

JOLANTA GÓRSKA-ANDRZEJAK

*Uniwersytet Jagielloński
Instytut Zoologii
Zakład Biologii i Obrazowania Komórki
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
E-mail: j.gorska-andrzejak@uj.edu.pl*

CHARAKTERYSTYKA GLEJU *DROSOPHILA MELANOGASTER* – PORÓWNANIE DO GLEJU KRĘGOWCÓW

WSTĘP

Układ nerwowy budują dwa typy komórek, neurony i komórki glejowe. Jeszcze do niedawna uważano, że te drugie pełnią jedynie rolę „spoiwa” (gr. *glia*, klej) oraz drugoplanowe funkcje podporowe, odżywcze i ochronne. Nie przypuszczano, że glej może być także zaangażowany w procesy przekazywania informacji w układzie nerwowym. Dziś, dzięki wynikom najnowszych badań wiemy już, że komórki glejowe odgrywają kluczową rolę tak w rozwoju układu nerwowego (LEMKE 2001, VILLEGAS i współaut. 2003, FREEMAN 2006), jak i jego późniejszym funkcjonowaniu, że wpływają również na proces neurotransmisji. Uwalniając neuroaktywne substancje, tzw. glioprzekaźniki, modulują transmisję synaptyczną neuronów (NEWMAN 2003, JACKSON i HAYDON 2008, HAYDON i współaut. 2008, PEREA i ARAQUE 2010). Te zaskakujące odkrycia zmieniły nasze dotychczasowe wyobrażenia o gleju. Ukazały go w roli partnera wobec neuronów (RANSOM i

RANSOM 2012) i przyczyniły się do zdecydowanego zwiększenia zainteresowania świata nauki komórkami glejowymi (ADLER 2010).

Badania nad glejem prowadzi się zarówno na komórkach glejowych kręgowców, jak i bezkręgowców, choć w tym drugim przypadku prowadzone są one głównie na organizmach modelowych, takich jak muszka owocowa, *Drosophila melanogaster*, czy nicienie, *Caenorhabditis elegans* (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010, OIKONOMOU i SHAHAM 2011). Badanie podstawowych aspektów biologii komórek glejowych jest bez wątpienia łatwiejsze na modelach prostych sieci nerwowych zwierząt bezkręgowych, przy czym należy zdawać sobie sprawę z różnic i podobieństw pomiędzy komórkami glejowymi bezkręgowców i kręgowców. Artykuł ten opisuje typy i podtypy komórek glejowych układu nerwowego *D. melanogaster* i porównuje je do gleju kręgowców.

LICZBA KOMÓREK GLEJOWYCH W UKŁADZIE NERWOWYM

W układzie nerwowym bezkręgowców komórek glejowych jest znacznie mniej niż w strukturach nerwowych kręgowców (HARTLINE 2011). Szacuje się, że u ssaków mogą one stanowić od 50% do 90% wszystkich komórek mózgu (AZEVEDO i współaut. 2009, ROWITCH i KRIEGSTEIN 2010), natomiast u

muszki owocowej tylko 10-20% z 90 000 komórek, które budują centralny układ nerwowy (CUN) (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Udział procentowy komórek glejowych w strukturach nerwowych zależy od budowy układu nerwowego, w przypadku ssaków od budowy i wielkości mózgu (HARTLINE 2011).

UKIERUNKOWANIE NA SZLAK ROZWOJOWY GLEJU

Mechanizm ukierunkowania komórek macierzystych na szlak rozwojowy gleju jest inny u bezkręgowców i kręgowców. U muszki owocowej wydaje się być stosunkowo prosty; do ukierunkowania w glej jest konieczna (i wystarczająca) ekspresja genu regulatorowego *glial cell missing/glial cell deficient (gcm/glide)* i jego homologa *gcm2* (JONES i współaut. 1995, HOSOYA i współaut. 1995, VAN DE BOR i GIANGRANDE 20002). Białkowy produkt tego genu jest czynnikiem transkrypcyjnym występującym niemal we wszystkich typach komórek glejowych *D. melanogaster*. W embrionach mutantów *gcm* (ang. loss-of-function conditions) presumptywne komórki glejowe stają się neuronami. Z kolei w embrionach, u których indukowano ektopową ekspresję *gcm* lub *gcm2* (ang. gain-of-function conditions) zamiast neuronów powstają dodatkowe komórki glejowe (JONES i współaut. 1995, HOSOYA i współaut. 1995, KAMMERER i GIANGRANDE 2001). Gen *gcm* działa zatem jak binarny przełącznik; komórki, w których jest aktywowany różnicują w glej, zaś te, w których nie ulega ekspresji - w neurony (Ryc.1A). Kodowane przez niego białko (Gcm) pełni funkcje regulatorowe wobec genów dalszej części drogi różnicowania komórkowego w glej (EGGER i współaut. 2002, SOUSTELLE i GIANGRANDE 2007). Genami docelowymi dla Gcm i Gcm2 są na przykład *reversed polarity (repo)* (JOHNSON i współaut. 2012), *pointed (pnt)* (KLAES i współaut. 1994) i *tramtrack (ttk)* (BADENHORST 2001). Kodują one białka, które działają synergistycznie z Gcm (YUASA i współaut. 2003). Najlepiej poznanym spośród nich jest czynnik transkrypcyjny Repo (Ryc. 1A). Białkiem tym dysponują niemal wszystkie typy gleju *D. melanogaster*. U mutantów *repo*, komórki fotoreceptorowe oka złożonego reagują na bodźce świetlne nietypową, odwrotną polaryzacją (ang. reversed polarity) odpowiedzi elektrofizjologicznej, ERG. Tego typu odpowiedź jest następstwem niewłaściwego funkcjonowania komórek glejowych płatów wzrokowych (np. zaburzeń w ich zdolności do buforowania jonów potasu, K⁺), spowodowanego błędami różnicowania komórkowego (CHOTARD i SALECKER 2007). Wśród genów docelowych dla Gcm znajdują się także geny kodujące inne czynniki transkrypcyjne, białka sygnalizacji komórkowej, białka będące regulatorami cyklu komórkowego oraz metabolizmu cytoszkieletu, a także enzymy i transportery

komórkowe (SOUSTELLE i GIANGRANDE 2007). Badania nad nimi niewątpliwie pozwolą lepiej zrozumieć molekularny mechanizm różnicowania różnych typów komórek glejowych.

Kodowane przez geny *gcm* czynniki transkrypcyjne są białkami bardzo konserwatywnymi. Znalezione je u rybki Danio pręgowany (*Danio rerio*), u żaby szponiastej (*Xenopus laevis*), kurczęcia, a także myszy, szczura i człowieka (AKIYAMA i współaut. 1996, KIM i współaut. 1998). Początkowo przypuszczano zatem, że geny te biorą udział w procesie ukierunkowania komórek glejowych także u kręgowców. Okazało się jednak inaczej. U ssaków ulegają one ekspresji głównie w łożysku i gruczołach przytarczycznych, natomiast ich ekspresja w układzie nerwowym jest tak słaba, że można ją wykryć jedynie bardzo czułą metodą RT-PCR (KIM i współaut. 1998). Wprawdzie wprowadzenie do fibroblastów w hodowli *in vitro* mysiego *Gcm1* indukuje ekspresję specyficznego dla astrocytów białka S100beta (białko wiążące jony wapnia), a wprowadzenie tego genu do embrionalnych komórek mózgu (*in vitro* i *in vivo*) indukuje powstanie linii komórkowej astrocytów, ale nie zaobserwowano, aby liczba astrocytów znacznie się obniżała (jak można by oczekiwać) w hodowlach komórek mutantów *Gcm1* (ang. Gcm1-deficient) (IWASAKI i współaut. 2003). Tego typu wyniki pozwalają sądzić, że gliogeneza u kręgowców jednak nie zależy od *Gcm*, który w tym przypadku przejawia potencjał do indukcji jedynie małych populacji komórek glejowych.

