

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Studijní program: Doktorský studijní program v biomedicíně

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



**MUDr. Yvona ANGEROVÁ**

**NEUROREHABILITACE PO POŠKOZENÍ MOZKU.  
MOŽNOSTI OVLIVNĚNÍ.**

**NEUROREHABILITATION AFTER BRAIN INJURY.  
THERAPEUTIC POSSIBILITIES.**

Disertační práce

Školitel:

doc. MUDr. Marcela LIPPERTOVÁ – GRŮNEROVÁ, Ph.D.

Konzultant:

prof. MUDr. Jan PFEIFFER, DrSc.

Praha 2011

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze 30. 04. 2011

MUDr. Yvona Angerová

Podpis

Identifikační záznam:

ANGEROVÁ, Yvona. *Neurorehabilitace po poškození mozku. Možnosti ovlivnění.*

[*Neurorehabilitation after Brain Injury. Therapeutic possibilities.*]. Praha, 2011. 75s

Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Klinika

rehabilitačního lékařství 1. LF UK. Školitel Lippertová-Grünerová, Marcela, konzultant Pfeiffer, Jan.

**Klíčová slova:** neurorehabilitace, obohacené prostředí, erythropoetin, globální mozková ischemie, hypobarická hypoxie

**Key words:** neurorehabilitation, enriched environment, erythropoietin, global cerebral hypoxia, hypobaric hypoxia

Děkuji své školitelce, doc. MUDr. Marcele Lippertové - Grünerové, Ph.D. a konzultantovi prof. MUDr. Janu Pfeifferovi, DrSc. za trpělivé vedení a spolupráci. Ráda bych poděkovala i doc. MUDr. Daně Marešové, CSc. a prof. MUDr. Jaroslavu Pokornému, DrSc. za nesmírně cenné připomínky při závěrečném zpracování disertace.

## SOUHRN

Neurorehabilitace je rehabilitace pacientů po poškození centrálního nervového systému, jehož důsledkem bývají různé poruchy somatické i psychické. V jejich terapii se využívá multidisciplinární rehabilitační přístup. Díky pokrokům ve fyziologii a patofyziologii je známo, že mozková tkáň může na patologické změny reagovat využitím mechanismů plasticity, které mohou být podpořeny neurorehabilitací i farmakologickou léčbou. Velmi perspektivním se z tohoto pohledu jeví erythropoetin (EPO), který má účinky neuroprotektivní, neuroregenerační a protizánětlivé.

Hlavním cílem práce je prokázat, zda rehabilitace v kombinaci s farmakologickým ovlivněním vede u subjektů vystavených difusnímu hypoxickému poškození ke zlepšení výsledného funkčního stavu. V klinické části byla sledována skupina pacientů po difusním ischemicko-hypoxickém postižení, jejichž funkční stav byl hodnocen podle testu FIM („Functional independence measures“) a krátkodobá paměť Meillioho testem. Byla potvrzena hypotéza, že čím dříve je pacientům poskytnuta multidisciplinární rehabilitace, tím lepších výsledků dosahují. Celkově však stále přetrvávaly zejména poruchy kognitivních funkcí, které významně ovlivňují soběstačnost v běžném životě.

V experimentální části práce bylo zjišťováno, zda EPO může v kombinaci s pobytem v obohaceném prostředí (EE – enriched environment) zlepšit stav kognitivních funkcí u potkanů vystavených hypobarické hypoxii. Úroveň kognitivních funkcí byla testována v Morrisově vodním bludišti. Statistickou analýzou výsledků v jednotlivých podskupinách bylo zjištěno, že potkani, kteří byli chováni v obohaceném prostředí a dostali bezprostředně po vystavení hypoxii erythropoetin, dosahují lepších výsledků než potkani v ostatních podskupinách.

Tyto výsledky podporují hypotézu, že EPO v kombinaci s EE, pravděpodobně podporou neuroplastických mechanismů zlepšují kognitivní funkce potkanů vystavených hypobarické hypoxii.

