

**Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Plzni  
Ústav patologické fyziologie**

**VLIV TRANSPLANTACE TKÁNĚ MOZEČKU  
A FYZICKÉ AKTIVITY NA SCHOPNOST  
PROSTOROVÉ ORIENTACE  
U MUTANTNÍCH MYŠÍ TYPU LURCHER**

**Doktorandská disertační práce**

**MUDr. Jan Cendelín**

**Školitel: Doc. MUDr. František Vožeh, CSc.**

**Obor: Fyziologie a patologická fyziologie**

**Plzeň 2008**

## **Poděkování**

Tato disertační práce vznikla na Ústavu patologické fyziologie Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy.

Děkuji svému školiteli Doc. MUDr. Františku Vožehovi, CSc. za laskavé vedení, pomoc při výběru tématu a cenné rady při tvorbě práce. Děkuji také pracovníkům ústavu patologické fyziologie za pomoc při provedení pokusů, zejména za přípravu histologických preparátů a za technickou asistenci při operacích. V neposlední řadě děkuji prof. Ferdinandu Rossimu, který mi umožnil studijní pobyt ve své laboratoři na Dipartimento di Neuroscienze, Università di Torino, kde jsem se pod jeho vedením a pod vedením dr. Barbary Carletti seznámil s metodou transplantace embryonální tkáně mozečku dospělým myším.

Práce byla součástí širší problematiky řešené v rámci projektů výzkumného záměru MSM 021620816, grantu COST B 30/2007 0C 152 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky a grantu GA UK 75/2005/C/LFP.

## 1. OBSAH

<b>1. OBSAH</b> .....	<b>3</b>
<b>2. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK</b> .....	<b>4</b>
<b>3. SOUHRN</b> .....	<b>5</b>
<b>4. SUMMARY</b> .....	<b>6</b>
<b>5. ÚVOD - SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY</b> .....	<b>7</b>
5.1. Stavba mozečku.....	7
5.2. Funkce mozečku.....	8
5.3. Poruchy mozečku .....	8
5.3.1. Dědičná degenerativní onemocnění mozečku .....	9
5.3.2. Zvířecí modely dědičných degenerativních poškození mozečku .....	10
5.3.3. Mutantní myši typu Lurcher .....	13
5.4. Neurotransplantace .....	16
5.4.1. Transplantace mozečkové tkáně u zvířecích modelů degenerativních poškození mozečku.....	17
5.5. Vliv fyzické aktivity na kognitivní funkce .....	19
<b>6. VÝCHODISKO</b> .....	<b>20</b>
<b>7. CÍL PRÁCE</b> .....	<b>20</b>
<b>8. MATERIÁL A METODY</b> .....	<b>21</b>
8.1. Uspořádání pokusu .....	21
8.2. Pokusná zvířata.....	22
8.3. Statistické zpracování .....	24
8.4. Transplantace embryonální mozečkové tkáně.....	24
8.4.1. Dárce transplantátu .....	25
8.4.2. Odběr transplantátu .....	25
8.4.3. Aplikace transplantátu .....	26
8.5. Vyšetření přítomnosti a morfologie transplantátu .....	27
8.5.1. Histologické zpracování .....	27
8.5.2. Hodnocení přežívání transplantátu .....	28
8.6. Nucená fyzická aktivita .....	29
8.7. Test prostorového učení .....	29
<b>9. VÝSLEDKY</b> .....	<b>32</b>
9.1. Přežívání a morfologie transplantátu.....	32
9.2. Hodnocení vlivu transplantace a fyzické aktivity.....	40
9.2.1. Přežívání transplantátu u trénovaných a netrénovaných myší.....	40
9.2.2. Prostorová orientace v Morrisově vodním bludišti .....	42
9.2.2.1. Základní srovnání myši typu Lurcher a wild s ohledem na věk .....	42
9.2.2.2. Vliv transplantace a tréninku u dospělých myší .....	47
9.2.2.3. Vliv transplantace a tréninku u mladých myší .....	49
<b>10. DISKUSE</b> .....	<b>52</b>
10.1. Přežívání a struktura transplantátu .....	52
10.2. Vliv nucené fyzické aktivity a transplantace na prostorovou orientaci v Morrisově vodním bludišti .....	55
<b>11. ZÁVĚRY</b> .....	<b>58</b>
<b>12. LITERATURA</b> .....	<b>60</b>
<b>13. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI</b> .....	<b>73</b>

## 2. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BDNF	brain-derived neurotrophic factor
CNS	centrální nervový systém
D1-D10	1.-10. den pokusu v Morrisově vodním bludišti
DRPLA	dentatorubrál ní palidoluy sická atrofie (dentatorubral-palidoluy sian atrophy)
E	embryonální vývoj
FGF14	fibroblastový růstový faktor 14 (fibroblast growth factor 14)
GFP	zeleně fluoreskující protein (green fluorescent protein)
GluR $\delta$ 2	$\delta$ 2 podjednotka glutamátového receptoru
J	jih, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti
K	kontrola, kontrolní operace
Lc	Lurcher (+/Lc)
LTP	dlouhodobá potenciace (long-term potentiation)
MVB	Morrisovo vodní bludiště
n	rozsah souboru
NS	nesignifikantní
obr.	obrázek
Pcd	Purkinje cell degeneration
R	trénink na rotarodu
S	sever, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti
SCA	spinocerebelární atrofie, spinocerebelární ataxie
T	transplantace
tab.	tabulka
V	východ, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti
vs.	versus
WT	wild typ (+/+)
Z	západ, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti

### 3. SOUHRN

Mutantní myši typu Lurcher jsou modelem olivocerebelární degenerace. Jedná se o heterozygoty nesoucí mutaci genu pro  $\delta 2$  podjednotku glutamátového receptoru. Porucha receptoru vyvolává excitotoxickou apoptózu Purkyňových buněk, jejichž zánik vede k sekundárnímu úbytku granulárních buněk mozečku a neuronů dolní olivy. Mutanti Lurcher trpí ataxií a poruchou prostorového učení a orientace.

Cílem práce bylo posoudit vliv transplantace embryonální mozečkové tkáně a nucené fyzické aktivity i jejich kombinace na schopnost prostorové orientace u mutantních myší typu Lurcher a sledovat přežívání mozečkového transplantátu u dospělých a mladých mutantních myší Lurcher a dospělých myší typu wild.

Pro sledování přežívání transplantátu jsme použili dospělé myši typu wild a mladé a dospělé myši typu Lurcher kmene B6CBA. Ke zkoumání vlivu transplantace a nucené aktivity na schopnost prostorové orientace jsme použili dospělé a mladé myši Lurcher téhož kmene. Transplantát získaný z myších embryí bez mutace typu Lurcher byl aplikován do oblasti mozečku příjemce ve formě solidních kousků tkáně. Kontrolním zvířatům bylo aplikováno samotné vehikulum. Nucená fyzická aktivita spočívala v opakovaném tréninku na rotarodu. Prostorová orientace byla testována v Morrisově bludišti 9 týdnů po operaci. Histologické vyšetření přítomnosti transplantátu bylo provedeno 3, 6 a 9 týdnů po transplantaci nebo po skončení testu prostorové orientace.

Nebyly zjištěny významné rozdíly v přežívání transplantátu mezi dospělými zvířaty typu Lurcher a wild, ani mezi mladými a dospělými mutanty Lurcher. U myší typu wild bylo mírně častější prorůstání transplantátu do hostitelské tkáně než u dospělých myší Lurcher. U mladých myší Lurcher byla v transplantátu častěji patrná struktura mozečkové kůry a častější bylo i prorůstání transplantátu než u dospělých. U žádné skupiny myší nebyl zjevný pokles výskytu transplantátu během sledovaného období. Nebyl zjištěn vliv tréninku na osud transplantátu. Schopnost prostorového učení byla u kontrolních mutantů nižší než u myší typu wild. Dospělí mutanti navíc dosahovali horších výsledků než mladí. Fyzická aktivita výrazně zlepšila výsledky dospělých myší typu Lurcher. Vliv transplantace byl mírný. V kombinaci s tréninkem dokonce transplantace spíše snižovala jeho účinnost. U mladých myší typu Lurcher nebyl patrný vliv transplantace ani tréninku na schopnost prostorové orientace.

Degenerativní postižení mozečku myší typu Lurcher ani jejich věk neovlivňují přežívání embryonálního mozečkového transplantátu a mírně zasahují do jeho vývoje. Nucená fyzická aktivita zlepšila schopnost prostorové orientace jen u dospělých myší typu Lurcher. Vliv transplantace byl sporný.

#### 4. SUMMARY

Lurcher mutant mice represent a model of olivocerebellar degeneration. They are heterozygotes carrying a mutation in the glutamate receptor  $\delta 2$ -subunit gene. The receptor malfunction causes excitotoxic apoptosis of Purkinje cells, extinction of which leads to secondary degeneration of cerebellar granule cells and inferior olive neurons. Lurcher mutants suffer from ataxia and deterioration of spatial learning and orientation ability.

The aim of the work was to assess the effect of embryonic cerebellar tissue transplantation and enforced physical activity as well as the effect of their combination on spatial orientation ability in Lurcher mutant mice and to observe cerebellar graft survival in adult and young Lurcher and adult wild type mice.

For the graft survival analysis adult wild type mice and young and adult Lurcher B6CBA mice were used. To study the effect of the transplantation and enforced activity on spatial orientation adult and young Lurchers of the same strain were used. The graft obtained from mouse embryos without the Lurcher mutation was applied into the cerebellar area of the host as solid pieces. Control mice were treated only with vehicle. Enforced activity was represented with repeated rotarod training. Spatial orientation was tested in the Morris maze 9 weeks after the surgery. Histological examination of the graft presence was performed 3, 6 and 9 weeks after the transplantation or after finishing the spatial orientation test.

Significant differences in graft survival neither between adult Lurcher mutant and wild type mice nor between young and adult Lurchers were found. In wild type mice graft sprouting into host tissue was slightly more frequent than in adult Lurchers. In young Lurchers, the cerebellar cortical structure was observed more often in the graft and graft sprouting was more frequent than in adult ones. In any of the experimental groups no evident decrease of frequency of graft presence during the period studied was observed. No effect of the training on graft fate was found. Spatial orientation ability was lower in control Lurchers than in wild type mice. Moreover, adult mutants reached worse results than young ones. Physical activity significantly improved the performance of adult Lurcher mice. The effect of the transplantation was moderate. When combined with the training, the transplantation even decreased its effect. In young Lurcher mice, neither the effect of the transplantation nor the effect of the training on spatial orientation ability were found.

Neither the degenerative affection of the cerebellum of Lurcher mutant mice nor their age influenced survival of the embryonic cerebellar graft but they slightly interfere with its development. Enforced physical activity improved spatial orientation ability only in adult Lurcher mice. The effect of the transplantation was ambiguous.

## 5. ÚVOD - SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 5.1. Stavba mozečku

Mozeček (*cerebellum*) leží v zadní jámě lební dorsálně za prodlouženou míchou a Varolovým mostem. Skládá se ze dvou hemisfér a mezi nimi ležícího vermis. Povrch mozečku je členěn závitě a fisurami a je členitější než povrch velkého mozku. Fisury oddělují *lobus flocculonodularis*, *lobus anterior* a *lobus posterior*. Laloky jsou dále rozčleněné do několika lobulů sestávajících z folií. S mozkovým kmenem je mozeček spojen třemi pedunkuly.

Na povrchu mozečku je kůra, pod ní bílá hmota složená z neuroglie a nervových vláken. V hloubce bílé hmoty jsou uložena mozečková jádra - *nucleus dentatus*, *emboliformis*, *fastigii* a *globosus*. *Nucleus globosus* a *emboliformis* jsou někdy označovány společným názvem *nucleus interpositus*.

Kůra mozečku má díky bohatému členění značnou plochu a díky přítomnosti velkého množství hustě rozmístěných drobných neuronů tak obsahuje více nervových buněk než kůra velkého mozku (Glickstein, 1992). Histologicky je kůra mozečku členěna do tří vrstev: molekulární (*stratum moleculare*), ganglionární (*stratum gangliosum*) a granulární (zrnitá, *stratum granulosum*). Vrstva molekulární je nejsvrchnější a obsahuje poměrně málo nervových buněk. Nacházejí se v ní buňky košičkové a buňky hvězdicové, které vytvářejí inhibiční synapse s Purkyňovými buňkami následující vrstvy. Ganglionární vrstva je tvořena jednou vrstvou Purkyňových buněk, které patří k největším neuronům. Jejich bohaté dendritické stromy se větví typicky v jedné rovině ve vrstvě molekulární. Axony Purkyňových buněk směřují do mozečkových jader, vestibulárních jader a retikulární formace, kde končí inhibičními synapsami, a jsou jediným výstupem z mozečkové kůry. Granulární vrstva leží nejhluběji a je velmi bohatá na buňky. Nacházejí se v ní velmi početné granulární buňky a buňky Golgiho. Axony granulárních buněk vstupují do molekulární vrstvy, kde se větví ve tvaru písmene T, a jejich ramena pak probíhají paralelně s povrchem kůry. Proto se nazývají vlákna paralelní. Vytvářejí excitační synapse s dendrity Purkyňových buněk a s buňkami hvězdicovými a košičkovými. Mediátorem je glutamát. Do kůry mozečku vstupují cholinergní mechová vlákna směřující ke granulárním buňkám a glutamátergní či aspartátergní šplhavá vlákna z olivárního komplexu k Purkyňovým buňkám.

Aferentní spoje mozečku jsou spinocerebelární (přední a zadní) z míchy přivádějící informace z proprioreceptorů a exteroceptorů, bulbopontomezencefalické (olivocerebelární,

vestibulocerebelární, retikulocerebelární, tektocerebelární, cuneocerebelární, rubrocerebelární, trigeminocerebelární). Eferentní spoje jsou tvořeny jednak vlákny jdoucími z kůry mozečku do vestibulárních jader a retikulární formace (dlouhé kortikofugální dráhy), jednak drahami vycházejícími z mozečkových jader do vestibulárních jader, k retikulární formaci, k jádrům hlavových nervů, do thalamu a mozkové kůry (Myslivoček, 2003; Ganong, 2005).

## 5.2. Funkce mozečku

Z funkčního a fylogenetického hlediska rozlišujeme tři části mozečku. Fylogeneticky nejstarší vestibulární mozeček (*vestibulocerebellum*, *archicerebellum*) je nezbytný k udržování vzpřímené polohy těla při stoji a chůzi a podílí se na řízení automatických pohybů očí. Spinální mozeček (*spinocerebellum*, *paleocerebellum*) se podílí na řízení svalového napětí, aktivuje inhibiční sestupný systém retikulární formace. Korový mozeček (*cerebrocerebellum*, *neocerebellum*), fylogeneticky nejmladší část, kontroluje koordinaci pohybů, podílí se na plánování a podněcování pohybu (Trojan a spol., 1994; Myslivoček, 2003; Ganong, 2005).

Nejdéle známá je úloha mozečku v řízení koordinace pohybů, svalového tonu a rovnováhy. Později byla objevena účast mozečku v motorickém učení (Marr, 1969; Ito, 1984; Houk a spol., 1996; Braitenberg a spol., 1997). Narůstající počet experimentálních i klinických studií ukazuje, že se mozeček výrazně uplatňuje také v kognitivních funkcích a podílí se i na organizaci vyšší nervové činnosti (Schmahmann a Sherman, 1998; Thach, 2007). Pokusy na zvířatech prokázaly účast mozečku v řadě typů učení (například Botez a spol., 1985; Lalonde a spol., 1986) včetně klasického podmiňování, pro které jsou důležitá spíše mozečková jádra (McCormick a Thompson, 1984; Thompson, 1990; Porrás-García a spol., 2005), a prostorového učení (Lalonde, 1987a; Dahhaoui a spol., 1992; Vožeh a spol., 2001a; Porrás-García a spol., 2005). Zapojení mozečku v kognitivních funkcích podporuje nálezy aktivace mozečku při představě pohybu končetiny nedoprovázené skutečným pohybem nebo počítání, který ukazuje na zapojení mozečku do mentálních procesů (Decety a spol., 1990; Ryding a spol., 1993).

## 5.3. Poruchy mozečku

Poškození mozečku vede nejčastěji k zánikovému mozečkovému syndromu. Vzácněji se vyskytuje iritační mozečkový syndrom. Zánikový syndrom se projevuje zvýšenou



pasivitou, dysmetrií, asynergií, intenčním třesem, ataxií stoje a chůze. Chůze i stoj jsou nejisté s titubacemi a širokou bazí. Pohyblivost v kloubech je zvětšená, jsou zvýšené souhyby končetin při chůzi. Neschopnost včasného zastavení pohybu vede k tzv. rebound fenoménu. Asynergie znamená poruchu synchronizace činnosti jednotlivých svalových skupin. Velká asynergie se týká postojové motoriky a lokomoce. Malá asynergie postihuje jemnou cílenou motoriku a jejím důsledkem je neschopnost provádět rychle za sebou alternující pohyby označovaná jako adiachokinéza. Při jednostranném poškození mozečku jsou projevy ipsilaterální vzhledem k lokalizaci léze (Myslivoček, 2003; Bastian a spol., 1999).

Iritační mozečkový syndrom je v podstatě opakem zánikového a do jisté míry připomíná parkinsonský syndrom (Myslivoček, 2003).

U pacientů s mozečkovým postižením byly kromě obvykle nejnápadnějšího motorického postižení zjištěny poruchy i jiného než motorického učení (Foiez a spol., 1992; Drepper a spol., 1999) a byl popsán kognitivně-afektivní syndrom (Schmahmann a Sherman, 1998; Schmahmann, 2004). Syndrom zahrnuje poruchu schopnosti plánování, abstrakce, zhoršení pracovní paměti, poruchu prostorové orientace, změny osobnosti, otupení afektivity a uvolněné nebo neadekvátní chování. Jsou také řečové problémy, jako snížení plynulosti řeči, dysprosodie, agramatismus a mírná anomie. Výsledkem těchto změn je povšechné snížení intelektu, zatímco pozornost a bdělost není narušena (Schmahmann a Sherman, 1998). Také jsou popisovány změny osobnosti, obsesivně-kompulsivní tendence a psychotické myšlení (Schmahmann, 2004). Možná je i souvislost se schizofrenií, neboť u pacientů trpících touto nemocí byl nalezen menší objem vermis mozečku (Nopoulos a spol., 1999; Ichimiya a spol., 2001; Loeber a spol., 2001) a menší asymetrie mozečkových hemisfér (Loeber a spol., 2001).

### **5.3.1. Dědičná degenerativní onemocnění mozečku**

Dědičné ataxie představují rozsáhlou heterogenní skupinu neurodegenerativních chorob postihujících mozeček, jeho spoje a případně další části nervového systému (míchu, mozkový kmen, bazální ganglia, periferní nervový systém). Nepatří sice zdaleka k nejčastějším neurodegenerativním onemocněním (například ve srovnání s Alzheimerovou nebo Parkinsonovou nemocí), přesto jejich výskyt není zanedbatelný.

Dědičné ataxie se projevují především progresivním zánikovým mozečkovým syndromem. Další projevy plynou z lokalizace a charakteru změn, které u konkrétního typu onemocnění degeneraci mozečku provázejí. Podle typu dědičnosti jsou ataxie členěny na autosomálně recesivní a autosomálně dominantní (Harding, 1983; Klockengether a Evert, 1998).

Autosomálně recesivní ataxie jsou způsobené ztrátou (správně fungujícího) proteinu, nezbytného pro funkci a přežívání určité populace neuronů (Klockengether a Evert, 1998). Příkladem jsou Friedreichova ataxie nebo *ataxia teleangiectatica*.

V případech autosomálně dominantních ataxií se předpokládá patologické působení proteinu s abnormálními vlastnostmi (Klockengether a Evert, 1998). Do této kategorie patří rozsáhlá skupina spinocerebelárních ataxií (SCA, rovněž je užíván název spinocerebelární atrofie), dříve nazývaných autosomálně dominantní mozečkové ataxie. Vzhledem ke značné podobnosti klinických příznaků je mnohdy nutné ke stanovení přesné diagnózy genetické vyšetření. Také dnes používaná klasifikace je založena na tom, který gen je mutován, nikoliv na klinickém a neuropatologickém nálezu: SCA1 - SCA8, SCA10 - SCA23, mutace v genu pro fibroblastový růstový faktor 14 (FGF14), SCA25 a dentatorubrální palidolusická atrofie (DRPLA) (Manto, 2005). Nejběžnějšími z těchto ataxií jsou SCA1, SCA2, SCA3, SCA6 a SCA7. Za nejčastější z nich je považována SCA3. Celková prevalence této skupiny chorob je 1 až 4 případy na 100 000 lidí se značnými geografickými odchylkami (Manto, 2005). Průměrný věk, ve kterém se nemoc začíná projevovat, je třetí dekáda, avšak jsou značné rozdíly mezi jednotlivými typy SCA (Schöls a spol., 2004).

### **5.3.2. Zvířecí modely dědičných degenerativních poškození mozečku**

Stejně jako známe v lidské patologii celou řadu dědičných degenerativních onemocnění mozečku, existuje i několik různých typů mutantních nebo transgenních myší postižených mozečkovou degenerací. Podle toho, jaká další část centrálního nervového systému (CNS) je postižena, rozlišujeme například modely olivocerebelární degenerace nebo spinocerebelární degenerace. Tato zvířata slouží jako biologické modely onemocnění a používají se k výzkumu funkce mozečku, následků jeho poškození, patogeneze degenerativních chorob mozečku a v neposlední řadě možností terapeutického ovlivnění degenerativního procesu nebo jeho funkčních následků. Některé z používaných myších kmenů jsou modelem konkrétního lidského onemocnění (například myši typu SCA1 nebo SCA2 jsou modelem spinocerebelární ataxie typu 1 a 2) a nesou stejnou nebo podobnou mutaci, jaká se vyskytuje u postižených lidí. Onemocnění u jiných typů myší je lidským chorobám pouze podobné a je spíše obecným modelem degenerativních chorob mozečku.

Jednotlivé myší modely degenerativního onemocnění mozečku se liší kombinací typů mozečkových buněk, které zanikají, mírou postižení jednotlivých typů buněk, postižením dalších nervových struktur mimo mozeček a také funkčními projevy onemocnění. Byly

popsány rozdíly v tíži motorického deficitu mezi různými typy myši trpících mozečkovou atrofií (Lalonde a Strazielle, 2001).

K nejznámějším přirozeným mutantům s degenerací mozečku patří *pcd* mutanti, myši typu *weaver*, *staggerer*, *hot-foot*, *nervous*, *reeler* a *Lurcher*.

Velmi často používaným modelem jsou mutantní myši s degenerací Purkyňových buněk - ***pcd* mutanti (Purkinje cell degeneration)**. Tyto myši ztrácejí téměř všechny Purkyňovy buňky mozečku mezi 3. a 4. týdnem života (Mullen a spol., 1976; Landis a Mullen, 1978). Později se přidává degenerace granulárních buněk a mozečkových jader, která je považována za sekundární následek zániku Purkyňových buněk (Lalonde a Strazielle, 2007). Granulární buňky zanikají postupně a ve věku jednoho roku je jejich úbytek 90 % (Triarhou, 1998). Redukce objemu jader mozečku je asi 20 % u zvířat starých 300 dní (Triarhou a spol., 1987b). Od třetího týdne života postupně ubývá i neuronů dolní olivy (Shojaeian a spol., 1988, Triarhou a Ghetti, 1991). Kromě toho trpí *pcd* mutanti také postupnou retinální degenerací (Chang a spol., 2002).

U *pcd* myši je těžce postižená motorika. Porucha chůze je velmi dobře patrná. Zvířata se dotýkají břichem podložky (Triarhou a spol., 1996). Narušená je i schopnost prostorového učení, kdy *pcd* mutanti selhávají v Morrisově vodním bludišti se skrytým ostrůvkem, avšak v testu s viditelným cílem dosahují dobrých výsledků. Tento rozdíl ukazuje, že jde skutečně o poruchu prostorové navigace a nikoliv o důsledek motorické dysfunkce (Goodlett a spol., 1992).

Mutantní myši typu ***weaver*** ztrácejí především granulární buňky mozečku, zatímco buňky Purkyňovy jsou relativně ušetřeny a zanikají nejvíce v přední části vermis (Hirano a Dembitzer, 1973; Blatt a Eisenmann, 1985a). Dolní oliva zůstává relativně nepostižená (Blatt a Eisenmann, 1985a). Kromě toho dochází k degeneraci substantia nigra (Roffler-Tarlov a Graybiel, 1984). Dědičnost je semidominantní (Lalonde a Strazielle, 2007). Homozygotní jedinci jsou postiženi ataxií, mají horší výsledky v testech motorické koordinace (Lalonde 1987c; Strazielle a spol., 2006) a zhoršenou visuomotorickou koordinaci ve vodním bludišti (Lalonde a Botez, 1986).

U mutantních myši typu ***staggerer*** dochází k degeneraci Purkyňových buněk a sekundárnímu úbytku granulárních buněk mozečku a neuronů dolní olivy (Herrup, 1983; Blatt a Eisenmann, 1985b; Shojaeian a spol., 1985). Dědičnost je autosomálně recesivní (Lalonde a Strazielle, 2007). Těžké postižení mozečku a dolní olivy vede u homozygotů k výraznému narušení motoriky (Lalonde, 1987b; Lalonde a spol., 1996a). Heterozygoti jsou postiženi jen mírně. Porucha motoriky je patrná již před začátkem rozvoje degenerace mozečku a podílí se

na ní tedy nejen zánik buněk, ale i jejich narušená funkce (Caston a spol., 2003). Postižené je u nich i prostorové učení (Lalonde, 1987a) a selhávají v radiálním bludišti (Goldowitz a Koch, 1986). Je změněná explorační aktivita (Lalonde a spol., 1988b). Další abnormalitou těchto myší je hyperfagie (Guastavino a spol., 1991) a defektní thymus (Trenkner a Hoffmann, 1986).

U mutantních myší typu **hot-foot** ubývají granulární buňky mozečku a je porušena inervace Purkyňových buněk. Postižení se projevuje ataxií, sníženým postojem, širokou bazí zadních končetin, trhavými pohyby zadních končetin (Guastavino a spol., 1990) a poruchou prostorového učení (Lalonde a spol., 1996b).

Mutantní myši typu **nervous** se vyznačují zánikem Purkyňových buněk mezi 3. a 8. týdnem života a zánikem granulárních buněk, který je pravděpodobně sekundární (Sotelo a Triller, 1979; Wassef a spol., 1987). Degenerace Purkyňových buněk není rovnoměrná. V průměru jich zaniká 90 %, ale v oblasti vermis například jen 50 % (Sidman a Green, 1970). Dále dochází u těchto myší k degeneraci dorzálního kochleárního jádra (Berrebi a Mugnaini, 1988). Na subcelulární úrovni byly v Purkyňových buňkách nalezeny změny mitochondrií (Landis, 1973). Dalším postižením je pomalu progredující retinální degenerace (Mullen a LaVail, 1975; LaVail a spol., 1993; White a spol., 1993). Důsledkem degenerace mozečku je motorická porucha. Myši typu **nervous** zaostávají v motorických testech (Lalonde a Strazielle, 2003). Zaostávají také v testu prostorového učení v Morrisově vodním bludišti se skrytým ostrůvkem, avšak pokud byl cíl v bludišti viditelný, byly jejich výsledky dobré (Lalonde a Strazielle, 2003).

Dalším z přirozených mutantů jsou myši typu **reeler**. Mutace je lokalizována na 5. chromozomu, mutovaný gen kóduje *reelin*, protein extracelulární hmoty uplatňující se při adhezi a migraci buněk během vývoje, dědičnost poruchy je recesivní (Beckers a spol., 1994). Důsledkem je porušené uspořádání řady struktur mozku a ektopická lokalizace neuronů. Změněn je také mozeček. Nejvíce postiženým typem buněk v mozečku jsou granulární buňky (Caviness a Rakic, 1978). Myši typu **reeler** selhávají v Morrisově vodním bludišti se skrytým i viditelným ostrůvkem (Lalonde a Strazielle, 2007).

K přirozeným mutantům s postižením mozečku patří také myši typu **Lurcher**, kterým bude věnován následující odstavec (odstavec 4.3.3.).

Genetickou modifikací byly vytvořeny transgenní nebo mutantní myši, které jsou modelem některé z lidských spinocerebelárních ataxií. K nejčastěji používaným patří myši typu SCA1 a SCA2. Existuje také několik myší s vyřazeným určitým genem nezbytným pro řádný vývoj mozečku a přežívání a funkci jeho buněk.

Myši typu **SCA1** nesou lidský mutovaný gen kódující ataxin-1 a působící autosomálně dominantní spinocerebelární ataxii typu 1 (SCA1). Porucha spočívá v nadměrném opakování CAG tripletu a tedy prodloužené polyglutaminové sekvenci ve výsledném proteinu (podobně jako u několika dalších autosomálně dominantních ataxií a Huntingtonovy chorey). Molekulární vrstva kůry mozečku těchto myší je tenčí, Purkyňovy buňky jsou svráštělé a mají chudší větvení dendritických stromů a méně dendritických spinů (Clark a spol., 1997; Lalonde a Strazielle, 2007). Míra postižení závisí na počtu opakování CAG tripletu. Myši se 78 opakováními mají jen mírné změny chování, které se dostávají ve vyšším věku. U myší nesoucích 154 opakování se neurologické abnormality vyvíjejí ve věku 9 týdnů a zahrnují ataxii a kognitivní deficit (Yamada a spol., 2008). Clark a spol. (1997), kteří pracovali se zvířaty nesoucími 82 opakování CAG, popisují, že podle chování lze odlišit transgenní myši od myší typu wild ve věku 12 týdnů.