Badania na kręgowcach wykazały, że mechanizm ukierunkowania neuralnych komórek macierzystych (NKM) w glej jest u tych organizmów o wiele bardziej złożony niż u *D. melanogaster*, gdyż uruchamia go nie jedna, lecz wiele ścieżek sygnalizacyjnych. NKM kręgowców reagują na wiele czynników wewnątrz- oraz zewnątrzkomórkowych (ANDERSON 2001, GÖTZ 2003). Szczególnie dużą rolę odgrywają jednak czynniki transkrypcyjne z domeną bHLH (ang. basic helix-loop-helix) (ZHOU i współaut. 2001, ROSS i współaut. 2003), a także białka z rodziny Sox, z grupy HMG (ang. high-mobility-group) (KIM i współaut. 2003, STOLT i współaut. 2003). W rdzeniu kręgowym kręgowców przejście z neurogenezy w gliogenezę jest regulowane również przez sygnały takie jak SHH (Sonic Hedgehog) czy BMP (Białka Morfogenetyczne Kości) (ROWITCH 2004).

TYPY KOMÓREK GLEJOWYCH

Podstawowa klasyfikacja komórek glejowych ssaków wyróżnia astrocyty, czyli neuroglej gwieździsty, oligodendrocyty, nazywane również glejem skąpowypustkowym, komórki Schwanna, tj. osłonkowe komórki glejowe obwodowego układu nerwowego i mikroglej (KETTENMANN i RANSOM 2005). Mikroglej nazywany jest inaczej mezoglejem, gdyż w odróżnieniu od pozostałych typów gleju (tzw. makrogleju) nie powstaje z neuroektodermy, lecz jest pochodzenia mezodermalnego.

U muszki owocowej także wyróżnia się cztery podstawowe typy komórek glejowych. Charakteryzują się one określoną morfologią oraz lokalizacją w układzie nerwowym. Powierzchnię mózgu *D. melanogaster* pokrywa tzw. glej powierzchniowy (ang. surface glia). W pobliżu ciał komórkowych neuronów rezyduje glej korowy (ang. cortex glia/cell-body-associated glia), natomiast na granicy pomiędzy częścią korową a obszarem neuropilu (pilsni nerwowej) zlokalizowane są ciała komórkowe gleju neuropilu (ang. neuropil glia). Nerwy obwodowego układu nerwowego otacza glej peryferyczny (ang. peripheral glia, nerve-associated glia) (FREEMAN i DOHERTY 2006, STORK i współaut. 2008, EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010, HARTENSTEIN 2011). EDWARDS i MEINERTZHAGEN (2010) dodają do powyższej klasyfikacji także piąty typ - glej skrzyżowań nerwowych (ang. tract glia). Komórki te są zaliczane do gleju neuropilu (HARTENSTEIN 2011), jednak według EDWARDS i MEINERTZHAGENA (2010), specyficzna lokalizacja i wynikająca z niej funkcja (ochrona neurytów biegnących do sąsiednich neuropili) czynią go odmiennym od pozostałych typów gleju.

Przedstawiony powyżej podział jest podziałem ogólnym. Podobnie jak w przypadku gleju kręgowców, tak u *D. melanogaster* wśród wymienionych typów gleju wyróżnia się szereg podtypów (AWASAKI i współaut. 2008, HARTENSTEIN 2011). Na przykład w obrębie gleju powierzchniowego wyróżniono małe i wydłużone komórki gleju perineurium (onerwia) oraz znacznie większe i silnie spłaszczone komórki gleju pod-perineurium (HARTENSTEIN 2011). Wydłużone komórki gleju neuropilu, które leżą na powierzchni neuropilu i go otaczają (ang. ensheating glia), odróżniono od wyraźnie innych komórek tzw. gleju astrocytarnego (ang. astrocyte-like glia/reticular glia), który tworzy wnika-
jące w

głąb neuropilu wypustki z kolcami dendrytycznymi przypominającymi kolce na wypustkach astrocytów (AWASAKI i współaut. 2008).

Z kolei, wśród komórek gleju peryferycznego, który otacza nerwy obwodowe, opisano komórki warstwy perineurium i warstwy pod-perineurium (podobnie jak w gleju powierzchniowym w CUN), a także komórki gleju owijającego (ang. wrapping glia), który bezpośrednio przylega do aksonów (HARTENSTEIN 2011, STORK i współaut. 2008).

Jeszcze bardziej szczegółowa klasyfikacja komórek glejowych *D. melanogaster* uwzględnia ich dokładną lokalizację w strukturach nerwowych (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Na przykład, w leżącym bezpośrednio pod siatkówką oka złożonego, pierwszym płacie wzrokowym zwanym lamina, wyróżniono aż sześć rodzajów gleju (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). W kolejności występowania są to (Ryc.1B): glej fenestralny (ang. fenestrated glia, rodzaj gleju powierzchniowego), glej pseudokartuszy (ang. pseudocatridge glia, rodzaj gleju powierzchniowego), glej satelitarny zewnętrznej części kory (ang. distal satellite glia, rodzaj gleju korowego) i glej satelitarny wewnętrznej części kory (ang. proximal satellite glia, rodzaj gleju korowego), glej epitelialny (ang. epithelial glia, glej zewnętrznej części neuropilu) i glej marginalny (ang. marginal glia, glej wewnętrznej części neuropilu). Przedstawione powyżej typy komórek glejowych muszki owocowej wykazują duże podobieństwo do określonych typów komórek glejowych kręgowców (FREEMAN i DOHERTY 2006) (Tabela 1). Podobieństwo to jest wynikiem specjalizacji do pełnienia określonych funkcji i wykształciło się niezależnie w toku ewolucji (HARTENSTEIN 2011). W dalszej części artykułu przedstawiono porównanie różnych rodzajów gleju *D. melanogaster* do astrocytów, oligodendrocytów, komórek Schwanna i mikrogleju kręgowców.

GLEJ PODOBNY DO ASTROCYTÓW

Astrocyty są najliczniejszą i najbardziej heterogenną populacją komórek glejowych ssaków (OBERHEIM i współaut. 2012, RANSOM i RANSOM 2012). Są to duże komórki (średnica ciała komórkowego 8-15 μm) o nieregularnym, gwieździstym kształcie i bardzo licznych wypustkach. Niektóre z nich są dłuższe

Tabela 1. Porównanie gleju *Drosophila melanogaster* do gleju kręgowców na podstawie lokalizacji i funkcji komórek glejowych w strukturach nerwowych.

Kręgowce	Funkcja	Lokalizacja	<i>D. melanogaster</i>
astrocyty	odżywianie neuronów	w sąsiedztwie ciał komórkowych neuronów	g. korowy
	modulacja przewodnictwa synaptycznego	w miejscach występowania połączeń synaptycznych	g. neuropilu
	tworzenie bariery krew-mózg	na powierzchni CUN	(g. astrocytarny) g. powierzchniowy (g. pod-perineurium)
oligodendrocyty	mielinizacja, otaczanie i troficzne wspomaganie neuronów	CUN	g. neuropilu
mikroglej	odpowiedź immunologiczna, fagocytoza	CUN	g. neuropilu (g. otaczający neuropil) g. powierzchniowy (g. pod-perineurium) pozostałe typy gleju
komórki Schwanna	mielinizacja, otaczanie i wspomaganie nerwów obwodowych	OUN	g. peryferyczny (g. pod-perineurium, g. owijający)

i zakończone charakterystycznym rozszerzeniem zwanym stopką końcową (stopką ssącą), która szczelnie otacza naczynia krwionośne mózgu. Dzięki stopce końcowej astrocyty pobierają z krwi glukozę. Glukoza może być przez nie przekształcana w mleczan i przekazywana neuronom lub też przekształcana w glikogen i w tej postaci przechowywana jako materiał zapasowy (MAGISTRETTI 2009, PARPURA i współaut. 2012, DI NUZZO i współaut. 2012). Astrocyty biorą także udział w tworzeniu bariery krew-mózg (BARRES 2008), w regulacji stężenia jonów potasu (K^+) w środowisku pozakomórkowym (DI NUZZO i współaut. 2012) i w usuwaniu glutaminianu uwolnionego przez zakończenia nerwowe do szczeliny synaptycznej (RANSOM i RANSOM 2012). Najnowsze badania wykazały, że komórki te mogą aktywnie modulować transmisję synaptyczną neuronów, przez co synapsę zaczęto postrzegać jako strukturę trzyczęściową (ang. tripartite synapse). Jej integralnym elementem, obok neuronalnych

zakończeń pre- i postsynaptycznego, stała się także wypustka komórki glejowej (HALASSA i współaut. 2009).

