

MOTORICKÉ A KOGNITIVNÍ DŮSLEDKY VROZENÉ MOZEČKOVÉ DEGENERACE
A NĚKTERÉ MOŽNOSTI JEJÍHO OVLIVNĚNÍ

MUDr. ALENA KRÍŽKOVÁ

Ústav patologické fyziologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni

Školitel: Doc. MUDr. František Vožeh, CSc.

Doktorandská disertační práce

Poděkování

Tato disertační práce vznikla na Ústavu patologické fyziologie UK v Plzni. S některými metodikami, které byly použity v této práci, jsem se seznámila na studijní stáži na Ústavu fyziologie Akademie věd České republiky v Praze pod laskavým vedením MUDr. Jana Bureše a na studijní stáži v Rita Levi Montalcini Centre for Brain Repair, Department of Neuroscience, University of Turin pod laskavým vedením Prof. Piergeorgia Straty.

Děkuji svému školiteli Doc. MUDr. Františku Vožehovi, CSc. za velkou pomoc při hledání tématu a tvorbě této práce. Děkuji také pracovníkům Ústavu patologické fyziologie, kteří mi pomáhali zajistit technické provedení pokusů.

Obsah

1	Současný stav problematiky.....	5
1.1	Anatomie mozečku.....	5
1.2	Histologie mozečku.....	5
1.3	Funkční zapojení mozečku.....	6
2	Motorické učení.....	8
2.1	Mění motorické učení morfolonii buněk mozečku?.....	8
2.2	Je u jedinců s poškozeným mozečkem možné motorické učení?.....	10
2.2.1	Fyzikální a farmakologické poškození mozečku u zvířat.....	10
2.2.2	Mutantní myši modely.....	10
2.3	Motorické učení u lidí.....	14
2.4	Ovlivňuje mozeček kognitivní funkce?.....	15
2.4.1	Prostorové učení.....	15
2.4.2	Diskriminační učení typu pasivní avoidance.....	17
3	Mozeček a stárnutí.....	17
4	Vliv alkoholu na mozeček.....	18
5	Možnosti ovlivnění degenerace mozečku.....	19
6	Speciální úvod.....	23
6.1	Vliv nekompetitivního antagonisty N-methyl-D-aspartátu (NMDA) MK-801 na učení a paměť.....	23
6.2	Vliv NO, jeho donoru L-argininu a nespecifického inhibitoru NO syntázy (NOS) N(G)-nitro-L-arginin metylesteru (L-NAME) na učení a paměť.....	24
7	Cíle práce.....	26
8	Materiál a metodiky.....	27
8.1	Animální model.....	27
8.2	Použité látky a roztoky.....	28
8.3	Metodiky.....	28
8.3.1	Motorické učení.....	28
8.3.1.1	Hrazda.....	28
8.3.1.2	Rotující válec (rotorod).....	28
8.3.1.3	Lávka.....	29
8.3.1.4	Žebřík.....	29
8.3.2	Diskriminační učení typu inhibiční reakce pasivní avoidance.....	30
8.3.2.1	Step through.....	30
8.3.2.2	Step down.....	31
9	Vlastní provedení práce.....	32
9.1	Pokus č.1. Cíl: Sledování vývoje motorického učení a aktuálních motorických dovedností myši typu Lurcher a wild v průběhu 1. měsíce po narození.....	32
9.1.1	Pracovní postup.....	32
9.1.2	Výsledky.....	33
9.1.2.1	Myši typu Lurcher.....	33
9.1.2.2	Myši typu wild.....	33
9.1.3	Diskuse.....	43
9.2	Pokus č.2. Cíl: Sledování pozitivního a negativního ovlivnění syntézy NO a jeho dopadu na diskriminační učení.....	46
9.2.1	Pracovní postup.....	46
9.2.2	Výsledky.....	46
9.2.2.1	Myši typu Lurcher (+/Lc).....	46
9.2.2.2	Myši typu wild (+/+)......	47

9.2.3	Diskuse.....	54
9.3	Pokus č.3. Cíl: Sledování účinku podání MK-801 (nekompetitivního antagonisty NMDA receptoru) na diskriminační učení u myši typu Lurcher a wild odvozených od dvou kmenů.....	57
9.3.1	Pracovní postup.....	57
9.3.2	Výsledky.....	57
9.3.2.1	Myši typu Lurcher (+/Lc), kmen C3H.....	57
9.3.2.2	Myši typu wild (+/+), kmen C3H.....	57
9.3.2.3	Myši typu Lurcher (+/Lc), kmen C57B1/7.....	57
9.3.2.4	Myši typu wild (+/+), kmen C57B1/7.....	58
9.3.2.5	Porovnání myši typu Lurcher kmenů C3H a C57B1/7.....	58
9.3.2.6	Porovnání myši typu wild kmenů C3H a C57B1/7.....	58
9.3.3	Diskuse.....	65
10	Závěry.....	68
11	Literatura.....	69
12	Zkratky a vysvětlivky.....	99

1 Současný stav problematiky

1.1 Anatomie mozečku

Mozeček leží v zadní jámě lební, dorzálně od prodloužené míchy a pontu. Na mozečku rozlišujeme *vermis cerebelli*, což je oblý, podélný, střední pás, oddělený hlubokými sagitálními vkleslinami od postranních částí – *hemispheria cerebelli*. *Cerebellum* se dále dělí transversálními rýhami (*fissura prima* a *fissura posterolateralis*) na tři laloky: *lobus anterior (cranialis)*, *lobus posterior (caudalis)*, *lobus flocculonodularis*.

Na povrchu mozečku nalézáme šedou hmotu označovanou jako kůra mozečku. Pod ní je uložena bílá hmota mozečku a v hloubce čtyři páry mozečkových jader (*nc.globosus*, *nc. emboliformis*, *nc. fastigií*, *nc. dentatus*).

1.2 Histologie mozečku

Různé části mozečku mají rozdílné aferentní a eferentní spoje, avšak struktura mozečkové kůry je ve všech částech stejná. Kůra mozečku se skládá ze tří vrstev: vrstvy molekulární, vrstvy ganglionární a z vrstvy zrnité.

Na povrchu se nachází *vrstva molekulární*, která je relativně chudá na buňky. Z nervových buněk tu nacházíme velmi malé buňky hvězdčovitěho tvaru s krátkými bohatě větvenými výběžky a buňky košíčkové. Neurity košíčkových buněk probíhají souběžně s povrchem a vysílají větve, které se košíčkovitě rozdělují kolem těl Purkyňových buněk.

Vrstva ganglionární je tvořena Purkyňovými buňkami hruškovitého tvaru. Od báze Purkyňových buněk vychází dlouhý neurit, který skrze bílou hmotu směřuje až k mozečkovým jádrům.

Ve *vrstvě zrnité* nalézáme velký počet granulárních buněk s krátkými dendrity. Neurity těchto buněk běží do molekulární vrstvy, kde se rozdělují ve tvaru písmene T a raménka příkládají k dendritům Purkyňových buněk. V této vrstvě také nacházíme Golgiho buňky

(s krátkými dendrity a neurity) a buňky neurogliové.

Bílá hmota (dřeň) mozečku se skládá z neuroglie a myelinizovaných nervových vláken, která dělíme na vlákna mechová a šplhavá. Mechová vlákna představují zakončení několika důležitých drah jako je např. dráha spinocerebelární, pontocerebelární nebo vestibulocerebelární a směřují k dendritům zrnité vrstvy. Šplhavá vlákna představují pokračování olivocerebelárních a reticulocerebelárních drah a směřují k Purkyňovým buňkám, jejichž dendrity oplétají.

1.3 Funkční zapojení mozečku

Z funkčního hlediska rozdělujeme mozeček na vestibulocerebellum tvořené flokulonodulárním lalokem, spinocerebellum (vermis a intermediální zóny předního a zadního laloku) a cerebrocerebellum (laterální zóny hemisfér).

Vestibulocerebellum je vývojově nejstarší část mozečku, označuje se též jako archicerebellum. Aferentní dráhy sem přicházejí zejména ze statokinetických čidel a poskytují informace o poloze a pohybech hlavy. Dále jsou sem přiváděny zrakové informace z corpus geniculatum laterale, colliculi superiores a primární zrakové kůry. Eferentní dráhy jdou do vestibulárních jader a prostřednictvím axiálního svalstva se tak podílejí na zajišťování tělesné rovnováhy při stoje a chůzi. Dochází tak také ke kontrole pohybů očí a koordinaci pohybů hlavy a očí.

Spinocerebellum, zvané též paleocerebellum má hlavní aferentní dráhy spinocerebelární. Prostřednictvím eferentních drah je kontrolováno provádění pohybů a řízení svalový tonus axiálního svalstva a svalstva končetin.

Vývojově nejmladší část mozečku – cerebrocerebellum, označované též neocerebellum, má aferentní spoje z těch částí mozkové kůry, které kontrolují motoriku (z premotorické, primární motorické, primární somatosenzorické a zadní parietální kůry). Eferentní dráhy jdou z kůry do nc. dentatus, odtud do thalamu a po přepojení do premotorické a primární motorické kůry. Cerebrocerebellum se podílí na plánování, programování a podněcování pohybu.

Toto tradiční funkční zapojení cerebela jako koordinátora rovnováhy a regulátoru svalového tonu i rovnováhy je dáno především experimentálními pracemi Lucianiho (Luciani, 1891) a potvrzenými Holmesovými klinickými studii (Manni a Petrosini, 1997, Petrosini a spol., 1998). Teprve později byla odhalena účast mozečku na motorickém učení (Marr, 1969, Albus, 1971, Houk a spol., 1996, Brainsenberg a spol., 1997). V posledních letech vzrostl počet experimentálních a klinických důkazů svědčících pro podíl mozečku na kognitivních funkcích:

1. Počet neuronů mozečkové kůry je vyšší než počet neuronů kůry velkého mozku (Glickstein, 1992).
2. Blízké obousměrné spoje mezi neokortexem (hlavně motorickou kůrou) a mozečkem umožňují, že informace dodaná do mozečku z asociativní kůry může být plasticky modifikována a poslána do mozkového kmene, thalamu a neokortexu (Middleton a Strick, 1998).
3. Klinické studie provedené u nemocných s poškozeným mozečkem ukázaly potíže v plnění úkolů v třírozměrném prostoru (Walesch a Horn, 1990), ve vizuospeciální zpětné vazbě (Bracke-Tolkmitt a spol., 1989) a také poruchy v tvorbě slov proti pravidlům sémantickým (Fiez a spol., 1992) nebo fonetickým (Leggio a spol., 1995a, b). U pacientů s postižením mozečku byla dále popsána dysgrafie (Silveri a spol., 1997) a agramatismus (Silveri a spol., 1994).
4. Vyšetřením mozkové aktivity zdravých osob pozitronovou emisní tomografií (PET) byla zjištěna aktivace mozečku během pasivního pozorování pohybu stejně jako během pohybové představy (Decenty a spol., 1994). Magnetická rezonance provedená u zdravých dospělých prokázala zapojení nucleus dentatus v kognitivních funkcích (Kim a spol., 1994), což bylo potvrzeno i metodou PET (Van Mier a spol., 1995).

5. Pokusy na zvířatech prokázaly vliv mozečku na různé typy učení a paměti (Lalonde a spol., 1993, Marec a Lalonde, 1997, Thullier a spol., 1997, Monfort a spol., 1998, Vožeh a spol., 1999, Cendelín a Vožeh 2001, Vožeh a spol., 2001).

2 Motorické učení

2.1 Mění motorické učení morfologii buněk mozečku?

Mozeček hraje důležitou úlohu v procesu motorického učení. Zpracovává senzorní podněty (Adrian, 1943, Shambes a spol., 1978) a koordinuje motorický výkon (Ito, 1984, Thach a spol., 1992). Zvýšená mozečková aktivita byla popsána při získávání motorických dovedností u lidí (Seitz a spol., 1990, Seitz a Roland, 1992). Porucha motorické odezvy na nový senzorní podnět byla zjištěna u motorického poškození (Neshner a Grimm, 1978, Weiner a spol., 1983). K podobným výsledkům došel i výzkum na zvířatech, kde byly zaznamenány změny aktivity Purkyňových buněk v souvislosti s učením (McCormick a Thompson, 1984, Berthier a Moore, 1986, Gilbert a Thach, 1977, Thompson, 1990, Ojakangas a Ebner, 1992, 1994, Hesslow a Ivarsson, 1994).

Struktura kůry mozečku je dána spojením paralelních a šplhavých vláken (zajišťující příjem informací) s Purkyňovou buňkou. Několik teorií se snažilo vysvětlit vliv synaptického uspořádání na motorické učení (Marr, 1969, Albus, 1971, Gilbert, 1975, Eccles 1977, Fujita, 1982, Ito, 1984). Všechny tyto teorie kladou důraz na plasticitu synaptického spojení paralelních vláken a Purkyňových buněk. Synapse šplhavých buněk jsou považovány za stálé. Ukázalo se také, že kromě synaptických změn dochází v procesu učení ke změnám fyziologie a morfologie Purkyňových buněk (Greenough a spol., 1979, Bradley a spol., 1981, Brandon a Coss, 1982, Bailey a Chen, 1983, Patel a Steward, 1988, Alkon a spol., 1990, Kleim a spol., 1996). Aktivita Purkyňovy buňky a na ní navazující vzestup aktivity šplhavých vláken pravděpodobně indukuje LTP (long-term potentiation) a vede k zpětnému poklesu aktivity

Purkyňovy buňky a šplhavých vláken. LTP a LTD (long-term depression) se tedy podílejí na plasticitě mozečkové kůry (Kenyon a spol., 1998, Medina a Mauk, 1999). Daniel a spol. (1998) se zabývali přesným fyziologickým mechanismem LTD, který mozeček potřebuje k motorickému učení. Celý mechanismus zahrnuje indukci LTD, aktivaci napětově řízených vápníkových kanálů, aktivaci ionotropních a metabotropních glutamátových receptorů, stimulaci protein kinasy C a tvorbu NO. Pro důležitost LTD v procesu motorického učení svědčí i pokusy na transgenních myších. Ito (1998) sledoval úlohu LTD na adaptačním mechanismu vestibulo-okulárního reflexu (VOR). Zaměřil se na sledování mozečkových lézí na VOR, aktivitu mozečkových neuronů během adaptace a vliv farmakologicky a geneticky navozených změn mozečku na VOR adaptaci. Výsledky těchto studií svědčí pro vliv mozečku a LTD na VOR plasticitu. Zvířata chovaná v prostředí bohatém na podněty, vykazala nárůst dendritického větvení (Floeter a Greenough, 1979) a zvýšenou hustotu dendritických trnů větví Purkyňových buněk ve srovnání se zvířaty, která žila v prostředí podnětově chudém (Pysh a Weiss, 1979). Také zvířata trénovaná v motorických úkolech měla signifikantně více synapsí mezi Purkyňovými buňkami a paralelními vlákny než neaktivní i aktivní kontroly (Black a spol., 1990, Kleim a spol., 1997). Potkani cvičící třicet dní na provazových žebřících a úzkých lávkách měli signifikantně větší počet synapsí paralelních vláken s Purkyňovými buňkami než inaktivní kontroly i než zvířata chovaná v prostředí s možností cvičení v běhacím kole (Kleim a spol., 1998). U potkanů podrobených motorickému učení byl rovněž prokázán nárůst objemu molekulární vrstvy na jednu Purkyňovu buňku a nárůst počtu krevních kapilár k udržení potřebné difúzní vzdálenosti (Isaacs a spol., 1992). In situ hybridizace prokázala zvýšenou expresi messenger RNA tkáňového aktivátoru plasminogenu (tPA) v Purkyňových buňkách potkanů během hodiny, kdy s nimi byli trénovány motorické úkoly. Indukce tPA během motorického učení patrně hraje úlohu v aktivaci synaptické plasticity (Seeds a spol., 1995).

2.2 Je u jedinců s poškozeným mozečkem možné motorické učení?

2.2.1 Fyzikální a farmakologické poškození mozečku u zvířat

Snížená schopnost motorického učení po trvalém poškození mozečku byla pozorována (Lincoln a spol., 1982, Weiner a spol., 1983). Unilaterální léze mozečku provedená sedm dní před tréninkem vedla k znemožnění učení podmíněného mrkacího reflexu u králíků na ipsilaterální straně avšak nikoli na straně kontralaterální (Lincoln a spol., 1982). Pokusy u lidí s poškozeným mozečkem také prokázaly zhoršené učení (špatné vyhledávání bodů v prostoru v případě použití hranolových brýlí, které přetrvávalo na rozdíl od zdravých kontrol i po sundání brýlí) (Weiner a spol., 1983). Rovněž dočasná blokáda mozečku agonistou kyseliny gama-aminomáselné (GABA) muscimolem vede ke snížené schopnosti motorického učení. Muscimol podávaný mikroinfuzí do nc. interpositus anterior mozečku králíků vedl k přechodné neschopnosti vyvolání mrkacího reflexu. (Krupa a spol., 1993). Pokusy s potkany, u kterých bylo cerebellum ozářeno RTG paprsky, ukázaly jen mírnou motorickou neschopnost, pokud došlo jen k částečné ztrátě granulárních buněk. Při subtotální ztrátě granulárních buněk RTG ozářením, se u zvířat vyvinuly těžké poruchy koordinace a rovnováhy. Navzdory těmto těžkým poruchám vyvinuli potkani při učení novou strategii (seskok z břevna), čímž unikli z náročné experimentální situace. Toto chování bylo pravděpodobně důsledkem sníženého pocitu strachu, což bylo pozorováno již dříve u zvířat s mozečkovými abnormalitami (Le Marec a spol., 1997). Caston a spol. (1995 a, b) sledovali motorické chování na rotorodu (při rotaci 20 otáček za minutu) u dospělých myší po cerebelektomii. Postoperační i preoperační trénink na rotorodu zlepšil výkony myší oproti kontrolám.

2.2.2 Mutantní myši modely

Při výzkumu mozečku se často využívá mutantních myší s jeho vrozenou degenerací.

U myší s degenerací Purkyňových buněk (**Purkinje cell degeneration mouse – pcd mutant**) dochází k zániku prakticky všech Purkyňových buněk mezi 17. a 24. dnem života (Mullen a spol., 1976, Landis a Mullen, 1978). Devadesát procent granulárních buněk zaniká mezi 3. až 20. měsícem postnatálního života (PŽ), protože ztrácí svůj cíl – Purkyňovy buňky (Triarhou a spol., 1985). Také dochází ke ztrátě asi 20 % neuronů hlubokých jader v 10. měsíci PŽ (Triarhou a spol., 1987) a od 3. týdne PŽ byl zjištěn postupný zánik neuronů dolní olivy (Ghetti a spol., 1987, Shojaeian a spol., 1988, Triarhou a Ghetti, 1991). V průběhu PŽ dochází u pcd mutantů k pomalu postupujícím ztrátám retinálních fotoreceptorů (Mullen a spol., 1975).