Myši typu **SCA2** nesou 58 nebo 75 opakování CAG v genu kódujícím ataxin-2. V obou případech dochází k degeneraci Purkyňových buněk a poruše motorických funkcí (Yamada a spol., 2008).

### 5.3.3. Mutantní myši typu Lurcher

Mutantní myši typu Lurcher jsou přirozeným modelem geneticky podmíněné olivocerebelární degenerace. Jde o spontánní mutaci, která byla objevena v r. 1954. Tyto myši byly popsány v r. 1960 Phillipsem, který zjistil, že mutace se nachází na 6. chromosomu a že dědičnost je semidominantní (Phillips, 1960). Mutanti typu Lurcher jsou heterozygoti (+/Lc). Homozygotní kombinace (Lc/Lc) je letálním faktorem. Mutace postihuje gen pro  $\delta 2$  podjednotku glutamátového receptoru (GluR $\delta 2$ , symbol alely: Grid2<sup>Lc</sup>) a spočívá v substituci vedoucí k záměně alaninu za threonin na konci třetí transmembránové domény  $\delta 2$  podjednotky (Zuo a spol., 1997). GluR $\delta 2$  je exprimován především Purkyňovými buňkami mozečku a neurony mozkového kmene (Araki a spol., 1993; Lomeli a spol., 1993; Mayat a spol., 1995; Takayama a spol., 1995, 1996; Landsend a spol., 1997) a pravděpodobně se uplatňuje v dlouhodobé depresi (Kashiwabuchi a spol., 1995). Proto u mutantů typu Lurcher (heterozygotů), dochází postnatálně k zániku právě Purkyňových buněk. Narušená funkce glutamátového receptoru vedoucí k nadměrnému vtoku kalcia do buněk spouští excitotoxickou apoptózu (Zuo a spol., 1997). Zánik Purkyňových buněk je tedy přímým následkem mutace. Sekundárně ubývá granulárních buněk mozečku a neuronů dolní olivy v důsledku ztráty cíle jejich axonů, kterým jsou Purkyňovy buňky (Wetts a Herrup, 1982a,b). Degenerace je patrná od 8. dne po narození. V 26. dnu života zbývá 9 % Purkyňových buněk,

63. den pouze 3 % a 91. den již v mozečku mutantů typu Lurcher nejsou prakticky žádné Purkyňovy buňky a přežívá asi pouze 10 % granulárních buněk a 30 % neuronů dolní olivy (Caddy a Biscoe, 1976; Caddy a Biscoe, 1979). Hustota hvězdicových a košíčkových buněk v molekulární vrstvě kůry mozečku mutantů typu Lurcher je stejná jako u myši typu wild, ačkoliv objem molekulární vrstvy je u mutantů menší, což znamená, že musí docházet k úbytku těchto interneuronů (Vogel a spol., 2007). Caddy a Biscoe (1979) udávají, že Golgiho neurony se u mutantů Lurcher zdají být stejně četné jako u myši typu wild. Protože i granulární vrstva je redukována, znamená to opět snížení počtu Golgiho buněk (Vogel a spol., 2007).

Jelikož axony Purkyňových buněk jsou jediným výstupem z kůry mozečku, znamená ztráta těchto buněk její úplné funkční vyřazení. V mozečkových jádrech byly popsány jen mírné degenerativní změny (Heckroth, 1994a,b) a hyperinervace těchto jader serotoninergními vlákny (Strazielle a spol., 1996). Mutantní myši typu Lurcher jsou tedy velmi vhodným modelem dekortikace mozečku při relativním ušetření mozečkových jader.

Nepostížení homozygotní sourozenci těchto mutantů, tzv. wild typ (+/+), jsou zcela zdraví a představují ideální kontroly, se kterými jsou myši typu Lurcher v pokusech srovnávány. U postižených homozygotů (Lc/Lc) dochází ještě během intrauterinního života k hromadnému zániku neuronů v mozkovém kmeni a nejsou proto životaschopní (Cheng a Heintz, 1997; Resibois a spol., 1997).

Olivocerebelární degenerace má u myši typu Lurcher řadu funkčních důsledků. Od konce druhého týdne života se u nich začíná projevovat mozečková ataxie, která výrazně omezuje jejich motorické schopnosti a zhoršuje výsledky v různých testech motoriky (Lalonde a spol., 1992; Thullier a spol., 1997). Nezanedbatelná schopnost motorického učení je však u nich zachována (Le Marec a spol., 1997; Hilber a Caston, 2001; Křížková a Vožeh, 2004). Mutanti typu Lurcher mají vyšší excitabilitu CNS (Cendelín a Vožeh, 1999) a změněnou reaktivitu na bolest (Vožeh a spol., 2001b). Některé jejich neurony jsou citlivější k neurotoxickým vlivům (Caddy a Vožeh, 1997).

U mutantů typu Lurcher jsou také přítomny poruchy kognitivních funkcí, jejichž výskyt u těchto myši je v souladu s dnes uznávaným podílem mozečku v kognitivních procesech. Změny jsou též v klasickém podmiňování a to především ve výkonu podmíněné reflexní reakce v orofaciální oblasti (Porrás-García a spol., 2005).

Mutantní myši typu Lurcher mají výrazně sníženou schopnost prostorového učení nebo prostorové orientace (Lalonde a spol., 1988a; Vožeh a spol., 2001a; Cendelín a Vožeh, 2001, 2002; Porrás-García a spol., 2005). Pokusy v Morrisově vodním bludišti přitom

ukázaly, že nejde jen o artefakt způsobený motorickým znevýhodněním mutantů postižených ataxií a snížením jejich rychlosti pohybu v bludišti, ale že se skutečně jedná o poruchu učení nebo prostorové orientace (Hilber, 1998; Porrás-García a spol., 2005). Lalonde a Thifault (1994) vysvětlují horší výsledky mutantů typu Lurcher v Morrisově bludišti poruchou vizuomotorické integrace. Jistá schopnost prostorového učení je ovšem u myši typu Lurcher přesto zachována a projevuje se zkracováním latencí dosažení cíle (ostrůvku) při opakování pokusu v Morrisově bludišti (Porrás-García a spol., 2005). Prostorové učení je tradičně spojováno především s hipokampem, kam je kladena tzv. kognitivní mapa (O'Keefe a Nadel, 1978). Hipokampus samotný je u myši typu Lurcher údajně intaktní (Cheng a Heintz, 1997; Resibois a spol., 1997). Přesto u nich byly zjištěny odlišnosti v hipokampální dlouhodobé potenciaci ve smyslu jejího snížení (Barcal a spol., 2001, 2002).

Kromě nervových změn byly u mutantů typu Lurcher popsány i odlišnosti v imunitním systému. Ve věku 3 měsíců u nich byla zjištěna předčasná involuce thymu, zatímco ve věku 1 měsíce je thymus ještě téměř nezměněný (Mand'áková a spol., 2003, 2005). Neurodegenerace je u mutantů typu Lurcher provázána chronickým zánětlivým stavem patrným jak v mozku, tak v periférii. Dochází k nadprodukci prozánětlivých cytokinů, které mohou hrát roli v neurodegenerativním procesu a modulují imunitní i endokrinní funkce (Vogel a spol., 2007).

Mutantní myši typu Lurcher se vyskytují v několika kmenech. Specifické kmenové vlastnosti značně ovlivňují chování myši a výsledky řady pokusů. Při interpretaci pokusů je nutné tyto vlastnosti vzít v úvahu. V laboratoři Ústavu patologické fyziologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni jsou používány myši kmene C3H a kmene B6CBA. U obou kmenů se vyskytuje stejná mutace a tedy stejný typ olivocerebelární degenerace. U myši kmene C3H jsou udávány horší výsledky ve vodním bludišti ve srovnání s jinými kmeny myši (Brooks a spol., 2005; Cendelín a Vožeh, 2001, 2002; Cendelín a spol., 2001). U některých jedinců kmene C3H se navíc vyskytuje autosomálně recesivně dědičná retinální degenerace podmíněná homozygotní kombinací rd1/rd1 (Chang a spol., 2002). Retinální degenerace vede k zániku téměř všech fotoreceptorů a tedy prakticky ke slepotě, která nutně negativně ovlivňuje schopnost prostorové orientace a navigace ke skrytému i viditelnému cíli (Voller a spol., 2005; Korelusová a spol., 2007). Mezi kmeny existují také rozdíly v excitabilitě CNS a reakci na bolest (Vožeh a spol., 2001b).

#### 5.4. Neurotransplantace

Regenerace CNS je ve srovnání s jinými tkáněmi značně omezená. Přestože neurogeneze v dospělosti je dnes prokázána i u savců (Altman, 1962, 1963; Altman a Das, 1965; Gould a Gross, 2002; Dayer a spol., 2003), obnova neuronů je nedostatečná k opravě poškození a z klinického hlediska je zatím regenerace CNS u člověka nevýznamná. Onemocnění spojená s větší ztrátou neuronů mají proto mnohdy závažné a více či méně nereverzibilní následky.

Určitou naději představují neurotransplantace, tedy nahrazení zaniklých neuronů aplikací nových buněk – embryonální nervové tkáně, embryonálních kmenových buněk získávaných z embryí nebo adultních kmenových buněk pocházejících nejčastěji z kostní dřeně, ale i z jiných tkání dospělých jedinců. Kmenové buňky mají schopnost diferenciaci v různé typy tkání včetně nervové. Oba přístupy mají své výhody a nevýhody.

Návrat funkcí po transplantaci nervových buněk je možný spíše tam, kde je potřeba především doplnění počtu buněk, nikoliv důsledného obnovení jejich uspořádání a zapojení. Ideální pro buněčnou terapii se z tohoto hlediska zdá být Parkinsonova choroba. Tam, kde však je nutné přesné zapojení neuronů do nervových drah, jak motorických, tak sensorických, je funkční obnova problematická (Rossi a Cattaneo, 2002). Mattsson a spol. (1997) ovšem předpokládají, že zlepšení poškozených funkcí po mozkovém infarktu je dáno spíše trofickým působením transplantované embryonální tkáně než obnovou přerušovaných okruhů, protože vlákna propojující transplantát s tkání příjemce nejsou četná (Grabowski a spol., 1995).

Zlepšení funkcí po transplantaci vyžaduje rehabilitaci (Döbrössy a Dunnett, 2001). Jedinec se intenzivním tréninkem musí vlastně znovu naučit novou tkáň používat (Mayer a spol., 1992). Trénink a pestřejší prostředí přispívají k funkčnímu zlepšení a ovlivňují dokonce vývoj a morfologii transplantátu u laboratorních zvířat (Döbrössy a Dunnett, 2003, 2004) i u lidí (Polgar a spol., 1997; Brasted a spol., 1999).

V klinické praxi je používána transplantace embryonální tkáně *substantia nigra* k léčbě Parkinsonovy choroby u pacientů, u nichž není účinná konzervativní terapie, a vede k dlouhodobému zlepšení stavu u velké části z nich (Björklund a Lindvall, 2000). Ovlivnění dalších chorob CNS neurotransplantacemi je dosud spíše ve stadiu výzkumu na zvířatech. Vhodným experimentálním modelem pro výzkum této problematiky jsou laboratorní zvířata postižená nějakým neurodegenerativním onemocněním nebo ischemicky, chemicky či mechanicky navozeným poškozením CNS. Například bylo popsáno, že neurotransplantace může u laboratorních zvířat zlepšit kognitivní funkce po mozkovém traumatu (Gao a spol.,



2006) a ischemickém poškození hipokampu (Netto a spol., 1993). Transplantace fetálních striatálních neuronů vedla ke zmírnění poruchy učení a pohybové hyperaktivity u modelu Huntingtonovy choroby (Isacson a spol., 1986). Rovněž bylo prokázáno zlepšení motorických funkcí po transplantaci mozečkové tkáně myším s degenerativním poškozením mozečku (viz následující odstavec 4.4.1.).

#### **5.4.1. Transplantace mozečkové tkáně u zvířecích modelů degenerativních poškození mozečku**

Transplantace mozečkové tkáně je nejlépe prozkoumána u **pcd mutantů**, u kterých je prováděna nejčastěji (Triarhou, 1996) a které Triarhou (1996) považuje za ideální model pro mozečkové transplantace vzhledem ke stupni a časovému průběhu degenerace Purkyňových buněk. Je u nich popisována 100% úspěšnost transplantace suspenze embryonálních buněk mozečku i solidního mozečkového transplantátu (Sotelo a Alvarado-Mallart, 1986; Sotelo a Alvarado-Mallart, 1987b). Solidní transplantáty mají vytvořenou typickou mozečkovou strukturu s rozlišitelnými třemi vrstvami kůry (Triarhou a spol., 1987a). Purkyňovy buňky jsou schopné migrovat z transplantátu a osidlují především molekulární vrstvu kůry mozečku hostitele, pokud však proniknou až do blízkosti mozečkových jader, mohou jejich axony dosáhnout těchto jader a vytvořit s jejich buňkami synapse (Sotelo a Alvarado-Mallart, 1987b). U pcd mutantů bylo po transplantaci prokázáno výrazné zlepšení motorických schopností (Triarhou a spol., 1995, 1996; Zhang a spol., 1996).

U mutantních myší typu **Lurcher** nebyly transplantace mozečkové tkáně zkoumány zdaleka tolik jako u pcd myší. Jsou popisovány a předpokládány určité výhody myší Lurcher z hlediska jejich využití k neurotransplantacím (Heckroth a spol., 1998), ale také vážná omezení možnosti rekonstrukce degenerací porušených mozečkových okruhů pomocí transplantace (Triarhou, 1996). Jednou z udávaných výhod je defekt synaptogeneze Purkyňových buněk mutantů typu Lurcher (Dumesnil-Bousez a Sotelo, 1992; Heckroth a spol., 1990), takže transplantované normální Purkyňovy buňky údajně mohou snáze vytvořit synapse s vlákny ostatních typů buněk, která nejsou obsazena dosud přežívajícími Purkyňovými buňkami hostitele (Heckroth a spol., 1998).

Tomey a Heckroth (1993) uvádějí, že přežívání transplantátu u mutantů typu Lurcher je nižší než u pcd myší. Udávají přežití transplantátu aplikovaného ve formě suspenze po 1 až 2 měsících po transplantaci jen u 50 % dospělých i mladých mutantů Lurcher. Heckroth a spol. (1998) však zmiňují vynikající přežívání transplantátu u devadesátidenních myší typu Lurcher, kterým ve věku 8-10 dnů transplantovali suspenzi embryonálního mozečku. Udávají,

že buňky vytvářely agregáty, které se nacházely na povrchu mozečku hostitele a často pronikaly do jeho fisur. Dále pozorovali organotypickou organizaci transplantátu a invazi transplantovaných Purkyňových buněk do molekulární vrstvy kůry mozečku příjemce, která byla v místech kontaktu s transplantátem ztenčená. Transplantované buňky našli u myši typu Lurcher především v molekulární vrstvě i Tomey a Heckroth (1993), kteří aplikovali suspenzi buněk, a Dumesnil-Bousez a Sotelo (1993), kteří použili solidní kousky embryonálního mozečku, z nichž buňky migrovaly do hostitelského mozečku. Transplantované Purkyňovy buňky osidlující kůru mozečku mutantů typu Lurcher nemají zcela plošné uspořádání dendritických stromů jako normální buňky, což je vysvětlováno výrazným úbytkem paralelních vláken v mozečku hostitele, která jsou důležitá pro formování dendritů Purkyňových buněk (Dumesnil-Bousez a Sotelo, 1993; Tomey a Heckroth, 1993). Tomey a Heckroth (1993) dále uvádějí, že u části myši typu Lurcher našli vlákna transplantovaných buněk vrůstající do mozečkových jader. Podle Heckrotha a spol. (1998) může časná transplantace normálních embryonálních Purkyňových buněk u mutantů Lurcher předejít degeneraci granulárních buněk mozečku a neuronů dolní olivy, což je považováno za důkaz, že zánik těchto dvou druhů buněk je u mutantů typu Lurcher sekundární.

U mutantních myši typu **weaver** byla, stejně jako u *pcd* mutantů, v mozečkovém transplantátu získaném z geneticky normálních dárců vytvořená charakteristická mozečková struktura a Purkyňovy buňky vykazovaly normální cytologické znaky (Triarhou a spol., 1987a). Trojvrstevnou strukturu alespoň v části transplantátu pozorovali u těchto myši také Kohsaka a spol. (1988). U myši typu *weaver* byla také popsána migrace granulárních buněk z transplantátu do hostitelského mozečku (Takayama a spol., 1988).

U mutantních myši typu **nervous** zabránila transplantace neuronálních kmenových buněk zániku Purkyňových buněk a zlepšila motorickou koordinaci (Li a spol., 2006)

Kaemmerer a Low (1999) transplantovali suspenzi buněk mozečku transgenním **SCA1 myším**. 18-22 týdnů po transplantaci našli transplantované Purkyňovy buňky u 9 z 12 operovaných myši a popsali zlepšení v testu na rotarodu a zúžení baze při chůzi.

Je tedy patrné, že transplantované Purkyňovy buňky jsou schopné migrovat do molekulární vrstvy hostitele, jejíž hranice s granulární vrstvou je místem přirozeného výskytu těchto buněk a patrně je přitahuje (Alvarado-Mallart a Sotelo, 1993; Sotelo a Alvarado-Mallart, 1987a; Sotelo a spol., 1990). Granulární vrstva však představuje bariéru bránící migraci Purkyňových buněk hlouběji a omezující prorůstání jejich axonů do mozečkových jader. Tuto vlastnost má i velmi atrofická granulární vrstva dospělých mutantů typu Lurcher (Dumesnil-Bousez a Sotelo, 1993). Purkyňovy buňky transplantované intraparenchymálně do

oblasti hlubokých mozečkových jader však u pcd mutantů vytvořily synapse s buňkami jader a migrovaly směrem do mozečkové kůry a napodobily tak normální migrační cestu z ontogeneze mozečku (Triarhou a spol., 1992).

Transplantace mozečku vedla k zlepšení některých parametrů motorických funkcí u pcd myši (Triarhou a spol., 1995, 1996; Zhang a spol., 1996) a SCA1 myši (Kaemmerer a Low, 1999). Dosud nebyl zkoumán vliv transplantace mozečku na schopnost prostorového učení a orientace, které jsou, jak bylo uvedeno výše, u myši postižených degenerací mozečku rovněž narušené.

### **5.5. Vliv fyzické aktivity na kognitivní funkce**

Fyzická aktivita je prospěšná u mnoha neurologických onemocnění a je podstatou rehabilitační a režimové terapie. Význam má nejen u onemocnění, postihujících motoriku samotnou, ale i u chorob projevujících se kognitivními poruchami. Fyzická aktivita zvyšuje plasticitu nervového systému (Vaynman a spol., 2006) a zlepšuje tak kognitivní funkce u zvířat i lidí (Fordyce a Wehner, 1993; Laurin a spol., 2001).

Bylo zjištěno, že pohybová aktivita a obohacené prostředí mírní kognitivní deficit u několika zvířecích mutantních modelů kognitivních poruch (Huang a spol., 2006) a dokonce zvyšují neurogenezi v hipokampu (Kempermann a spol., 1997), strukturu mající klíčovou úlohu v prostorovém učení (O'Keefe a Nadel, 1978). Neurogeneze v hipokampu dospělých jedinců může mít význam pro formování dlouhodobé prostorové paměti (Snyder a spol., 2005). Zdá se, že působení fyzické aktivity na kognitivní funkce a plasticitu mozku je zprostředkováno BDNF (brain-derived neurotrophic factor) (Molteni a spol., 2004; Vaynman a spol., 2003, 2004). Cvičení skutečně vede k vzestupu BDNF v mozku (Berchtold a spol., 2005; Vaynman a spol., 2006).

U mutantů typu Lurcher vedlo obohacené prostředí ke zlepšení motorických funkcí a schopnosti prostorového učení (Caston a spol., 1999). Když se navíc pravidelně měnilo, mělo stimulovat explorační chování a tedy volní pohybovou aktivitu.

## 6. VÝCHODISKO

1. Mutantní myši typu Lurcher jsou jedním ze zvířecích modelů dědičného degenerativního onemocnění mozečku, v jehož důsledku postižení jedinci trpí poruchami motorických funkcí a zhoršeným prostorovým učením nebo prostorovou orientací.
2. Embryonální mozečková tkáň transplantovaná do cerebela myší postižených degenerativním procesem přežívá ve vysokém procentu po několik týdnů. U pcd mutantů a SCA1 myší bylo navíc popsáno zlepšení motorických funkcí po transplantaci embryonální mozečkové tkáně.
3. Funkční vliv transplantace embryonální tkáně mozečku u mutantních myší typu Lurcher nebyl dostatečně zkoumán.
4. Není známo, zda má transplantace embryonální tkáně mozečku vliv na schopnost prostorové orientace u myší s degenerativním postižením mozečku.
5. V úvahu nutno vzít i to, že fyzická aktivita má pozitivní vliv na kognitivní funkce, zvyšuje plasticitu nervového systému a dokonce zvyšuje neurogenezi v hipokampu a že trénink údajně přispívá k funkčnímu zlepšení po transplantaci.

## 7. CÍL PRÁCE

1. Posoudit možnost ovlivnění prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti u zvířecího modelu olivocerebelární degenerace - mutantních myší typu Lurcher - transplantací embryonální mozečkové tkáně a nucenou fyzickou aktivitou a i jejich kombinací.
2. Sledovat přežívání embryonálního mozečkového transplantátu u dospělých a mladých mutantních myší typu Lurcher.
3. Orientačně porovnat přežívání embryonálního mozečkového transplantátu u dospělých mutantních myší typu Lurcher a myší typu wild a posoudit tak, zda neurodegenerativní změny v mozečku hostitele mají významný vliv na osud transplantátu.

## 8. MATERIÁL A METODY

### 8.1. Uspořádání pokusu

Byly provedeny dva dílčí pokusy:

**1. Hodnotili jsme přežívání embryonálního mozečkového transplantátu u dospělých a mladých myší typu Lurcher kmene B6CBA a u dospělých myší typu wild téhož kmene** histologickým vyšetřením přítomnosti transplantátu ve třech obdobích po transplantaci (přibližně po 3, 6 a 9 týdnech).

Tento pokus orientačně mapuje přežívání transplantátu u myší typu Lurcher v období před ukončením testů prostorové orientace a histologickým vyšetřením transplantátů ve druhém pokusu. Kromě toho srovnání přežívání transplantátu u dospělých myší Lurcher s pokročilou degenerací mozečku a u zdravých myší typu wild umožní posoudit, zda má patologicky změněné prostředí hostitelské tkáně zásadní vliv na přežívání transplantátu.

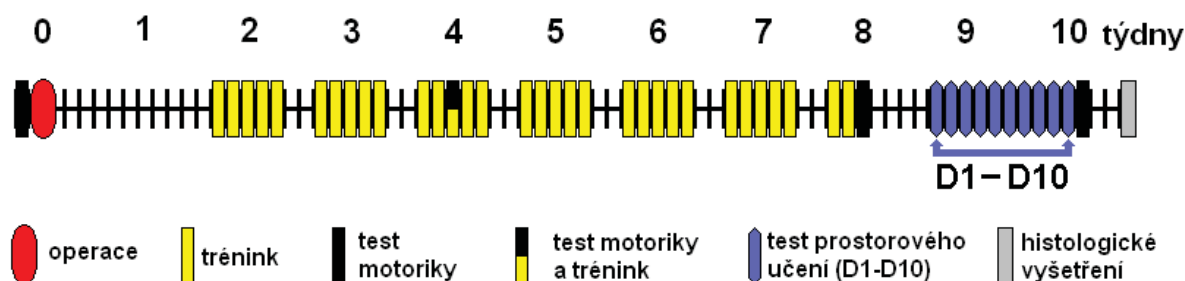
**2. Sledovali jsme vliv transplantace embryonální tkáně mozečku, nucené fyzické aktivity a kombinace transplantace a fyzické aktivity na schopnost prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti u dospělých a mladých myší typu Lurcher kmene B6CBA.** Myši kmene B6CBA byly zvoleny proto, že na rozdíl od myší kmene C3H se u nich nevyskytuje dědičná retinální degenerace, která by ovlivnila výsledky testu prostorové orientace. Nucená fyzická aktivita spočívala v opakovaném tréninku na rotarodu.

Byly vytvořeny následující experimentální skupiny myší: trénované myši typu Lurcher, kterým byl aplikován transplantát, netrénované myši Lurcher, kterým byl aplikován transplantát, trénované myši Lurcher podrobené kontrolní operaci, netrénované myši Lurcher podrobené kontrolní operaci. Poslední skupinou byly netrénované myši typu wild podrobené kontrolní operaci, které představovaly zdravé kontroly. Všechny skupiny byly dále rozděleny na mladé a dospělé jedince.

Prostorová orientace byla vyšetřována 9 týdnů po operaci. Kromě toho byly provedeny testy motorické koordinace 4, 8 a 10 týdnů po operaci a u dospělých zvířat i před operací. Motorické testy nejsou předmětem této práce a jsou zmiňovány pro úplnost informací o průběhu pokusu. Jejich detailní popis je uveden v příslušných publikacích (Cendelín a spol., 2007, 2008, v tisku). Uspořádání pokusu je schématicky znázorněno na obr. 1.

U myší, kterým byl aplikován transplantát, bylo po skončení funkčních pokusů, tedy 10-11 týdnů po operaci, provedeno histologické vyšetření přežívání transplantátu. Funkční pokusy byly hodnoceny jen u těch z nich, u kterých byl transplantát nalezen.

Časové rozvržení pokusu vycházelo z literárních údajů, které popisují u myší typu Lurcher významné přežívání embryonálního mozečkového transplantátu v rozmezí 1 až 3 měsíců po transplantaci (Tomey a Heckroth, 1993; Heckroth a spol., 1998; Dumesnil-Bousez a Sotelo, 1993), u pcd mutantů 2-3 měsíce po transplantaci (Sotelo a Alvarado-Mallart, 1986), zlepšení motorických funkcí v období 6 týdnů po transplantaci u pcd mutantů (Triarhou a spol., 1996) a 6 až 10 týdnů po transplantaci u SCA1 myší (Kaemmerer a Low, 1999). Více než padesátiprocentní pravděpodobnost přežití transplantátu u myší typu Lurcher kmene B6CBA (značen též C57Bl/7) do třetího měsíce po operaci naznačily i předběžné výsledky pokusu číslo 1 (Cendelín a spol., 2006a,b).



**Obr. 1:** Časové schéma pokusu sledujícího vliv transplantace embryonální tkáně mozečku a nucené fyzické aktivity (tréninku na rotarodu) na schopnost prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti.

## 8.2. Pokusná zvířata

Použity byly myši typu Lurcher (+/Lc) a wild (+/+) kmene B6CBA obou pohlaví z konvenčního chovu Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni. Pokusné myši byly získávány zásadně křížením samice typu wild (+/+) a samce typu Lurcher (+/Lc) téhož kmene. Tímto křížením bylo získáno přibližně 50 % mláďat typu Lurcher a 50 % mláďat typu wild. Neživotaschopní homozygoti (Lc/Lc) se samozřejmě nevyskytovali. Voda a potrava byly dostupné *ad libitum*. Teplota v chovném zařízení byla 22-24 °C a vlhkost vzduchu byla udržována v rozmezí 60-80 %. Periody světla a tmy se střídaly pravidelně po 12 hodinách (6-18/18-6). Pokusy byly prováděny během světlé periody (v době od 7. do 16. hodiny).

Myši byly drženy v plastových chovných klecích s drátěným víkem. Mláďata byla odstavena od matky ve věku 27-29 dní. V pokusu sledujícím přežívání transplantátu byli samci a samice po odstavu odděleni a umístěni po 1-4 jedincích (1 myš v kleci o rozměrech 11 × 25 cm a výšce 14 cm, 2-4 myši v klecích o rozměrech 18 × 25 cm a výšce 14 cm). Myši

použité ke sledování prostorové orientace byly po odstavu v případě mladých zvířat nebo po operaci v případě dospělých umístěny jednotlivě v klecích o rozměrech 11 × 25 cm a výšce 14 cm. Individuální umístění bylo zvoleno pro zajištění standardních podmínek. Umístění více zvířat v jedné kleci by znamenalo riziko nestejněho ovlivnění chování zvířat sociálními vztahy ve skupině a vzájemnou agresivitou. Předpokládalo by vytvoření stejně početných skupin myši stejného pohlaví pocházejících z jednoho vrhu. V ideálním případě by bylo nutné i oddělení myši typu wild a Lurcher, neboť podle našich pozorování jsou myši typu Lurcher častěji cílem agrese myši typu wild než naopak (nepublikované pozorování). Vzhledem k nestejnému počtu samců, samic, myši typu wild a Lurcher v jednotlivých vrzích by bylo takové řešení nepraktické.