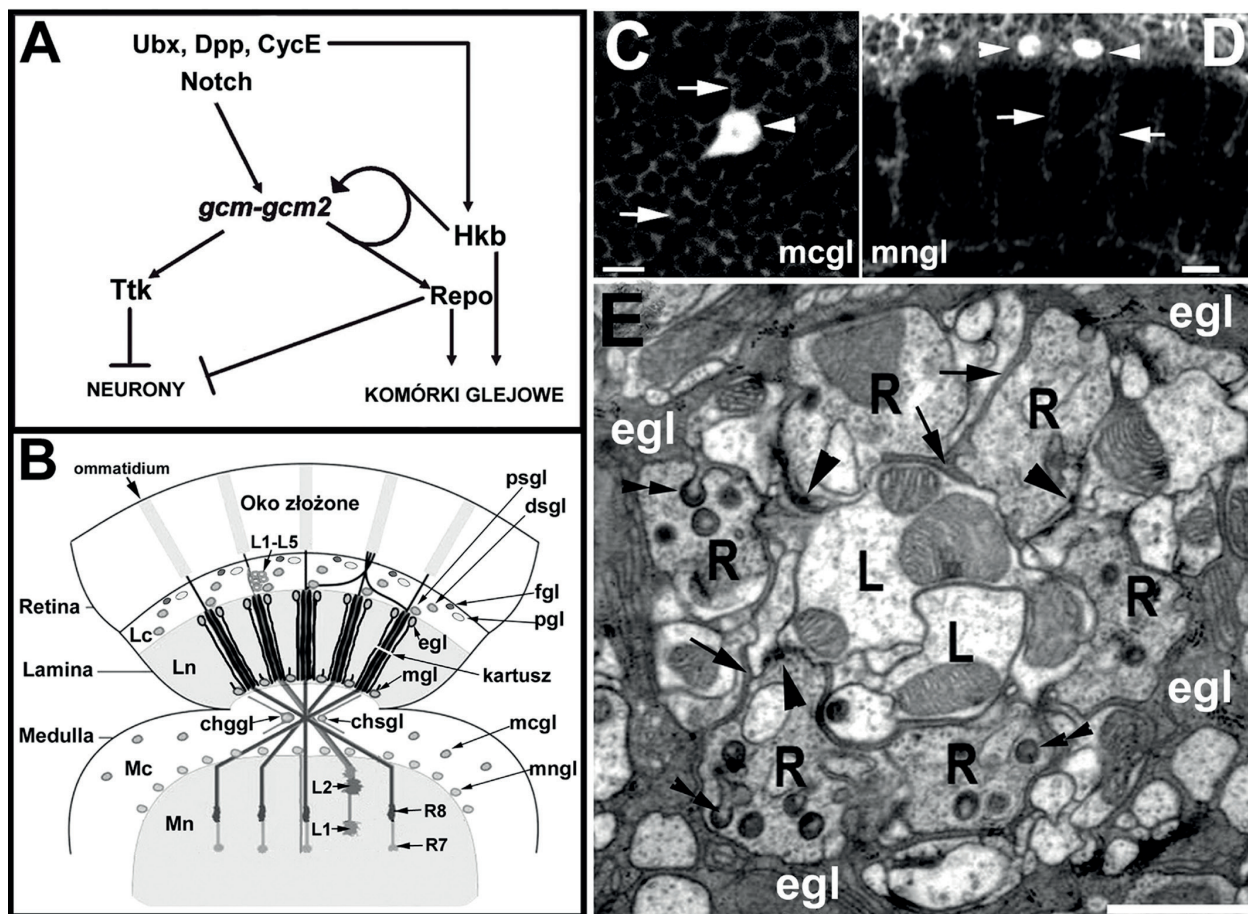
Jak widać, astrocyty pełnią w układzie nerwowym kręgowców bardzo wiele różnorodnych funkcji. W układzie nerwowym muszki owocowej funkcje te podejmuje kilka rodzajów gleju. Przede wszystkim jest to glej korowy, który jest najliczniej reprezentowanym w układzie nerwowym muszki owocowej typem gleju (podobnie jak astrocyty u kręgowców). Już w embriogenezie pełni on funkcje charakterystyczne dla astrocytów lub raczej komórek prekursorowych astrocytów, czyli przejściowej formy gleju zwanej glejem promieniowym (ang. radial glia) (HARTENSTEIN 2011). W rozwijającej się cewie nerwowej, długie wypustki gleju promieniowego stanowią rusztowanie, po którym przemieszczają się migrujące neurony. Również glej korowy *D. melanogaster* charakteryzuje się wydłużonym kształtem na wczesnym etapie rozwoju embrionalnego. Dwubieguno-

we komórki tego gleju rozciągają się od powierzchni mózgu aż do zewnętrznej części neuropilu, czyli przez całą grubość warstwy korowej (PEREANU i współaut. 2005). Budują rusztowanie podobne do tego, jakie tworzy glej promieniowy w cewie nerwowej. Rusztowanie to jest wykorzystywane zarówno przez przemieszczające się podczas rozwoju neurony, jak i wzrastające na późniejszym etapie rozwoju tchawki (PEREANU i współaut. 2005). W dalszej części embriogenezy oraz w toku rozwoju postembrionalnego, wypustki komórek gleju korowego wytwarzają także liczne odgałęzienia boczne, które stabilizują ciała komórkowe neuronów w warstwie korowej i przedłużają drugorzędowe trakty aksonalne (DUMSTREI i współaut. 2003). W dojrzałym układzie nerwowym wypustki jednej komórki glejowej otaczają perykariony kilku neuronów w taki sposób, że tworzą sieć o strukturze przypominającej gąbkę lub plaster miodu (Ryc. 1C) (FREEMAN i DOHERTY 2006, AWASAKI i współaut. 2008). Wypustki te pozostają w ścisłym kontakcie z ciałami komórkowymi poszczególnych neuronów gdyż glej korowy podobnie jak astrocyty występuje w miejscach, gdzie zachodzi wymiana gazowa i docierają substancje odżywcze. Jak wykazały badania z zastosowaniem transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM), błony komórkowe komórek glejowych oraz leżących obok nich neuronów znajdują się bardzo blisko siebie. Pomiedzy błonami komórkowymi widoczne są także liczne połączenia przegrodowe (ang. septate junctions), stanowiące ważny element bariery krew-mózg (ang. brain-blood barrier, BBB) (PEREANU i współaut. 2005). Glej korowy tworzy drugą warstwę tej bariery. Główny jej element, tj. jej najbardziej zewnętrzną warstwę wytwarza natomiast glej powierzchniowy, którego komórki izolują mózg owada od hemolimfy (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Jak wcześniej wspomniano, glej powierzchniowy składa się z dwóch warstw komórkowych. Obydwie one uczestniczą w regulacji przepuszczalności bariery, choć nie pełnią identycznych funkcji (AWASAKI i współaut. 2008). Apikalny glej perineurium, który pokrywa gęsta macierz zewnątrzkomórkowa, tworzy BBB u dorosłych owadów. Jego komórki namnażają się podczas rozwoju postembrionalnego i dopiero w połowie trzeciego (ostatniego) stadium larwalnego jest ich na tyle dużo, że tworzą kompletną warstwę komórkową (AWASAKI i współaut. 2008, EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010, HARTENSTEIN 2011). Z kolei, duże i sil-

nie spłaszczone komórki gleju pod-perineurium wytwarzają rozbudowane połączenia przegrodowe, które uniemożliwiają swobodną dyfuzję jonów i stanowią główny element BBB w układzie nerwowym zarówno larw, jak i owadów dorosłych (PEREANU i współaut. 2005, STORK i współpr. 2008).