Pcd mutanty jsou těžce postižení v podmiňování mrkacího reflexu (Chen a spol., 1996) a v prostorové orientaci (Goodlett a spol., 1992). Mutanty typu pcd se navzdory svému postižení vyrovnali zdravým kontrolám v úkolech pevné břevno, vertikální a šikmá mřížka. Horší výkony podávali v testu věšák a v testu akcelerovaný rotorod, kde byli více pasivní než kontroly (Le Marec a Lalonde, 1998) Při testování na pohyblivém chodníčku však trávili více času chůzí než kontroly (Le Marec a Lalonde, 1998). Na rozdíl od zdravých kontrol, myši typu pcd nejsou schopny se učit praxí (Le Marec a Lalonde, 1997, 1998).

Mutantní myši typu **weaver** se vyznačují masivní ztrátou mozečkových granulárních buněk s relativním ušetřením Purkyňových buněk, které zanikají hlavně v přední části vermis, kde může jejich zánik činit v 5. dnu PŽ až 50 % (Sidman, 1968, Rezai a Yoon, 1972, Hirano a spol., 1973, Rakic a Sidman, 1973a, b, Sotelo a Changeux, 1974, Sotelo, 1975, Blatt a Eisenmann, 1985b, Smeyne a Goldowitz, 1989). Dolní oliva postižena není (Blatt a Eisenman, 1985a, Grover a Grusser - Cornehl, 1986). Degenerace se objevuje v dopaminergních buňkách substantia nigra. Byla popsána snížená koncentrace dopaminu

v caudatu a striatu, ale ne v nc. accumbens (Roffler-Tarlov a Graybiel, 1984). Zatím není známo, zda degenerace dopaminergních neuronů v substantia nigra souvisí s degenerací mozečku. Myši typu weaver mají obtíže při plnění motorických úkolů, protože trpí ataxií, hypertonií a třesem. Po chirurgickém odstranění vermis mozečku u myši typu weaver úplně vymizel tremor a zlepšilo se i motorické chování zvířat (Grusser-Cornehls a spol., 1999).

U mutantních myši typu **Lurcher** dochází v průběhu postnatálního života k velkému úbytku Purkyňových buněk, granulárních buněk a neuronů dolní olivy (Caddy a Biscoe, 1979, Wetts a Herrup, 1982 a, b, Carpenter, 1986, Chu a Oberdick, 1995, Smeyne a spol., 1995). V 90. dnu PŽ u nich prakticky nenacházíme Purkyňovy buňky a zbývá asi jen 10 % granulárních buněk mozečku a 25 % neuronů dolní olivy. Zánik Purkyňových buněk je podmíněn mutací genu pro delta 2 glutamátový receptor na šestém chromozomu (Zuo a spol., 1997). Mutantní myši typu Lurcher mohou sloužit jako model lidské olivopontocerebelární atrofie (OPCA). Toto heredodegenerativní onemocnění se vyskytuje jak v dominantní, tak v recesivní formě. U mutantních myši typu Lurcher však, na rozdíl od lidské OPCA, mechová vlákna nedegenerují. Navzdory ataxii (Thullier a spol., 1997, Fortier a spol., 1987) jsou mutantní myši typu Lurcher schopni motorického učení (Lalonde a spol., 1992, Lalonde, 1994 b, Caston a spol., 1995 b). Při testování na rotující mřížce, dřevěném břevnu i věšáku, vykázaly myši typu Lurcher schopnost zlepšovat své výkony tréninkem (Lalonde 1986, Lalonde, 1994 a, b, Lalonde a spol., 1996 a, b). Mutanti se zlepšili i během výcviku na rotorodu (Caston a spol., 1995 b, Hilber a Caston, 2001). Myši typu Lurcher však nedosahovaly ani po tréninku tak dobrých výsledků jako zdravé kontroly (Lalonde, 1994 a, b, 1996 a, b). Ke zhoršení motorického učení u myši typu Lurcher dochází ve stáří (Hilber a Caston, 2001) a po cerebelectomii, což svědčí pro podíl hlubokých mozečkových jader na motorickém učení (Caston a spol., 1995 b).

Mutantní myši typu **staggerer** se v mnoha ohledech podobají myším typu Lurcher. Také u nich dochází k degeneraci mozečkových granulárních buněk, Purkyňových buněk a neuronů dolní olivy (Sotelo, 1979, Herrup, 1983, Blatt a Eisenman, 1985 a, Shojaeian a spol., 1985). Tyto mutanty lze díky jejich hormonálně navozené hyperfagii využít jako model pro studium neuroendokrinních vztahů. Mutantní myši typu staggerer jsou, stejně jako ostatní myši mutanti s degenerací mozečku, menší než zdravé kontroly. Není to ale v důsledku nižšího příjmu potravy. Myši typu staggerer naopak přijímají více potravy než zdravé kontrolní myši (Gustavino a spol., 1991), což se vysvětluje změněným mechanismem ukládání hnědého tuku a dalšími metabolickými změnami. Není jasné, jestli degenerace mozečku vede k hyperfagii cerebelohypotalamickou cestou (Haines a spol., 1984).

Homozygoti typu staggerer trpí rozsáhlou degenerací mozečku a dolní olivy (Herrup a Mullen, 1979, Blatt a Eisenman, 1985 a, Shojaeian a spol., 1985, Zanjani a spol., 1990, 1992), jejíž důsledkem jsou těžké poruchy motoriky a neschopnost se zlepšovat v úkolech motorického učení (rotující mřížka, věšák, dřevěné břevno) tréninkem (Lalonde 1987 a, b, Lalonde a spol., 1988, Lalonde a spol., 1996 a, b). Heterozygoti typu staggerer vykazují odchylky od normálu jen ve specifických motorických testech. Caston se spolupracovníky (2003) testovali heterozygoty typu staggerer a zdravé kontroly na rotarodu ve věku 3 a 6 měsíců. V obou věkových kategoriích dosahovali mutanti horších výsledků než kontroly, což bylo zajímavé zvláště u tříměsíčních zvířat, neboť v tomto věku se degenerace mozečku ještě nerozvíjí. To naznačuje, že některé biochemické změny v mozečku předcházejí vlastní neuronální smrti a zhoršují motorický výkon. Zdravé i mutantní myši byly schopné svůj výkon tréninkem zlepšit. Mutantní myši při motorickém učení pravděpodobně využívají striatum (Saint-Cyr a spol., 1988, Berridge a Whishaw, 1992, Thullier a spol., 1996, Graybiel, 1998, Matsumoto a spol., 1999, Yaguez a spol., 1999, Caston a spol., 2003).

Mutantní myši typu **hot-foot** se vyznačují poruchou inervace Purkyňových buněk a nekrózou části granulárních buněk, což vede k ataxii a trhavým pohybům zadních končetin (Gustavino a spol.,1990). Hot-foot lokus je lokalizován na 6. chromozomu (Lyon a spol., 1996). Myši typu hot-foot jsou schopny vylepšovat tréninkem své výkony v některých motorických úkolech (rotující mřížka, věšák). V metodice dřevěné břevno však zlepšená schopnost motorického učení pozorována nebyla (Lalonde a spol., 1996b).

Mutantní myši typu **nervous** se vyznačují specifickou ztrátou Purkyňových buněk mozečku a patrně sekundárním zánikem granulárních buněk, vyvolaným atrofií Purkyňových buněk (Sidman a Green, 1970, Sotelo a Triller, 1979, Wassef a spol., 1987). Inhibiční interneurony (košíčkové buňky, hvězdicové buňky, Golgiho buňky) nejsou vážně postiženy (Sotelo a Triller, 1979). Množství degenerovaných Purkyňových buněk je regionální. Celkově zaniká až 90 % buněk mezi 3. až 8. týdnem PŽ, ale jen 50 % ve vermis mozečku (Sidman a Green, 1970). Kromě ztráty mozečkových buněk u myši typu nervous také dochází k zániku dorzálních kochleárních buněk (Landis, 1973, Berrebi a Mugnaini, 1988) a k pomalu progredujícímu zániku retinálních fotoreceptorů (Mullen a LaVail,1975, LaVail a spol., 1993, White a spol.,1993). Myši typu nervous dosahují horších výsledků než zdravé kontroly v testech statická lávka, věšák a rotorod (Lalonde a Strazielle, 2001, 2003). V prostorovém učení – v Morrisově vodním bludišti (Morris a spol., 1982, Morris, 1984) měli mutanti problémy s hledáním skrytého ostrůvku. Ve variantě s viditelným ostrůvkem myši typu nervous dosahovaly dobrých výsledků (Lalonde a Strazielle, 2003).

2.3. Motorické učení u lidí

Testy měřící učení motorických dovedností u lidí můžeme rozdělit do dvou kategorií: do první kategorie patří testy měřící získávání dovedností (motorické sekvenční učení), ve druhé kategorii jsou testy zaměřené na kapacitu kompenzace změn prostředí (motorická adaptace)

(Doyon a spol., 1996, Shadmehr a Holcomb, 1997, Ungerleider a spol., 2002). V získávání motorických dovedností hraje důležitou roli cerebellum i striatum (Bloedel, 1992, Graybiel, 1995, Thach, 1996, Doyon a spol., 1997a, White, 1997). U lidí trpících Parkinsonovou nemocí, Huntingtonovou choreou a u jedinců s poškozením mozečku byly popsány poruchy v provádění úkolů vyžadujících koordinaci očí a rukou (Heindel a spol., 1989, Bylsma a spol., 1990, Sanes a spol., 1990, Harrington a spol., 1990, Roy a spol., 1993) nebo koordinaci pohybů prstů (Knopman a Nissen, 1991, Ferraro a spol., 1993, Pascual-Leone a spol., 1993, Doyon a spol., 1997a). Použitím pozitronové emisní tomografie (PET) a funkční magnetické rezonance (fMR) bylo prokázáno zvýšení neuronální aktivity ve striatu i v mozečku sledováním hemodynamických změn během motorického učení u zdravých osob (Gerfton a spol., 1994, Jenkins a spol., 1994, Rao a spol., 1995, Rauch a spol., 1995, Doyon a spol., 1996, 1997b, Laforce a Doyon, 2002). Timmann se spolupracovníky (1996) zjistili, že lidé s izolovaným postižením mozečku byli schopni zlepšit své výkony ve vizuomotorickém učení. Nemocní s degenerací mozečku mohou zlepšit své motorické dovednosti, pokud je k nim zapotřebí pomalých pohybů. Vykonávání rychlých pohybů je však u těchto pacientů omezenější (Topka a spol., 1998).

2.4 Ovlivňuje mozeček kognitivní funkce?

2.4.1 Prostorové učení

Myší mutanti Lurcher i weaver prokazují v Morrisově vodním bludišti deficit při hledání viditelného i skrytého ostrůvku. Staggerer a pcd mutanti bývají neúspěšní pouze při hledání skrytého ostrůvku (Lalonde, 1987b, Vožeh a spol., 1999). Goodlet se spolupracovníky (1992) testoval mutantní myši typu pcd a zdravé kontroly ve 30, 50 a 110 dnech PŽ v Morrisově vodním bludišti. Ve 30. dnu PŽ byli pcd mutanti neúspěšní pouze při hledání skrytého ostrůvku. V pozdějším věku se poněkud zhoršili v dosahování viditelného ostrůvku, ale stále

byli mnohem úspěšnější ve srovnání se situací při hledání skrytého ostrůvku. Z těchto pokusů vyplývá, že myši typu staggerer a pcd vykazují poruchu referenční paměti, zatímco u myši typu Lurcher a weaver se jedná o poruchu prostorové orientace. Goldowitz a Koch (1982) testovali myši typu staggerer a zdravé kontroly hledáním potravinových granulí v radiálním bludišti (Crusio a spol., 1995). U myši typu staggerer se objevil větší počet chyb pracovní paměti. Potkani po cerebelektomii před a nebo po tréninku v jamkovém poli (hole board) (Dahhaoi a spol., 1992) a zdravé kontroly hledali potravinovou granuli v prostoru s šestnácti jamkami. Potkani bez mozečku vykazovali více chyb během tréninku i vlastního testu než zdravá zvířata. Test vyhledávání potravy je citlivý i k odhalování hipokampálních lézí (Oddes a Isaacson, 1978).

Poruchy prostorového učení při postižení mozečku byly zaznamenány i u lidí. Mozečkové abnormality byly zjištěny u pacientů s autismem. Snížený počet Purkyňových buněk ve vermis a hemisférách mozečku o 20 až 95 % byl nalezen v sedmnácti z devatenácti z zkoumaných případů (Williams a spol., 1980, Bauman a Kemper, 1985, 1986, 1990 Ritvo a spol., 1986, Arin a spol., 1991, Fehlow a spol., 1993, Bailey a spol., 1998). V jednom ze zbývajících případů byly Purkyňovy buňky abnormální, ve druhém byla diagnóza autismu sporná (zřejmě šlo o Rettův syndrom). Pacienti s autismem mají patrně inadekvátní, nekontrolované signály z mozečku, které zasahují do mnoha systémů mozku a způsobují dysfunkční chování typické pro autismus (Courchesne, 1995, Yeung-Courchesne a Courchesne, 1997). Nemocní mají potíže s pozorností, jejich mozečkové postižení způsobuje pomalé přesouvání pozornosti mezi senzoryckými modalitami (Akshoomoff a Courchesne, 1992, 1994, Courchesne a spol., 1994). Lidé s poškozeným mozečkem se také pomalu orientují v prostoru (Townsend a spol., 1992, 1996 a, b), v pozornostních testech nejsou schopni se orientovat za 100 ms jako zdravé kontroly. Vyšetření magnetickou rezonancí odhalilo, že nemocní s porušeným mozečkem potřebují obvykle k orientaci v pozornostním

úkolu více než 1200 ms (Townsend a spol., 1999). Cerebellum je tedy důležité pro prostorové učení i pro udržení a přesouvání pozornosti.

2.4.2 Diskriminační učení typu pasivní avoidance

Myši typu Lurcher a zdravé kontroly (myši typu wild) byly porovnávány v metodice step through a step down. Mutantní myši typu Lurcher vykazovaly signifikantně horší schopnost učení v obou metodikách (Vožeh a spol., 1997), což svědčí pro účast mozečku v kognitivních funkcích. Po intraperitoneálním podání neurotoxinu 3-acetylpyridinu došlo k zániku neuronů dolní olivy u mláďat i mladých dospělých myší typu Lurcher, zatímco na myši typu wild (tedy zdravé kontroly stejného genetického pozadí) 3-acetylpyridin vliv neměl (Caddy a Vožeh, 1997, Vožeh a spol., 1998). Snížený počet Purkyňových buněk a 3-acetylpyridinem prokázaná latentní méněcennost neuronů dolní olivy zřejmě mají i své funkční následky. Myši typu Lurcher dosahovaly špatných výsledků v metodikách step through a step down již v mladém věku – v 6., 8., 13., 15. a 20. dnu PŽ (Vožeh a spol., 1998).

3 Mozeček a stárnutí

Stará zvířata vykazují zhoršenou motorickou koordinaci a udržování rovnováhy (Marshall a Berrios, 1979, Wallace a spol., 1980, Joseph a spol., 1983). Staří jedinci rovněž dosahují horších výkonů v motorickém učení (Bickford a spol., 1992, Bickford, 1993, 1995, Bickford a spol., 2000, Hilber a Caston, 2001). K podobným závěrům došlo i sledování starých lidí (Wiegand a Ramella, 1983, Wright a Payne, 1985, Eslinger a Damasino, 1986). Snížená schopnost motorického učení podobně jako ve stáří byla popsána u potkanů s chybějícími centrálními zásobami noradrenalinu a u potkanů se sníženým množstvím funkčních beta-adrenergických receptorů např. v důsledku podání beta-adrenergického antagonisty propranololu

(Bickford a spol., 1992, Bickford, 1993, 1995), což potvrzuje důležitou úlohu noradrenalinu v mozečku (Waston a McElligott, 1983, 1984, Van Neerven a spol., 1990) a při konsolidaci paměti (Gilbert, 1975). Tyto výsledky svědčí pro pokles funkce beta-adrenergních receptorů mozečku ve stáří (Joseph a spol., 1998, Bickford a spol. 2000). Hilber a Caston (2001) popsali zhoršené motorické učení ve stáří 21 měsíců u mutantních myší typu Lurcher, které však v tomto případě bylo asi nejvíce podmíněno zděděnou, postupně se rozvíjející degenerací mozečku. Oxidativní stres a volné kyslíkové radikály jsou pravděpodobně jednou z příčin neurodegenerativních chorob jako je Alzheimerova a Parkinsonova choroba. Volné kyslíkové radikály se patrně také podílejí na projevech stáří (Harman, 1956, Ames a spol., 1993). Snížení normálních antioxidačních obranných mechanismů ve stáří vede ke snížení biologických funkcí (Harman, 1956, Ames a spol., 1993). Konzumace stravy bohaté na antioxidanty (ovoce a zelenina) snižuje výskyt rakoviny (Willet, 1994 a, b, Cao a spol., 1995, 1997) a ischemické choroby srdeční (Hughes, 1995, Mayne, 1996) a lze tedy předpokládat, že pozitivní vliv může mít i na mozkové funkce. Staří potkani (18 měsíců) krmění dietou obohacenou o borůvky, jahody nebo špenát se zlepšili v testech motorického učení oproti kontrolám. Ovoce a zelenina, které jsou zdrojem antioxidantů, mohou, jak se zdá, také zvrátit věkem způsobené snížení funkce mozečkových beta-adrenergních receptorů a z něj vyplývající pokles motorického učení (Joseph a spol., 1998, Bickford a spol., 2000).

4 Vliv alkoholu na mozeček

Mnohé studie prokázaly, že chronické užívání alkoholu vede k těžkému postižení mozku (Lee a spol., 1981, Phillips a Cragg, 1983, 1984, Phillips a spol., 1987, Karhunen a spol., 1994, Sullivan a spol., 2000). Mozečková atrofie je popisována téměř u poloviny závislých na alkoholu (Torvik a Torp, 1986). U alkoholiků často pozorujeme agitovanost, zvýšenou

excitabilitu, tremor, epileptické křeče a delirium (Hillbom, 1980, Brown a spol., 1988). U lidí závislých na alkoholu se rovněž objevuje ataxie (Woeber a spol., 1998). Také potkani užívající alkohol mají narušené motorické funkce, což je způsobené postižením mozečku (Ogura a spol., 1980, Breton a spol., 1988) a dosahují špatných výkonů na rotorodu (Ogura a spol., 1980, Costa a spol., 1999). Chronické užívání alkoholu také vede k zhoršenému prostorovému a motorickému učení (Fehr a spol., 1976).

17-beta-estradiol je přirozený estrogen, u kterého byly popsány silné neuroprotektivní účinky. 17-beta-estradiol eliminoval neuronální postižení způsobené mozkovou ischemií (Simpkins a spol., 1997) a sekundární ischemií způsobenou subarachnoidální hemoragií u zvířecího modelu (Yang a spol., 2001). Z klinických studií vyplývá, že terapie 17-beta-estradiolem vede k nižšímu výskytu ischemického postižení u postmenopauzálních žen (Schmidt, 1996).

