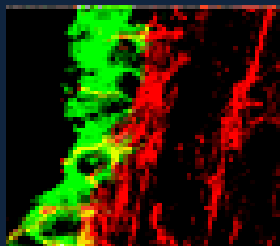
Oligodendrocyty

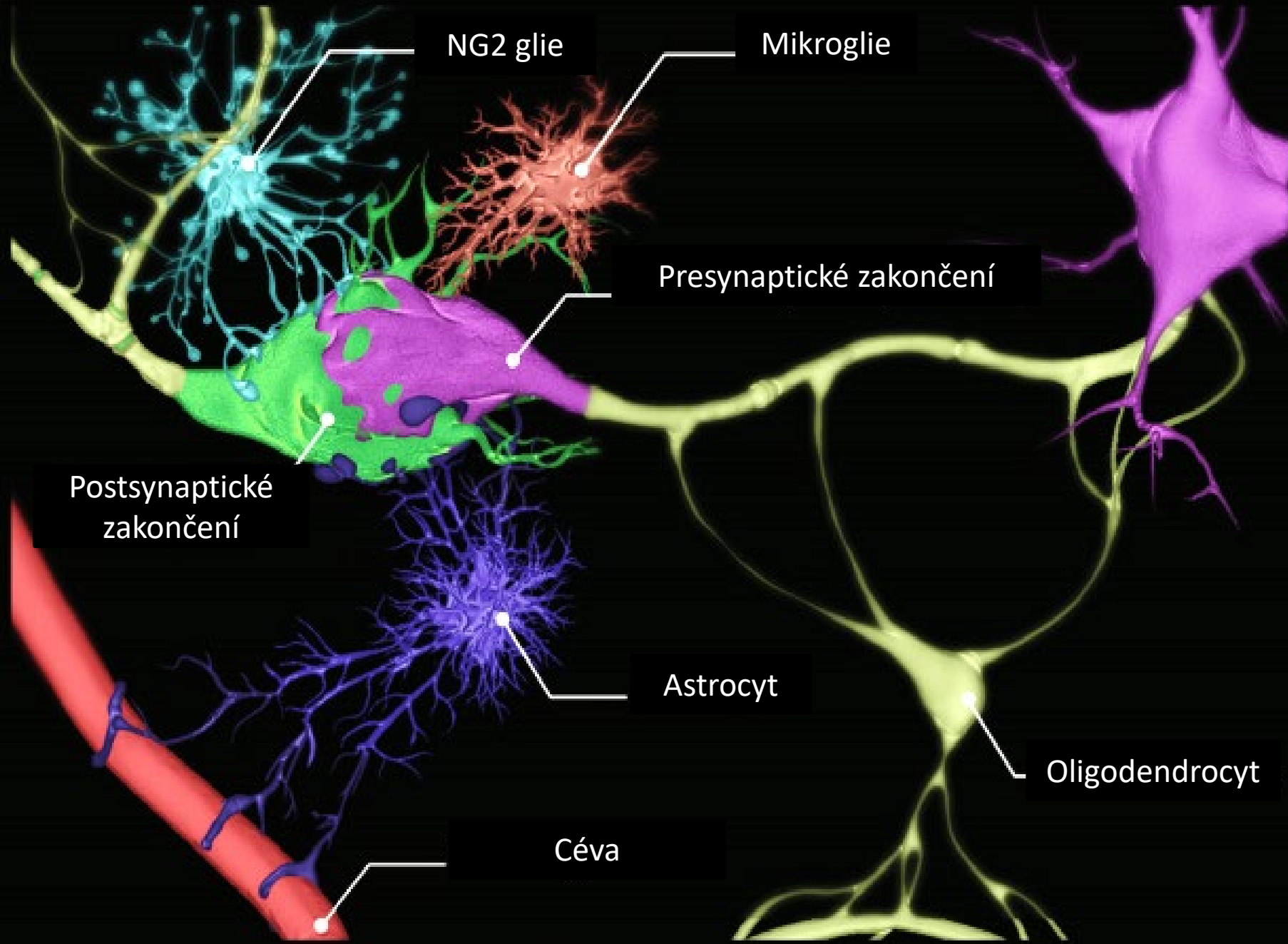
Mikroglie =
Hortegovy
glie

NG2-gliové
buňky

Schwannovy
buňky

Gangliové
(satelitní)
buňky =
amficyty

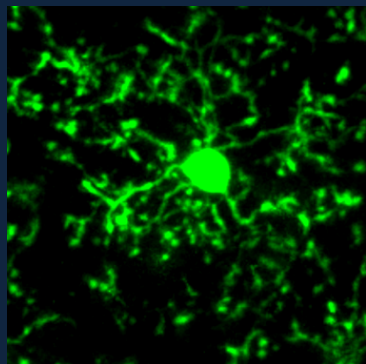




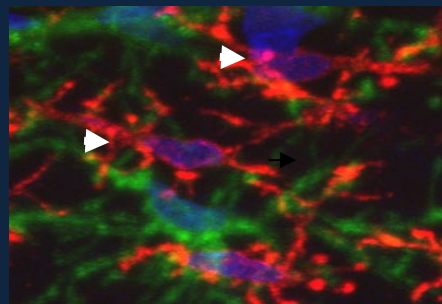
Mikroglie

rezidentními makrofágy mozku a míchy
mezodermálního původu

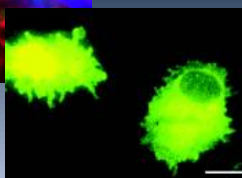
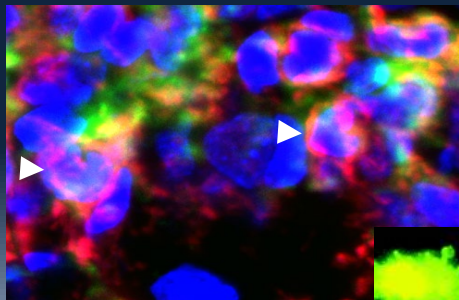
tvoří 10-15% z celkové gliové buněčné populace v mozku
vytvářejí aktivní imunitní obranu v centrálním nervovém systému
schopnost fagocytovat



klidový stav



aktivovaná-reaktivní



Fetální makrofágy

Drobné buňky bez výběžků



Embryonální mikroglie

Několik výběžků



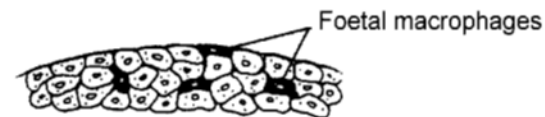
Ameboidní mikroglie

V shlcích, proliferující

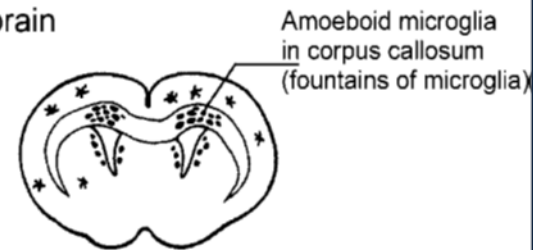


Klidová mikroglie

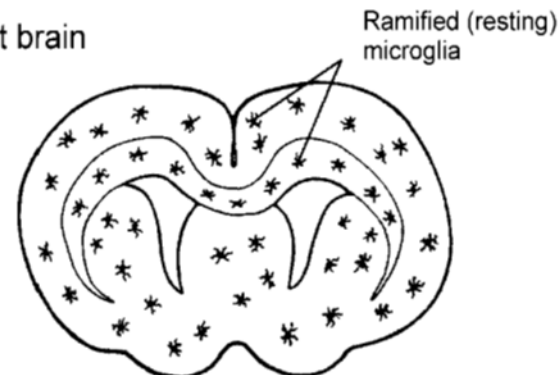
Embryonic neuroepithelium

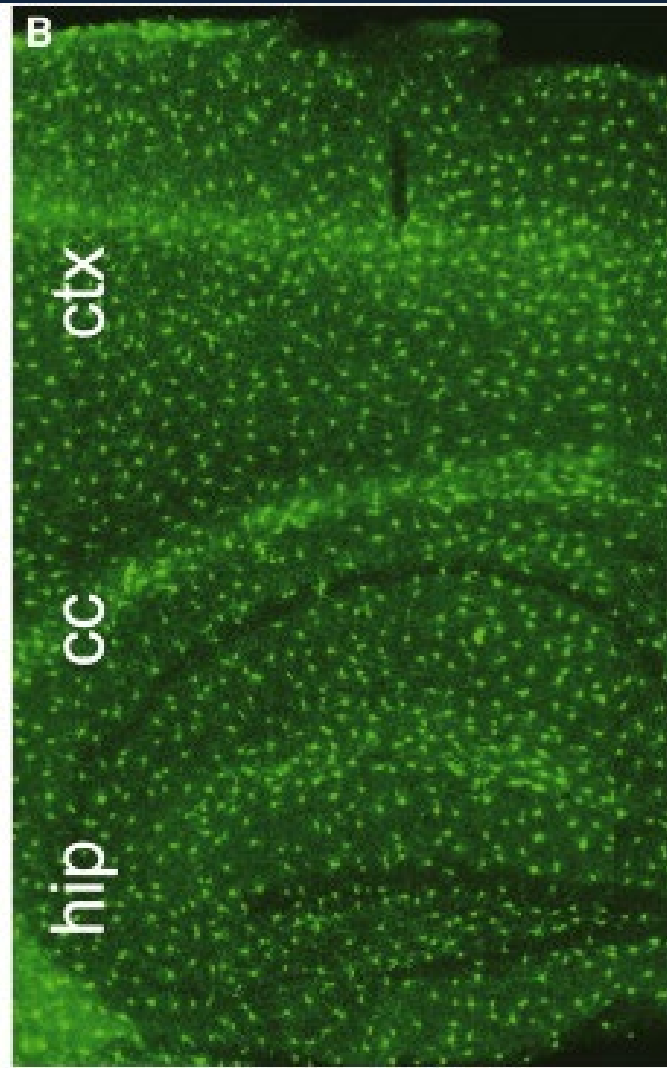


Perinatal brain

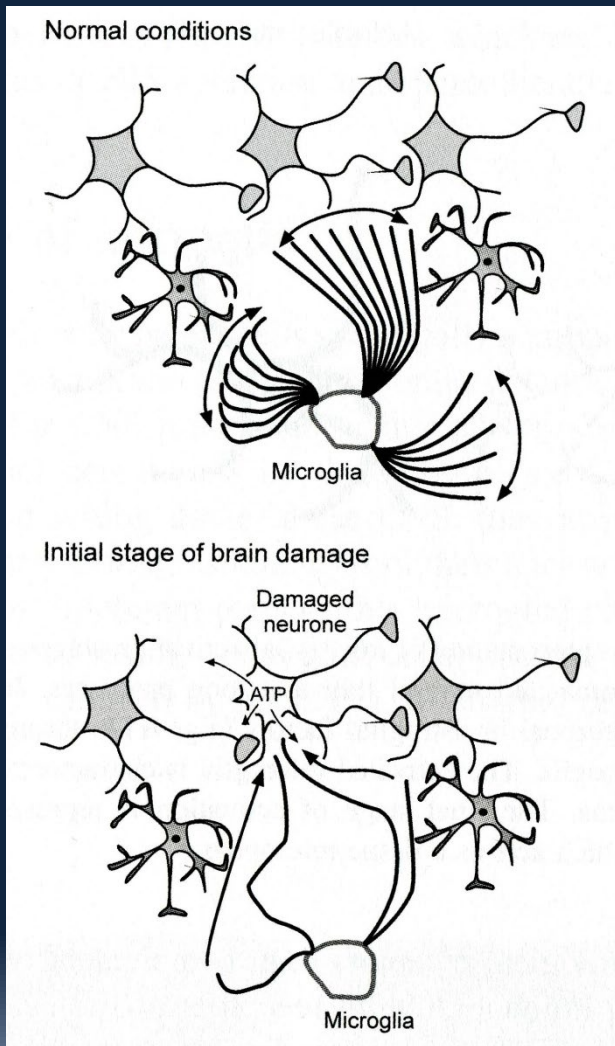


Adult brain





Mikroglie



„Klidová mikroglie“ ????

buňka neustále kontrolující ECS – nahodilý pohyb výběžků (1.2-1.5 μ m/min), prodlužování a zkracování výběžků -kontrola oblasti CNS v průběhu několika hodin

Aktivovaná mikroglie

Retrahované výběžky, proliferace a migrace

Fagocytující mikroglie – residua odumřelých buněk

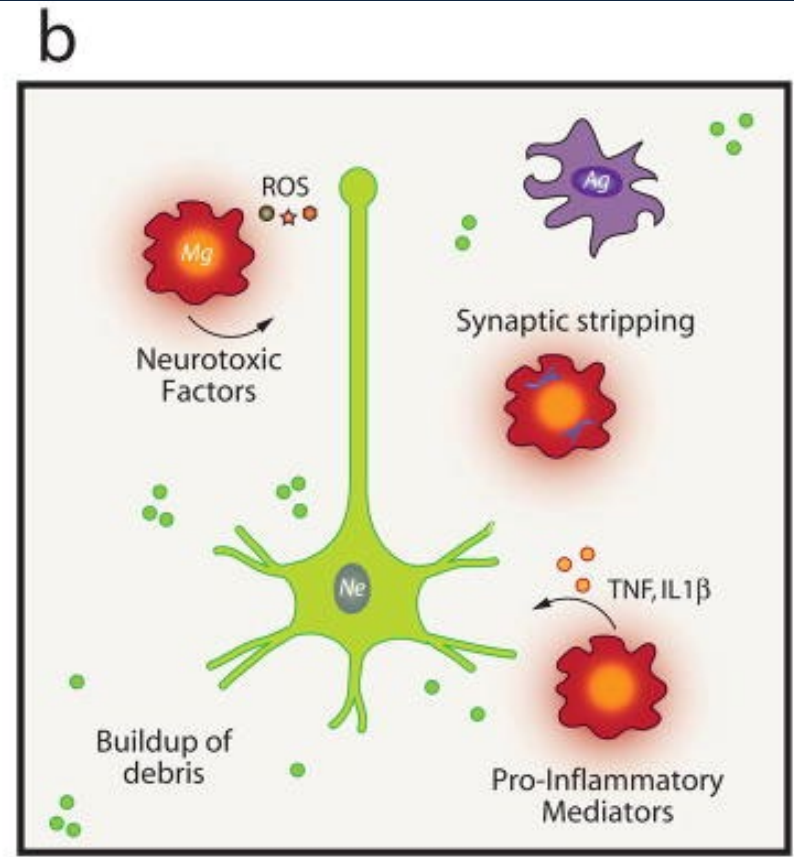
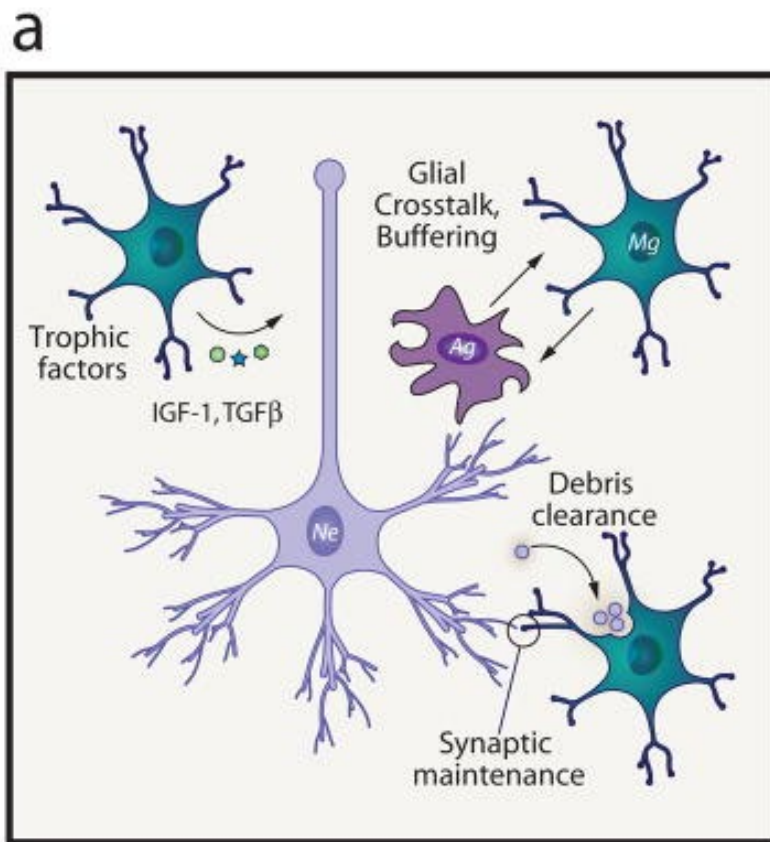
Iniciace

“on” signal (ATP, nucleotidy, neuropeptidy , růstové faktory, LPS

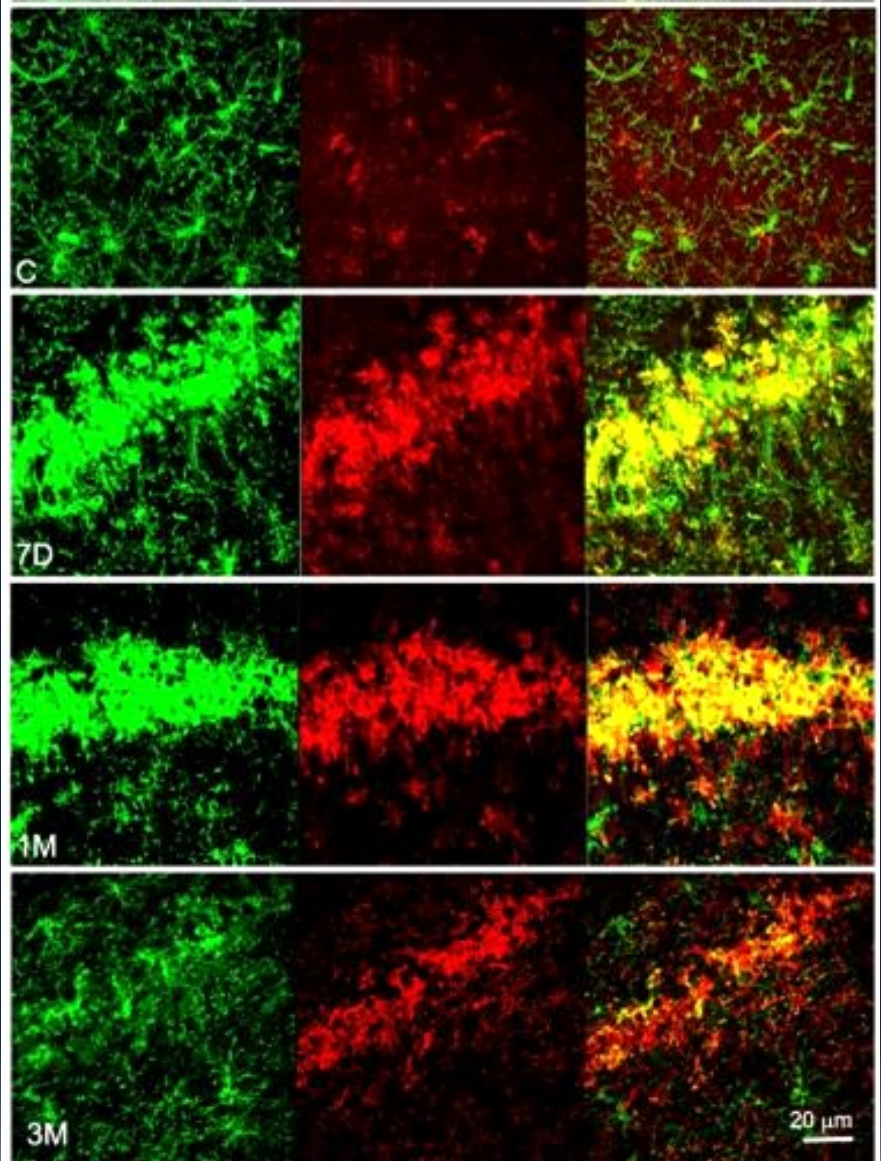
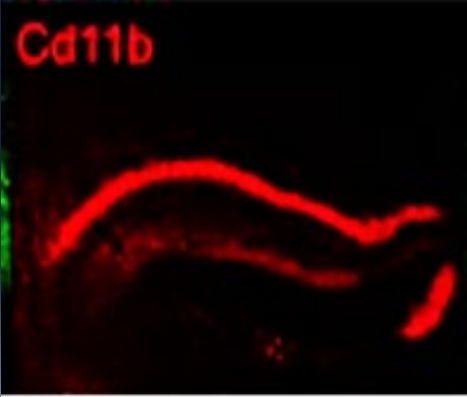
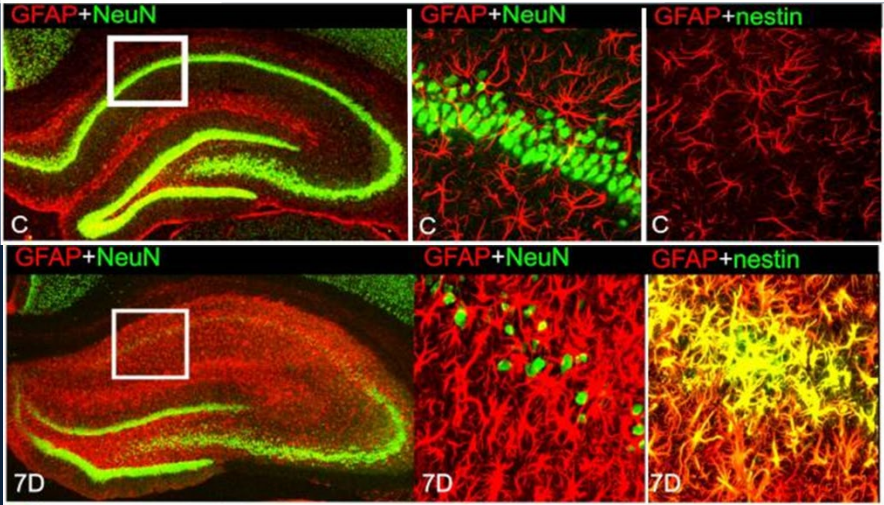
“off” signal (pokles neuronální aktivity)

Fyziologie

Patologie



Aktivace mikroglíí po GCI

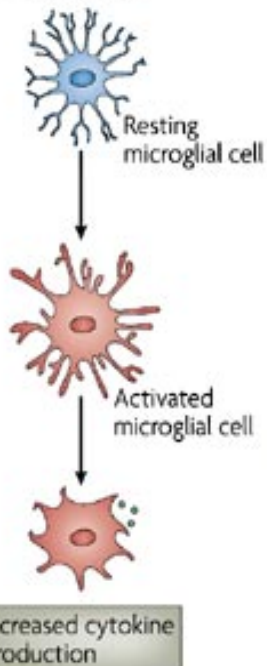


Mikroglie

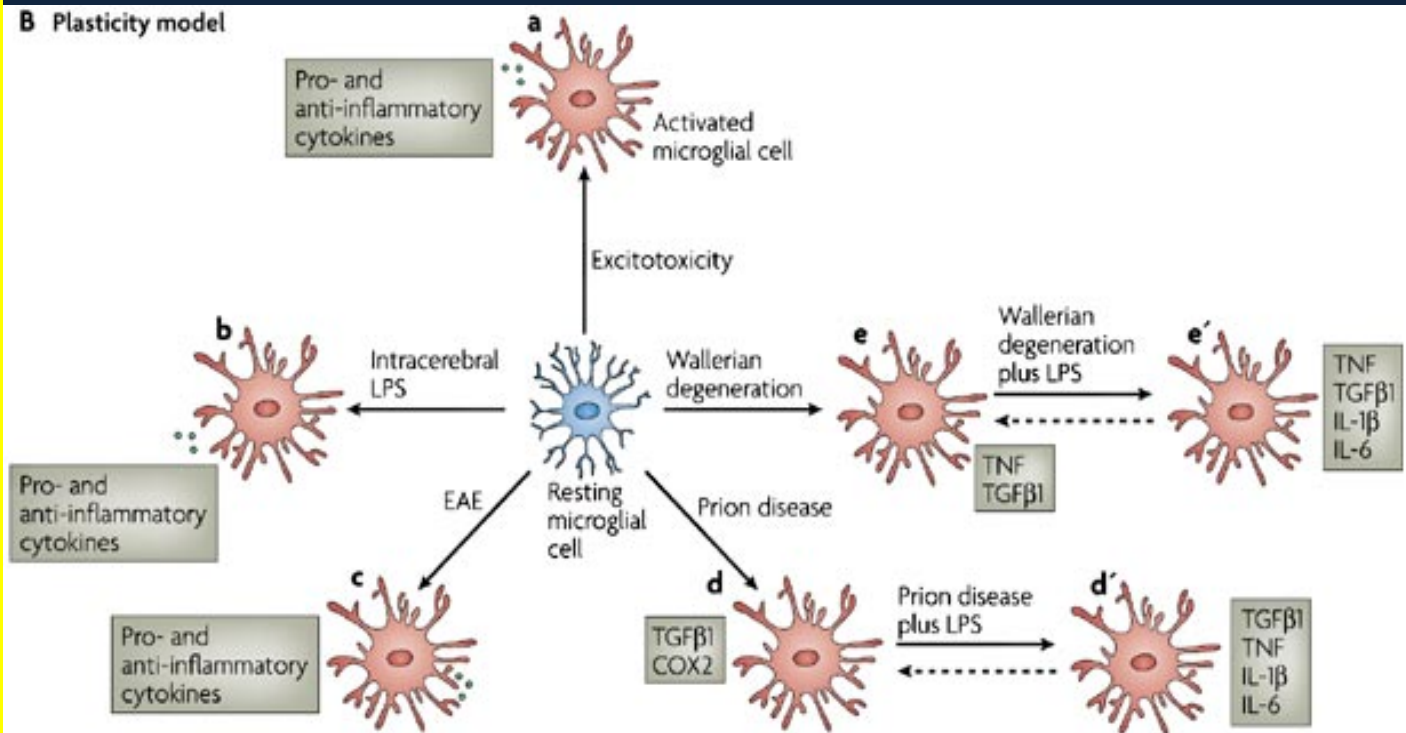
MICROGLIA STIMULATORS



A Linear model



B Plasticity model

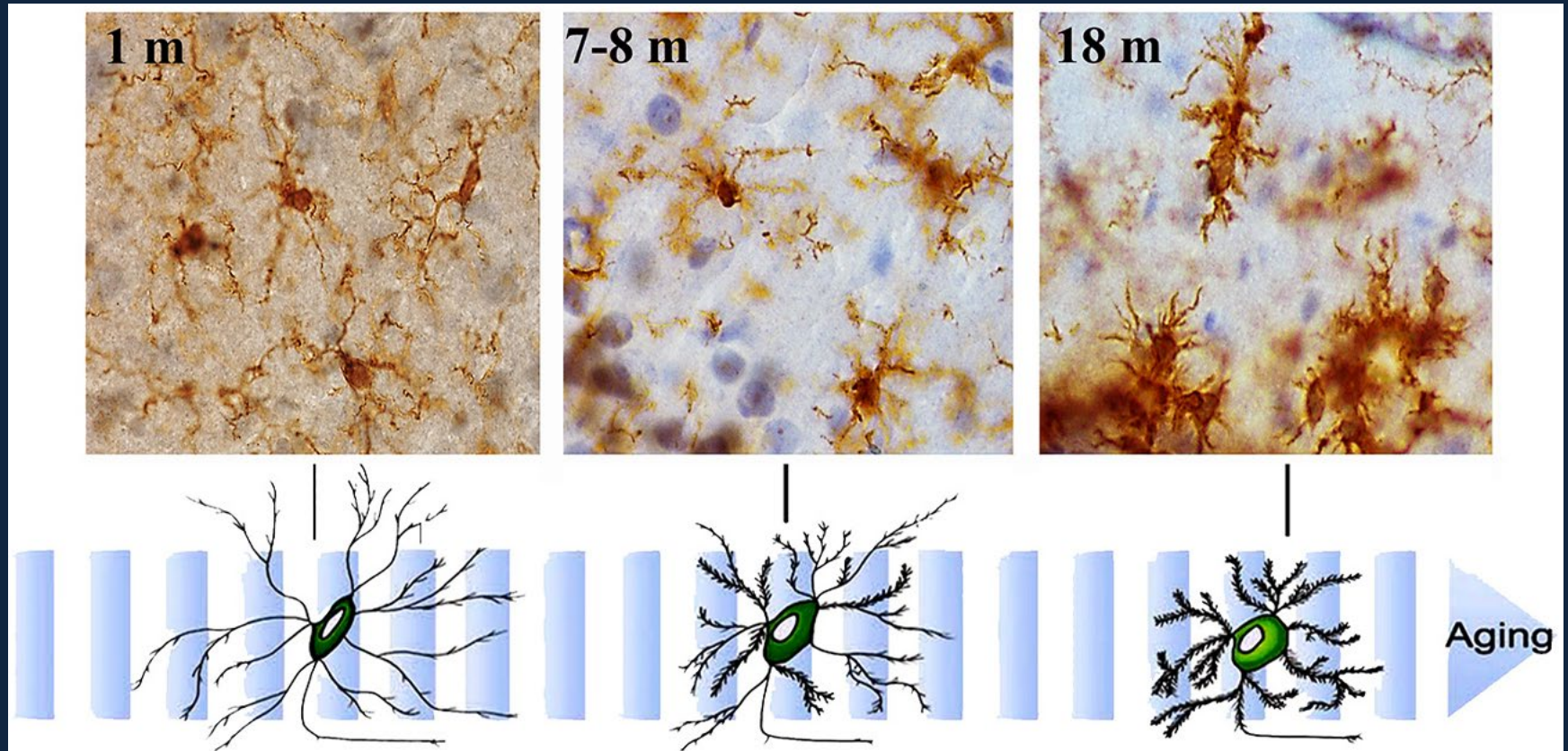


Nature Reviews | Immunology

Rozsah poranění určuje rozsah morfologických změn a produkce cytokinů

Charakter poranění, intenzita a trvání stimulu ovlivňují produkci cytokinů

Senescentní mikroglie – stárnoucí CNS

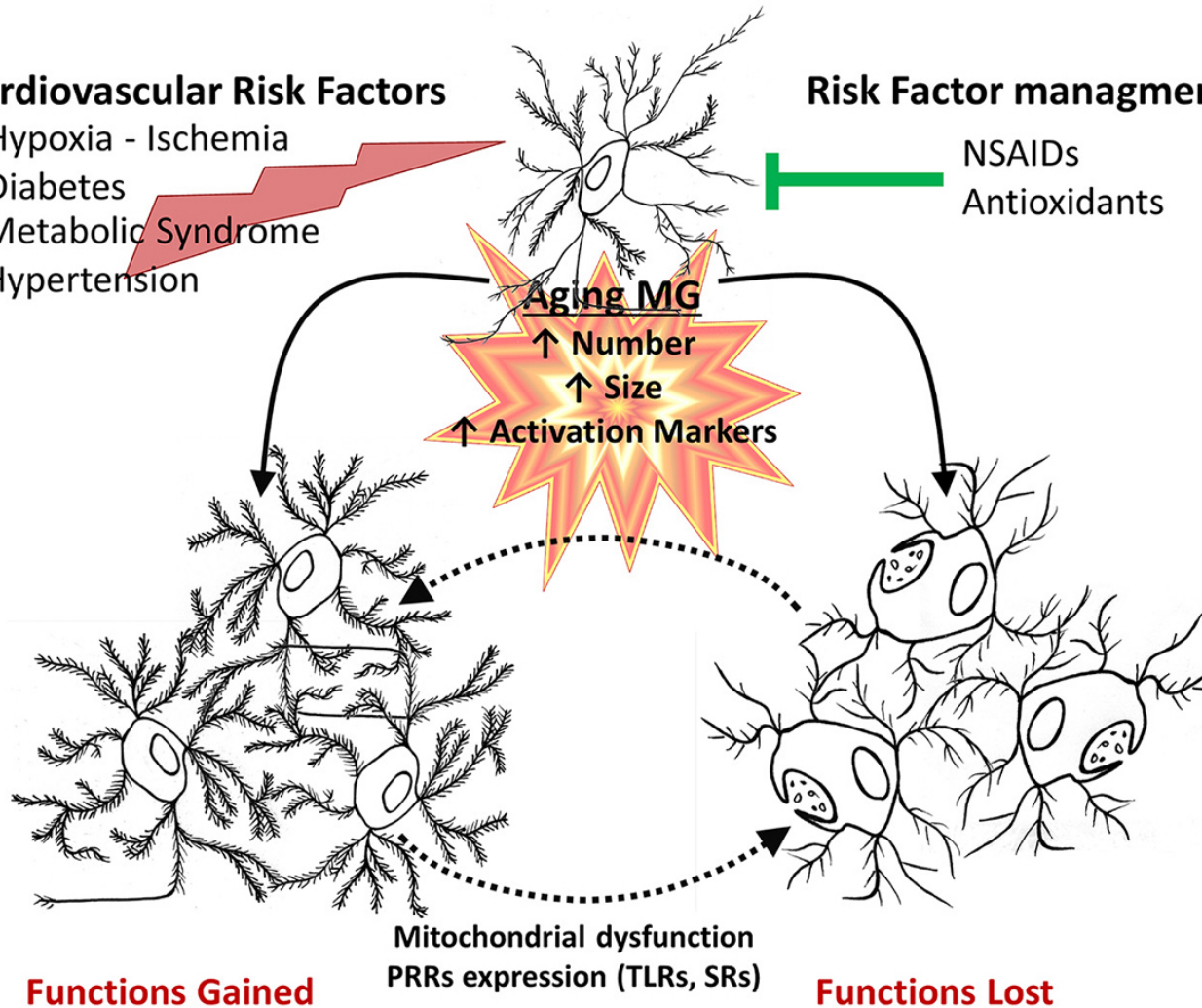


Cardiovascular Risk Factors

Hypoxia - Ischemia
Diabetes
Metabolic Syndrome
Hypertension

Risk Factor management

NSAIDs
Antioxidants



↑ Reactivity

↑ Inflammatory cytokines

↑ Basal Phagocytosis

↑ ROS production

↑ Neurotoxic Activation

→ **Neuroinflammation**

→ **Protein Aggregation**

→ **Oxidative Stress**

→ **Neurodegeneration**

← ↓ Anti-inflammatory signaling

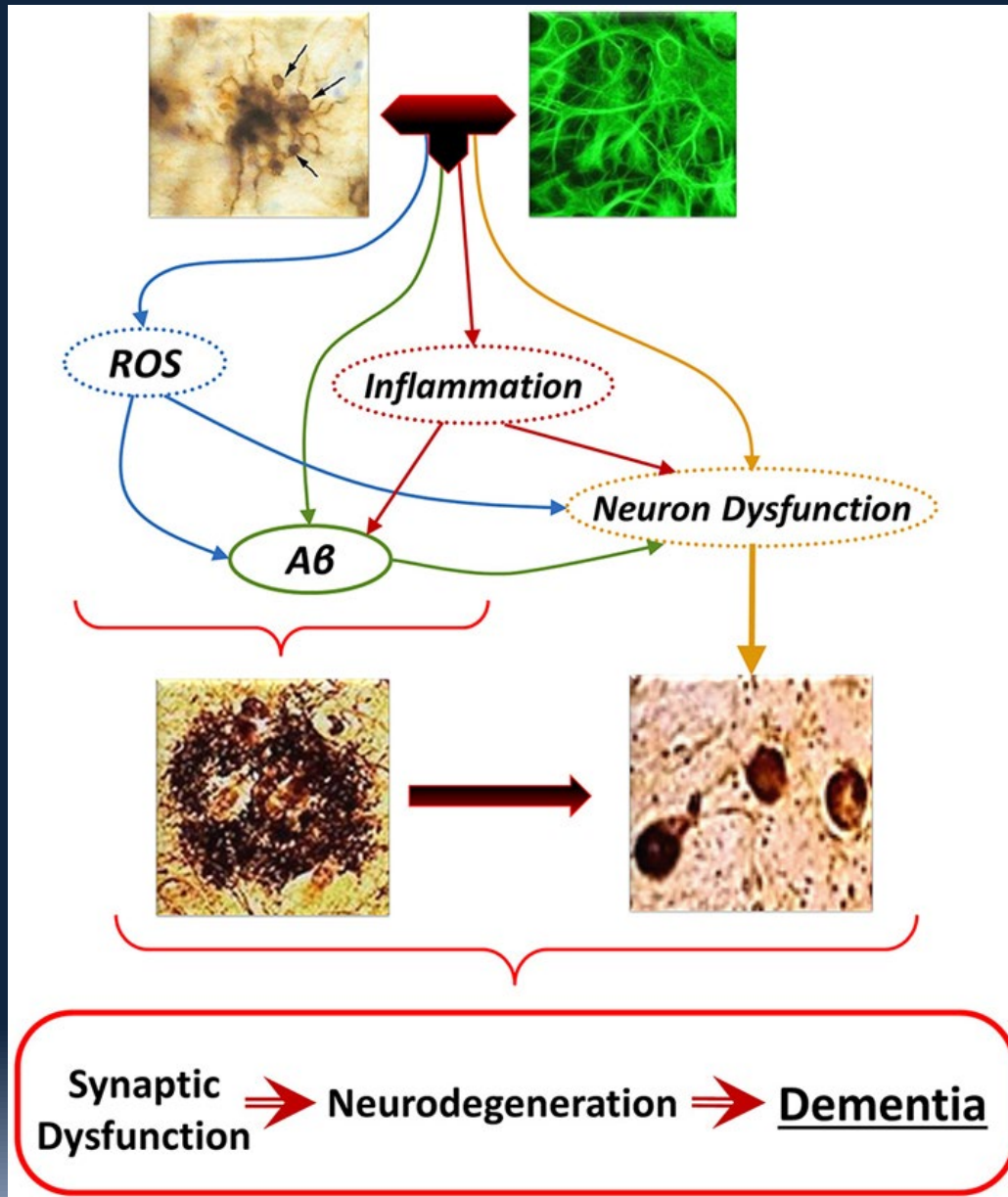
← ↓ Induced phagocytosis

← ↓ Lysosomal proteolysis

← ↓ Energetic metabolism

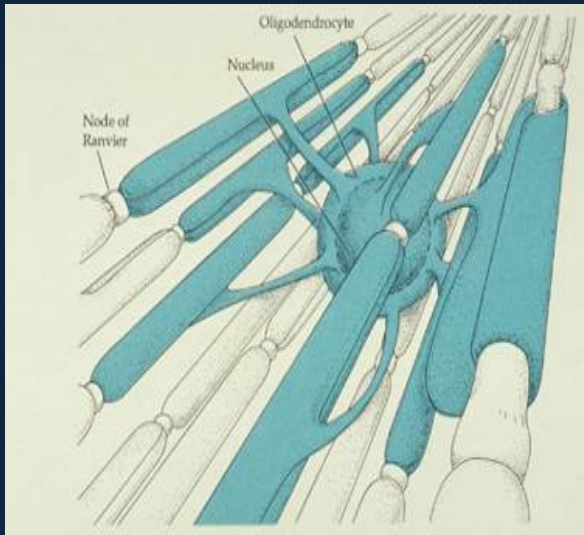
← ↓ Neuroprotection (neurotrophins)