Oprócz gleju korowego, funkcje charakterystyczne dla astrocytów pełni w mózgu *D. melanogaster* także część gleju neuropilu (HARTENSTEIN 2011), przede wszystkim glej astrocytarny (Ryc. 1D), którego wypustki wytwarzają kolce dendrytyczne i wnikają głęboko do wnętrza neuropilu (PEREANU i współaut. 2005). Badania z zastosowaniem TEM wykazały, że wypustki te, podobnie jak wypustki astrocytów w układzie nerwowym kręgowców, leżą w bliskim sąsiedztwie synaps (AWASAKI i współaut. 2008). Sytuację taką można zaobserwować w przypadku wspomnianego wcześniej gleju epithelialnego lamina (morfologia neuropilu lamina jest dość dobrze poznana). Glej ten wysyła w głąb neuropilu lamina wypustki, które otaczają grupy aksonów tworzące charakterystyczne kolumny, czyli kartusze (ang. cartridges), będące podstawowymi jednostkami synaptycznymi tego neuropilu (Ryc. 1B, E). Głównymi elementami każdego kartusza są leżące na jego obwodzie zakończenia fotoreceptorów (R1-R6) i umiejscowione w środku aksony interneuronów pierwszego rzędu (L1 i L2, tzw. duże komórki monopolarne), które odbierają od fotoreceptorów informacje świetlne i wzrokowe (Ryc. 1E). Badania mikroskopowe pokazały, że otaczające kartusz komórki gleju epithelialnego wytwarzają cienkie wypustki, które wnikają do wnętrza kartusza, przy czym wnikają nie tylko pomiędzy budujące kartusz aksony i dendryty, ale też do zakończeń aksonalnych fotoreceptorów. Do środka zakończeń fotoreceptorów zagłębiają się ich inwaginacje, zwane strukturami główkowatymi (ang. capitate projections, Cps) (Ryc. 1E). Glej epithialny może też być jednym z czterech elementów postsynaptycznych synaps dominujących w lamina pod względem liczebności, tzw. synaps tetradycznych (Ryc. 1E). Elementy presynaptyczne tych synaps znajdują się w fotoreceptorach (PYZA i GÓRSKA-ANDRZEJAK 2008).

Opisana powyżej organizacja przestrzena wypustek neuronalnych i glejowych w kartuszu uwidacznia bliski kontakt gleju z neuronami i wskazuje na możliwość modulacji neuroprzekaznictwa w kartuszach neuropilu lamina przez glej epithialny. Potwier-



Ryc. 1A. Regulacja ekspresji genów *gcm* i *gcm2* w embrjonalnym układzie nerwowym *Drosophila melanogaster*.

Ekspresja *gcm* i *gcm2* jest regulowana na poziomie transkrypcji przez czynniki takie jak Ultrabithorax (*Ubx*), Decapentaplegic (*Dpp*), Cyclin E (*CycE*), a także Notch. W jej autoregulacji bierze udział czynnik jądrowy Hucklebein (*Hkb*). *Hkb* wchodząc w interakcje z *Gcm*, zwiększa powinowactwo *Gcm* do miejsc wiązania na promotorze jego własnego genu, co warunkuje utrzymanie wysokiego poziomu jego transkrypcji (IACO i współaut. 2006). Aktywacja przez *Gcm* i *Gcm2* genu kodującego czynnik transkrypcyjny *Repo* uruchamia różnicowanie w kierunku komórek glejowych. Różnicowanie w kierunku neuronów jest hamowane za pomocą białka posiadającego domenę palcy cynkowych, Tramtrack (*Ttk*), a także za pomocą *Repo* (wg SOUSTELLE i GIANGRANDE 2007).

Ryc. 1B. Typy komórek glejowych w pierwszym (lamina) i drugim (medulla) neuropilu wzrokowym *D. melanogaster*.

fgl – glej fenestralny, pgl – glej pseudokartuszy, dschl – glej satelitarny zewnętrznej części kory lamina, psgl – glej satelitarny wewnętrznej części kory lamina, egl – glej epitelialny, mgl – glej marginalny, chsgl – małe komórki skrzyżowania wzrokowego (ang. small chiasm glia), chgggl – duże komórki skrzyżowania wzrokowego (ang. giant chiasm glia), mcgl – glej korowy medulla (ang. medulla cortex glia), mngl – glej neuropilu medulla (ang. medulla neuropil glia). Strzałki wskazują lokalizację ciał komórkowych tych komórek. W przypadku gleju neuropilu (egl, mgl, mngl) zaznaczono także lokalizację wypustek. Retina – siatkówka oka złożonego, Lc – część korowa lamina, Ln – neuropil lamina, Mc – część korowa medulla, Mn – neuropil medulla, L1-L5 – ciała komórkowe interneuronów monopolarnych lamina, L1, L2 – zakończenia nerwowe interneuronów L1 i L2 w medulla, R7, R8 – zakończenia nerwowe fotoreceptorów R7 i R8, tzw. fotoreceptorów długich, w medulla. Pozostałe komórki fotoreceptorowe (R1-R6) mają swoje zakończenia w części wewnętrznej neuropilu lamina, w rejonie gleju mgl (zmienione za CHOTARD i SALECKER 2007).

dzają to badania, w których wykazano, że komórki tego gleju wpływają na aktywność komórek monopolarnych, postsynaptycznych dla fotoreceptorów (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Uwalniając neurotransmitter histaminę, fotoreceptory aktywują na błonie komórkowej tych neuronów zależne od histaminy kanały chlorkowe Ort (HCIA, HisCl2), co prowadzi do hiperpolaryzacji ich błony postsynaptycznej. Zależne od histaminy kanały chlorkowe znajdują się jednak nie tylko na błonach postsynaptycznych komórek monopolarnych, lecz także na błonach komórek glejowych, przy czym glejowe kanały chlorkowe są kodowane przez inny gen, *hclB/hisCl1*. Już sama obecność tego typu kanałów na gleju pozwala przypuszczać, że odgrywa on rolę w modulowaniu odpowiedzi postsynaptycznej komórek monopolarnych. Potwierdza to jednak także zapis elektretinogramu (ERG) mutantów genu *hisCl1*. Zapis ten różni się od ERG muszek typu dzikiego, co oznacza, że zaburzenia działania kanałów chlorkowych gleju epitelialnego indukują zmiany w odpowiedzi komórek monopolarnych (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010).

Uwolniona z R1-R6 histamina jest wychwytywana ze szczeliny synaptycznej przez fotoreceptory lub komórki glejowe. Przypuszcza się, że w ciągu dnia, gdy zachodzi szybkie uwalnianie histaminy, może być wychwytywana zarówno przez fotoreceptory, jak i przez glej, natomiast w nocy, tylko przez komórki gleju epitelialnego (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Glej epitelialny dysponuje białkiem Ebony, tj. syntetazą β -alaniny I (RICHARDT i współaut. 2002), która przekształca histaminę w jej nieaktywną pochodną, czyli karcyninę

(β -alanil-histamina). Z kolei, zakończenia fotoreceptorów dysponują peptydazą cysteiny (Tan), innym, kluczowym w metabolizmie histaminy enzymem. Jego aktywność w zakończeniach fotoreceptorów umożliwia uzupełnianie zasobów histaminy poprzez hydrolizę karcyniny (WAGNER i współaut. 2007). Mechanizm wahadłowego transportu histaminy i karcyniny pomiędzy fotoreceptorami a komórkami glejowymi nie jest jeszcze poznany (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010), jednakże sam fakt, że komórki glejowe i fotoreceptory dysponują enzymami zajmującymi centralne funkcje w metabolizmie histaminy (Ebony i Tan) stanowi poważną przesłankę ku temu, aby przypuszczać, że transport ten ma miejsce. We wspomnianych wcześniej strukturach główkowatych gleju wykryto obecność klatryny i endofiliny (ang. endophilin, Endo), białek zaangażowanych w endocytozę (FABIAN-FINE i współaut. 2003). Występowanie w strukturach główkowatych klatryno-zależnej endocytozy sugeruje, że tam właśnie fotoreceptory mogą odzyskiwać (ang. reuptake) histaminę w postaci karcyniny (FABIAN-FINE i współaut. 2003, EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010).