Když byl ovariectomizovaným samicím potkanů užívajících alkohol podáván 17-beta-estradiol, výkony na rotorodu byly u těchto samic lepší než u zvířat bez hormonálního podávání. Také počet Purkyňových buněk mozečku byl u zvířat s hormonální substitucí větší než u samic bez ní (Jung a spol., 2002).

5 Možnosti ovlivnění degenerace mozečku

Cílem sledování mutantních myší s postižením mozečku není pouze zjišťování projevů degenerace v různých obdobích života, ale především snaha tuto degeneraci zpomalit, předejít jí, či nahradit již ztracené buňky novými.

Je známo, že dopamin ovlivňuje lokomoční aktivitu (Beninger, 1983, Gerfen, 1995). Ukazuje se také, že dopamin může ovlivňovat mozečkovou symptomatologii (Botez a spol., 1991, Botez a spol., 1996, Lalonde, 1996, Lalonde, 1997). Možné ovlivnění motorických dysfunkcí po mozečkových lézích dopaminem může být vysvětleno mozečkovými eferentními spoji s dopaminergními buňkami středního mozku (Snider a spol., 1976) a malou

dopaminergní inervací ze středního mozku (Panagopoulos a spol., 1991, Ikai a spol., 1992). Thullier se spolupracovníky (1999) sledoval motorickou koordinaci u mutantních myší typu Lurcher po podání nekompetitivního antagonisty N –methyl –D- aspartátového receptoru (NMDA) dextrometorphanu, L-dopy/carbidopy a D1 receptorového agonisty dopaminu – SKF 77434. Po podání 25 a 50 mg/kg dextrometorphanu došlo k zlepšení pohybu na hrazdě. Rovněž po podání 37,5 mg/kg L-dopy se pohyb na hrazdě zlepšil. SKF 77434 pohyb na hrazdě nezlepšoval ani nezhoršoval. Tyto výsledky ukazují, že NMDA receptorový antagonismus nebo ovlivnění dopaminergních mechanismů částečně zlepšují geneticky danou cerebelární ataxii u myší (Cendelín, Vožeh, 2001).

Klinické zkoušky ukazují, že podávání 5-hydroxytryptofanu spolu s benserazinem zlepšují skóre ataxie u některých mozečkových syndromů. Pomalost akce a přetrvávání účinků naznačují, že mechanismus je nezávislý na přímém mediátorovém působení serotoninu (Trouillas, 1984). U pacientů s OPCA bez známek parkinsonismu došlo k zlepšení pohybové iniciace a kompletace po dlouhodobé terapii amantadinem – dopamin uvolňujícím činitelem a agonistou NMDA receptoru. Zlepšení bylo pozorováno též u nemocných s Friedreichovou ataxií a spinocerebelárním postižením. Tato zlepšení byla nezávislá na výchozích hladinách homovanylové kyseliny – hlavního metabolitu dopaminu. Mechanismus děje tedy patrně není limitován dopaminem (Botez a spol.,1991, Botez a spol.,1996).

Další možností v terapii cerebelární degenerace je transplantace mozečkových embryonálních či fetálních buněk. Při transplantaci embryonální cerebelární tkáně do mozečku dospělého jedince, kde Purkyňovy buňky degenerovaly následkem genetické mutace a nebo byly zničeny neurotoxickým jedem, atrofická vlákna tvoří nové větve a synapse. Dochází k vývoji normálních šplhavých vláken. (Rossi a Strata, 1995, Strata a Rossi, 1998). Funkční efekt mozečkových transplantací na motorickou výkonost byl zkoumán u ped mutantů po bilaterální transplantaci mozečkové buněčné suspenze (získané z myší typu wild)

do parenchymu hlubokých mozečkových jader. Pcd myši po transplantaci vykazovaly nižší únavnost, lepší koordinaci a udržování rovnováhy na rotorodu i na otevřeném poli oproti slepě operovaným pcd mutantům (Triarhou a spol., 1996, Zhang a spol., 1996). Tomey se spolupracovníky (1993) prováděl transplantace Purkyňových buněk do mozečků dospělých myší typu Lurcher. Injekční aplikací suspenze normální embryonální mozečkové tkáně dospělým a mláďatům myší typu Lurcher došlo k infiltraci atrofického hostitelského cerebelárního kortextu geneticky normálními Purkyňovými buňkami jako bylo již předtím pozorováno u pcd mutantů. U myší typu Lurcher dárcovské Purkyňovy buňky mnohem častěji osídlily hostitelskou molekulární vrstvu a produkovaly axony, které v některých případech dosáhly hostitelských mozečkových jader. Pouze u poloviny příjemců však došlo k přežívání transplantovaných buněk, na rozdíl od 100 % úspěchu dosaženého u pcd myší. (Sotelo a Alvarado-Mallart, 1986, 1987a,b, 1988). Odlišnou úspěšnost u těchto dvou typů mutantů můžeme vysvětlit užitím jiné techniky a těžkou deplecí granulárních buněk spolu s jejich paralelními vlákny u mutantních myší typu Lurcher (Altman, 1973, 1982, Herndon a Oster-Granite, 1975, Schmidtmayerová a spol., 2004, Schmidtmayerová a spol., v tisku). U myší typu Lurcher mladí hostitelé možná mohou poskytnout lepší transplantační viabilitu, protože více aferentací pomáhá udržovat neurony štěpu. U mladých pcd myší (Ghetti a spol., 1990) má však štěp Purkyňových buněk omezený účinek a to zřejmě proto, že hostitelské Purkyňovy buňky omezovaly invazivní aktivitu transplantovaných neuroblastů Purkyňových buněk. Optimální věk příjemce štěpu s Purkyňovými buňkami bude pravděpodobně určován dvěma protichůdnými vlivy:

1. negativním efektem hostitelských Purkyňových buněk
2. tropní aktivitou aferentací do Purkyňových buněk

Transplantace Purkyňových a dalších neuronálních buněk může být v budoucnosti důležitou součástí léčby nemocných trpících degenerativními onemocněními centrálního nervového systému.

6 Speciální úvod

6.1 Vliv nekompetitivního antagonisty N-methyl-D-aspartátu (NMDA) MK-801

na učení a paměť

Užívání nekompetitivních antagonistů N-methyl-D-aspartátu (NMDA) jako je např. ketamin a phencyclidin může vést k poruchám myšlení a vnímání, které je charakteristické pro schizofrenii (Krystal a spol.,1994, Malhotra a spol.,1996). NMDA receptorový antagonismus také způsobuje poruchy kognitivního a sociálního chování (Javit a Zukin, 1991, Coyle, 1996). Mezi nekompetitivní antagonisty NMDA patří také dizocilpin neboli MK- 801, chemicky: (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo-(a,d) – cycloheptan-5,10-iminhydrogenmaleát. Vliv chronického neonatálního podávání MK-801 na prostorové i neprostorové učení v dospělosti byl intenzivně studován (Mc Lamb a spol., 1990, Gorter a de Bruin, 1992, Mickley a spol., 1992, Tandon a spol., 1996, Greisbach a Amsel, 1998). Někteří autoři uvádějí, že chronická blokáda NMDA receptorů během neonatálního období vede k dlouhotrvajícím poruchám hipokampálních funkcí, tedy k poškození učení a paměti (Gorter a de Bruin, 1992), jiní experimentátoři např. Tandon a spol. (1996) nenašli dlouhotrvající účinky na chování zvířat. Většina badatelů se domnívá, že neonatální blokáda NMDA receptorů může mít vliv na testy prováděné v pozdějším věku. Tento názor byl částečně potvrzen zjištěním, že NMDA antagonismus může zvyšovat neurodestrukci v dospělém mozku podléhajícím neurodegeneraci (Pohl a spol., 1999, Takadera a spol., 1999, Ikonomidou a spol., 2000). Chronický postnatální příjem MK-801 vede u mláďat potkanů k dlouhotrvající redukci lokomoční aktivity po pubertě. U mladých potkanů vede podávání MK-801 naopak ke zvýšení motorické aktivity (Facchinetti a spol., 1993, 1994). Po 60. dnu PŽ dochází u těchto potkanů ke změně chování směrem do hypoaktivity, podobně jako u lidí trpících schizofrenií (Niemi a spol., 2003). Po 60. dnu PŽ při chronickém i.p. podávání MK-801 dochází u potkanů k změně váhy. Před 60. dnem PŽ mívají potkani užívající MK-801 větší

hmotnost než kontroly, po 60. dnu PŽ tomu již bývá naopak (Whishaw a Auer, 1989, Stanley a spol., 1996, Schiffelholz a spol., 2004). Neurotoxický efekt MK-801 je mnohem vážnější v raném postnatálním období. Blokáda NMDA receptorů jen na několik hodin během pozdního fetálního nebo časného neonatálního období spustí rozsáhlou apoptotickou neurodegeneraci ve vyvíjejícím se potkaním mozku (Ikonomidou a spol., 1999).

6.2 Vliv NO, jeho donoru L-argininu a nescifického inhibitoru NO syntázy (NOS)

N(G)-nitro-L-arginin metylesteru (L-NAME) na učení a paměť

NO je volný radikál, který může působit jako signální molekula i neurotoxin. Může být syntetizován spolu s L-citrulinem z L-argininu (Knowles a spol., 1989) jednou ze tří isoform NO syntázy (NOS): neuronální NOS (nNOS), endoteliální NOS (eNOS) a inducibilní NOS (iNOS) (Marletta, 1994). NO syntetizovaný každou NOS má specifický účinek na mozkovou tkáň. Neuronální NOS a inducibilní NOS mají neurotoxický efekt, zatímco účinek endoteliální NOS je neuroprotektivní (Iadecola, 1997). Mishima se spolupracovníky (2003) prokázal, že postischemické podávání L-NAME potkanům signifikantně tlumí opakovanou ischemií vzniklé poškození prostorové paměti, zmenšuje apoptózu v hipokampu a oddaluje nárůst NO hladin. Známější je pozitivní vliv NO v procesech učení a paměti (Medina a Izquiero, 1995). NO donor S-nitroso-N-acetylpenicillamin (SNAP) zlepšuje retenci u potkanů (Fin a spol., 1995). Inhibitory NOS, např. L-NAME nebo 7-nitroindazol (7-NI), poškozují učení a paměť v radiálním bludišti (Zuo a spol., 1998). L-arginin má schopnost zvrátit efekt inhibitorů NOS (Zuo a spol., 1998), což podporuje domněnku, že NO ovlivňuje učení a paměť (Paul a spol., 2003).

Khavandgar se spolupracovníky (2003) podával myším před testem pasivní avoidance morfin, který vyvolal reverzibilní postižení paměti. Následné podání L-argininu 5 min po

tréninku vedlo k zlepšení konsolidace paměti, zatímco podání nesespecifického antagonisty NOS L-NAME konsolidaci paměti zhoršovalo.

Podávání L-NAME (v dávkách 5, 20 a 50 mg) potkanům, vedlo ke zhoršenému hledání skrytého ostrůvku v Morrisově vodním bludišti. Postižení prostorového učení šlo předejít podáním ekvivalentní dávky L-argininu. Tyto údaje ukazují, že inhibice NO aktivity prostřednictvím L-NAME vyvolá poškození kognitivního výkonu při nízkých dávkách (pod 20 mg/kg). Vysoké dávky inhibitorů mohou mít vedlejší účinky jako je malátnost a peristaltická dysregulace svalů gastrointestinálního traktu (Prendergast a spol., 1997).

7 Cíle práce

1. Sledování vývoje motorického učení a aktuálních motorických dovedností myší typu Lurcher a wild v průběhu 1. měsíce po narození.
2. Sledování pozitivního a negativního ovlivnění syntézy NO a jeho dopadu na diskriminační učení.
3. Sledování účinku podávání MK-801 (nekompetitivního antagonisty NMDA receptoru) na diskriminační učení u myší typu Lurcher a wild odvozených od dvou kmenů.

8 Materiál a metodiky

Na našem pracovišti již řadu let chováme myši typu Lurcher a wild kmene C3H. Chov byl založen díky laskavosti dr. K.W.T. Caddyho (Department of Physiology, University College, London), který nám poskytl první chovné jedince. Postižení jedinci kmene C3H mívají téměř vždy světlou barvu srsti (+/Lc), zatímco zdraví jedinci (+/+) bývají tmaví, což umožňuje rozlišení obou typů ihned po narození. V nedávné době jsme začali na našem pracovišti chovat i kmen C 57B1/7, u kterého nelze rozlišit postižené a zdravé jedince podle barvy srsti.

8.1 Animální model

V našich experimentech jsme pracovali s myšmi typu Lurcher (+/Lc) (jedinci s postižením mozečku) a myšmi typu wild (+/+) (zdraví jedinci) kmene C3H a kmene C57B1/7 z chovu Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni. Samci myši typu Lurcher (+/Lc) byli kříženi se samicemi wild typu (+/+) téhož kmene. Polovina mláďat pak byla postižena degenerací mozečku (myši typu Lurcher), zatímco druhá polovina byla zdravá (myši typu wild) a sloužila v pokusech jako kontroly. Při křížení samic a samců myši typu Lurcher (+/Lc), část vrhu tvoří homozygoti Lurcher (+/+), kteří však nejsou životaschopní, proto jsme vždy k chovu připouštěli postižené samce (+/Lc) a zdravé samice (+/+), což zaručovalo dobrou péči o mláďata, která byla chována v boxech s matkou. Zvířata byla chována za standardních podmínek: teplota 22 - 23 °C, vlhkost 40-50 %, periody světla a tmy se střídaly po 12 hodinách (6-18-18-6). Potravu myši dostávaly ad libitum.

Pokusy byly prováděny s předchozím souhlasem Etické komise LF UK v Plzni. Byly zachovány všechny etické normy a zákony platné pro práci s laboratorními zvířaty.

8.2 Použité látky a roztoky

Byl použit L-arginin v dávce 20 mg/kg subkutánně (s.c.) a L-NAME v dávce 20 mg/kg s.c. , MK 801 v dávce 0,25 mg/kg s.c. a jako kontrola fyziologický roztok s.c.

8.3 Metodiky

8.3.1 Motorické učení

Pro hodnocení motorického učení se užívá několika metodik, umožňujících rozpoznat různé postižení motoriky (Barnett 1964, Lalonde a spol., 1995, Joyal a spol., 1996, Lalonde a spol., 1996, Marec a Lalonde, 1997).

8.3.1.1 Hrazda

Hodnotí se schopnost zvířete setrvat na malé hrazdě (průměr drátu 1 mm, výška 40 cm), na kterou se zavěsí tak, aby se chytlo předními končetinami.

Zvíře je úspěšné (splní kritérium), pokud se udrží na nářadí po dobu jedné minuty.

8.3.1.2 Rotující válec (rotorod)

Hodnotí se schopnost zvířete udržet se na pomalu se otáčejícím válci (průměr 15 cm, délka 20 cm, rychlost 1 otáčka/minuta).

Pokus má tři modifikace:

- I myš se umístí na válec hlavou ve směru pohybu válce
- II myš se umístí na válec hlavou proti směru pohybu válce
- III myš se umístí napříč válcem

V každé pozici splní zvíře kritérium, když se udrží na válci 1 minutu.

8.3.1.3 Lávka

Hodnotí se schopnost zvířete stát či chodit po malé úzké lávce. Myš se umístí do středu lávky (výška 40 cm, délka 30 cm, šířka 2 cm).

Kritérium úspěšnosti je setrvat na lávce 2 minuty.

8.3.1.4 Žebřík

Hodnotí se schopnost zvířete stát nebo šplhat po žebříku (délka 35 cm, šířka 4 cm, průměr příček žebříku 4 mm, vzdálenost mezi příčkami 1cm, úhel sklonu 60 stupňů). Myš se umístí do středu jeho délky.

Pokus má tři modifikace :

- I myš se umístí na žebřík hlavou nahoru
- II myš se umístí na žebřík hlavou dolů
- III myš se umístí napříč žebříkem

Kritérium úspěšnosti je udržet se na žebříku 1 minutu v každé pozici.

U všech testů motorického učení byla pod každým náradím položena měkká pokrývka, která tlumila případné pády myší.

U metodik rotující válec a žebřík jsme používali tři variant pokusů, čímž jsme dosáhli různých úrovní náročnosti, což je důležité zejména u neurodeficientních myší. Každé zvíře absolvovalo všechny testy v pořadí: hrazda, rotující válec I, rotující válec II, rotující válec III, lávka, žebřík I, žebřík II, žebřík III. Mezi jednotlivými testy mělo každé zvíře oddechovou přestávku 30 - 40 s. Testy byly prováděny ráno, vždy ve stejném čase.

8.3.2. Diskriminační učení typu inhibiční reakce pasivní avoidance

Pro výzkum inhibiční reakce pasivní avoidance myši a potkanů byly vyvinuty metodiky step through a step down (Myslivoček, 1990, Mysliveček a Hassmannová, 1990, Mysliveček a Hassmannová, 1991).

8.3.2.1 Step through

Tato metodika je určena pro sledování učení ještě slepých mláďat myši a potkanů. Mláďe je umístěno do experimentálního boxu o rozměrech 130 x 90 x 130 mm a vystaveno proudu studeného vzduchu, před kterým se snaží uniknout do druhé části prostoru. Poté, co se zvíře naučí ve třech po sobě následujících pokusech unikat do druhé části boxu, je v další fázi experimentu do podlahy této části boxu zapojen přívod elektrického proudu (0,5 mA, 1 Hz, trvání 0,2 s). Zvíře se pak zpravidla naučí zůstat v první, chladnější části boxu. Ze dvou nepříjemných podnětů tedy volí ten nebolestivý. Myš splní kritérium, pokud zůstane dvakrát za sebou 60 s mimo elektrickou mřížku (splní první a druhé kritérium). Za 24 hodin je pokus opakován, aby se zjistila paměťová retence.

Během pokusu dochází k těmto situacím:

1. Mláďe zpočátku téměř vždy vlez na elektrifikovanou podlahu, kde je vystaveno bolestivé stimulaci. Pokud se zvíře nevrátí během 10 s z elektrifikované části, je odtud vyjmuto a drženo 30 s mimo box a poté je pokus opakován (je zahájeno další sezení).
2. V další fázi dochází u mláďete k vytváření paměťové stopy v souvislosti s bolestivými podněty. Zvíře se pohybuje směrem na elektrifikovanou podlahu a pak se vrací zpět, což se různě dlouho opakuje.
3. Třetí fáze je charakterizována již vytvořenou paměťovou stopou. Mláďe se pasivně vyhýbá bolestivému podnětu tím, že neopouští bezpečnou podlahu, kde je pouze excitováno vzduchem.

Pokusy jsou ukončeny, pokud zvíře zůstane mimo elektrický rošt dvakrát 60 s – nikoli ihned po sobě- (dvě sezení) a nebo po desátém sezení, kdy je vyhodnoceno jako neschopné se to naučit.

Pro hodnocení učení je rozhodující počet nutných spojů N (čili počet sezení se zapojenou elektrifikovanou podlážkou) do dosažení kritéria (tedy dvakrát preferovat bezpečnou podlážku a zůstat na ní).