Alzheimerova choroba

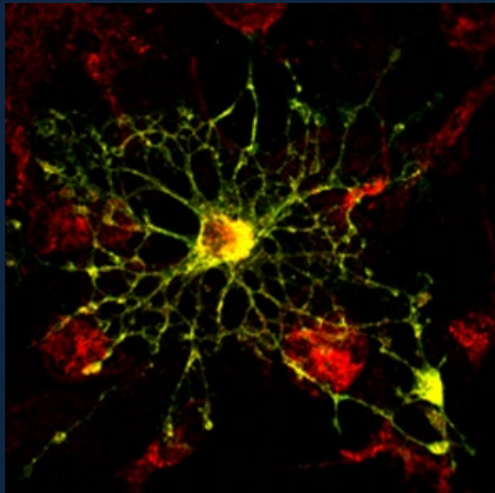
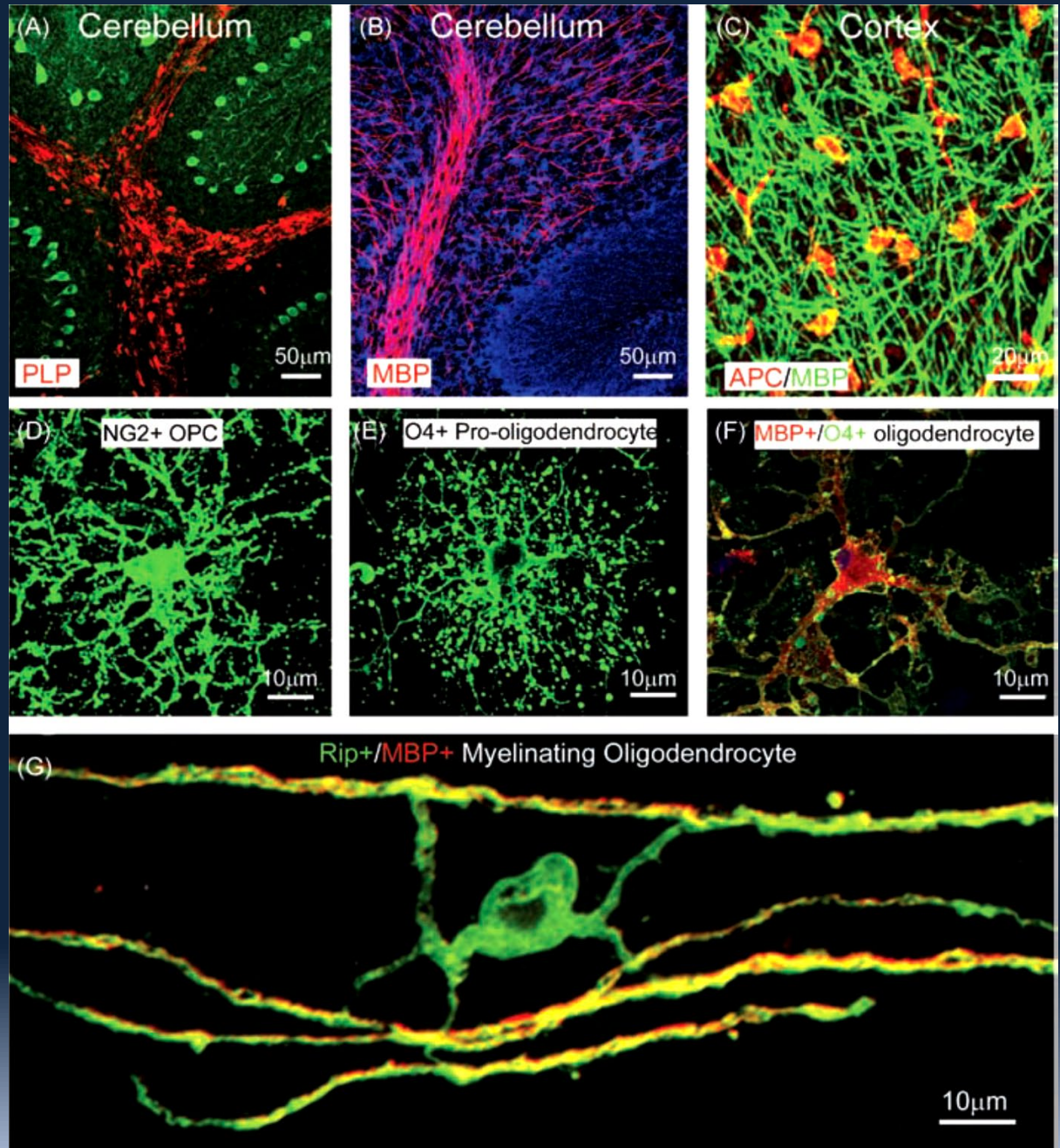


Oligodendrocyty

obklopují výběžky neuronů
vytvářejí myelinové pochvy axonů
v PNS jsou obdobou Schwanovy buňky

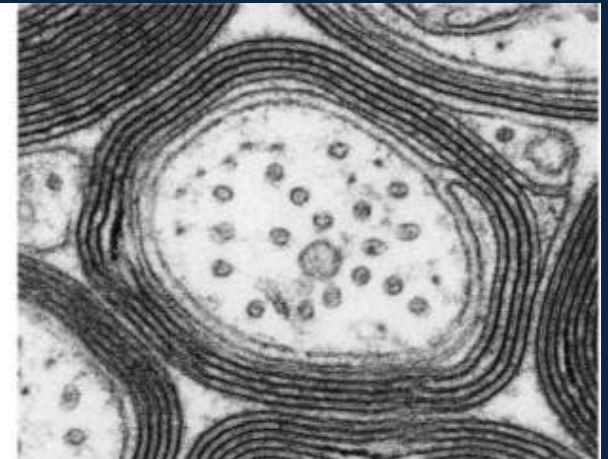
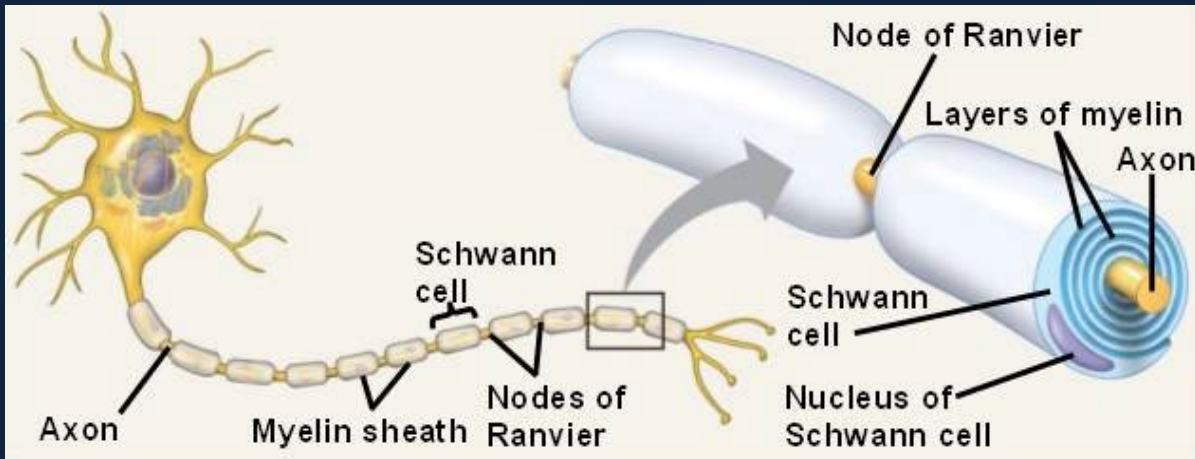
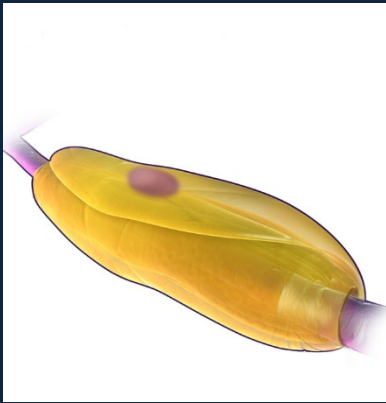


Identifikace oligodendrocytů



PNS – Schwannovy buňky

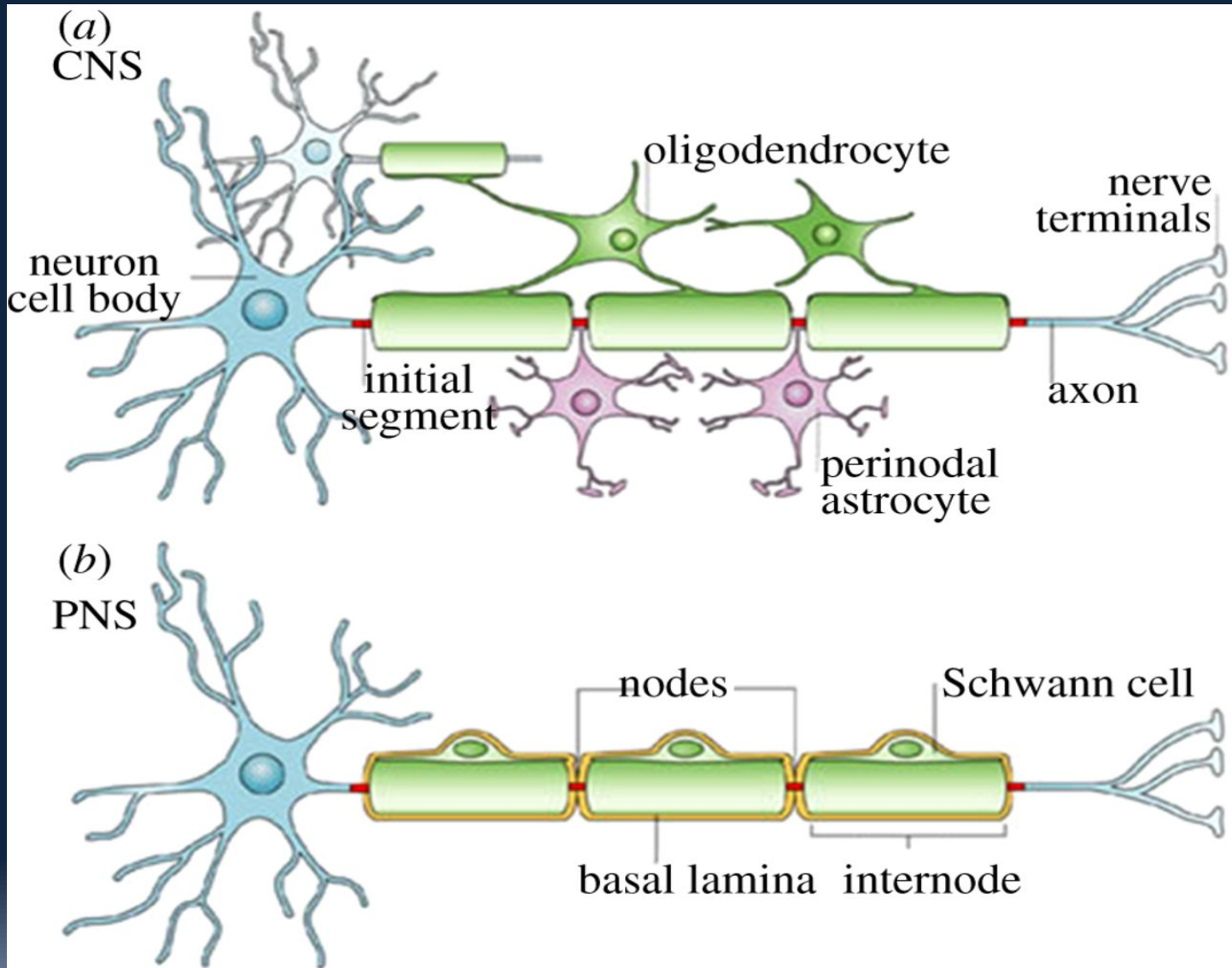
- funkce jako oligodendrocyty v CNS
- myelinové pochvy kolem axonů
- schopnost fagocytózy



0.1 μm

Myelination in CNS x PNS

několik axonů



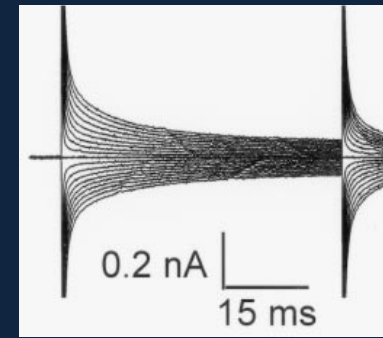
1 internodium

Membránové vlastnosti oligodendrocytů

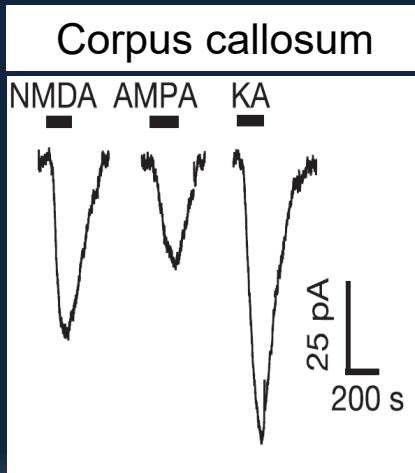
-75-80 mV

Negenerují akční potenciál

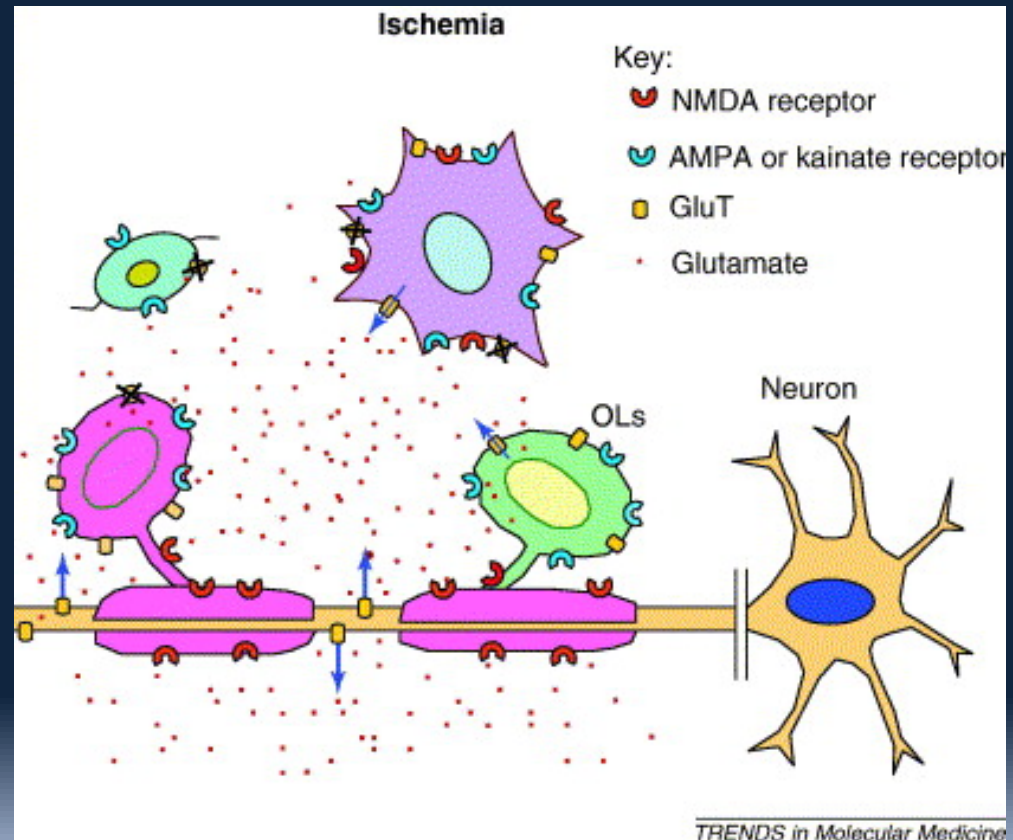
GABA_A, Cl⁻, NMDA, AMPA/kainate, K⁺ iontové kanály, glycin- R, purinergní -R



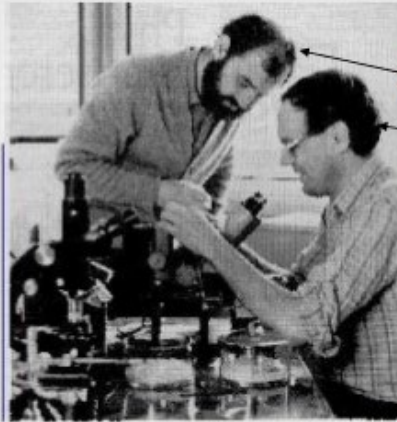
Excitotoxicita




Karadottir et al., 2005 Nature

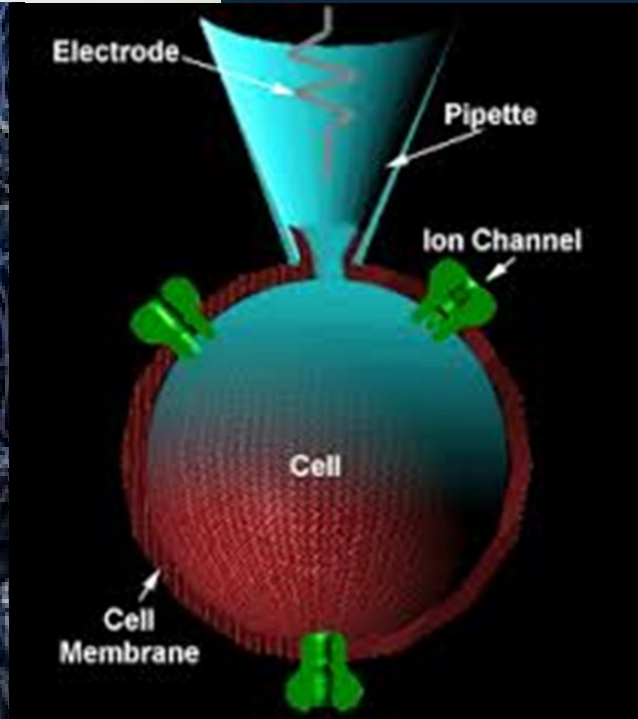
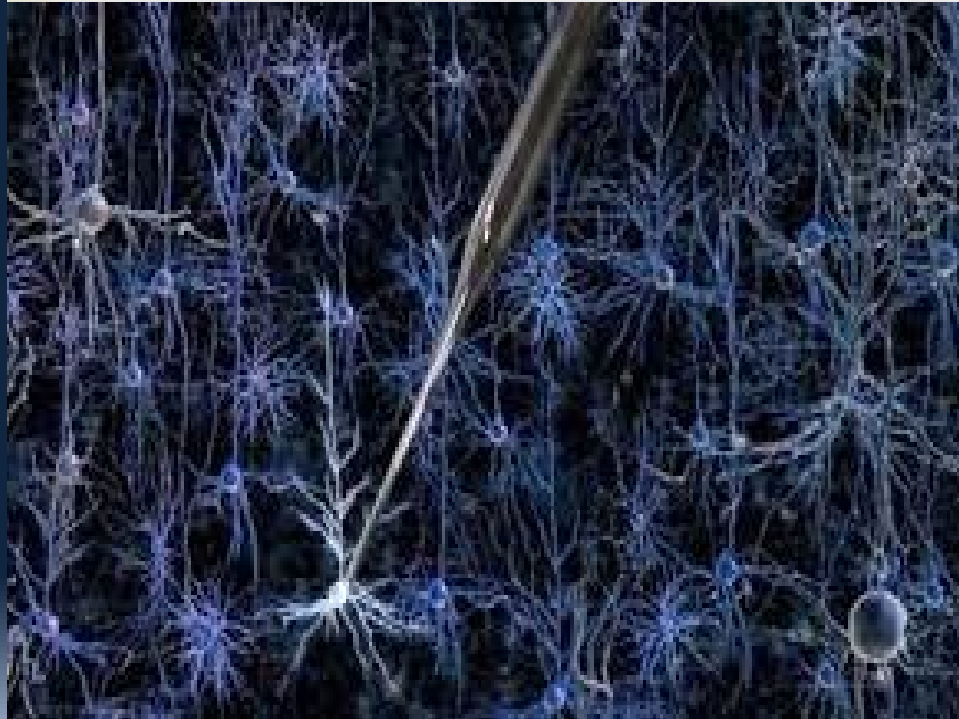


THE PATCH-CLAMP TECHNIQUE



 Erwin Neher
Bert Sakmann
Germany
(1991 Nobel Laureates)

*Membránové vlastnosti
buněk*



CNS

Desintegrace a fragmentace myelinu

Aktivace mikroglíí, NG2 glií a astrocytů

Odstraňování buněčných debris makrofágy

Tvorba gliální jizvy

PNS

Dediferenciace a proliferace Schwanových buněk

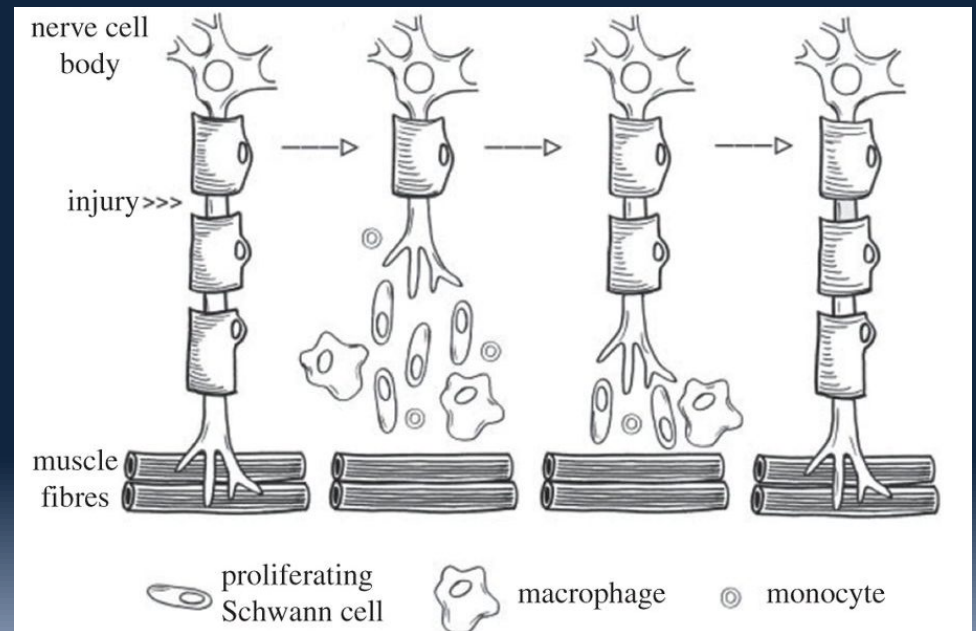
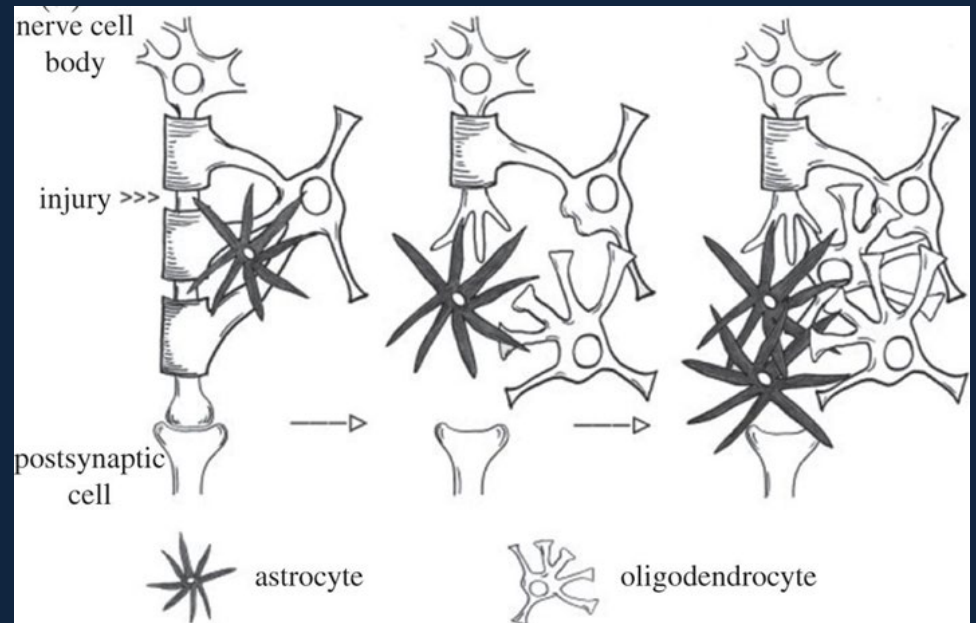
Fragmentace myelinu

Odstraňování buněčných debris makrofágy

Intaktní basální lamina

Prorůstání axonu

Remyelinizace

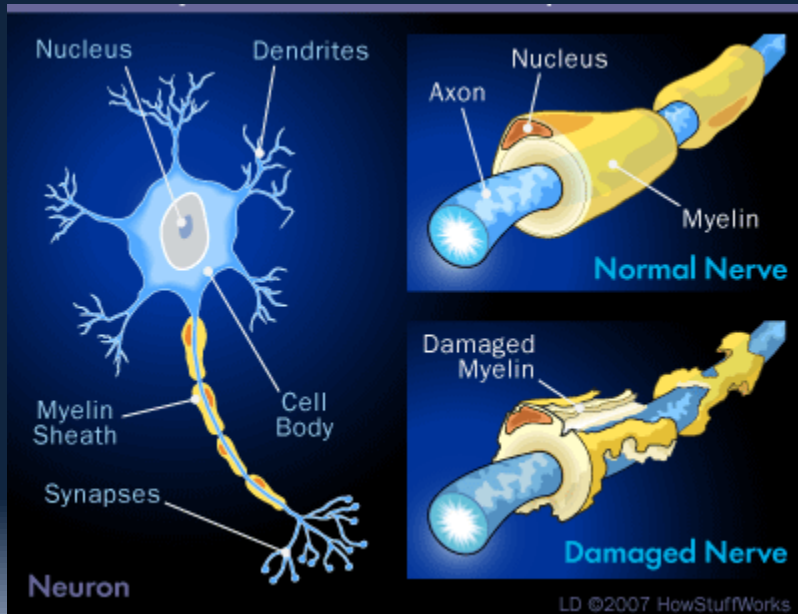


Leukodystrofie - dysfunkce tvorby a udržování myelinu

Vanishing white matter disease ve věku 2-6 let, ztráta myelinu, degenerace bílé hmoty mozkové, cystická BH, kolem cyst ztráta oligodendrocytů, abnormální morfologie oligodendrocytů

Roztroušená skleróza autoimunitní zánětlivé demyelinizační onemocnění CNS
-**primárně progresivní**-smrt oligodendrocytů, neurodegenerace, zánět, bez relapsů, bez remyelinizace OPC,

Globoidní leukodystrofie (Krabbeho nemoc) je vzácné demyelinizační onemocnění postihující centrální i periferní myelin.

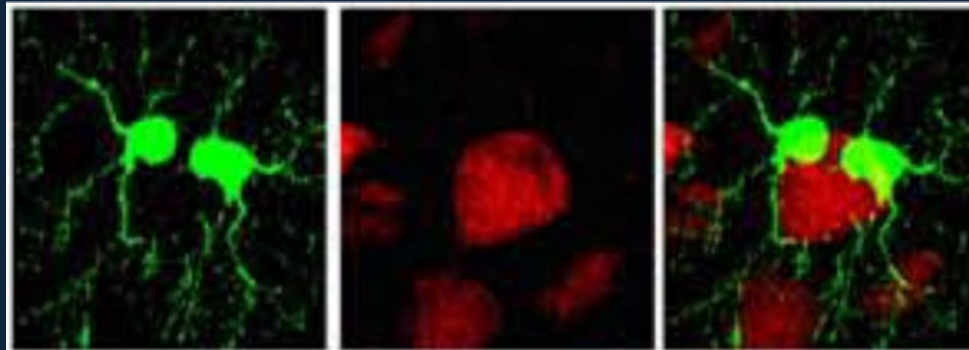


- Loss of function/sensation in limbs
- Disturbance of walking/balance
- Disturbance of vision
- Bowel/bladder dysfunction *
- Fatigue *
- Pain
- Cognitive changes *
- Sexual dysfunction

NG2-gliové buňky

5-8 % gliových buněk

Neuron-Glia



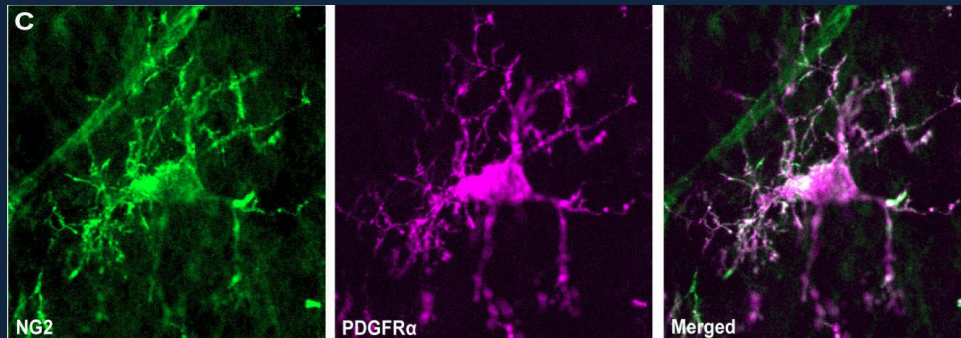
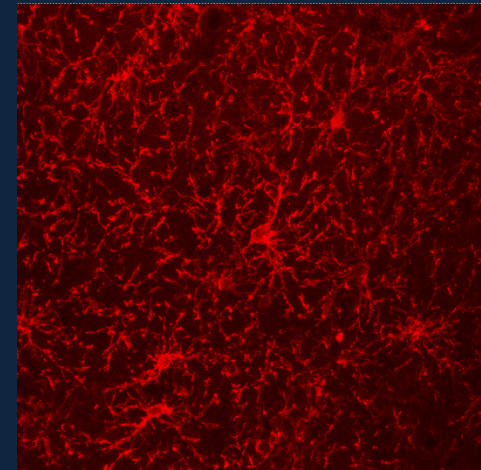
NG2-gliové buňky

Synantocyty-(kontakt)

GluR gliové buňky

Prekurzory oligodendrocytů

Polydendrocyty



NG2 = chondroitin sulfát
proteoglykan 4

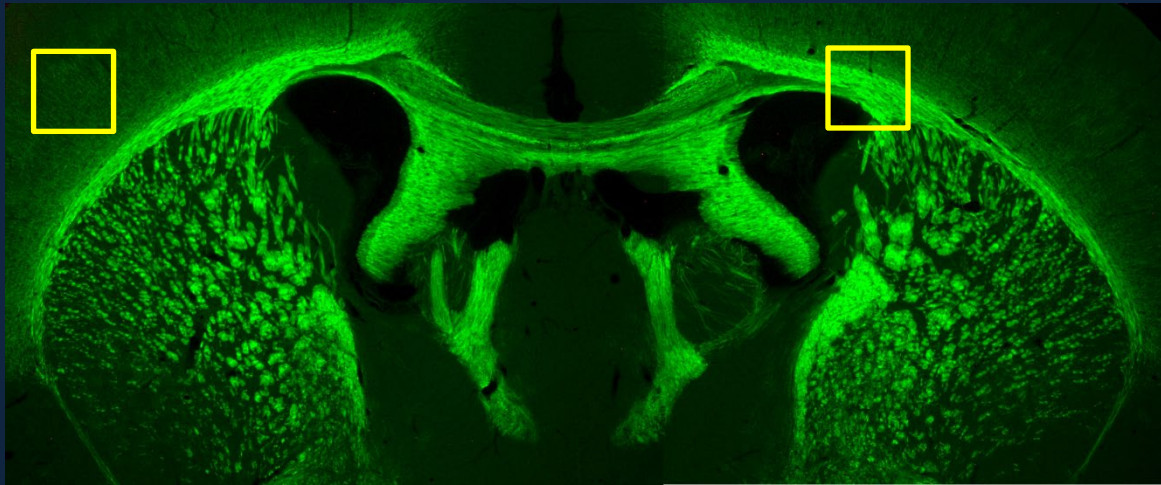
α receptor růstového faktoru
produkt krevních destiček

PDGF AA

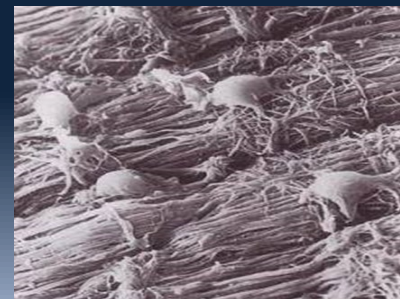
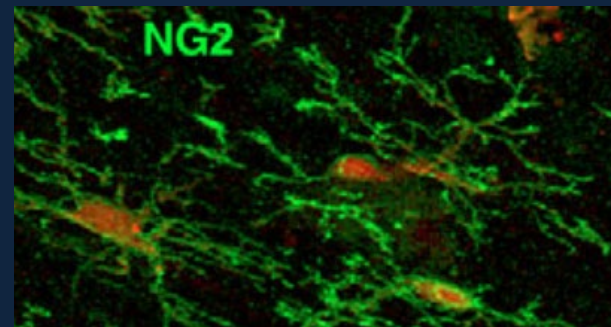
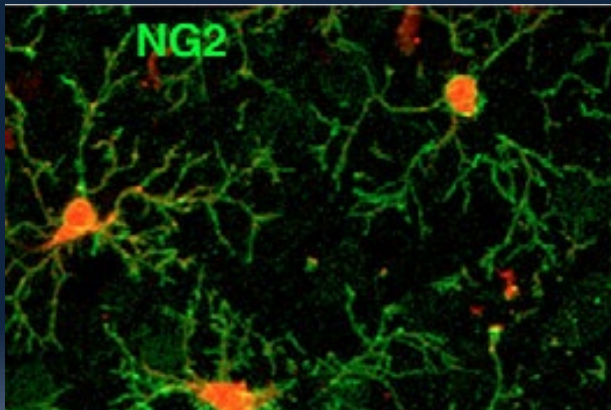
přežívání
Proliferace
migrace

Morfologie NG2 gliových buněk

šedá hmota
2 – 3%

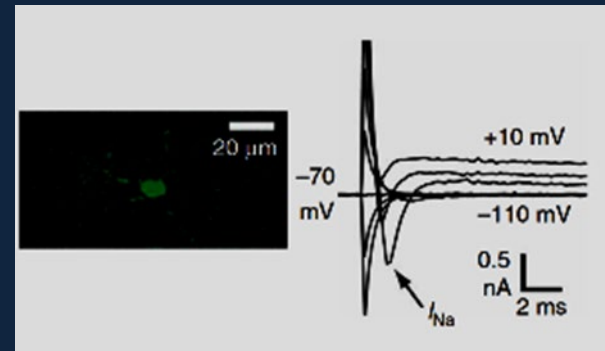
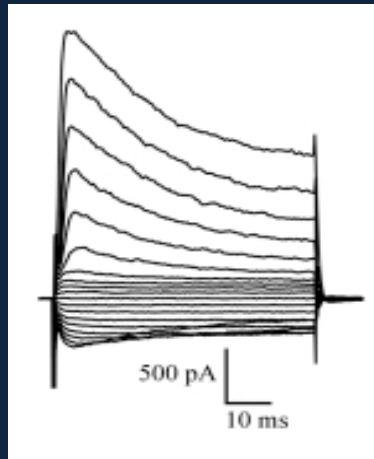
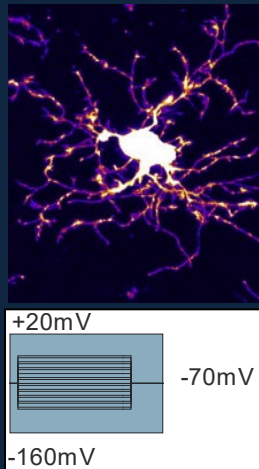


bílá hmota
8 – 9%



Membránové vlastnosti polydendrocytů

$V_m \sim -85 - 90 \text{ mV}$
 $IR \sim 200 - 300 \text{ Mohms}$

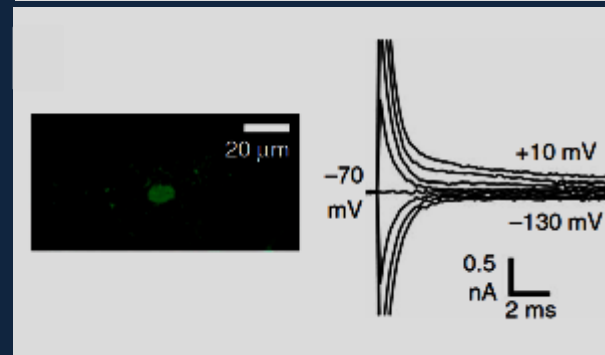
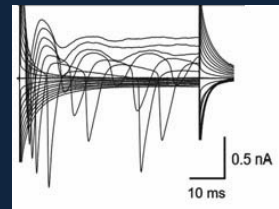
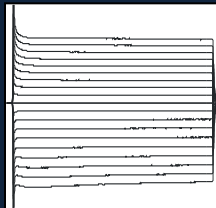
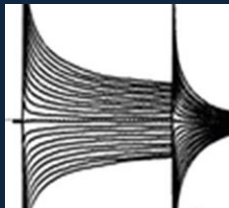