**V pokusu sledujícím přežívání transplantátu** bylo celkem použito 133 myší. Do skupiny dospělých myší byla zařazována zvířata starší než 50 dní (průměrný věk: 131,8 dne, směrodatná odchylka: 57,8, maximum: 338 dnů, minimum: 57 dnů). V tomto věku je u myši typu Lurcher olivocerebelární degenerace již značně pokročilá. Mladé myši byly operovány ve věku 12-18 dnů (průměrný věk: 13,8 dne, směrodatná odchylka: 0,9), kdy je podle projevů ataxie již možné odlišit jedince typu Lurcher a wild.

Počty zvířat v jednotlivých skupinách byly následující:

Mladé myši Lurcher: n=42

Dospělé myši Lurcher: n=50

Dospělé myši wild: n=41

**V pokusu sledujícím vliv transplantace, nucené motorické aktivity a jejich kombinace na schopnost prostorové orientace** bylo použito celkem 158 zvířat. Věk dospělých zvířat v den operace byl rovněž nejméně 50 dnů (průměrný věk: 112,7 dne, směrodatná odchylka: 38,9, maximum: 254 dnů, minimum: 50 dnů). Mladé myši byly operovány ve věku 12-18 dnů (průměrný věk: 13,7 dne, směrodatná odchylka: 1,2).

Počty zvířat v jednotlivých skupinách byly následující:

Dospělé myši Lurcher, transplantace, trénované: n=12

Dospělé myši Lurcher, transplantace, netrénované: n=31

Dospělé myši Lurcher, kontrolní operace, trénované: n=15

Dospělé myši Lurcher, kontrolní operace, netrénované: n=21

Dospělé myši wild, kontrolní operace: n=10

Mladé myši Lurcher, transplantace, trénované: n=12

Mladé myši Lurcher, transplantace, netrénované: n=19

Mladé myši Lurcher, kontrolní operace, trénované: n=14

Mladé myši Lurcher, kontrolní operace, netrénované: n=16

Mladé myši wild, kontrolní operace: n=8

V uváděných počtech zvířat a charakteristice souborů nejsou zahrnuti jedinci, kteří uhynuli během operace, nebo po operaci ještě před ukončením pokusů, a kteří tedy nemohou být součástí hodnocených souborů.

Pokusy byly prováděny se souhlasem Odborné komise pro práci s pokusnými zvířaty LF UK v Plzni a v souladu s etickými a právními normami.

### **8.3. Statistické zpracování**

Ke statistickému zpracování byly použity programy Statistica 7.0 a GraphPadInStat 3.06. Normalita rozložení dat byla testována Kolmogorovovým-Smirnovovým testem. Protože žádný ze souborů dat nevykazoval normální rozložení, byly dále použity neparametrické testy, které jsou jmenovány vždy na závěr popisu způsobu hodnocení výsledků jednotlivých pokusů. Za statisticky významné byly považovány rozdíly, pro které bylo  $p < 0,05$ .

### **8.4. Transplantace embryonální mozečkové tkáně**

Transplantace byla provedena způsobem odvozeným z metody používané například v laboratořích prof. Rossiho a prof. Sotela (Rossi a spol., 1992, 1994; Sotelo a Alvarado-Mallart 1987b; Dumesnil-Bousez a Sotelo, 1993).

Pokusným zvířatům byla transplantována embryonální mozečková tkáň ve formě solidního transplantátu. Tento způsob se ukázal z hlediska přežívání transplantátu vhodnější ve srovnání s aplikací buněčné suspenze (Schmidtmayerová a spol., 2005). Manipulace s embryi a disekce mozečku probíhala ve studeném roztoku, který byl použit i pro skladování transplantátu a jako vehikulum při jeho aplikaci. Roztok byl připraven rozpuštěním 9 g chloridu sodného a 6 g glukózy v 1 l redestilované vody a byl sterilizován filtrací jednorázovým sterilizačním filtrem Steritop (Millipore) s průměrem pórů 0,22  $\mu\text{m}$ .



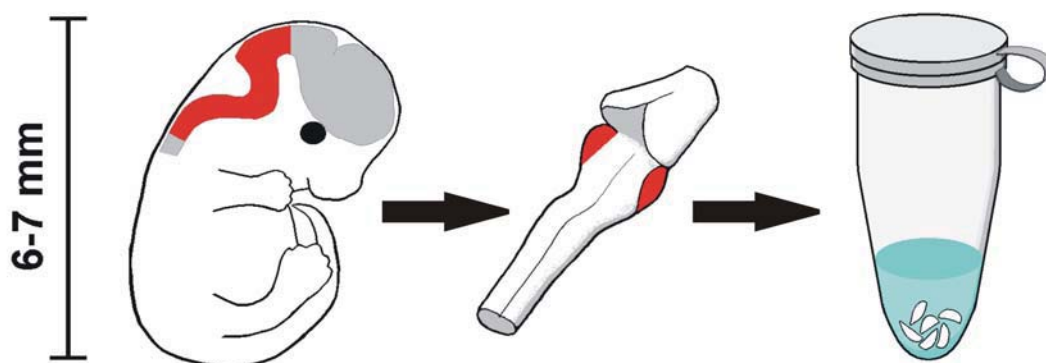
#### **8.4.1. Dárce transplantátu**

Dárce tkáně byla embrya myší bez mutace Lurcher nesoucí gen pro zelený fluoreskující protein (GFP). Embrya byla získána zkřížením samice stejného kmene, ze kterého pocházel příjemce tkáně (B6CBA), a GFP pozitivního samce kmene C57BL/6-Tg(ACTB-EGFP)1Os/J. Gestační stáří embryí v den odběru transplantátu bylo 12-13 dní (E12-13) a bylo určováno podle data vložení samce do chovné klece s dárcovskou samicí (odpoledne). Následující den byl počítán jako nultý. Samec byl vyjmut další den dopoledne. Gravidní samice byly identifikovány podle výrazného vzestupu tělesné hmotnosti. Odběr embryí a transplantace proběhly 12 dní po odstranění samce z chovné klece s dárcovskými samicemi. V tomto dnu tedy bylo stáří embryí 12, respektive 13 dnům podle toho, kdy došlo k oplození.

#### **8.4.2. Odběr transplantátu**

Gravidní dárcovské samice byly hluboce anestetovány thiopentalem. Po důkladné dezinfekci břicha septonexem, byla prostřižena břišní stěna a děloha byla vysunuta z břišní dutiny. Embrya byla vyjímána nejprve z jednoho rohu, pak z druhého, vždy od horního pólu kaudálním směrem. Tento postup udržuje nejdéle cévní zásobení placenty embrya, které je vyjmut jako poslední. Embrya byla vkládána do Petriho misky s chladným roztokem (složení viz výše). Embrya byla dekapitována a hlavy byly přeneseny do další Petriho misky s čistým roztokem. Přítomnost GFP byla ověřena ozářením ultrafialovou lampou. Dále použita byla jen zeleně fluoreskující embrya, která byla přenesena do další misky s roztokem.

Z hlav embryí byl pod stereoskopickým mikroskopem vypreparován mozkový kmen. Důkladně byly odstraněny meningy. Základ mozečku nacházející se po stranách spodiny budoucí čtvrté mozkové komory byl oddělen v podobě dvou srpkovitých nebo přibližně polokruhovitých kousků tkáně (obr. 2). Kousky embryonálního mozečku byly shromážděny do plastové zkumavky (Eppendorf) s výše popsáním roztokem, uloženy v kádince s ledovou tříští a takto uchovávány do doby transplantace příjemci. Tato doba byla pokud možno co nejkratší a v žádném případě nepřesáhla 5 hodin. Ze všech použitelných embryí získaných z jedné samice byly odebrány mozečky. Ty byly shromážděny v jedné zkumavce a pak transplantovány příjemcům. Teprve poté byla případně použita další gravidní samice. Jednomu příjemci byly aplikovány 2 kousky embryonálního mozečku, tedy množství odpovídající tkáni získané z jednoho embrya (vzhledem ke smíchání všech kousků tkáně získaných ze všech embryí pocházejících od stejné matky nemusely být oba kousky z téhož jedince).



**Obr. 2:** Schéma preparace embryonálního mozečku. Červeně je zbarvena část mozkového kmene se základy mozečku, která byla vypreparována (vlevo) a základ mozečku po stranách budoucí spodiny čtvrté komory (uprostřed).

#### 8.4.3. Aplikace transplantátu

Dospělí příjemci transplantátu byli anestetizováni směsí ketaminu a xylazinu aplikovanou intraperitoneálně v dávce 2,8 ml/kg tělesné hmotnosti. Roztok anestetika byl připraven smícháním 20 objemových dílů 5% roztoku ketaminu a 8 objemových dílů 2% roztoku xylazinu. Výsledná dávka ketaminu tak byla 100 mg/kg tělesné hmotnosti, xylazinu 16 mg/kg tělesné hmotnosti. Mladým myším bylo aplikováno 0,01 ml směsi anestetik bez ohledu na tělesnou hmotnost a tato anestézie byla doplněna kryoanestézií.

Postup operace byl následující. Anestezované myši byla ostrihávána srst v parietální a okcipitální oblasti hlavy a tato oblast byla potřena dezinfekčním roztokem. Myš byla upevněna do stereotaxického aparátu a operační pole bylo opět vydezinfikováno. Na oční rohovky byl kápnut fyziologický roztok a oči byly překryty vrstvičkou buničité vaty zvlhčené rovněž fyziologickým roztokem k prevenci osychání rohovek. Kožní řez byl veden skalpelem ve střední čáře v zadní části parietální oblasti a v okcipitální oblasti hlavy. Délka řezu byla asi 1 cm. Šíjové svalstvo bylo tupě preparováno ve střední čáře tak, aby byl získán přístup k okcipitální kosti v oblasti mezi a pod úponem šíjových svalů a k atlantookcipitální membráně. Atlantookcipitální membrána byla punktována injekční jehlou (22 G), aby unikl malý objem mozkomíšního moku. Tím vznikl v lebce prostor pro transplantát a vehikulum a omezilo se riziko úniku vehikula s transplantátem ven z lebky. V okcipitální kosti ve střední čáře těsně pod úpony šíjových svalů (Bregma – 8,7 mm) byl vyvrtán otvor o průměru do 2 mm. Dva kousky embryonálního mozečku v 10  $\mu$ l vehikula (složení viz výše) byly injikovány do otvoru v lebce skleněnou mikrokapilárou (průměr kapiláry 2 mm, průměr konce hrotu 0,75 mm) spojenou silikonovou hadičkou s mikrostříkačkou Hamilton o objemu 10  $\mu$ l. Celý

system byl naplněn vehikule. Hrot mikrokapiláry zasahoval 1-1,5 mm pod vnější povrch lebky. Po aplikaci transplantátu byl hrot mikrokapiláry ponechán několik sekund v otvoru. Poté byl vyjmut. Rána byla sešita jednotlivým stehem v jedné vrstvě vstřebatelným šicím materiálem (Catgut, Monolac, Chirlac rapid, Chirmax s.r.o.). Myš byla uvolněna ze stereotaxického držáku. Rána byla dezinfikována. Myš byla uložena na vyhřívací podložce, dokud se neobjevila spontánní motorická aktivita. Poté byla vrácena do chovné klece.

Dospělým i mladým kontrolním myším typu Lurcher a myším typu wild byla provedena kontrolní operace. Postup byl shodný s průběhem transplantace s tím rozdílem, že místo transplantátu bylo aplikováno samotné vehikulum v objemu 10  $\mu$ l.

Během operace nebo po operaci, ještě před ukončením pokusů, uhynulo přibližně 10 % operovaných zvířat.

## **8.5. Vyšetření přítomnosti a morfologie transplantátu**

Mozečky a mozkové kmeny myší, kterým byl aplikován transplantát byly vyšetřeny histologicky ke zjištění přežívání transplantátu a k orientačnímu posouzení jeho lokalizace a struktury.

Odběr vzorků tkáně k vyšetření byl proveden u myší použitých pro sledování přežívání transplantátu přibližně 3 (17-25 dnů), 6 (38-46 dnů) a 9 týdnů (59-67 dnů) po transplantaci. 3 týdny po transplantaci bylo vyšetřeno 13 mladých myší typu Lurcher, 17 dospělých myší typu Lurcher a 13 dospělých myší typu wild. 6 týdnů po transplantaci bylo vyšetřeno 13 mladých myší Lurcher, 17 dospělých myší Lurcher a 13 dospělých myší typu wild. 9 týdnů po transplantaci bylo vyšetřeno 16 mladých myší Lurcher, 16 dospělých myší Lurcher a 15 dospělých myší typu wild.

U všech myší, kterým byl aplikován transplantát a u nichž byl sledován funkční vliv transplantace a fyzické aktivity, bylo histologické vyšetření provedeno po skončení funkčních pokusů, tj. 10-11 týdnů po transplantaci.

### **8.5.1. Histologické zpracování**

Pokusná zvířata byla hluboce anestetizována intraperitoneálně aplikovaným thiopentalem a transkardiálně perfundována fosfátovým pufrům (pH 7,4) a 4% paraformaldehydem (pH 7,4). Mozky byly vyjmuty a vloženy na několik dnů do 4% paraformaldehydu (pH 7,4) k postfixaci. Pak byly vloženy na 16-20 hodin (přes noc) do 30% roztoku sacharózy ke kryoprotekci a zmrazeny. Mozkový kmen, mozeček byly krájeny

kryostatem na 50 $\mu$ m frontální řezy, které byly ukládány do jamek platíčka s fosfátovým pufrem (pH 7,4).

Přítomnost transplantátu byla zjišťována v nativních řezech pomocí fluorescenčního mikroskopu. Protože buňky dárce (a buňky vzniklé jejich dělením) exprimovaly GFP, zatímco tkáň hostitele nikoliv, byly zeleně fluoreskující buňky považovány za buňky transplantátu nebo buňky vzniklé jejich proliferací. Fluorescenční mikroskopie umožnila rovněž posoudit velikost transplantátu, jeho kompaktnost nebo naopak prostoupení nefluoreskující tkání a identifikovat jednotlivé buňky, které migrovaly z transplantátu do hostitelské tkáň.

Za jedince, u kterého transplantát přežil do doby usmrcení, bylo považováno zvíře, u něhož byla nalezena zeleně fluoreskující tkáň, byť se jednalo několik buněk.

Po vyšetření a fotografické dokumentaci nativních preparátů pomocí fluorescenčního mikroskopu byly řezy obarveny dle Nissla za účelem detailnějšího posouzení morfologie transplantátu. Postup byl následující. Řezy byly napnuty na želatinovaná podložní skla. Po zaschnutí byla skla s řezy postupně vkládána do etanolu s formaldehydem (složení roztoku: 200 ml 95% etanolu, 50 ml 40% formaldehydu) na 5 minut, do 95% etanolu na 2 minuty, směsi chloroformu, etanolu a éteru (složení roztoku: 240 ml chloroformu, 30 ml 96% etanolu, 30 ml diethyléteru) na 10 minut. Poté byly řezy dehydratovány v 95% etanolu (2 minuty), v *spiritus absolutus* (2 minuty) a vloženy na 5 minut do xylenu. Následovala postupná rehydratace v *spiritus absolutus* (2 minuty), 95% etanolu (2 minuty) a destilované vodě (2 minuty). Vlastní obarvení proběhlo v 1% vodném roztoku thioninu po dobu 14 minut. Potom byly preparáty ponořeny na několik sekund do destilované vody s několika kapkami kyseliny octové. Následovala dehydratace v 70% etanolu s několika kapkami kyseliny octové (několik s), 95% etanolu (2 minuty) a v *spiritus absolutus* (2 minuty). Pak byly preparáty projasňovány dvakrát po 5 minutách v xylenu a nakonec zality médiem NEO-ENTELAN a překryty krycími skly.

Obdobným způsobem byly obarveny dle Nissla řezy mozečku vybraných kontrolně operovaných zvířat k posouzení případných známek poranění vpichem kapiláry.

### **8.5.2. Hodnocení přežívání transplantátu**

Přežívání transplantátu bylo hodnoceno jako podíl (procento) zvířat, u nichž byl transplantát nalezen, z celkového počtu zvířat, kterým byl aplikován. Za jedince s přežívajícím transplantátem byla považována ta zvířata, u kterých byl nalezen alespoň malý kousek fluoreskující tkáň nebo několik fluoreskujících buněk. K porovnání přežívání

transplantátu v jednotlivých skupinách myší byl použit Fisherův test. K porovnání výskytu diferencované typické struktury mozečkové kůry v transplantátu a k porovnání výskytu prorůstání nervových vláken nebo buněk z transplantátu do okolní tkáně mezi jednotlivými skupinami byl použit rovněž Fisherův test.

## **8.6. Nucená fyzická aktivita**

Část myší typu Lurcher po transplantaci nebo po kontrolní operaci byla vystavena opakovanému nucenému tréninku na rotarodu. Průměr válce rotarodu byl 4 cm, délka segmentů válce pro jednotlivé myši 6,5 cm. Po obou stranách byly segmenty ohraničeny kotouči z červeného plastu o průměru 22 cm soustřednými s válcem, které zamezovaly pádu myši do strany a kontaktu myši v sousedních segmentech. Povrch válce byl potažen drsnou gumovou vrstvou. Rychlost rotace byla 4 otáčky za minutu.

Trénink byl zahájen 12 dní po operaci. Probíhal v 6 pětidenních cyklech, mezi kterými byly dvoudenní přestávky, tedy po 6 týdnů, a dva dny v sedmém týdnu. Celkem byl trénink proveden v 32 dnech. Denně strávily myši na rotarodu celkem 8 minut. Trénink byl rozdělen do 4 dvouminutových úseků, mezi kterými byly pětiminutové přestávky. Myš byla umístěna na rotarod hlavou proti směru rotace a bylo zahájeno měření času. Pokud myš spadla, automaticky přerušila měření času. Co nejrychleji byla vrácena na rotarod a současně bylo měření času opět spuštěno a pokračovalo od hodnoty v okamžiku přerušení. Takto se procedura opakovala, dokud celkový čas strávený na rotarodu nedosáhl 120 s.

Druhá část myší typu Lurcher byla ponechána bez tréninku, stejně jako všechny myši typu wild.

## **8.7. Test prostorového učení**

Prostorová orientace a schopnost prostorového učení byla vyšetřována metodou Morrisova vodního bludiště (Morris, 1984). Jde o standardní metodu výzkumu prostorového učení používanou u laboratorních potkanů a myší. Pokusný objekt se učí v kruhovém bazénu naplněném vodou hledat ostrůvek. Použili jsme bílý plastový kruhový bazén o průměru 95 cm. Hloubka vody byla 20 cm, výška stěny nad hladinou byla 10 cm. Teplota vody byla udržována v rozmezí 26-29 °C, aby bylo omezeno prochladnutí myší. To hrozí více mutantům typu Lurcher, kteří mají potíže s vysušením srsti i při poměrně dlouhých intervalech mezi jednotlivými starty. Ostrůvek byl vyroben ze skla a průhledného plastu. Jeho kruhová

plošina měla průměr 7,5 cm a byla ponořena 0,5 cm pod hladinou vody. Ostrůvek byl tedy pro plavající myš skrytý. V bludišti nebyly žádné vnitřní značky. K orientaci mohla zvířata využít objekty v okolí bludiště, například plakát na stěně laboratoře, zářivky na stropě, okno (po celou dobu experimentu zatemněné, laboratoř byla osvětlena umělým osvětlením), kamera zavěšená nad středem bludiště, laboratorní nábytek. Na obvodu bludiště byly určeny 4 startovní body pracovně označené jako sever (S), jih (J), západ (Z) a východ (V). Ostrůvek byl trvale lokalizován ve středu jihozápadního kvadrantu.

Pokus byl zahájen 61 dnů po operaci (v případě trénovaných myší to znamená 6 dnů po posledním dnu tréninku) a probíhal stejným způsobem 10 po sobě následujících dnů. Denně byly provedeny 4 starty, každý z jiného startovního bodu v pořadí S, J, Z, V. Důvodem pro střídání startovních pozic bylo ztížení možnosti idiotetické navigace k cíli. Vpuštění myši do bludiště probíhalo následovně: Myš byla donesena ke startovnímu bodu, cestou i v místě startu bezprostředně před vypuštěním, avšak ještě vně bludiště, byla několikrát zhroupnuta do strany (ke ztížení identifikace startovního bodu idiotetickými mechanismy navigace) a vložena do bludiště hlavou ke stěně. V bludišti byla každá myš ponechána nejvýše 60 s. Pokud do té doby nenašla ostrůvek sama, byla na něj navedena experimentátorem. Bez ohledu na to, zda myš ostrůvek našla nebo na něj byla navedena, byla po každém startu ponechána na ostrůvku 30 s. Poté byla vrácena do plastové klece, kde setrvala do dalšího startu. Přestávky mezi starty trvaly 12 minut.

Pohyb myši byl registrován automatickým stopovacím zařízením EthoVision 3.0 (Noldus, Nizozemsko) sestávajícím z kamery umístěné nad středem bludiště, monitoru a počítače s příslušným software pro identifikaci pokusného objektu v bludišti, ukládání údajů o jeho poloze v čase a řízení registrace. Registrace byla automaticky ukončena, pokud myš vyšplhala na ostrůvek nebo se alespoň zachytila na jeho okraji.

Měření byly latence dosažení ostrůvku, délka dráhy a průměrná rychlost plavání. Latence dosažení ostrůvku představuje dobu mezi startem a dosažením ostrůvku. V případě nenalezení ostrůvku byla hodnota latence dosažení ostrůvku určena jako maximální doba trvání jednoho pokusu, tj. 60 s. Délka dráhy představovala vzdálenost uplavanou za celou dobu registrace, tj. mezi startem a dosažením ostrůvku, popřípadě za celou dobu 60 s, nedosáhla-li myš ostrůvku. Pro každého jedince byly vypočítány průměrné hodnoty ze čtyř startů provedených v daném dnu pokusu a teprve tyto hodnoty byly dále zpracovávány (tím byl odstraněn například vliv různé vzdálenosti ostrůvku od jednotlivých startovních bodů).

K posouzení významnosti změny latencí, délek dráhy a rychlosti plavání v průběhu pokusu byla pro jednotlivé skupiny použita Friedmanova ANOVA. Dále byl hodnocen poměr

latencí dosažení ostrůvku poslední a první den pokusu (D10/D1) a obdobně poměr délky dráhy poslední a první den pokusu, které jsou ukazatelem míry změny parametrů a indikátorem učení. K posouzení závislosti všech sledovaných parametrů (latencí, délek dráhy a rychlosti v jednotlivých dnech pokusu, poměrů latencí a poměrů délek dráhy) na experimentální skupině byl použit Kruskal-Wallisův test (nezávisle proměnná: experimentální skupina). Pro parametry identifikované jako statisticky významně se lišící mezi skupinami byl následně použit Mann-Whitneyův test jako post-test k posouzení významnosti rozdílů mezi jednotlivými skupinami (nebyly srovnávány všechny možné kombinace dvou experimentálních skupin, ale byla provedena pouze ta srovnání, která byla předmětem zájmu). Pro parametry, které naopak nezávisely statisticky významně na experimentální skupině, nebyly rozdíly mezi jednotlivými skupinami dále uvažovány.

Z myší, kterým byl aplikován transplantát, byly k vyhodnocení výsledků testu prostorové orientace použity jen ty, u kterých transplantát přežil do doby ukončení pokusů a byl nalezen histologickým vyšetřením. Zvířata, u nichž transplantát nalezen nebyl, byla vyloučena ze souboru, protože u nich nebyl doklad o alespoň dočasném působení transplantátu.

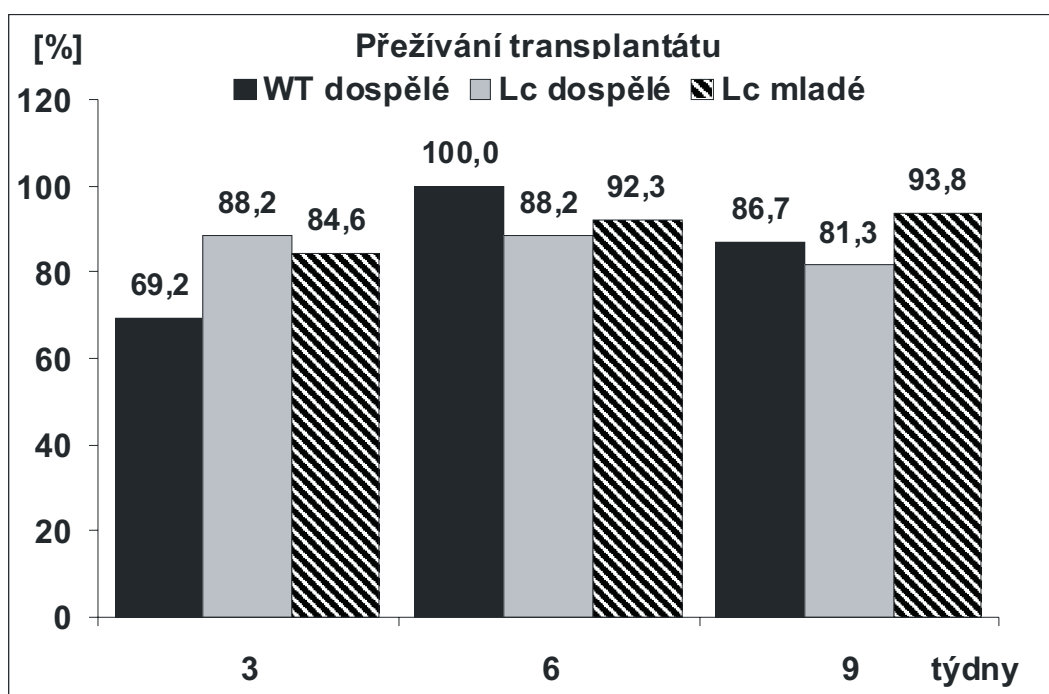
## 9. VÝSLEDKY

### 9.1. Přežívání a morfologie transplantátu

Nebyly zjištěny významné rozdíly v přežívání transplantátu mezi jednotlivými skupinami pokusných myší a v žádné skupině myší nebyla patrná tendence k poklesu výskytu transplantátu s prodlužující se dobou po operaci. Počty zvířat, u kterých byl transplantát nalezen histologickým vyšetřením, a počty myší, u nichž zanikl, jsou uvedeny v tab. 1. Procentuální vyjádření přežívání transplantátu je znázorněno v grafu (obr. 3).

Přežívání transplantátu						
Týdny po operaci	3		6		9	
	ano	ne	ano	ne	ano	ne
Dospělé WT	9	4	13	0	13	2
Dospělé Lc	15	2	15	2	13	3
Mladé Lc	11	2	12	1	15	1

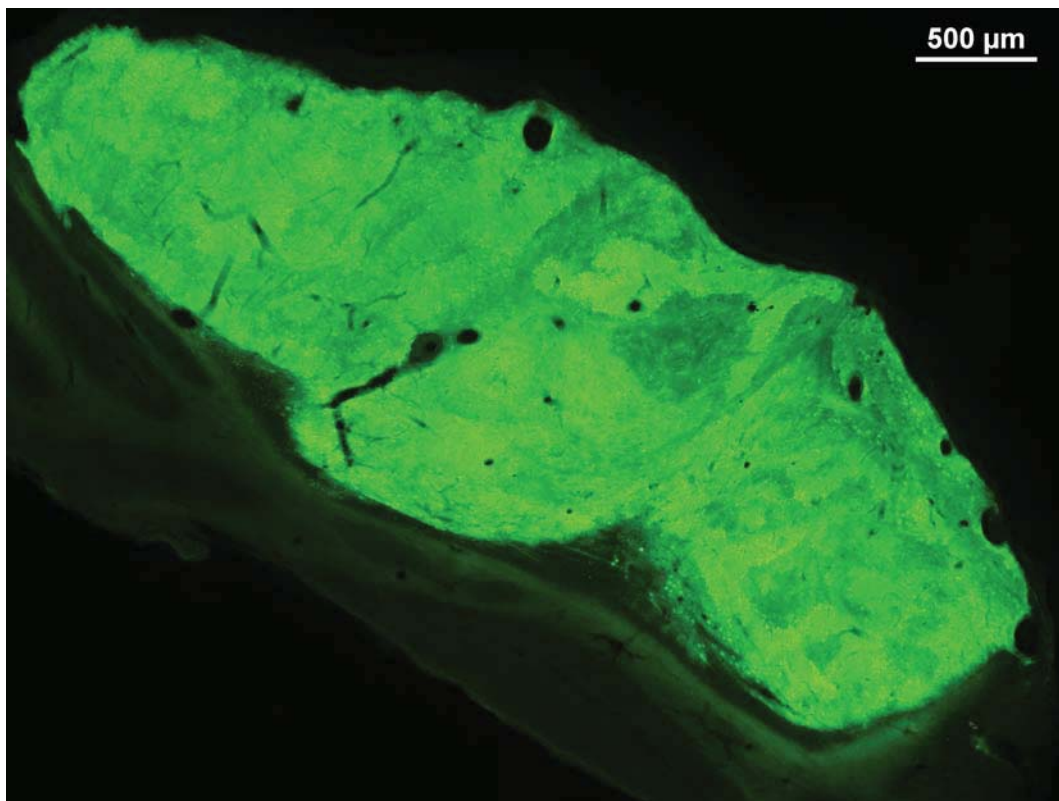
**Tab. 1:** Počty dospělých myší typu wild (WT) a dospělých a mladých myší Lurcher (Lc) vyšetřených 3, 6 nebo 9 týdnů po transplantaci, u kterých byl nalezen transplantát, a počty zvířat, u kterých transplantát nalezen nebyl.