K hodnocení paměti se používá retenční index: $RI = (n_1 - n_r) / n_1$, kde n_1 je počet nutných spojů do splnění kritéria během učení a n_r počet nutných spojů do splnění kritéria během testování paměti. $RI=1$ znamená úplnou paměť, $RI < 1 > 0$ neúplnou paměť, $RI=0$ žádnou paměť.

8.3.2.2 Step down

Step down metodika se užívá u starších, již vidících zvířat. Podlážku pokusného boxu o rozměrech: 220 x 250 x 190mm tvoří elektrická mřížka (elektrický proud – 1,5 mA, frekvence stimulace 1 Hz, trvání stimulace 0,5 s). Myš se umístí dovnitř na úzkou lavičku vzdálenou od podlážky boxu 5 mm. Velikost lavičky se liší podle věku a velikosti pokusného zvířete, nesmí však být pro zvíře příliš pohodlná. To je důvodem, že myš z lavičky obvykle seskočí, avšak bolestivá stimulace ji přinutí vrátit se zpět. Myš splní kritérium, pokud setrvá na lavičce po dobu 100 s. Za 24 h se provádí test paměťové retence.

Hodnotili jsme tyto parametry:

1. doba latence do prvního sestupu z bezpečné lavičky
2. počet sestupů do dosažení kritéria
3. čas do dosažení kritéria
4. doba nociceptivní stimulace (jak dlouho byla myš na elektrické mřížce)

9 Vlastní provedení práce.

Vlastní práci je rozdělena na 3 jednotlivé části (pokusy) tak, aby byly splněny jednotlivé cílové úkoly, viz kap. 7 strana 26. Z metodických důvodů jsou u každé části (pokusu) uvedena specifika pracovního postupu, výsledky, obrázky a diskuse.

9.1 Pokus č.1. Cíl: Sledování vývoje motorického učení a aktuálních motorických dovedností myši typu Lurcher a wild v průběhu

1. měsíce po narození

9.1.1 Pracovní postup

V našich pokusech jsme použili celkem 150 zvířat obou pohlaví. Polovinu tvořily myši typu Lurcher (+/Lc), zbytek myši typu wild(+/+) kmene C3H. Patnáct zvířat každého typu bylo podrobena úkolům motorického učení pouze v 15., 20., 25. nebo 30. dnu PŽ bez předchozího tréninku (celkem 120 myši). Ostatní myši – typu Lurcher a zdravé kontroly (15 +/Lc a 15 +/+) byly trénovány ve všech metodikách motorického učení ve 3., 6., 9., 12., 15., 20., 25., 30. dnu PŽ. Výsledky trénovaných jedinců z 15., 20., 25. a 30. dne PŽ byly srovnány s výsledky netrénovaných myši stejného stáří a typu (Lurcher nebo wild). Testy byly prováděny ve stanoveném pořadí: hrazda, rotující válec I, rotující válec II, rotující válec III, lávka, žebřík I, žebřík II, žebřík III, vždy ráno v 7 hodin. Mezi jednotlivými testy byly přestávky 30 - 40 s, aby sledované zvíře mělo možnost oddechu. V našem chovu jsou neurodegenerativní změny téměř vždy spojeny se světlou barvou kůže a srsti zvířete, což umožnilo rozlišit budoucí zdravé a postižené jedince (tedy Lurcher a wild). Studentův t-test a Chi kvadrátový test byly použity k statistickému vyhodnocení a srovnání výkonů trénovaných a netrénovaných myši (Lurcher i wild) v jednotlivých metodikách.

9.1.2 Výsledky

9.1.2.1 Myši typu Lurcher

15. den postnatálního života

V 15. dnu PŽ byli trénovaní jedinci úspěšnější v metodice rotující válec III ($p < 0,05$). V metodikách rotující válec II, lávka a žebřík I byly rozdíly na hranici statistické významnosti (viz obr. 1).

20. den postnatálního života

Ve 20. dnu PŽ byly výkony trénovaných zvířat lepší jen v metodice lávka ($p < 0,05$). V ostatních metodikách byly úspěšnější netréňovaní jedinci (žebřík II $p < 0,05$, žebřík III $p < 0,01$, hrazda, rotující válec II a III opět na hranici statistické významnosti) (viz obr. 2).

25. den postnatálního života

Ve 25. dnu PŽ byla trénovaná zvířata úspěšnější v metodice hrazda ($p < 0,01$) a rotující válec I ($p < 0,01$). V ostatních disciplínách byly buď výkony obou skupin vyrovnané anebo byla úspěšnější netréňovaná zvířata (žebřík II a III, $p < 0,05$) (viz obr. 3).

30. den postnatálního života

V 30. dnu PŽ trénovaní jedinci byli signifikantně lepší než netréňovaní v metodikách rotující válec ($p < 0,05$) a žebřík III ($p < 0,01$). V metodikách hrazda, rotující válec I, III a žebřík II byly rozdíly na hranici statistické významnosti (viz obr. 4).

9.1.2.2 Myši typu wild

15. den postnatálního života

V 15. dnu PŽ byly trénované myši signifikantně úspěšnější ve čtyřech testech: rotující válec I a II ($p < 0,01$), rotující válec III ($p < 0,001$) a lávka ($p < 0,01$). Nesignifikantní rozdíly

mezi trénovanými a netrénovanými byly nalezeny v metodice hrazda a všech variantách metodiky žebřík (viz obr. 5).

20. den postnatálního života

Ve 20. dnu PŽ byly myši obou skupin 100 % úspěšné v metodice lávka. Trénované myši podaly lepší výkony v metodice rotující válec III ($p < 0,01$). Nesignifikantní rozdíly byly zjištěny v metodikách hrazda, rotující válec I a žebřík III. V ostatních disciplínách byla úspěšnější netrénovaná zvířata (žebřík I $p < 0,05$ žebřík II $p < 0,05$, rotující válec na hranici statistické významnosti) (viz obr. 6).

25. den postnatálního života

V 25. dnu PŽ byla zvířata obou skupin 100 % úspěšná v metodikách lávka a žebřík I. V ostatních testech trénovaná zvířata byla úspěšnější v metodikách rotující válec III ($p < 0,05$) a rotující válec I (na hranici statistické významnosti). Netrénovaní jedinci byli lepší než trénovaní v metodikách žebřík II ($p < 0,0001$) a žebřík III ($p < 0,05$). Výsledky ostatních disciplín neukázaly výrazné rozdíly mezi oběma skupinami (hrazda, rotující válec) (viz obr. 7).

30. den postnatálního života

Ve 30. dnu PŽ byly všechny myši úspěšné v metodice lávka. V ostatních disciplínách byly trénované myši také 100 % úspěšné. V pěti metodikách byla trénovaná zvířata signifikantně lepší než netrénovaná (hrazda $p < 0,01$, rotující válec I, II, III, žebřík II $p < 0,05$) (viz obr. 8).

9.1.3 Diskuse

Naše výsledky ukazují, že netrénované i trénované myši typu Lurcher většinou nikdy nedosáhnou tak dobrých výsledků jako myši typu wild, které jsou signifikantně lepší v naprosté většině testů. Paradoxně horší výsledky byly nalezeny u trénovaných zvířat obou typů ve 20. dnu PŽ (signifikantně na žebříku II, III u +/Lc a žebříku I a II, u +/+, na hrazdě a rotujícím válci II a III u +/Lc a rotujícím válci II u +/+ - tyto rozdíly jsou na hranici statistické významnosti) a stále byly horší v 25. dnu PŽ (žebřík II a III u +/Lc a +/+), což bylo nepochybně způsobeno relativně častým a intenzivním tréninkem (každý třetí den prvních patnáct dnů). Příznivý efekt tréninku byl tudíž patrný jen v 15. dnu PŽ, kdy se ještě neuplatnil „overtraining reversal effect“ (ORE) a v 30. dnu PŽ, kdy byly delší intervaly mezi sezeními, (přibližně každý pátý den v druhé polovině pokusu) a kdy jsme ORE již nepozorovali. Vysvětlení mechanismu, který vede k zhoršení výsledků motorického učení u myši typu Lurcher i myši typu wild v důsledku častého tréninku, nebylo dosud popsáno a tudíž ani vysvětleno. Nicméně podle našeho mínění je nutné uvést zde následující tři hypotézy:

1. nedostatečná motivace - trénované myši obou typů (+/Lc a +/+) v průběhu pokusu padaly z malé výšky na měkkou pokrývku stolu. Pády byly nebolestivé, takže mohly vést ztrátě motivace udržet se na nářadí.

2. habituace mezi sezeními – podle této hypotézy proces „intersession habituation“ vede k paradoxnímu přechodnému zhoršení výsledků u často trénovaných zvířat obou typů. Na rozdíl od Lalondeho a spolupracovníků (Lalonde a spol., 1996 a), kteří popsali „intersession habituation“ u myši typu Lurcher kmene B6CBACa/A w-J ale ne u zdravých kontrolních myši, my jsme jsme rozdíly v „intersession habituation“ mezi myšmi typu Lurcher a myšmi typu wild kmene C3H nepozorovali.

3. analogie ORE je známá již mnoho let. Byla pozorována hlavně v diskriminačním učení, kde nadbytečný trénink urychluje opačné učení (Reid, 1953, Richman a spol., 1972).

V poslední době byla objevena důležitá úloha basálních ganglií, zvláště dopaminergních neuronů dorsálního striata v mechanismu asociativního sensorického chování, tak ORE (Van Golf Racht-Delatour a Massioui, 2000). Bylo také pozorováno zlepšení některých motorických funkcí po intraperitoneálním podání L-dopy/carbidopy, dopaminového prekursoru u myši typu Lurcher kmene B6CBACa/A w-J (Thullier a spol., 1997, 1999). Dále byl prokázán rozdílný účinek SCH 23390, antagonisty D1 dopaminového receptoru, na prostorové učení u dvou kmenů Lurcher mutantů (C3H a C57B1/7) (Cendelin a Vožeh, 2001). Tyto rozdíly v dopaminergních funkcích mohou, jak se zdá, vysvětlovat některé odlišnosti mezi zdravými a neurodefektními zvířaty. V našich experimentech jsme však nezjistili podstatné rozdíly mezi myšmi typu Lurcher a myšmi typu wild v reakci na „overtraining“.

Ukázala se také rozdílná úroveň obtížnosti jednotlivých specifických testů a jejich variant, hlavně u myši typu Lurcher. Například v metodice lávka jsme zjišťovali poškození schopnosti udržování rovnováhy, kdy ve 30. dnu PŽ byla v této metodice úspěšnost netrénovaných jedinců typu Lurcher 30 % a trénovaných 40 %, zatímco myši typu wild prokázaly 100 % úspěšnost v obou skupinách (trénování i trénování). Tyto výsledky jenom částečně korespondují s výkony mladých dospělých myši typu Lurcher (odvozenými od kmene B6CBACa/A w-J). Tato zvířata dosahovala špatných výsledků v některých testech (věšák, vertikální mřížka), zatímco na dřevěném břevnu (lávce) se nenašly rozdíly ve srovnání s normálními kontrolami (Lalonde, 1992).

Nejvýznamnější výsledky jsme získali v našich pokusech u metodik rotující válec a žebříček, kde různé startovní pozice zvířat (tři varianty v každé metodě) hrají důležitou úlohu hlavně u netrénovaných myši typu Lurcher, protože jejich neurodefekt jim neumožňuje se rychle vypořádat s nově vzniklou situací a tudíž dochází k častým pádům. Progressivní mozečková degenerace patrně způsobuje signifikantně horší aktuální sensorimotorickou odpověď na změnu startovní pozice. Nicméně mutantní typy Lurcher jsou schopni učit se a do

jisté míry zlepšovat své motorické výkony během prvního měsíce života, ačkoli v tomto měsíci dochází k rozvoji jejich neurodeficitu. Ve 30. dnu PŽ myši typu Lurcher prokázaly relativně větší schopnost učení než zdravé myši. Zlepšení představovalo průměrně 36 % u myši typu Lurcher a 18 % u myši typu wild, když jsme srovnali průměrné výkony trénovaných a netrénovaných myši obou typů. Naše výsledky vývoje raného motorického učení společně s pozorováními Lalondeho a spolupracovníků (Lalonde, 1994a,b, Lalonde a spol., 1996a,b, Lalonde 1998) podporují hypotézu o účasti mozečku na motorickém učení. U myši typu Lurcher však také dochází k aktivaci mechanismů, které se snaží kompenzovat vzniklý neurodefekt (Křížková a Vožeh, 2004).

9.2 Pokus č.2. Cíl: Sledování pozitivního a negativního ovlivnění syntézy NO a jeho dopadu na diskriminační učení

9.2.1 Pracovní postup

Byly vytvořeny skupiny myši o 15 jedincích stejného typu (wild nebo Lurcher) kmene C3H, kterým byl od 2. do 12. dne PŽ každý druhý den podáván buď nespecifický inhibitor NOS L-NAME nebo donor NO L-arginin v dávce 20 mg/kg subkutánně. Kontrolám byl ve stejných dnech subkutánně podáván fyziologický roztok. U všech zvířat bylo sledováno diskriminační učení typu inhibiční reakce pasivní avoidance – ve 3., 4., 6. a 7. dnu PŽ metodou „step through“, v 15., 16., 20. a 21. dnu PŽ metodou „step down“. Výsledky byly statisticky zpracovány Studentovým t-testem.

9.2.2 Výsledky

9.2.2.1 Myši typu Lurcher (+/Lc)

Podávání L-argininu vedlo k zhoršení učení těchto myši ve srovnání s kontrolami v metodice step through v dosahování 1. kritéria ve 4. dnu PŽ ($p < 0,001$) (viz obr. 9) a v 6. a 7. dnu PŽ ($p < 0,05$) (viz obr. 10). V metodice step down byly u jedinců ovlivňovaných L-argininem pozorovány naopak lepší výsledky než u kontrol s fyziologickým roztokem ovšem jen na hranici statistické významnosti.

Podávání L-NAME myším typu Lurcher vedlo v metodice step through ve 4. dnu PŽ k signifikantnímu zhoršení průběhu učení oproti kontrolám s fyziologickým roztokem v dosahování 1. kritéria ($p < 0,001$) a na hranici statistické významnosti v dosahování 2. kritéria (viz obr. 11). V 6. a 7. dnu PŽ jsme nezaznamenali statisticky významné rozdíly mezi skupinou ovlivňovanou L-NAME a skupinou kontrolní.

V metodice step down v 16. , 20. a 21. dnu PŽ se ukázaly jako úspěšnější myši s podávaným L-NAME oproti kontrolám s podávaným fyziologickým roztokem ovšem jen na hranici statistické významnosti.

9.2.2.2 Myši typu wild (+/+)

U těchto zdravých zvířat byla v metodice step through úspěšnější v dosahování ve 3. dnu PŽ kontrolní zvířata oproti myším ovlivňovaným L-argininem (1. kritérium $p < 0,05$, 2. kritérium na hranici statistické významnosti) (viz obr. 12).

V 6. a 7. dnu PŽ jsme nenašli signifikantní rozdíly mezi skupinou ovlivňovanou L-argininem a skupinou s fyziologickým roztokem. V metodice step down dosáhly v 16. a 20. dnu PŽ lepších výkonů kontrolní zvířata oproti jedincům s podávaným L-argininem ovšem jen na hranici statistické významnosti. Další statisticky významné rozdíly nebyly nalezeny.

Myši typu wild s podávaným L-NAME byly ve 4. dnu PŽ v dosahování 2. kritéria signifikantně úspěšnější než kontroly s fyziologickým roztokem ($p < 0,001$) (viz obr. 13).

V metodice step down naopak jedinci ovlivňovaní L-NAME dosahovali horších výsledků než kontrolní zvířata (v 15. dnu PŽ $p < 0,05$, v 16. a 20. dnu PŽ na hranici statistické významnosti) (viz obr. 14). Další statisticky významné rozdíly jsme nezaznamenali.

9.2.3 Diskuse

Ovlivňování L-argininem vedlo v metodice step through u **myší typu Lurcher** k horšímu dosahování 1. kritéria ve 4. dnu PŽ ($p < 0,001$) a 6. a 7. dnu PŽ ($p < 0,05$). V metodice step down u jedinců s podávaným L-argininem jsme naopak pozorovali větší úspěšnost ale pouze na hranici statistické významnosti.

U **myší typu wild** jsme v metodice step through zachytili ve 3. dnu PŽ v dosahování 1. kritéria lepší výkony kontrolních jedinců ($p < 0,05$). V metodice step down jsme u myší typu wild v 16. a 20. dnu PŽ zaznamenali lepší výkony u kontrolní skupiny s podávaným fyziologickým roztokem než u myší ovlivňovaných L-argininem, ale jen na hranici statistické významnosti.

Můžeme tedy konstatovat, že L-arginin v podávaném množství 20 mg/kg v našich pokusech neměl výrazný pozitivní efekt na učení, dokonce jsme zachytili negativní vliv L-argininu hlavně v raném učení (metodika step through – 3., 4., 16. den PŽ). Jiní autoři naopak našli pozitivní efekt L-argininu na učení. Plech a spol. (2003) zjistili prodlouženou latenci v testu pasivní avoidance (při podání 0,1 mg/kg L-argininu s.c. potkanům kmene Wistar), což svědčí pro to, že L-arginin zlepšuje učení a konsolidaci paměti. L-arginin zvyšuje koncentraci NO v mozku pokusných zvířat (Rajasekaran a Paul, 1999, Paul a Subramanian, 2002), čímž zvyšuje schopnost učení potkanů. Účinek na učení je závislý na dávce L-argininu. Studie Reddyho a spolupracovníků (Reddy a spol., 2002) také podporuje názor, že zvýšení hladiny NO v mozku pozitivně zasahuje do procesů učení a paměti. Telegdy a Kokavszky (1997) zaznamenali po podání L-argininu icv potkanům prodloužení latence pasivní avoidance závislé na dávce, avšak nenalezli zlepšení paměti.

Naše výsledky podporují nálezy z prostorového učení potkanů. V Morrisově vodním bludišti bylo u potkanů pozorováno signifikantní zhoršení v hledání skrytého ostrůvku po podání nespecifického inhibitoru L-NAME (50mg/kg). Toto zhoršení lze vyrušit současným

podáním L-argininu (32,3 mg/kg). Samotné podání L- argininu nemělo statisticky významné účinky na prostorové učení v Morrisově vodním bludišti (Majlessi a spol., 2003). Odlišné výsledky jednotlivých autorů mohou být dány dávkou, rozdílným druhem učení a v našem případě i druhem zvířete (myši kmene C3H oproti nejčastěji sledovaným potkanům kmene Wistar albino).

V metodice step through u **myši typu Lurcher** L-NAME signifikantně zhoršil průběh učení ve 4. dnu PŽ v dosažení 1. kritéria ($p < 0,001$) a na hranici statistické významnosti v dosažení 2. kritéria. Jde nejspíše o akutní působení na synaptické děje před nástupem degenerace. V metodice step down L-NAME naopak zlepšil retenci paměti u **myši typu Lurcher** v 16. a 21. dnu PŽ a učení ve 20. dnu PŽ v porovnání s fyziologickým roztokem (na hranici statistické významnosti), což může svědčit o zpomalení postupu degenerace.