NG2+
 Olig2+
 S100β-

oligodendrocyt

astrocyt

neuron



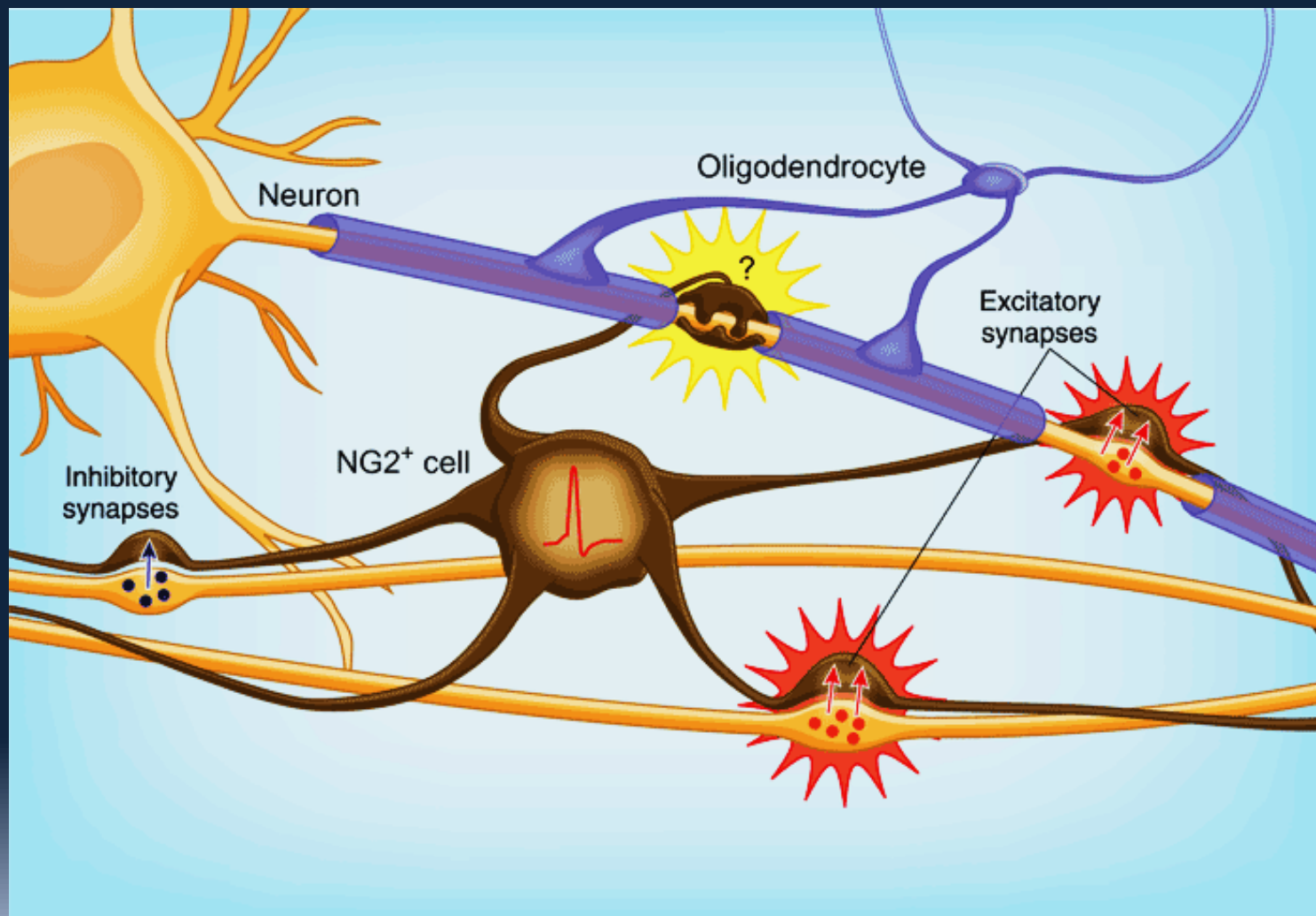
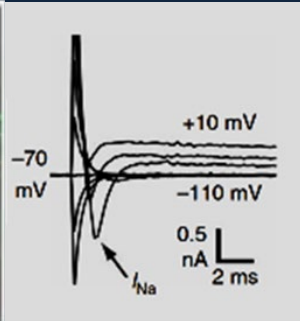
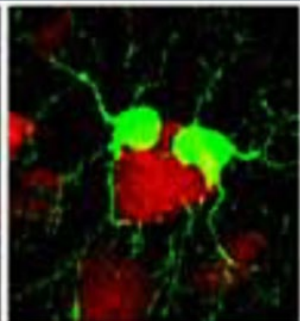
NG2+
 Olig2+
 S100β+

2 typy polydendrocytů

Expresí Na^+ , K^+ , Ca^{2+} kanálů
 Glutamátové a GABA receptory

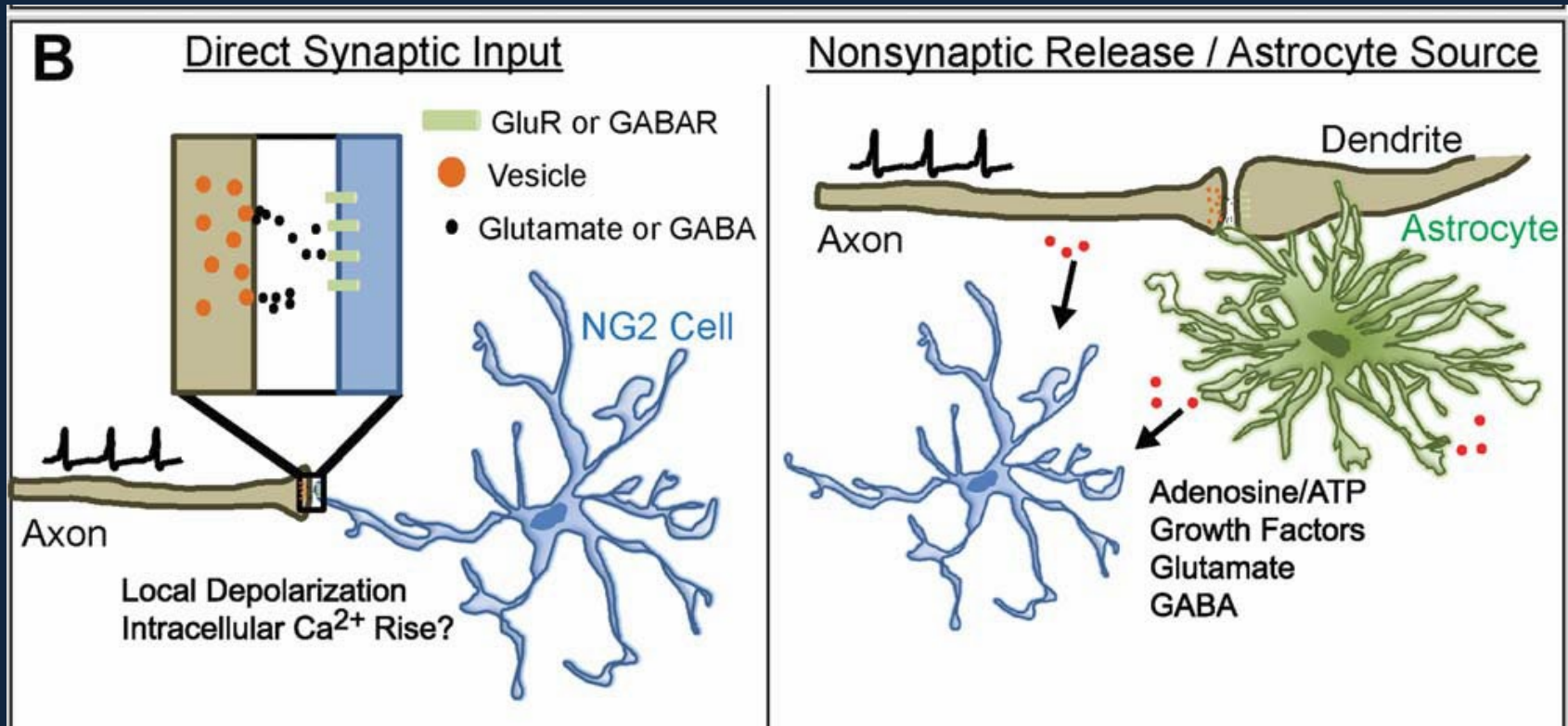
~~Glutamátové transportéry
 GFAP~~

NG2 glie aktivně komunikují s neurony



NG2 glie aktivně komunikují s neurony a gliovými buňkami

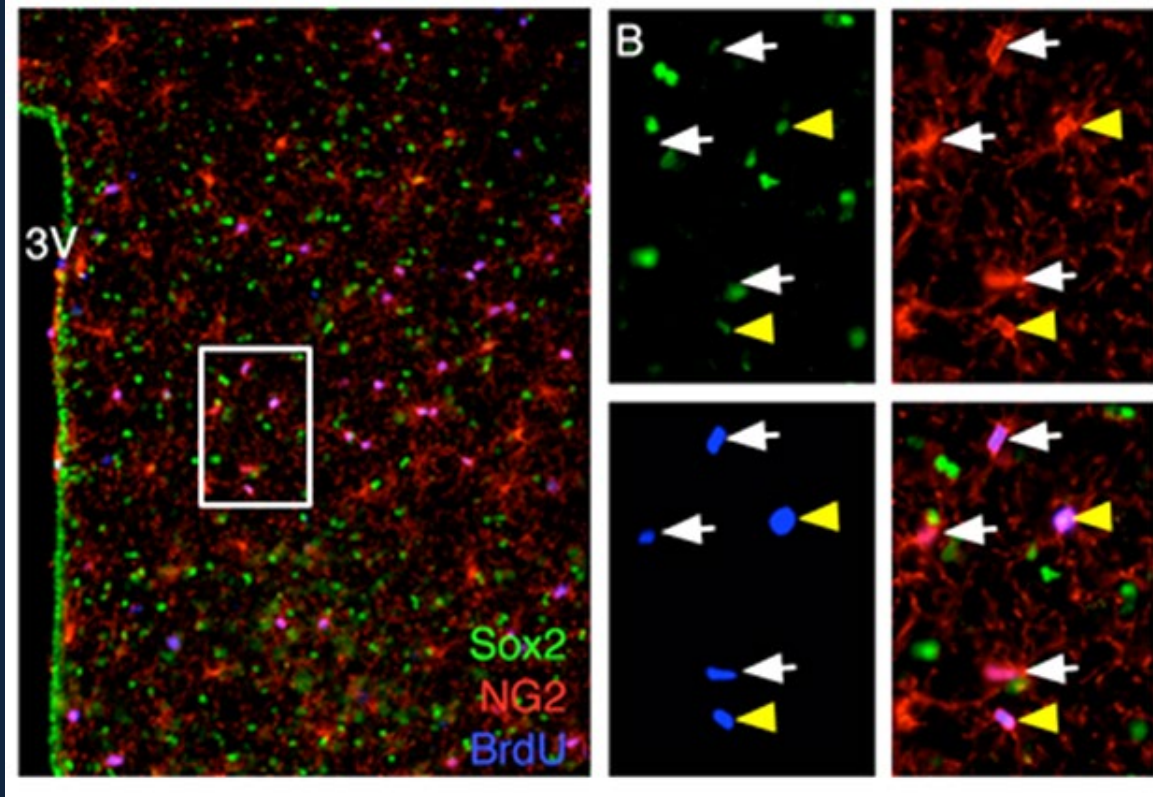
????? Přímá a nepřímá komunikace s neurony



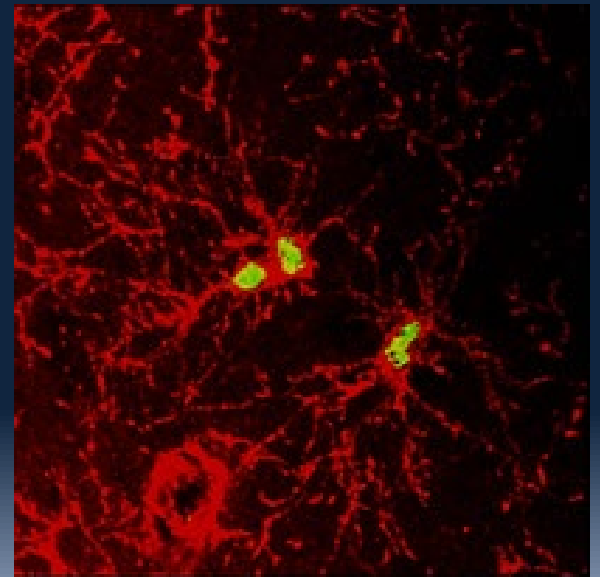
Propagace akčního potenciálu? **NE**

Ovlivnění funkce NG2 glií
(proliferace a diferenciace) **ANO**

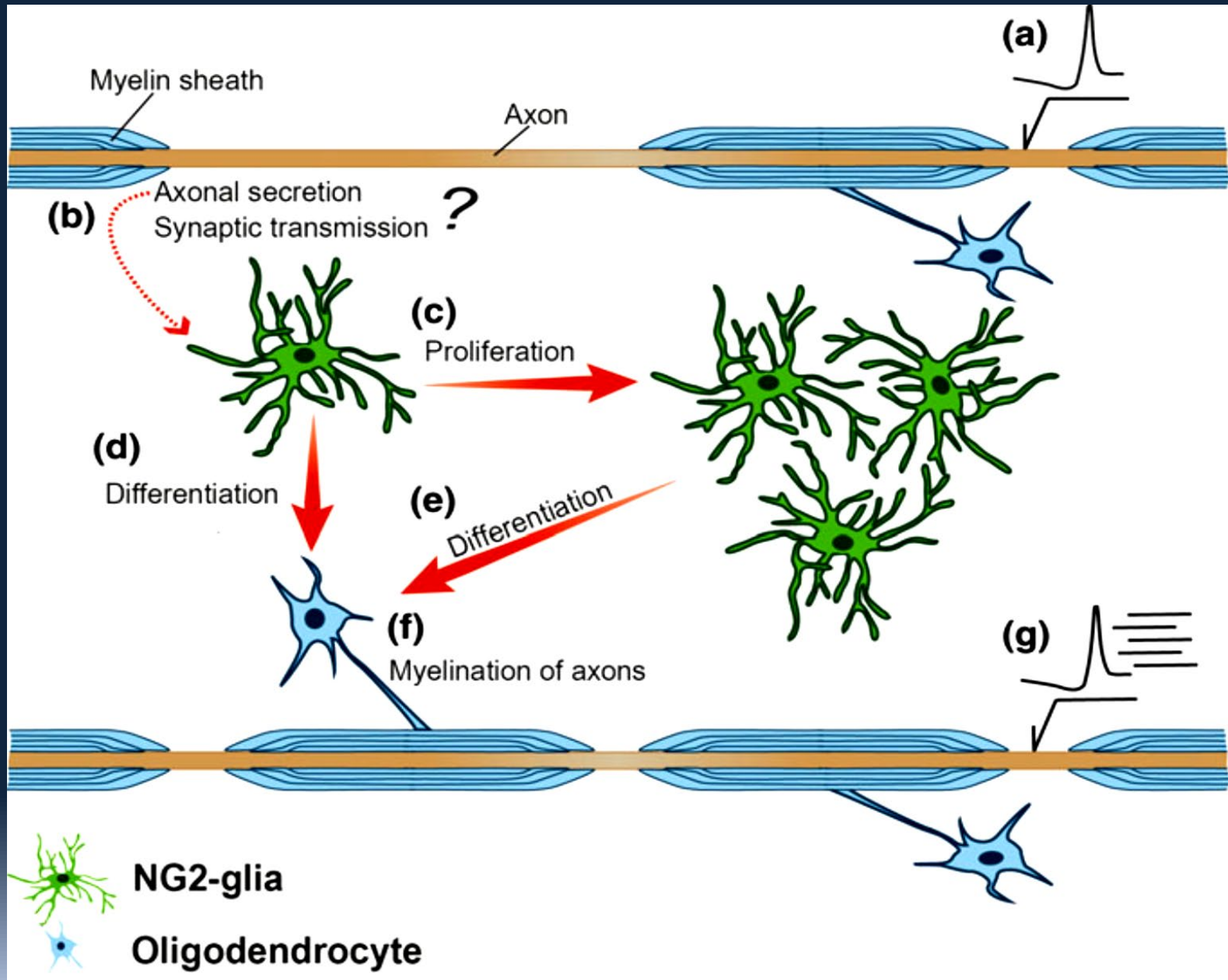
Proliferate NG2 glia



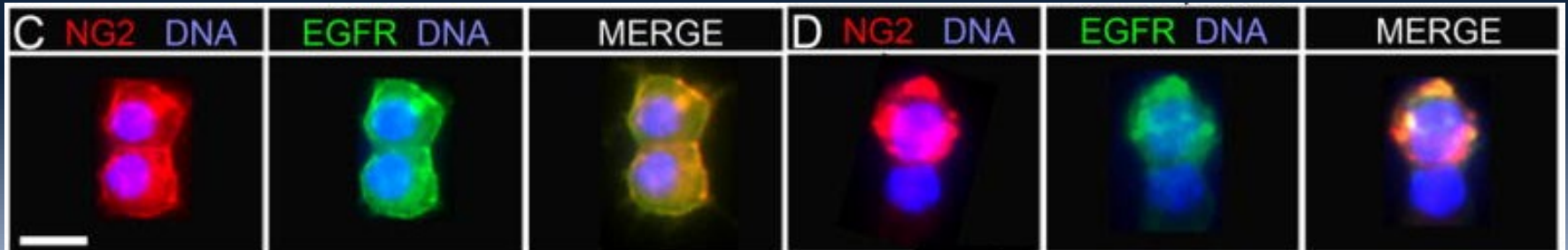
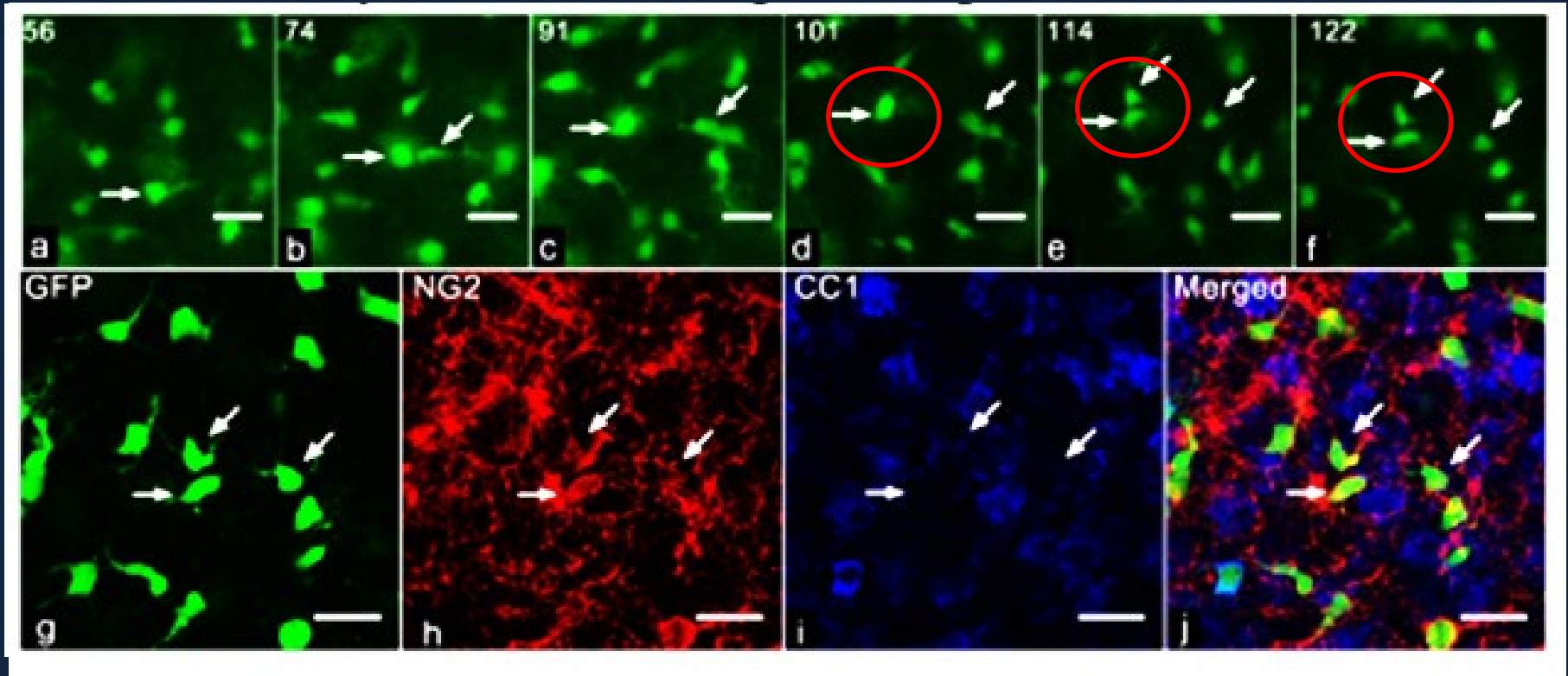
6%



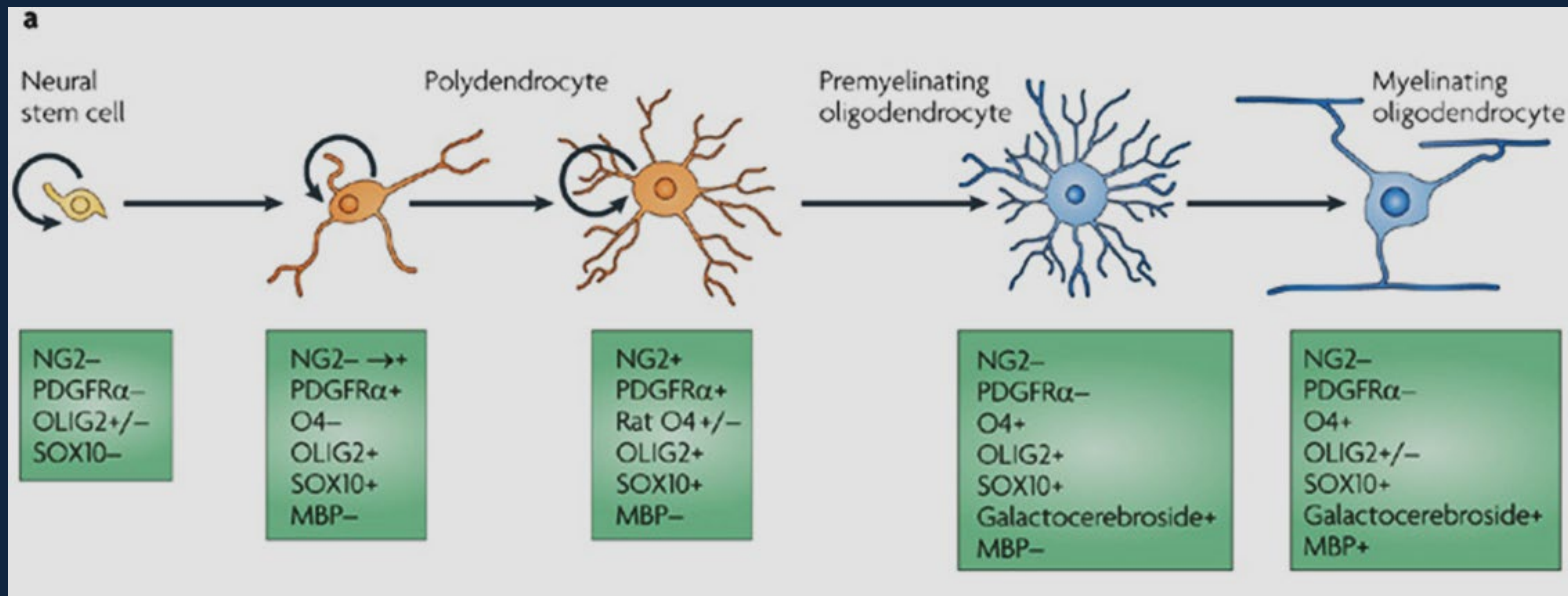
Vliv neuronální aktivity na chování NG2 gliových buněk



Symetrické a asymetrické dělení NG2 glií



NG2 glie- vznik oligodendrocytů

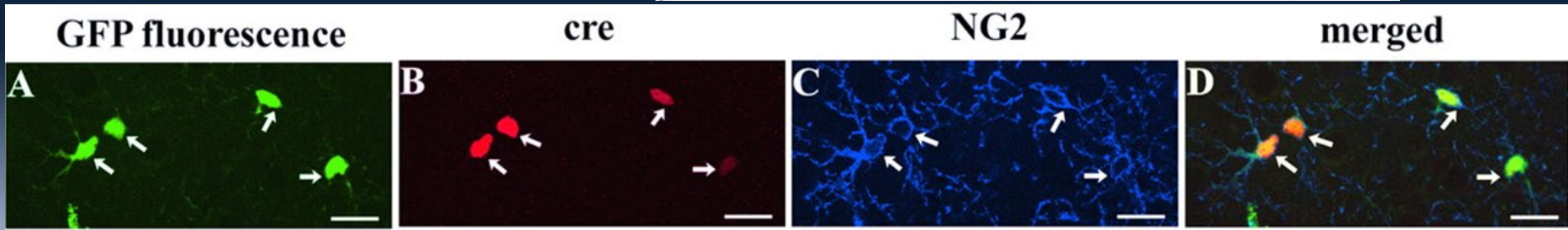
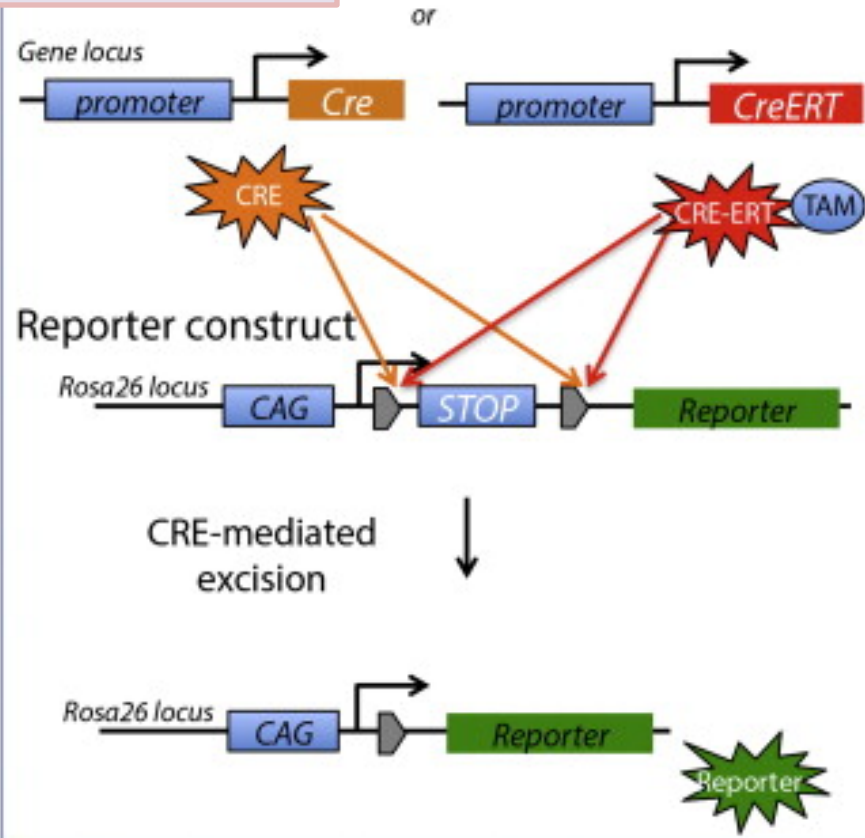
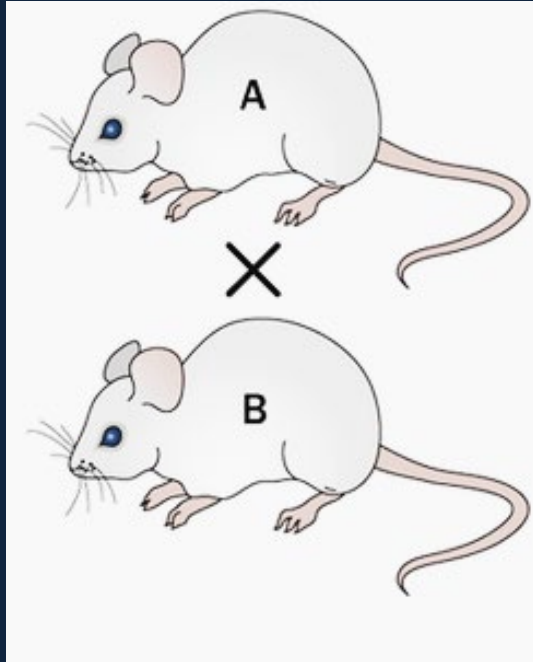


proliferující
progenitorová
buňka

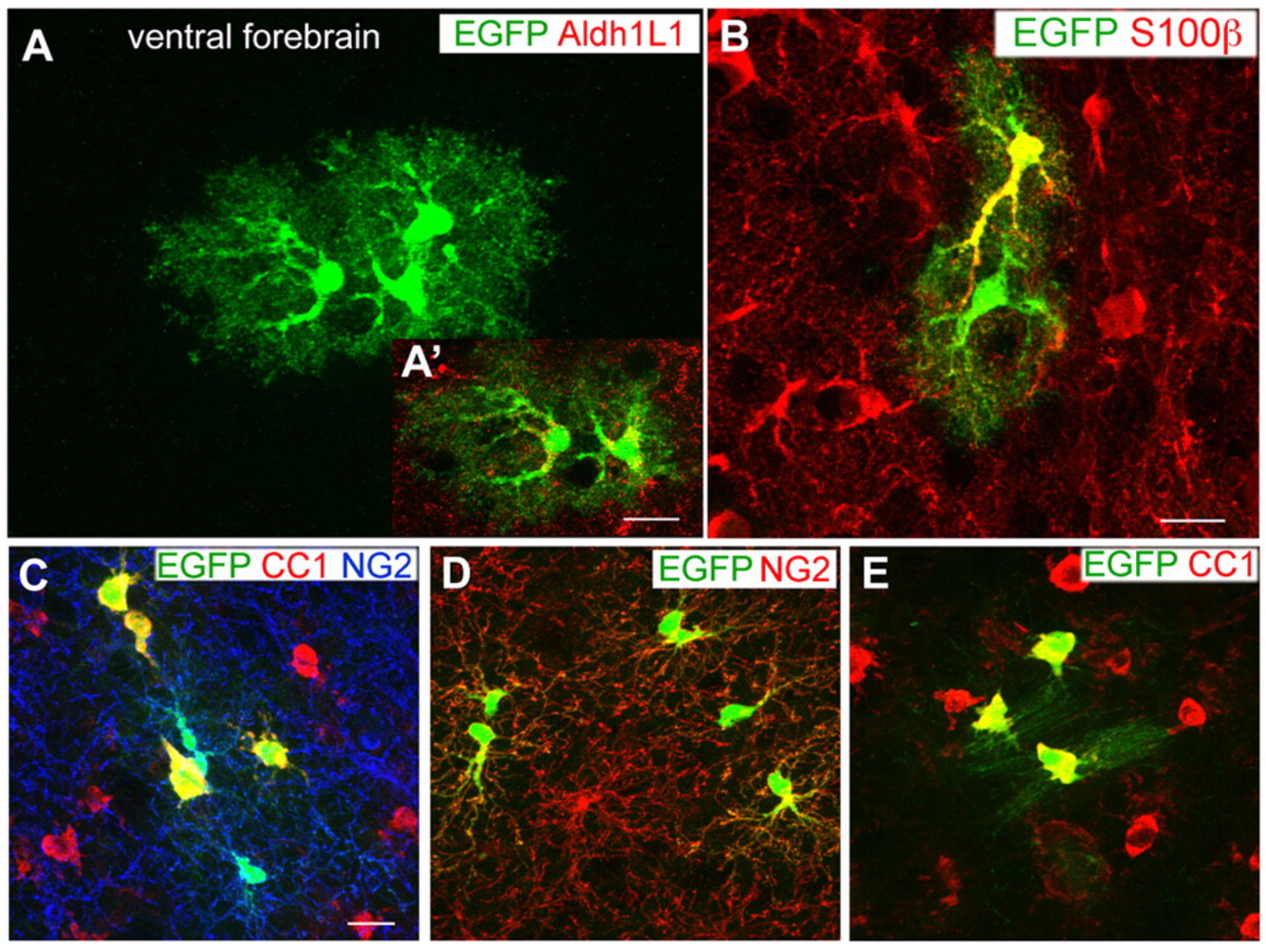
proliferující
NG2 glie

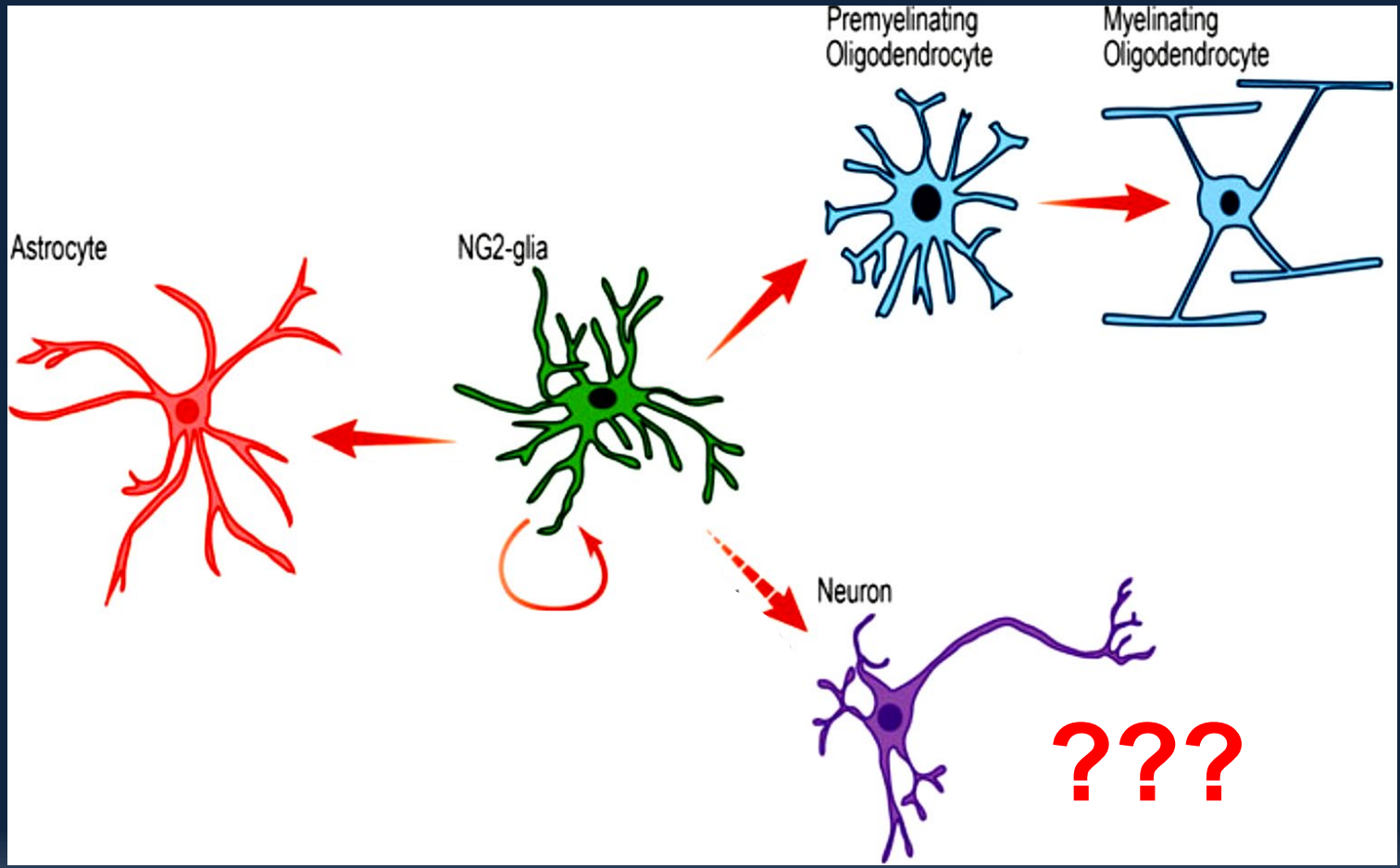
Tamoxifen inducibilní Cre rekombináza

NG2 PDGFR α



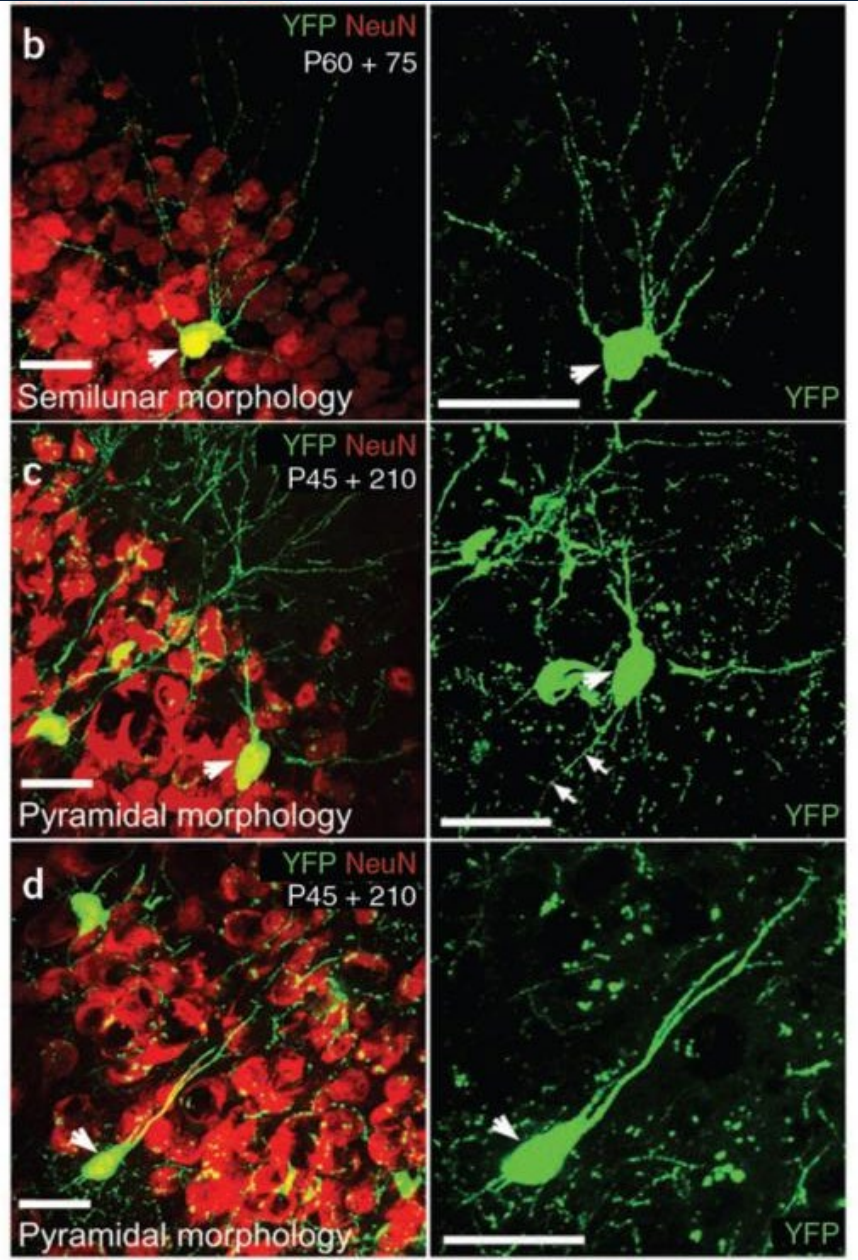
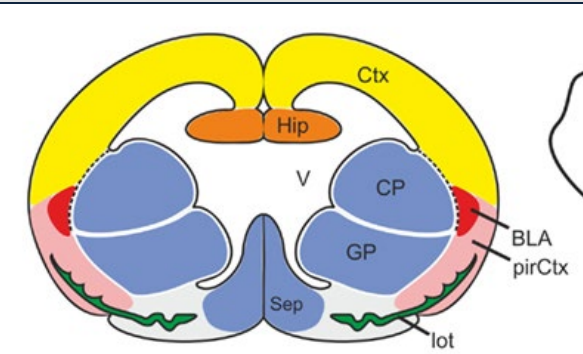
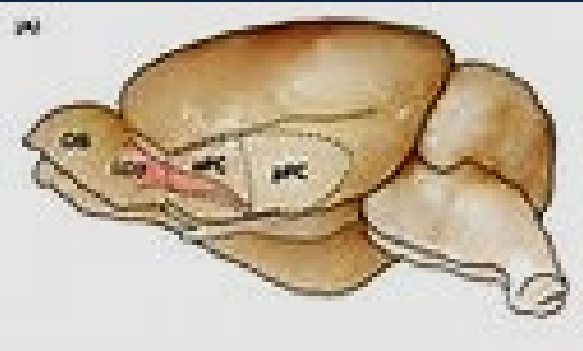
Embryogeneze





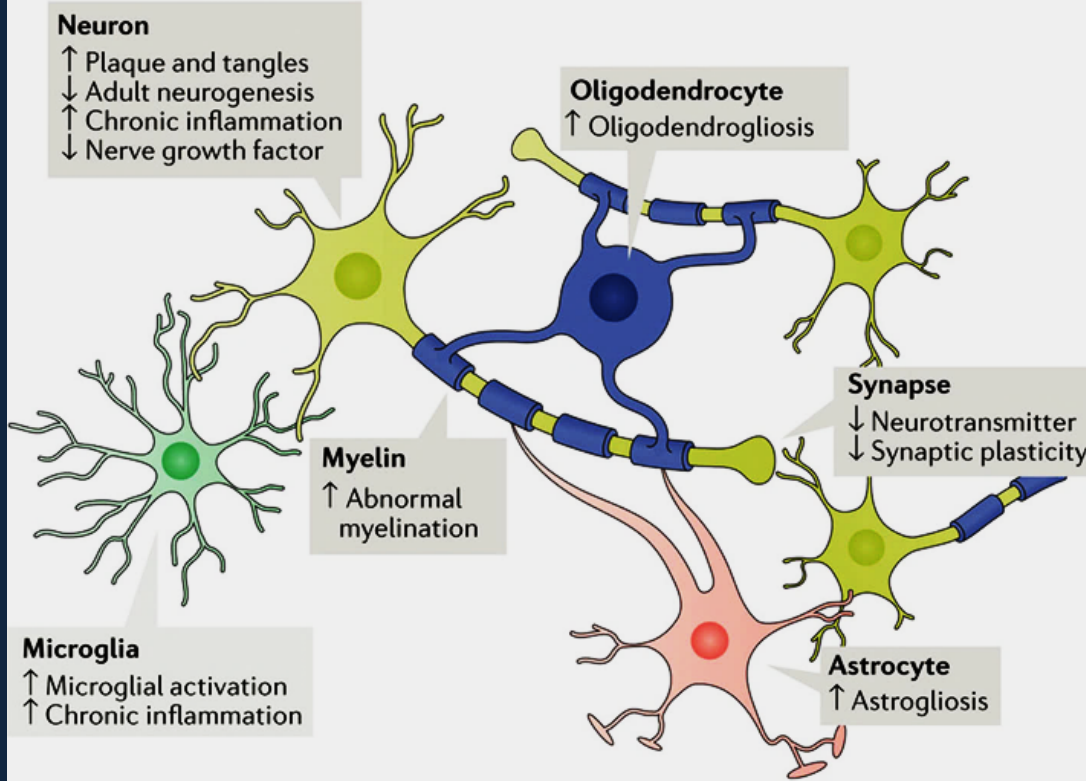
A neurony ????