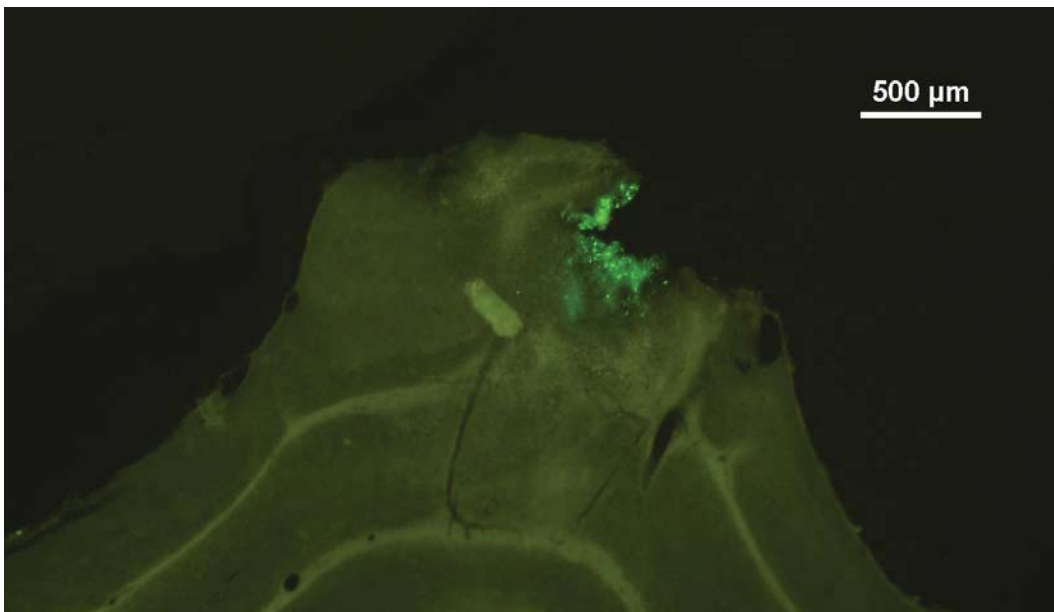
**Obr. 3:** Přežívání transplantátu u dospělých myší typu wild (WT) a dospělých a mladých mutantů typu Lurcher (Lc) 3, 6, a 9 týdnů po transplantaci v % jedinců, kterým byl transplantát aplikován.



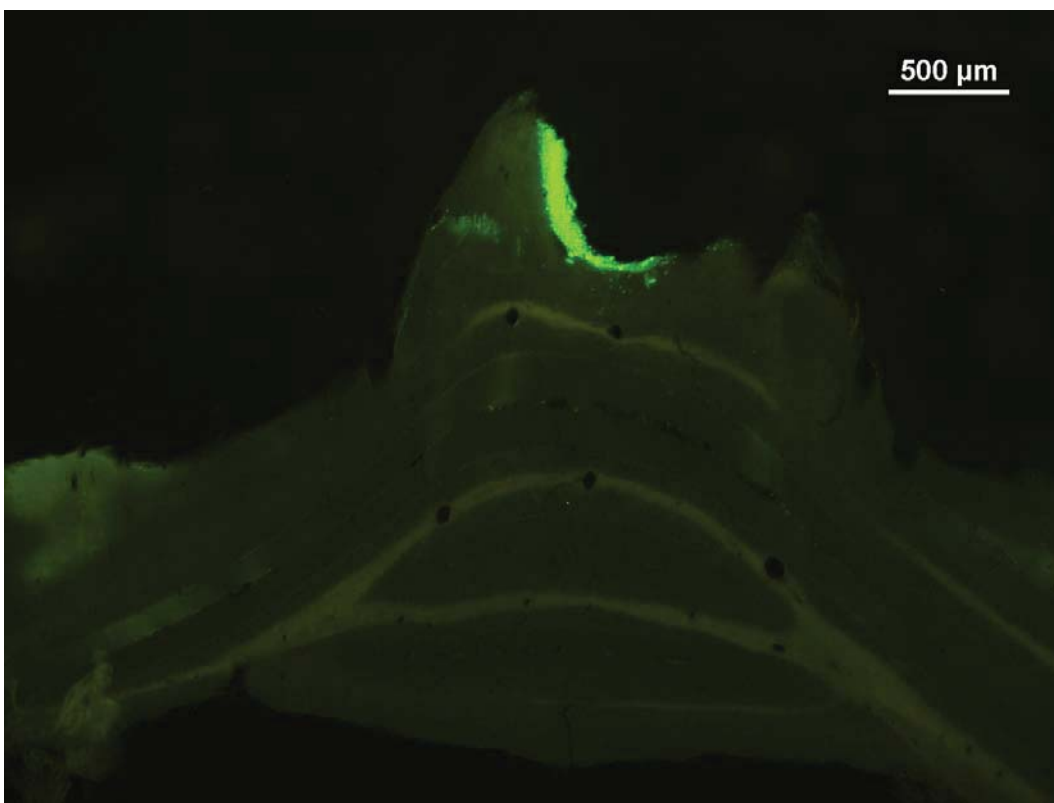
U některých zvířat byl nalezen jen jeden transplantát. Jindy bylo nalezeno více menších kousků fluoreskující tkáně (až pět) mnohdy od sebe značně vzdálených. Velikost transplantátu kolísala od útvarů o průměru v transversálním směru až 5 mm překrývajících více než polovinu povrchu hostitelského mozečku (obr. 4) po několik jednotlivě roztroušených buněk nebo shluk několika buněk (obr. 5, 6). Pod velkými transplantáty byl mozeček příjemce deformovaný a výrazně zploštělý (obr. 9). Menší transplantáty lokalizované na mozečku příjemce měly mnohdy nekompaktní strukturu a v jejich okolí bylo patrné narušení struktury mozečku příjemce (obr. 5), případně bylo malé množství fluoreskující tkáně nalezeno na dně defektu v mozečku příjemce (obr. 6). U jedinců podrobených kontrolní operaci podobná poškození mozečku zjištěna nebyla. Nebyla patrná souvislost velikosti transplantátu s dobou, která uplynula od transplantace.



**Obr. 4:** Transplantát velkých rozměrů. V části je patrná tendence k diferenciaci vrstev mozečkové kůry. Makroskopická mozečková struktura však zachována není. Mladá myš typu Lurcher. Nativní preparát.



**Obr. 5:** Transplantát malých rozměrů. Na povrchu patrná eroze, v okolí transplantátu narušení architektury mozečku příjemce. Dospělá myš typu wild. Nativní preparát.



**Obr. 6:** Transplantát malých rozměrů na dně defektu v mozečku hostitele. Dospělá myš typu wild. Nativní preparát.

Transplantát byl nalezen v různých lokalizacích. Nejčastěji byl objeven na povrchu mozečku hostitele nebo částečně zanořený v mozečku, většinou v oblasti jeho dorsální plochy (bez ohledu na dobu vyšetření po operaci - u 25 dospělých myší typu wild, 30 dospělých mutantů Lurcher a u 32 mladých mutantů). Mnohem vzácněji se nacházel na ventrálním nebo laterálním povrchu pontu nebo dorzálně od mozečku na povrchu prodloužené míchy (u 2 dospělých myší typu wild, 2 dospělých mutantů Lurcher a u 3 mladých mutantů). Jindy byl transplantát uložen laterálně mezi mozečkem a kmenem a byl tak v kontaktu s oběma strukturami nebo se jeden transplantát nacházel na mozečku a další na kmeni (u 8 dospělých myší typu wild, 9 dospělých mutantů Lurcher a u 2 mladých mutantů). U zbývajících 3 jedinců nebylo původní uložení transplantátu hodnotitelné, neboť ve všech řezech byl transplantát zcela oddělen od hostitelských tkání. Nelze vyloučit, že se jednalo o artefakt vzniklý při zpracování preparátu odtržením povrchně nasedajícího transplantátu, pro což svědčí i fakt, že byl zároveň většinou poškozený.

U většiny myší měl transplantát neuspořádanou strukturu (obr. 7). U menší části zvířat byla alespoň v části transplantátu patrná charakteristická struktura mozečkové kůry s diferencovanými třemi vrstvami (obr. 8). Obvykle se jednalo o transplantáty větších rozměrů. Drobnější shluky buněk samozřejmě mozečkovou strukturu nevykazovaly. Mnohdy se patrně v těchto případech jednalo o zbytky zanikajícího transplantátu (obr. 5, 6). Počty zvířat s prokázanou charakteristickou strukturou diferencovanou alespoň v části transplantátu a počty zvířat s neuspořádanou strukturou jsou uvedeny v tab. 2. U mladých myší typu Lurcher byla v transplantátu nalezena charakteristická mozečková struktura častěji než u dospělých myší typu Lurcher (Fisherův test: 6 týdnů po operaci  $p < 0,001$ ). Rozdíly mezi dospělými zvířaty typu Lurcher a wild nebyly statisticky významné. V žádné skupině myší nebyl patrný trend změny výskytu uspořádané struktury s rostoucím časovým odstupem od transplantace.

Propojení mezi transplantátem a hostitelskou tkání bylo poměrně chudé. V mnoha případech byl transplantát proti hostitelské tkáni ostře ohraničený (obr. 9). U některých zvířat byl okraj transplantátu neostrý, byla patrná fluoreskující vlákna z něj vybíhající. Tato vlákna obvykle probíhala spíše paralelně s povrchem mozečku, nikoliv směrem do hloubky k mozečkovým jádrům (obr. 10). Někdy byly v hostitelské tkáni mimo transplantát nalezeny fluoreskující buňky, které tvarem a velikostí odpovídaly buňkám Purkyňovým a měly také pro tento buněčný typ charakteristický dendritický strom, který však byl orientován různými směry (obr. 11). Obvykle se takové buňky nacházely v blízkosti transplantátu. Jen výjimečně byly nalezeny ve větší vzdálenosti a v takovém případě jich nikdy nebylo mnoho. V několika

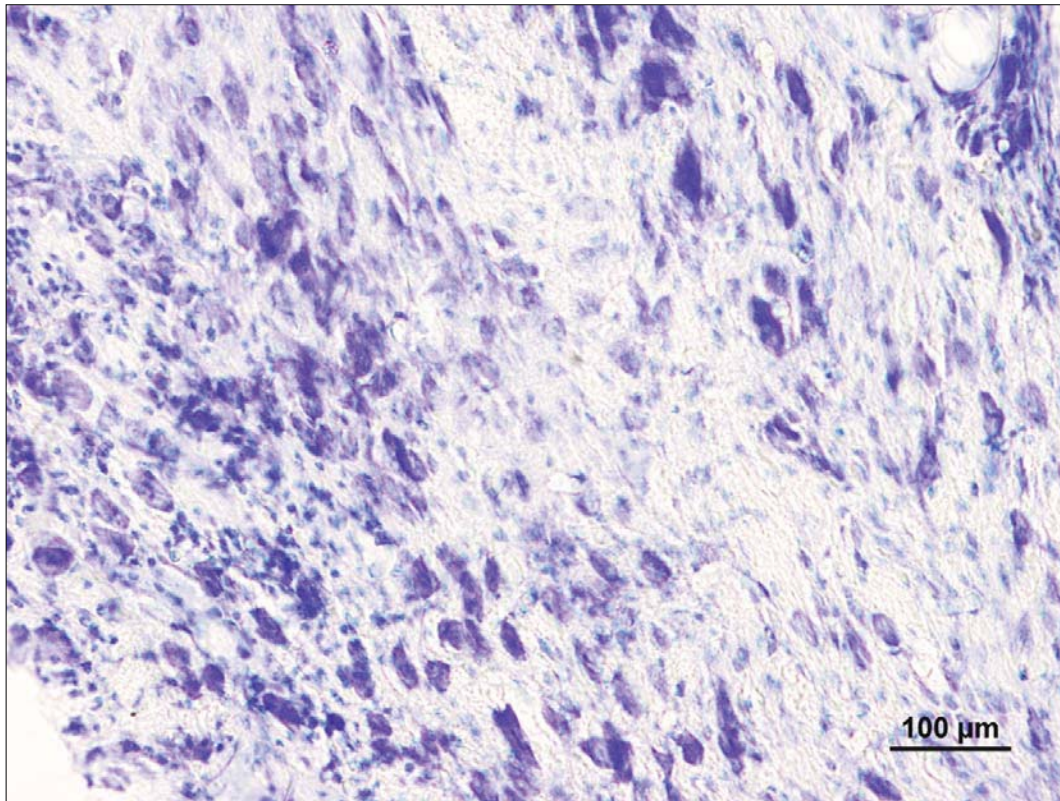
případech bylo pozorováno vrůstání transplantátu do fisur mozečku hostitele (obr. 12). Ve všech případech, kdy transplantát vytvářel nějaké interakce s hostitelskou tkání, byl v kontaktu s mozečkem. U myší, u nichž byl transplantát lokalizován na povrchu mozkového kmene bez kontaktu s mozečkem (celkem 7 zvířat), žádné interakce patrné nebyly. Počty zvířat, u kterých byl transplantát ohraničený, a počty zvířat, u nichž bylo pozorováno prorůstání vláken nebo buněk jsou uvedeny v tab. 3. U dospělých myší typu wild bylo nalezeno prorůstání vláken nebo buněk z transplantátu do hostitelské tkáně častěji než u dospělých myší typu Lurcher (Fisherův test: 6 týdnů po operaci  $p < 0,0123$ ). U mladých myší typu Lurcher bylo nalezeno prorůstání častěji než u dospělých (Fisherův test: 6 týdnů po operaci  $p < 0,03$ ). Nebyl patrný trend změny výskytu prorůstání s rostoucí dobou, která uplynula od transplantace.

Výskyt diferencované struktury mozečkové kůry									
Týdny po operaci	3			6			9		
	%	ano	ne	%	ano	ne	%	ano	ne
Dospělé WT	22	2	7	54	7	6	23	3	10
Dospělé Lc	14	2	12	20	3	12	46	6	7
Mladé Lc	50	5	5	90	9	1	80	12	3

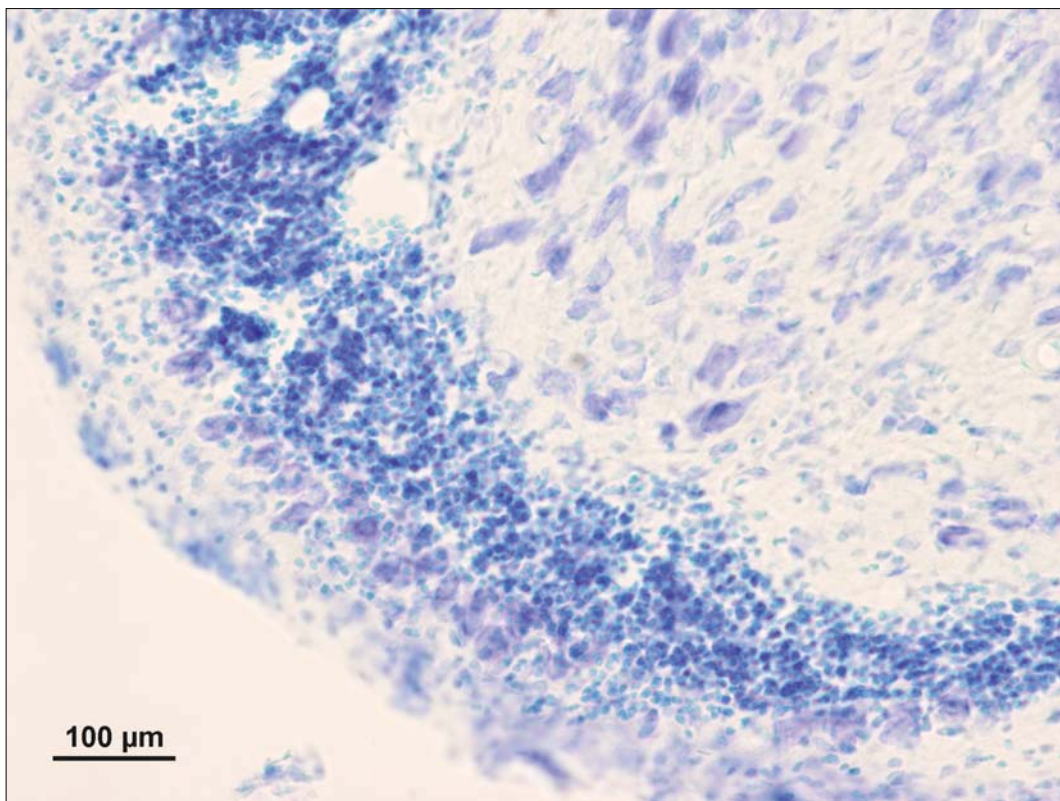
**Tab. 2:** Procento myší, u kterých byla nalezena alespoň v části transplantátu typicky trojvrstevná struktura mozečkové kůry, počty dospělých myší typu wild (WT) a dospělých a mladých myší typu Lurcher (Lc) vyšetřených 3, 6 nebo 9 týdnů po transplantaci s výskytem struktury mozečkové kůry, a počty zvířat, u kterých taková struktura nalezena nebyla. U zbývajících 4 zvířat bylo vyšetření nejednoznačné.

Výskyt prorůstání transplantátu do hostitelské tkáně									
Týdny po operaci	3			6			9		
	%	ano	ne	%	ano	ne	%	ano	ne
Dospělé WT	67	6	3	83	10	2	75	9	3
Dospělé Lc	50	7	7	25	3	9	54	7	6
Mladé Lc	75	6	2	78	7	2	80	12	3

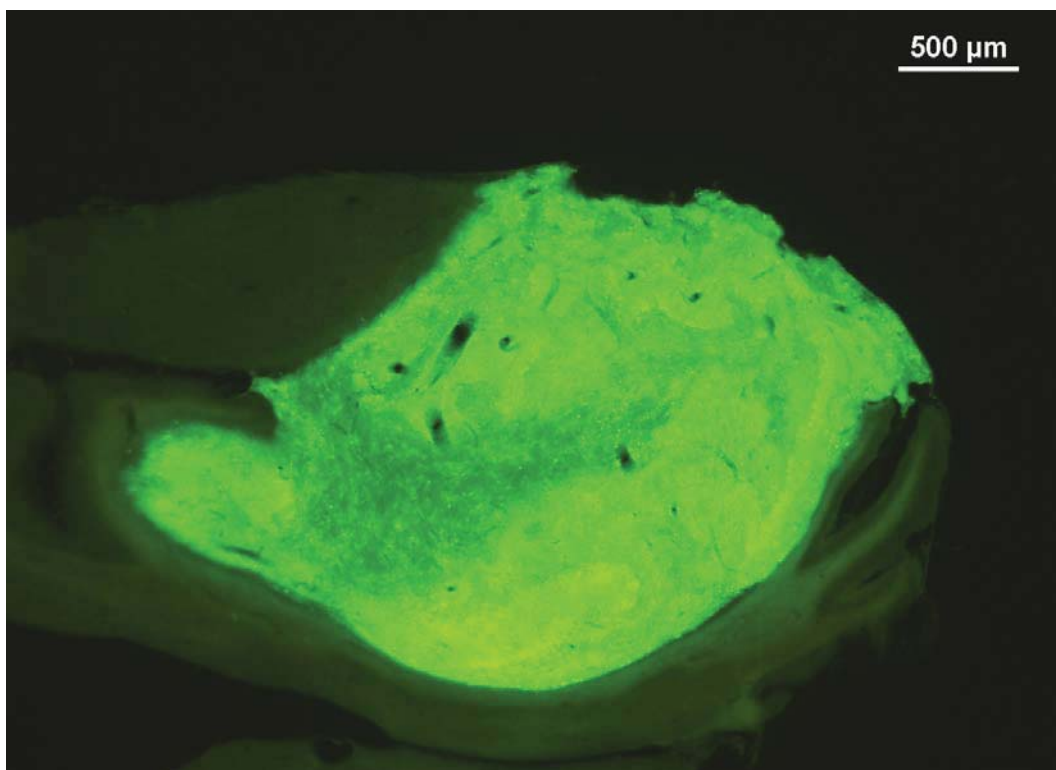
**Tab. 3:** Procento myší, u kterých bylo pozorováno prorůstání vláken nebo buněk z transplantátu do hostitelské tkáně, počty myší typu wild (WT) a Lurcher (Lc) vyšetřených 3, 6 nebo 9 týdnů po transplantaci s výskytem prorůstání a počty zvířat, u nichž prorůstání pozorováno nebylo. Zahrnuta jsou pouze zvířata, u kterých byl transplantát v kontaktu s mozečkem. U 7 zvířat, u kterých se transplantát mozečku hostitele nedotýkal, žádné interakce nalezeny nebyly. U zbývajících 5 myší bylo vyšetření nejednoznačné z důvodu volné lokalizace transplantátu nebo poškození řezů.



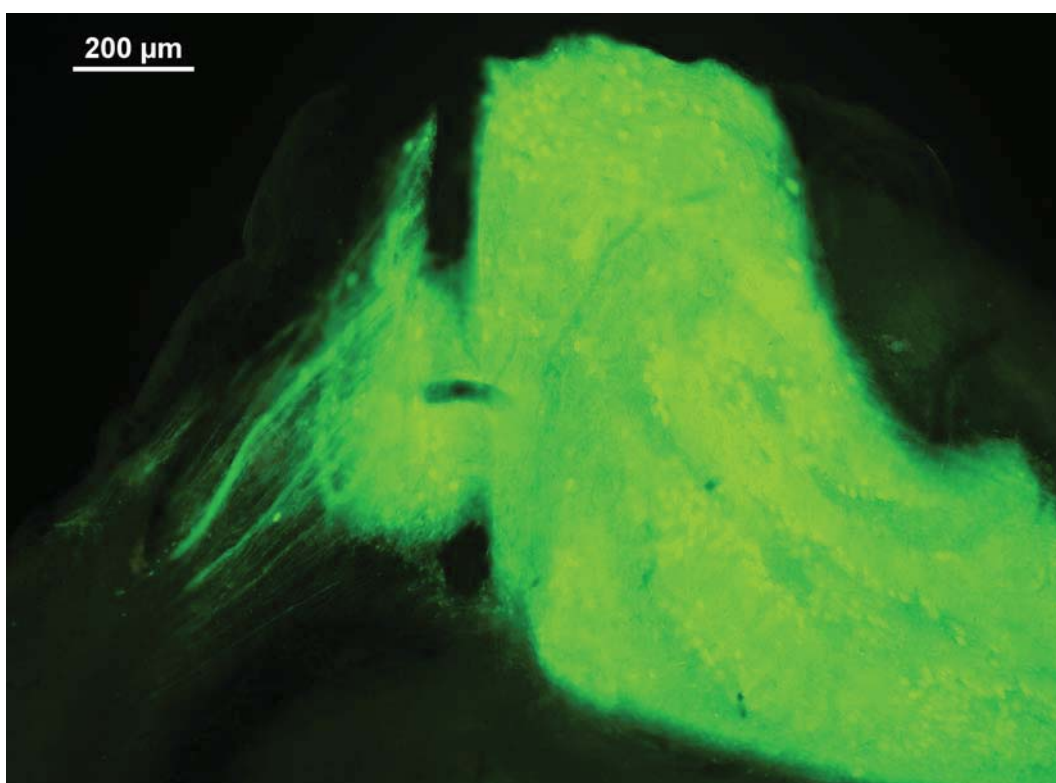
**Obr. 7:** Transplantát bez charakteristického uspořádání mozečkové kůry. Dospělá myš typu Lurcher. Barvení dle Nissla.



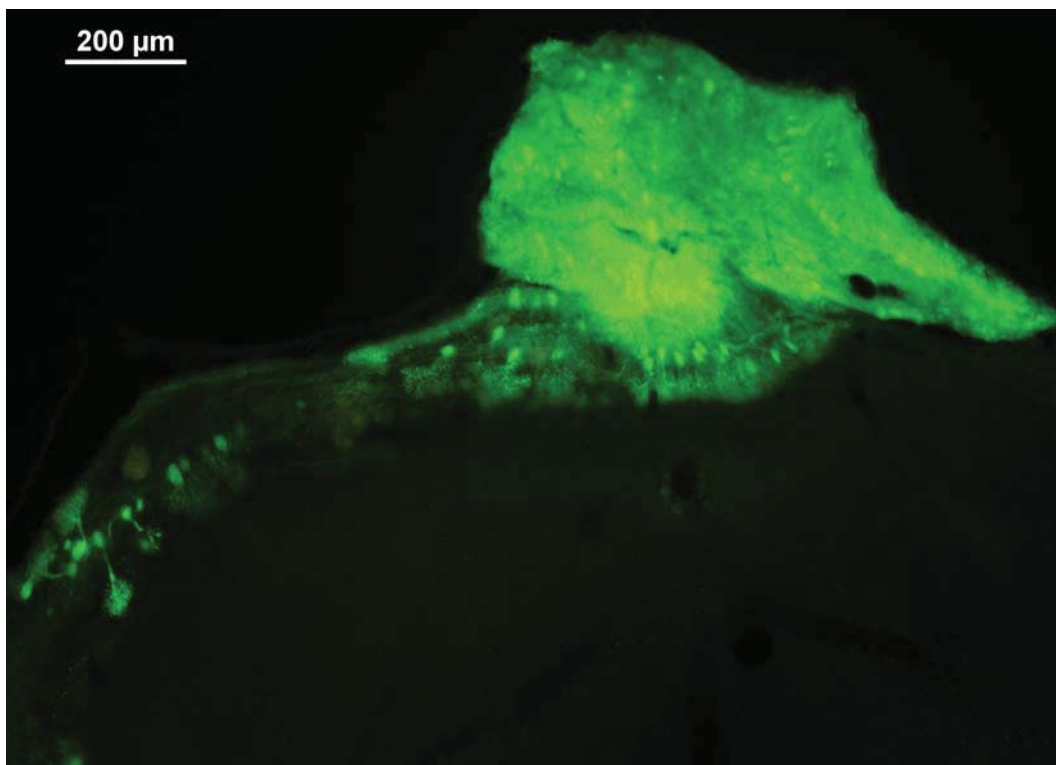
**Obr. 8:** Transplantát s naznačeným trojvrstevným uspořádáním mozečkové kůry. Dospělá myš typu Lurcher. Barvení dle Nissla.



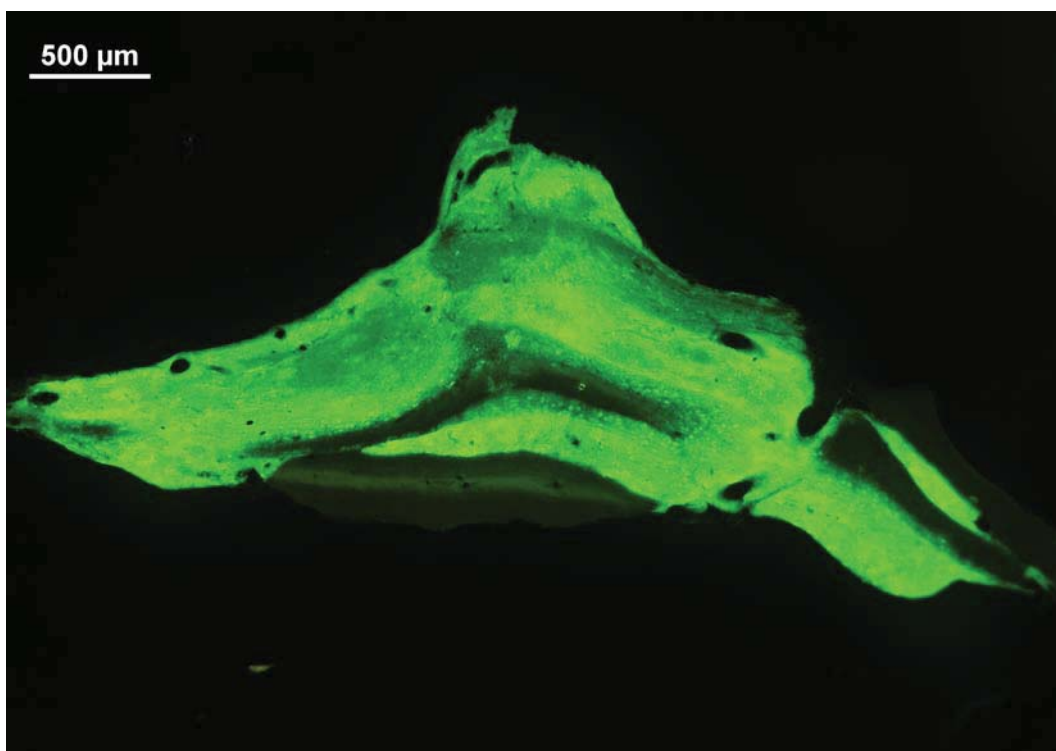
**Obr. 9:** Ostře ohraničený transplantát velkých rozměrů. Je patrná deformace mozečku hostitele. Dospělá myš typu Lurcher. Nativní preparát.



