

## Abstrakt

Po ischemickém poranění dochází k sérii patofyziologických změn, které se projevují výlevem růstových faktorů a morfogenů, které ovlivňují buněčnou proliferaci, migraci a také diferenciaci. Ischemické poškození indukuje neurogenezi a gliogenezi v subventrikulární zóně postranních komor a v gyru dentatu hipokampu, nicméně může probíhat také v oblastech, které nejsou primárně neurogenní, jako je mozková kůra nebo striatum. V poslední době se pozornost obrátila k novému gliálnímu typu, tzv. polydendrocytům neboli NG2 gliím. Za fyziologických podmínek se tyto buňky dělí a jsou schopny dozrávat do dospělých oligodendrocytů, a proto jsou často přirovnávány k prekurzorovým buňkám oligodendrocytů. Ačkoli některé studie ukázaly, že polydendrocyty jsou schopny dozrávat do protoplasmatických astrocytů (Zhu et al., 2008) a neuronů *in vitro* (Belachew et al., 2003), schopnost této diferenciaci za fyziologických či patologických podmínek je stále předmětem diskuze.

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, jaký vliv mají vybrané růstové faktory a morfogeny, konkrétně mozkový neurotrofní faktor (BDNF), bazický růstový faktor fibroblastů (bFGF), vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) a morfogen Sonic hedgehog (Shh), na diferenciační potenciál polydendrocytů *in vitro* po jejich izolaci z nepoškozené mozkové kůry. Dále jsme zjišťovali vliv fokální cerebrální ischemie na diferenciační potenciál polydendrocytů *in vitro*. K těmto pokusům jsme použili transgenní myši kmene B6;FVB – Tg(Cspg4-cre)1Akik/J, u kterých po zkřížení s reportérovou myší dochází k označení polydendrocytů zesíleným zeleným fluorescenčním proteinem (EGFP). Pro indukci fokální cerebrální ischemie byla použita metoda okluze střední mozkové artérie (MCAO). Pro všechny pokusy jsme použili EGFP<sup>+</sup> buňky, které jsme izolovali z mozkové kůry dospělých myší. Po izolaci buněk z nepoškozeného nebo ischemicky poškozeného mozku byly EGFP<sup>+</sup> buňky 4 týdny kultivovány a poté elektrofyziologicky charakterizovány pomocí metody patch clamp v konfiguraci z celé buňky. Změřené buňky byly následně identifikovány imunocytochemicky. Na základě proudových profilů byly EGFP<sup>+</sup> buňky rozděleny do tří typů buněk: pasivního, komplexního a prekurzorového typu buněk. Pasivní typ buněk vykazoval symetrické časově a napětově nezávislé pasivní proudy a nízkou hodnotu vstupního odporu. Komplexní typ buněk vykazoval dovnitř usměrněné K<sup>+</sup> proudy a rychle se aktivující a inaktivující K<sup>+</sup> proudy. Některé z těchto buněk vykazovaly i malý

dovnitř usměrněný  $\text{Na}^+$  proud. Proudový profil prekurzorového typu buněk zahrnoval ven usměrněné  $\text{K}^+$  proudy a u některých buněk také rychle se aktivující a inaktivující  $\text{K}^+$  proudy. Naše výsledky ukázaly, že Shh udržoval  $\text{EGFP}^+$  buňky v prekurzorovém stádiu a také, že jednotlivé faktory ovlivňovaly elektrofyziologické vlastnosti prekurzorového typu buněk, nikoli však komplexního typu buněk. Největší vliv na prekurzorový typ buněk měl faktor bFGF, který depolarizoval klidový membránový potenciál, zvyšoval kapacitanci membrány a proudovou hustotu ven usměrněných  $\text{K}^+$  proudů u těchto buněk. Naproti tomu, MCAO indukovala tvorbu pasivního typu buněk, který se u buněk izolovaných z nepoškozené tkáně objevil pouze pod vlivem faktoru BDNF. Na závěr můžeme shrnout, že faktory BDNF, bFGF, VEGF a morfogen Shh ovlivňují membránové vlastnosti prekurzorového typu buněk a také, že fokální cerebrální ischemie zvyšovala zastoupení pasivního typu buněk, který vznikl z  $\text{EGFP}^+$  polydendrocytů.