PDGFRa x YFP



Stárnutí CNS a NG2 glií

a Histological changes during normal ageing



oligodendrocytů



NG2 glií



Proliferace NG2 glií



Bunečný cyklus 4 dny x 320 dní

Diferenciace NG2 glií
 (oligodendrogeneze)



b Functional changes during normal aging

Cognitive decline

- Vocabulary
- Conceptual reasoning
- Memory
- Processing speed

Mental deficits

- Anxiety
- Depression



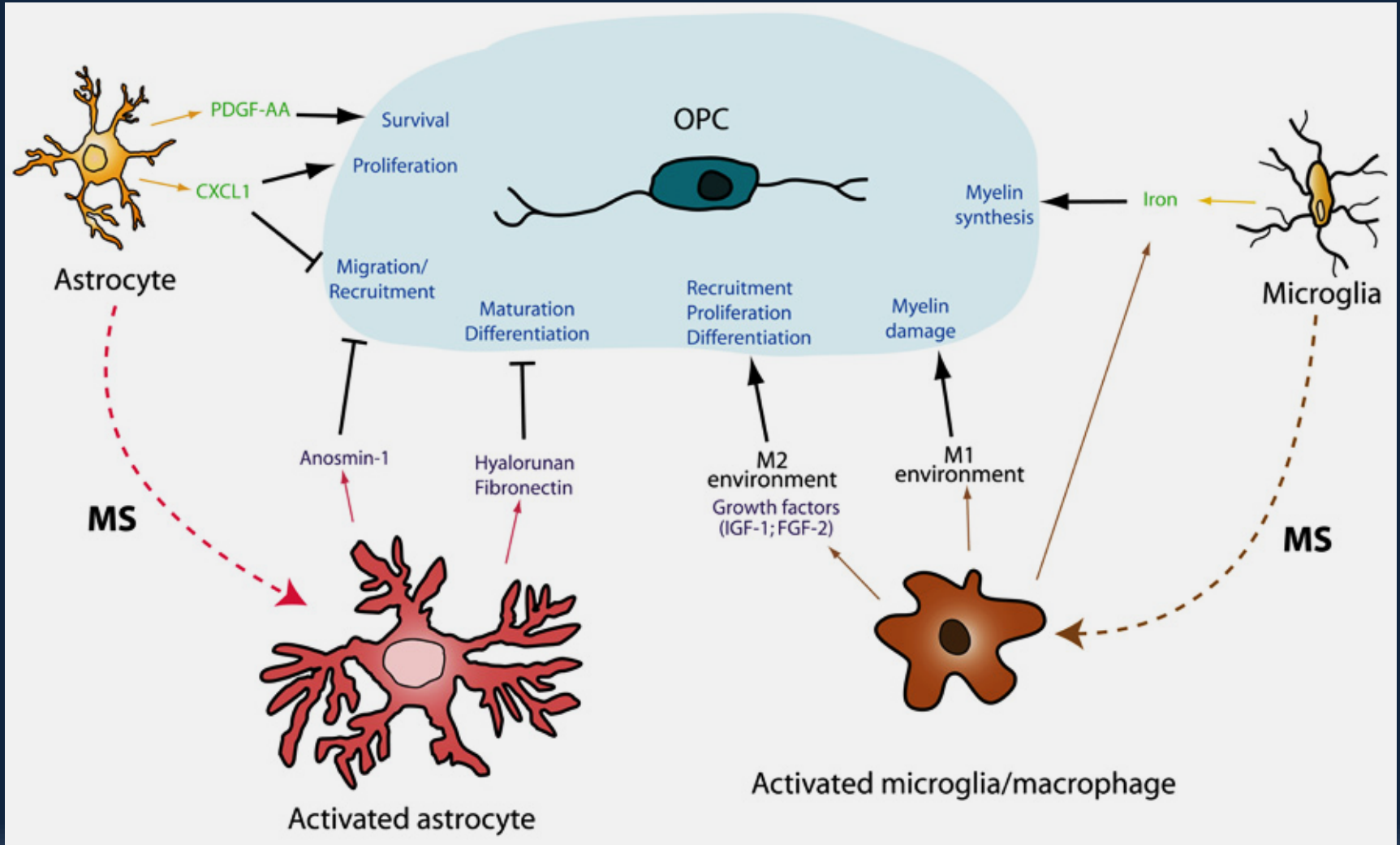
Sleep disruption

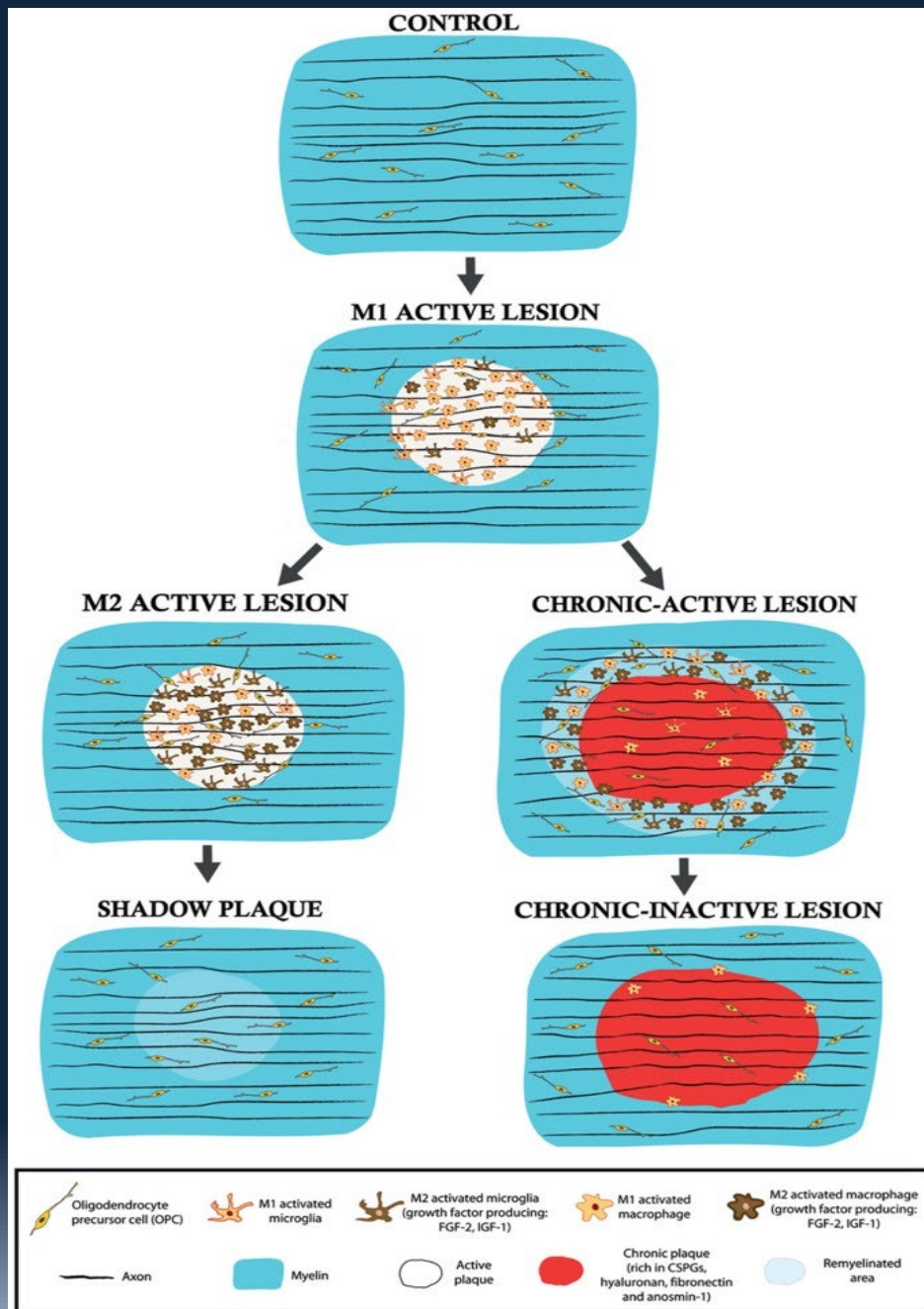
- Poor sleep quality
- Delayed sleep onset latency

Circadian dysfunction

Disruption of amplitude and period length of circadian behaviour

Interakce gliových buněk



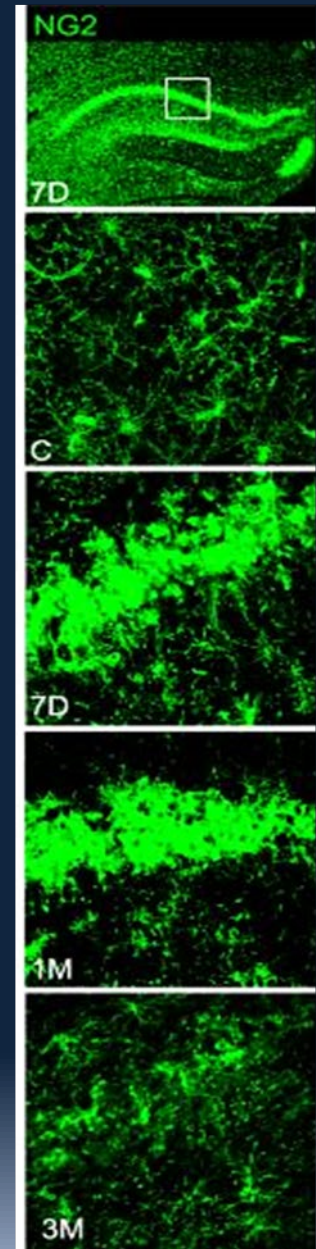
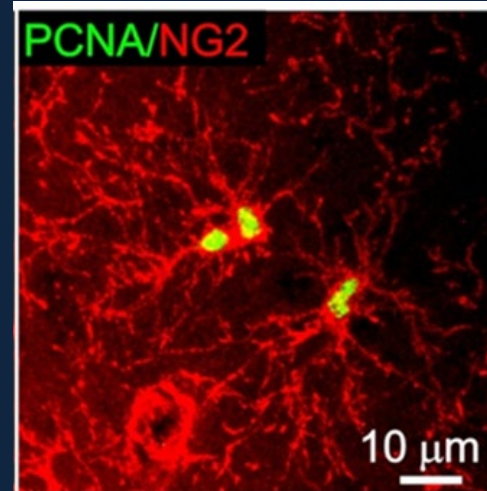
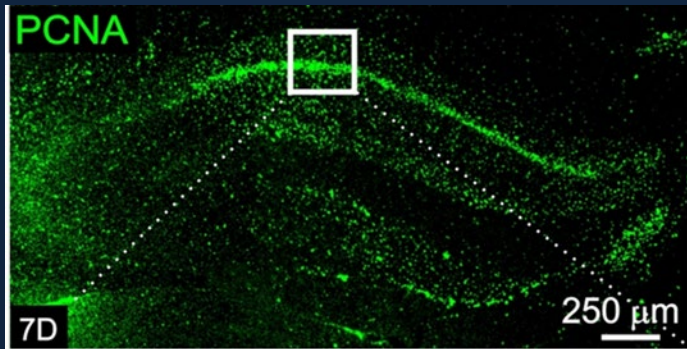
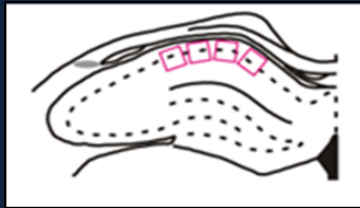


vliv M1 mikroglí
poškození myelinu

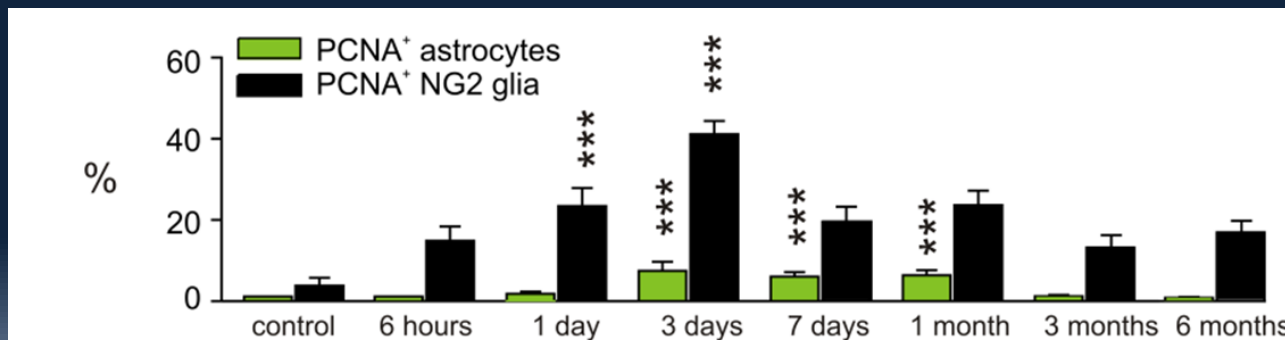
vliv M2 mikroglí
aktivována proliferace
NG2 glií
a částečná regeneraci

Function: regeneration following CNS injury

Glial scar formation

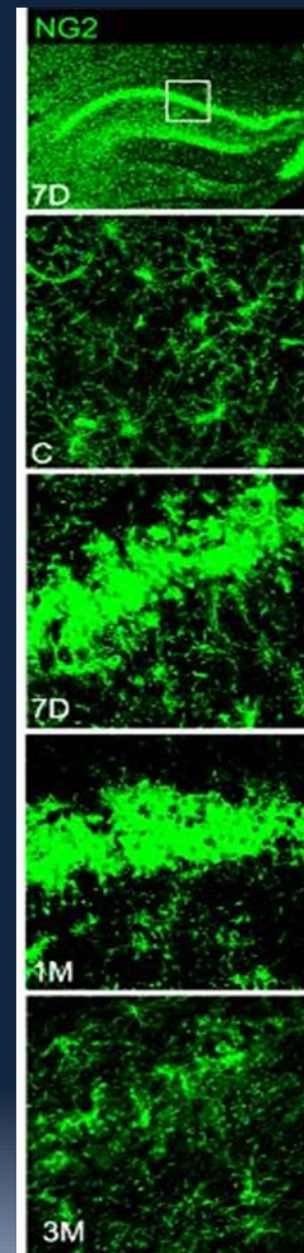
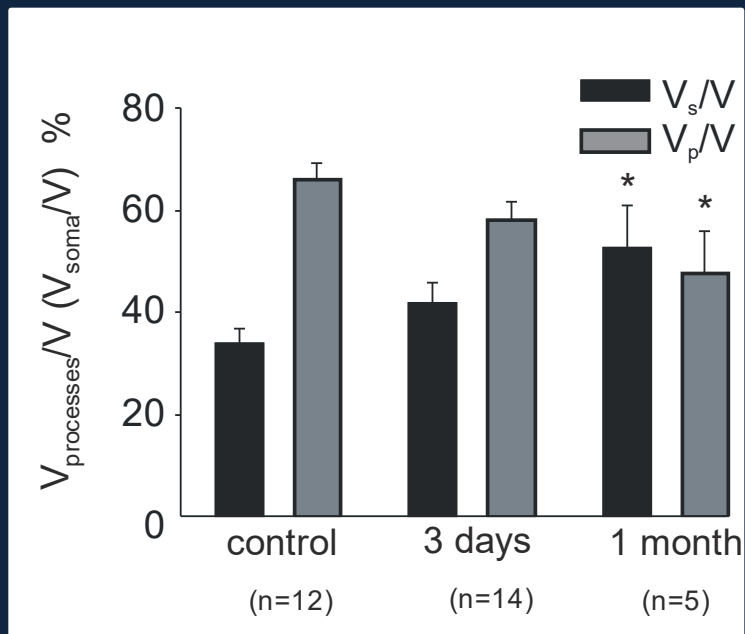
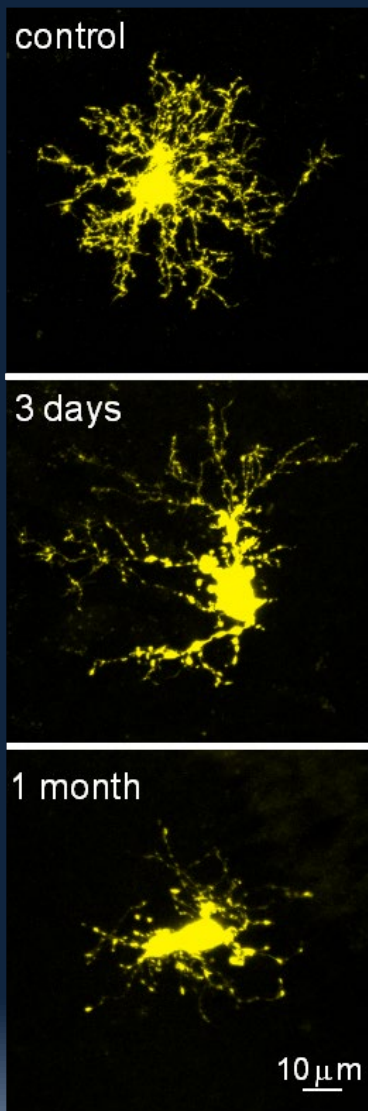


Microglia polydendrocytes astrocytes



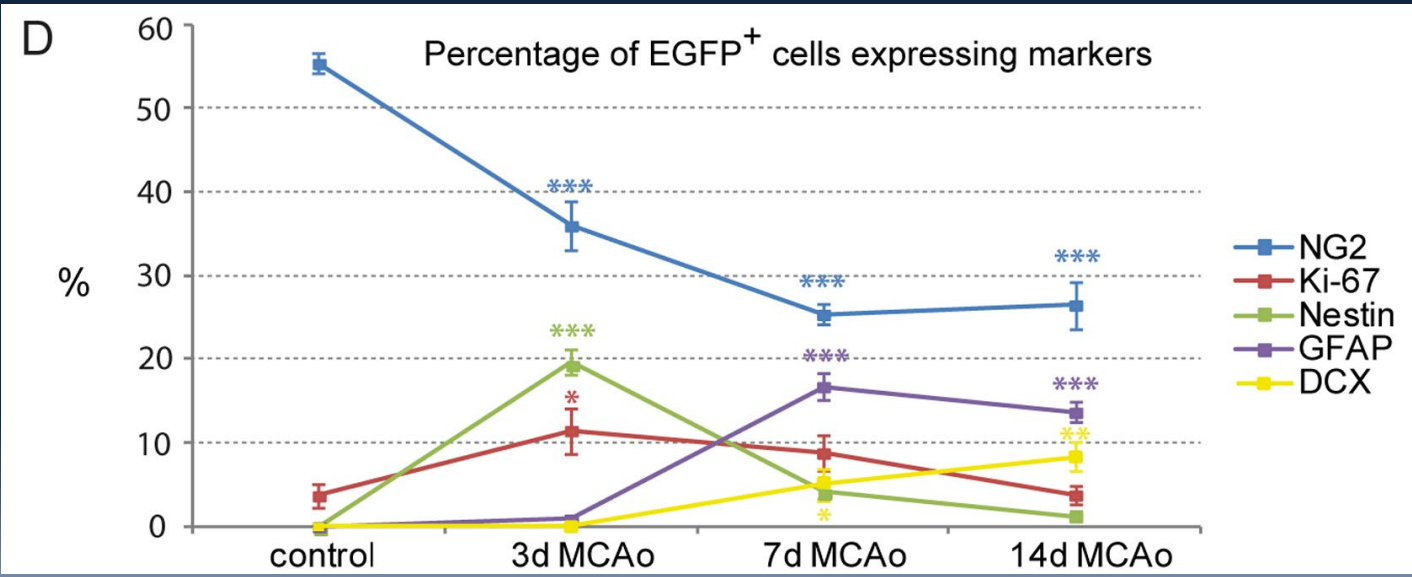
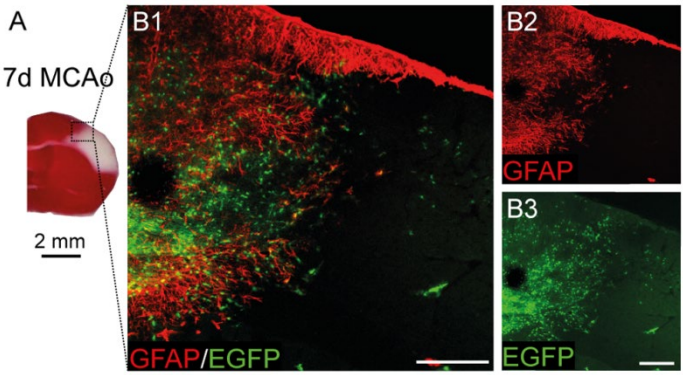
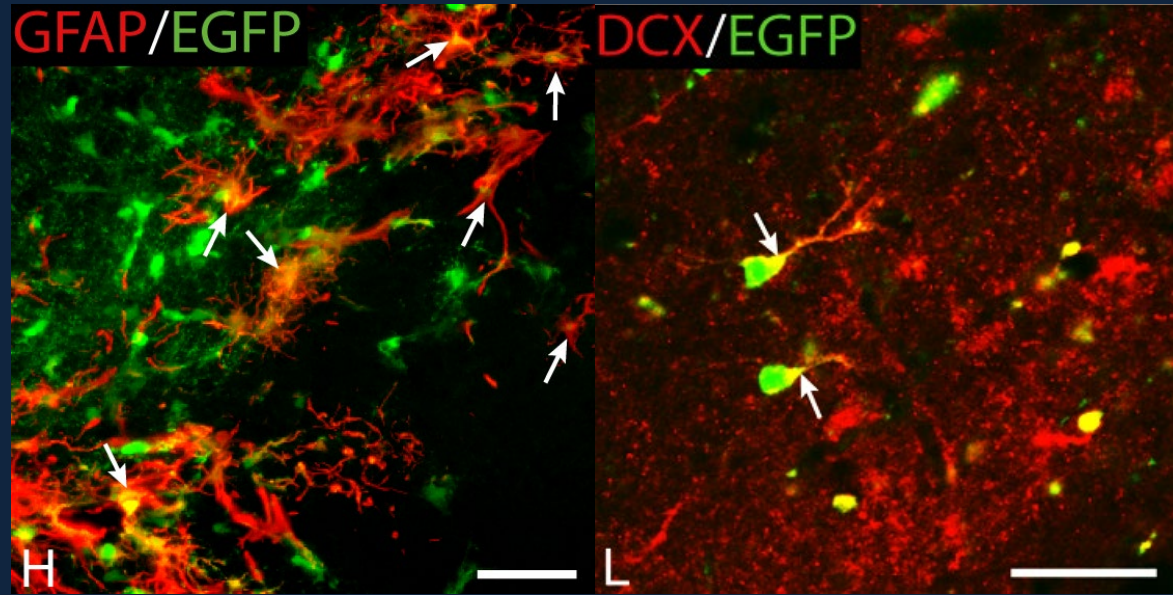
Změny morfologie NG2-glií po GCI

Součást gliální jizvy

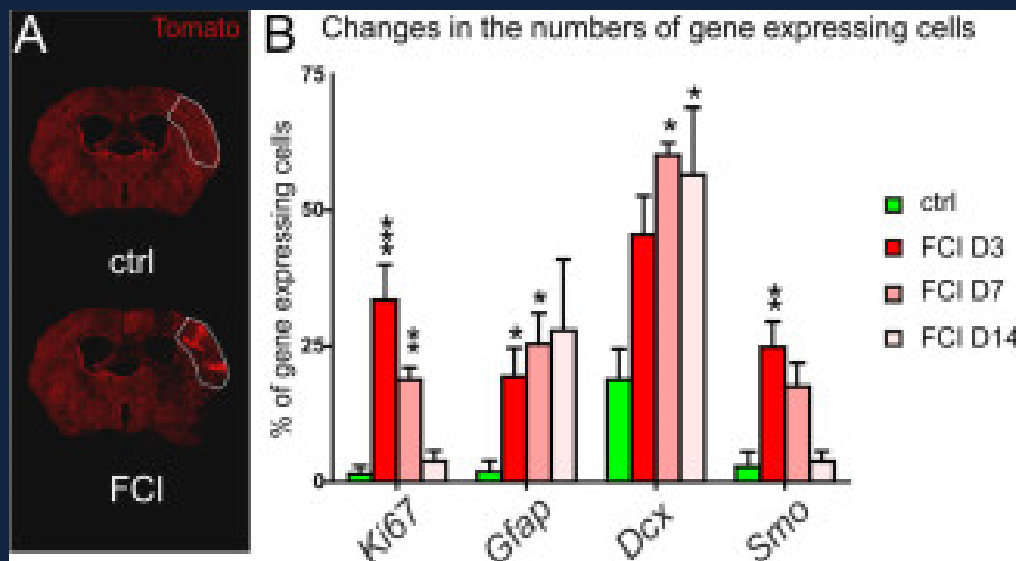


7 dní

14 dní



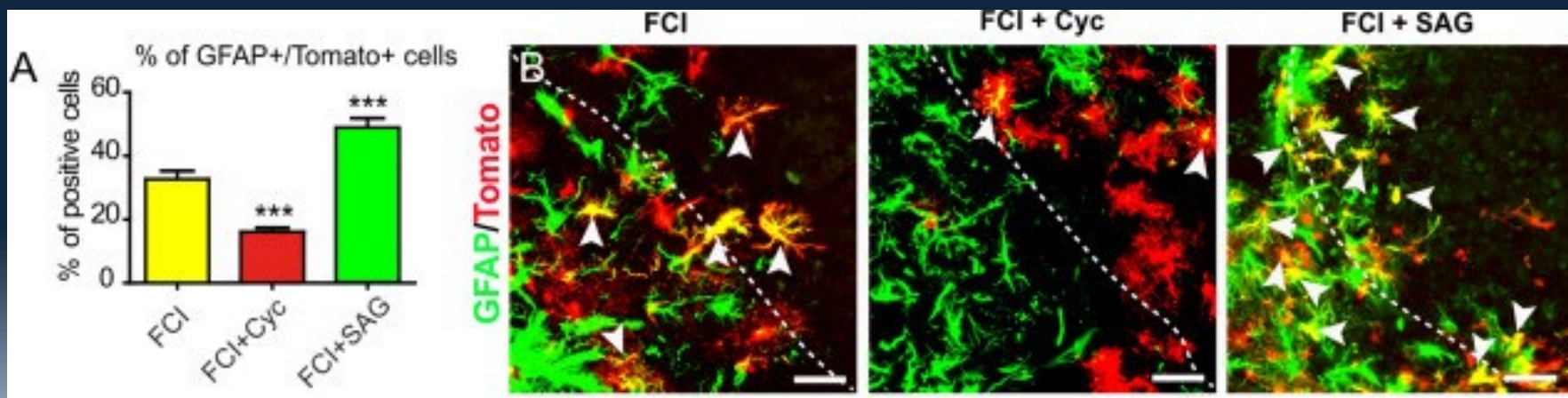
Sonic hedgehog a NG2 glie v ischemicky poškozené nervové tkáni

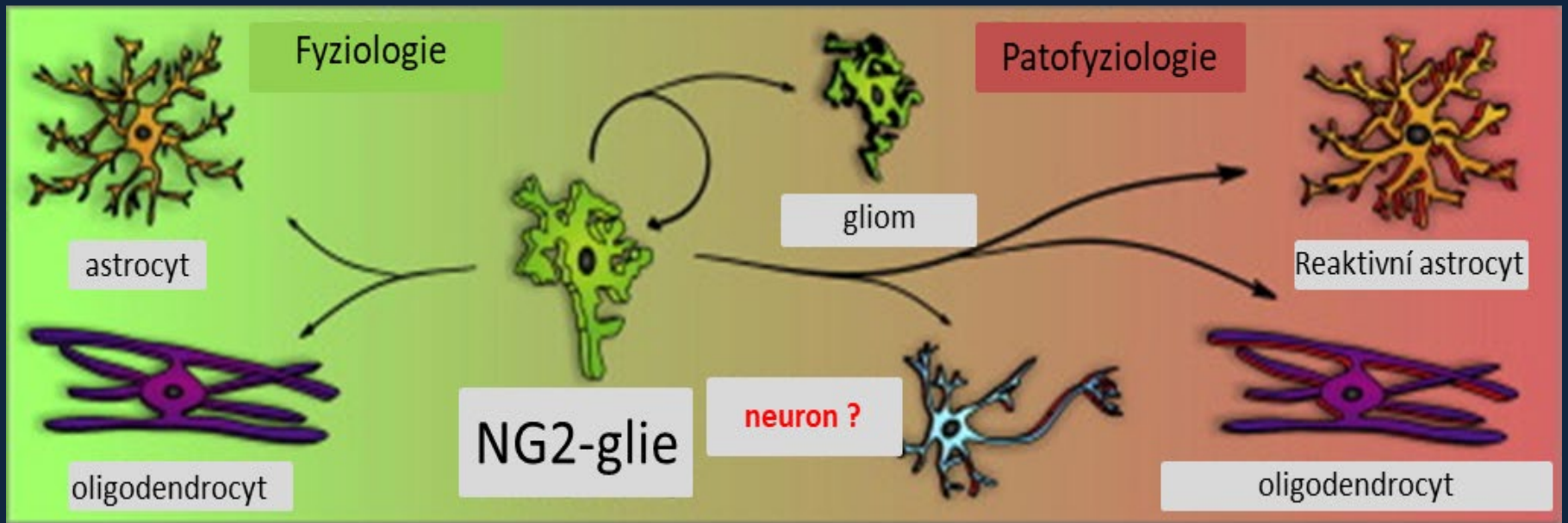


ischemie

Inhibice Shh

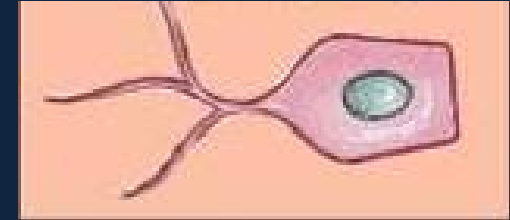
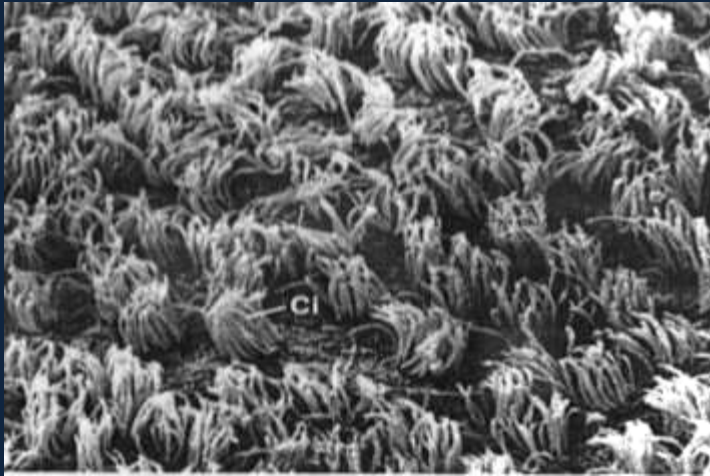
Aktivace Shh





Ependymové buňky

Ependymové buňky, rovněž nazývané ependymocyty, obklopují především vnitřní komory mozku. Tyto buňky jsou zapojeny do tvorby a sekrece mozkomíšního moku (CSF) a svými kmitajícími řasinkami pomáhají jeho cirkulaci. Podílejí se na tvorbě hematoencefalické bariéry. Předpokládá se, že mohou působit jako neurální kmenové buňky.



neuroektoderm

tvorí výstelku mozkových komor a centrálního míšního kanálu

CHP- účastní se tvorby mozko-míšního moku

cirkulace a monitorování mozko-míšního moku - kinocilie (řasinky)

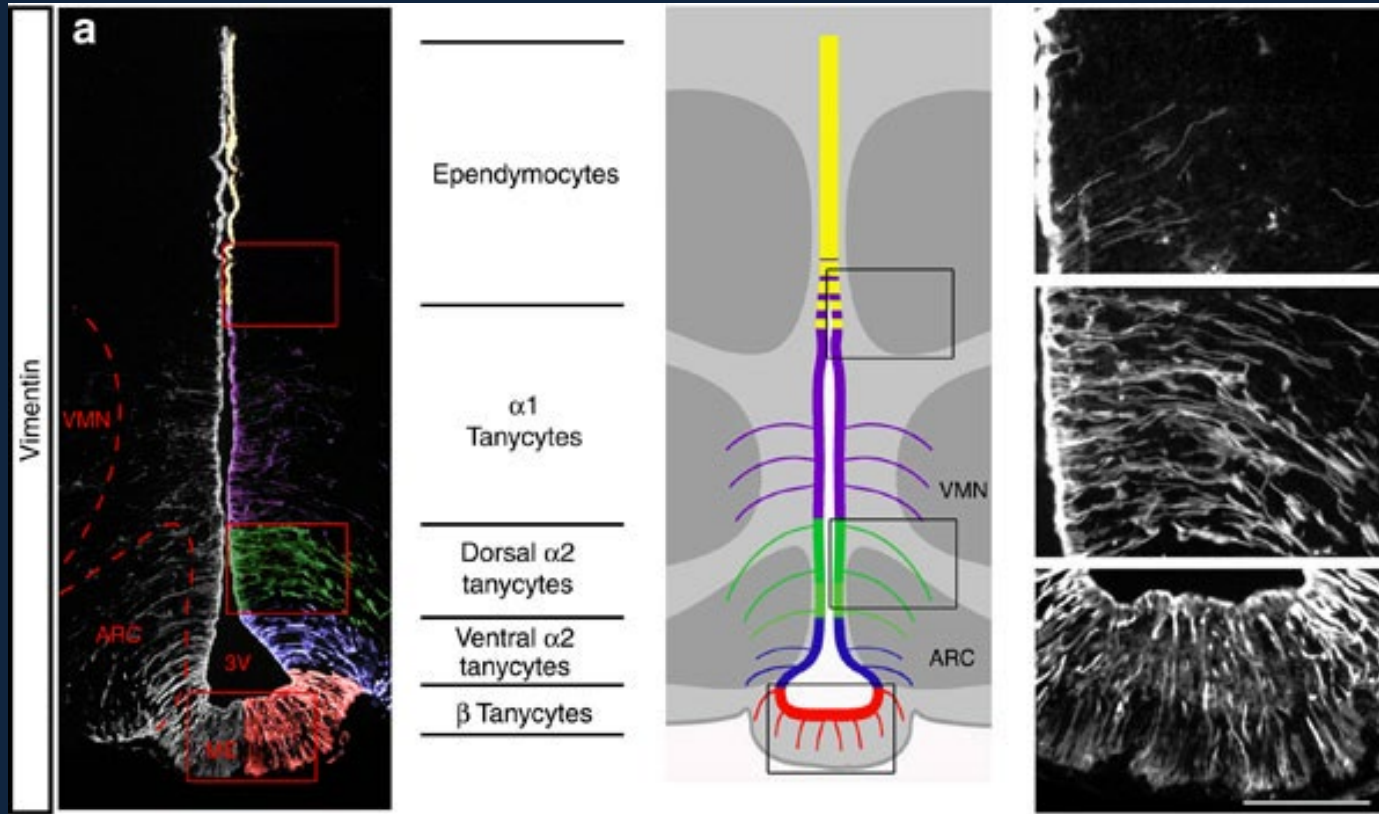
Prominin1 (CD133)-marker

NSCs, hematopoetických SCs...