**Klíčová slova:** neurorehabilitace, obohacené prostředí, erythropoetin, globální mozková ischemie, hypobarická hypoxie

## **ABSTRACT**

Neurorehabilitation is a multidisciplinary rehabilitation process used in patients with neurological diseases. These patients have not only movement disorders but also cognitive and neurobehavioral problems as well as aphasias. Their rehabilitation is a long term process and the results are often unsatisfactory. Neuroplasticity - physiological basis for neurorehabilitation induces functional restitution or recovery after secondary brain damage. Various neuroprotective substances (e.g. erythropoietin - EPO) are tested to empower mechanisms of plasticity after brain injury. Preclinical studies testing efficacy of those substances in animal brain damage models are essential to prepare clinical trials.

The aim of the study was to reveal the influence of EPO combined with rehabilitation on functional outcomes after global cerebral hypoxia. FIM (Functional independence measure) test was used for functional evaluation and Meilli test for visual memory of the patients who attended special program for rehabilitation in clinical part. Patients who came earlier had better prognosis than patients who came later.

In experimental part three-months old male Wistar albino rats were exposed to hypobaric hypoxia for 60 minutes in an experimental chamber, simulating an altitude of 8000m. Half of the animals received one intraperitoneal injection immediately after the performance hypoxia/sham hypoxia. The spatial memory was tested by using Morris water maze. Rats housed in EE treated with EPO performed significantly better than rats living in standard housing.

Multidisciplinary neurorehabilitation could be supported by pharmacologic neuroprotective approaches. EPO seems to play an important role in this process.

Key words: neurorehabilitation, enriched environment, erythropoietin, global cerebral hypoxia, hypobaric hypoxia

## POUŽITÉ ZKRATKY

<b>ADL</b>	běžné denní činnosti (activities of daily living)
<b>ADP</b>	adenosin difosfát (adenosine diphosphate)
<b>Akt</b>	gen kodující serin/threonin kinasy
<b>ARO</b>	anesteziologicko-resuscitační oddělení
<b>ATP</b>	adenosin trifosfát (adenosine triphosphate)
<b>BC</b>	Bobath concept
<b>BDNF</b>	mozkový neurotrofní faktor (brain derived neurotrophic factor)
<b>BrdU</b>	bromdeoxyuridin, analog thymidinu
<b>CA1, CA3, CA4</b>	označení oblastí hipokampu (CA-cornu amonis)
<b>CD131</b>	společná beta komponenta receptoru pro interleukin 3 a 5
<b>CEPO</b>	karbamylová forma erythropoetinu (carbamylated erythropoetin)
<b>cGMP</b>	cyklický guanosin monofosfát (cyclic guanosin monophosphate)
<b>CNS</b>	centrální nervový systém
<b>CT</b>	komputerová tomografie (computerized tomography)
<b>darbEPO</b>	darbepoetin
<b>DG</b>	gyrus dentatus (dentate gyrus)
<b>DNA</b>	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonuclear acid)
<b>DS</b>	Denní stacionář
<b>e NOS</b>	syntáza oxidu dusného (nitrit oxid synthase)
<b>EE</b>	obohacené prostředí (enriched environment)
<b>EGF</b>	epidermální růstový faktor (epidermal growth factor)
<b>EPO</b>	erythropoetin
<b>EPOR</b>	receptor pro erythropoetin
<b>ER</b>	rozšířená rehabilitace (enriched rehabilitation)
<b>ERK1/2</b>	extracelulární signál regulovaných kináz
<b>EPSP</b>	excitační postsynaptický potenciál (excitatory postsynaptic potential)
<b>FIM</b>	funkční míra nezávislosti (Functional independence measure)
<b>FIM FP</b>	funkční míra nezávislosti – fyzické položky
<b>FIM PP</b>	funkční míra nezávislosti – psychosociální položky
<b>fMRI</b>	funkční magnetická resonance (functional magnetic resonance imaging)
<b>G-CSF</b>	faktor stimulující kolonie granulocytů (granulocyte colony stimulating factor)
<b>GDNF</b>	neurotrofní faktor sekretovaný gliální buněčnou linií (glial cell line-derived neurotrophic factor)
<b>HIF-1 a HIF-2</b>	hypoxií indukovatelný transkripční faktor (hypoxia inducible factor)
<b>IBITAH</b>	International Bobath Instructors and Tutors Association of Adult Hemiplegy
<b>IL-3, IL-5</b>	interleukin – 3, interleukin - 5
<b>JAK-2</b>	Janus-tyrosin-kinasa 2
<b>JIP</b>	jednotka intenzivní péče
<b>KRL</b>	Klinika rehabilitačního lékařství
<b>LF UK</b>	Lékařská fakulta Univerzity Karlovy
<b>LTP</b>	dlouhodobá potenciace (long term potentiation)
<b>MCA</b>	arteria cerebri media (medial cerebral artery)
<b>MKF</b>	Mezinárodní klasifikace funkčních schopností, disability a zdraví
<b>MKN</b>	Mezinárodní klasifikace nemocí
<b>MMW</b>	Morrisovo vodní bludiště (Morris water maze)