**Obr. 10:** Prorůstání vláken z transplantátu do okolí. Patrný je také kanál procházející transplantátem a dokládající jeho vaskularizaci. Mladá myš typu Lurcher. Nativní preparát.



**Obr. 11:** Purkyňovy buňky mimo vlastní solidní transplantát. Orientace dendritických stromů není jednotná. Buňky jsou blízko povrchu mozečku hostitele. Mladá myš typu Lurcher. Nativní preparát.

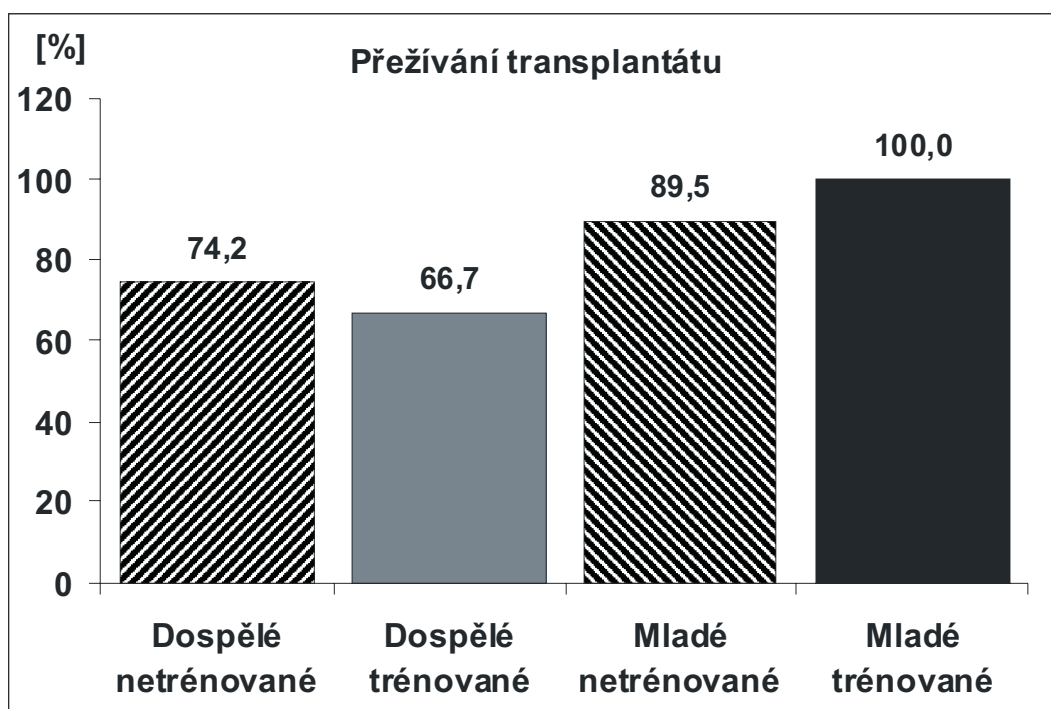


**Obr. 12:** Rozměrný transplantát vrůstající do fisur mozečku hostitele, jinak však rostoucí spíše ohraničeně. Mladá myš typu Lurcher. Nativní preparát.

## 9.2. Hodnocení vlivu transplantace a fyzické aktivity

### 9.2.1. Přežívání transplantátu u trénovaných a netrénovaných myší

Z 31 dospělých netrénovaných myší typu Lurcher, kterým byla aplikována embryonální tkáň mozečku, byl transplantát nalezen u 23 a zanikl u 8 jedinců. Z 12 dospělých myší trénovaných na rotarodu byl transplantát nalezen u 8 a nebyl přítomen u 4 zvířat. V případě mladých netrénovaných myší byl transplantát nalezen u 17 z 19 operovaných myší a nebyl nalezen u zbývajících dvou. Ve skupině mladých trénovaných myší přežil transplantát ve všech 12 případech. Procentuální vyjádření přežívání transplantátu v jednotlivých skupinách je znázorněno graficky (obr. 13). Rozdíly v přežívání mezi jednotlivými skupinami myší nebyly statisticky významné.



**Obr. 13:** Přežívání transplantátu u mladých a dospělých trénovaných a netrénovaných myší typu Lurcher v % jedinců, kterým byl transplantát aplikován.

Morfologické nálezy byly velmi podobné, jako ve skupinách myší vyšetřovaných 3, 6 a 9 týdnů po transplantaci (odstavec 8.1.). I v souborech trénovaných a netrénovaných myší typu Lurcher byly nalezeny transplantáty rozličné velikosti od několika buněk až po útvary mající v průměru několik mm. Na povrchu hostitelského mozečku nebo částečně v něm zanořený byl transplantát nalezen u 18 dospělých netrénovaných, 6 dospělých trénovaných, 11 mladých netrénovaných a 8 mladých trénovaných zvířat. Na povrchu mozkového kmene v blízkosti mozečku byl transplantát nalezen u 4 dospělých netrénovaných a jedné dospělé



trénované myši. Celkem v 11 případech byl transplantát v kontaktu zároveň s mozečkem i kmenem nebo jeden z transplantátů nasedal na mozeček a další na kmen (u jedné dospělé netréované a jedné trénované myši, u 5 mladých netréovaných a 4 mladých trénovaných myši). V jednom případě nebylo možné původní lokalizaci určit.

Typická mozečková struktura se třemi vrstvami kůry byla nalezena alespoň v části transplantátu jen u některých jedinců. Počty zvířat s prokázanou charakteristickou strukturou diferencovanou alespoň v části transplantátu a počty zvířat s neuspořádanou strukturou jsou uvedeny v tab. 4.

I v tomto souboru byly interakce mezi transplantátem a okolní tkání příjemce poměrně chudé. Pokud bylo pozorováno prorůstání vláken z transplantátu, nebylo masivní a vlákna probíhala při povrchu mozečku příjemce. Fluoreskující buňky lokalizované mimo transplantát byly obvykle v jeho blízkosti a jen ojediněle byly pozorovány ve větší vzdálenosti. Tam, kde bylo pozorováno prorůstání vláken nebo buněk, byl transplantát v kontaktu s mozečkem. Avšak ne vždy znamenal kontakt s mozečkem výskyt prorůstání. Naopak ve všech 5 případech, kdy byl transplantát v kontaktu jen s kmenem, byl ostře ohraničený a prorůstání nebylo pozorováno. Počty zvířat s patrným prorůstáním vláken nebo buněk a počty zvířat s ohraničeným transplantátem jsou uvedeny v tab. 4.

Rozdíly ve výskytu diferencované struktury a prorůstání mezi trénovanými a netréovanými zvířaty nebyly statisticky významné. Mezi dospělými a mladými trénovanými zvířaty byl významný rozdíl ve výskytu prorůstání (Fisherův test:  $p < 0,0436$ ). U netréovaných myši rozdíl nebyl statisticky významný.

	Výskyt diferencované struktury mozečkové kůry			Výskyt prorůstání transplantátu do hostitelské tkáně		
	%	ano	ne	%	ano	ne
Dospělé netréované	48	11	12	47	9	10
Dospělé trénované	13	1	7	0	0	7
Mladé netréované	65	11	6	73	11	4
Mladé trénované	50	6	6	50	6	6

**Tab. 4:** Vlevo: Procento myši s výskytem diferencované struktury mozečkové kůry, počty dospělých a mladých, trénovaných a netréovaných myši Lurcher, u kterých byla nalezena struktura mozečkové kůry, a počty zvířat, u kterých nalezena nebyla. Vpravo: Procento myši s výskytem prorůstání vláken nebo buněk z transplantátu do hostitelské tkáně, počty myši těchto skupin, u kterých bylo pozorováno prorůstání, a počty zvířat, u kterých pozorováno nebylo. Zahrnuta jsou pouze zvířata, u kterých byl transplantát v kontaktu s mozečkem. U 5 zvířat, u kterých se transplantát mozečku hostitele nedotýkal, žádné interakce nalezeny nebyly. U zbývajících 2 zvířat byl nález v tomto ohledu nejednoznačný.

## 9.2.2. Prostorová orientace v Morrisově vodním bludišti

### 9.2.2.1. Základní srovnání myší typu Lurcher a wild s ohledem na věk

U myší všech experimentálních skupin byla pozorována schopnost učení v Morrisově vodním bludišti. V průběhu deseti dnů pokusu docházelo ke zkracování latencí dosažení ostrůvku i uplavané dráhy. Určitým vývojem prošla u některých skupin myší i rychlost plavání (hladiny významnosti v tab. 5). Poměr latencí a poměr délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu (D10/D1) ukazující míru změny je uveden v tab. 6. Poměry latencí a dráhy v posledním a prvním dnu se významně lišily mezi experimentálními skupinami myší (Kruskal-Wallisův test pro všech 10 experimentálních skupin, experimentální skupina jako nezávisle proměnná: pro poměr latencí  $H(9, n=144)=53,21496$ ,  $p<0,0001$ , pro poměr délek dráhy  $H(9, n=144)=53,19773$ ,  $p<0,0001$ ).

		Latence		Dráha		Rychlost	
		p<	$\chi^2$	p<	$\chi^2$	p<	$\chi^2$
Lc dospělé T+R	n=8	0,00001	38,55387	0,00019	32,12727	NS	8,658832
Lc dospělé T	n=23	0,00001	105,1365	0,00001	74,18419	0,00856	22,10859
Lc dospělé K+R	n=15	0,00001	79,36827	0,00001	73,72000	0,00421	24,06182
Lc dospělé K	n=21	0,00001	82,69980	0,00001	53,69610	0,01605	20,31755
WT dospělé K	n=10	0,00001	67,27869	0,00001	63,42545	0,01332	20,85818
Lc mladé T+R	n=12	0,00001	71,03636	0,00001	67,05455	0,03819	17,74987
Lc mladé T	n=17	0,00001	57,29536	0,00001	40,41818	NS	11,13766
Lc mladé K+R	n=14	0,00001	72,91678	0,00001	74,02597	0,00136	27,08192
Lc mladé: K	n=16	0,00001	88,44922	0,00001	77,30455	NS	16,25455
WT mladé K	n=8	0,00001	53,11912	0,00001	50,31818	NS	12,98786

**Tab. 5:** Statistická významnost změn latencí dosažení ostrůvku, délky dráhy a rychlosti plavání v Morrisově vodním bludišti v průběhu 10 dní pokusu u jednotlivých experimentálních skupin myší typu Lurcher (Lc) s transplantátem trénovaných na rotarodu (T+R), netrénovaných s transplantátem (T), kontrolních trénovaných (K+R), kontrolních netrénovaných (K) a u kontrolních myší typu wild (WT, K) - Friedmanova ANOVA. Hladiny významnosti  $p>0,05$  jsou označeny jako NS (nesignifikantní).

	Poměr latencí	Poměr délek dráhy
Lc dospělé T + R	0,444 ± 0,168	0,516 ± 0,232
Lc dospělé T	0,459 ± 0,257	0,607 ± 0,457
Lc dospělé K + R	0,32 ± 0,114	0,341 ± 0,137
Lc dospělé K	0,567 ± 0,275	0,72 ± 0,412
WT dospělé K	0,12 ± 0,05	0,1423 ± 0,073
Lc mladé T + R	0,386 ± 0,184	0,435 ± 0,257
Lc mladé T	0,433 ± 0,291	0,506 ± 0,375
Lc mladé K + R	0,459 ± 0,344	0,458 ± 0,336
Lc mladé K	0,323 ± 0,135	0,3454 ± 0,155
WT mladé K	0,097 ± 0,025	0,093 ± 0,026

**Tab. 6:** Průměrné poměry latencí dosažení ostrůvku a poměry délek dráhy v posledním (D10) a prvním (D1) dnu pokusu v Morrisově vodním bludišti (D10/D1) ± směrodatná odchylka u jednotlivých experimentálních skupin myši typu Lurcher (Lc) s transplantátem trénovaných na rotarodu (T+R), netrénovaných s transplantátem (T), kontrolních trénovaných (K+R), kontrolních netrénovaných (K) a u kontrolních myši typu wild (WT, K).

Latence dosažení ostrůvku i délka dráhy v Morrisově vodním bludišti významně závisely na experimentální skupině zvířat ve všech dnech pokusu s výjimkou prvního. Rychlost plavání se statisticky významně lišila mezi skupinami ve 4. až 10. dnu pokusu. Statistické významnosti jsou uvedeny v tab. 7.

	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	H (9, n=144)	p<	H (9, n=144)	p<	H (9, n=144)
D1	NS	12,68931	NS	14,46071	NS	10,48331
D2	0,0001	43,8361	0,0001	42,38543	NS	10,59878
D3	0,0001	53,10469	0,0001	55,05987	NS	12,51107
D4	0,0001	59,09629	0,0001	65,25264	0,0001	33,13967
D5	0,0001	63,9597	0,0001	65,87046	0,0008	28,56531
D6	0,0001	56,29923	0,0001	59,59719	0,0015	26,90077
D7	0,0001	57,99774	0,0001	61,25437	0,0005	29,88764
D8	0,0001	57,46937	0,0001	58,26621	0,035	18,01468
D9	0,0001	60,62564	0,0001	61,68635	0,0199	19,69777
D10	0,0001	61,6801	0,0001	65,83742	0,0003	31,29488

**Tab. 7:** Statistická významnost rozdílů latencí, délek dráhy a rychlosti plavání v Morrisově vodním bludišti mezi zvířaty sledovaných experimentálních skupin v jednotlivých dnech pokusu (D1-D10) - Kruskal-Wallisův test pro všech 10 experimentálních skupin (experimentální skupina jako nezávisle proměnná). Hladiny významnosti  $p > 0,05$  jsou označeny jako NS (nesignifikantní). Tam, kde nebyla statisticky významná závislost na experimentální skupině, nebyly rozdíly mezi jednotlivými skupinami dále sledovány.

V testu v Morrisově vodním bludišti byly pozorovány výrazné rozdíly v latencích i délce dráhy mezi jedinci typu wild a kontrolními zvířaty typu Lurcher u mladých i dospělých myší (obr. 14 A, B). Mladé myši typu wild dosahovaly od druhého a dospělé od prvního dne pokusu kratších latencí i kratší dráhy než kontrolní myši typu Lurcher příslušné věkové skupiny (statistická významnost je uvedena v tab. 8). U mladých myší nebyly rozdíly v rychlosti plavání mezi jedinci typu wild a Lurcher. Dospělé myši typu Lurcher plavaly od čtvrtého dne pokusu (D4) v průměru rychleji než dospělé myši typu wild (statistická významnost je uvedena v tab. 8) (obr. 14 C).

Mladé myši: kontrolní myši typu wild vs. kontrolní myši typu Lurcher						
	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	U	p<	U	p<	U
D1	-	-	-	-	-	-
D2	0,00486	18	0,00847	21	-	-
D3	0,01432	24	0,00401	17	-	-
D4	0,00039	6	0,00076	9	NS	32
D5	0,00118	11	0,00061	8	NS	60
D6	0,00061	8	0,00095	10	NS	51
D7	0,00024	4	0,00015	2	NS	33
D8	0,00015	2	0,00015	2	NS	50
D9	0,00009	0	0,00031	5	NS	45,5
D10	0,00012	1	0,00009	0	NS	51
Dospělé myši: kontrolní myši typu wild vs. kontrolní myši typu Lurcher						
	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	U	p<	U	p<	U
D1	-	-	-	-	-	-
D2	0,00006	10	0,00004	7	-	-
D3	0,00002	2	0,00001	0	-	-
D4	0,00001	0	0,00001	0	0,00085	26
D5	0,00002	3	0,00002	2	0,00054	23
D6	0,00002	2	0,00002	1	0,00114	28
D7	0,00001	0	0,00001	0	0,00235	33
D8	0,00002	2	0,00002	1	0,038402	56
D9	0,00002	3	0,00002	2	NS	60,5
D10	0,000021	3	0,00002	2	0,00005	8

**Tab. 8:** Statistická významnost rozdílů latencí, délek dráhy a rychlostí plavání v jednotlivých dnech pokusu (D1-D10) v Morrisově vodním bludišti mezi kontrolními jedinci typu wild a kontrolními zvířaty typu Lurcher u mladých a u dospělých myší. Mann-Whitneyův test; hladiny významnosti  $p > 0,05$  jsou označeny jako NS; tam, kde nebyla zjištěna statisticky významná závislost parametru na experimentální skupině, nebyl rozdíl mezi jednotlivými skupinami hodnocen (-).

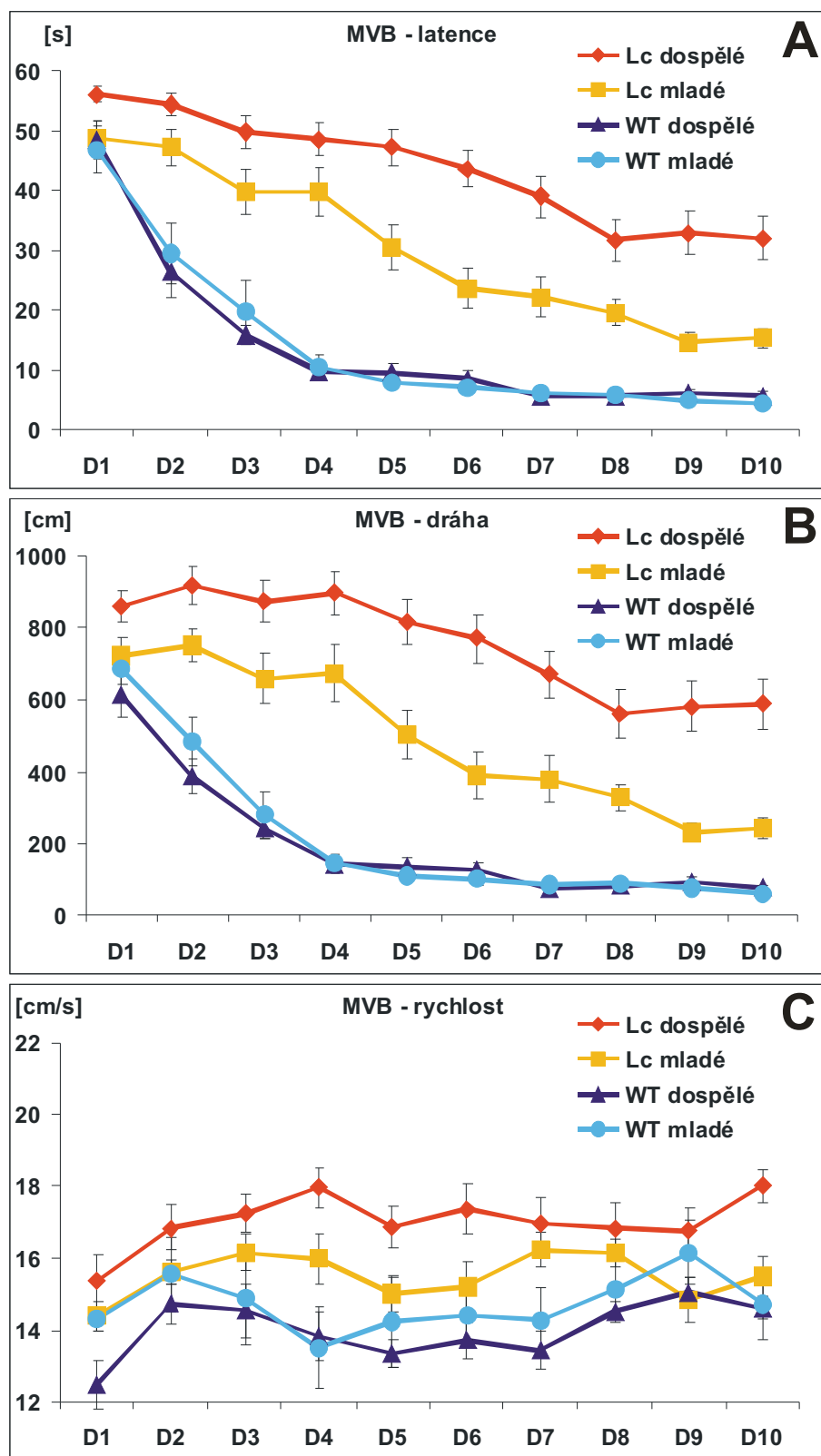
Mladé myši typu wild také dosáhly nižšího poměru latencí (Mann-Whitneyův test:  $U=0$ ,  $p<0,00009$ ) i poměru délek dráhy (Mann-Whitneyův test:  $U=0$ ,  $p<0,00009$ ) mezi posledním (D10) a prvním (D1) dnem pokusu než mladé kontrolní myši typu Lurcher. Rovněž dospělé myši typu wild dosáhly nižšího poměru latencí (Mann-Whitneyův test:  $U=6$ ,  $p<0,00003$ ) i délek dráhy (Mann-Whitneyův test:  $U=7$ ,  $p<0,00004$ ) než dospělé kontrolní myši typu Lurcher (hodnoty poměrů jsou uvedeny v tab. 6).

U myši typu wild nebyly mezi mladými a dospělými jedinci patrné rozdíly v latencích, délkách dráhy ani rychlosti plavání v Morrisově bludišti (obr. 14). Poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu se také významně nelišily (hodnoty v tab. 6).

U kontrolních myši typu Lurcher dosahovala mladá zvířata kratších latencí (v D3, D5-D10) i kratších drah (v D2, D3, D5-D10) než dospělá při mírně nižší rychlosti plavání (v D4, D5, D6, D10) (obr. 14). Statistické významnosti jsou uvedeny v tab. 9. Poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu byly signifikantně nižší u mladých mutantů typu Lurcher než u dospělých (hodnoty v tab. 6) (Mann-Whitneyův test: pro poměr latencí  $U=75$ ,  $p<0,00436$ , pro poměr délek drah  $U=66$ ,  $p<0,00177$ ).

Mladé vs. dospělé mutantní myši typu Lurcher						
	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	U	p<	U	p<	U
D1	-	-	-	-	-	-
D2	NS	119,5	0,02524	95	-	-
D3	0,02625	95,5	0,04305	102	-	-
D4	NS	113	NS	106	0,02524	95
D5	0,00197	67	0,00396	74	0,03068	97,5
D6	0,00048	54	0,00038	52	0,0273	96
D7	0,00241	69	0,00326	72	NS	130
D8	0,01195	86	0,0215	93	NS	148
D9	0,00084	59	0,0006	56	NS	108
D10	0,00084	59	0,00034	51	0,00267	70

**Tab. 9:** Statistická významnost rozdílů latencí, délek dráhy a rychlostí plavání v jednotlivých dnech pokusu (D1-D10) v Morrisově vodním bludišti mezi mladými a dospělými kontrolními (kontrolní operace, netrénované) jedinci typu Lurcher. Mann-Whitneyův test; hladiny významnosti  $p>0,05$  jsou označeny jako NS; tam, kde nebyla zjištěna statisticky významná závislost parametru na experimentální skupině, nebyl rozdíl mezi jednotlivými skupinami hodnocen (-).



**Obr. 14:** Průměrné latence dosažení ostrůvku v s (A), délka dráhy v cm (B) a rychlost plavání v cm/s (C) v jednotlivých dnech pokusu v Morrisově vodním bludišti (D1-D10) u dospělých a mladých myši typu wild (WT) a dospělých a mladých kontrolních myši typu Lurcher (Lc). Chybové úsečky představují střední chybu průměru.

### 9.2.2.2. Vliv transplantace a tréninku u dospělých myší

Dospělé trénované mutantní myši typu Lurcher podrobené kontrolní operaci dosáhly významně kratších latencí a drah (v D3-D10, statistické významnosti v tab. 10) v Morrisově bludišti než netréované kontrolní myši typu Lurcher při nižší rychlosti plavání (v D4, D5, D6, D8, D10, statistické významnosti v tab. 10) (obr. 15). U trénovaných zvířat byly nižší poměry latencí (0,320 vs. 0,567, Mann-Whitneyův test:  $U=72$ ,  $p<0,00609$ ) i délek dráhy (0,341 vs. 0,72, Mann-Whitneyův test:  $U=63$ ,  $p<0,00243$ ) v posledním a prvním dnu pokusu než u netréovaných.

Dospělé kontrolní myši typu Lurcher: trénované vs. netréované						
	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	U	p<	U	p<	U
D1	-	-	-	-	-	-
D2	NS	98	NS	103	-	-
D3	0,005	70	0,00156	59	-	-
D4	0,00072	52	0,00028	44	0,01075	78
D5	0,00015	39	0,00004	28	0,00852	75,5
D6	0,00015	39	0,00006	32	0,0129	80
D7	0,01542	82	0,0027	64	NS	102
D8	0,01836	84	0,00409	68	0,02796	89
D9	0,005	70	0,00196	61	NS	112
D10	0,0005	49	0,00017	40	0,00053	49,5

**Tab. 10:** Statistická významnost rozdílů latencí, délek dráhy a rychlostí plavání v jednotlivých dnech pokusu (D1-D10) v Morrisově vodním bludišti mezi dospělými netréovanými kontrolními mutanty Lurcher a dospělými trénovanými kontrolními mutanty Lurcher. Mann-Whitneyův test; hladiny významnosti  $p>0,05$  jsou označeny jako NS; tam, kde nebyla zjištěna statisticky významná závislost parametru na experimentální skupině, nebyl rozdíl mezi jednotlivými skupinami hodnocen (-).

Dospělé netréované myši typu Lurcher s přežívajícím transplantátem dosáhly významně kratších latencí v Morrisově bludišti než kontrolní netréované myši typu Lurcher v jediném dnu (D5) pokusu (Mann-Whitneyův test:  $U=150,5$ ,  $p<0,03251$ ) a významně kratší dráhy pouze v 6. dnu (Mann-Whitneyův test:  $U=149$ ,  $p<0,02976$ ) a 7. dnu (Mann-Whitneyův test:  $U=154$ ,  $p<0,0398$ ) pokusu (obr. 15 A, B). V ostatních dnech nebyly statisticky významné rozdíly. Rychlost plavání byla u těchto dvou skupin zvířat prakticky shodná s výjimkou 10. dne, kdy kontrolní zvířata plavala rychleji (Mann-Whitneyův test:  $U=131$ ,  $p<0,00943$ ) (obr. 15 C). Poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu se významně nelišily (hodnoty v tab. 6).

Dospělé trénované myši typu Lurcher s přežívajícím transplantátem, tedy ovlivněné oběma způsoby, se v dosažených latencích nelišily významně od netrénovaných kontrolních myši typu Lurcher. Rovněž délka dráhy těchto myši se výrazněji nelišila od délky dráhy kontrolních zvířat (pouze v D4 izolovaná statistická významnost: Mann-Whitneyův test:  $U=36$ ,  $p<0,01918$ ) (obr. 15 A, B). Významně se u těchto dvou skupin myši nelišila ani rychlost plavání (obr. 15 C) a poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu (hodnoty v tab. 6).

Výsledky dospělých trénovaných myši typu Lurcher s přežívajícím transplantátem a výsledky netrénovaných myši Lurcher s transplantátem se velmi podobaly ve všech sledovaných parametrech a nebyly mezi nimi žádné významné rozdíly (obr. 15, tab. 6).

Dospělé trénované kontrolní myši typu Lurcher dosáhly ve srovnání s trénovanými zvířaty s transplantátem ve 3., 9. a 10. dnu pokusu kratších latencí (Mann-Whitneyův test: pro D3  $U=10$ ,  $p<0,00125$ , pro D9  $U=26$ ,  $p<0,0282$ , pro D10  $U=17,5$ ,  $p<0,00609$ ) a kratší dráhy (Mann-Whitneyův test: pro D3  $U=11$ ,  $p<0,00157$ , pro D9  $U=21$ ,  $p<0,01183$ , pro D10  $U=8$ ,  $p<0,00079$ ) (obr. 15 A, B). Rychlost plavání se významně nelišila a ani v poměrech latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu nebyly významné rozdíly (obr. 15 C, tab. 6).

Ve srovnání s netrénovanými mutanty Lurcher s transplantátem také dosáhly trénované kontrolní myši kratších latencí ve 2.-6. a 10. dnu (Mann-Whitneyův test: pro D2  $U=85$ ,  $p<0,00898$ , pro D3  $U=64,5$ ,  $p<0,00126$ , pro D4  $U=77$ ,  $p<0,00435$ , pro D5  $U=80,5$ ,  $p<0,00601$ , pro D6  $U=104$ ,  $p<0,0408$ , pro D10  $U=97$ ,  $p<0,02416$ ) a kratší dráhy v 3.-6. a 8.-10. dnu pokusu (Mann-Whitneyův test: pro D3  $U=56$ ,  $p<0,00051$ , pro D4  $U=57$ ,  $p<0,00055$ , pro D5  $U=61$ ,  $p<0,00087$ , pro D6  $U=91$ ,  $p<0,01495$ , pro D8  $U=102$ ,  $p<0,03527$ , pro D9  $U=95$ ,  $p<0,02065$ , pro D10  $U=89$ ,  $p<0,01265$ ) (obr. 15 A, B) při mírně nižší rychlosti (Mann-Whitneyův test: pro D5  $U=78$ ,  $p<0,00478$ ) (obr. 15 C). V poměrech latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu však statisticky významné rozdíly nebyly zjištěny (hodnoty v tab. 6).