S100 β



Tanycytes- propojení CNS s endokrinním systémem (hypofýza)



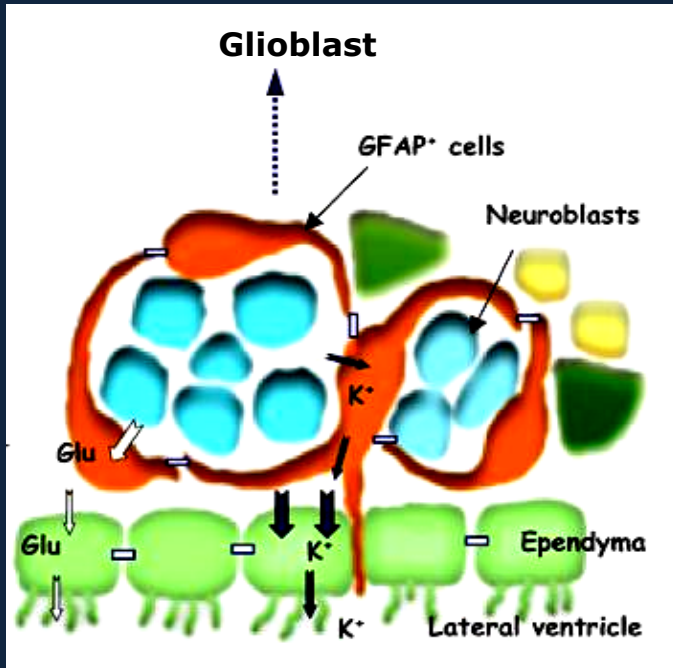
Báze III. A IV. komory

- dlouhé výběžky -přenášejí chemické signály z mozkomíšního moku do primární vlasečnicové sítě portálního oběhu hypofýzy.

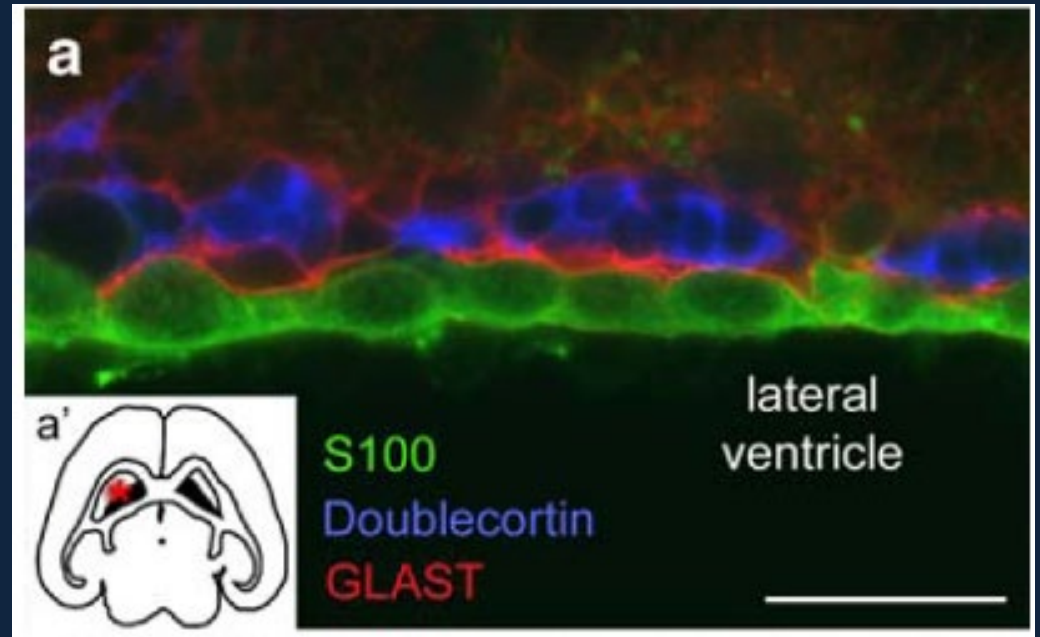
Ependymové buňky

z funkčního hlediska podobné astrocytům

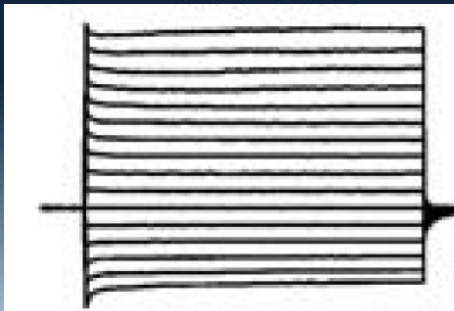
Connexin43, GLT-1, K_{IR} , TASK1



Liu et al., 2006, Glia

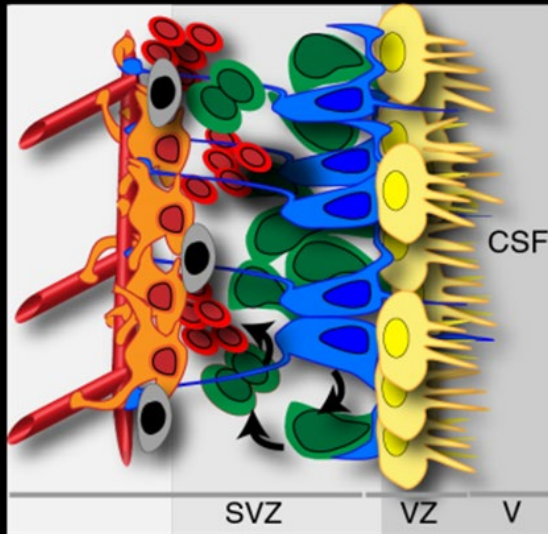


Genzen et al., 2009, Purinergic Signalling



Ependymové buňky

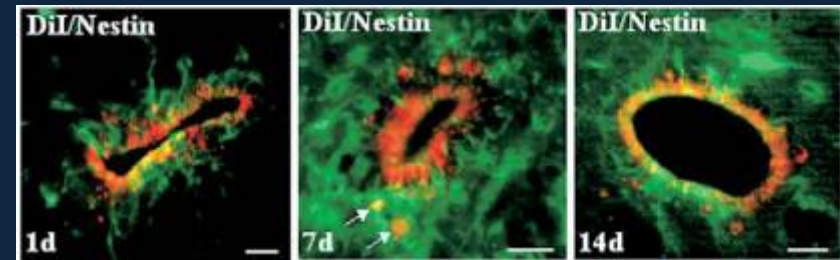
součást neurogenní „niche“ SVZ,
quiescentní za fyziologických
podmínek



proliferace



migrace



diferenciace do GFAP⁺ buněk

Ischemie, trauma -
transformace
ependymových buněk do
radiálních glií

Radiální glie

- z neuroepitelových buněk po nástupu neurogeneze

vývoj

-**migrace** postmitotické nervové buňky-neuroblasty podél výběžků radiální glie

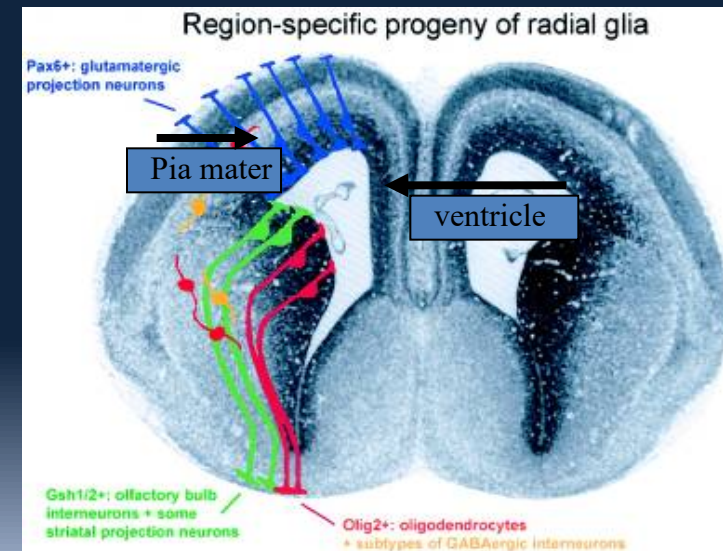
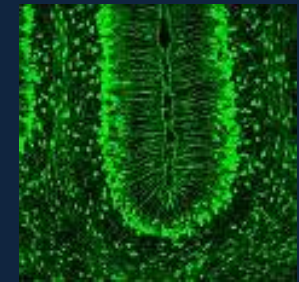
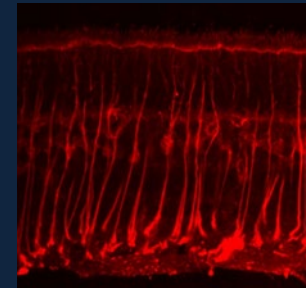
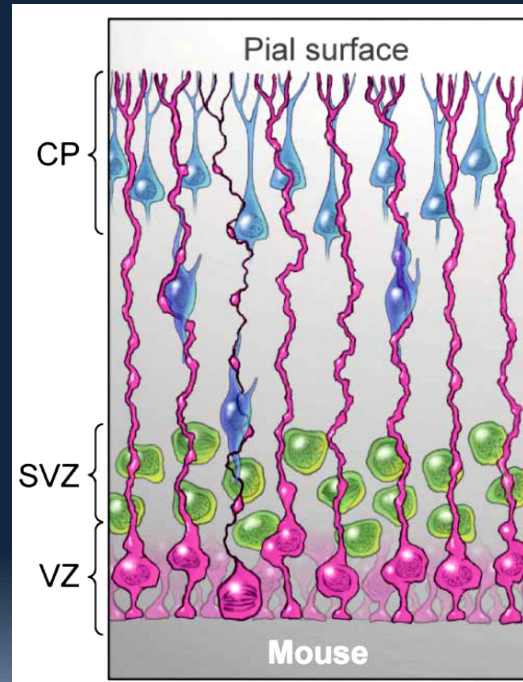
-**neurogeneze**- symetrické x asymetrické dělení—radiální glie, post-mitotické neurony nebo neurální progenitorové buňky (TAC)

-**gliogeneze** - astrocyty + NSC

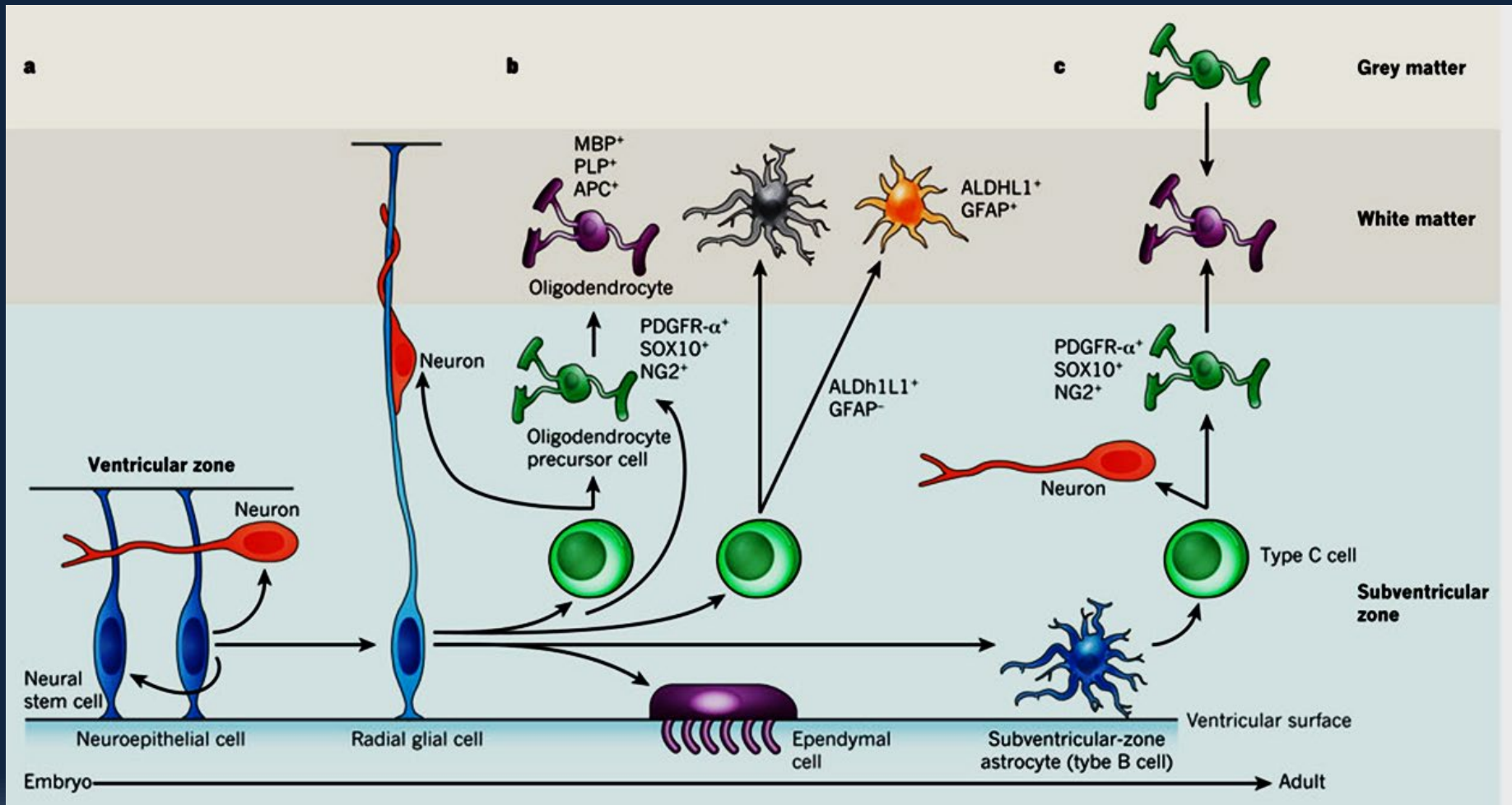
identifikace – GFAP, BLBP, RC2, 4A4 - fosforylovaný vimentin
Glykogen, GLAST

Ve vyvíjejícím se nervovém systému, radiální glie fungují jako nervové kmenové buňky a jako kostra, na kterou migrují novorozené neurony.

Ve zralém mozku, mozečku a sítnici se nacházejí charakteristické radiální gliové buňky. V mozečku je to Bergmannova glie, která reguluje synaptickou plasticitu. V sítnici to jsou Müllerovy buňky, které se podílí se obousměrné komunikaci s neurony.

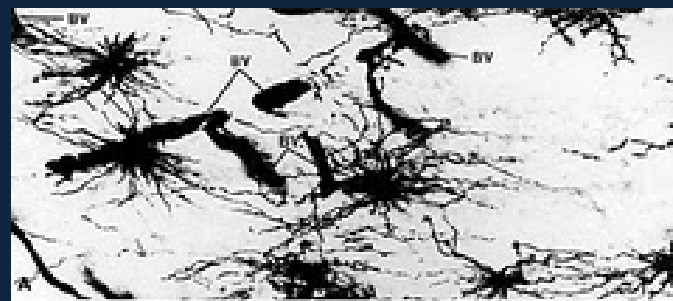
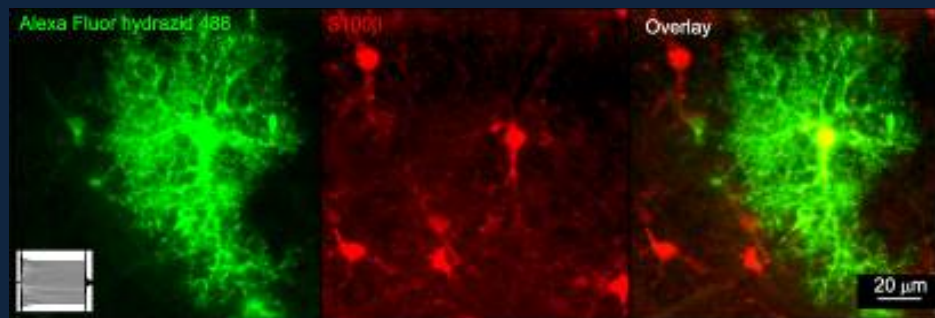


• **Radiální glie** - multipotentní neurální prekurzory



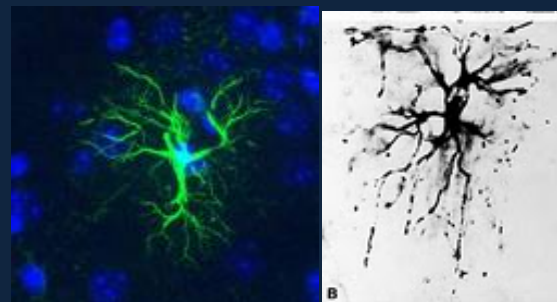
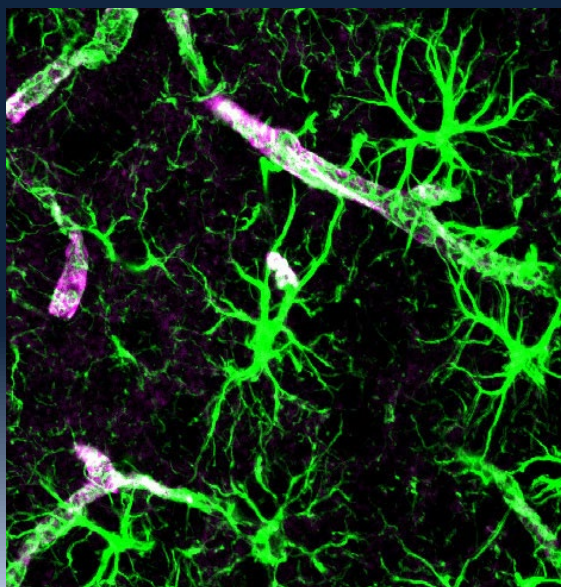
Astrocyty – GFAP⁺, S100beta⁺

- Fibrilární astrocyty v bílé hmotě



300 μm

- Protoplasmatické astrocyty v šedé hmotě



100 μm

Rozšířená část výběžku = astrocytární patka
„end-feet“, transport glukózy

Astrocyty

Základní funkce astrocytů v CNS

1. vývoj

-regulace neurogeneze a gliogeneze (NSCs)

2. strukturní

-tvoří mikroarchitekturu nervového systému

-tvoří syncytium

3. kontrolní

-regulace extracelulárních koncentrací iontů

-odstraňování neurotransmiterů z ECS

- homeostáza vody v CNS

-regulace pH

4. metabolická

-energetické substráty pro neurony

-odstraňování neuronálních metabolitů

5. signální

-modulace synaptického přenosu

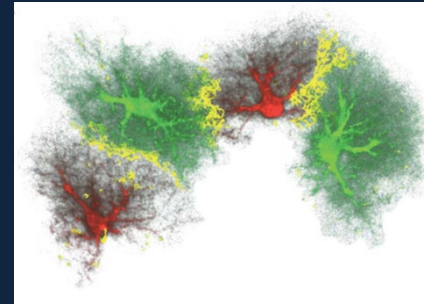
-uvolňování neurotransmiterů

-signalizace uvnitř syncytia

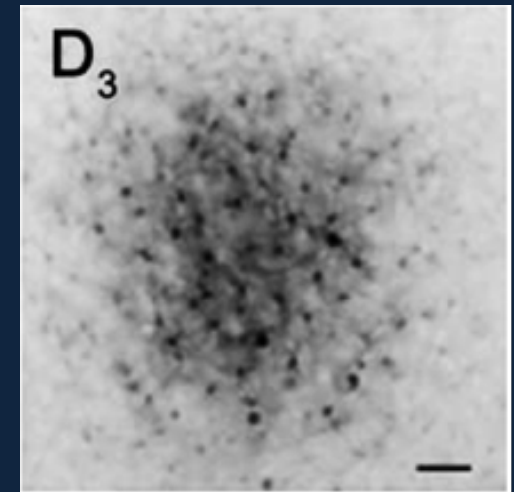
6. vaskulární

- součást BBB

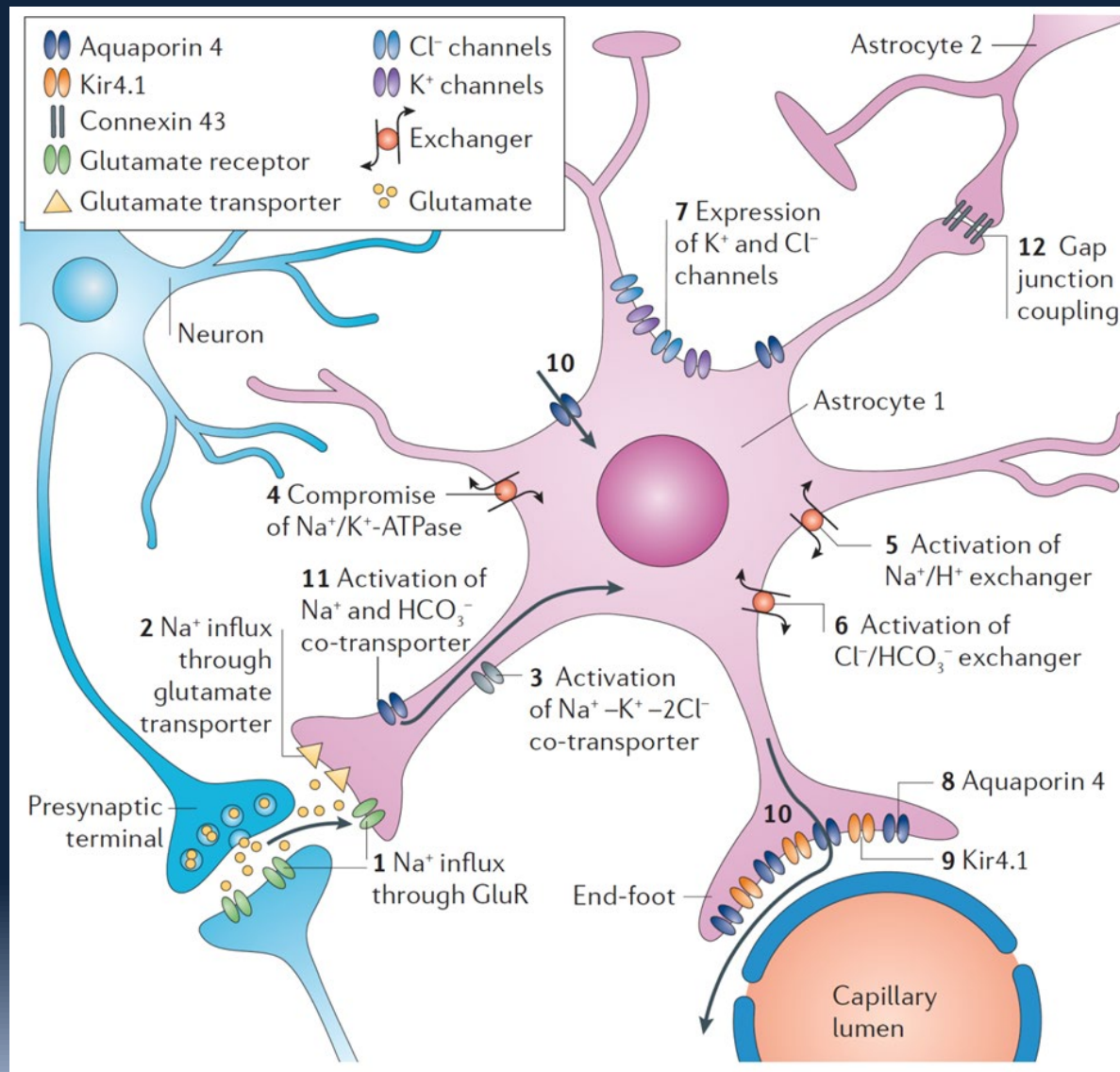
-regulace mikrocirkulace v mozku



(Pekny et al., 2007)



- regulace extracelulárních koncentrací iontů
- odstraňování neurotransmíterů z ECS
- homeostáza vody v CNS
- regulace pH



Astrocyty

-udržování fyziologických koncentrací K^+ iontů v extracelulárním prostoru a K^+ redistribuce

Kotransportéry- NKCC1, KCC1, Na^+/K^+ pumpa

Fyziologické podmínky

2.5mM K^+

Neuronální aktivita

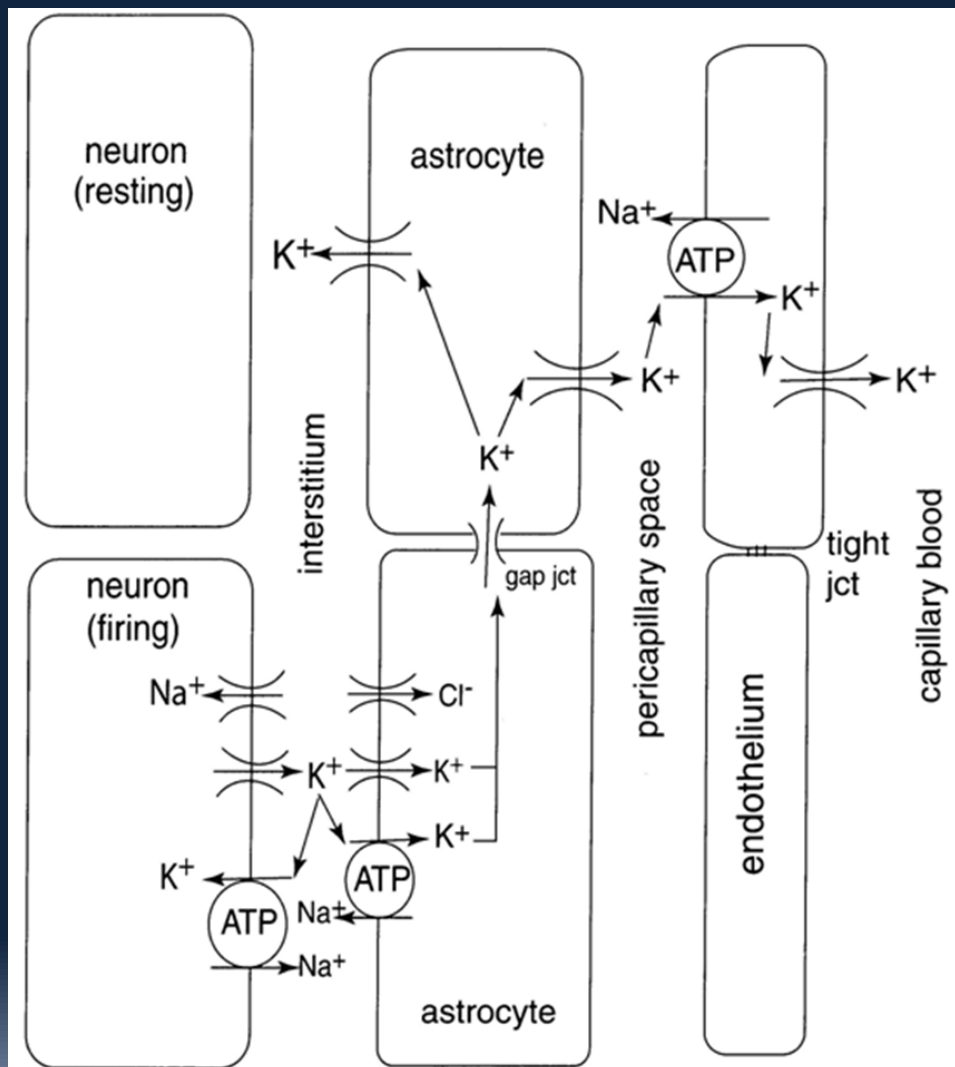
4-4.2 mM

Epilepsie

10-12 mM K^+

Ischemie/SD

60-70 mM K^+



Astrocytární Na^+/K^+ pumpa

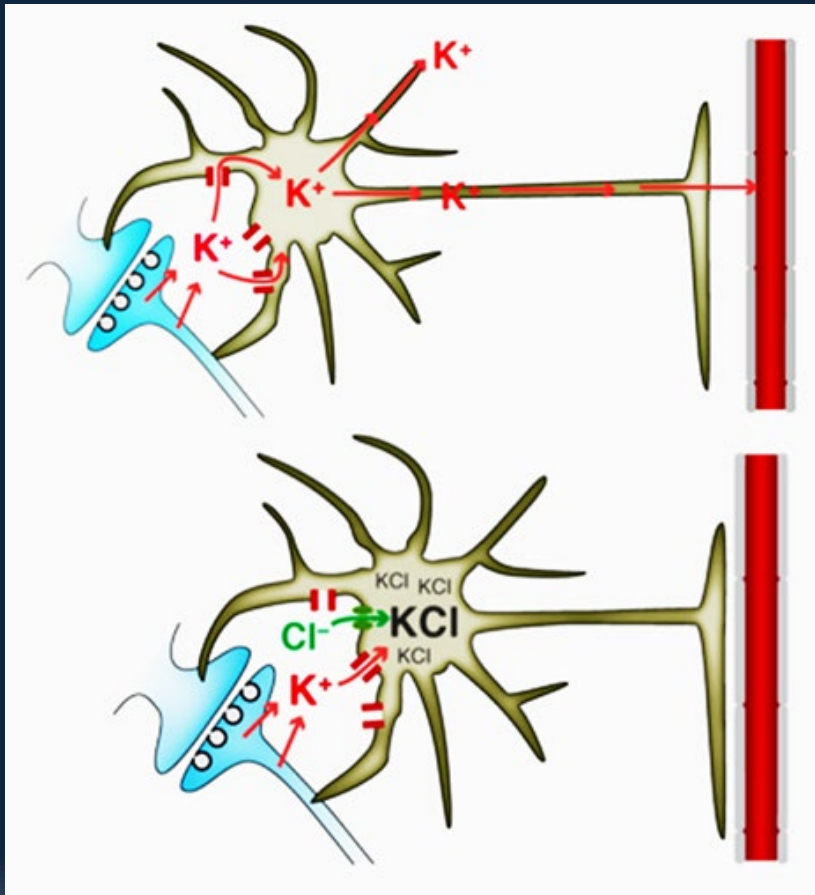
Saturace 10-15 mM K^+

$Na/K/Cl$ kotransport

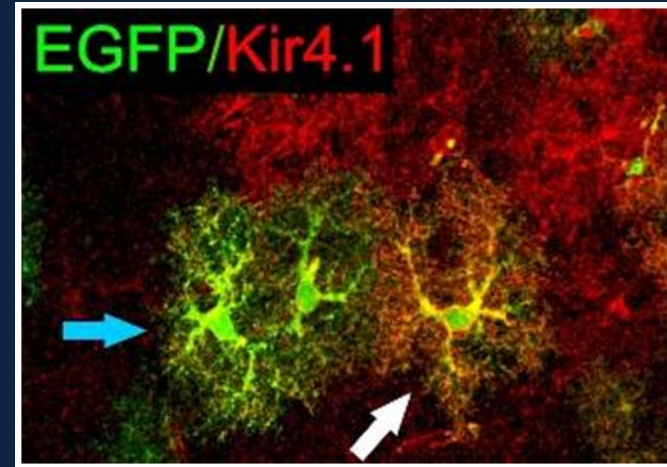
(Kimmelberg and Nedergaard, 2010)

Astrocyty

-udržování fyziologických koncentrací K^+ iontů v extracelulárním prostoru a K^+ redistribuce - K^+ iontové kanály



K^+ kanály



**Na-dependentní K/Cl kotransport
K/Cl kotransport**

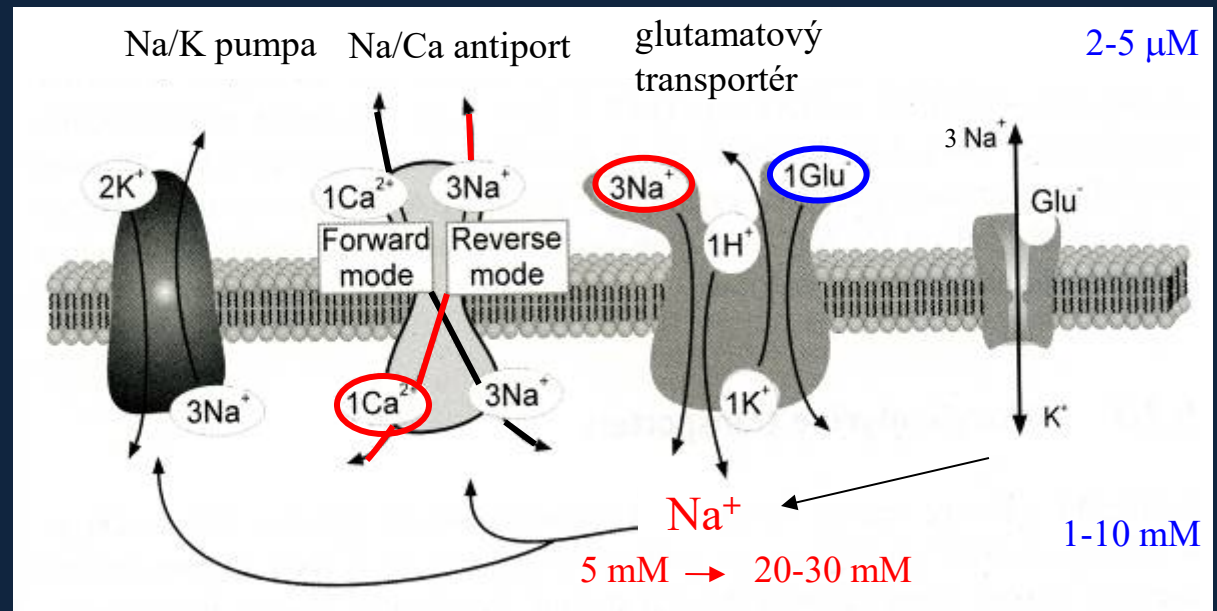
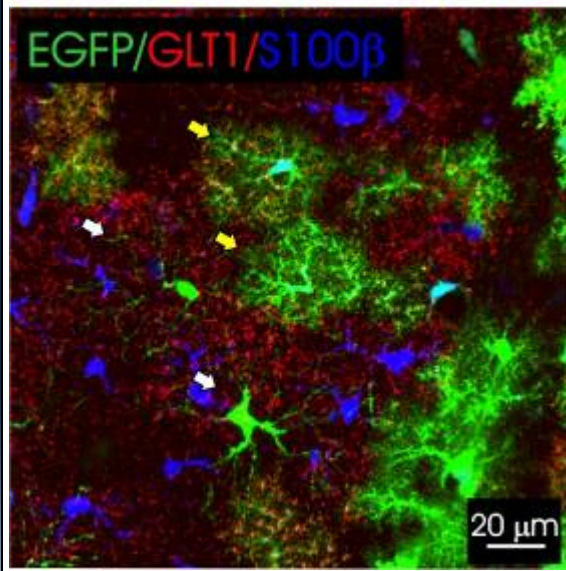
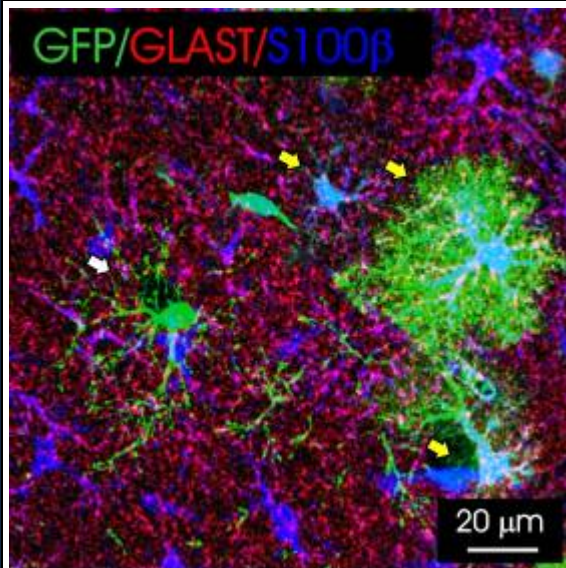
$+H_2O$

Zvětšování objemu astrocytů

Astrocyty

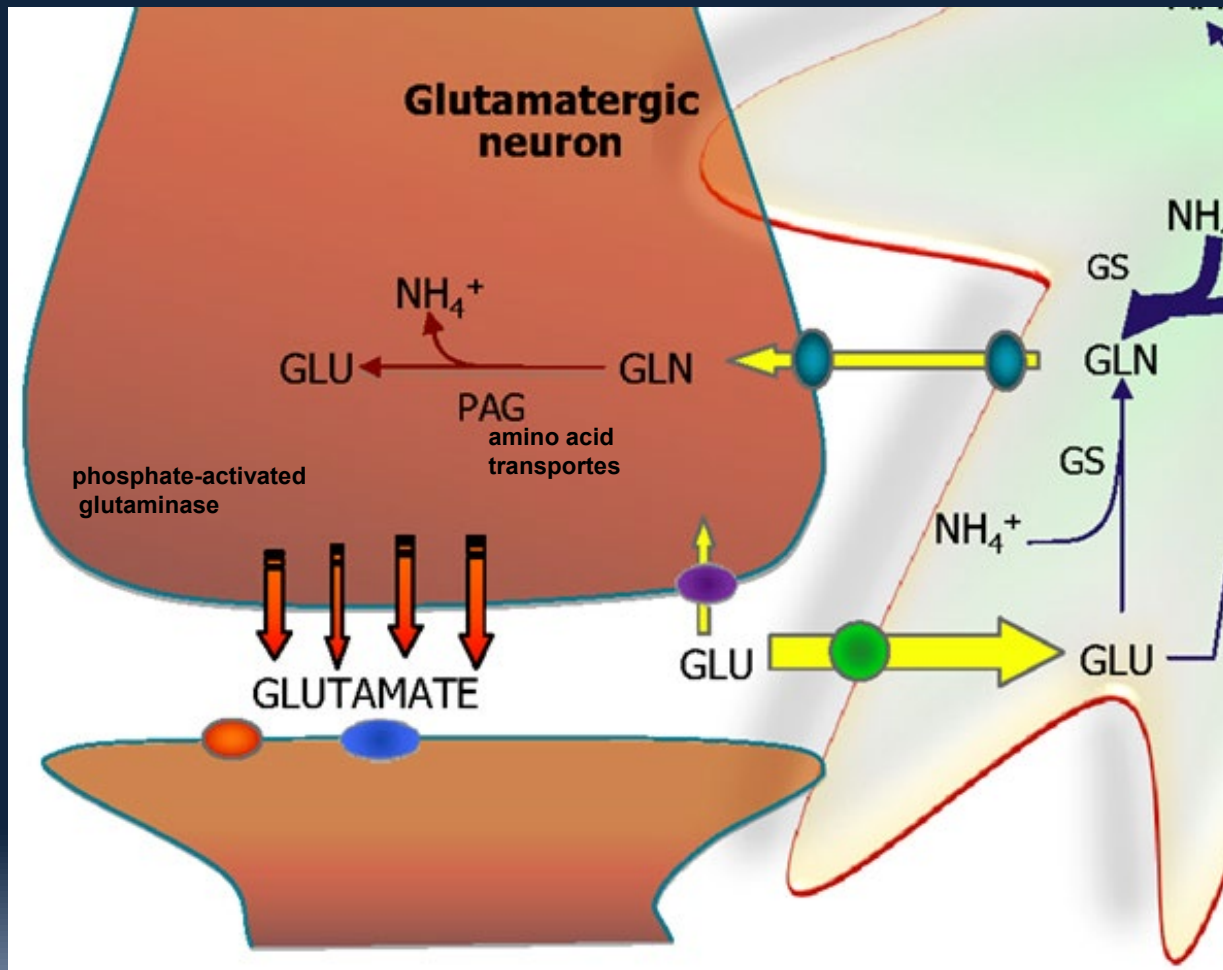
-udržování fyziologických koncentrací glutamátu v extracelulárním prostoru

odstraňování glutamátu transportéry EAAT1 (GLAST) a EAAT2 (GLT1)