U **myši typu wild** v metodice step through byly v dosažení 2. kritéria ve 4. dnu PŽ signifikantně úspěšnější myši ovlivňované L-NAME ve srovnání s kontrolami ($p < 0,001$). V metodice step down byli naopak úspěšnější jedinci s fyziologickým roztokem než kontroly (v 15. dnu PŽ $p < 0,05$, v 16. a 20. dnu PŽ na hranici statistické významnosti).

Naše nálezy tak jen částečně podporují zjištění Qianga a spol. (1997), že icv injekce L-NAME 30 minut před každým tréninkem poškozuje učení a paměť laboratorních potkanů v testu pasivní avoidance a v Morrisově vodním bludišti. Další autoři také popisují zhoršení prostorového učení po podání inhibitorů NOS v Morrisově vodním bludišti (Chapman a spol., 1992, Mogensen a spol., 1995, Noda a spol., 1997, Prendergast a spol., 1997, Majlessi a spol., 2003) a v bludišti s radiálními rameny (Bohme a spol., 1993, Yamada a spol., 1995, Noda a spol., 1997).

K odlišným závěrům došli Prickaerts a spolupracovníci (1998), kteří podávali L-NAME 25 mg/kg s.c. ode dne narození až do 24. dne PŽ zdravým potkanům. Zjistili, že aplikace L-NAME neovlivnila chování zvířat ve volném poli ani prostorové učení a test aktivní

avoidance oproti kontrolám s fyziologickým roztokem. Inhibice NO podle těchto autorů ovlivňuje během vývoje především krátkodobé nekognitivní chování, ale nemá vliv na chování a funkci mozku v dalším životě. Většina výzkumníků se shoduje na tom, že L-NAME má vliv na zhoršení učení, avšak ne na dlouhodobou paměť (retenci) (Bannerman a spol., 1994, Noda a spol., 1997, Borowicz, 1998).

Du a Harvey (1996) sledovali zlepšení asociativního učení u králíků a to bez účinků na kardiovaskulární systém. Došli k opačným výsledkům než Chapman a spol., např. srovnávali králíky s L-NAME s kontrolní skupinou zvířat užívajících D-NAME a podávali látky intravenózně, což zvíře stresuje a vede k nárůstu krevního tlaku. Du a Harvey (1996) používali jako kontrolní skupinu zvířat s fyziologickým roztokem a L-NAME i fyziologický roztok podávali intraperitoneálně. Toto šetrnější podání nevede k hypertenzi.

Z našich výsledků vyplývá, že L-NAME u myši typu Lurcher zhoršuje průběh učení pouze v raném věku (4. den PŽ). Zlepšení v 16., 20. a 21. dnu PŽ lze vyložit jako zpomalení procesu degenerace působením L-NAME.

L-NAME tedy jak se zdá, odlišně působí na myši zdravé a na jedince s vrozenou degenerací mozečku.

9.3 Pokus č. 3. Cíl: Sledování účinku podání MK-801 (nekompetitivního antagonisty NMDA receptoru) na diskriminační učení u myši typu Lurcher a wild odvozených od dvou kmenů

9.3.1 Pracovní postup

Čtyřem skupinám myši wild (+/+) a Lurcher (+/Lc) kmenů C3H a C57B1/7 o 10 jedincích v každé z nich byl každý druhý den, počínaje 2. a konče 14. dnem aplikován subkutánně buď nekompetitivní antagonist NMDA MK-801 (0,25mg/kg) nebo fyziologický roztok vždy v 9 hodin ráno. Zvířata byla podrobena metodikám diskriminačního učení typu step through (v 6. a 7. dni PŽ) a step down (v 15. a 16.dnu PŽ) vždy v 7 hodin ráno. Výsledky byly statisticky zpracovány Studentovým t-testem.

9.3.2 Výsledky

9.3.2.1 Myši typu Lurcher (+/Lc), kmen C3H

V 6. dnu PŽ v metodice step through byly úspěšnější v dosahování 2. kritéria myši ovlivňované MK-801 než kontrolní zvířata jen na hranici statistické významnosti (viz obr. 15) V ostatních případech nebyly rozdíly statisticky významné.

9.3.2.2 Myši typu wild (+/+), kmen C3H

Rozdíly ve výkonech myši ovlivňovaných MK-801 a kontrolních myši, které dostávaly fyziologický roztok se v obou metodikách (step through a step down) ukázaly jako statisticky nevýznamné.

9.3.2.3 Myši typu Lurcher (+/Lc), kmen C57B1/7

V metodice step through byly úspěšnější v 6. dnu PŽ v dosahování 2. kritéria myši ovlivňované MK-801 ($p < 0,05$) (viz obr. 16). V 7. dnu PŽ (paměťová retence) byly v dosahování 1. i 2. kritéria úspěšnější kontrolní myši s podávaným fyziologickým roztokem

($p < 0,05$) (viz obr .16). V metodice step down byly rozdíly v 15. dnu PŽ statisticky nevýznamné, v 16. dnu dosahovala lepších výkonů zvířata ovlivňovaná MK-801 (ovšem jen na hranici statistické významnosti).

9.3.2.4 Myši typu wild (+/+), kmen C57B1/7

V metodice step through jsme nezaznamenali žádné statisticky významné rozdíly mezi jedinci ovlivňovanými MK-801 a kontrolami.

V metodice step down byly úspěšnější v dosahování kritéria myši ovlivňované MK-801 oproti kontrolním myším s podávaným fyziologickým roztokem (v 15. dnu PŽ $p < 0,05$ v 16. dnu PŽ na hranici statistické významnosti) (viz obr. 17).

9.3.2.5 Porovnání myší typů Lurcher kmenů C3H a C57B1/7

V metodice step through v 7. dnu PŽ byla v dosahování 1. a 2. kritéria úspěšnější skupina myší kmene C57B1/7 ($p < 0,001$) (viz obr. 18). V metodice step down nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly mezi oběma kmeny.

9.3.2.6 Porovnání myší typu wild kmenů C3H a C57B1/7

V metodice step through v dosahování 1. i 2. kritéria byly úspěšnější v 7. dnu PŽ myši kmene C57B1/7 (1.kritérium $p < 0,01$, 2. kritérium $p < 0,001$) (viz obr. 19). V metodice step down v 15. dnu PŽ byly rozdíly statisticky nevýznamné, v 16. dnu PŽ dosahovaly lepších výkonů myši kmene C3H ($p < 0,01$) (viz obr. 20).

9.3.3 Diskuse

Podávání MK-801 **myším typu Lurcher kmene C3H** nepřineslo statisticky významné rozdíly ve srovnání s kontrolami. Zaznamenali jsme sice lepší výkony myši s podávaným MK-801 oproti kontrolám v dosahování 2. kritéria v 6. dnu PŽ v metodice step through ale jen na hranici statistické významnosti.

K ovlivnění chování podáváním MK-801 nedošlo ani u **myši typu wild kmene C3H**. Statisticky významné rozdíly mezi zvířaty ovlivňovanými MK-801 a kontrolami jsme nezaznamenali.

K odlišným výsledkům jsme došli při sledování **myši kmene C57B1/7**. U **myši typu Lurcher kmene C57B1/7** v metodice step through byla zvířata ovlivňovaná MK-801 úspěšnější v 6. dnu PŽ v dosahování 2. kritéria ($p < 0,05$) než kontroly s fyziologickým roztokem. Při sledování retence paměti v 7. dnu PŽ však myši s podávaným MK-801 dosahovaly horších výsledků než kontrolní zvířata s podávaným fyziologickým roztokem ($p < 0,05$) v prvním i v druhém kritériu. Nekompetitivní antagonist NMDA, MK-801, tedy výrazně zhoršil retenci paměti v 7. dnu PŽ, čímž částečně potvrdil nálezy Yamady a spolupracovníků (Yamada a spol., 1996 a), že MK-801 zhoršuje učení pasivního vyhnutí u myši. Toto zhoršení je přímo závislé na množství cyklického GMP. Podání S-nitorso-N-acetylpenicillaminu, zdroje NO, vede k úplné inhibici zhoršení učení vyvolané MK-801. Postižení vyvolané MK-801 lze rovněž zmenšit přidáním dibutyryl cyklického GMP. N-metyl-D-aspartátové receptory tedy hrají důležitou úlohu v procesu učení a paměti. MK-801 však vede k snížení cyklického GMP pouze v mozečku a nikoli v hipokampu jako L-NAME (Yamada a spol., 1996 b).

V metodice step down jsme zaznamenali lepší výkony pouze v 16. dnu PŽ u myši ovlivňovaných MK-801 oproti kontrolním zvířatům ovšem jen na hranici statistické významnosti. Nezaznamenali jsme tudíž děletrvající vliv MK-801 na učení a paměť jako

Gorter a de Bruin (1992). Ti popsali horší výkony ve vodním bludišti u potkanů kmene Wistar ve 120. až 140. dnu PŽ, kterým byl od 8. do 19. dne PŽ dvakrát denně podáván MK-801 v dávce 0,25 mg/kg s.c. Potvrdili jsme spíše nálezy autorů, kteří nenašli dlouhotrvající účinky MK-801 na paměť (Tandon a spol., 1996).

U **myši typu wild kmene C57B1/7** jsme v metodice step through nezachytili žádné statisticky významné rozdíly mezi skupinou zvířat s podávaným MK-801 a skupinou kontrolní.

V metodice step down u **myši typu wild kmene C57B1/7** byla úspěšnější v 15. dnu PŽ zvířata ovlivňovaná MK-801 oproti kontrolám ($p < 0,05$). MK-801 tedy v pozdějším období (15., 16. den PŽ) má spíše pozitivní vliv na učení a to jak u myši Lurcher, tak u myši typu wild kmene C57B1/7.

Naše výsledky nás vedou k hypotéze, že myši typu Lurcher kmene C57B1/7 jsou citlivější v raném období k vlivu MK-801 na paměť, což lze vysvětlit méněcenností mozečkových buněk, které v průběhu života zanikají apoptózou. Po podání 3-acetylpyridinu dochází k zániku neuronů dolní olivy mláďat i mladých dospělých myši typu Lurcher, na myši typu wild 3-acetylpyridin vliv nemá (Caddy a Vožeh, 1997, Vožeh a spol., 1998). Rovněž u MK-801 byl prokázán vliv na programovanou smrt buněk ve smyslu urychlení apoptózy (Pohl a spol., 1999, Takadara a spol., 1999, Ikonamidou a spol., 2000). Ikonamidou se spolupracovníky (1996) podával mláďatům potkanů sedm dní po narození intraperitoneálně MK-801 v dávce 1mg/kg nebo 5 mg/kg 30 nebo 60 min před mozkovou kontuzí vyvolanou ocelovým válcem (délka 40 cm). Oproti kontrolám byl rozsah poškození mozku u potkanů s podávaným MK-801 menší. Při excitotoxickém poškození buněk má tedy MK-801 naopak neuroprotektivní účinky.

Z našich výsledků jasně vyplývají rozdílné účinky MK-801 na oba kmene (C3H a C57B1/7). Myši kmene C3H se v dávkách námi podávaných (0,25 mg/kg) jeví jako necitlivé

k MK-801. Zkoušeli jsme zvířatům kmene C3H podávat vyšší dávky MK-801, ale sledovaní jedinci pak byli velmi spaví, málo přijímali potravu a jejich hmotnost se snižovala. Tato zvířata pak nebylo možno zařadit do experimentů.

Myši typu Lurcher kmene C57B1/7 se ukázaly k podávanému nekompetitivnímu inhibitoru NMDA MK-801 citlivé v raném učení v metodice step through, kde jsme zaznamenali zhoršení retence paměti v 7. dnu PŽ. U myši typu wild kmene C57B1/7 jsme zjistili statisticky významné rozdíly pouze v metodice step down v 15. dnu PŽ a to ve prospěch zvířat ovlivňovaných MK-801 oproti kontrolám s fyziologickým roztokem. Zdali šlo o pozitivní účinek MK-801 ve smyslu neuroprotektce zdravých buněk před případnými negativními vlivy okolí je otázkou.

Srovnáváním výkonů kontrolních myši kmenů C3H a C57B1/7 se ukázalo, že myši kmene C57B1/7 mají výrazně lepší výsledky v retenci paměti v metodice step through (7. den PŽ). U myši typu wild byl tento rozdíl v dosahování 1. kritéria na hladině statistické významnosti $p < 0,01$ a 2. kritéria $p < 0,001$. U myši typu Lurcher byl tento rozdíl dokonce $p < 0,001$ u 1. i 2. kritéria.

V metodice step down nebyly dosažené výsledky tak jednoznačné. U myši typu Lurcher nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi oběma kmeny. U myši typu wild dosáhla lepších výsledků v retenci paměti (16. den PŽ) zvířata kmene C3H ($p < 0,01$).

Myši kmene C57B1/7 jsou tedy mnohem úspěšnější v raném učení metodice step through, což můžeme vysvětlit patrně rychlejším rozvojem nervového systému u zvířat tohoto kmene. Rychle se rozvíjející nervový systém je však v raném období také zranitelnější – citlivější k subkutánnímu podávání MK-801. V období 15. a 16. dne jsme již pozorovali zmenšování rozdílů mezi oběma kmeny. U myši typu wild v 16. dnu PŽ se dokonce jeví jako jedinci s lepší pamětí zvířata kmene C3H než kmene C57B1/7.

10. Závěry

Snaha o ovlivnění nervových funkcí u animálního modelu OPCA v raném postnatálním období tréninkem či podáváním přesně definovaných neuroaktivních látek lze charakterizovat takto:

1. Motorický trénink je schopen pozitivně ovlivnit vývoj pohybových dovedností jak u zdravých jedinců, tak překvapivě výrazně u zvířat s vrozeným neurodefektem a to i přes jejich trvalý hendikep.
2. Látkové ovlivnění v dávkách námi sledovaných není jednoznačné a v případě, kdy může jít o ovlivnění rozvoje neurodegenerace je patrný odlišný účinek u zvířat zdravých a postižených.
3. Vedle rozdílů, které jsou důsledkem neurodegenerace, je třeba vzít v úvahu i kmen zvířat. Kmenové charakteristiky mohou být tak rozdílné, že významně modifikují i důsledky stejného neurodefektu.

Literatura

1. Adrian E.D.
Afferent areas in the cerebellum connected with the limbs.
Brain 1943, 66: 289-315.
2. Akshoomoff N.A., Courchesne E.
A new role for the cerebellum in cognitive operations.
Behav. Neurosci. 1992, 106:731-8.
3. Akshoomoff N.A., Courchesne E.
ERP evidence for shifting attention deficit in patients with damage to the cerebellum.
J. Cognit. Neurosci. 1994, 6:388-99.
4. Albus J.S.
A theory of cerebellar function.
Mathemat. Biosci. 1971, 10: 25-61.
5. Alkon D.L., Ikeno H., Dworkin J., McPhie D.L., Olds J.L., Lederhendler I., Matzel L., Schreurs B.G., Kuzirian A., Collin C.
Contraction of neuronal branching volume: an anatomic correlate of Pavlovian conditioning.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990, 87:1611-4.
6. Altman J.
Experimental reorganization of the cerebellar cortex. IV.
Parallel fiber reorientation following regeneration of the experimental germinal layer.
J. Comp. Neurol. 1973, 149:181-92.
7. Altman J.
Morphological development of the rat cerebellum and some of its mechanism.
In Palay S.L., Chan-Palay V.(Ed.). Cerebellum New Vistas. Berlin: Spring Verlag, 1982, 8-49.
8. Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M.
Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993, 90:7915-22.
9. Arin D.M, Bauman M.L., Kemper T.L.
The distribution of Purkinje cell loss in cerebellum in autism.
Neurol. 1991,41 Suppl.1: 307.
10. Bailey A., Luthert P., Dean A., Harding B., Janota I., Montgomery M., Rutter M., Lantos P.
A clinicopathological study of autism.
Brain 1998, 121 : 889-905.

11. Bailey C.H., Chen M.
Morphological basis of long-term habituation and sensitization in aplysia.
Sci. 1983, 220 : 91-3.
12. Bannerman D.M., Chapman P.F., Kelly P.A., Butcher S.P., Morris R.G.
Inhibition of nitric oxide synthase does not impair spatial learning.
J. Neurosci. 1994, 14: 7404-14.
13. Barnett S.A.
The rat, a study in behaviour.
Chicago, Aldine 1964.
14. Bauman M.L., Kemper T.L.
Histoanatomic observations of the brain in early infantile autism.
Neurol. 1985, 35: 866-74.
15. Bauman M.L., Kemper T.L.
Developmental cerebellar abnormalities: A consistent finding in early infantile autism.
Neurol. 1986, Suppl.1: 190.
16. Bauman M.L., Kemper T.L.
Limbic and cerebellar abnormalities are also present in an autistic child
of normal intelligence.
Neurol. 1990, Suppl.1: 359.
17. Beninger R.J.
The role of dopamine in locomotor activity and learning.
Brain. Res. Rev. 1983, 6: 173-96.
18. Berrebi A.S., Mugnaini E.
Effects of the murine mutation 'nervous' on neurons in cerebellum
and dorsal cochlear nucleus.
J. Neurocytol. 1988, 17: 465-84.
19. Berridge K.C., Whishaw I.Q.
Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming
sequence.
Exp. Brain. Res. 1992, 90: 275-90.
20. Berthier N.E., Moore J.W.
Cerebellar Purkinje cell activity related to the classically conditioned
nictitating membrane response.
Exp. Brain. Res. 1986, 63: 341-50.
21. Bickford P., Heron C., Young D.A., Gerhardt G.A., De La Garza R.
Impaired acquisition of novel locomotor tasks in aged and
norepinephrine-depleted F344 rats.
Neurobiol. Aging. 1992, 13: 475-81.

22. Bickford P.
Motor learning deficits in aged rats are correlated with loss of cerebellar noradrenergic function.
Brain Res. 1993, 620: 133-8.
23. Bickford P.
Aging and motor learning: a possible role for norepinephrine in cerebellar plasticity.
Rev. Neurosci. 1995, 6: 35-46.
24. Bickford P.C., Gould T., Briederick L., Chadman K., Pollock A., Young D., Shukitt-Hale B., Joseph J.
Antioxidant-rich diets improve cerebellar physiology and motor learning in aged rats.
Brain Res. 2000, 866: 211-7.
25. Black J.E., Isaacs K.R., Anderson B.J., Alcantara A.A., Greenough W.T.
Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990, 87: 5568-72.
26. Blatt G.J., Eisenman L.M.
A qualitative and quantitative light microscopic study of the inferior olivary complex in the adult staggerer mutant mice.
J. Neurogenet. 1985a, 2: 51-66.
27. Blatt G.J., Eisenman L.M.
A qualitative and quantitative light microscopic study of the inferior olivary complex of normal, reeler, and weaver mutant mice.
J. Comp. Neurol. 1985b, 232: 117-28.
28. Bloedel J.R.
Functional heterogeneity with structural homogeneity: how does the cerebellum operate?
Behav. Brain Sci. 1992, 15: 606-678.
29. Bohme G.A., Bon C., Lemaire M., Reibaud M., Piot O., Stutzmann J.M., Doble A., Blanchard J.C.
Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor-treated rats.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993, 90: 9191-4.
30. Borowicz K.K., Starownik R., Kleinrok Z., Czuczwar S.J.
The influence of L-NG-nitroarginine methyl ester, an inhibitor of nitric oxide synthase, upon the anticonvulsive activity of conventional antiepileptic drugs against maximal electroshock in mice.
J. Neural. Transm. 1998, 105: 1-12.