GLEJ PODOBNY DO OLIGODENDROCYTÓW

Oligodendrocyty są komórkami znacznie mniejszymi od astrocytów (średnica ciała komórkowego 6–8 μm). Ich cechą charakterystyczną jest to, że wytwarzają wypustki, które owijają aksony neuronów centralnego układu nerwowego tworząc izolujące osłonki zwane osłonkami mielinowymi. Jeden oligodendrocyt wytwarza kilka wypustek i może tworzyć osłonki na kilku sąsiadujących ze sobą aksonach.

Ryc. 1C. Morfologia gleju korowego.

Komórka gleju *mcgl* muszek transgeniczných REPO-GAL4-UAS-S65T-GFP, charakteryzujących się ukierunkowaną ekspresją reporterowego białka zielonej fluorescencji (GFP) w komórkach glejowych. GFP znakuje ciało i jądro komórkowe (grot strzałki) oraz sieć wypustek (strzałki) w kształcie plastra miodu. Skala: 5 μm .

Ryc. 1D. Morfologia gleju neuropilu.

Komórki gleju *mngl* muszek transgeniczných REPO-GAL4-UAS-S65T-GFP. Od ciał komórkowych (groty strzałek) odchodzą długie wypustki wnikaające w głąb neuropilu (strzałki). Skala: 5 μm .

Ryc. 1E. Mikrofotografia z mikroskopu elektronowego transmisyjnego (TEM) przedstawiająca kartusz optyczny neuropilu lamina w przekroju poprzecznym.

Znajdujące się w środkowej części kartusza aksony interneuronów L1 i L2 (L) otocza sześć zakończeń fotoreceptorów krótkich R1-R6 (R), natomiast cały kartusz (zawierający także inne, mniejsze wypustki) otaczają komórki gleju epitelialnego (*egl*). Wewnątrz aksonów fotoreceptorów widoczne są liczne inwaginacje gleju do zakończeń fotoreceptorów, tzw. struktury główkowate (podwójne groty strzałek), a także cienkie wypustki *egl* wnikaające pomiędzy wypustki neuronów (strzałki). W fotoreceptorach zlokalizowane są elementy presynaptyczne synaps tetradycznych (ang. T – bars), w postaci tzw. stoliczków (groty strzałek). Skala: 1 μm .

Duże podobieństwo do oligodendrocytów wykazuje u muszki owocowej glej neuropilu (PEREANU i współaut. 2005). Podobieństwo to jest widoczne już na etapie rozwoju układu nerwowego, gdyż komórki prekursorowe gleju neuropilu, podobnie jak komórki prekursorowe oligodendrocytów, migrują na znaczne odległości (AWASAKI i współaut. 2008, VALLSTEDT i współaut. 2005), przy czym w odróżnieniu od innych rodzajów gleju preferują wówczas podłoże aksonalne (DEARBORN i KUNES 2004). Komórki, które posiadają receptor *Unc-5* podczas migracji oddalają się od miejsc bogatych w netryny. Także komórki prekursorowe oligodendrocytów w nerwie wzrokowym ssaków oddalają się od skrzyżowania optycznego na skutek ujemnej reakcji na Netrynę-1 (FREEMAN i DOHERTY 2006).

Ważną cechą gleju neuropilu, upodabniającą go do oligodendrocytów kręgowców jest to, że jego wypustki otaczają aksony neuronów. Nie wytwarzają one wprawdzie mieliny (komórki glejowe bezkręgowców nie wytwarzają osłonek mielinowych, a w genomie muszki owocowej nie znaleziono genów ortologicznych, czyli genów o takiej samej lub zbliżonej funkcji, co geny kodujące białka mieliny), niemniej jednak tworzą ciasno zwinięte błony (także i wielowarstwowe), które otaczają aksony neuronów. Błony te izolują aksony i usprawniają przewodnictwo impulsów nerwowych wzdłuż aksonów (FREEMAN i DOHERTY 2006, HARTENSTEIN 2011). U mutanta muszki owocowej *swiss cheese (sws)* funkcja ta jest zaburzona i komórki glejowe tworzą wypustki, które zbyt wiele razy owijają się wokół aksonów, a także ciał komórkowych neuronów (KRETZSCHMAR 2009).

Zadaniem gleju neuropilu jest także oddzielenie neuropilu od części koryowej i tworzenie w jego obrębie różnego typu przedziałów. Oprócz tego, z glem tym kontaktują się wnikające do neuropilu tchawki układu oddechowego. Tracheole, czyli dochodzące do komórek oddechowych wąskie rurki na zakończeniu tchawek, są otaczane albo przez wypustki gleju i neuronów, albo wyłącznie przez wypustki gleju. Wydaje się, że glej ten stanowi rusztowanie dla tracheoli, gdyż podczas rozwoju neuropilu jako pierwsze pojawiają się komórki glejowe, a dopiero później tracheole, które w glej ten wrastają (PEREANU i współaut. 2005).

GLEJ PODOBNY DO KOMÓREK SCHWANNA

W nerwach obwodowych kręgowców, osłonkę mielinową wokół aksonów neuronów czuciowych i ruchowych tworzą komórki Schwanna. Tworzona przez tzw. mezoakson (rodzaj pseudopodium) komórki glejowej osłonka owija się wielokrotnie wokół mielinizowanego neurytu. Osłonka ta w regularnych odstępach traci swoją ciągłość tworząc wąskie, nieotulone przerwy zwane przewężeniami Ranviera. Obecność osłonki mielinowej usprawnia proces przewodzenia impulsu nerwowego (przeskakującego od przewężenia do przewężenia – przewodnictwo skokowe), czyli rozchodzenia się potencjału czynnościowego wzdłuż zmielinizowanego włókna.

Odpowiednikiem komórek Schwanna jest u *D. melanogaster* glej peryferyczny. Glej ten również nie wytwarza osłonek mielinowych, ale podobnie jak komórki Schwanna tworzy wypustki, którymi otacza nerwy obwodowe (LEISERSON i współaut. 2000, PARKER i AULD 2006). Jak już wspomniano, tworzy on trzy warstwy komórkowe: warstwę gleju perineurium, gleju pod-perineurium (obecne także w gleju powierzchniowym) i gleju owijającego. O ile budujący pierwszą z tych warstw glej perineurium nie wydaje się być niezbędny dla funkcji neuronalnych (HARTENSTEIN 2011), to leżące poniżej komórki gleju pod-perineurium pełnią bardzo istotne funkcje. Podobnie jak w CUN, wytwarzają one liczne połączenia przegrodowe (BANERJEE i współaut. 2006) i tworzą barierę między hemolimfą a nerwami obwodowymi. Co ciekawe, wytwarzane przez glej pod-perineurium połączenia przegrodowe mają podobną budowę molekularną jak połączenia w komórkach Schwanna (DANEMAN i BARRES 2005, HARTENSTEIN 2011). Do komórek Schwanna porównywany jest także glej trzeciej, najbardziej wewnętrznej warstwy gleju peryferycznego, czyli glej owijający. Jest on funkcjonalnie podobny do komórek Schwanna ze względu na to, że wchodzi w bezpośredni kontakt z aksonami. Tak jak u kręgowców komórki Schwanna w OUN są odpowiednikiem oligodendrocytów w CUN, tak u *D. melanogaster* glej owijający w OUN jest odpowiednikiem gleju neuropilu w CUN.