<b>MRI</b>	magnetická nukleární rezonance (magnetic resonance imaging)
<b>mRNA</b>	ribonukleová kyselina (messenger ribonuclear acid)
<b>NF</b>	nukleární faktor
<b>NGF</b>	nervový růstový faktor (nerve growth factor)
<b>NMDA</b>	N-metyl-D-aspartát
<b>NO</b>	oxid dusný
<b>NS</b>	neuromotorické vyšetření potkanů (Composite Neuroscore)
<b>PET</b>	pozitronová emisní tomografie (positron emission tomography)
<b>PI3K</b>	fosfatidylinositol 3-kinasy
<b>PNF</b>	proprioceptivní nervosvalová facilitace (proprioceptive neuromuscular facilitation)
<b>r-Hu-EPO</b>	lidský rekombinantní erythropoetin (human recombinant erythropoetin)
<b>SGZ</b>	subgranulární zóna (subgranular zone)
<b>SPECT</b>	single photon emission computer tomography
<b>STAT 5</b>	signální přenašeče a aktivátory transkripce (signal transducers and activators of transcription)
<b>SVZ</b>	subventrikulární zóna (subventricular zone)
<b>S100B</b>	kalcium vázající protein S100B
<b>TBI</b>	traumatické poranění mozku (traumatic brain injury)
<b>TMS</b>	transkraniální magnetická stimulace (transcranial magnetic stimulation)
<b>ÚZIS</b>	Ústav zdravotnických informací a statistiky
<b>v-akt</b>	murinový homolog thymového virového onkogenu (murine thymoma viral oncogene homolog)
<b>VE</b>	aktivní cvičení (voluntary exercise)
<b>VEGF</b>	vaskulární endoteliální růstový faktor (vascular endothelial growth factor)
<b>2-VO</b>	model okluse dvou krkavic (2 vessel occlusion)
<b>4-VO</b>	model okluse čtyř cév (4 vessel occlusion)