31. Botez M.I., Young S.N., Botez T., Pedraza O.L.
Treatment of heredo-degenerative ataxis with amantadine hydrochloride.
Can. J. Neurol. Sci. 1991, 18: 307-11.
32. Botez M.I., Botez-Marquard T., Goyette K.
Amantadine hydrochloride treatment in heredodegenerative ataxias:
A double blind study.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 1996, 61: 259-264.
33. Brackle-Tolkmitt R., Laden A., Canavan A.G.M.
The cerebellum contributes to mental skills.
Behav. Neurosci. 1989, 103: 442-6.
34. Bradley P., Horn G., Bateson P.
Imprinting. An electron microscopic study of chick hyperstriatum ventrale.
Exp. Brain Res. 1981, 41: 115-20.
35. Brandon J.G, Coss R.G.
Rapid dendritic spine stem shortening during one-trial learning:
the honeybee's first orientation flight.
Brain Res. 1982, 252: 51-61.
36. Braintenberg V., Heck D., Sultan I.
The detection and generation of sequences as a key to cerebellar function:
Experiments and theory.
Behav. Brain Sel. 1997, 20: 229-37.
37. Breton P., Bizot J.C., Buee J., De La Manche I.
Brain neurotoxicity of Penitrem A: electrophysiological, behavioral and
histopathological study.
Toxicol. 1998, 36: 645-55.
38. Brown M.E., Anton R.F., Malcolm R., Ballenger J.C.
Alcohol detoxification and withdrawal seizures:
clinical support for a kindling hypothesis.
Biol. Psychiatry 1988, 23: 507-14.
39. Bylsma F., Brant J., Strauss M.E.
Aspects of procedural memory are differentially impaired in Huntington's disease.
Arch. Clin. Neuropsychology 1990, 5: 287- 297.
40. Caddy K.W.T., Biscoe T.J.
Structural and quantitative studies on the normal C3H and Lurcher mutant mice.
Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 1979, 287: 167-201.
41. Caddy K.W.T., Vožeh F.
The effect of 3-acetylpyridine on inferior olivary neuron degeneration in
Lurcher mutant and wild-type mice.
Eur. J. Pharmacol. 1997, 330: 139-42.

42. Cao G., Verdon C.P., Wu A.H., Wang H., Prior R.L.
Automated assay of oxygen radical absorbance capacity with the COBAS FARA II.
Clin. Chem. 1995, 41: 1738-44.
43. Cao G., Sofic E., Prior R.L.
Antioxidant capacity of tea and common vegetables.
J. Agric. Food Chem. 1997, 44: 3426-31.
44. Carpenter M.B.
Anatomy of basal ganglia. In Vinken P.J., Bruyn G.W., Klawans H.L. (Ed.).
Handbook of clinical neurology, Vol. 49. New York, Elsevier 1986, 1-18.
45. Caston J., Jones N., Stelz T.
Role of preoperative and postoperative sensorimotor training
on restoration of the equilibrium behavior in adult mice following cerebellectomy.
Neurobiol. Learn. Mem. 1995a, 64: 195-202.
46. Caston J., Vasseur F., Stelz T., Chianale C., Delhay-Bouchaud N., Mariani J.
Differential roles of cerebellar cortex and deep cerebellar nuclei in the
learning of the equilibrium behavior:
studies in intact and cerebellectomized lurcher mutant mice.
Brain Res. Dev. Brain Res. 1995b, 86: 311-6.
47. 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. 2003, 141: 35-42.
48. 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 2001, 41: 73-5.
49. Costa A.C., Walsh K., Davisson M.T.
Motor dysfunction in a mouse model for Down syndrome.
Physiol. Behav. 1999, 68: 211-20.
50. Courchesne E., Townsend J., Akshoomoff N.A.,
Saitoh O., Yeung-Courchesne R., Lincoln A.J., James H.E.,
Haas R.H., Schreibman L., Lau L.
Impairment in shifting attention in autistic and cerebellar patients.
Behav. Neurosci. 1994, 108: 848-65.
51. Courchesne E.
Infantile autism part 2: a neurodevelopmental model.
Int. Pediat. 1995, 10: 155-65.

52. Coyle J.T.
The glutamatergic dysfunction hypothesis for schizophrenia.
Harv. Rev. Psychiatry 1996, 3: 241-53.
53. Crusio W.E., Schwegler H., Brust I.
Covariations between hippocampal mossy fibres and working and reference memory
in spatial and non-spatial radial maze tasks in mice.
Eur. J. Neurosci. 1995, 5: 1411-20.
54. Dahhaoui M., Lanou J., Stelz T.
The role of the cerebellum in spatial orientation in the rat.
Behav. Neur. Biol. 1992, 58: 180-9.
55. Daniel H., Levenes C., Crepel F.
Cellular mechanisms of cerebellar LTD.
Trends Neurosci. 1998, 21: 401-7.
56. Decenty J., Perani D., Jeannerod M.
Mapping motor representation with positron emission tomography.
Nature 1994, 371: 600-2.
57. Doyon J., Owen A.M., Petrides M., Sziklas V., Evans A.C.
Functional anatomy of visuomotor skill learning
in human subjects examined with positron emission tomography.
Eur. J. Neurosci. 1996, 8: 637-48.
58. Doyon J., Gaudreau D., Laforce R. Jr., Castonguay M.,
Bedard P.J., Bedard F., Bouchard J.P.
Role of the striatum, cerebellum, and frontal lobes in the learning of a
visuomotor sequence.
Brain Cogn. 1997a, 34: 218-45.
59. Doyon J., Kurni A., Song A.W., Adams M.M., Maisong J.M., Ungerleider L.G.
Dynamic changes in the motor cortical areas,
striatum and cerebellum during explicit and
implicit learning of a visuomotor skill: afMRI study.
Neuroimage. 1997b, 5: S601.
60. Du W., Harvey J.A.
The nitric oxide synthesis inhibitor L-NAME facilitates associative learning.
Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 1996, 20: 1183-95.
61. Eccles J.C.
An instruction-selection theory of learning in the cerebellar cortex.
Brain Res. 1977, 127: 327-52.
62. Eslinger P.J., Damasio A.R.
Preserved motor learning in Alzheimer's disease: implications for anatomy and behavior.
J. Neurosci. 1986, 6: 3006-9.

63. Facchinetti F., Ciani E., Dall'Olio R., Virgili M., Contestabile A., Fonnum F.
Structural, neurochemical and behavioural consequences
of neonatal blockade of NMDA receptor through chronic treatment
with CGP 39551 or MK-801.
Brain Res. Dev. Brain Res. 1993, 74: 219-24.
64. Facchinetti F., Dall'Olio R., Ciani E., Sparapani M., Virgili M., Contestabile A.
Long-lasting effects of chronic neonatal blockade of N-methyl-D-aspartate
receptor through the competitive antagonist CGP 39551 in rats.
Neurosci. 1994, 60: 343-53.
65. Fehlow P., Bernstein K., Tennstedt A., Walther F.
Early infantile autism and excessive aerophagy with symptomatic megacolon
and ileus in a case of Ehlers-Danlos syndrome.
Pediatr. Grenzgeb. 1993, 31: 259-67.
66. Fehr K.A., Kalant H., LeBlanc A.E.
Residual learning deficit after heavy exposure to cannabis or alcohol in rats.
Sci. 1976, 192: 1249-51.
67. Ferraro R.F., Balota D.A., Connor L.T.
Implicit memory and the formation of new associations
in nondemented Parkinson's disease individuals and individuals
with senile dementia of the Alzheimer type: a serial reaction time (SRT) investigation.
Brain and Cognition 1993, 21: 163-80.
68. Fiez J.A., Peterson S.E., Cheney M.K., Raichle M.K., Raichel M.B.
Impaired non-motor learning and error detection associated with cerebellar damage.
Brain 1992, 115: 155-78.
69. Fin C., da Cunha C., Bromberg E., Schmitz P.K., Bianchin M., Medina J.H., Izquierdo I.
Experiments suggesting a role for nitric oxide in the hippocampus in memory processes.
Neurobiol. Learn. Mem. 1995, 63: 113-5.
70. Floeter M.K., Greenough W.T.
Cerebellar plasticity: modification of Purkinje cell structure
by differential rearing in monkeys.
Sci. 1979, 206: 227-9.
71. Fortier P.A., Smith A.M., Rossignol S.
Locomotor deficits in the mutant mouse, Lurcher.
Exp. Brain Res. 1987, 66: 271-86.
72. Fujita M.
Adaptive filter model of the cerebellum.
Biol. Cybern. 1982, 45: 195-206.

73. Gerfen C.R.
Dopamine receptor function in basal ganglia.
Clin. Neuropharmacol. 1995, 18: 165-77.
74. Gerfton S.T., Woods R.P., Mik T.
Functional imaging of procedural motor learning:
relating cerebral blood flow with individual subject performance.
Hum. Brain Mapp. 1994, 1: 221-34.
75. Ghetti B., Perry K.W., Fuller R.W.
Norepinephrine metabolism in the cerebellum
of the Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice.
Neurochem. Int. 1987, 10: 39-47.
76. Ghetti B., Thriarhou I.C., Alyea C.J.
Timing of neuronal replacement in cerebellar degenerative ataxia
of Purkinje cell type.
Prog. Brain Res. 1990, 82: 197-202.
77. Gilbert P.
How the cerebellum could memorise movements.
Nature 1975, 254: 688-9.
78. Gilbert P.F., Thach W.T.
Purkinje cell activity during motor learning.
Brain Res. 1977, 128: 309-28.
79. Glickstein M.
The cerebellum and motor learning.
Cur. Opin. Neurobiol. 1992, 2: 802-6.
80. Goldowitz D., Koch J.
Performance of normal and neurological mutant mice
on radial arm maze and active avoidance tasks.
Behav. Neur. Biol. 1982, 46: 216-26.
81. 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. 1992,10; 47: 129-41.
82. Gorter J.A., de Bruin J.P.
Chronic neonatal MK-801 treatment results in
an impairment of spatial learning in the adult rat.
Brain Res. 1992, 580: 12-7.
83. Graybiel A.M.
Building action repertoires: memory and
learning functions of the basal ganglia.
Curr. Opin. Neurobiol. 1995, 5: 733-41.

84. Graybiel A.M.
The basal ganglia and chunking of action repertoires.
Neurobiol. Learn. Mem. 1998, 70: 119-36.
85. Greenough W.T., Juraska J.M., Volkmar F.R.
Maze training effects on dendritic branching in occipital cortex of adult rats.
Behav. Neural. Biol. 1979, 26: 287-97.
86. Griesbach G.S., Amsel A.
Immediate and long-term effects of neonatal MK-801 treatment on nonspatial learning.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998, 95: 11435-9.
87. Grover G.J., Grusser- Cornehls U.
Cerebellar afferents in normal and weaver mutant mice.
Brain Behav. Evol. 1986, 29: 162-75.
88. Grusser-Cornehls U., Grusser C., Baurle J.
Vermectomy enhances parvalbumin expression and improves motor performance in weaver mutant mice: an animal model for cerebellar ataxia.
Neurosci. 1999, 91: 315-26.
89. Gustavino J.M., Sotelo C., Damez-Kinselle I.
Hotfoot murine mutation: Behavioral effects and neuroanatomical alteration.
Brain Res. 1990, 523: 199-210.
90. Gustavino J.M., Bertin R., Porter R.
Effects of the rearing temperature feeding pattern of the staggerer mutant mouse.
Physiol. Behav. 1991, 49: 405-9.
91. Hains D.E., Dietrichs E., Sowa T.E.
Hypothalamocerebellar and cerebello-hypothalamic pathways:
A review and hypothesis concerning cerebellar circuits with may influence autonomic centers and affective behaviour.
Brain Behav. Evol. 1984, 24: 198-220.
92. Harman D.
Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry.
J. Gerontol. 1956, 11: 298-300.
93. Harrington D.L., Haaland K.Y., Yeo R.A., Marder E.
Procedural memory in Parkinson's disease: impaired motor but not visuoperceptual learning.
J. Clin. Exp. Neuropsychol. 1990, 12: 323-39.
94. Heindel W.C., Salmon D.P., Shults C.W., Walicke P.A., Butters N.
Neuropsychological evidence for multiple implicit memory systems: a comparison of Alzheimer's, Huntington's, and Parkinson's disease patients.
J. Neurosci. 1989, 9: 582-7.

95. Herndon R.M., Oster-Granite M.L.
Effect of granule cell destruction on development and maintenance of the Purkinje cell dendrite.
In Kreutzberg G.W. (Ed). *Advances in Neurology*. Vol. 12, New York: Raven Press 1975, 361-71.
96. Herrup K., Mullen R.J.
Regional variation and absence of large neurons in the cerebellum of the staggerer mouse.
Brain Res. 1979, 172: 1-12.
97. 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. 1983, 11: 267-274.
98. Hesslow G., Ivarsson M.
Suppression of cerebellar Purkinje cells during conditioned responses in ferrets.
Neuroreport 1994, 5: 649-52.
99. Hilber P., Caston J.
Motor skills and motor learning in Lurcher mutant mice during aging.
Neurosci. 2001, 102: 615-23.
100. Hillbom M.E.
Occurrence of cerebral seizures provoked by alcohol abuse.
Epilepsia 1980, 21: 459-66.
101. Hirano A., Dembitzer H.M.
Cerebellar alterations in the weaver mouse.
J. Cell. Biol. 1973, 56: 478-86.
102. Houk J.G., Buckingham J.T., Barto A.
Models of the cerebellum and motor learning.
Behav. Brain Sci. 1996, 19: 368-83.
103. Hughes K.
Diet and coronary heart disease.
Ann. Acad. Med. Singapore. 1995, 24: 224-9.
104. Chapman P.F., Atkins C.M., Allen M.T., Haley J.E., Steinmetz J.E.
Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different forms of learning.
Neuroreport 1992, 3: 567-70.
105. Chen L., Bao S., Lockard J.M., Kim J.K., Thompson R.F.
Impaired classical eyeblink conditioning in cerebellar-lesioned and Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice.
J. Neurosci. 1996, 16: 2829-38.

106. Chu T., Oberdick J.
An early critical period in olivocerebellar interactions defined by traquet ablation of Pukrinje cells.
Soc. Neurosci. 1995, 21: 916.
107. Iadecola C.
Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury.
Trends Neurosci. 1997, 20: 132-9.
108. Ikai Y., Takada M., Shinonga Y., Mizuno N.
Dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area of the rat project, respectively, to the cerebellar cortex and deep cerebellar nuclei.
Neurosci. 1992, 51: 719-28.
109. Ikonomidou C., Qin Y., Labruyere J., Kirby C., Olney J.W.
Prevention of trauma-induced neurodegeneration in infant rat brain.
Pediatr. Res. 1996, 39: 1020-7.
110. Ikonomidou C., Bosch F., Miksa M., Bittigau P., Vockler J, Dikranian K, Tenkova TI, Stefovaska V, Turski L, Olney JW.
Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain.
Sci. 1999, 283: 70-4.
111. Ikonomidou C., Stefovaska V., Turski L.
Neuronal death enhanced by N-methyl-D-aspartate antagonists.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000, 97: 12885-90.
112. Isaacs K.R., Anderson B.J., Alcantara A.A., Black J.E., Greenough W.T.
Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning.
J. Cereb. Blood Flow Metab. 1992, 12: 110-9.
Erratum in: J. Cereb. Blood Flow Metab. 1992, 12: 533.
113. Ito M.
The cerebellum and neural control.
1984, New York: Raven Press.
114. Ito M.
Cerebellar learning in the vestibulo-ocular reflex.
Trends Cog. Sci. 1998, 2: 313-21.
115. Javitt D.C., Zukin S.R.
Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia.
Am. J. Psychiatry. 1991, 148: 1301-8.
116. Jenkins I.H., Brooks D.J., Nixon P.D., Frackowiak R.S., Passingham R.E.
Motor sequence learning: a study with positron emission tomography.
J. Neurosci. 1994, 14: 3775-90.

117. Joseph J.A., Bartus R.T., Clody D., Morgan D., Finch C., Beer B., Sesack S. Psychomotor performance in the senescent rodent: reduction of deficits via striatal dopamine receptor up-regulation. *Neurobiol. Aging*. 1983, 4: 313-9.
118. Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Denisova N.A., Prior R.L., Cao G., Martin A., Taglialatela G., Bickford P.C. Long-term dietary strawberry, spinach, or vitamin E supplementation retards the onset of age-related neuronal signal-transduction and cognitive behavioral deficits. *J. Neurosci*. 1998, 18: 8047-55.
119. Joyal C.C., Meyer C., Jacquart G., Mahler P., Caston J., Lalonde R. Effects of midline and lateral cerebellar lesions on motor coordinations and spatial orientation. *Brain Res*. 1996, 739: 1-11.
120. Jung M.E., Yang S.H., Brun-Zinkernagel A.M., Simpkins J.W. Estradiol protects against cerebellar damage and motor deficit in ethanol-withdrawn rats. *Alcohol* 2002, 26: 83-93.
121. Karhunen P.J., Erkinjuntti T., Laippala P. Moderate alcohol consumption and loss of cerebellar Purkinje cells. *BMJ*. 1994, 308: 1663-7.
122. Kenyon G.T., Medina J.F., Mauk M.D. A mathematical model of the cerebellar-olivary system I: self-regulating equilibrium of climbing fiber activity. *J. Comput. Neurosci*. 1998, 5: 17-33.
123. Khavandgar S., Homayoun H., Zarrindast M.R. The effect of L-NAME and L-arginine on impairment of memory formation and state-dependent learning induced by morphine in mice. *Psychopharmacol. (Berl)*. 2003, 167: 291-6.
124. Kim S.G., Ugurbil K., Strick P.I. Activation of a cerebellar output nucleus during cognitive processing. *Sci*. 1994, 265: 949-51.
125. Kleim J.A., Lussnig E., Schwarz E.R., Comery T.A., Greenough W.T. Synaptogenesis and Fos expression in the motor cortex of the adult rat after motor skill learning. *J. Neurosci*. 1996, 16: 4529-35.
126. Kleim J.A., Vij K., Ballard D.H., Greenough W.T. Learning-dependent synaptic modifications in the cerebellar cortex of the adult rat persist for at least four weeks. *J. Neurosci*. 1997, 17: 717-21.