Dotychczasowe badania wykazały także, że glej OUN u *D. melanogaster* i kręgowców jest kluczowym regulatorem powstawania nerwów obwodowych. Usunięcie gleju zaburza proces fascykulacji, czyli łączenia się aksonów w pęczki i wywołuje powstawa-

nie znacznych defektów w budowie nerwów (GILMOUR i współaut. 2002, FREEMAN i DOHERTY 2006). Mechanizmy komórkowe powstawania nerwów obwodowych u tych organizmów są bardzo podobne. W embrionach *D. melanogaster* i kręgowców, komórki gleju obwodowego migrują do miejsc, gdzie aksony wyrastają poza CUN, po czym towarzyszą im podczas dalszego wzrostu. W rozwoju OUN *Danio rerio* komórki gleju obwodowego migrują wzdłuż aksonów jedna za drugą, w postaci łańcuszka komórek, nigdy jednak nie wyprzedzając stożków wzrostu aksonów. Gdy aksony zmieniają kierunek wzrostu, glej zmienia kierunek migracji, gdy aksony przestają rosnać, komórki glejowe zatrzymują się. Charakterystyczne jest również to, że komórki glejowe wiodące migrację (tylko te komórki) wykazują niezwykle dynamiczne zmiany cytoszkieletu, a co za tym idzie, morfologii. Aktywnie badają swoje otoczenie za pomocą długich i licznych filopodiów. U *D. melanogaster* dynamika interakcji międzykomórkowych podczas tworzenia nerwów obwodowych jest bardzo podobna. Wypustki aksonalne neuronów motorycznych opuszczają CUN przechodząc przez mały klaster komórek gleju peryferycznego usytuowanego w strefie przejściowej między CUN a OUN. Należące do tej grupy komórki glejowe wykazują dynamiczne zmiany cytoszkieletu aktywnego podczas migracji wzdłuż aksonów, przy czym tak jak u kręgowców, zmiany te są charakterystyczne tylko dla „liderów” migracji, nie zaś komórek, które za nimi podążają (SEPP i współaut. 2001, SEPP i AULD 2003).

Tworzenie nerwów obwodowych u *D. melanogaster* i kręgowców wykazuje także podobieństwo na poziomie molekularnym. Wykazywanie przez glej peryferyczny ekspresji specyficznych genów, warunkujące wytwarzanie wypustek, otaczanie aksonów, a także łączenie ich w pęczki, następuje na skutek aktywacji ścieżki sygnałowej receptora dla nabłonkowego czynnika wzrostu (ang. epidermal growth factor receptor, EGFR) (SEPP i AULD 2003). Podobna sygnalizacja (z ErbB – ssaczy EGFR) jest odpowiedzialna za wywołanie reakcji charakterystycznych dla procesu fasykulacji i mielinizacji w komórkach Schwanna ssaków lub *Danio rerio* (LYONS i współaut. 2005, FREEMAN i DOHERTY 2006).

GLEJ PODOBNY DO MIKROGLEJU

Mikroglej (glej Hortegi) pełni w CUN kręgowców przede wszystkim funkcje im-

munologiczne. Są to małe (średnica ciała komórkowego w stanie spoczynku ok. 4 μm), fagocytarne komórki pochodzenia hematopoetycznego. Mają one postać typowych makrofagów, które namnażają się w stanach zapalnych lub w przypadku lokalnego uszkodzenia tkanki nerwowej. Komórki te są zdolne do prezentowania antygeny limfocytom T, odgrywają więc ważną funkcję w inicjacji odpowiedzi immunologicznej. Najnowsze badania wykazały także wpływ aktywacji mikrogleju na rozwój bólu chronicznego, jak również powstawanie i utrzymanie połączeń synaptycznych (ADLER 2010, GRACE i współaut. 2011, TRANG i współaut. 2012, SCHAFER i współaut. 2012).

Wśród komórek glejowych *D. melanogaster* w zasadzie brak jest takiego rodzaju gleju, który jako jedyny, na wzór mikrogleju, pełniłyby funkcje immunologiczne (FREEMAN i DOHERTY 2006). Zaobserwowano, że w czasie rozwoju układu nerwowego *D. melanogaster*, ciała komórkowe neuronów apoptycznych są otaczane i fagocytowane przez różne rodzaje komórek glejowych (FREEMAN i DOHERTY 2006), przy czym bardzo często jest to glej pod-perineurium, a jego zachowanie przypomina zachowanie mikrogleju w CUN kręgowców (SONNENFELD i JACOBS 1995). Z kolei, w dojrzałym układzie nerwowym muszki owocowej funkcje typowe dla mikrogleju pełni najczęściej glej neuropilu, który usuwa degenerujące lub uszkodzone wypustki neuronalne (ang. axon pruning) (AWASAKI i ITO 2004, DOHERTY i współaut. 2009). U mutantów *retinal degeneration (rdgA i rdgB)* zakończenia nerwowe degenerujących fotoreceptorów w kartuszkach neuropilu lamina, są fagocytowane przez otaczający te kartusze glej epitelialny. Po kilku lub kilkunastu dniach (w zależności od rodzaju mutacji) od wyjścia z poczwarki, w kartuszkach pierwszego neuropilu wzrokowego muszki obserwuje się bardzo wyraźne zmiany neurodegeneracyjne - powiększone komórki glejowe zajmują miejsca, w których poprzednio znajdowały się wypustki fotoreceptorów (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Degeneracja neuronów indukuje w sąsiadujących z nimi komórkach glejowych znaczne zmiany morfologii oraz zmiany ekspresji genów (EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Komórki te nie tyle migrują do miejsc postępującej neurodegeneracji, co wytwarzają długie wypustki, którymi docierają do miejsc uszkodzenia. Zmianom morfologii towarzyszą zmiany w ekspresji genów. Przede wszystkim obserwuje się podwyższe-

nie poziomu ekspresji transbłonowego białka Draper (DRPR), homologicznego do warunkującego opłaszczanie obumierających komórek białka CED-1 u *Caenorhabditis elegans* (FREEMAN i współaut. 2003). Poziom ekspresji DRPR utrzymuje się na wysokim poziomie dopóki degenerujące aksony nie zostaną usunięte. U mutantów *drpr*, aksony takie nie są usuwane i nie obserwuje się charakterystycznych zmian w morfologii gleju (MAC DONALD i współaut. 2006, EDWARDS i MEINERTZHAGEN 2010). Innym genem, który ulega ekspresji w fagocytyujących komórkach glejowych jest gen *six microns under (simu)*. Podczas roz-

woju układu nerwowego jest on aktywowany w komórkach glejowych podobnie jak w typowych, intensywnie fagocytyujących makrofagach. Koduje on białko receptorowe SIMU, dzięki któremu komórki glejowe odnajdują komórki apoptotyczne. SIMU należy do tej samej rodziny białek co DRPR czy CED-1 i wchodzi w skład ścieżki sygnałowej DRPR, przy czym działa w górnej części tej ścieżki. SIMU umożliwia rozpoznawanie i opłaszczanie neuronów apoptotycznych przez komórki glejowe, podczas gdy DRPR aktywuje degradację tych neuronów (KURANT i współaut. 2008).

PODSUMOWANIE

Drosophila melanogaster okazała się być bardzo przydatnym modelem badawczym w badaniach nad rozwojem i funkcją różnorodnych typów gleju. Jak wynika z dotychczasowych badań, komórki glejowe *D. melanogaster* wykazują znaczne podobieństwo do odpowiednich typów gleju kręgowców, które niejednokrotnie uwidacznia się już na etapie rozwoju układu nerwowego. Glej muszki owocowej, podobnie jak glej ssaków, wydaje się być aktywnym uczestnikiem wszelkich

procesów nerwowych, a 80% genów muszki ulegających ekspresji specyficznemu w gleju ma swoje ssacze homologi (FREEMAN i współaut. 2003). Biorąc pod uwagę ogromne możliwości „genetyki *Drosophila*”, rozumianej jako zespół metod wywołujących z bardzo dużą skutecznością ukierunkowane zmiany w ekspresji genów organizmu *in vivo*, dostrzegamy ogromny potencjał dalszych badań nad glejem z wykorzystaniem tego modelu.

CHARAKTERYSTYKA GLEJU DROSOPHILA MELANOGASTER – PORÓWNANIE DO GLEJU KRĘGOWCÓW.

Streszczenie

W układzie nerwowym muszki owocowej, *Drosophila melanogaster* liczba komórek glejowych w stosunku do liczby neuronów jest znacznie mniejsza niż w układzie nerwowym kręgowców. Mechanizm ukierunkowania komórek macierzystych na szlak rozwojowy gleju także jest inny, jednakże podobnie jak u kręgowców, populacja komórek glejowych *D. melanogaster* jest populacją heterogenną. W jej skład wchodzi cztery podstawowe typy komórek wyspecjalizowane do pełnienia różnych funkcji. Jest to glej powierzchniowy, glej korowy i glej neuropilu w centralnym układzie nerwowym (CUN), oraz glej

peryferyczny w obwodowym układzie nerwowym (OUN). Pod względem morfologii i funkcji komórki te wykazują duże podobieństwo do odpowiednich typów komórek glejowych kręgowców. Podobieństwo to powstało niezależnie w toku ewolucji, w wyniku specjalizacji do pełnienia określonych funkcji. W niniejszym artykule przedstawiono porównanie poszczególnych typów i podtypów komórek glejowych *D. melanogaster* do gleju kręgowców: astrocytów, oligodendrocytów, mikrogleju i komórek Schwanna.