Verkhratsky a Butt, Glial Neurobiology, 2007

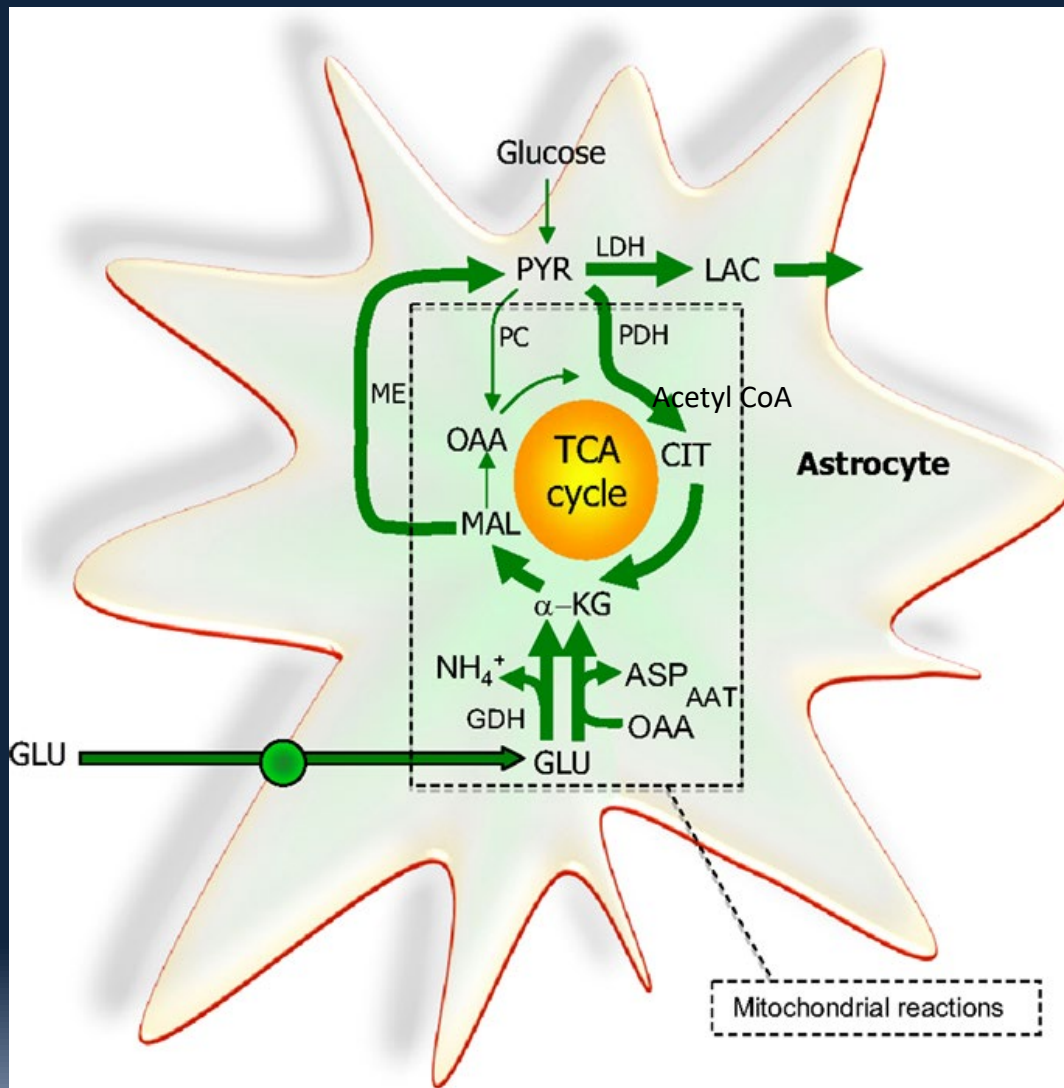
Recyklace glutamátu - „glutamate-glutamine cycle“



- Transport **Glu** zpět neuronům

-zabraňuje vyčerpání zásob **Glu** a narušení excitační neurotransmise

Oxidace glutamátu - TCA cycle nadbytek glutamátu



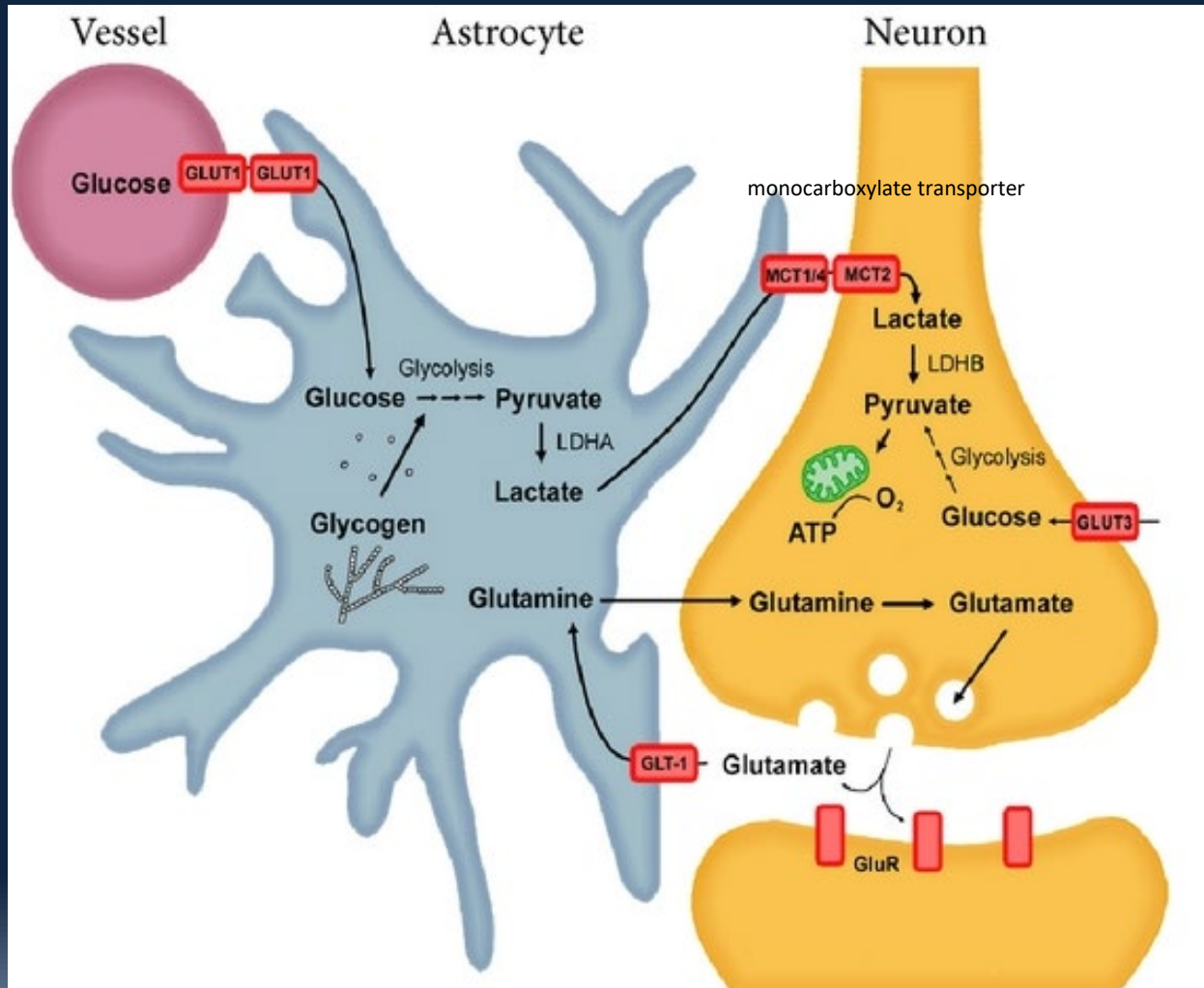
Acetyl CoA

x

Lactate

Zdroje energie pro neurony : Astrocyte-neuron lactate shuttle

Propojuje neuronální aktivitu s metabolismem astrocytů.



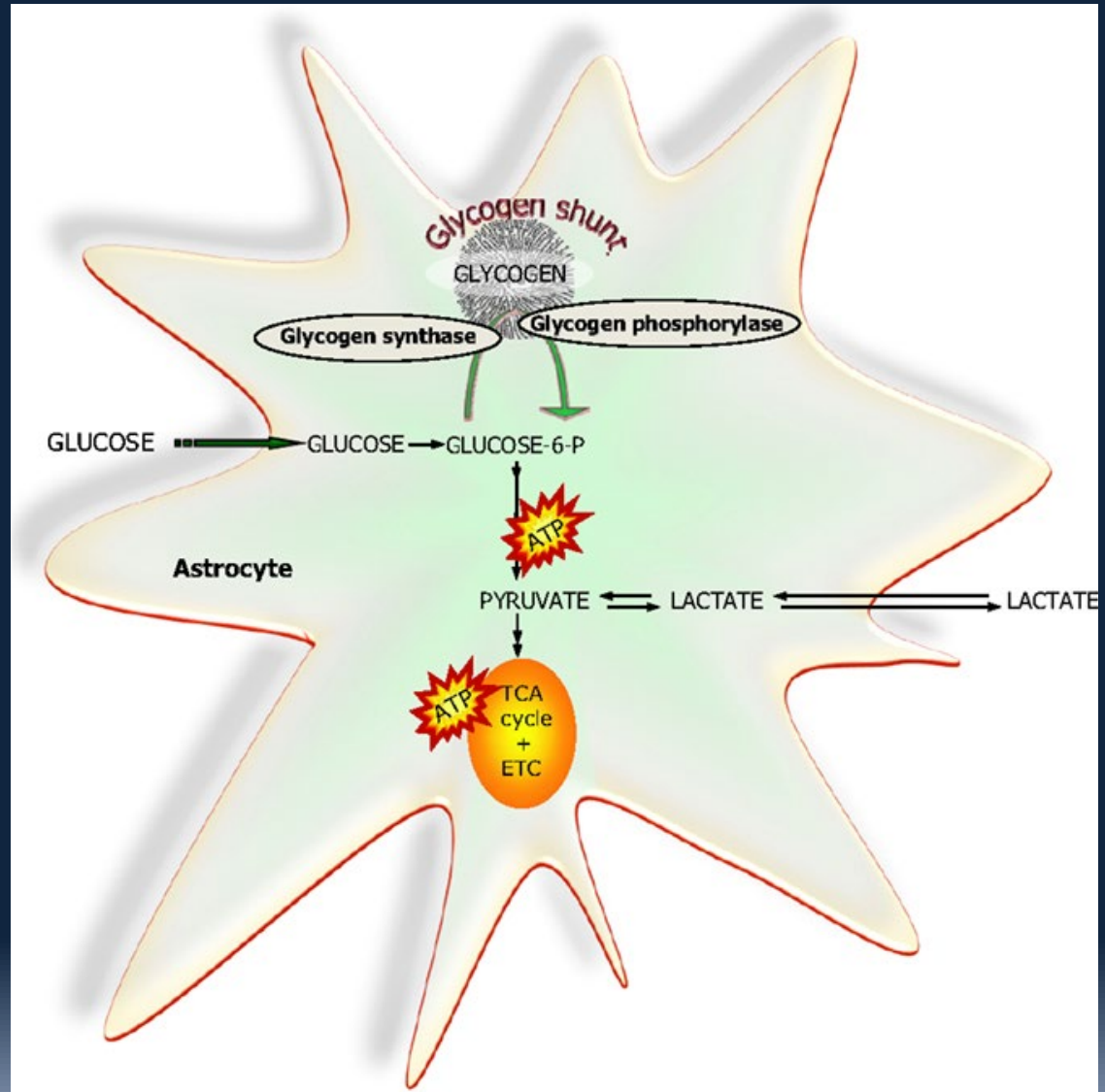
Vychytávání Glu astrocyty zvyšuje transport glukózy do astrocytů + glykolýza

Zásoby energie ve formě glykogenu – nedostatek zdrojů energie-omezený průtok krve

Mozek (2%) celkové hmotnosti těla
Dostává 20% krve
Spotřeba glukózy 25%
Spotřeba kyslíku 40%

pouze astrocyty
ukládají glukózu ve formě
glykogenu

Rychlá mobilizace ener. zdrojů



Udržování pH - CO₂ sink

pH posun ovlivňuje:

Energetický metabolismus

Vodivost membrán

Neuronální excitabilitu

Neuronální transmisi

Komunikaci mezi astrocyty-GJ

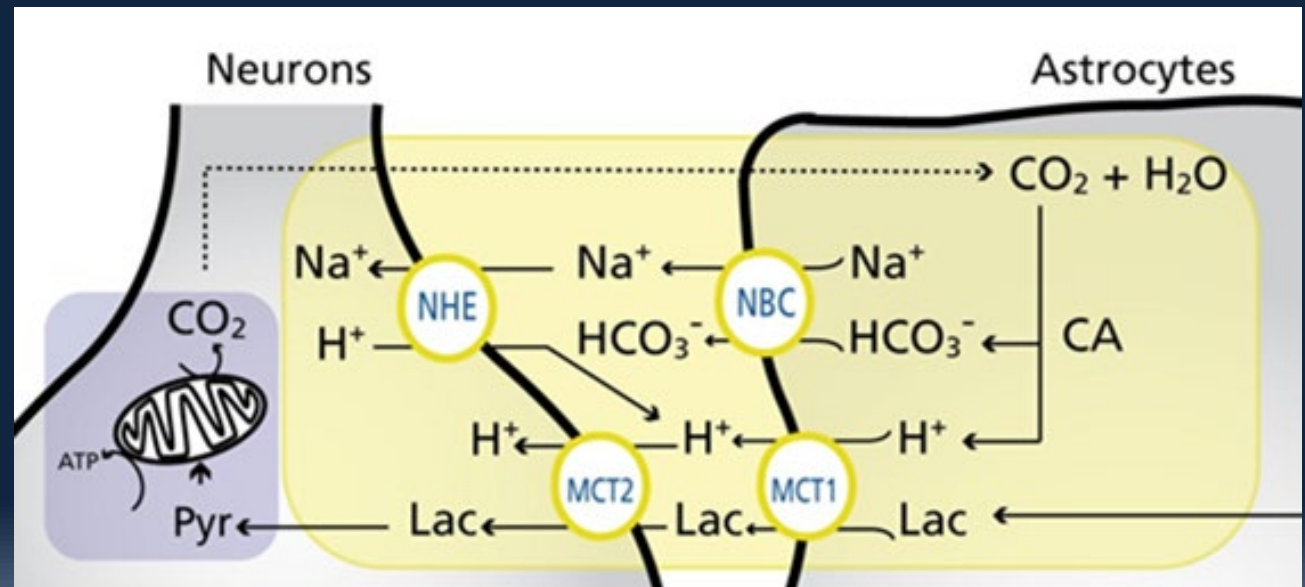
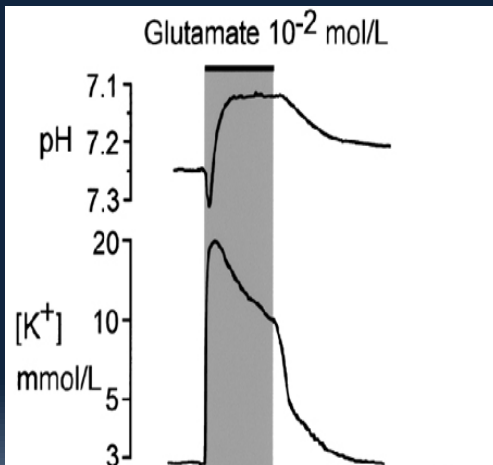
Astrocyty (i oligodendrocyty)

-anhydráza k. uhličitě



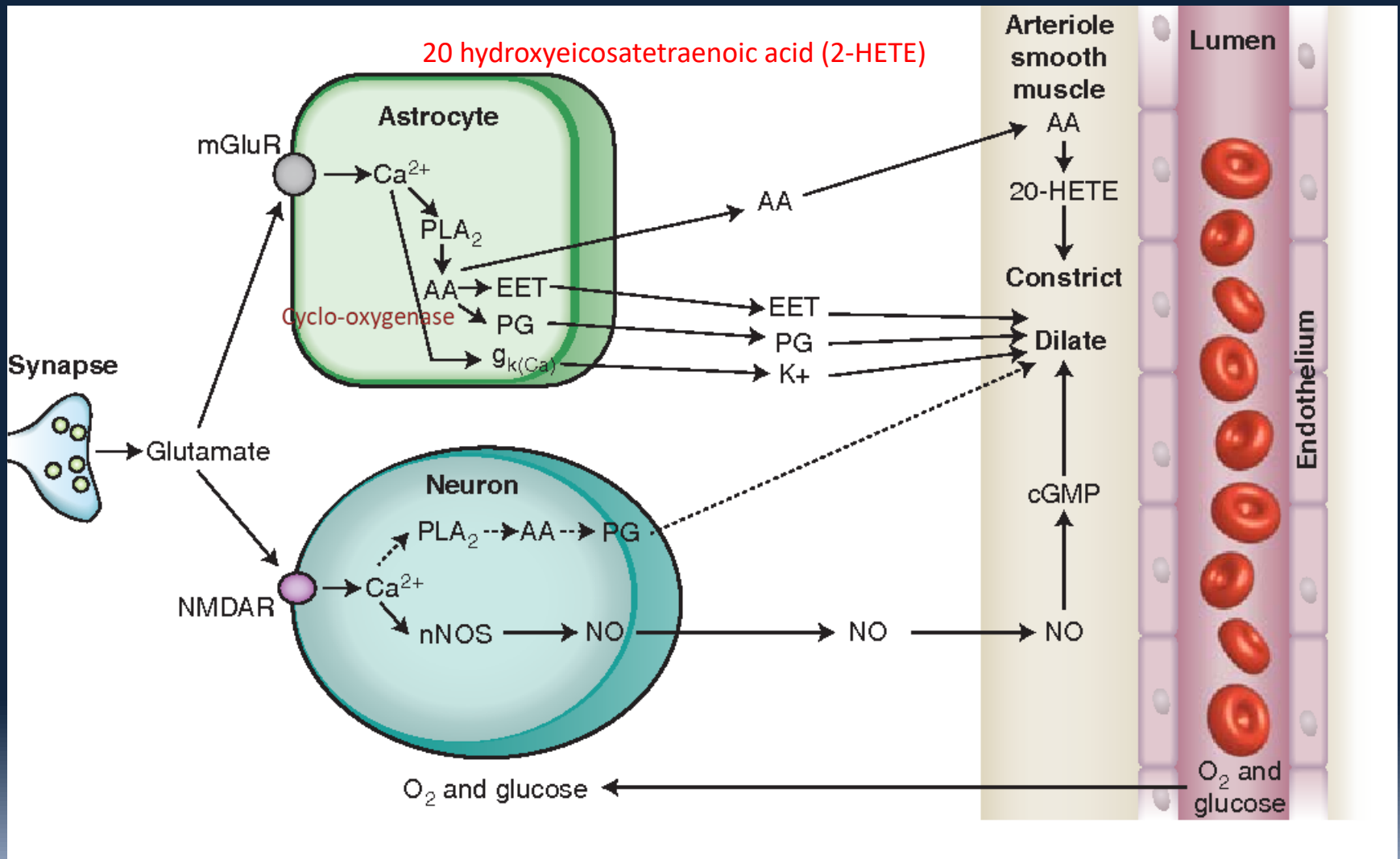
Vazba na oxidativní metabolismus neuronů

Změny pH a K⁺



Regulace lokálního průtoku krve

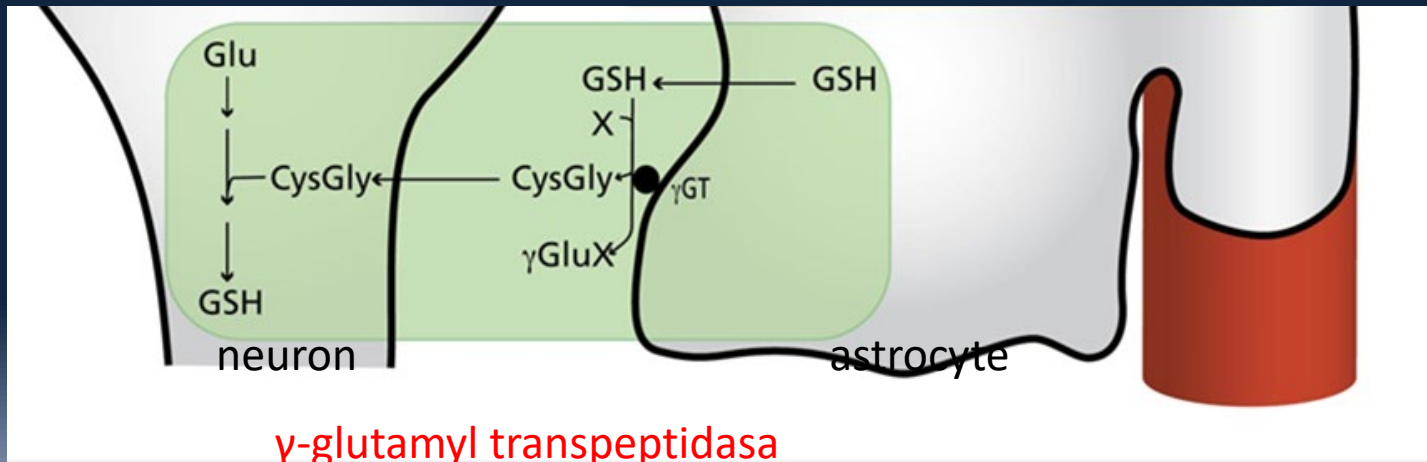
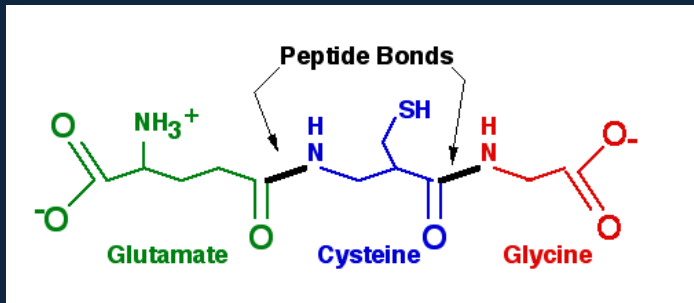
Astrocyty propojují neuronální aktivitu s lokální cirkulací krve
vazokonstrikce i vazodilatace



Astrocyty chrání před oxidačním stresem (podílí se na odstraňování peroxidu vodíku)

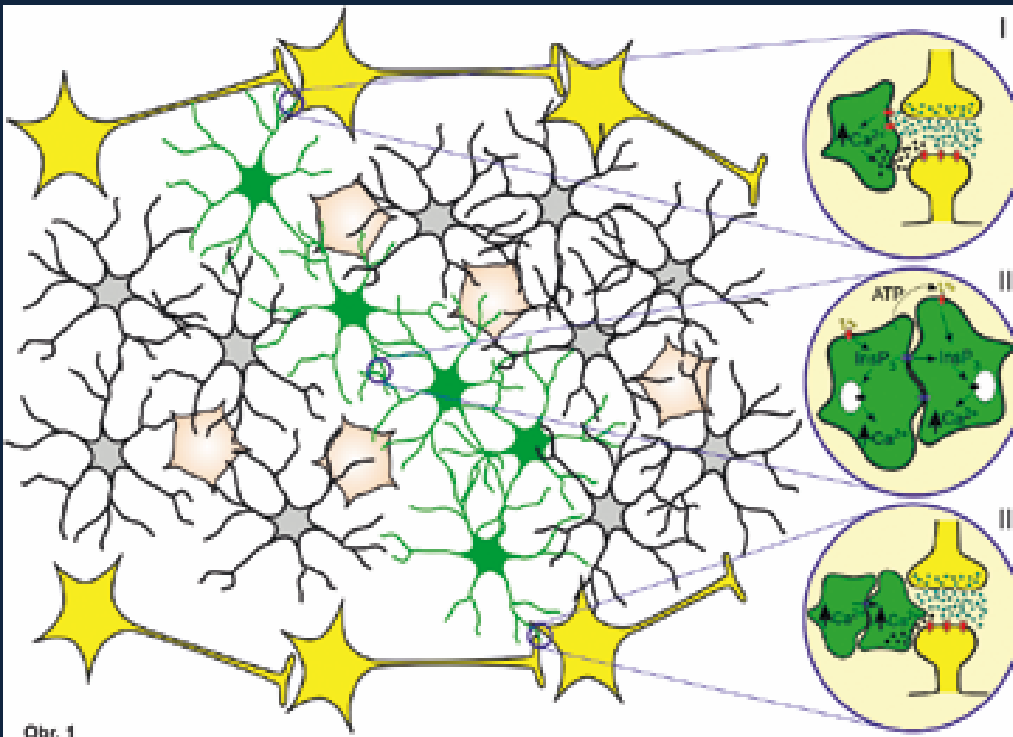
Oxidativní stres (nerovnováha mezi ROS x AOP)

– astrocyty – vysoké hladiny antioxidantů (glutathion, ascorbát and vitamin E)



γ -glutamyl transpeptidasa

Gliotransmise v nervové tkáni – lokální a vzdálená



Lokální neuro-gliální komunikace

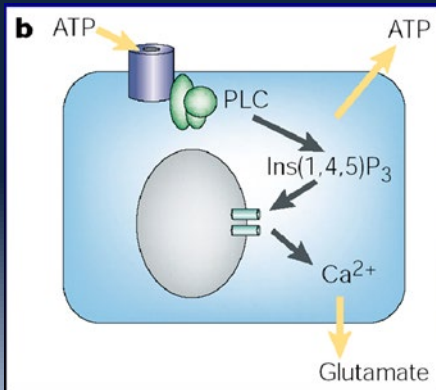
-synaptická aktivita modulována
výběžky gliových buněk

Vzdálená gliotransmise

-reprezentovaná vápníkovými
vlnami uvnitř gliálního syncytia

Vzdálená neuro-gliální komunikace

-modulace přenosu
signálů na vzdálené synapsi



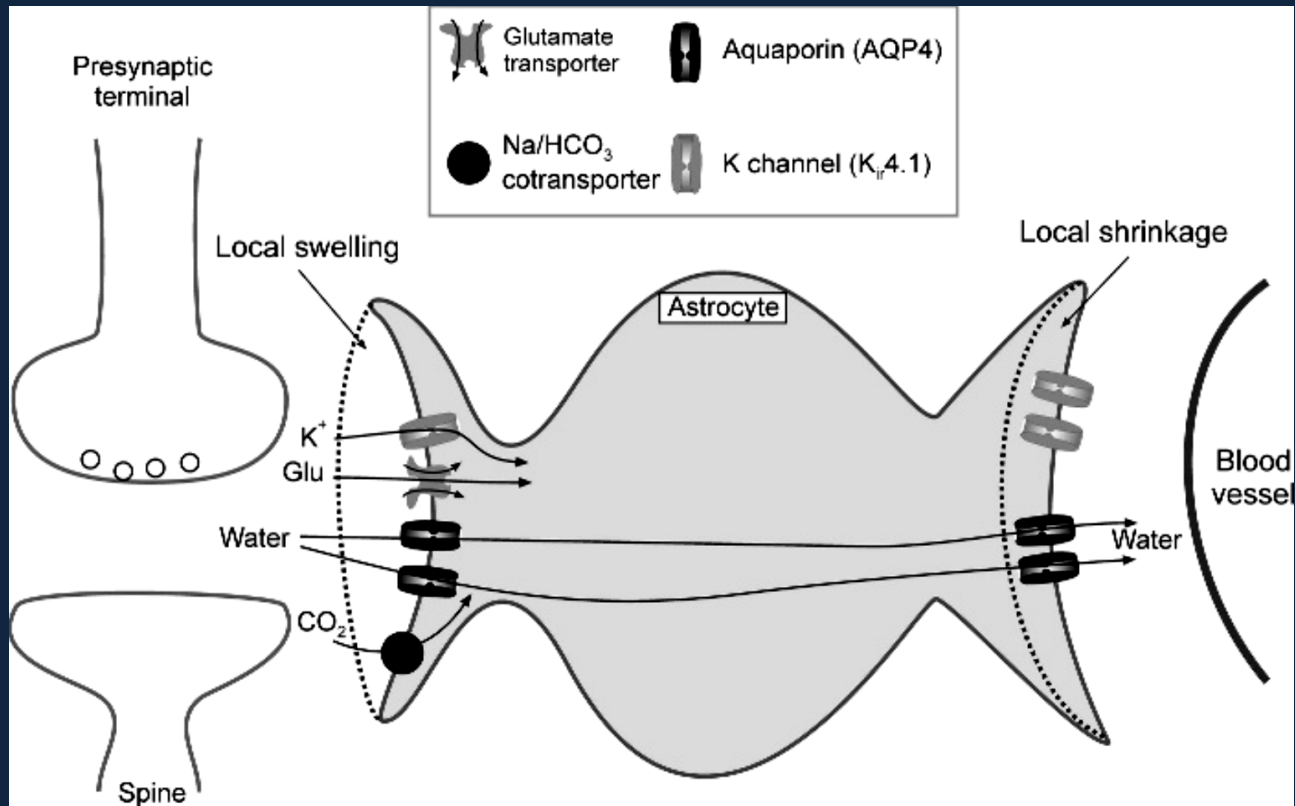
Vesikulární x transportéry/iontové kanály

Astrocyty

redistribuce vody a regulace ECP

Polarizovaná exprese AQP4 a Kir4.1

– kolokalizovány na membráně astrocytů



↑
Glu, K⁺, CO₂

Astrocyty

funkce v poškozené nervové tkáni

Positivní funkce:

- vychytávání glutamátu
- vychytávání K^+ iontů a jejich redistribuce (K^+ -uptake, K^+ spatial buffering)
- energetická zásobárna pro neurony glykogen
- anaerobní metabolismus za hypoxických podmínek – produkce laktátu, alaninu a a-ketoglutarátu
- odstraňování volných radikálů kyslíku - vysoké hladiny antioxidantů (askorbát, glutation)
- reaktivní astroglióza - chrání okolní tkáň
- Proliferace/neurogeneze sub-populace astrocytů-neurosféry

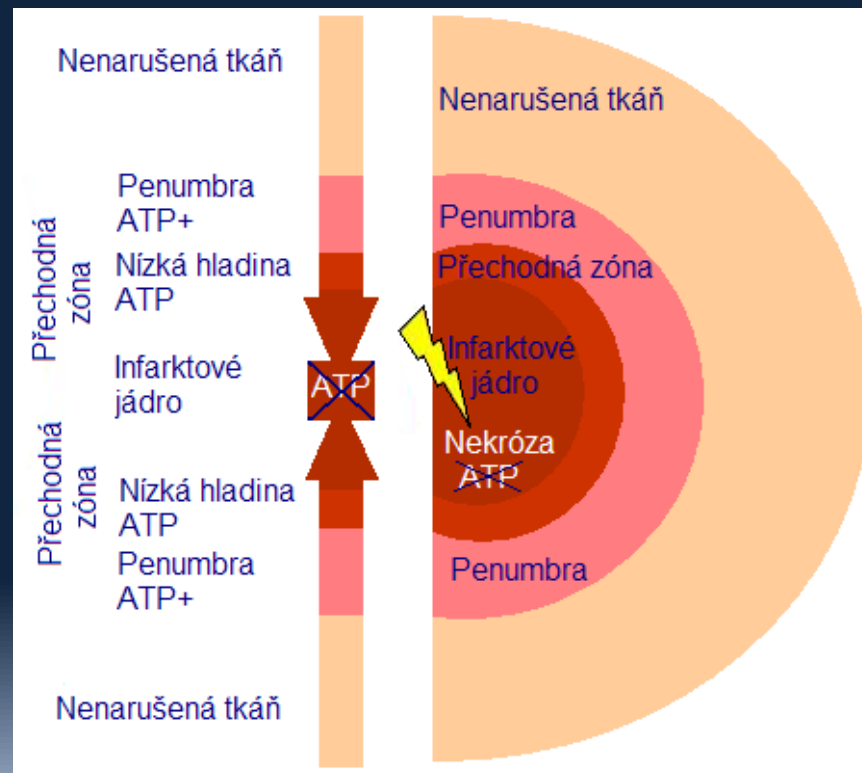
Negativní funkce:

- zvětšování objemu astrocytů - cytotoxický + vasogenní edém
- uvolňování neurotransmiterů - glutamátu, ATP, taurinu..
- Změny v extrasynaptickém přenosu v důsledku zmenšeného/zvětšeného ECS, morfologie astrocytů
- “Spreading depression” - šířící se deprese (opakující se depolarizační vlna doprovázená vysokými koncentracemi K^+ , která se šíří od rozhraní nekrotické oblasti přes penumbry)
- Ca^{2+} vlny – propagace poraněné nervové tkáně
- reaktivní astroglióza brání migraci buněk do místa poškození, limituje prorůstání a regeneraci axonů v poškozeném CNS

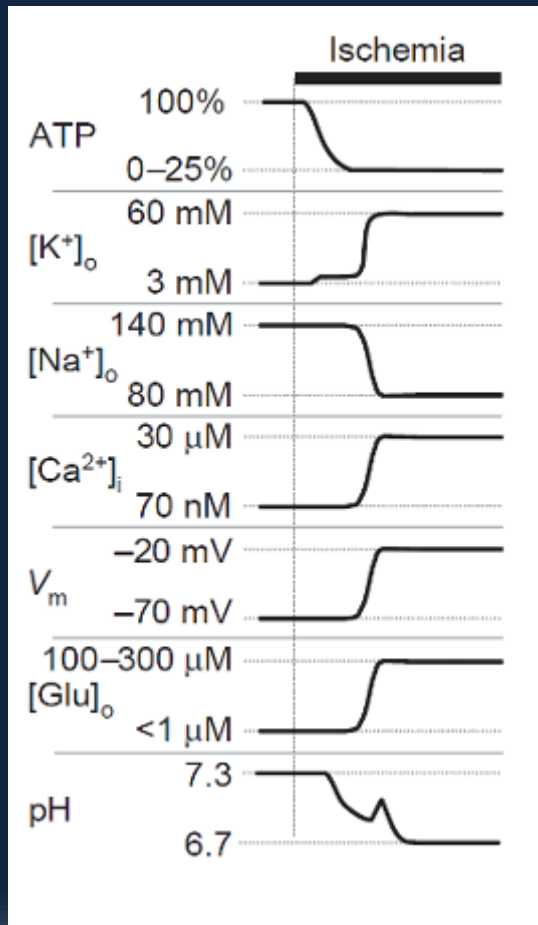
Cerebrální ischemia

Globalní cerebrální ischemie: dochází k redukci průtoku krve v celém mozku, většinou způsobena zástavou srdeční činnosti

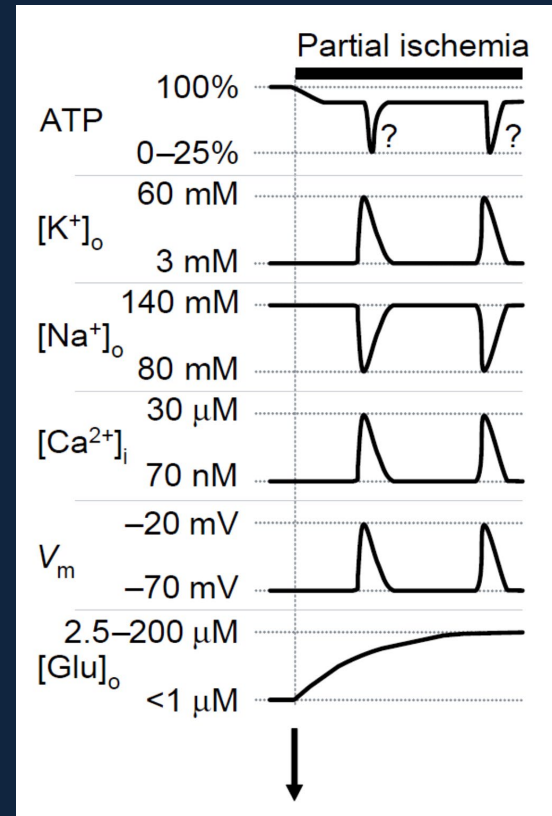
Fokální ischemie: dochází k okluzi cévy krevní sraženinou (trombóza) –redukce průtoku krve v určité oblasti mozku