127. Kleim J.A., Swain R.A., Armstrong K.A., Napper R.M., Jones T.A., Greenough W.T.
Selective synaptic plasticity within the cerebellar cortex following complex motor skill learning.
Neurobiol. Learn. Mem. 1998, 69: 274-89.
128. Knopman D., Nissen M.J.
Procedural learning is impaired in Huntington's disease evidence from the serial reaction time task.
Neuropsychol. 1991, 29: 245-54.
129. Knowles R.G., Palacios M., Palmer R.M., Moncada S.
Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: A transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989, 86: 5159-62.
130. Krupa D.J., Thompson J.K., Thompson R.F.
Localization of memory trace in mammalian brain.
Sci. 1993, 260: 989-91.
131. Krystal J.H., Karper L.P., Seibyl J.P., Freeman G.K., Delaney R., Bremner J.D., Heninger G.R., Bowers M.B. Jr., Charney D.S.
Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses.
Arch. Gen. Psychiatry 1994, 51: 199-214.
132. Křížková A., Vožeh F.
Development of early motor learning and topical motor skills in a model of cerebellar degeneration.
Behav. Brain Res. 2004, 150: 65-72.
133. Laforce R. Jr., Doyon J.
Differential role for the striatum and cerebellum in response to novel movements using a motor learning paradigm.
Neuropsychol. 2002, 40: 512-7.
134. Lalonde R., Lamarre Y., Smith A.M., Botez M.I.
Spontaneous alternation and habituation in Lurcher mutant mice.
Brain Res. 1986, 362: 161-4.
135. Lalonde R.
Motor abnormalities in staggerer mutant mice.
Exp. Brain Res. 1987a, 68: 417-20.
136. Lalonde R.
Exploration and spatial learning in staggerer mutant mice.
J. Neurogenet. 1987b, 4: 285-92.

137. Lalonde R., Manseau M., Botez M.I.
Spontaneous alternation and exploration in staggerer mutant mice.
Behav. Brain Res. 1988, 27: 273-6.
138. Lalonde R., Botez M.I., Joyal C.C., Caumartin M.
Motor abnormalities in Lurcher mutant mice.
Physiol. Behav. 1992, 51: 523-5.
139. Lalonde R., Joyal C.C., Coté C., Botez M.I.
Simultaneous visual discrimination learning in Lurcher mutant mice.
Brain Res. 1993, 618: 19-22.
140. Lalonde R.
Cerebellar contributions to instrumental learning.
Neurosci. Biobehav. 1994a, 18: 161-70.
141. Lalonde R.
Motor learning in Lurcher mutant mice.
Brain Res. 1994b, 14; 639: 351-3.
142. Lalonde R., Bensoula N., Filali M.
Rotorod sensorimotor learning in cerebellar mutant mice.
Neurosci. Res. 1995, 22: 423-26.
143. Lalonde R., Joyal C.C., Thifault S.
Beam sensorimotor learning and habituation to motor activity in Lurcher mutant mice.
Behav. Brain Res. 1996a, 74: 213-6.
144. Lalonde R., Filali M., Bensoula A.N., Lestienne F.
Sensorimotor learning in three cerebellar mutant mice.
Neurobiol. Learn. Mem. 1996b, 65: 113-20.
145. Lalonde R.
Pharmacotherapy in animals with hereditary cerebellar disease.
In: Pandalai S.G. (Ed.). *Recent research development in neurochemistry*, Vol. 1. Trivadrutt: Research Singpost, 1996c, 55-88.
146. Lalonde R.
Visuospatial abilities.
Int. Rev. Neurobiol. 1997, 41: 191-215.
147. Lalonde R.
Immobility responses in Lurcher mutant mice.
Behav. Genet. 1998, 28: 309-14.
148. Lalonde R., Strazielle C.
Motor performance and regional brain metabolism of spontaneous murine mutations with cerebellar atrophy.
Behav. Brain Res. 2001, 125: 103-8.

149. Lalonde R., Strazielle C.
Motor coordination, exploration, and spatial learning in a natural mouse mutation (nervous) with Purkinje cell degeneration.
Behav. Genet. 2003, 33: 59-66.
150. Landis S.C.
Ultrastructural changes in the mitochondria of cerebellar Purkinje cells of nervous mutant mice.
J. Cell. Biol. 1973, 57: 782-97.
151. Landis S.C., Mullen R.J.
The development and degeneration of Purkinje cells in *pcd* mutant mice.
J. Comp. Neurol. 1978, 177: 125-44.
152. 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. 1993, 333: 168-81.
153. Lee K., Dunwiddie T., Deitrich R., Lynch G., Hoffer B.
Chronic ethanol consumption and hippocampal neuron dendritic spines: a morphometric and physiological analysis.
Exp. Neurol. 1981, 71: 541-9.
154. Leggio M.G., Solida A., Silveri M.C.
Verbal fluency impairment in patients with cerebellar lesions.
Soc. Neurosci. Abstr. 1995a, 21: 917.
155. Leggio M.G., Solida A., Misciagna S.
Spatial data processing a verbal abilities in patients with right or left cerebellar lesions.
Eur. J. Neurosci. 1995b, Suppl. 8: 36.
156. Le Marec N., Caston J., Lalonde R.
Impaired motor skills on static and mobile beams in Lurcher mutant mice.
Exp. Brain Res. 1997, 116: 131-138.
157. Le Marec N., Lalonde R.
Sensorimotor learning and retention during equilibrium tests in Purkinje cell degeneration mutant mice.
Brain Res. 1997, 768: 310-6.
158. Le Marec N., Lalonde R.
Treadmill performance of mice with cerebellar lesions:
1. Purkinje cell degeneration mutant mice.
Behav. Neurosci. 1998, 112: 225-32. Erratum in: *Behav Neurosci* 1998, 112: 730.
159. Lincoln J.S., McCormick D.A., Thompson R.F.
Ipsilateral cerebellar lesions prevent learning of the classically conditioned nictitatingmembrane/eyelid response.
Brain Res. 1982, 242: 190-3.

160. Luciani L.
Il cervelletto: nuovi studi di fisiologia normale e patologica.
Le Monnier 1891, německý překlad E.Besold, 1893.
161. Lyon M.F., Rastan S., Brown S.D.M.
Genetic variants and strains of the laboratory mouse.
Oxford: Oxford University Press, 1996.
162. Majlessi N., Kadkhodae M., Parviz M., Naghdi N.
Serotonin depletion in rat hippocampus attenuates
L-NAME-induced spatial learning deficits.
Brain Res. 2003, 963: 244-51.
163. Malhotra A.K., Pinals D.A., Weingartner H., Sirocco K.,
Missar C.D., Pickar D., Breier A.
NMDA receptor function and human cognition:
the effects of ketamine in healthy volunteers.
Neuropsychopharmacol. 1996, 14: 301-7.
164. Manni E., Petrosini L.
Luciani's work on the cerebellum a century later.
Trends Neurosci. 1997, 20: 112-6.
165. Marec L., Lalonde R.
Sensorimotor learning and retention during equilibrium tests
in Purkinje cell degeneration mutant mice.
Brain Res. 1997, 768: 310-6.
166. Marletta M.A.
Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis.
Cell 1994, 78: 927-30.
167. Marr D.
A theory of cerebellar cortex.
J. Physiol. 1969, 202: 437-70.
168. Marshall J.F., Berrios N.
Movement disorders of aged rats: reversal by dopamine receptor
stimulation.
Sci. 1979, 206: 477-9.
169. Matsumoto N., Hanakawa T., Maki S., Graybiel A.M., Kimura M.
Role of nigrostriatal dopamine system in learning to perform
sequential motor tasks in a predictive manner.
J. Neurophysiol. 1999, 82: 978-98. Erratum in: J. Neurophysiol. 1999, 82: 13.

170. Mayne S.T.
Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans.
FASEB J. 1996, 10: 690-701.
171. McCormick D.A., Thompson R.F.
Neuronal responses of the rabbit cerebellum during
acquisition and performance of a classically
conditioned nictitating membrane-eyelid response.
J. Neurosci. 1984, 4: 2811-22.
172. McLamb R.L., Williams L.R., Nanry K.P., Wilson W.A., Tilson H.A.
MK-801 impedes the acquisition of a spatial memory task in rats.
Pharmacol. Biochem. Behav. 1990, 37: 41-5.
173. Medina J.H., Izquierdo I.
Retrograde messengers, long-term potentiation and memory.
Brain Res. Brain Res. Rev. 1995, 21: 185-94.
174. Medina J.F., Mauk M.D.
Simulations of cerebellar motor learning: computational
analysis of plasticity at the mossy fiber to deep nucleus synapse.
J. Neurosci. 1999, 19: 7140-51.
175. Mickley G.A., Ferguson J.L., Nemeth T.J.
Serial injections of MK-801 (Dizocilpine)
in neonatal rats reduce behavioral deficits
associated with X-ray-induced hippocampal granule cell hypoplasia.
Pharmacol. Biochem. Behav. 1992, 43: 785-93.
176. Middleton F.A., Strick P.L.
The cerebellum: An overview.
TINS 1998, 21: 367-369.
177. Mishima K., Pu F., Kaneko T., Egashira N., Iwasaki K., Fujiwara M.
Post-ischemic administration but not preischemic administration
of NG-nitro-L-arginine prevents spatial memory impairments
and apoptosis by an inhibition of a delayed increase
in Nox- in the hippocampus following repeated cerebral ischemia.
Neuropharmacol. 2003, 44: 533-40.
178. Mogensen J., Wortwein G., Hasman A., Nielsen P., Wang Q.
Functional and neurochemical profile of place learning after L-nitro-arginine in the rat.
Neurobiol. Learn. Mem. 1995, 63: 54-65.
179. Monfort V., Chapillon P., Mellier D., Lalonde R., Caston J.
Timed active avoidance learning in Lurcher mutant mice.
Behav. Brain Res. 1998, 91: 165-72.

180. Morris R.G.M., Garrud P., Rawlins J.N.P., O'Keefe J.
Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions.
Nature 1982, 297: 681-3.
181. Morris R.G.M.
Development of water-maze procedure for studying spatial learning in the rat.
J. Neurosci. Meth. 1984, 11: 47-64.
182. Mullen R.J., LaVail M.
Two types of retinal degeneration in cerebellar mutant mice.
Nature 1975, 258: 528-30.
183. Mullen R.J., Eicher E.M., Sidman R.L.
Purkinje cell degeneration, a new neurological mutation in the mouse.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1976, 73: 212.
184. Mysliveček J.
Changes of memory-trace retrieval within 3 hours after learning in newborn rats.
Activ. Nerv. Super. 1990, 32: 202-3.
185. Mysliveček J., Hassmannová J.
Early inhibitory learning in the rat. I. Learning and memory development.
Dev. Psychobiol. 1990, 23: 119-28.
186. Mysliveček J., Hassmannová J.
Step down passive avoidance in the rat ontogeny.
Acta Neurobiol. Exp. 1991, 51: 89-96.
187. Nashner L.M., Grimm K.L.
Analysis of multiloop dyscontrols in standing cerebellar patients.
In Desmond J.E. (Ed.). *Cerebellar motor control in man: Long loop mechanismus*, Basel: Karger, 1978, 133-53.
188. Niemi L.T., Suvisaari J.M., Tuulio-Henriksson A., Lonnqvist J.K.
Childhood developmental abnormalities in schizophrenia: evidence from high-risk studies.
Schizophr. Res. 2003, 60: 239-58.
189. Noda Y., Yamada K., Nabeshima T.
Role of nitric oxide in the effect of aging on spatial memory in rats.
Behav. Brain Res. 1997, 83: 153-8.
190. Odde R.D., Isaacson R.L.
The development of food search behaviour by rats: The effects of hippocampal damage and haloperidol.
Behav. Biol. 1987, 24: 327-37.

191. Ogura H., Mikami T., Takamura N., Suzuki Y., Chiba T.
Development of behavioral function of cerebellar hypoplasia rats as induced by cytosine arabinoside (ara-C).
Nippon Yakurigaku Zasshi 1980, 76: 33-44.
192. Ojakangas C.L., Ebner T.J.
Purkinje cell complex and simple spike changes during a voluntary arm movement learning task in the monkey.
J. Neurophysiol. 1992, 68: 2222-36.
193. Ojakangas C.L., Ebner T.J.
Purkinje cell complex spike activity during voluntary motor learning: relationship to kinematics.
J. Neurophysiol. 1994, 72: 2617-30.
194. Panagopoulos N.T., Papadopoulos G.C., Matsokis N.A.
Dopaminergic innervation and binding in the rat cerebellum.
Neurosci. Lett. 1991, 130: 208-12.
195. Pascual-Leone A., Grafman J., Clark K., Stewart M., Massaquoi S., Lou J.S., Hallett M.
Procedural learning in Parkinson's disease and cerebellar degeneration.
Ann. Neurol. 1993, 34: 594-602.
196. Patel S.N., Stewart M.G.
Changes in the number and structure of dendritic spines 25 hours after passive avoidance training in the domestic chick, *Gallus domesticus*.
Brain Res. 1988, 449: 34-46.
197. Paul V., Subramanian E.H.
Evidence for an involvement of nitric oxide and gamma aminobutyric acid in the anticonvulsant action of L-arginine on picrotoxin-induced convulsions in rats.
Pharmacol. Biochem. Behav. 2002, 72: 515-9.
198. Paul V., Reddy L., Ekambaram P.
Prevention of picrotoxin convulsions-induced learning and memory impairment by nitric oxide increasing dose of L-arginine in rats.
Pharmacol. Biochem. Behav. 2003, 75: 329-34.
199. Petrosini L., Leggio M.G., Molinari M.
The cerebellum in the spatial problem solving A co-star or a guest star?
Prog. Neurobiol. 1998, 56: 191-210.
200. Phillips S.C., Cragg B.G.
Chronic consumption of alcohol by adult mice: effect on hippocampal cells and synapses.
Exp. Neurol. 1983, 80: 218-26.

201. Phillips S.C., Cragg B.G.
Alcohol withdrawal causes a loss of cerebellar Purkinje cells in mice.
J. Stud. Alcohol 1984, 45: 475-80.
202. Phillips S.C., Harper C.G., Kril J.
A quantitative histological study of the cerebellar vermis in alcoholic patients.
Brain 1987, 110: 301-14.
203. Plech A., Klimkiewicz T., Maksym B.
Effect of L-arginine on memory in rats.
Pol. J. Pharmacol. 2003, 55: 987-92.
204. Pohl D., Bittigau P., Ishimaru M.J., Stadthaus D. Hubner C., Olney J.W., Turski L., Ikonomidou C.
N-Methyl-D-aspartate antagonists and apoptotic cell death triggered by head trauma in developing rat brain.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96: 2508-13.
205. Prendergast M.A., Buccafusco J.J., Terry A.V. Jr.
Nitric oxide synthase inhibition impairs spatial navigation learning and induces conditioned taste aversion.
Pharmacol. Biochem. Behav. 1997, 57: 347-52.
206. Prickaerts J., De Vente J., Markerink-Van Ittersum M., Steinbusch H.W.
Behavioural, neurochemical and neuroanatomical effects of chronic postnatal N-nitro-L-arginine methyl ester treatment in neonatal and adult rats.
Neurosci. 1998, 87: 181-95.
207. Pysh J.J., Weiss G.M.
Exercise during development induces an increase in Purkinje cell dendritic tree size.
Sci. 1979, 206: 230-2.
208. Qiang M., Chen Y.C., Wang R., Wu F.M., Qiao J.T.
Nitric oxide is involved in the formation of learning and memory in rats: studies using passive avoidance response and Morris water maze task.
Behav. Pharmacol. 1997, 8: 183-7.
209. Rajasekaran K., Paul V.
Effect of L-NAME, an inhibitor of nitric oxide synthesis on motor behavioral in rats.
Med. Sci. Res. 1999, 27: 609-12.
210. Rakic P., Sidman R.L.
Sequence of developmental abnormalities leading to granule cell deficit. In cerebellar cortex of weaver mutant mice.
J. Comp. Neurol. 1973a, 152: 103-32.

211. Rakic P., Sidman R.L.
Organization of cerebellar cortex secondary to deficit of granule cells in weaver mutant mice.
J. Comp. Neurol. 1973b, 152: 133-61.
212. Rao S.M., Harrington D.L., Haaland K.Y., Bobholz J.A., Binder J.R., Hammeke T.A., Frost J.A., Myklebust B.M., Jacobson R.D., Bandettini P.A., Hyde J.S.
Functional MRI correlates of cognitive-motor learning.
Hum. Brain Mapp. Abstr. 1995, S1: 412.
213. Rauch S.L., Savage C.R., Brown H.D., Curran T., Alpert N.M., Kendrick A., Fischman A.J., Kosslyn S.M.
A PET investigation of implicit and explicit sequence learning.
Hum. Brain Mapp. 1995, 3: 271-86.
214. Reddy P.L., Rajasekaran K., Paul V.
Evidence for an involvement of nitric oxide in memory of shock avoidance task in rats.
Indian J. Physiol. Pharmacol. 2002, 46: 119-22.
215. Reid L.S.
The development of noncontinuity behavior throughout continuity learning.
J. Exp. Psychol. 1953, 46: 107-12.
216. Rezai Z., Yoon C.H.
Abnormal rate of granule cell migration in the cerebellum of "Weaver" mutant mice.
Dev. Biol. 1972, 29: 17-26.
217. Richman C.L., Knoblock K., Coussens W.
The overtraining reversal effects in rats: a function of task difficulty.
Q. J. Exp. Psychol. 1972, 24: 291-8.
218. Ritvo E.R., Freeman B.J., Scheibel A.B., Duong T., Robinson H., Guthrie D., Ritvo A.
Lower Purkinje cell counts in the cerebella of four autistic subjects: initial findings of the UCLA-NSAC Autopsy Research Report.
Am. J. Psychiatry 1986, 143: 862-6.
219. Roffler-Tarlov S., Graybiel A.M.
Weaver mutation has differential effects on dopamine-containing innervation of the limbic and nonlimbic striatum.
Nature 1984, 307: 62-66.
220. Rossi F., Strata P.
Reciprocal trophic interactions in the adult limbic fibre-Purkinje cell system.
Progr. Neurobiol. 1995, 47: 341-69.
221. Roy E.A., Saint-Cyr J., Taylor A., Lang A.
Movement sequencing disorders in Parkinson's disease.
Int. J. Neurosci. 1993, 73: 183-94.