Nejlepších výsledků v Morrisově vodním bludišti tedy dosáhly trénované kontrolně operované myši. Ani ty se však nevyrovnaly myším typu wild, jejichž latence i délka dráhy byly výrazně kratší téměř po celý průběh pokusu s výjimkou prvního dne. Rychlost plavání byla přitom velmi podobná nebo dokonce ve 4. dnu pokusu statisticky významně nižší u myši typu wild (statistické významnosti v tab. 11) (obr. 15). U myši typu wild byly také výrazně nižší poměry latencí (Mann-Whitneyův test:  $U=7$ ,  $p<0,00017$ ) i délek dráhy (Mann-Whitneyův test:  $U=11$ ,  $p<0,00039$ ) v posledním a prvním dnu pokusu než u trénovaných myši typu Lurcher (hodnoty v tab. 6).



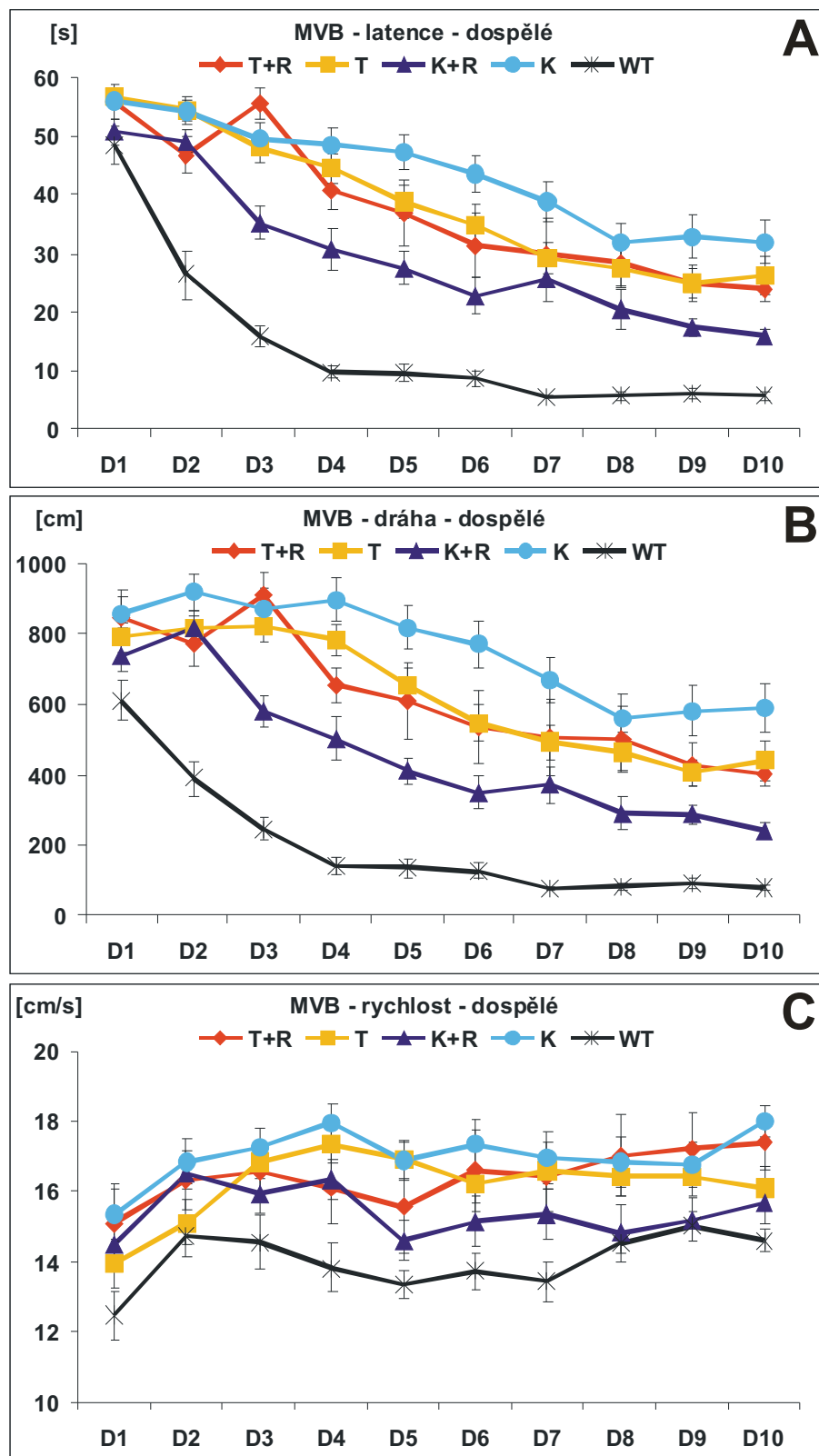
Dospělé trénované kontrolní myši Lurcher vs. dospělé kontrolní myši typu wild						
	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	U	p<	U	p<	U
D1	-	-	-	-	-	-
D2	0,00107	16	0,00009	4	-	-
D3	0,00013	6	0,00009	4	-	-
D4	0,00032	10	0,00021	8	0,03053	36
D5	0,00021	8	0,00017	7	NS	50
D6	0,00059	13	0,00032	10	NS	53
D7	0,00004	0	0,00004	0	NS	43
D8	0,00009	4	0,00017	7	NS	70
D9	0,00009	4	0,00011	5	NS	66
D10	0,00007	3	0,00006	2	NS	67

**Tab. 11:** Statistická významnost rozdílů latencí, délek dráhy a rychlostí plavání v jednotlivých dnech pokusu (D1-D10) v Morrisově vodním bludišti mezi dospělými trénovanými kontrolními jedinci typu Lurcher a dospělými zvířaty typu wild. Mann-Whitneyův test; hladiny významnosti  $p > 0,05$  jsou označeny jako NS; tam, kde nebyla zjištěna statisticky významná závislost parametru na experimentální skupině, nebyl rozdíl mezi jednotlivými skupinami hodnocen (-).

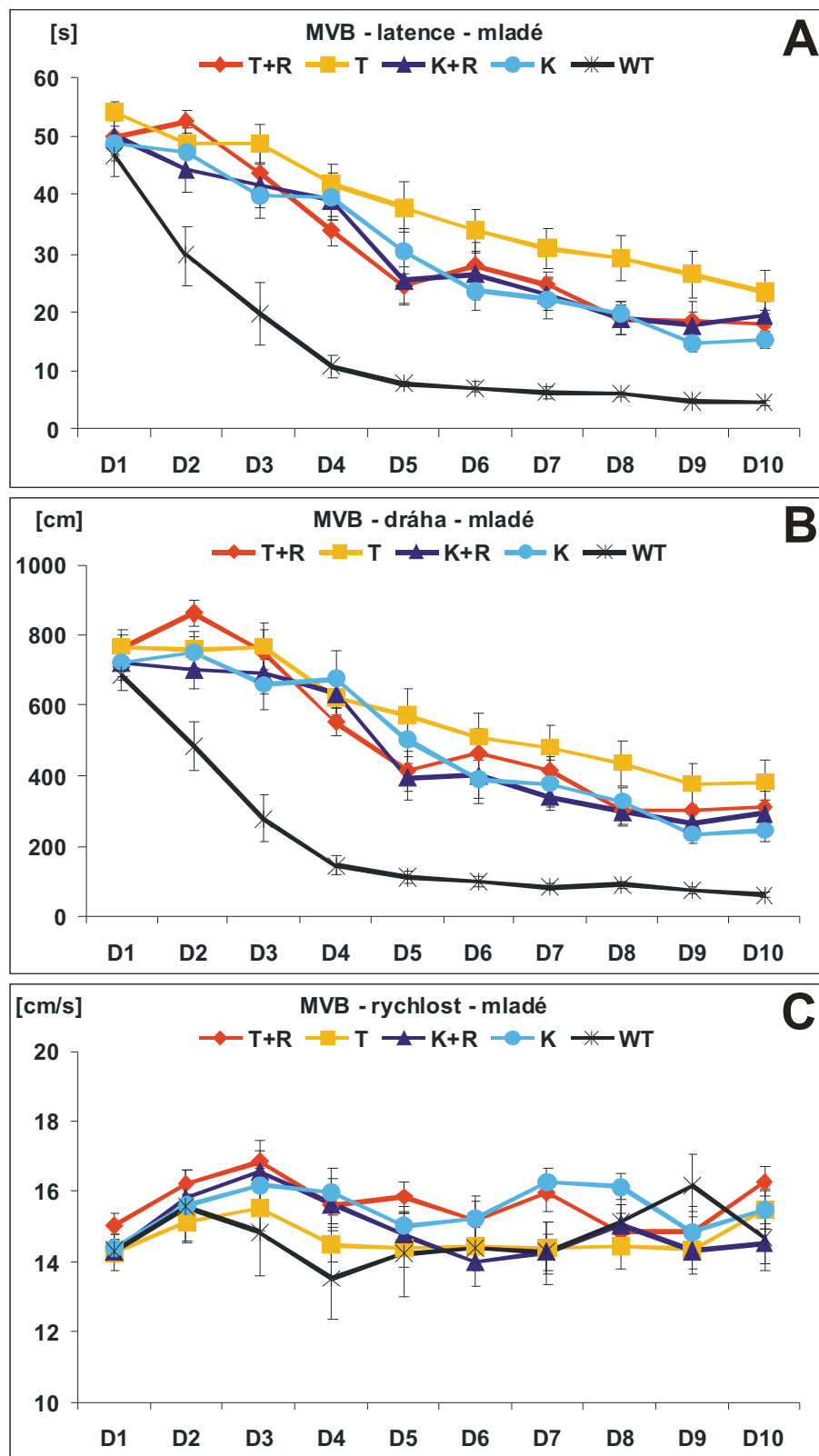
Parametry měřené v Morrisově vodním bludišti u myši s přežívajícím transplantátem nevykazovaly zjevnou souvislost s velikostí transplantátu ani s přítomností interakcí štěpu s okolní hostitelskou tkání.

### 9.2.2.3. Vliv transplantace a tréninku u mladých myši

U mladých myši typu Lurcher nebyly mezi netrénovanými kontrolními zvířaty a zvířaty ovlivněnými tréninkem, transplantací nebo oběma způsoby statisticky významné rozdíly v latencích, délce dráhy v Morrisově vodním bludišti ani v poměrech latencí a poměrech délek dráhy v prvním a posledním dnu pokusu (obr. 16, tab. 6). Výjimkou jsou izolované statisticky významné rozdíly v rychlostech plavání mezi kontrolní skupinou netrénovaných myši typu Lurcher a skupinou netrénovaných myši s přežívajícím transplantátem (Mann-Whitneyův test: pro D4  $U=80$ ,  $p < 0,04368$ , pro D7  $U=63$ ,  $p < 0,00856$ , pro D8  $U=74$ ,  $p < 0,02554$ ), mezi kontrolními netrénovanými a kontrolními trénovanými zvířaty (Mann-Whitneyův test: pro D7  $U=45$ ,  $p < 0,00536$ ) a mezi kontrolními netrénovanými zvířaty a skupinou trénovaných myši s transplantátem (Mann-Whitneyův test: pro D7  $U=50$ ,  $p < 0,03273$ ). Ve všech těchto případech plavaly netrénované kontrolní myši rychleji.



**Obr. 15:** Průměrné latence dosažení ostrůvku v s (A), délka dráhy v cm (B) a rychlost plavání v cm/s (C) v jednotlivých dnech pokusu v Morrisově vodním bludišti (D1-D10) u dospělých myší typu Lurcher s transplantátem trénovaných na rotarodu (T+R), netrénovaných s transplantátem (T), kontrolních trénovaných (K+R), kontrolních netrénovaných (K) a u kontrolních dospělých myší wild (WT). Chybové úsečky představují střední chybu průměru.



**Obr. 16:** Průměrné latence dosažení ostrůvku v s (A), délka dráhy v cm (B) a rychlost plavání v cm/s (C) v jednotlivých dnech pokusu v Morrisově vodním bludišti (D1-D10) u mladých myší typu Lurcher s transplantátem trénovaných na rotarodu (T+R), netrénovaných s transplantátem (T), kontrolních trénovaných (K+R), kontrolních netrénovaných (K) a u kontrolních mladých myší wild (WT). Chybové úsečky představují střední chybu průměru.

## 10. DISKUSE

### 10.1. Přežívání a struktura transplantátu

Přežívání solidního embryonálního mozečkového transplantátu u myši typu Lurcher kmene B6CBA bylo ve všech skupinách více než šedesátiprocentní, avšak posuzováno celkově, nebylo ani stoprocentní. Přežití tedy bylo vyšší, než jaké popisují u mladých i dospělých mutantů Lurcher Tomey a Heckroth (1993), kteří udávají přežití u poloviny zvířat při použití buněčné suspenze, která i v naší laboratoři přežívala hůře než solidní transplantát (Schmidtmayerová a spol., 2005). Současné nálezy podporují tvrzení Tomey a Heckrotha (1993), že přežívání mozečkového transplantátu je u myši typu Lurcher nižší než u *pcd* mutantů. Srovnávání výsledků dosažených v různých laboratořích je ovšem problematické, vzhledem k možným odchylkám v metodice i odlišným kmenům použitých zvířat (Tomey a Heckroth, 1993).

U mladých i dospělých myši typu Lurcher, ani u dospělých myši typu wild jsme nepozorovali pokles výskytu transplantátu mezi třetím a devátým týdnem po transplantaci. Přesto některé transplantáty jevíly známky rozpadu a drobné shluky buněk byly pravděpodobně zbytkem po jejich zániku. Tomu v několika případech nasvědčovala i deformace hostitelského mozečku kolem shluku buněk, která dokládala původní rozměry transplantátu. Tyto nálezy naznačují, že v období 3 až 9 týdnů po transplantaci nedochází k masivnímu a rychlému úplnému zániku transplantátu. U některých zvířat zanikl transplantát již během prvních tří týdnů po operaci, a proto při vyšetření 3 týdny po operaci nebyl nalezen u všech jedinců. Fakt, že dále přítomnost transplantátu neklesala, znamená, že pokud tento přežil 3 týdny, přetrval pak téměř vždy nejméně do devátého týdne alespoň v podobě drobných zbytků tkáně nebo různě velkého útvaru nejevícího známky rozpadu. Ke zjištění, zda v průběhu této doby dochází k pozvolnému zmenšování transplantátu v důsledku postupného zániku nebo, zda přetrvává ve stavu, v jakém se nacházel 3 týdny po transplantaci, bude potřeba provést volumetrickou studii založenou na principech stereologie. Předběžné výsledky našich dosud nepublikovaných a stále probíhajících pokusů prokazují nezanedbatelné přežívání objemných embryonálních mozečkových transplantátů bez známek regresivních změn u mutantů Lurcher ještě 6 měsíců po transplantaci.

Do oblasti mozečku příjemce jsme aplikovali dva transplantáty. Dva kousky fluoreskující tkáně však byly nalezeny jen u některých zvířat. Mnohdy byla nalezena jen jedna část, jindy naopak více než dvě. Nález jednoho transplantátu lze vysvětlit zánikem

druhého. V případech, kdy měl transplantát značné rozměry a členitý tvar, došlo pravděpodobně ke spojení obou aplikovaných částí v jeden útvar během jejich růstu. Pokud byl přítomen větší počet kousků, byly obvykle menších rozměrů. Mohlo se jednat o zbytky transplantátu, nebo mohlo dojít k jeho roztržení na několik menších fragmentů během nasávání do kapiláry, což jsme několikrát pozorovali. Byly-li kousky od sebe více vzdálené, například některé na mozečku, další na ventrálním a zároveň i dorsálním povrchu kmene, pak je pravděpodobnější druhé vysvětlení.

V některých případech se u myši typu wild i Lurcher v části transplantátu diferencovala charakteristická trojvrstevná struktura mozečkové kůry. Tento jev pozorovali i Sotelo a Alvarado-Mallart (1987b) u myši pcd, kde kousky transplantovaného mozečku, které byly uloženy povrchově, vytvořily dokonce laločnatá minicerebela. Heckroth a spol. (1998) popsali u mutantů typu Lurcher vytvoření typické mozečkové struktury v transplantátu dokonce i po aplikaci buněčné suspenze.

Interakce mezi transplantátem a tkání mozečku hostitele měly podobu prorůstání nervových vláken z transplantátu a přítomnosti fluoreskujících, tedy z transplantátu pocházejících buněk avšak lokalizovaných mimo něj. Tyto interakce však byly poměrně chudé a zdaleka se nevyskytovaly u všech zvířat.

Vlákna vystupující z transplantátu probíhala obvykle mělce a byla orientována zhruba paralelně s povrchem mozečku příjemce. Nezdálo se tedy, že by směřovala k hlubokým jádrům mozečku, která jsou normálním cílem axonů Purkyňových buněk. Tento náález je ve shodě s tvrzením, že granulární vrstva představuje bariéru omezující průnik vláken a buněk hlouběji do mozečku, a to i u mutantů Lurcher, kde je značně atrofická (Dumesnil-Bousez a Sotelo, 1993). Tomey a Heckroth (1993) našli u části myši typu Lurcher vlákna transplantovaných buněk vrůstající do mozečkových jader, avšak uvádějí, že nebylo možné určit, zda pocházejí z buněk lokalizovaných v molekulární vrstvě nebo uložených ve vrstvě granulární a v bílé hmotě. Osídlení mozečku příjemce buňkami pocházejícími z transplantátu, které jsme pozorovali, bylo omezeno na jeho nejbližší okolí. Ve větší vzdálenosti jsme našli nejvýše jednotlivé buňky. Jejich značná část měla oválný nebo hruškovitý tvar, výrazný dendritický strom a i svými rozměry odpovídala buňkám Purkyňovým.

Skutečnost, že transplantát neprorůstal do mozkového kmene, ani když s ním byl v kontaktu velkou plochou, podporuje názor, že migrace buněk a prorůstání vláken může směřovat jen do vhodné tkáně a že pohyb transplantovaných Purkyňových buněk směřuje především do molekulární vrstvy mozečku, která na ně působí přitažlivými silami (Alvarado-Mallart a Sotelo, 1993; Sotelo a Alvarado-Mallart, 1987a; Sotelo a spol., 1990; Triarhou a

spol., 1992).

Předpokládá se, že přežívání a další vývoj transplantovaných embryonálních nervových buněk i kmenových buněk do značné míry závisí na vlastnostech prostředí, které je obklopuje, tedy na typu a stavu tkáně, do které byly aplikovány (Rossi a Cattaneo, 2002). Přežívání transplantovaných buněk je například výrazně horší v prostředí změněném neurodegenerací nebo traumatem a v prostředí, kde probíhají excitotoxické procesy (Macklis, 1993; Snyder a spol., 1997). V mozečku mutantů typu Lurcher probíhá excitotoxická apoptóza, jejímž důsledkem je neurodegenerace (Zuo a spol., 1997), je zde chronický zánět (Vogel a spol., 2007) a aplikace transplantátu též způsobí určitou traumatizaci tkáně příjemce. Tyto faktory mohou negativně ovlivňovat osud transplantovaných buněk u myši Lurcher i s ohledem na věk příjemce a tedy pokročilost degenerativních změn. U mutantů Lurcher se dále mohou uplatňovat dva protichůdné vlivy. S pokračující degenerací ubývá Purkyňových buněk. Tím se uvolňuje místo pro nové a mizí negativní působení hostitelských Purkyňových buněk. Na druhou stranu, zároveň ubývají granulózní buňky a neurony dolní olivy, jejichž axony by zajistily aferentní inervaci transplantovaných Purkyňových buněk, která má trofický vliv (Tomey a Heckroth, 1993).

V naší studii neukázala analýza přežívání a struktury solidního mozečkového transplantátu zjevné rozdíly mezi mutanty Lurcher a zdravými jedinci typu wild téhož kmene. Výjimkou byl nález častějšího prorůstání buněk nebo vláken z transplantátu u dospělých myši typu wild než u dospělých mutantů. Ačkoliv je srovnání pouze orientační, zdá se, že patologicky změněné prostředí mozečku myši typu Lurcher nemá zcela zásadní vliv na osud solidního transplantátu. Více informací by přinesla stereologická studie poměrného zastoupení jednotlivých typů buněk v transplantátu.

Carletti a Rossi (2005) popisují rozdíly v diferenciaci embryonálních (12. den nitroděložního vývoje) buněk mozečku aplikovaných ve formě suspenze u *pcd* mutantů a myši typu wild, kdy u zdravých myši tvořily granulózní buňky podstatně větší část z buněk odvozených z transplantátu než u mutantů *pcd*. Heckroth a spol. (1998), kteří vyšetřili histologicky 4 devadesátidenní myši typu wild, kterým ve věku 8-10 dnů aplikovali suspenzi embryonálních mozečkových buněk, našli jen omezený průnik transplantovaných neuronů do hostitelské tkáně, a to pouze v místech zjevného fyzického poškození hostitelského mozečku. V téže práci přitom popisují infiltraci molekulární vrstvy mutantů Lurcher transplantovanými buňkami (Heckroth a spol., 1998) a jejich nálezy jsou tedy v tomto směru opačné než naše. Naproti tomu Triarhou a spol. (1987a) udávají, že prostředí hostitelského mozečku mutantů nenarušuje přežití Purkyňových a granulózních buněk v solidním mozečkovém transplantátu u

myší typu *pcd* a *weaver*. Buňky aplikované ve formě suspenze jsou však v těsnějším kontaktu s hostitelskou tkání než buňky v solidním transplantátu, který jsme použili i v naší studii. Roli tedy hraje i forma transplantátu a existuje názor, že pokusy se solidními transplantáty neposkytují dostatečnou informaci o vlivu prostředí hostitelského mozečku na volbu směru diferenciací transplantovaných buněk (Carletti a Rossi, 2005).

Mezi mladými a dospělými mutanty *Lurcher* jsme nezjistili rozdíly v přežívání transplantátu. U mladých myší byla v transplantátu častěji patrná diferenciací vrstev mozečkové kůry a stejně tak i prorůstání transplantátu do hostitelské tkáně než u dospělých myší typu *Lurcher*. Možnou roli věku příjemce dokládá také práce Ghettiho a spol. (1990), kteří však u *pcd* myší zjistili, že přežívalo více transplantovaných buněk, pokud byla transplantace provedena po dokončení degenerativního procesu v mozečku příjemce, tedy po 45. dnu života, než když byla provedena ještě v době probíhající degenerace. V tomto rozdílu mezi oběma typy mutantů může hrát roli odlišný průběh degenerace Purkyňových buněk, která začíná u myší typu *Lurcher* dříve.

Fyzická aktivita neovlivnila přežívání solidního mozečkového transplantátu a nepodpořila vývoj charakteristické cerebelární struktury ani jeho propojení s hostitelskou tkání, ačkoliv v případě striata u potkanů toto údajně pozorováno bylo (Döbrössy a Dunnett, 2004, 2005).

## **10.2. Vliv nucené fyzické aktivity a transplantace na prostorovou orientaci v Morrisově vodním bludišti**

Výrazný rozdíl mezi neovlivněnými mutanty *Lurcher* a myšmi typu *wild* ve schopnosti dosáhnout ostrůvku v Morrisově vodním bludišti jsme ukázali již v dříve (Porrás-García a spol., 2005). Současné pokusy provedené ve stejném bludišti a stejné laboratoři potvrdily horší schopnost učení u myší typu *Lurcher* a jsou ve shodě s poznatky o deficitu prostorové orientace u těchto mutantů (Lalonde a spol., 1988a). Přes tento deficit však myší typu *Lurcher* všech experimentálních skupin vykazovaly zkracování latencí a délky dráhy v průběhu testu v Morrisově vodním bludišti, což lze pokládat za projev učení.

Pro interpretaci výsledků je důležité, že rychlost plavání myší typu *Lurcher* nebyla nižší než rychlost myší *wild*. Obdobně průměrná rychlost plavání myší *Lurcher* srovnávaných skupin byla stejná nebo dokonce nižší u skupiny zvířat s kratšími latencemi. Proto rozdíly v latencích nelze vysvětlit různou rychlostí plavání a lze je spíše připsat rozdílné schopnosti prostorového učení, prostorové orientace nebo visuomotorické koordinace, která je možnou

příčinou selhávání myši typu Lurcher v testech prostorového učení ve vodních bludištích (Caston a spol., 1999; Lalonde a Thifault, 1994).

Nucená fyzická aktivita výrazně zlepšila výsledky dospělých myši typu Lurcher v Morrisově vodním bludišti. Caston a spol. (1999) popsali zlepšení schopnosti učení u mutantů typu Lurcher chovaných v obohaceném prostředí, které bylo pravidelně obměňováno, aby byla udržována explorační aktivita. Měnicí se prostředí může trénovat prostorovou orientaci a paměť a také stimulovat volní pohybovou aktivitu (exploraci prostředí). V naší studii jsme použili nucenou pohybovou aktivitu, která může být standardizována a kvantifikována. Nucená aktivita je také spojena se změnou prostředí (vyjmutí z chovné klece) a tzv. handlingem, i když jistě nepřináší tolik nových podnětů a netrénuje prostorovou orientaci jako obohacené prostředí. O to lépe však umožňuje posuzovat vliv fyzické aktivity jako takové. Na rozdíl od Castona a spol. (1999) jsme k testu prostorového učení a orientace použili Morrisovo vodní bludiště se čtyřmi střídajícími se startovními pozicemi (Caston a spol. startovní pozici neměnili). Důvodem bylo úlohu ztížit a zároveň potlačit idiotetickou navigaci a posuzovat tak především navigaci alotetickou.

Pozitivní efekt fyzické aktivity na schopnost prostorové orientace není překvapující. Je známo, že fyzická aktivita a obohacené prostředí mírní kognitivní deficit u různých mutantních zvířecích modelů nervových onemocnění (Huang a spol., 2006) a zvyšuje hladinu BDNF v mozku (Berchtold a spol., 2005; Vaynman a spol., 2006), jak bylo zmíněno v úvodu.

Naproti tomu transplantace embryonální mozečkové tkáně měla na schopnost prostorové orientace nevýrazný vliv. Dospělé myši s přežívajícím transplantátem dosáhly významně kratších latencí v bludišti než kontrolní myši jen v pátém dnu a významně kratší dráhy jen v šestém a sedmém dnu desetidenního pokusu. Kromě toho dosahovala dospělá trénovaná zvířata s přežívajícím transplantátem horších výsledků než trénování kontrolní mutanti. Nedošlo tedy ke vzájemnému posílení účinků obou způsobů ovlivnění a jejich kombinace se ukázala jako neúčinná.

Pokud je o morfologii transplantátu, byl u velké části zvířat ostře ohraničený. V ostatních případech bylo sice patrné prorůstání vláken nebo migrace buněk z transplantátu do okolí, avšak masivní kolonizace mozečku příjemce transplantovanými Purkyňovými buňkami a vrůstání axonů do oblasti mozečkových jader nebyly pozorovány. Proto také nelze předpokládat výrazné funkční projevy dané náhradou zaniklých Purkyňových buněk transplantovanými buňkami, které by se zapojily do nervových okruhů přerušovaných degenerativním procesem. Spíše je nutno uvažovat o nesespecifickém trofickém působení embryonální tkáně podporujícím plasticitu mozku (Cendelín a spol., 2006a, v tisku). Obdobně



vysvětluje mechanismus zlepšení funkcí poškozených mozkovým infarktem po následné transplantaci embryonální tkáně Mattsson a spol. (1997). Zároveň je nutno vzít v úvahu i možné negativní působení transplantátu. V řadě případů jsme pozorovali deformaci a stlačení mozečku příjemce transplantátem větších rozměrů, který připomínal neinvazivně rostoucí tumor, nebo naopak defekt v mozečku příjemce v okolí drobného, pravděpodobně rozpadajícího se transplantátu. Tyto negativní změny mohly limitovat možnosti funkčního zlepšení daného tréninkem.

Nález určitého, byť mírného zlepšení v Morrisově bludišti po transplantaci je ovšem podporován zjištěním Barcala a spol. (v tisku), který u myší použitých v této práci po skončení testu prostorového učení vyšetřil dlouhodobou hipokampální potenciaci (LTP). Zjistil významně vyšší úroveň potenciace u trénovaných myší typu Lurcher s přežívajícím transplantátem ve srovnání s kontrolními mutanty. Hipokampální LTP je přitom považována za jeden z nejdůležitějších elektrofyziologických jevů souvisejících s mechanismy učení a paměti na neuronální úrovni (Bliss a Collingridge, 1993). Toto zlepšení by mohlo být opět vysvětlováno trofickým působením embryonální tkáně na mozek příjemce, včetně hipokampu, a příznivým vlivem fyzické aktivity na synaptickou plasticitu v mozku a jmenovitě v hipokampu (Kempermann a spol., 1997).

Vedle nevýrazného vlivu transplantace embryonální mozečkové tkáně na prostorovou orientaci u dospělých myší typu Lurcher neměla transplantace u stejných myší prakticky žádný vliv na motorické funkce (Cendelín a spol., 2006a, v tisku). Tyto skutečnosti ukazují, že přínos aplikace solidního embryonálního mozečkového transplantátu mutantním myším Lurcher je sporný. To je v protikladu s nálezy popisovanými u pcd mutantů a myší typu SCA1, u nichž došlo po transplantaci k zmírnění projevů ataxie (Triarhou a spol., 1995, 1996; Zhang a spol., 1996; Kaemmerer a Low, 1999). V těchto studiích však byla aplikována buněčná suspenze, nikoliv solidní transplantát. Bylo by zajímavé zjistit, zda má transplantace mozečkové tkáně u těchto modelů hereditární ataxie také vliv na kognitivní funkce, a jaký je funkční efekt aplikace suspenze embryonálních buněk mozečku mutantům Lurcher.