CHARACTERIZATION OF DROSOPHILA MELANOGASTER GLIA IN COMPARISON WITH VERTEBRATE GLIA

Summary

In comparison with vertebrates, the fruit fly, *Drosophila melanogaster*, has fewer glial cells and much lower glia to neuron ratio. Glia of *D. melanogaster* is also specified by a different molecular mechanism of differentiation. However, just as vertebrates glia, it is specialized for distinct functions depending on its type. There are four main

types of glia in *D. melanogaster* nervous system: the surface glia, the cortex glia and the neuropil glia in CNS, as well as the peripheral glia in PNS. Based on morphological and/or functional similarities (that have arisen independently and do not represent homologies), one can conclude that *D. melanogaster* glia share many common features

with vertebrate glia. This article characterizes different types and sub-types of *D. melanogaster* glia

in comparison with vertebrate astrocytes, oligodendrocytes, microglia and Schwann cells.

LITERATURA

- ADLER E. M., 2010. *Focus issue: Getting excited about glia*. *Sci. Signal.* 147, 11.
- AKIYAMA Y., HOSOYA T., POOLE A. M., HOTTA Y., 1996. *The gcm-motif: a novel DNA-binding motif conserved in Drosophila and mammals*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 14912-14916.
- ANDERSON D. J., 2001. *Stem cells and pattern formation in the nervous system: the possible versus the actual*. *Neuron* 30, 19-35.
- AWASAKI T., ITO K., 2004. *Engulfing action of glial cells is required for programmed axon pruning during Drosophila metamorphosis*. *Curr. Biol.* 14, 668-677.
- AWASAKI T., LAI S. L., ITO K., LEE T., 2008. *Organization and postembryonic development of glial cells in the adult central brain of Drosophila*. *J. Neurosci.* 28, 13742-13753.
- AZEVEDO F.A., CARVALHO L. R., GRINBERG L. T., FARFEL J. M., FERRETTI R. E., LEITE R. E., JACOB FILHO W., LENT R., HERCULANO-HOUZEL S., 2009. *Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain*. *J. Comp. Neurol.* 513, 532-541.
- BADENHORST P., 2001. *Tramtrack controls glial number and identity in the Drosophila embryonic CNS*. *Development* 128, 4093-4101.
- BANERJEE S., PILLAI A. M., PAIK R., LI J., BHAT M. A., 2006. *Axonal ensheathment and septate junction formation in the peripheral nervous system of Drosophila*. *J. Neurosci.* 26, 3319-3329.
- BARRES B. A., 2008. *The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease*. *Neuron* 60, 430-440.
- CHOTARD C., SALECKER I., 2007. *Glial cell development and function in the Drosophila visual system*. *Neuron Glia Biol.* 3, 17-25.
- DANEMAN R., BARRES B. A., 2005. *The blood-brain barrier - lessons from moody flies*. *Cell* 123, 9-12.
- DEARBORN R. JR., KUNES S., 2004. *An axon scaffold induced by retinal axons directs glia to destinations in the Drosophila optic lobe*. *Development* 131, 2291-2303.
- DI NUZZO M., MANGIA S., MARAVIGLIA B., GIOVE F., 2012. *The role of astrocytic glycogen in supporting the energetics of neuronal activity*. *Neurochem Res.* 37, 2432-2438.
- DOHERTY J., LOGAN M. A., TASDEMIR O. E., FREEMAN M. R., 2009. *Ensheathing glia function as phagocytes in the adult Drosophila brain*. *J. Neurosci.* 29, 4768-4781.
- DUMSTREI K., WANG F., HARTENSTEIN V., 2003. *Role of DE-cadherin in neuroblast proliferation, neural morphogenesis, and axon tract formation in Drosophila larval brain development*. *J. Neurosci.* 23, 3325-3335.
- EDWARDS T. N., MEINERTZHAGEN I. A., 2010. *The functional organisation of glia in the adult brain of Drosophila and other insects*. *Prog. Neurobiol.* 90, 471-497.
- EGGER B., LEMANS R., LOOP T., KAMMERMEIER L., FAN Y., RADIMERSKI T., STRAHM M. C., CERTA U., REICHERT H., 2002. *Gliogenesis in Drosophila: genome-wide analysis of downstream genes of glial cells missing in the embryonic nervous system*. *Development* 129, 3295-3309.
- FABIAN-FINE R., VERSTREKEN P., HIESINGER P. R., HORNE J. A., KOSTYLEVA R., ZHOU Y., BELLEN H. J., MEINERTZHAGEN I. A., 2003. *Endophilin promotes a late step in endocytosis at glial invaginations in Drosophila photoreceptor terminals*. *J. Neurosci.* 23, 10732-10744.
- FREEMAN M. R., 2006. *Sculpting the nervous system: glial control of neuronal development*. *Curr. Opin. Neurobiol.* 16, 119-125.
- FREEMAN M. R., DOHERTY J., 2006. *Glial cell biology in Drosophila and vertebrates*. *Trends Neurosci.* 29, 82-90.
- FREEMAN M. R., DELROW J., KIM J., JOHNSON E., DOE C. Q., 2003. *Unwrapping glial biology: Gcm target genes regulating glial development, diversification, and function*. *Neuron* 38, 567-580.
- GILMOUR D. T., MAISCHEIN H. M., NÜSSLEIN-VOLHARD C., 2002. *Migration and function of a glial subtype in the vertebrate peripheral nervous system*. *Neuron* 34, 577-588.
- GÖTZ M., 2003. *Glial cells generate neurons-master control within CNS regions: developmental perspectives on neural stem cells*. *Neuroscientist* 9, 379-397.
- GRACE P. M., ROLAN P. E., HUTCHINSON M. R., 2011. *Peripheral immune contributions to the maintenance of central glial activation underlying neuropathic pain*. *Brain Behav. Immun.* 25, 1322-1332.
- HALASSA M. M., FELLIN T., HAYDON P.G., 2009. *Tripartite synapses: roles for astrocytic purines in the control of synaptic physiology and behavior*. *Neuropharmacology* 57, 343-346.
- HARTENSTEIN V., 2011. *Morphological diversity and development of glia in Drosophila*. *Glia* 59, 1237-1252.
- HARTLINE D. K., 2011. *The evolutionary origins of glia*. *Glia* 59, 1215-1236.
- HAYDON P.G., BLENDY J., MOSS S. J., ROB JACKSON F., 2008. *Astrocytic control of synaptic transmission and plasticity: a target for drugs of abuse?* *Neuropharmacology* 56, 83-90.
- HOSOYA T., TAKIZAWA K., NITTA K., HOTTA Y., 1995. *Glial cells missing: a binary switch between neuronal and glial determination in Drosophila*. *Cell* 82, 1025-1036.
- IACO DE R., SOUSTELLE L., KAMMERER M., SORRENTINO S., JACQUES C., GIANGRANDE A., 2006. *Huckebein-mediated autoregulation of Glide/Gcm triggers glia specification*. *EMBO J.* 25, 244-254.
- IWASAKI Y., HOSOYA T., TAKEBAYASHI H., OGAWA Y., HOTTA Y., IKENAKA K., 2003. *The potential to induce glial differentiation is conserved between Drosophila and mammalian glial cells missing genes*. *Development* 130, 6027-6035.
- JACKSON F. R., HAYDON P. G., 2008. *Glial cell regulation of neurotransmission and behavior in Drosophila*. *Neuron Glia Biol.* 4, 11-17.
- JOHNSON R. W., WOOD J. L., JONES B. W., 2012. *Characterization of cis-regulatory elements controlling repo transcription in Drosophila melanogaster*. *Gene* 492, 167-176.
- JONES B. W., FETTER R. D., TEAR G., GOODMAN C. S., 1995. *Glial cells missing: a genetic switch that controls glial versus neuronal fate*. *Cell* 82, 1013-1023.
- KAMMERER M., GIANGRANDE A., 2001. *Glide2, a second glial promoting factor in Drosophila melanogaster*. *EMBO J.* 20, 4664-4673.
- KETTENMANN H., RANSOM B. R., 2005. *Neuroglia*. New York: Oxford UP.