222. Saint-Cyr J.A., Taylor A.E., Lang A.E.
Procedural learning and neostriatal dysfunction in man.
Brain 1988, 111: 941-59.
223. Sanes J.N., Dimitrov B., Hallett M.
Motor learning in patients with cerebellar dysfunction.
Brain 1990, 113 : 103-20.
224. Seeds N.W., Williams B.L., Bickford P.C.
Tissue plasminogen activator induction in Purkinje neurons
after cerebellar motor learning.
Sci. 1995, 270: 1992-4.
225. Seitz R.J., Roland E., Bohm C., Greitz T., Stone-Elander S.
Motor learning in man: a positron emission tomographic study.
Neuroreport 1990, 1: 57-60.
226. Seitz R.J., Roland P.E.
Learning of Sequential Finger Movements in Man: A Combined Kinematic and
Positron Emission Tomography (PET) Study.
Eur. J. Neurosci. 1992, 4: 154-165.
227. Shadmehr R., Holcomb H.H.
Neural correlates of motor memory consolidation.
Sci. 1997, 277: 821-5.
228. Shambes G.M., Gibson J.M., Welker W.
Fractured somatotopy in granule cell tactile areas of rat cerebellar
hemispheres revealed by micromapping.
Brain Behav. Evol. 1978, 15: 94-140.
229. Shojaeian H., Delhay-Bouchaud N., Mariani J.
Decreased number of cells in the inferior olivary nucleus
of the developing staggerer mouse.
Brain. Res. 1985, 353: 141-6.
230. Shojaeian H., Delhay-Bouchard N., Mariani J.
Stability of inferior olivary neurons in rodents I.
Moderate cell loss in adult Purkinje cell degeneration mutant mouse.
Dev. Brain Res. 1988, 38: 211-8.
231. Schiffelholz T., Hinze-Selch D., Aldenhoff J.B.
Perinatal MK-801 treatment affects age-related changes
in locomotor activity from childhood to later adulthood in rats.
Neurosci. Lett. 2004, 360: 157-60.

232. Schmidt R., Fazekas F., Reinhart B., Kapeller P., Fazekas G., Offenbacher H., Eber B., Schumacher M., Freidl W.
Estrogen replacement therapy in older women:
a neuropsychological and brain MRI study.
J. Am. Geriatr. Soc. 1996, 44: 1307-13.
233. Schmidtayerová B., Cendelín J., Vožeh F.
The effect of embryonic cerebellum transplantation signs ataxia in Lurcher mutant mice.
Physiol. Res. 2004, 53: 56P.
234. Schmidtayerová B., Cendelín J., Vožeh F.
Various methods of substitution of Purkinje cells
in mouse model of cerebellar degeneration.
Homeostasis: v tisku.
235. Sidman R.S.
Development of interneuronal connections in brain of mutant mice.
In: Carlson F.D. (Ed.). *Psychological and biochemical aspects
of brain function.* New York: Prentice Hall, 1968, 168-193.
236. Sidman R.L., Green M.C.
“Nervous“, a new mutant mouse with cerebellar disease.
In: Sabourdy M. (Ed), *Les mutants pathologiques chez l’animal.* Paris: CNRS, 1970,
67-79.
237. Silveri M.C., Leggio M.G., Molinari M.
The cerebellum contributes to linguistic production:
A case of agrammatic speech following a right cerebellar lesion.
Neurol. 1994, 44: 2047-50.
238. Silveri M.C., Misciagna S., Leggio M.G., Molinari M.
Spatial dysgraphia and cerebellar lesion: A case report.
Neurol. 1997, 48: 1529-32.
239. Simpkins J.W., Rajakumar G., Zhang Y.Q., Simpkins C.E.,
Greenwald D., Yu C.J., Bodor N., Day A.L.
Estrogens may reduce mortality and ischemic damage caused
by middle cerebral artery occlusion in the female rat.
J. Neurosurg. 1997, 87: 724-30.
240. Smeyene R.T., Che T., Lewin A., Bian F., Crisman S.S., Kunsch C.
Local control of granule generation by cerebellar Purkinje cells.
Mech. Cell Neurosci. 1995, 6: 230-51.
241. Smeyne R.J., Goldowitz D.
Development and death of external granular layer cells in the weaver mouse
cerebellum: a quantitative study.
J. Neurosci. 1989, 9: 1608-20.

242. Snider R.S., Maiti A., Snider S.R.
Cerebellar pathways to ventral midbrain and nigra.
Exp. Neurol. 1976, 53: 714-28.
243. Sotelo C., Changeux J.P.
Bergman fibres and granular cell migration in cerebellum
of homozygous weaver mutant mice.
Brain Res. 1974, 77: 484-91.
244. Sotelo C.
Dendritic abnormalities of Purkinje cells in the cerebellum of neurologic
mutant mice (weaver and staggerer).
Adv. Neurol. 1975, 12: 335-51.
245. Sotelo C.
Synaptic stabilization: Comparative studies on the cerebellum
of staggerer and nervous mutant mice. In: Meisami E.,
Brazier M.A.R. (Ed.). New York: Raven Press, 1979, 169-81.
246. Sotelo C., Triller A.
Fate of presynaptic afferents to Purkinje cells in the adult
nervous mutant mouse: a model to study presynaptic stabilization.
Brain Res. 1979, 175: 11-36.
247. Sotelo C., Alvarado-Mallart R.M.
Growth and differentiation of cerebellar suspensions transplanted
into adult cerebellum of mice with heredo-degenerative ataxia.
Proc. Natl. Sci. 1986, 83: 1135-39.
248. Sotelo C., Alvarado-Mallart R.M.
Cerebellar transplantations in adult mice with heredo-degenerative ataxia.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1987a, 495: 242-67.
249. 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.
Neurosci. 1987b, 20: 1-22.
250. Sotelo C., Alvarado-Mallart R.M.
Integration of grafted Purkinje cell into the host cerebellar circuitry
in Purkinje cell degeneration mutant mouse.
Prog. Brains Res. 1988, 78: 141-54.
251. Stanley B.G., Willett V.L. 3rd, Donias H.W., Dee M.G. 2nd, Duva M.A.
Lateral hypothalamic NMDA receptors and glutamate
as physiological mediators of eating and weight control.
Am. J. Physiol. 1996, 270(2 Pt 2): R443-9.

252. Strata P., Rossi F.
Plasticity of the olivocerebellar pathway.
Trends Neurosci. 1998, 21: 407-13.
253. Sullivan E.V, Rosenbloom M.J., Pfefferbaum A.
Pattern of motor and cognitive deficits in detoxified alcoholic men.
Alcohol Clin. Exp. Res. 2000, 24: 611-21.
254. Takadera T., Matsuda I., Ohyashiki T.
Apoptotic cell death and caspase-3 activation induced
by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists and their prevention
by insulin-like growth factor I.
J. Neurochem. 1999, 73: 548-56.
255. Tandon P., Liu Z., Stafstrom C.E., Sarkisian M., Werner S.J.,
Mikati M., Yang Y., Holmes G.L.
Long-term effects of excitatory amino acid antagonists NBQX
and MK-801 on the developing brain.
Dev. Brain Res. 1996, 95: 256-62.
256. Telegdy G., Kokavszky R.
The role of nitric oxide in passive avoidance learning.
Neuropharmacol. 1997, 36: 1583-7.
257. Thach W.T., Goodkin H.P., Keating J.G.
The cerebellum and the adaptive coordination of movement.
Annu Rev. Neurosci. 1992, 15: 403-42.
258. Thach W.T.
On the specific role of the cerebellum in motor learning and cognition:
clues from PET activation and lesion studies in man.
Behav. Brain Sci. 1996, 19: 411-31.
259. Thompson R.F.
Neural mechanisms of classical conditioning in mammals.
Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1990, 329: 161-70.
260. Thullier F., Lalonde R., Mahler P., Joyal C.C., Lestienne F.
Dorsal striatal lesions in rats. 1: Effects on exploration and motor
coordination.
Arch. Physiol. Biochem. 1996, 104: 300-6.
261. Thullier F., Lalonde R., Cousin X., Lestienne F.
Neurobehavioral evaluation of Lurcher mutant mice during ontogeny.
Dev. Brain Res. 1997, 100: 22-8.
262. Thullier F., Lalonde R., Lestienne F.
Effects of dopaminergic agents and of an NMDA receptor
antagonist on motor coordination in Lurcher mutant mice.
Pharmacol. Biochem. Behav. 1999, 63: 213-9.

264. Timmann D., Shimansky Y., Larson P.S., Wunderlich D.A., Stelmach G.E., Bloedel J.R.
Visuomotor learning in cerebellar patients.
Behav. Brain Res. 1996, 81: 99-113.
264. Tomey D.A., Heckroth J.A.
Transplantation of normal embryonic cerebellar cell suspension into the cerebellum of Lurcher mutant mice.
Exp. Neurol. 1993, 122: 165-170.
265. Topka H., Massaquoi S.G., Benda N., Hallett M.
Motor skill learning in patients with cerebellar degeneration.
J. Neurol. Sci. 1998, 158: 164-72.
266. Torvik A., Torp S.
The prevalence of alcoholic cerebellar atrophy.
A morphometric and histological study of an autopsy material.
J. Neurol. Sci. 1986, 75: 43-51.
267. Townsend J., Courchesne E., Egaas B.
Deficits in orienting attention in patients with cerebellar and parietal damage.
Soc. Neurosci. Abstr. 1992, 18: 332.
268. Townsend J., Courchesne E., Egaas B.
Slowed orienting of covert visual-spatial attention in autism: specific deficits associated with cerebellar and parietal abnormality.
Dev. Psychopatol. 1996a, 8: 563-584.
269. Townsend J., Harris N.S., Courchesne E.
Visual attention abnormalities in autism: delayed orienting to location.
J. Int. Neuropsychol. Soc. 1996b, 2: 541-50.
270. Townsend J., Courchesne E., Covington J., Westerfield M., Harris N.S., Lyden P., Lowry T.P., Press G.A.
Spatial attention deficits in patients with acquired or developmental cerebellar abnormality.
J. Neurosci. 1999, 19: 5632-43.
271. Triarhou L.C., Norton J., Alyea C., Ghetti B.
A quantitative study of granule cells in Purkinje cell degeneration (pcd) mutant.
Ann. Neurol. 1985, 18: 146.
272. Triarhou L.C., Norton J., Ghetti B.
Anterograde transsynaptic degeneration in the deep cerebellar nuclei of Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice.
Exp. Brain Res. 1987, 66: 577-88.
273. Triarhou L.C., Ghetti B.
Stabilization of neurone number in the inferior olivary complex of aged Purkinje cell.
J. Comp. Neurol. 1991, 260: 409-22.

274. Triarhou L.C., Zhang W., Lee W.H.
Amelioration of the behavioral phenotype in genetically ataxic mice through bilateral.
Cell Transplant. 1996, 5: 269-77.
275. Trouillas P.
Regression of cerebellar syndrome with long-term
administration of 5-HTP or combination 5-HTP-benserazine.
Ital. J. Neurol. Sci. 1984, 5: 253-66.
276. Ungerleider L.G, Doyon J., Karni A.
Imaging brain plasticity during motor skill learning.
Neurobiol. Learn. Mem. 2002, 78: 553-64.
277. Van Golf Racht-Delatour B., Massioui E.L.
Alleviation of overtraining reversal effect by transient
inactivation of the dorsal striatum.
Eur. J. Neurosci. 2000, 12: 3343-50.
278. Van Mier H., Tempel L.W., Pertmutter J.S.
Generalization of practice-related effects in motor learning
using the dominant and non-dominant hand measured by PET.
Soc. Neurosci. Abs. 1995, 21: 1441.
279. Van Neerven J., Pompeiano O., Collewyn H., van der Steen J.
Injections of beta-noradrenergic substances in the flocculus of rabbits affect
adaptation of the VOR gain.
Exp. Brain Res. 1990, 79(2): 249-60.
280. Vožeh F., Caddy K.W.T., Mysliveček J., Motáňová A.
Some characteristics of early learning in cerebellar degeneration model.
Studia Psychol. 1997, 39: 279-81.
281. Vožeh F., Caddy K.W., Mysliveček J.
Některé morfologické a funkční charakteristiky animálního modelu
mozečkové degenerace (Lurcher mutantní myši).
Cesk. Fysiol. 1998 , 47(2): 74-9.
282. Vožeh F., Cendelín J., Motáňová A.
The development of different types of learning in cerebellar degeneration model.
Homeostasis 1999, 39: 248-50.
283. Vožeh F., Cendelín J., Štenglová V., Barcal J., Záhlava J.
The development of spatial learning in a model of olivocerebellar degeneration.
Homeostasis 2001, 41: 64-6.
284. Wallace J.E., Krauter E.E., Campbell B.A.
Motor and reflexive behavior in the aging rat.
J. Gerontol. 1980, 35: 364-70.

285. Wallesch C.W., Horn A.
Long-term effects of cerebellar pathology on cognitive functions.
Brain Cogn. 1990, 14: 19-25.
286. 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. 1987, 124: 379-89.
287. Watson M., McElligott J.G.
6-OHDA induced effects the aquisition and performance
of specific locomotor tasks in rats.
Pharmacol. Biochem. Behav. 1983, 18: 927-34.
288. Watson M., McElligott J.G.
Cerebellar norepinephrine depletion and impaired acquisition of specific
locomotor tasks in rats.
Brain Res. 1984, 296: 129-38.
289. Weiner M.J., Hallett M., Funkenstein H.H.
Adaptation to lateral displacement of vision in patients with lesions
of the central nervous system.
Neurol. 1983, 33: 766-72.
290. Wetts R., Herrup K.
Interaction of granule, Purkinje and inferior olivary neurons in Lurcher chimeric mice.
I. Quantitative studies.
J. Embryol. Exp. Morphol. 1982a, 68: 87-98.
291. Wetts R., Herrup K.
Interaction of granule, Purkinje and inferior olivary neurons
in Lurcher chimeric mice. II. Granule cell death.
Brain Res. 1982b, 250: 358-62.
292. Wishaw I.Q., Auer R.N.
Immediate and long-lasting effects of MK-801 on motor activity, spatial
navigation in a swimming pool and EEG in the rat.
Psychopharmacol. (Berl). 1989, 98: 500-7.
293. 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. 1993, 333: 182-98.
294. White N.M.
Mnemonic functions of the basal ganglia.
Curr. Opin. Neurobiol. 1997, 7: 164-9.

295. Wiegand R.L., Ramella R.
The effect of practice and temporal location of knowledge of results on the motor performance of older adults.
J. Gerontol. 1983, 38: 701-6.
296. Willams R.S., Hauser S.L., Purpura D.P., De Long R., Swister C.N.
Autism and mental retardation: neuropathological studies performed in four retarded persons with autistic behavior.
Arch. Neurol. 1980, 37: 749-53.
297. Willet C.W.
Diet and health: what should we eat?
Sci. 1994a, 264: 532-7.
298. Willet C.W.
Micronutrients and cancer risk.
J. Clin. Nutr. 1994b, 59: 162S-5S.
299. Wober C., Wober-Bingol C., Karwautz A., Nimmerrichter A., Walter H., Deecke L.
Ataxia of stance in different types of alcohol dependence - a posturographic study.
Alcohol 1998, 33: 393-402.
300. Wright B.M., Payne R.B.
Effects of aging on sex differences in psychomotor reminiscence and tracking proficiency.
J. Gerontol. 1985, 40: 179-84.
301. Yaguez L., Canavan A.G., Lange H.W., Homberg V.
Motor learning by imagery is differentially affected in Parkinson's and Huntington's diseases.
Behav. Brain Res. 1999, 102: 115-27.
302. Yamada K., Noda Y., Nakayama S., Komori Y., Sugihara H., Hasegawa T., Nabeshima T.
Role of nitric oxide in learning and memory and in monoamine metabolism in the rat brain.
Br. J. Pharmacol. 1995, 115: 852-8.
303. Yamada K., Noda Y., Hasegawa T., Komori Y., Nikai T., Sugihara H., Nabeshima T.
The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 1996a, 276: 460-6.
304. Yamada K., Hiramatsu M., Noda Y., Mamiya T., Murai M., Kameyama T., Komori Y., Nikai T., Sugihara H., Nabeshima T.
Role of nitric oxide and cyclic GMP in the dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice.
Neurosci. 1996b, 74: 365-74.

305. Yang S.H., He Z., Wu S.S., He Y.J., Cutright J., Millard W.J., Day A.L., Simpkins J.W.
17-beta estradiol can reduce secondary ischemic damage and mortality of
subarachnoid hemorrhage.
J. Cereb. Blood Flow Metab. 2001, 21: 174-81.
306. Yeung-Courchesne R., Courchesne E.
From impasse to insight in autism research: from behavioral symptoms to
biological explanations.
Dev. Psychopathol. 1997, 9: 389-419.
307. Zanjani H.S., Mariani J., Herrup K.
Cell loss in the inferior olive of the staggerer mutant mouse is
an indirect effect of the gene.
J. Neurogenet. 1990, 6: 229-41.
308. Zanjani H.S., Mariani J., Delhay-Bouchaud N., Herrup K.
Neuronal cell loss in heterozygous staggerer mutant mice:
a model for genetic contributions to the aging process.
Brain Res. Dev. Brain Res. 1992, 67: 153-60.
309. Zhang W., Lee W.H., Triarhou L.C.
Grafted cerebellar cells in mouse model of hereditary ataxia express IGF-1
system genes and partially restore behavior function.
Nat. Med. 1996, 2: 65-71.
310. Zou L.B., Yamada K., Tanaka T., Kameyama T., Nabeshima T.
Nitric oxide synthase inhibitors impair reference memory formation
in a radial arm maze task in rats.
Neuropharmacol. 1998, 37: 323-30.
311. Zuo J., De Jager P.L., Takahashi K.A., Jiang W., Linden D.J., Heintz N.
Neurodegeneration in Lurcher mice caused by mutation in delta2 glutamate
receptor gene.
Nature 1997, 388: 769-73.

Zkratky a vysvětlivky

ARG - L-arginin

°C - stupeň Celsia

C3H - kmen myši C3H

C57 – kmen myši C57B1/7

carbidopa – (-) – L-alfa-hydrazino-alfa-methyl-beta-(3,4-dihydroxy benzen) propanová kyselina –monohydrát

cm - centimetr

D-NAME - nitro-D-arginin metylester

fMR – funkční magnetická rezonance

FR - fyziologický roztok (0,9 % roztok chloridu sodného ve vodě)

GABA – kyselina gama- aminomáselná

Hz – Hertz

icv – intra cerebri ventriculi, do mozkové komory

1.krit. – 1. kritérium

2.krit. – 2. kritérium

L-dopa – (-)-L-alfa-amino-beta-(3,4-dihydroxybenzen) propanová kyselina

L-NAME – N(G)-nitro-L-arginin metylester

LTD – long-term depression, dlouhodobá deprese

LTP – long-term potentiation, dlouhodobá potenciace

mA - miliamper

MK – MK-801 neboli dizocilpin

mm - milimetr

N – počet nutných spojů k dosažení kritérií

nc. – nucleus, jádro

NMDA – N- methyl –D-aspartát

NO – oxid dusný

NOS – syntáza oxidu dusnatého

OPCA – olivopontocerebellární atrofie

ORE – overtraining reversal effect, přetrénování způsobené častým tréninkem

PET – pozitronová emisní tomografie

PŽ – postnatální život

RI – retenční index

RNA – ribonukleová kyselina

RTG paprsky – rentgenové paprsky

S – čas do dosažení kritérií (v sekundách)

s.c. – subkutánně

SKF 77434 – antagonist D1 receptoru

tPA – tkáňový aktivátor plasminogenu

VOR – vestibulo-okulární reflex

+Lc – myši typu Lurcher

+/+ - myši typu wild