Globální cerebrální ischemie Fokální ischemie-jádro



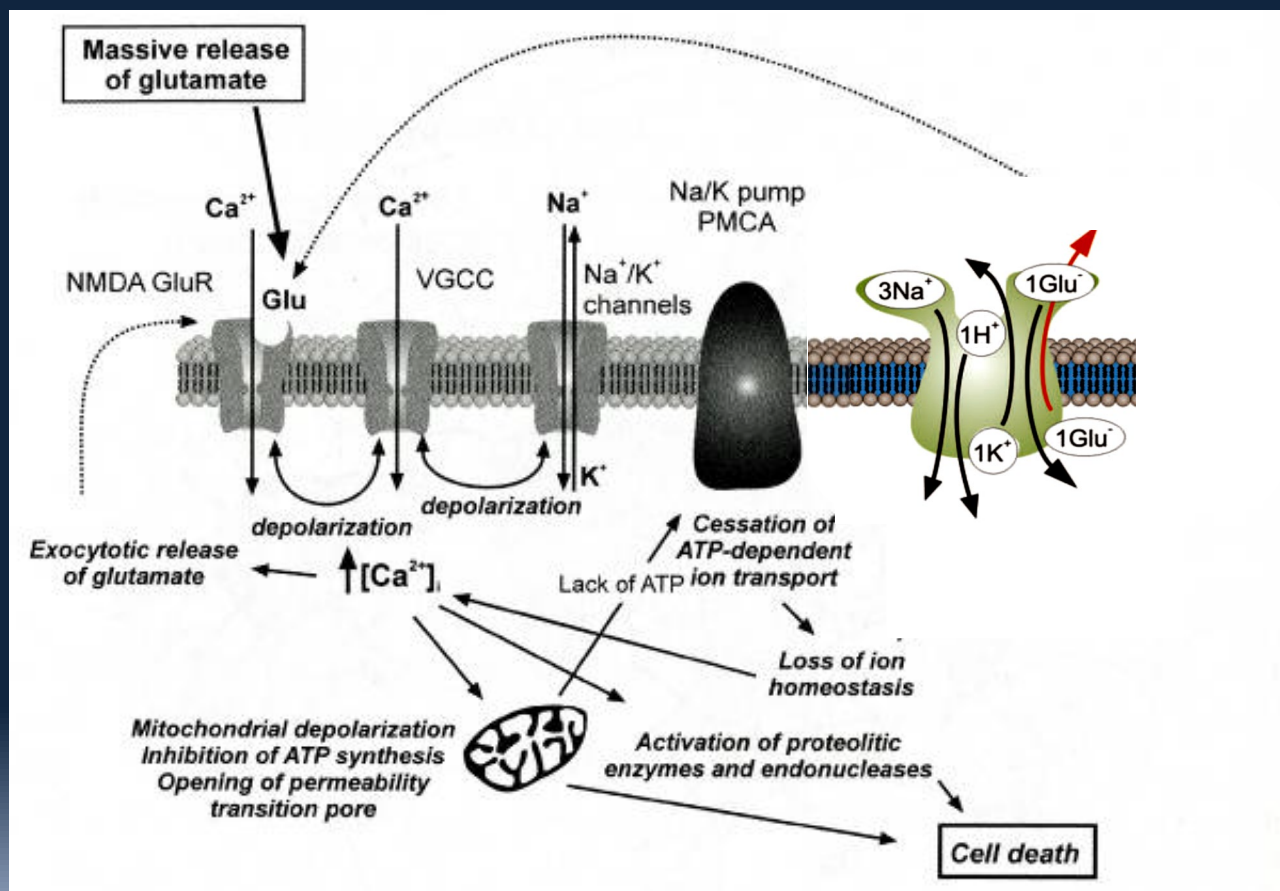
Penumbra



Obrácené fungování glutamátového transportéru v ischemii: glutamát je uvolňován do extracelulárního prostoru

Astrocyty přispívají k dalšímu poškození nervové tkáně

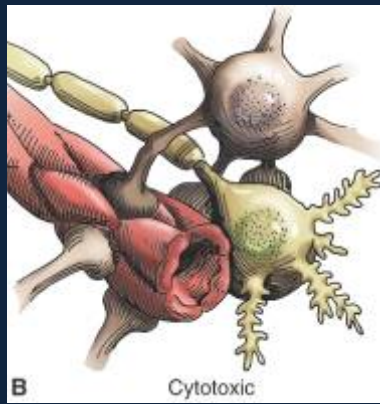
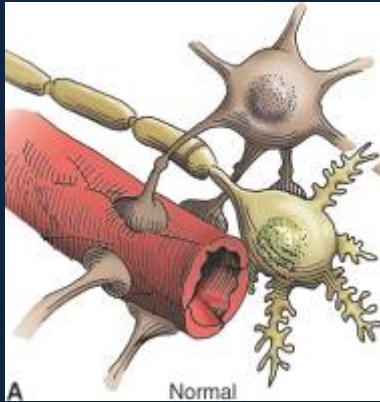
- excitotoxicita
- depolarizace buněčných membrán
- aktivace Na^+ a Ca^{2+} iontových kanálů
- akumulace Ca^{2+} v cytoplasmě a mitochondriích
- inhibice ATP syntézy v mitochondriích




buněčná smrt

Astrocyty

objemové změny astrocytů vyvolané patologický stavy CNS



Cytotoxický edém

Zvětšení objemu buněk
Gliové a endotelové buňky,
HEB neporušena



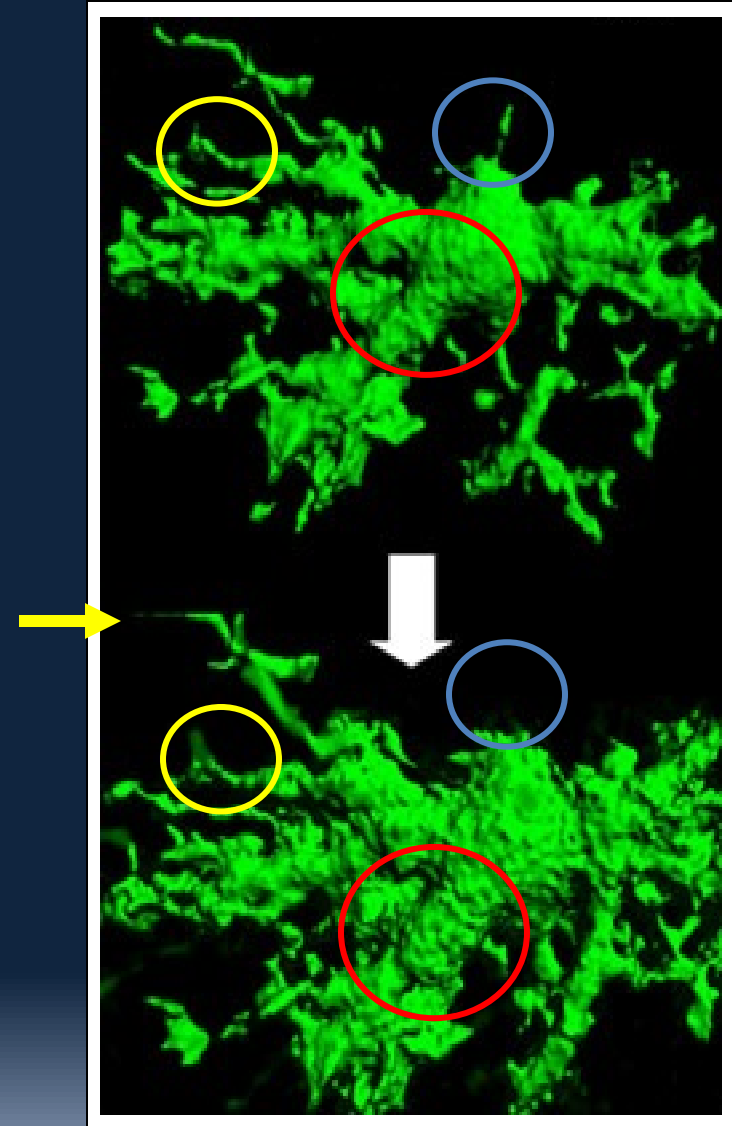
zmenšení extracelulárního
prostoru

Vasogenní edém

Porušení HEB -aktivita
matrix metaloproteináz
makromolekuly do ECP



zvětšení ECP



Astrocyty

RVD

uvolňování neurotransmiterů do extracelulárního prostoru - glutamát, aspartát, taurin, ATP

-reverzně fungující transportéry (i u oligodendrocytů) v důsledku zvýšených intracelulárních koncentrací Na^+ a neurotransmiteru,

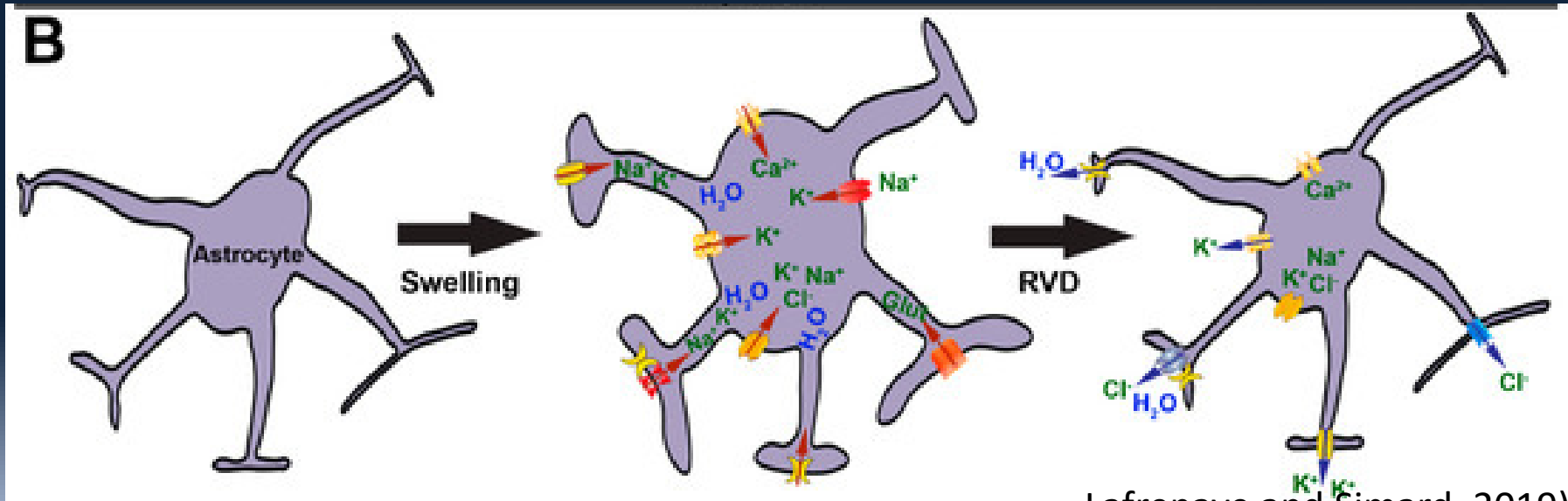
+ depolarizace (K^+)

-aniontové kanály aktivované změnami objemu - Cl^-

-konexony “hemichannels”

-ionotropní purinergní receptory - P2X_7

-exocytóza v důsledku zvýšené koncentrace Ca^{2+}



Lafrenaye and Simard, 2019).

Následky zvětšování objemu astrocytů

- redukce extracelulárního prostoru
- snížený extrasynaptický přenos
- zvýšení extracelulárních koncentrací K^+ a glutamátu
- depolarizace neuronů
- buněčná smrt neuronů, oligodendrocytů
- stlačení cév-redukce průtoku krve
- aktivace iontových kanálů, které reagují na změnu objemu buňky
- další uvolnění glutamátu, ATP

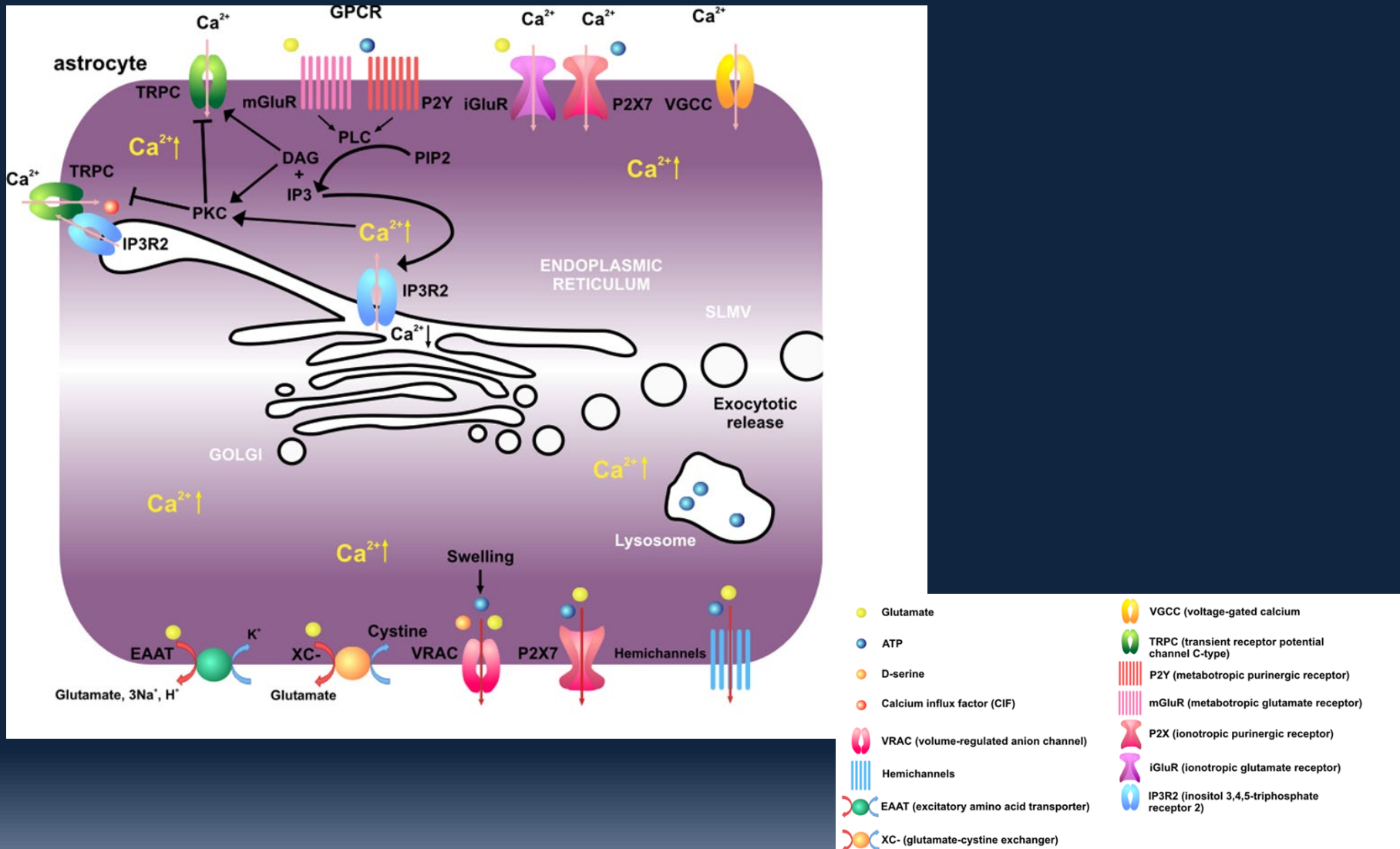
Ischemie

Trauma

Hyperamonia (selhání jater)

Hyponatremie (selhání ledvin)

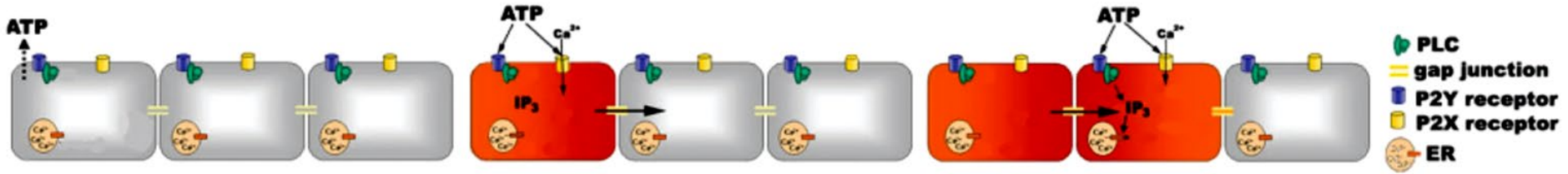
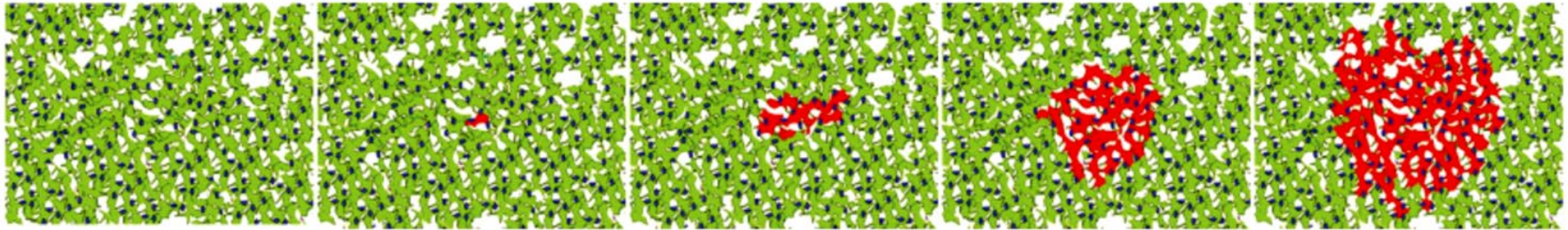
Vápník-významná signální molekula u astrocytů



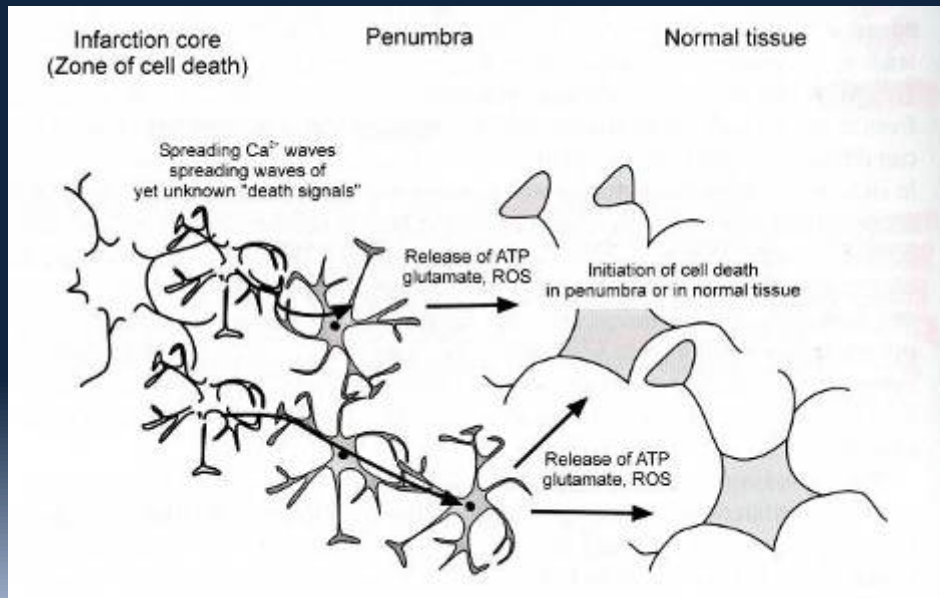
Ben Achour, S., L. Pont-Lezica, C. Bechade and O. Pascual (2010). Is astrocyte calcium signaling relevant for synaptic plasticity? *Neuron Glia Biol* 6(3): 147-155.

Astrocyty

Ca²⁺ vlny = propagace poraněné nervové tkáně



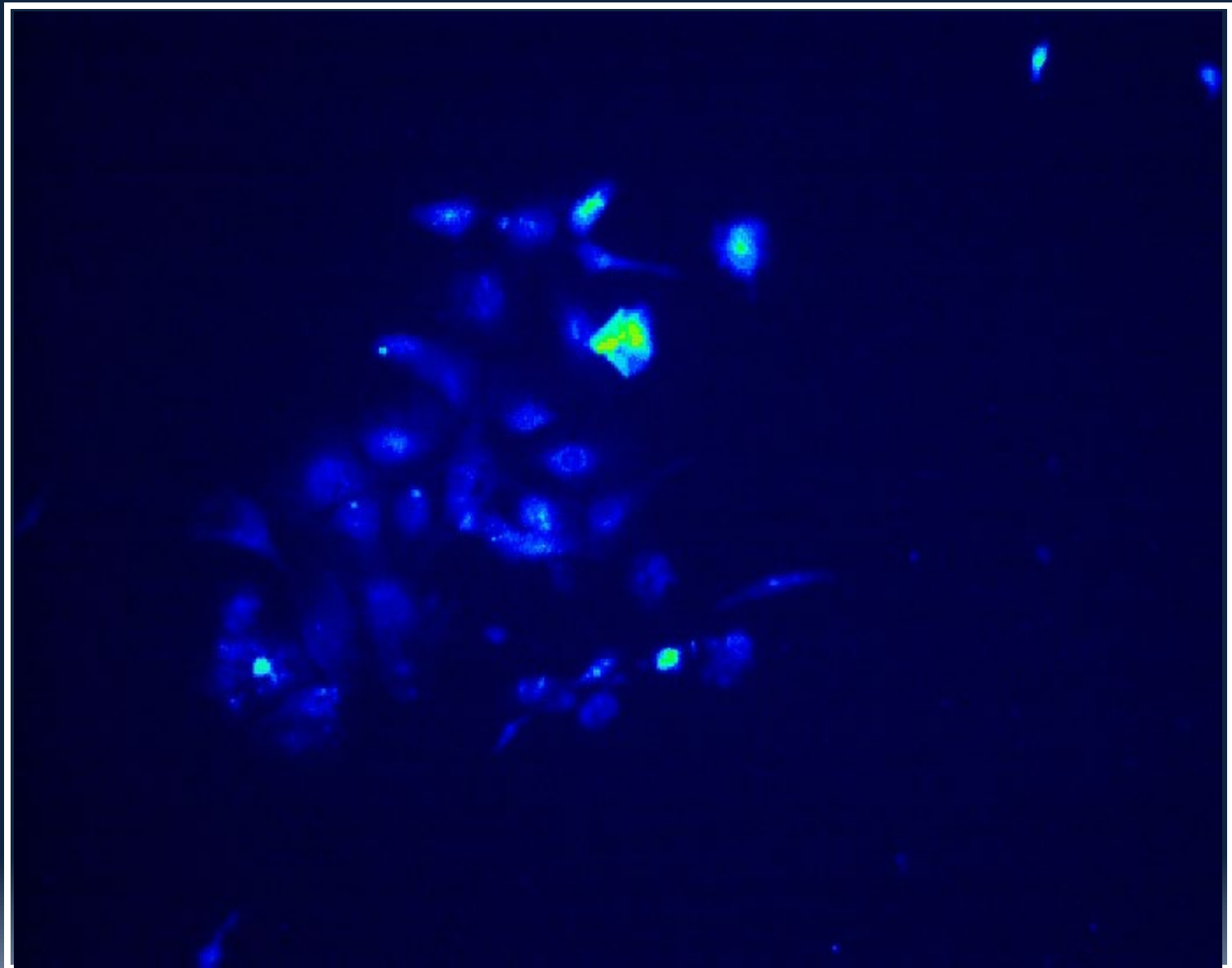
Parpura a Haydon, Astrocytes in Pathophysiology of CNS, 2009



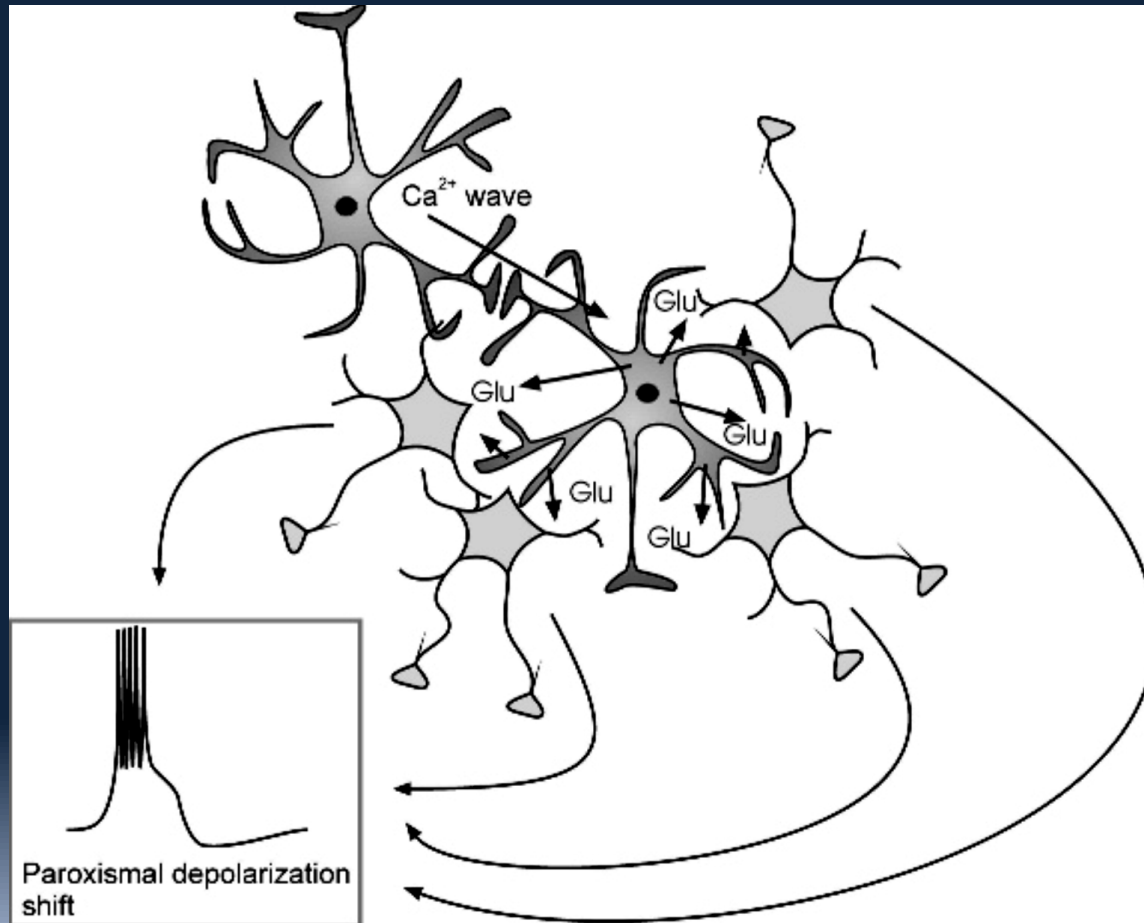
Verkhatsky a Butt, Glial Neurobiology, 2007



JGP_201210949_V3.mov



Epilepsie Vápníková vlna může vyvolat synchronizované uvolňování glutamátu
Synchronizovaná depolarizace neuronů = epileptický záchvat



Astrocyty

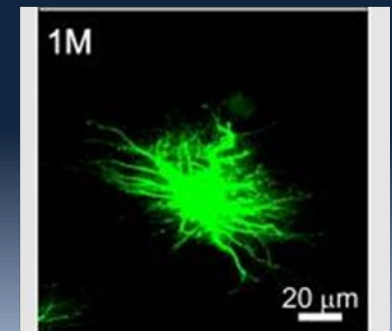
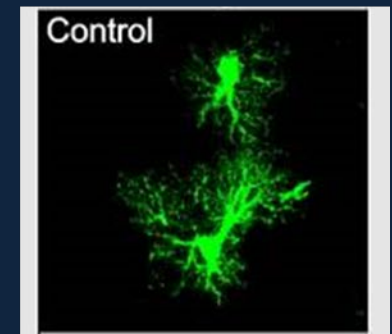
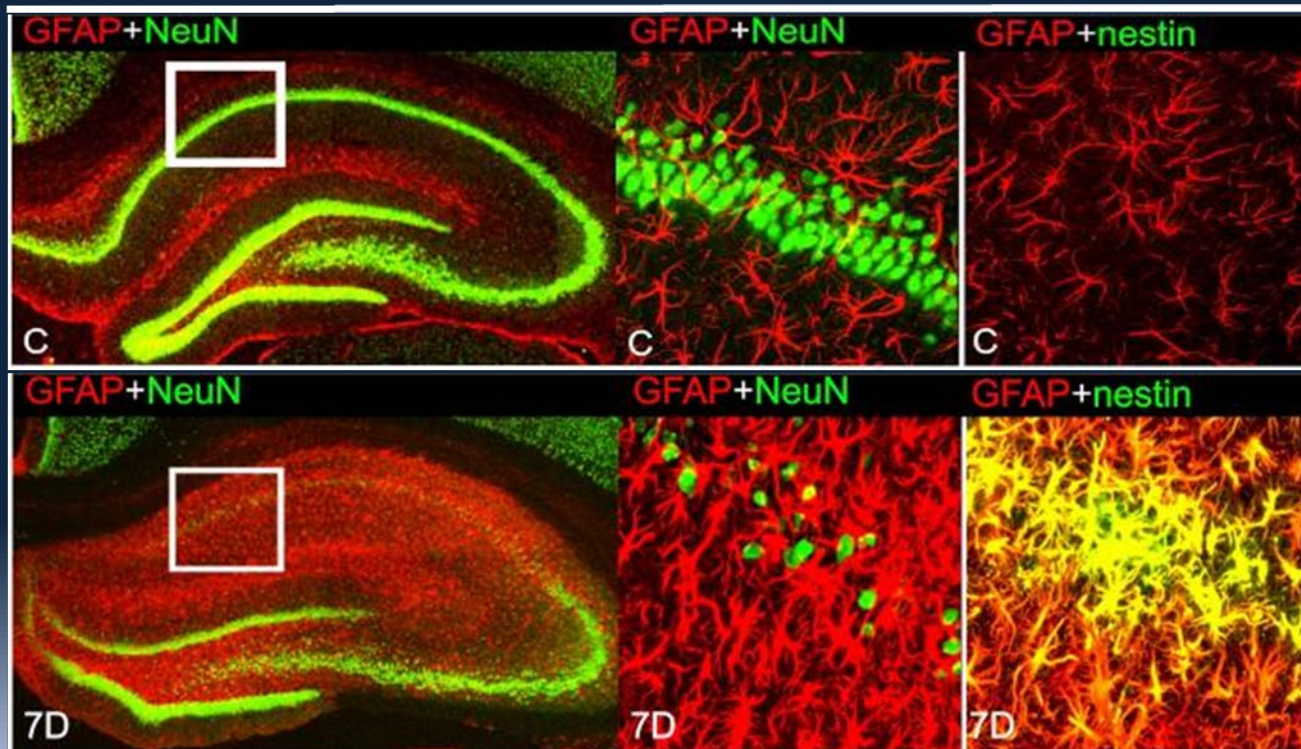
astroglióza

anisomorfní astroglióza

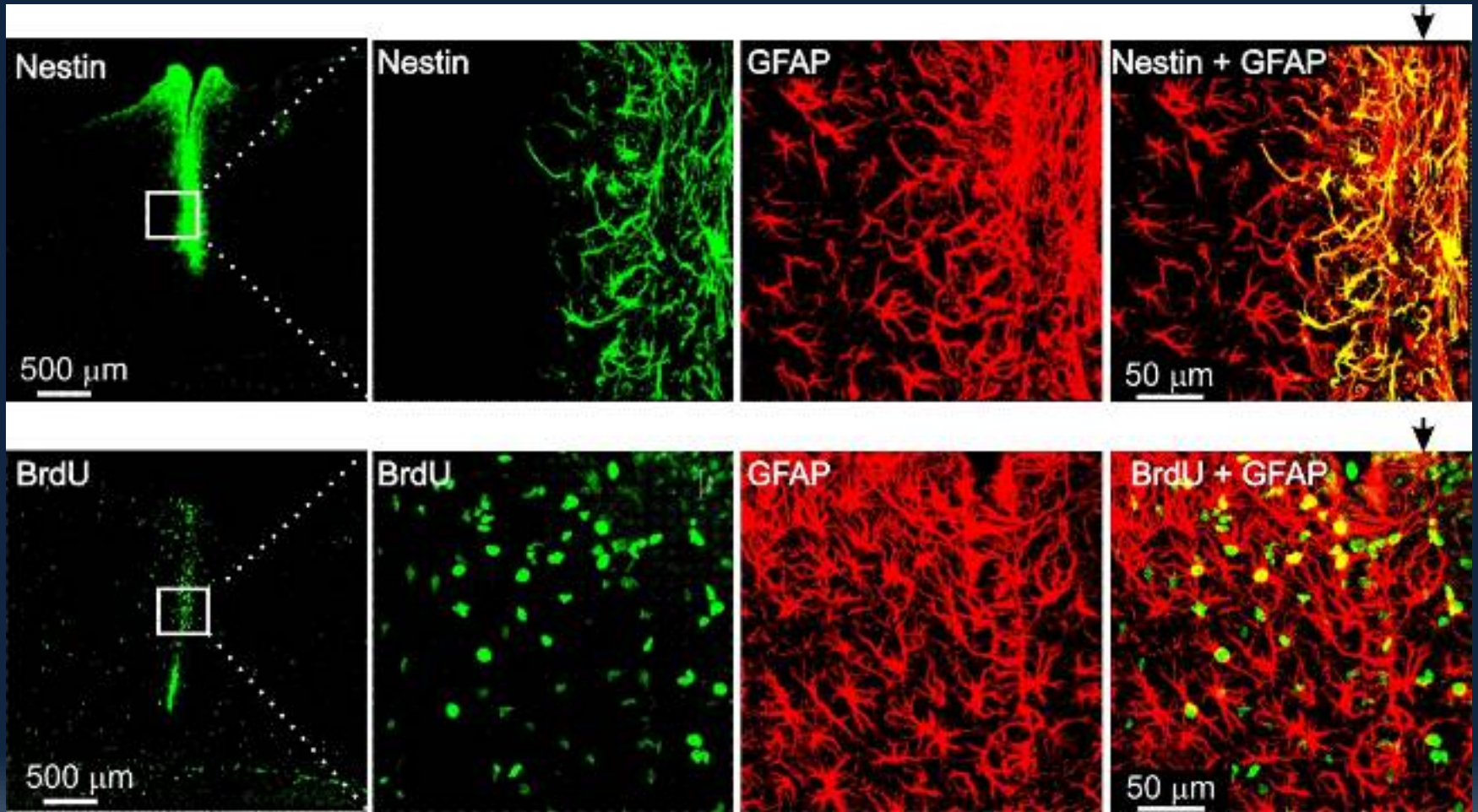
hypertrofované astrocyty
proliferace
permanentní gliální jizva
produkce chondroitinu a keratinu
inhibice regenerace axonů

isomorfní astroglióza

růstové faktory
(NGF, FGF, cytokiny, Shh)
-proteiny extracelulární matrix
-adhézní molekuly
-podpora neuron-astrocyt interakcí
-podpora růstu axonů, synaptogeneze



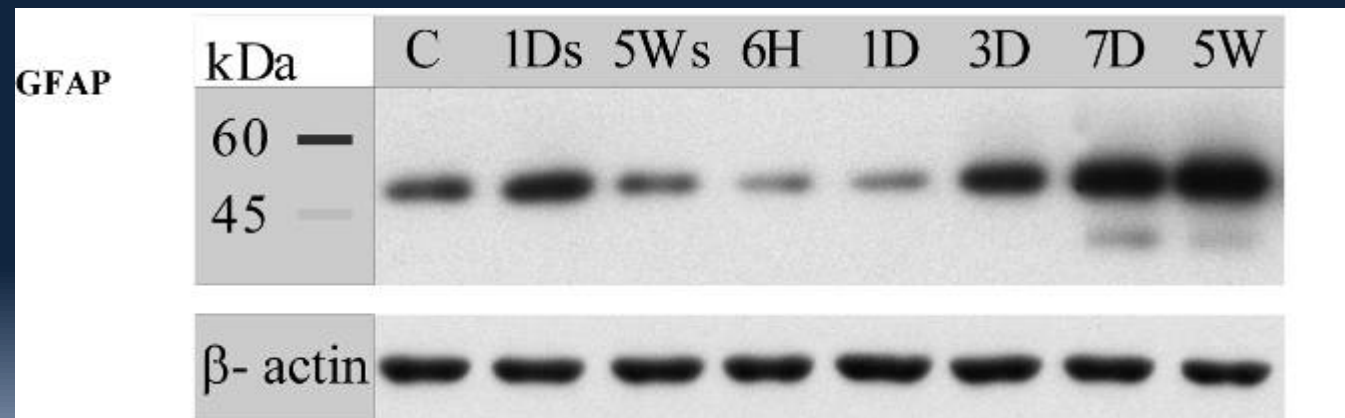
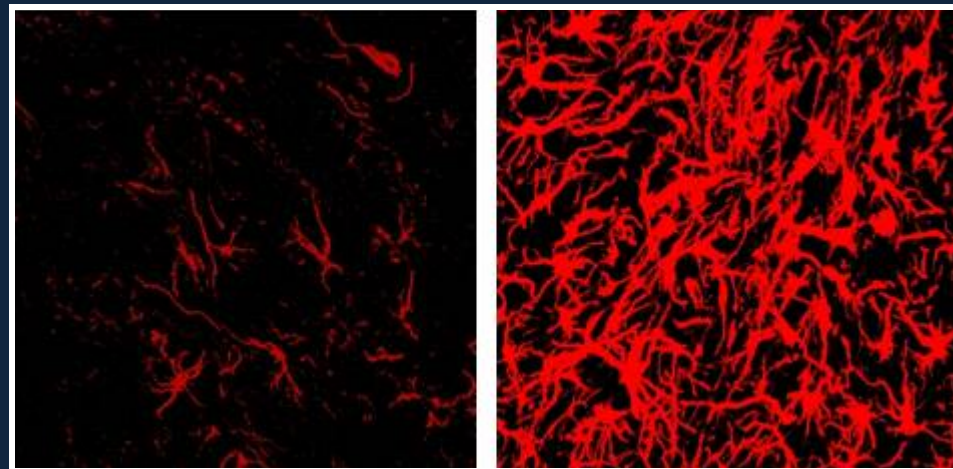
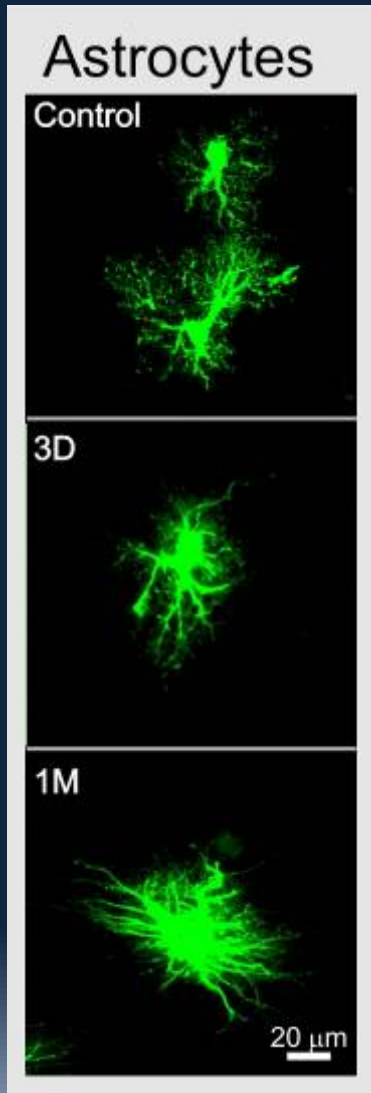
Astrocyty