- KIM J., JONES B. W., ZOCK C., CHEN Z., WANG H., GODMAN C. S., ANDERSON D. J., 1998. *Isolation and characterization of mammalian homologs of the Drosophila gene glial cells missing*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 12364–12369.
- KIM J., LO L., DORMAND E., ANDERSON D. J., 2003. *SOX10 maintains multipotency and inhibits neuronal differentiation of neural crest stem cells*. Neuron 38, 17–31.
- KLAES A., MENNE T., STOLLEWERK A., SCHOLZ H., KLÄMBT C., 1994. *The Ets transcription factors encoded by the Drosophila gene pointed direct glial cell differentiation in the embryonic CNS*. Cell 78, 149–160.
- KRETZSCHMAR D., 2009. *Swiss cheese et alii, some of the first neurodegenerative mutants isolated in Drosophila*. J. Neurogenet. 23, 34–41.
- KURANT E., AXELROD S., LEAMAN D., GAUL U., 2008. *Six-microns-under acts upstream of Draper in the glial phagocytosis of apoptotic neurons*. Cell 133, 498–509.
- LEISERSON W. M., HARKINS E. W., KESHISHIAN H., 2000. *Fray, a Drosophila serine/threonine kinase homologous to mammalian PASK, is required for axonal ensheathment*. Neuron 28, 793–806.
- LEMKE G., 2001. *Glial control of neuronal development*. Annu. Rev. Neurosci. 24, 87–105.
- LYONS D. A., POGODA H. M., VOAS M. G., WOODS I. G., DIAMOND B., NIX R., ARANA N., JACOBS J., TALBOT W. S., 2005. *erbb3 and erbb2 are essential for schwann cell migration and myelination in zebrafish*. Curr. Biol. 15, 513–524.
- MAC DONALD J. M., BEACH M. G., PORPIGLIA E., SHEEHAN A. E., WATTS R. J., FREEMAN M. R., 2006. *The Drosophila cell corpse engulfment receptor Draper mediates glial clearance of severed axons*. Neuron 50, 869–881.
- MAGISTRETTI P. J., 2009. *Role of glutamate in neuron-glia metabolic coupling*. Am. J. Clin. Nutr. 90, 875S–880S.
- NEWMAN E. A., 2003. *New roles for astrocytes: regulation of synaptic transmission*. Trends Neurosci. 26, 536–542.
- OBERHEIM N. A., GOLDMAN S. A., NEDERGAARD M., 2012. *Heterogeneity of astrocytic form and function*. Meth. Mol. Biol. 814, 23–45.
- OIKONOMOU G., SHAHAM S., 2011. *The glia of Caenorhabditis elegans*. Glia 59, 1253–1263.
- PARPURA V., HENEKA M. T., MONTANA V., OLIVET S. H., SCHOUSBOE A., HAYDON P. G., STOUT R. F. JR, SPRAY D. C., REICHENBACH A., PANNICKE T., PEKNY M., PEKNA M., ZOREC R., VERKHRATSKY A., 2012. *Glial cells in (patho)physiology*. J. Neurochem. 121, 4–27.
- PARKER R. J., AULD V. J., 2006. *Roles of glia in the Drosophila nervous system*. Semin. Cell Dev. Biol. 7, 66–77.
- PEREA G., ARAQUE A., 2010. *GLIA modulates synaptic transmission*. Brain Res. Rev. 63, 93–102.
- PEREANU W., SHY D., HARTENSTEIN V., 2005. *Morphogenesis and proliferation of the larval brain glia in Drosophila*. Dev. Biol. 283, 191–203.
- PYZA E., GÓRSKA-ANDRZEJAK J., 2008. *External and internal inputs affecting plasticity of dendrites and axons of the fly's neurons*. Acta Neurobiol. Exp. 68, 322–333.
- RANSOM B. R., RANSOM C. B., 2012. *Astrocytes: multitasking stars of the central nervous system*. Meth. Mol. Biol. 814, 3–7.
- RICHARDT A., RYBAK J., STÖRTKUHL K. F., MEINERTZHA-GEN I. A., HOVEMANN B. T., 2002. *Ebony protein in the Drosophila nervous system: optic neuropile expression in glial cells*. J. Comp. Neurol. 452, 93–102.
- ROSS S. E., GREENBERG M. E., STILES C. D., 2003. *Basic helix-loop-helix factors in cortical development*. Neuron 39, 13–25.
- ROWITCH D. H., 2004. *Glial specification in the vertebrate neural tube*. Nat. Rev. Neurosci. 5, 409–419.
- ROWITCH D. H., KRIEGSTEIN A. R., 2010. *Developmental genetics of vertebrate glial-cell specification*. Nature 468, 214–222.
- SEPP K. J., AULD V. J., 2003. *Reciprocal interactions between neurons and glia are required for Drosophila peripheral nervous system development*. J. Neurosci. 23, 8221–8230.
- SEPP K. J., SCHULTE J., AULD V. J., 2001. *Peripheral glia direct axon guidance across the CNS/PNS transition zone*. Dev. Biol. 238, 47–63.
- SCHAFFER D. P., LEHRMAN E. K., STEVENS B., 2012. *The “quad-partite” synapse: Microglia-synapse interactions in the developing and mature CNS*. Glia 61, 24–36.
- SONNENFELD M. J., JACOBS J. R., 1995. *Macrophages and glia participate in the removal of apoptotic neurons from the Drosophila embryonic nervous system*. J. Comp. Neurol. 359, 644–652.
- SOUSTELLE L., GIANGRANDE A., 2007. *Glial differentiation and the Gcm pathway*. Neuron Glia Biol. 3, 5–16.
- STOLT C. C., LOMMES P., SOCK E., CHABOISSIER M. C., SCHEDL A., WEGNER M., 2003. *The Sox9 transcription factor determines glial fate choice in the developing spinal cord*. Genes Dev. 17, 1677–1689.
- STORK T., ENGELEN D., KRUEWIG A., SILIES M., BAIN-TON R. J., KLÄMBT C., 2008. *Organization and function of the blood-brain barrier in Drosophila*. J. Neurosci. 28, 587–597.
- TRANG T., BEGGS S., SALTER M. W., 2012. *ATP receptors gate microglia signaling in neuropathic pain*. Exp. Neurol. 234, 354–361.
- VALLSTEDT A., KLOS J. M., ERICSON J., 2005. *Multiple dorsoventral origins of oligodendrocyte generation in the spinal cord and hindbrain*. Neuron 45, 55–67.
- VAN DE BOR V., GIANGRANDE A., 2002. *glide/gcm: at the crossroads between neurons and glia*. Curr. Opin. Genet. Dev. 12, 465–72.
- VILLEGAS S. N., POLETTA F. A., CARRI N. G., 2003. *GLIA: A reassessment based on novel data on the developing and mature central nervous system*. Cell. Biol. Int. 27, 599–609.
- WAGNER S., HESERING C., SZLACHTA K., TRUE J. R., PRINZ H., HOVEMANN B. T., 2007. *Drosophila photoreceptors express cysteine peptidase tan*. J. Comp. Neurol. 500, 601–611.
- YUASA Y., OKABE M., YOSHIKAWA S., TABUCHI K., XIONG W. C., HIROMI Y., OKANO H., 2003. *Drosophila homeodomain protein REPO controls glial differentiation by cooperating with ETS and BTB transcription factors*. Development 130, 2419–2428.
- ZHOU Q., CHOI G., ANDERSON D. J., 2001. *The bHLH transcription factor Olig2 promotes oligodendrocyte differentiation in collaboration with Nkx2.2*. Neuron 31, 791807.