U mladých myší typu Lurcher jsme nepozorovali pozitivní vliv transplantace, ani účinek fyzické aktivity na schopnost orientace v Morrisově bludišti. Mladí kontrolní mutanti však dosahovali lepších výsledků než dospělí. Trénované dospělé myši typu Lurcher, které byly nejlepší skupinou dospělých mutantů, se svým výkonem přiblížily mladým zvířatům. Zdá se tedy, že nucená fyzická aktivita mírnila deficit spojený s vyšším věkem, který nebyl pozorován u myší typu wild (Cendelín a spol., 2008). Pro ověření této hypotézy bude třeba provést detailnější studii u několika věkových skupin myší typu Lurcher i wild.

## 11. ZÁVĚRY

1. Nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v přežívání solidního embryonálního mozečkového transplantátu mezi dospělými mutanty typu Lurcher kmene B6CBA a dospělými jedinci typu wild téhož kmene. Rovněž nebyly rozdíly v přežívání transplantátu mezi mutanty Lurcher operovanými v dospělosti a mutanty operovanými ve věku 12 až 18 dnů. Ve struktuře transplantátu byly nalezeny mírné rozdíly mezi dospělými zvířaty typu wild a Lurcher a mezi mladými a dospělými mutanty Lurcher. Nucenou fyzickou aktivitou přežívání transplantátu významně ovlivněno nebylo.
2. V období 3 až 9 týdnů po transplantaci nedocházelo k rychlému zániku transplantátu a jeho výskyt byl v tomto období stabilní, i přes regresivní změny patrné v některých případech. Z nálezů plyne potřeba stereologické studie vývoje objemu štěpu, která by ukázala, zda dochází k jeho pozvolné redukci, nebo zda přežívá dlouhodobě beze změn.
3. Potvrdili jsme nižší schopnost prostorového učení nebo orientace u myší typu Lurcher kmene B6CBA ve srovnání se zvířaty typu wild téhož kmene. Přes tento deficit je u myší typu Lurcher zachovaná určitá schopnost učení v Morrisově vodním bludišti.
4. Nucená fyzická aktivita vedla u dospělých myší typu Lurcher kmene B6CBA k významnému zlepšení schopnosti prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti.
5. Přínos aplikace solidního embryonálního mozečkového transplantátu byl u dospělých myší typu Lurcher, s ohledem na nedostatečný funkční efekt a možné negativní působení na původní tkáň příjemce, sporný. Kombinace transplantace a nucené fyzické aktivity nevedla u dospělých myší typu Lurcher k vzájemnému posílení účinků obou způsobů ovlivnění a transplantace v tomto případě dokonce spíše snižovala efekt tréninku. Protože není známo, jaký má transplantace mozečkové tkáně vliv na prostorovou orientaci u jiných mutantních myší postižených cerebelární degenerací, u kterých je udáván pozitivní účinek transplantace na motorické funkce, bude užitečné provést pokusy, které by tuto problematiku objasnily. Výzkum více typů myších modelů cerebelární degenerace je nezbytným předpokladem pro přenos poznatků do humánní medicíny, protože i u člověka představují hereditární ataxie rozmanitou skupinu nemocí.
6. U mladých myší typu Lurcher kmene B6CBA nebyl zjištěn významný vliv transplantace ani fyzické aktivity na schopnost prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti.

7. Vzhledem ke zjištěným rozdílům v účinnosti nucené fyzické aktivity na schopnost prostorové orientace v závislosti na věku pokusných myší typu Lurcher, bude vhodné provedení podrobnější studie ontogenetického vývoje prostorového učení u mutantů typu Lurcher různého stáří včetně sledování možností jeho ovlivnění.

## 12. LITERATURA

1. Altman, J.: Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135(3509):1127-1128, 1962.
2. Altman, J.: Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. Postnatal growth and differentiation of the mammalian brain, with implications for a morphological theory of memory. *Anat. Rec.* 145(4): 573–591, 1963.
3. Altman, J., Das, G.D.: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.* 124(3): 319-334, 1965.
4. Alvarado-Mallart, R.M., Sotelo, C.: Cerebellar grafting in murine hereditary degenerative ataxia. Current limitations for a therapeutic approach. *Adv. Neurol.* 61: 1981-1992, 1993.
5. Araki, K., Meguro, H., Kushiya, E., Takayama, C., Inoue Y, Mishina, M.: Selective expression of the glutamate receptor channel delta 2 subunit in cerebellar Purkinje cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 197(3): 1267-1276, 1993.
6. Barcal, J., Cendelín, J., Vožeh, F.: Hippocampal long-term potentiation in adult Lurcher mutant mice: effect of embryonal cerebellar graft and motor training. *Prague Med. Rep.* (v tisku).
7. Barcal, J., Jelínková, D., Štenglová, V., Vožeh, F., Žalud, V.: The functional-morphological correlations of hippocampal LTP in the cerebellar degeneration model caused by the change of NOS activity. *Physiol. Res.* 51(4): P 2, 2002.
8. Barcal, J., Vožeh, F., Žalud, V.: Hippocampal electrical activity in two strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(5): 200-202, 2001.
9. Bastian, A.J., Mugnani, E., Thach, W.T.: Cerebellum. In: Zigmond, M., J. (editor): *Fundamental neuroscience*. Academic Press, San Diego, pp. 973-993, 1999.
10. Beckers, M.C., Bar, I., Huynh-Thu, T., Dérnoncourt, C., Brunialti, A.L., Montagutelli, X., Guenet, J.L., Goffinet, A.M.: A high-resolution genetic map of mouse chromosome 5 encompassing the reeler (rl) locus. *Genomics* 23(3): 685-690, 1994.
11. Berchtold, N.C., Chinn, G., Chou, M., Kessler, J.P., Cotman, C.W.: Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat. *Neuroscience* 133(3): 853-861, 2005.
12. Berrebi, A.S., Mugnaini, E.: Effects of the murine mutation "nervous" on neurons in cerebellum and dorsal cochlear nucleus. *J. Neurocytol.* 17(4): 465-484, 1988.
13. Björklund, A., Lindvall, O.: Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nature Neurosci.* 3(6): 537-544, 2000.
14. Blatt, G.J., Eisenmann, L.M.: A qualitative and quantitative light microscopic study of the inferior olivary complex of normal, reeler, and weaver mutant mice. *J. Comp. Neurol.* 232(1): 117-128, 1985a.

15. Blatt, G.J., Eisenmann, L.M.: A qualitative and quantitative light microscopic study of the inferior olivary complex in the adult staggerer mutant mice. *J. Neurogenet.* 2(1): 51-66, 1985b.
16. Bliss, T.V.P., Collingridge, G.L.: A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361(6407): 31-39, 1993.
17. Botez, M.I., Gravel, J., Attig, E., Vezina, J.L.: Reversible chronic cerebellar ataxia after phenytoin intoxication: possible role of cerebellum in cognitive thought. *Neurology* 35(8): 1152-1157, 1985.
18. Braitenberg, V., Heck, D., Sultan, I.: The detection and generation of sequences as a key to cerebellar function: experiments and theory. *Behav. Brain. Sci.* 20(2): 229-237, 1997.
19. Brasted, P.J., Watts, C., Torres, E.M., Robbins, T.W., Dunnet, S.B.: Behavioural recovery following striatal transplantation: effects of postoperative training and P-zone volume. *Exp. Brain Res.* 128(4): 535-538, 1999.
20. Brooks, S.P., Pask, T., Jones, L., Dunnet, S.B.: Behavioural profiles of inbred mouse strains used as transgenic backgrounds. II: cognitive tests. *Genes Brain Behav.* 4(5): 307-317, 2005.
21. Caddy, K.W.T., Biscoe, T.J.: The number of Purkinje cells and olive neurones in the normal and Lurcher mutant mouse. *Brain Res.* 111(2): 396-398, 1976.
22. Caddy, K.W.T., Biscoe, T.J.: Structural and quantitative studies on the normal C3H and Lurcher mutant mouse. *Phil. Trans. Roy. So. Lond. B.* 287(1020): 167-201, 1979.
23. Caddy, K.W.T., Vožeh, F.: The effect of 3-acetylpyridine on the inferior olivary degeneration in the Lurcher mutant and wild type mice. *Europ. J. Pharmacol.* 330(2-3): 137-142, 1997.
24. Carletti, B., Rossi, F.: Selective rather than inductive mechanisms favour specific replacement of Purkinje cells by embryonic cerebellar cells transplanted to the cerebellum of adult Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice. *Eur. J. Neurosci.* 22(5): 1001-1012, 2005.
25. Caston, J., Devulder, B., Jouen, F., Lalonde, R., Delhay-Bouchaud, N., Mariani, J.: Role of an enriched environment on the restoration of behavioral deficits in Lurcher mutant mice. *Develop. Psychobiol.* 35(4): 291-303, 1999.
26. Caston, J., Hilber, P., Chianale, C., Mariani, J.: Effect of training on motor abilities of heterozygous staggerer mutant (Rora(+)/Rora(sg)) mice during aging. *Behav. Brain Res.* 141(1): 35-42, 2003.
27. Caviness, V.S., Rakic, P.: Mechanisms of cortical development: a view from mutations in mice. *Annu. Rev. Neurosci.* 1: 297-326, 1978.
28. Cendelín, J., Korelusová, I., Schmidtmayerová, B., Vožeh, F.: A preliminary study of cerebellar graft survival and its functional consequences in Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 44(1-2):1-6, 2006a.

29. Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: Comparison of embryonic cerebellar graft survival, in adult Lurcher mutant mice of strains C3H and C57Bl/7. *Prague Med. Rep.* 107(1): 89-94, 2006b.
30. Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: Preliminary study of the effect of repeated motor training on spatial learning ability in adult Lurcher mutant mice. *Prague Med. Rep.* 108(1): 49-56, 2007.
31. Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of repeated rotarod training on motor skills and spatial learning ability in Lurcher mutant mice. *Behav. Brain Res.* 189(1): 65-74, 2008.
32. Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of cerebellar transplantation and enforced physical activity on motor skills and spatial learning in adult Lurcher mutant mice. *Cerebellum* (v tisku).
33. Cendelín, J., Voller, J., Žalud, V., Barcal, J., Vožeh, F.: The effect of high frequency electromagnetic field on spatial learning in two strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(5): 206-208, 2001.
34. Cendelín, J., Vožeh, F.: Assessment of CNS excitability in natural model of cerebellar degeneration. *Homeostasis* 39(3-4): 115-116, 1999.
35. Cendelín, J., Vožeh, F.: Comparison of the effect of the D1 dopamine receptor influencing on spatial learning in two different strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(1-2): 73-75, 2001.
36. Cendelín, J., Vožeh, F.: Comparison of some neural functions in two different strains of Lurcher mutant mice. *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 189, 2002.
37. Clark, H.B., Burrig, E.N., Yunis, W.S., Larson, S., Wilcox, C., Hartman, B., Matilla, A., Zoghbi, H.Y., Orr, H.T.: Purkinje cell expression of a mutant allele of SCA1 in transgenic mice leads to disparate effects on motor behaviors, followed by a progressive cerebellar dysfunction and histological alterations. *J. Neurosci.* 17(19): 7385-7395, 1997.
38. Dahhaoui, M., Lannou, J., Stelz, T., Caston, J., Guastavino, J.M.: Role of the cerebellum in spatial orientation in the rat. *Behav Neural. Biol.* 58(3): 180-189, 1992.
39. Dayer, A.G., Ford, A.A., Cleaver, K.M., Yassaee, M., Cameron, H.A.: Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 460(4): 563-572, 2003.
40. Decety, J., Sjöholm, H., Ryding, E., Stenberg, G., Ingvar, D.H.: The cerebellum participates in mental activity: tomographic measurements of regional cerebral blood flow. *Brain Res.* 535(2): 313-317, 1990.
41. Döbrössy, M.D., Dunnett, S.B.: The influence of environment and experience on neural grafts. *Nature Rev. Neurosci.* 2(12): 871-879, 2001.
42. Döbrössy, M D., Dunnett, S.B.: Motor training effects on recovery of function after striatal lesions and striatal grafts. *Exp. Neurol.* 184(1): 274-284, 2003.

43. Döbrössy, M.D., Dunnett, S.B.: Environmental enrichment affects striatal graft morphology and functional recovery. *Eur. J. Neurosci.* 19(1): 159-168, 2004.
44. Döbrössy, M.D., Dunnett, S.B.: Training specificity, graft development and graft-mediated functional recovery in a rodent model of Huntington disease. *Neuroscience* 132(3): 543-552, 2005.
45. Drepper, J., Timmann, D., Kolb, F.P., Diener, H.C.: Non-motor associative learning in patients with isolated degenerative cerebellar disease. *Brain* 122(1):87-97, 1999.
46. Dumesnil-Bousez, N., Sotelo, C.: Early development of the Lurcher cerebellum: Purkinje cell alterations and impairment of synaptogenesis. *J. Neurocytol.* 21(7): 506-529, 1992.
47. Dumesnil-Bousez, N., Sotelo, C.: Partial reconstruction of the adult Lurcher cerebellar circuitry by neural grafting. *Neuroscience* 55(1): 1-21, 1993.
48. Foiez, J.A., Petersen, S.E., Cheney, M.K., Raichle, M.E.: Impaired non-motor learning and error detection associated with cerebellar damage. *Brain* 115(1): 155-178, 1992.
49. Fordyce, D.E., Wehner, J.M.: Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Brain Res.* 619(1-2): 111-119, 1993.
50. Ganong, W.F.: *Přehled lékařské fyziologie*. 20. vydání, Galén, Praha, 2005.
51. Gao, J., Prough, D.S., McAdoo, D.J., Grady, J.J., Parsley, M.O., Ma, L., Tarensenko, Y.I., Wu, P.: Transplantation of primed human fetal neural stem cells improves cognitive function in rats after traumatic brain injury. *Exp. Neurol.* 201(2): 281-92, 2006.
52. Ghetti, B., Triarhou, L.C., Alyea, C.J., Low, W.C., Chang, A.C.: Timing of neuronal replacement in cerebellar degenerative ataxia of Purkinje cell type. *Prog. Brain Res.* 82: 197-202, 1990.
53. Glickstein, M.: The cerebellum and motor learning. *Cur. Opin. Neurobiol.* 2(6): 802-806, 1992.
54. Goldowitz, D., Koch, J.: Performance of normal and neurological mutant mice on radial arm maze and active avoidance tasks. *Behav. Neural. Biol.* 46(2): 216-226, 1986.
55. Goodlett, C. R., Hamre, K.M., West, J.R.: Dissociation of spatial navigation and visual guidance performance in Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice. *Behav. Brain Res.* 47(2): 129-141, 1992.
56. Gould, E, Gross, C.G.: Neurogenesis in Adult Mammals: Some Progress and Problems. *J. Neurosci.* 22(3): 619-623, 2002.
57. Grabowski, M., Johansson, B. B., Brundin, P.: Neocortical grafts placed in the infarcted brain of adult rats: few or no efferent fibres grow from transplant to host. *Exp. Neurol.* 134(2): 273-276, 1995.

58. Guastavino, J.M, Bertin, R., Porter, R.: Effects of the rearing temperature on feeding pattern of the staggerer mutant mouse. *Physiol. Behav.* 49(2): 405-409, 1991.
59. Guastavino, J.M., Sotelo, C., Damez-Kinselle, I.: Hot-foot murine mutation: Behavioral effects and neuroanatomical alteration. *Brain Res.* 523(2): 199-210, 1990.
60. Harding, A.E.: Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet* 1(8334): 1151-1155, 1983.
61. Heckroth, J.A.: Quantitative morphological analysis of the cerebellar nuclei in normal and lurcher mutant mice. I. Morphology and cell number. *J. Comp. Neurol.* 343(1): 173-82, 1994a.
62. Heckroth, J.A.: A quantitative morphological analysis of the cerebellar nuclei in normal and lurcher mutant mice. II. Volumetric changes in cytological components. *J. Comp. Neurol.* 343(1): 183-92, 1994b.
63. Heckroth, J.A., Goldowitz, D., Eisenman, L.M.: Olivocerebellar fiber maturation in normal and lurcher mutant mice: Defective development in lurcher. *J. Comp. Neurol.* 291(3): 415-430, 1990.
64. Heckroth, J.A., Hobart, N.J.H., Summers, D.: Transplanted neurons alter the course of neurodegenerative disease in Lurcher mutant mice. *Exp. Neurol.* 154(2): 336-52, 1998.
65. Herrup, K.: Role of staggerer gene in determining cell number in cerebellar cortex I. Granule cell death is an indirect consequence of staggerer gene action. *Dev. Brain Res.* 313(2): 267-274, 1983.
66. Hilber, P., Caston, J.: Motor skills and motor learning in Lurcher mutant mice during aging. *Neuroscience* 102(3): 615–623, 2001.
67. Hilber, P., Jouen, F., Delhaye-Bouchaud, N., Mariani, J., Caston, J.: Differential roles of cerebellar cortex and deep nuclei in learning and retention of spatial task: studies in intact and cerebellectomized Lurcher mutant mice. *Behav. Genet.* 28(4): 299-308, 1998.
68. Hirano, A., Dembitzer, H.M.: Cerebellar alterations in the weaver mouse. *J. Cell Biol.* 56(2): 478-786, 1973.
69. Houk, J.G., Buckingham, J.T., Barto, A.: Models of the cerebellum and motor learning. *Behav. Brain Sci.* 19(3): 368-383, 1996.
70. Huang, F.L., Huang, K.P., Wu, J., Boucheron, C.: Environmental enrichment enhances neurogranin expression and hippocampal learning and memory but fails to rescue the impairments of neurogranin null mutant mice. *J. Neurosci.* 26(23): 6230-6237, 2006.
71. Chang, B., Hawes, N.L., Hurd, R.E., Davisson, M.T., Nusinowitz, S., Heckenlively, J.R.: Retinal degeneration mutants in the mouse. *Vision Res.* 42(4): 517-525, 2002.
72. Cheng, S.S., Heintz, N.: Massive loss of mid- and hindbrain neurons during embryonic development of homozygous Lurcher mice. *J. Neurosci.* 17(7): 2400-2407, 1997.



73. Ichimiya, T., Okubo, Y., Suhara, T., Sudo, Y.: Reduced volume of the cerebellar vermis in neuroleptic-naive schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 49(1): 20-27, 2001.
74. Isacson, O., Dunnett, S.B., Björklund, A.: Graft-induced behavioral recovery in an animal model of Huntington disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83(8): 2728-2732, 1986.
75. Ito, M.: *The cerebellum and neural control*. Raven, New York, 1984.
76. Kaemmerer, W.F., Low, W.C.: Cerebellar allografts survive and transiently alleviate ataxia in a transgenic model of spinocerebellar ataxia Type-1. *Exp. Neurol.* 158(2): 301-311, 1999.
77. Kashiwabuchi, N., Ikeda, K., Araki, K., Hirano, T., Shibuki, K., Takayama, C., Inoue, Y., Kutsuwada, T., Yagi, T., Kang, Y., Aizawa, S., Mishina, M.: Impairment of motor coordination, Purkinje cell synapse formation, and cerebellar long-term depression in GluR delta 2 mutant mice. *Cell* 81(2): 245-252, 1995.
78. Kempermann, G., Kuhn, H.G., Gage, F.H.: More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386(6624): 493-495, 1997.
79. Klockengether, T., Evert, B.: Genes involved in hereditary ataxias. *Trends Neurosci.* 21(9): 413-418, 1998.
80. Kohsaka, S., Takayama, H., Ueda, T., Toya, S., Tsukada, Y.: Reorganization of cerebellar cell suspension transplanted into the weaver mutant cerebellum and immunohistochemical detection of synaptic formation. *Neurosci. Res.* 6(2): 162-166, 1988.
81. Korelusová, I., Cendelín, J., Vožeh, F.: Motor and visuospatial abilities in a model of olivocerebellar and retinal degeneration – Lurcher mutant mice of C3H strain. *Prague Med. Rep.* 108(1): 37-48, 2007.
82. Křížková, A., Vožeh, F.: Development of early motor learning and topical motor skills in a model of cerebellar degeneration. *Behav. Brain Res.* 150(1-2): 65-72, 2004.
83. Lalonde, R.: Exploration and spatial learning in staggerer mutant mice. *J. Neurogenet.* 14(6): 285-291, 1987a.
84. Lalonde, R.: Motor abnormalities in staggerer mutant mice. *Exp. Brain Res.* 68(2): 417-420, 1987b.
85. Lalonde, R.: Motor abnormalities in weaver mutant mice. *Exp. Brain Res.* 65(2): 479-481, 1987c.
86. Lalonde, R., Botez, M.I.: Navigational deficits in weaver mutant mice. *Brain Res.* 398(1), 175-177, 1986.
87. Lalonde, R., Botez, M.I., Joyal, C.C., Caumartin, M.: Motor abnormalities in Lurcher mutant mice. *Physiol. Behav.* 51(3): 523-525, 1992.

88. Lalonde, R., Filali, M., Bensoula, A.N., Lestienne, F.: Sensorimotor learning in three cerebellar mutant mice. *Neurobiol. Learn. Mem.* 65(2): 113-120, 1996a.
89. Lalonde, R., Filali, M., Bensoula, A.N., Monnier, C., Guastavino, J.M.: Spatial learning in a Z-maze by cerebellar mutant mice. *Physiol. Behav.* 59(1): 83-86, 1996b.
90. Lalonde, R., Lamarre, Y., Smith, A.M.: Does the mutant mouse Lurcher have deficits in spatially oriented behaviours? *Brain Res.* 455(1): 24-30, 1988a.
91. Lalonde, R., Lamarre, Y., Smith, A.M., Botez, M.I.: Spontaneous alternation and habituation in lurcher mutant mice. *Brain Res.* 362(1): 161-164, 1986.
92. Lalonde, R., Manseau, M., Botez, M.I.: Spontaneous alternation and exploration in staggerer mutant mice. *Behav. Brain Res.* 27(3): 273-6, 1988b.
93. Lalonde, R., Strazielle, C.: Motor performance and regional brain metabolism of spontaneous murine mutations with cerebellar atrophy. *Behav. Brain Res.* 125(1-2): 103-108, 2001.
94. Lalonde, R., Strazielle, C.: Motor coordination, exploration, and spatial learning in a natural mouse mutation (nervous) with Purkinje cell degeneration. *Behav. Genet.* 33(1): 59-66, 2003.
95. Lalonde, R., Strazielle, C.: Spontaneous and induced mouse mutations with cerebellar dysfunctions: Behavior and neurochemistry. *Brain Res.* 1140: 51-74, 2007.
96. Lalonde, R., Thifault, S.: Absence of an association between motor coordination and spatial orientation in Lurcher mutant mice. *Behav. Genet.* 24(6): 497-501, 1994.
97. Landis, S.C.: Ultrastructural changes in the mitochondria of cerebellar Purkinje cells of nervous mutant mice. *J. Cell. Biol.* 57(3): 782-797, 1973.
98. Landis, S.C., Mullen, R.J.: The development and degeneration of Purkinje cells in *pcd* mutant mice. *J. Comp. Neurol.* 177(1): 125-144, 1978.
99. Landsend, A.S., Amiry-Moghaddam, M., Matsubara, A., Bergersen, L., Usami, S., Wenthold, R.J., Ottersen, O.P.: Differential localization of delta glutamate receptors in the rat cerebellum: coexpression with AMPA receptors in parallel fiber–spine synapses and absence from climbing fiber–spine synapses. *J. Neurosci.* 17(2): 834–842, 1997.
100. Laurin, D., Verreault, R., Lindsay, J., MacPherson, K., Rockwood, K.: Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch. Neurol.* 58(3): 498–504, 2001.
101. LaVail, M.M.: White, M.P., Gorrin, G.M., Yasumura, D., Porrello, K.V., Mullen, R.J.: Retinal degeneration in the nervous mutant mouse. I. Light microscopic cytopathology and changes in the interphotoreceptor matrix. *J. Comp. Neurol.* 333(2): 168-181, 1993.
102. Le Marec, N., Caston, J., Lalonde, R.: Impaired motor skills on static and mobile beams in Lurcher mutant mice. *Exp. Brain Res.* 116(1): 131–138, 1997.

103. Li, J., Imitola, J., Snyder, E.Y., Sidman, R.L.: Neural stem cells rescue nervous Purkinje neurons by restoring molecular homeostasis of tissue plasminogen activator and downstream targets. *J. Neurosci.* 26(30): 7839-7848, 2006.
104. Loeber, R.T., Cintron, C.M.B., Yurgelun-Todd, D.A.: Morphometry of individual cerebellar lobules in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 158(6): 952-954, 2001.
105. Lomeli, H., Sprengel, R., Laurie, D.J., Kohr, G., Herb, A., Seeburg, P.H., Wisden, W.: The rat delta-1 and delta-2 subunits extend the excitatory amino acid receptor family. *FEBS Lett.* 315(3): 318–322, 1993.
106. Macklis, J.D.: Transplanted neocortical neurons migrate selectively into regions of neuronal degeneration produced by chromophore-targeted laser photolysis. *J. Neurosci.* 13(9): 3848–3863, 1993.
107. Mand'áková, P., Šinkora, J., Šíma, P., Vožeh. F.: Reduced primary T lymphopoiesis in 3-month-old Lurcher mice: sign of premature ageing of thymus? *Neuroimmunomodulation* 12(6): 348-356, 2005.
108. Mand'áková, P., Virtová, M., Šíma, P., Beranová, M., Slípka, J.: Congenitally determined neurodegeneration 'Lurcher' induces morphofunctional changes of thymus. *Folia Microbiol.* 48(3): 394-398, 2003.
109. Manto, M.U.: The wide spectrum of spinocerebellar ataxias (SCAs). *The Cerebellum* (4): 2-6, 2005.
110. Marr, D.A.: A theory of cerebellar cortex. *J. Physiol.* 202(2): 437-470, 1969.
111. Mattsson, B., Sorensen, J.C., Zimmer, J., Johansson, B.B.: Neural grafting to experimental neocortical infarcts improves behavioral outcome and reduces thalamic atrophy in rats housed in enriched but not in standard environments. *Stroke* 28(6): 1225-1231, 1997.
112. Mayat, E., Petralia, R.S., Wang, Y.X., Wenthold, R.J.: Immunoprecipitation, immunoblotting, and immunocytochemistry studies suggest that glutamate receptor delta subunits form novel postsynaptic receptor complexes. *J. Neurosci.* 15(3 Pt 2): 2533–2546, 1995.
113. Mayer, E., Brown, V.J., Dunnet, S.B., Robbins, T.W.: Striatal graft-associated recovery of a lesion-induced performance deficit in the rat requires learning to use the transplant. *Eur. J. Neurosci.* 4(2): 119-126, 1992.
114. McCormick, D.A., Thompson, R.F.: Cerebellum: essential involvement in the classically conditioned eyelid response. *Science* 223(4633): 296-299, 1984.
115. Molteni, R., Wu, A., Vaynman, S., Ying, Z., Barnard, R.J., Gomez-Pinilla, F.: Exercise reverses the effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience* 123(2): 429-440, 2004.
116. Morris, R.G.M.: Development of a water–maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Meth.* 11: 47-60, 1984.

117. Mullen, R.J., Eicher, E.M., Sidman, R.L.: Purkinje cell degeneration, a new neurological mutation in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73(1): 212, 1976.
118. Mullen, R.J., LaVail, M.M.: Two types of retinal degeneration in cerebellar mutant mice. *Nature* 258(5535): 528-530, 1975.
119. Mysliveček, J.: *Základy neurovědy*. Triton, Praha, 2003.
120. Netto, C.A., Hodges, H., Sinden, J.D., Le Peillet, E., Kershaw, T., Sowinski, P., Meldrum, B.S., Gray, J.A.: Effects of foetal hippocampal field grafts on ischaemic-induced deficits in spatial navigation in the water maze. *Neuroscience* 54(1): 69-92, 1993.
121. Nopoulos, P.C., Ceilley, J.W., Gailis, E.A., Andreasen, N.C.: An MRI study of cerebellar vermis morphology in patients with schizophrenia: evidence in support of the cognitive dysmetria concept. *Biol. Psychiatry* 46(5): 703-711, 1999.
122. O'Keefe, J., Nadel, L.: *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Clarendon Press, 1978.
123. Phillips, R.J.S.: 'Lurcher'. A new gene in linkage group XI of the house mouse. *J. Genet.* 57: 35-42, 1960.
124. Polgar, S., Borlongan, C.V., Koutouzis, T.K., Todd, S.L., Cahill, D.W., Sanberg, P.R.: Implications of neurological rehabilitation for advancing intracerebral transplantation. *Brain Res. Bull.* 44(3): 229-232, 1997.
125. Porrás-García, E., Cendelín, J., Domínguez-del-Toro, E., Vožeh, F., Delgado-García, J.M.: Purkinje cell loss affects differentially the execution, acquisition and prepulse inhibition of skeletal and facial motor responses in Lurcher mice. *Eur. J. Neurosci.* 21(4): 979-88, 2005.
126. Resibois, A., Cuvelier, L., Goffinet, A.M.: Abnormalities in the cerebellum and brainstem in homozygous Lurcher mice. *Neuroscience* 80(1): 175-190, 1997.
127. Roffler-Tarlov, S., Graybiel, A.M.: Weaver mutation has differential effects on dopamine-containing innervation of the limbic and nonlimbic striatum. *Nature* 307(5946): 62-66, 1984.
128. Rossi, F., Borsello, T., Strata, P.: Embryonic Purkinje cells grafted on the surface of the cerebellar cortex integrate in the adult unlesioned cerebellum. *Eur. J. Neurosci.* 4(6): 589-593, 1992.
129. Rossi, F., Borsello, T., Strata, P.: Embryonic Purkinje cells grafted on the surface of the adult uninjured rat cerebellum migrate in the host parenchyma and induce sprouting of intact climbing fibres. *Eur. J. Neurosci.* 6(1): 121-136, 1994.
130. Rossi, F., Cattaneo, E.: Neural stem cell therapy for neurological diseases: dreams and reality. *Nature Rev. Neurosci.* 3(5): 401-409, 2002.