Astrocyty

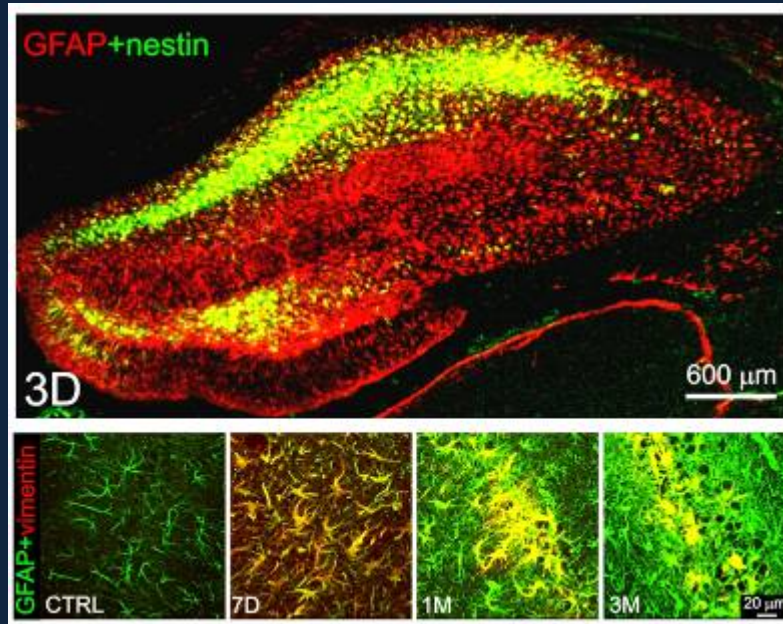
Morfologie astrocytů a exprese GFAP

zvýšená exprese GFAP



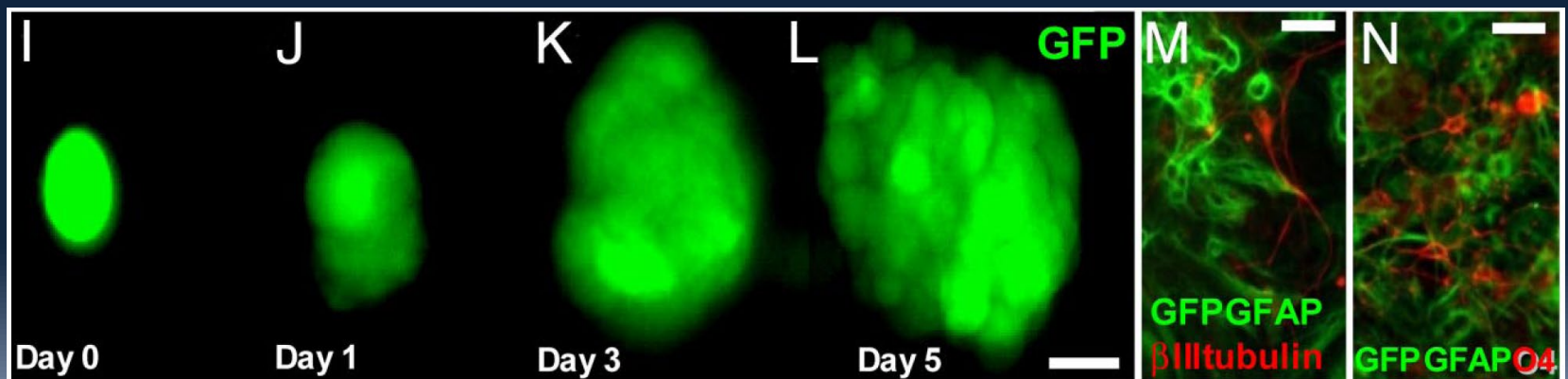
Astrocyty

Reaktivní astrocyty vykazují charakteristiky NSC



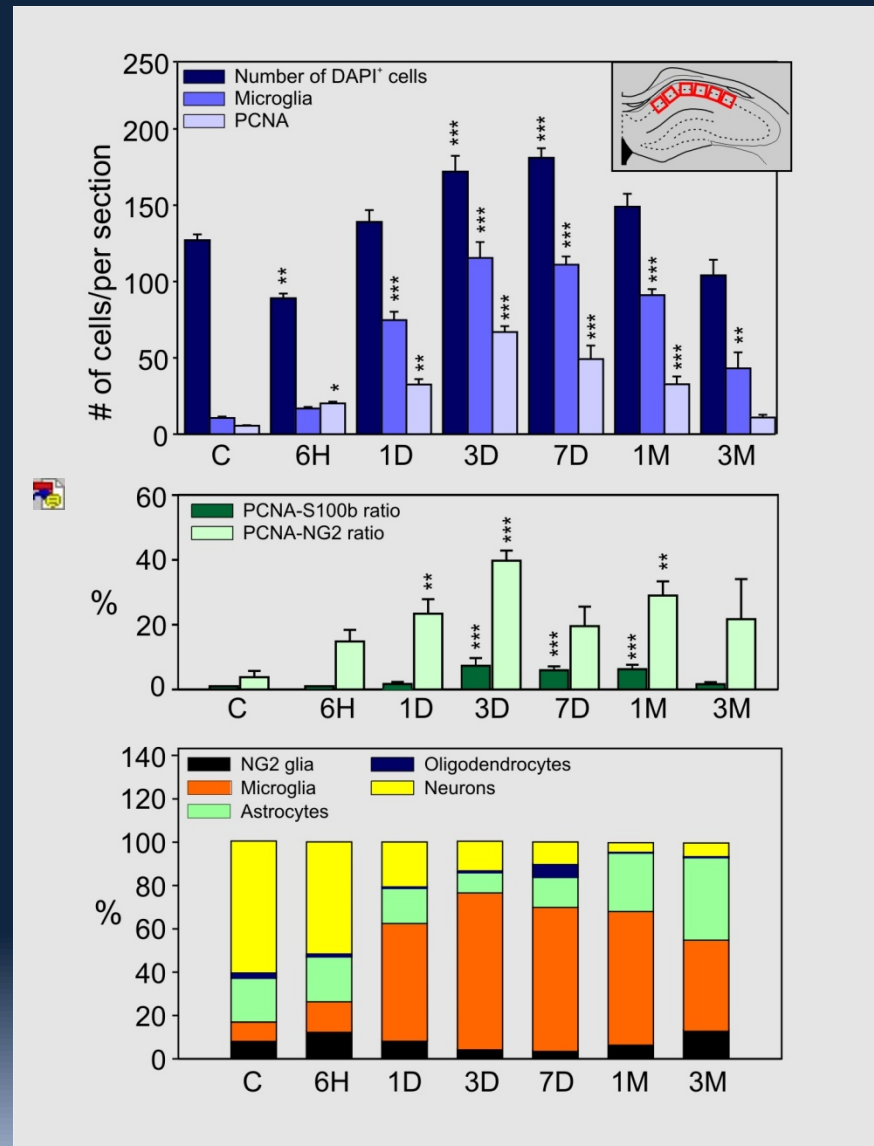
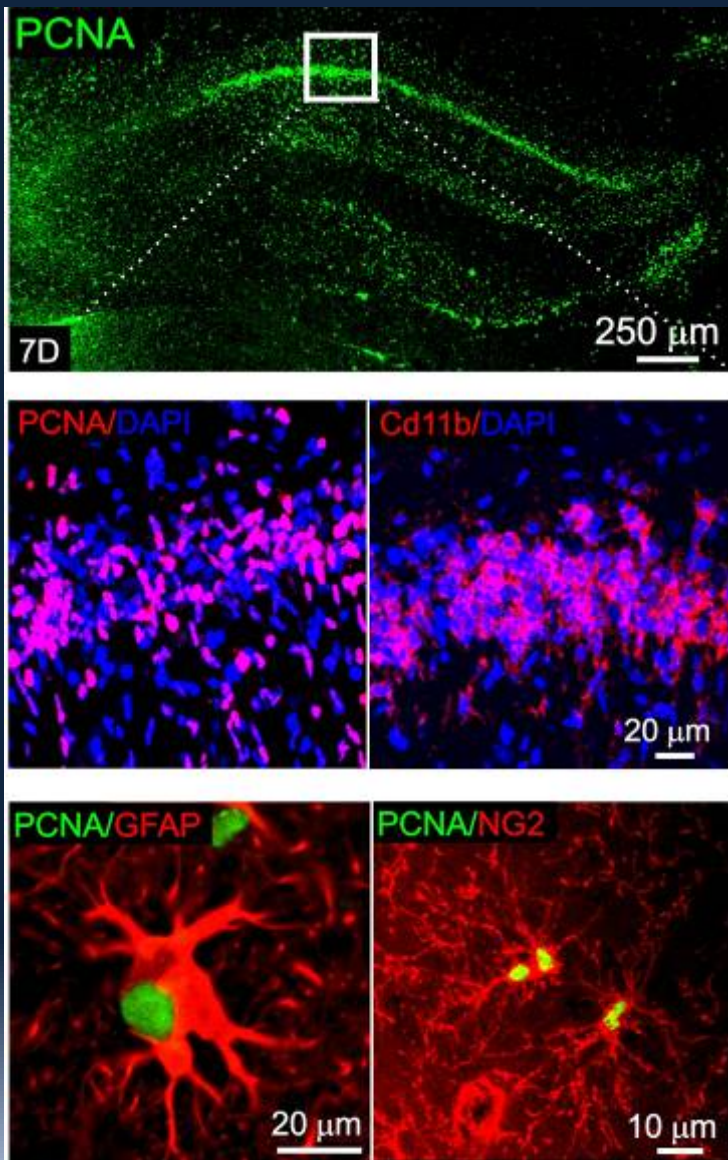
- exprimují markery radiálních glií-vimentin
- v přítomnosti NGF a bFGF –neurosféry
- diferenciace v neurony a oligodendrocyty

Anderova et al., Glia, 2009

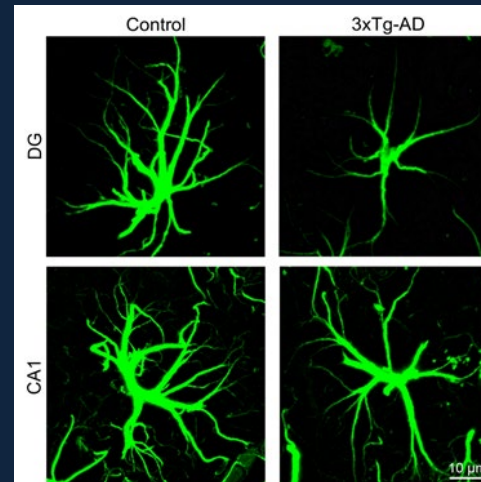
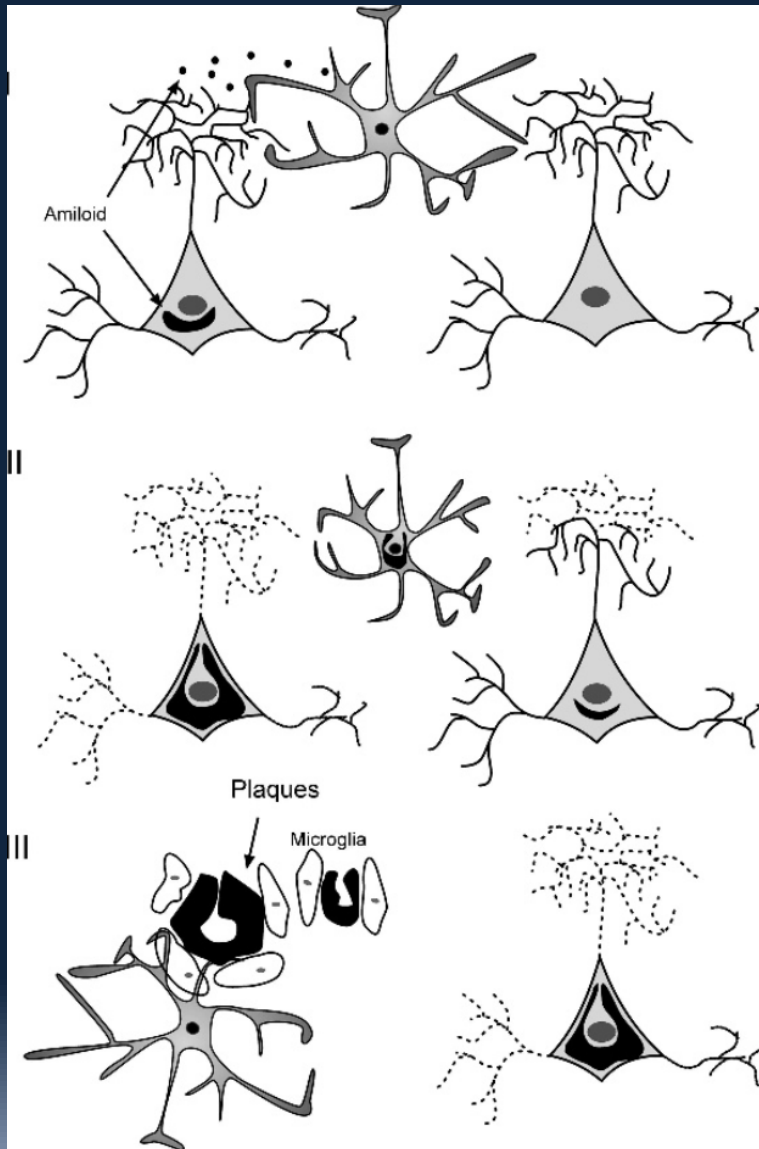


Buffo et al., PNAS, 2007

Proliferace-mikroglíí, NG2 glíí a astrocytů



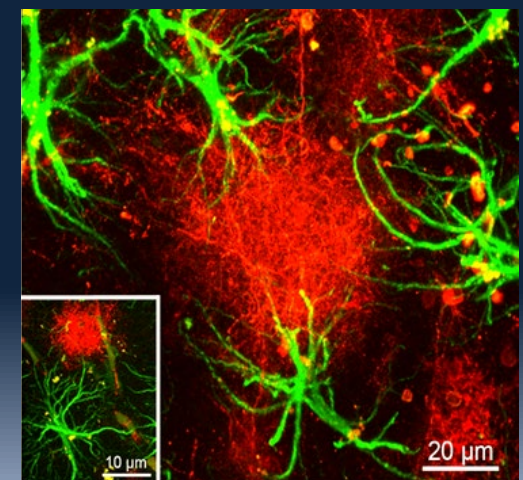
Atrofie astrocytů u myšího modelu Alzheimerovy choroby



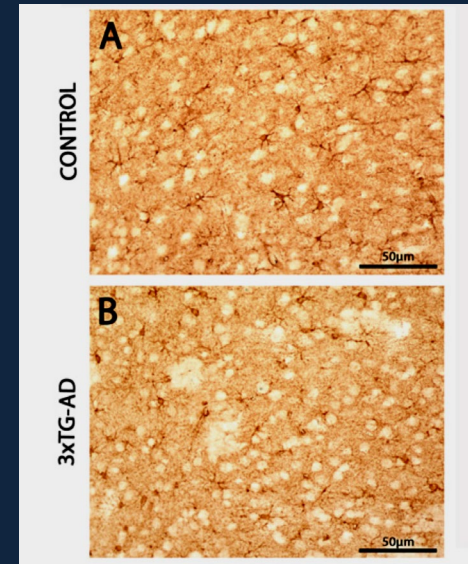
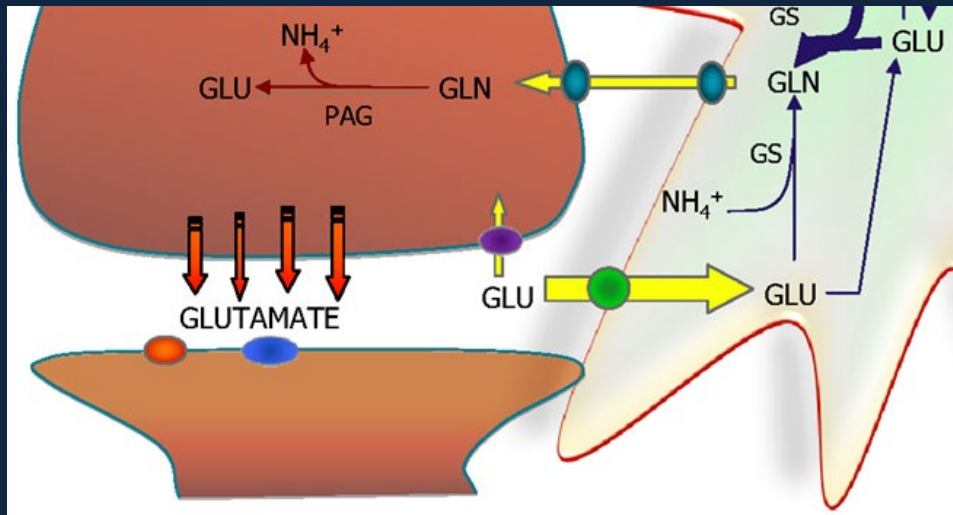
Astrocyty detekují beta-amyloid uvolňovaný neurony, odtažení astrocytárních výběžků od neuronů

Degenerace nervových zakončení v blízkosti atrofovaných astrocytů
Astrocyty akumulují beta-amyloid

Odumírání neuronů a astrocytů,
Aktivace mikroglíí, reaktivní astrocyty- plaky

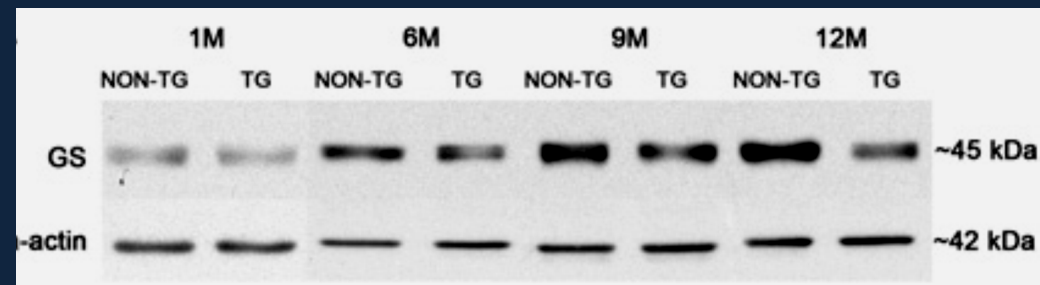


Recyklace glutamátu - Alzheimerova choroba

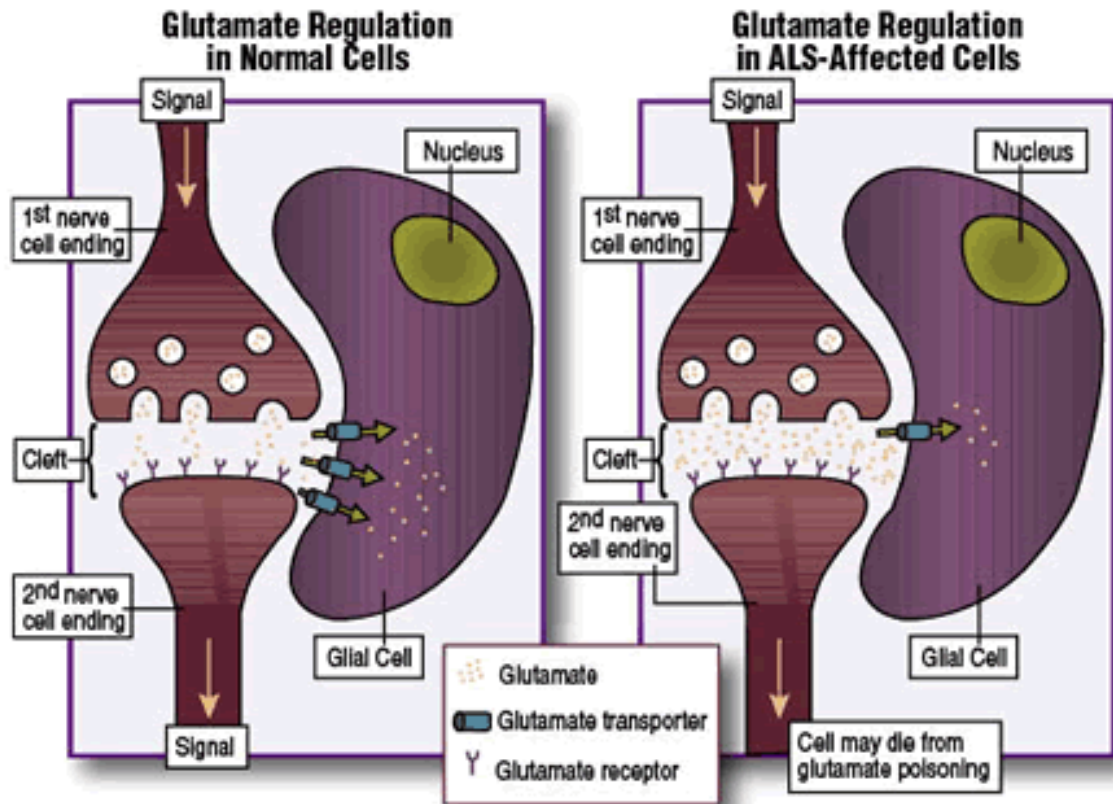


- Transport **Glu** zpět neuronům

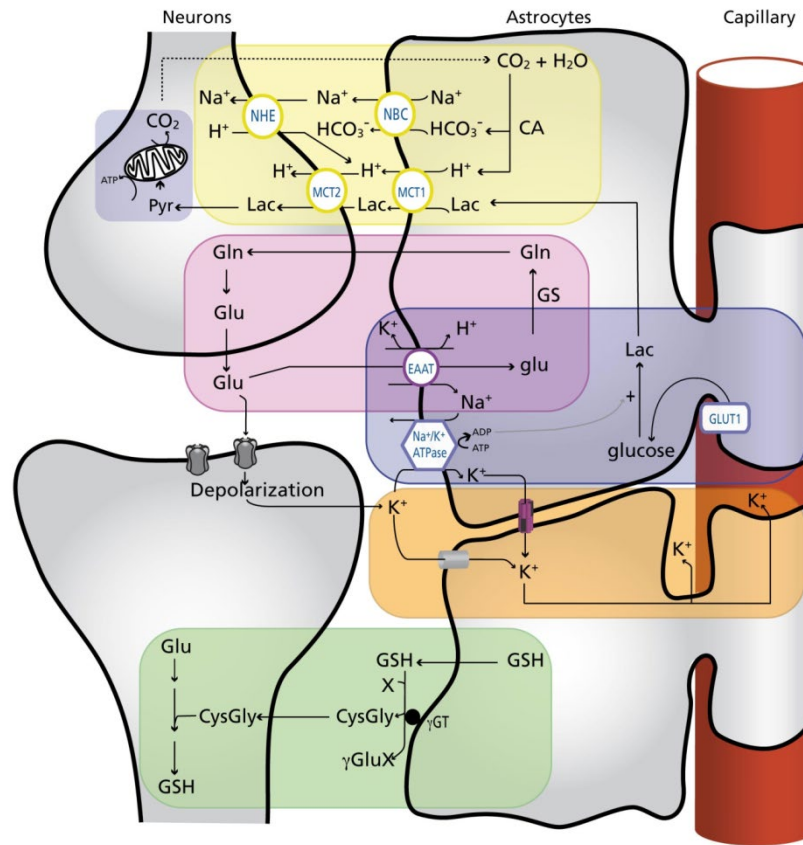
-zabraňuje vyčerpání zásob **Glu** a narušení excitační neurotransmise



Vychytávání glutamátu - ALS



Astrocyty jsou součástí BBB



Homeostáza K⁺,
Glu

Recyklace Glu

Zdroje energie
pro neurony

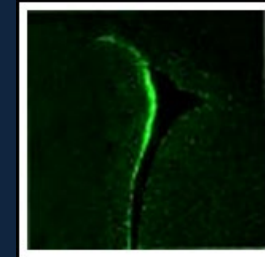
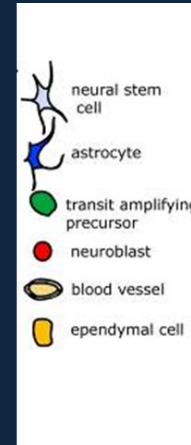
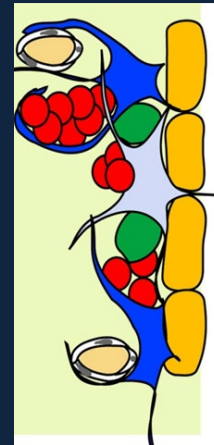
pH homeostáza

Homeostáza vody

Gliomy - původ

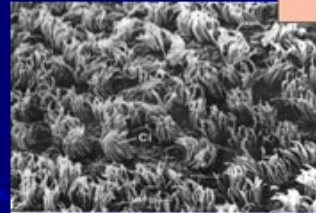
gliální progenitorové buňky

neurální kmenové buňky



ependymové buňky

Ependymové buňky



Prominin1 (CD133)-marker
NSCs, hematopoetických SCs...
S100β

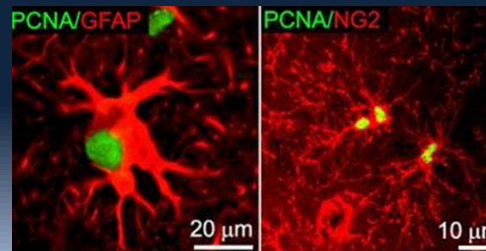
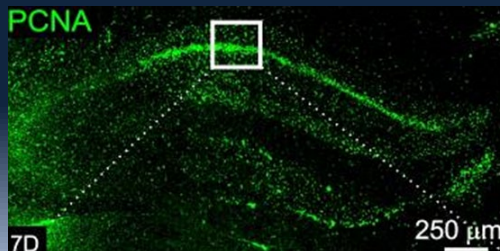
neuroektoderm

tvoří výstelku mozkových komor a
centrálního míšního kanálu

účastní se tvorby mozko-míšního moku

cirkulace a monitorování mozko-míšního
moku - kinocilie (řasinky)

astrocyty, polydendrocyty (zvýšená proliferace po poranění)



Limitace pro růst gliomů v CNS

- nedostatečný prostor -extracelulární prostor ~20% z celkového objemu nervové tkáně
- pevné hranice pro růst - CNS je ohraničen pevnou schránkou (lebka, míšní kanál)
- nemetastázující



Maligní gliomy si kolem sebe vytvářejí prostor
Migrují podél axonů a cév

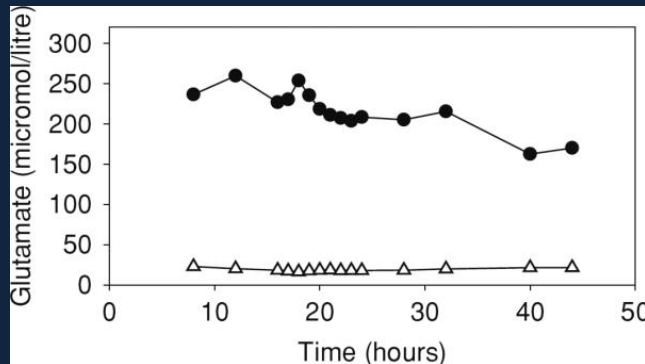
Gliomové buňky uvolňují glutamát do ECP



NMDA a Ca^{2+}
indukovaná
neuronální smrt



Mikrodialýza - Grade IV GBM

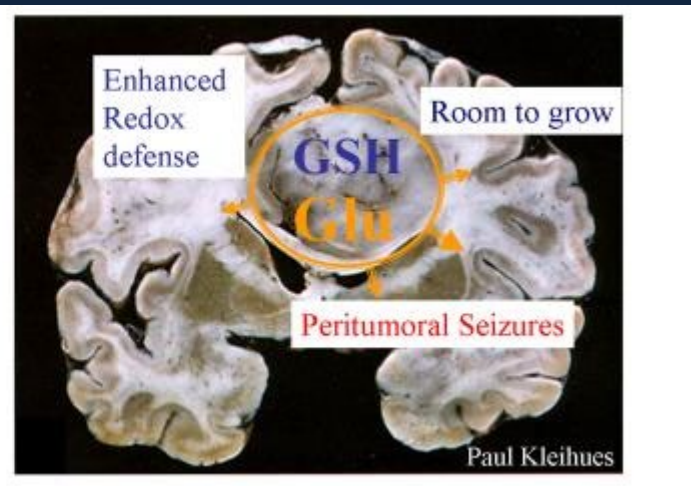
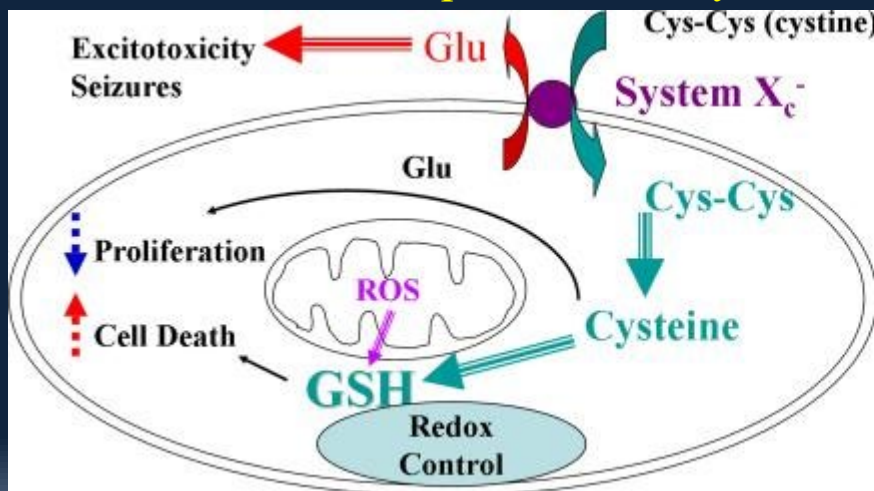


← v blízkosti tumoru

← 2 cm od tumoru

prostor pro další růst gliomu

Electroneutrální transportér aminokyselin



GSH-tripeptid složený z aminokyselin kyseliny glutamové, cysteinu a glyciny –ochrana před oxidačním stresem

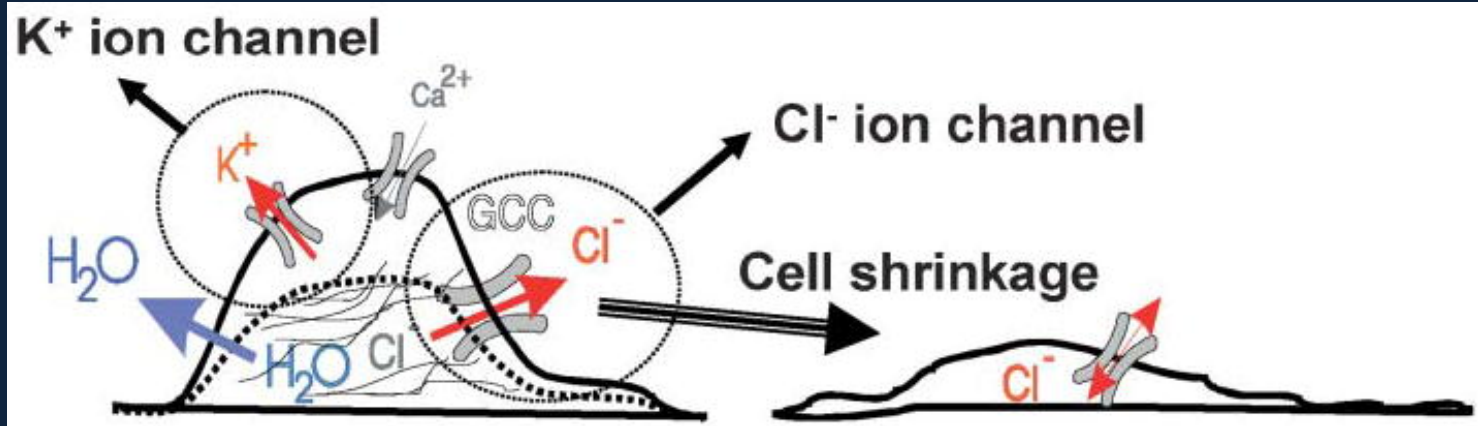
DeGroot and Sontheimer 2011, *Glia* 59(8):1181-9

Migrace gliomů

Zvýšená exprese metaloproteináz MMP2, 9– štěpení molekul ECM, snazší migrace

anti-MMP-2 siRNA - apoptóza gliomových buněk
inhibice MMP-2 - autofagocytóza gliomových buněk

Zmenšení objemu gliomových buněk – protáhlý tvar, snazší migrace v parenchymu



McFerrin and Sontheimer, Neuron Glia Biol. 2006 Feb;2(1):39-49.

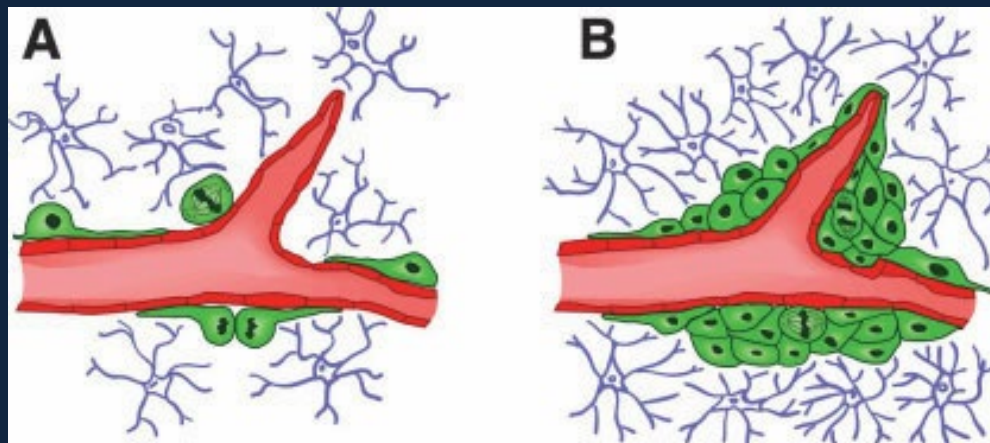
Blokátory ClC3 zamezují expanzi gliomu – ukončena 2. fáze klinického výzkumu, zahájen Trial III

Zvýšené oscilace intracelulárního Ca^{2+} v důsledku aktivace AMPAR

Inhibice AMPAR – omezuje šíření a růst nádoru

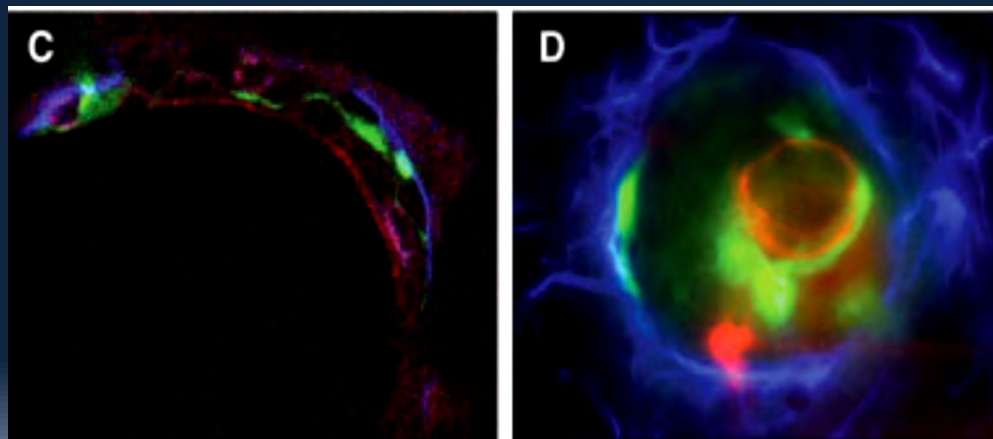
Nádorové buňky v mozku migrují podél cév a axonů

– odstraňují „endfeet“ astrocytů



RECA/GFAP/C6-GFP

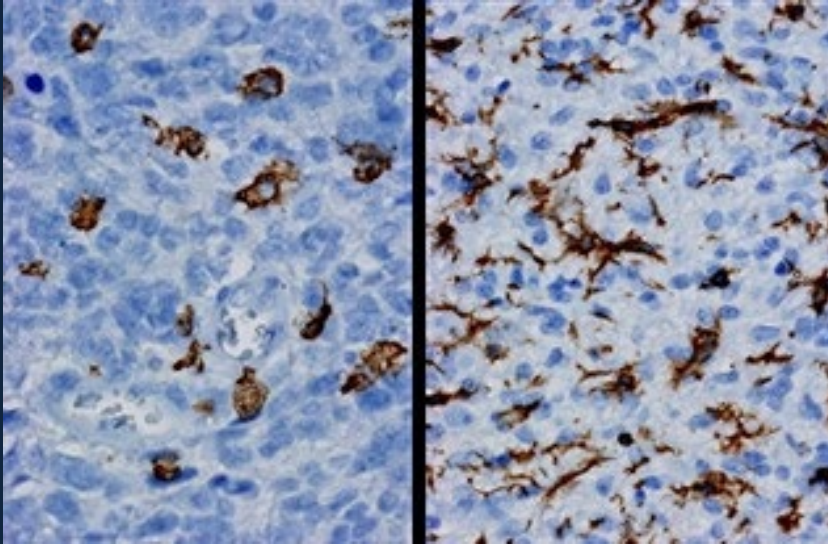
gliomové buňky C6
transplantované do striata
neonatálních (2D) potkanů



Mikroglie a glioblastomy- dialog

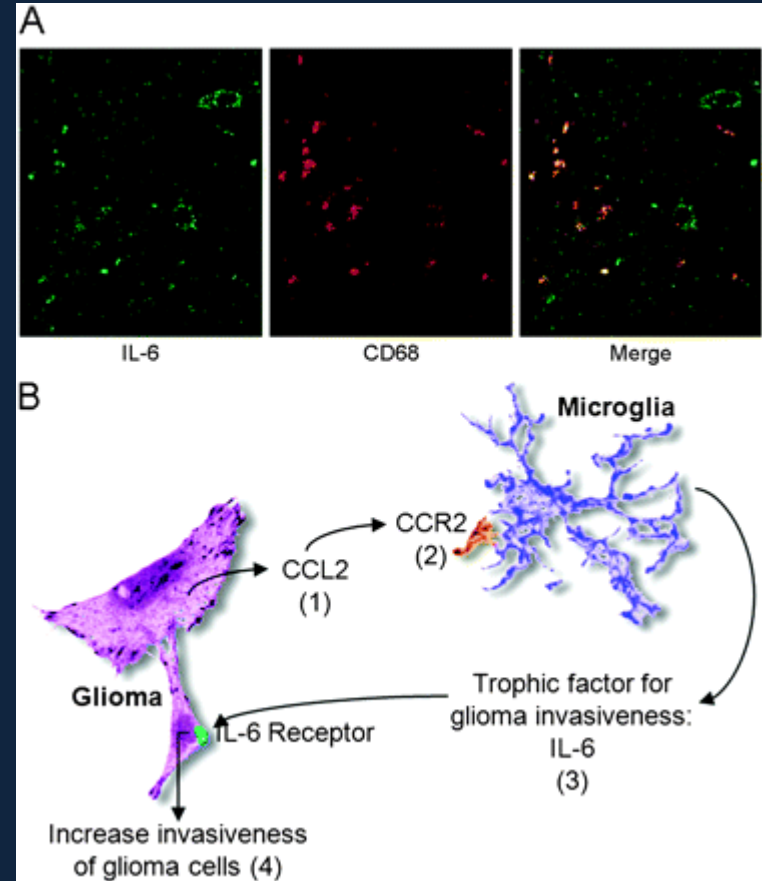
– nádorové buňky přetváří obranné systémy mozku → expanze nádoru

GBM



- až 30% nádoru tvoří mikroglie
- produkce MT1-MMP nebo MMP14
- MT1-MMP max. aktivuje MMP2 gliomů
- usnadňují expanzi nádoru

GBM linie



GBM produkuje CCL2 (Macrophage chemoattractant protein-2), CC Receptor na mikroglíích

Děkuji za pozornost