131. Ryding, E., Decety, J., Sjöholm, H., Stenberg, G., Ingvar, D.H.: Motor imagery activates the cerebellum regionally. A SPECT rCBF study with 99mTc-HMPAO. *Cogn. Brain Res.* 1(2): 94-99, 1993.
132. Shojaeian, H., Delhay-Bouchaud, N., Mariani, J.: Decreased number of cells in the inferior olivary nucleus of the developing staggerer mouse. *Brain Res.* 353(1): 141-146, 1985.
133. Shojaeian, H., Delhay-Bouchaud, N., Mariani, J.: Stability of inferior olivary neurons in rodents. I. Moderate cell loss in adult Purkinje cell degeneration mutant mouse. *Brain Res.* 466(2): 211-8218, 1988.
134. Schmahmann, J.D.: Disorders of the cerebellum: ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 16(3): 367-378, 2004.
135. Schmahmann, J.D., Sherman, J.C.: The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 121(4): 561-579, 1998.
136. Schmidtmayerová, B., Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: Various methods of Purkinje cells transplantation and their functional response in Lurcher mutant mice. *Prague. Med. Rep.* 106(1): 79-84, 2005.
137. Schöls, L., Bauer, P., Schmidt, T., Schulte, T., Riess, O.: Autosomal dominant cerebellar ataxias: Clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol.* 3(5): 291-304, 2004.
138. Sidman, R. L., Green, M. C.: "Nervous," a new mutant mouse with cerebellar disease. In: Sabourdy, M. (editor): *Les mutants pathologiques chez l'animal*. CNRS, Paris, pp. 69-79, 1970.
139. Snyder, J.S., Hong, N.S., McDonald, R.J., Wojtowicz, J.M.: A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience* 130(4): 843-852, 2005.
140. Snyder, E.Y., Yoon, C., Flax, J.D., Macklis, J.D.: Multipotent neural precursors can differentiate toward replacement of neurons undergoing targeted apoptotic degeneration in adult mouse neocortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94(21):11663-11668, 1997.
141. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M.: Growth and differentiation of cerebellar suspensions transplanted into the adult cerebellum of mice with hereditary degenerative ataxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83(4): 1135-1139, 1986.
142. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M.: Embryonic and adult neurons interact to allow Purkinje cell replacement in mutant cerebellum. *Nature* 327(6121): 421-423, 1987a.
143. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M.: Reconstruction of the defective cerebellar circuitry in adult Purkinje cell degeneration mutant mice by Purkinje cell replacement through transplantation of solid embryonic implants. *Neuroscience* 20(1): 1-22, 1987b.
144. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M., Gardette, R., Crepel, F.: Fate of grafted embryonic Purkinje cells in the cerebellum of the adult "Purkinje cell degeneration" mutant mouse.

- I. Development of reciprocal graft-host interactions. *J. Comp. Neurol.* 295(2): 165-187, 1990.
145. Sotello, C., Triller, A.: Fate of presynaptic afferents to Purkinje cells in the adult nervous mutant mouse: a model to study presynaptic stabilization. *Brain Res.* 175(1): 11-36, 1979.
  146. Strazielle, C., Deiss, V., Naudon, L., Raisman-Vozari, R., Lalonde, R.: Regional brain variations of cytochrome oxidase activity and motor coordination in *Girk2(Wv)* (Weaver) mutant mice. *Neuroscience* 142(2): 437-49, 2006.
  147. Strazielle, C., Lalonde, R., Riopel, L., Botez, M.I., Reader, T.A.: Regional distribution of the 5-HT innervation in the brain of normal and lurcher mice as revealed by [<sup>3</sup>H]citalopram quantitative autoradiography. *J. Chem. Neuroanat.* 10(2): 157-71, 1996.
  148. Takayama, C., Nakagawa, S., Watanabe, M., Mishina, M., Inoue, Y.: Light- and electron-microscopic localization of the glutamate receptor channel delta 2 subunit in the mouse Purkinje cell. *Neurosci. Lett.* 188(2): 89-92, 1995.
  149. Takayama, C., Nakagawa, S., Watanabe, M., Mishina, M., Inoue, Y.: Developmental changes in expression and distribution of the glutamate receptor channel delta 2 subunit according to the Purkinje cell maturation. *Dev. Brain Res.* 92(2): 147-155, 1996.
  150. Takayama, H., Toya, S., Shinozaki, T., Inoue, H., Otani, M., Kohsaka, S., Tsukada, Y.: Possible synapse formation by embryonic cerebellar tissue grafted into the cerebellum of the weaver mutant mouse. *Acta Neurochir. Suppl.* 43: 154-158, 1988.
  151. Thach, W.T.: On the mechanism of cerebellar contributions to cognition. *Cerebellum* 6(3): 163-167, 2007.
  152. Thompson, R.F.: Neural mechanisms of classical conditioning in mammals. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 329(1253): 161-170, 1990.
  153. Thullier, F., Lalonde, R., Cousin, X., Lestienne, F.: Neurobehavioral evaluation of lurcher mutant mice during ontogeny. *Dev. Brain Res.* 100(1): 22-28, 1997.
  154. Tomey, D.A., Heckroth, J.A.: Transplantation of normal embryonic cerebellar cell suspensions into the cerebellum of Lurcher mutant mice. *Exp. Neurol.* 122(1): 165-170, 1993.
  155. Trenkner, E., Hoffmann, M.K.: Defective development of the thymus and immunological abnormalities in the neurological mutation staggerer. *J. Neurosci.* 6(6): 1733-1737, 1986.
  156. Triarhou, L.C.: The cerebellar model of neural grafting: Structural integration and functional recovery. *Brain Res. Bull.* 39(3): 127-138, 1996.
  157. Triarhou, L.C.: Rate of neuronal fallout in a transsynaptic cerebellar model. *Brain Res. Bull.* 47(3): 219-222, 1998.

158. Triarhou, L.C., Ghetti, B.: Stabilisation of neurone number in the inferior olivary complex of aged 'Purkinje cell degeneration' mutant mice. *Acta Neuropathol.* 81(6): 597-602, 1991.
159. Triarhou, L.C., Low, W.C., Ghetti, B.: Transplantation of cerebellar anlagen to hosts with genetic cerebellocortical atrophy. *Anat. Embryol.* 176(2): 145-154, 1987a.
160. Triarhou, L.C., Low, W.C., Ghetti, B.: Intraparenchymal grafting of cerebellar cell suspensions to the deep cerebellar nuclei of pcd mutant mice, with particular emphasis on re-establishment of a Purkinje cell cortico-nuclear projection. *Anat. Embryol. (Berl.)* 185(5): 409-420, 1992.
161. Triarhou, L.C., Norton, J., Ghetti, B.: Anterograde transsynaptic degeneration in deep cerebellar nuclei of Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice. *Exp. Brain Res.* 66(3): 577-588, 1987b.
162. Triarhou, L.C., Wei, Z., Wei-Hua, L.: Graft-induced restoration of function in hereditary cerebellar ataxia. *Neuroreport* 6(14): 1827-1832, 1995.
163. Triarhou, L.C., Zhang, W., Lee, W.H.: Amelioration of the behavioral phenotype in genetically ataxic mice through bilateral intracerebellar grafting of fetal Purkinje cells. *Cell Transplant.* 5(2): 269-277, 1996.
164. Trojan, S., Langmeier, M. (pořadatelé): *Lékařská fyziologie*. Grada Avicenum, Praha, 1994.
165. Vaynman, S., Ying, Z., Gomez-Pinilla, F.: Interplay between BDNF and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience* 122(3): 647-657, 2003.
166. Vaynman, S., Ying, Z., Gomez-Pinilla, F.: Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur. J. Neurosci.* 20(10): 2580-2590, 2004.
167. Vaynman, S., Ying, Z., Wu, A., Gomez-Pinilla, F.: Coupling energy metabolism with a mechanism to support brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity. *Neuroscience* 139(4): 1221-1234, 2006.
168. Vogel, M.W., Caston, J., Yuzaki, M., Mariani, J.: The Lurcher mouse: Fresh insight from an old mutant. *Brain Res.* 1140: 4-18, 2007.
169. Voller, J., Cendelín, J., Tonar, Z., Korelusová, I., Vožeh, F.: Functional consequences of retinal degeneration in spatial orientation in C3H wild type and Lurcher mutant mice. *Prague Med. Rep.* 106(1): 85-90, 2005.
170. Vožeh, F., Cendelín, J., Štenglová, V., Barcal, J., Záhlava, J.: The development of spatial learning in a model of olivocerebellar degeneration. *Homeostasis* 41(1-2): 64-66, 2001a.
171. Vožeh, F., Cendelín, J., Yamamotová, A., Rokyta, R.: CNS excitability and pain perception in two strains of mice afflicted with the same type of cerebellar degeneration (Lurcher mutants). *Homeostasis* 41(5): 196-199, 2001b.

172. Wassef, M., Sotelo, C., Cholley, B., Brehier, A., Thomasset, M.: Cerebellar mutations affecting the postnatal survival of Purkinje cells in the mouse disclose a longitudinal pattern of differentially sensitive cells. *Dev. Biol.* 124(2): 379-389, 1987.
173. Wetts, R., Herrup, K.: Interaction of granule, Purkinje and inferior olivary neurons in Lurcher chimaeric mice. I. Qualitative studies. *J. Embryol. Exp. Morph.* 68: 87-98, 1982a.
174. Wetts, R., Herrup, K.: Interaction of granule, Purkinje and inferior olivary neurons in Lurcher chimeric mice. II. Granule cell death. *Brain Res.* 250(2): 358-362, 1982b.
175. White, M.P., Gorrin, G.M., Mullen, R.J., LaVail, M.M.: Retinal degeneration in the nervous mutant mouse. II. Electron microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.* 333(2): 182-198, 1993.
176. Yamada, M., Sato, T., Tsuji, S., Takahashi, H.: CAG repeat disorder models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathol.* 115(1): 71-86, 2008.
177. Zhang, W., Lee, W.H., Triarhou, L.C.: Grafted cerebellar cells in a mouse model of hereditary ataxia express IGF-I system genes and partially restore behavioral function. *Nat. Med.* 2(1): 65-71, 1996.
178. Zuo, J., De Jager, P.L., Takahashi, K.J., Jiang, W., Linden, D.J., Heintz, H.: Neurodegeneration in Lurcher mice caused by mutation of  $\delta 2$  glutamate receptor gene. *Nature* 388(6644): 769-773, 1997.



### 13. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI

#### Články v časopisech s impakt faktorem:

1. Porras-Garcia, E., **Cendelín, J.**, Dominguez-del-Toro, E., Vožeh, F., Delgado-Garcia, J.M.: Purkinje cell loss affects differentially the execution, acquisition and prepulse inhibition of skeletal and facial motor responses in Lurcher mice. *Eur. J. Neurosci.* 21(4): 979-88, 2005. (IF 2005: 3,949)
2. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of repeated rotarod training on motor skills and spatial learning ability in Lurcher mutant mice. *Behav. Brain Res.* 189(1): 65-74, 2008. (IF 2006: 2,591)
3. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of cerebellar transplantation and enforced physical activity on motor skills and spatial learning in adult Lurcher mutant mice. *Cerebellum*, v tisku. (IF 2006: 2,123)

#### Články v recenzovaných časopisech bez impakt faktoru:

1. Vožeh, F., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Křížková, A., Jelínková, D., Štenglová, V., Žalud, V.: Příspěvek k vývoji kognitivních funkcí u modelu olivocerebelární degenerace. *Čs. Fyziol.* 51(3): 136-137, 2002.
2. **Cendelín, J.**, Voller, J., Žalud, V., Vožeh, F.: Sledování prostorového učení u myši typu Lurcher odvozených od dvou kmenů ovlivňovaných vysokofrekvenčním magnetickým polem. *Čs. Fyziol.* 52 (2): 90-91, 2003.
3. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Yamamoto, A., Rokyta, R.: Vliv olivocerebelární degenerace na úroveň excitability a vnímání bolesti u animálního modelu mozečkové degenerace. *Čs. Fyziol.* 52 (2): 88-89, 2003
4. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: Effect of whole-body exposure to high-frequency electromagnetic field on the brain electrogenesis in neurodefective and healthy mice. *Prague Med. Rep.* 106(1): 91-100, 2005.
5. Schmidtmayerová, B., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Various methods of Purkinje cell transplantation and their functional response in Lurcher mutant mice. *Prague Med. Rep.* 106(1): 79-84, 2005.
6. Voller, J., **Cendelín, J.**, Tonar, Z., Korelusová, I., Vožeh, F.: Functional consequences of retinal degeneration in spatial orientation in C3H wild type and Lurcher mutant mice. *Prague Med. Rep.* 106(1): 85-90, 2005.
7. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Does transplantation of cerebellar embryonic tissue influence hippocampal LTP in adult Lurcher mutant mice? *Prague Med. Rep.* 107(1): 81-88, 2006.
8. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Comparison of embryonic cerebellar graft survival in adult Lurcher mutant mice of strains C3H and C57Bl/7. *Prague Med. Rep.* 107(1), 89-94, 2006.
9. Vožeh, F., Voller, J., **Cendelín, J.**: Neural functional and morphological consequences of retinal degeneration in C3H Lurcher mutant and wild type mice. *Prague Med. Rep.* 107(1): 95-102, 2006.

10. Barcal, J., Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: The time-dependent block of NMDA glutamate receptor influences hippocampal LTP in inborn cerebellar degeneration mouse model. *Prague Med. Rep.* 108(1): 29-36, 2007.
11. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Preliminary study of the effect of repeated motor training on spatial learning ability in adult Lurcher mutant mice. *Prague Med. Rep.* 108(1): 49-56, 2007.
12. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Motor and visuospatial abilities in a model of olivocerebellar and retinal degeneration – Lurcher mutant mice of C3H strain. *Prague Med. Rep.* 108(1): 37-48, 2007.
13. Mysliveček, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Kunová, M., Markvartová, V., Vožeh, F.: Changes of dopamine receptors in mice with olivocerebellar degeneration. *Prague Med. Rep.* 108(1): 57-66, 2007.

### **Články v ostatních časopisech:**

1. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Posouzení excitability CNS u přirozeného modelu cerebelární degenerace. *Plzeň. lék. Sborn.* 65: 5-9, 1998.
2. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Assessment of CNS excitability in natural model of cerebellar degeneration. *Homeostasis* 39(3-4): 115-116, 1999.
3. Vožeh, F., Motáňová, A., **Cendelín, J.**: Functional impact of affecting some mediator systems in cerebellar degeneration. *Homeostasis* 40(3-4): 129-131, 2000.
4. **Cendelín, J.**, Voller, J., Žalud, V., Barcal, J., Vožeh, F.: The effect of high frequency electromagnetic field on spatial learning in two strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(5): 206-208, 2001.
5. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Comparison of the effect of the D1 dopamine receptor influencing on spatial learning in two different strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(1-2): 73-75, 2001.
6. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Sledování funkce D1 dopaminového receptoru v prostorovém učení u modelu olivocerebelární degenerace. *Plzeň. lék. Sborn.* 67, 147-153, 2001.
7. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Yamamotová, A., Rokyta, R.: CNS excitability and pain perception in two strains of mice afflicted with the some type of cerebellar degeneration (Lurcher mutants). *Homeostasis* 41(5): 196-199, 2001.
8. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Štenglová, V., Barcal, J., Záhlava, J.: The development of spatial learning in a model of olivocerebellar degeneration. *Homeostasis* 41(1-2): 64-66, 2001.
9. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Jelínková, D., Křížková, A., Šíma, P., Štenglová, V.: The effect of a diet supplemented with nucleotides on functional parameters of the brain in neurodefective and healthy mice. *Homeostasis* 41(1-2): 69-72, 2001.
10. Žalud, V., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: EEG recording in mice during exposure to high-frequency electromagnetic field. *Homeostasis* 41 (5): 203-206, 2001.
11. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Záhlava, J., Žalud, V.: The spontaneous cortical and hippocampal activity of normal and neurodefective brain influenced by the high-frequency electromagnetic field. *Homeostasis* 42(5): 229-233, 2003.

12. **Cendelín, J.**, Barcal, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of various levels of dopaminergic transmission influencing the spatial learning process in healthy and neurodefective Lurcher mutant mice (C57Bl/7). *Homeostasis* 42(5): 239-241, 2003.
13. Schmidtmayerová, B., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: Vliv vysokofrekvenčního elektromagnetického pole na podráždění a útlum CNS u normálních a neurodefektních myší. *Plzeň. lék. Sborn.* 70: 23-27, 2003.
14. Štenglová, V., **Cendelín, J.**, Jelínková, D., Vožeh, F.: Changes of brain neuronal activity in healthy and neurodefective mice after exposure to high-frequency electromagnetic field. *Homeostasis* 42(5): 234-236, 2003.
15. Voller, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: The effect of long-term high-frequency electromagnetic field exposure on central nervous functions in normal and neurodefective mice of the C57Bl/7 strain. *Homeostasis* 42(5): 225-229, 2003.
16. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Voller, J., Schmidtmayerová, B., Štenglová, V., Jelínková, D., Barcal, J., Žalud, V.: Functional-morphological consequences of the effect of high frequency electromagnetic field on the brain of healthy and neurodefective mice. *Homeostasis* 42(5): 236-239, 2003.
17. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Barcal, J., Vožeh, F.: D1-like receptor blockade in various phases of spatial learning in healthy and neurodefective mice. *Homeostasis* 43(2): 70-72, 2004.
18. Schmidtmayerová, B., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Various methods of substitution of Purkinje cells in a mouse model of olivocerebellar degeneration. *Homeostasis* 43(2): 76-78, 2004.
19. Schmidtmayerová, B., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Regenerace centrálního nervového systému a neurotransplantace. *Plzeň. lék. Sborn.* 71: 49-55, 2004.
20. Štenglová, V., Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Strain differences in NADPH-d activity of brains in C3H and C57Bl/7 Lurcher mice after acute and long-term exposure to high-frequency electromagnetic field. *Homeostasis* 43(2): 73-75, 2004.
21. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: The navigation to the visible object in wild type and Lurcher mutant mice of the strain C3H. *Homeostasis* 44(4): 180-183, 2006.
22. Vožeh, F., Mysliveček, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Markvartová, V.: Distribution and function of dopamine receptors in the brain of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 44(4): 172-176, 2006.
23. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Schmidtmayerová, B., Vožeh, F.: A preliminary study of cerebellar graft survival and its functional consequences in Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 44(1-2): 1-6, 2006.

#### **Sjezdová abstrakta (výběr):**

1. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Motáňová, A.: Some Characteristics of spatial and motor learning in a model of cerebellar degeneration. Third Conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 14.-15.11.1999, Programme and abstracts: 69, 1999.
2. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Influencing of D1 dopamine receptors in the process of spatial learning in Lurcher mutant mice. 77. Fyziologické dny, České Budějovice, 7.-9. 2. 2001, *Physiol. Res.* 50(5): p5, 2001.

3. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Spatial learning in two different strains of Lurcher mutant mice. Fourth Conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 26.-27.10.2001, Programme and abstracts:99, 2001.
4. Vožeh, F., **Cendelín, J.**: Spatial learning in Lurcher mutant mice using two arrangements of Morris water maze. Fourth Conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 26.-27.10.2001, Programme and abstracts: 97, 2001.
5. **Cendelín, J.**, Žalud, V., Jelínková, D., Štenglová, V., Vožeh, F., Vrba, J.: The effect of high frequency electromagnetic field on spatial learning in healthy and neurodefective mice. 78. Fyziologické dny, Piešťany, 5.-8.2.2002, *Physiol. Res.* 51(4): 6P, 23, 2002.
6. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Comparison of some neural functions in two different strains of Lurcher mutant mice. 4th International Congress of Pathophysiology, Budapest - Hungary, 29.6.-5.7.2002, *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 189, 2002.
7. Vožeh, F., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Jelínková, D., Křížková, A., Štenglová, V.: Functional expressions of activity dependent plasticity in a model of cerebellar degeneration. 4th International Congress of Pathophysiology, Budapest - Hungary, 29.6.-5.7.2002, *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 186, 2002.
8. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: Cortical and hippocampal activity in cerebellar neurodegeneration model during its exposition to high-frequency electromagnetic field. Sixth IBRO world congress of neuroscience, Praha, 10.-15.7.2003, Abstract book: 454, 2003.
9. **Cendelín, J.**, Barcal, J. Korelusová, I., Voller, J., Vožeh, F., Žalud, V.: Strain differences in spatial learning and CNS excitability in young healthy and neurodefective mice chronically exposed to high-frequency electromagnetic field. Sixth IBRO world congress of neuroscience, Praha, 10.-15.7.2003, Abstract book: 438, 2003.
10. **Cendelín, J.**, Porrás-García, E., Dominguez del Toro, E., Sanchez-Campusano, R., Vožeh, F., Delgado-García, J.M.: Behavioral characteristics and associative learning in an animal model of cerebellar degeneration (Lurcher mice). Neuroscience 2003, New Orleans - USA, 8.11.2003, Viewer and itinerary planner: Program No 73.1, 2003.
11. Porrás-García, E., **Cendelín, J.**, Domínguez del Toro, E., Sánchez-Campusano, R., Vožeh, F., Delgado-García, J.M.: Propiedades funcionales y capacidad de aprendizaje asociativo en un modelo animal de degeneración cerebelosa (rotón mutante Lurcher). X Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia, Lleida – Spain, 6.-9.9.2003. *Rev. Neurol.* 37(11):1093-1094, 2003.
12. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Štenglová, V.: Cognitive consequences of cerebellar degeneration in two strains of Lurcher mutant mice. Sixth IBRO world congress of neuroscience, Praha, 10.-15.7.2003, Abstract book: 441, 2003.
13. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: The effect of whole-body and local high-frequency electromagnetic field exposure on the brain electrogeny. 15. konference českých a slovenských patofyziologů. Hradec Králové, 22.-23.9.2004. *Physiol. Res.* 53: 47P, 2004.
14. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: High-frequency electromagnetic field exposition influences an electrical activity of normal and neurodefective brain. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): 6P, 2004.

15. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: The role of motor and cognitive abilities in spatial learning task in Lurcher mutant mice. 15. konference českých a slovenských patofyziologů. Hradec Králové 22.-23.9.2004. Abstrakt: *Physiol. Res.* 53: 49P, 2004.
16. **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Barcal, J., Korelusová, I., Markvartová, V., Sobotka, P., Štenglová, V., Vožeh, F., Záhlava, J., Žalud, V.: Modernization of practical experimental education in Pathophysiology. 15. konference českých a slovenských patofyziologů. Hradec Králové 22.-23.9.2004. *Physiol. Res.* 53: 49P, 2004.
17. **Cendelín, J.**, Korelusová I., Barcal, J., Vožeh, F.: Various levels of D<sub>1</sub> dopamine receptor blockade in the process of spatial learning in wild type and Lurcher mutant mice of the C3H strain. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): P8, 2004.
18. **Cendelín, J.**, Schmidtmayerová, B., Štenglová, V., Vožeh, F.: CNS excitability in normal and neurodefective C3H mice exposed to high-frequency electromagnetic field. Biological effects of EMFs 3rd international workshop, Kos - Greece, 4.-8.10.2004, Proceedings: 866-871, 2004.
19. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Štenglová, V., Vožeh, F., Žalud, V.: Changes of brain functions in normal and neurodefective mice exposed to high-frequency electromagnetic field during the second postnatal month. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): P16, 2004.
20. Vožeh, F., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Štenglová, V., Žalud, V.: The effect of high-frequency electromagnetic field on some brain functions in healthy and neurodefective mice. Kos - Greece, 4.-8.10.2004, Proceedings: 1113-1120, 2004.
21. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Štenglová, V., Korelusová, I., Voller, J., Schmidtmayerová, B., Barcal, J.: The effect of high-frequency electromagnetic field on some brain characteristics in healthy and neurodefective mice. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): P43, 2004.
22. Žufan, J., **Cendelín, J.**: Automated evaluation of manifestation of learning. MOSIS '04, Ostrava, 19-21.4.2004, Proceedings of 38th International Conference: 267-274, 2004.
23. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F., Žalud, V.: Dlouhodobá hipokampální potenciace a prostorové učení u dvou kmenů myši s degenerací mozečku. 81. Fyziologické dny, Košice, 2.-4.2.2005, Zborník prác a abstraktov: 10-12, 2005.
24. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Schmidtmayerová, B., Vožeh, F.: Assessment of cerebellar graft survival and its functional consequences in Lurcher mutant mice. International C.I.A.N.S. Conference 2005. Bratislava, 29.6.–2.7.2005, Book of Abstracts: 30, 2005.
25. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Chování zdravých a neurodefektních myši typu Lurcher kmenů C3H a C57Bl/7 v Morrisově vodním bludišti. 81. Fyziologické dny, Košice, 2.-4.2.2005, Zborník prác a abstraktov: 37-38, 2005.
26. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Cerebellar graft survival in Lurcher mutant mice derived from two strains. Joint meeting of ENI-NET and the Czech Neuroscience Society, Praha, 19.-21.11.2005, Programme and abstracts: 101, 2005.
27. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Barcal, J., Vožeh, F., Žalud, V.: Mozkové funkce u normálních a neurodefektních myši vystavených vysokofrekvenčnímu elektromagnetickému poli v průběhu čtvrtého měsíce života. 81. Fyziologické dny, Košice, 2.-4.2.2005, Zborník prác a abstraktov: 93-94, 2005.

28. Vožeh, F., Voller, J., **Cendelín, J.**: Brain functional-morphological consequences of retinal degeneration in C3H Lurcher mutant mice. Joint meeting of ENI-NET and the Czech Neuroscience Society, Praha, 19.-21.11.2005, Programme and abstracts: 102, 2005.
29. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F., Žalud, V.: Vliv dlouhodobé a krátkodobé blokády glutamatergní transmise na hipokampální potenciaci u animálního modelu mozečkové degenerace. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.-10.6. 2006, Program a zborník abstraktov: 39, 2006.
30. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F., Žalud, V.: Hippocampal LTP in the inborn cerebellar degeneration mouse model: modulation by embryonal graft transplantation and BDNF. 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr. vol.3: A013.1, 2006.
31. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Přežívání embryonálního mozečkového transplantátu u dospělých zdravých a neurodefektních myší typu Lurcher kmene C3H. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.-10.6.2006, Program a zborník abstraktov: 21, 2006.
32. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Does the forced motor activity influence embryonic cerebellar graft development and functional effect in C57Bl/7 Lurcher mutant mice? 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr. vol.3: A236.1, 2006.
33. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Vliv krátkodobého působení MK-801 na motorické a kognitivní funkce u normálních a neurodefektních myší kmene C57BL/7. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.10. 6. 2006, Program a zborník abstraktov: 38, 2006.
34. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: The effect of embryonic cerebellar graft on motor activity. 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr., vol.3: A236.9, 2006.
35. Porras, E., **Cendelín, J.**, Domínguez-Del-Toro, E., Vožeh, F., Delgado-García, J. M.: Associative learning capabilities in an animal model of cerebellar cortex degeneration (Lurcher mutant mice). 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr., vol.3: A006.7, 2006.
36. Vožeh, F., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Králíčková, M., Křížková, A., Mandáková, P., Slípka, J., Šíma, P.: Mutantní myši Lurcher a experimentální výzkum zaměřený na nové pojetí cerebela a neuro-endokrino-imunitních vztahů. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.10.6.2006, Program a zborník abstraktov: 20, 2006.
37. Vožeh, F., Doněk, A., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vrba, J.: The effect of high-frequency electromagnetic field on some somatic and nervous characteristics in healthy and neurodefective mice. Biological effects of EMFs 4th international workshop, Crete - Greece, 16.-20.10. 2006, Proceedings: 1241-1249, ISBN 960-233-173-9, 2006.
38. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of enforced physical activity and cerebellar transplantation on spatial learning in Lurcher mutant mice. Sixth conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 19.-20.2007, Programme and abstracts: 78, 2007.