# OBSAH

1. ÚVOD.....	2
2. HYPOXICKÉ POŠKOZENÍ MOZKU .....	3
2.1.PATOFYZIOLOGIE POŠKOZENÍ MOZKU .....	3
2.2.MODELY HYPOXICKÉHO A ISCHEMICKÉHO POŠKOZENÍ MOZKU .....	6
2.3.PORUCHY VZNIKAJÍCÍ PO POŠKOZENÍ MOZKU .....	8
2.4.NEUROPLASTICITA.....	9
2.4.1. MECHANISMY NEUROPLASTICITY .....	10
2.4.2. DEMASKOVÁNÍ NEURONÁLNÍCH FUNKČNÍCH OKRUHŮ .....	11
2.4.3. DLOUHODOBÁ POTENCIACE (LONG TERM POTENTIATION – LTP) ....	13
2.4.4. DIASCHÍZA.....	14
2.4.5. „SPROUTING“ .....	14
2.4.6. NEUROGENEZE .....	14
2.5. PLASTICITA A REHABILITACE .....	15
3. NEUROREHABILITACE.....	17
3.1. METODY A KONCEPTY POUŽÍVANÉ V REHABILITACI.....	18
3.2. VLASTNÍ ZKUŠENOSTI S PROGRAMEM PRO REHABILITACI PACIENTŮ PO POŠKOZENÍ MOZKU.....	21
3.3. REHABILITACE, FYZIOTERAPIE – OBOHACENÉ PROSTŘEDÍ (ENVIRONMENTAL ENRICHMENT – EE).....	21
3.4. LÁTKOVÉ OVLIVNĚNÍ PLASTICITY MOZKU .....	23
3.4.1. ERYTHROPOETIN (EPO) .....	24
3.4.2. STATINY .....	28
3.4.3. OXID DUSNATÝ (NO).....	28
3.4.4. S100B .....	28
4. HYPOTÉZA A CÍL PRÁCE.....	29
5. METODIKA.....	30
5.1. METODIKA – KLINICKÁ ČÁST .....	30
5.1.1. CHARAKTERISTIKA SOUBORU .....	30
5.1.2. HODNOCENÍ.....	33
5.2. METODIKA – EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	33
5.2.1. POKUSNÁ ZVÍŘATA .....	33
5.2.2. HYPOXIE, KONTROLY .....	34
5.2.3. OBOHACENÉ PROSTŘEDÍ.....	34
5.2.4. ERYTHROPOETIN .....	35
5.2.5. MORRISOVO VODNÍ BLUDIŠTĚ .....	35
5.2.6. PROGRAMOVÉ VYBAVENÍ .....	37
5.2.7. PRŮBĚH POKUSU.....	37
5.2.8. NEUROMOTORICKÉ VYŠETŘENÍ.....	38
5.2.9. HODNOCENÍ.....	39
6. VÝSLEDKY .....	40
6.1. VÝSLEDKY- KLINICKÁ ČÁST.....	40
6.2. VÝSLEDKY- EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI .....	46
7. DISKUSE.....	52
8. ZÁVĚR.....	60
9. LITERATURA.....	63

# 1. ÚVOD

Neurorehabilitace je rehabilitace pacientů s poruchami funkce centrálního nervového systému. K velkému rozvoji tohoto oboru došlo zejména v posledních 20 letech, kdy díky pokroku v akutní medicíně přežívají pacienti po stále těžším poškození mozku. Jejich přežití je však velmi často provázeno velmi těžkými funkčními poruchami mozku – motorickými, kognitivními, fatickými a psychickými. Právě různorodost poškození těchto funkcí vedla k nutnosti vzniku multidisciplinárních rehabilitačních týmů, jejichž odborníci (lékaři, psychologové, logopedi, ergoterapeuti, fyzioterapeuti, zdravotní sestry a další) se dlouhodobě snaží o zlepšení výsledného stavu pacientů tak, aby se mohli vrátit zpět do běžného života.

Díky pokrokům v neurofyzilogii a patofyzilogii bylo prokázáno, že mozková tkáň má jednu velmi specifickou vlastnost a tou je neuroplasticita. Neurorehabilitace je významnou široce klinicky využitelnou podporou neuroplasticity. Ukazuje se však, že ani intenzivně probíhající neurorehabilitace nemusí vést u některých pacientů k uspokojivým výsledkům. Hledají se proto cesty, jak dále podpořit regeneraci nervové tkáně nebo jak zvýšit její odolnost vůči poškození. Jednou z velmi nadějných možností je využití látek, které zmírňují sekundární poškození mozku a podporují neuroplasticitu. Zmíněných látek je popisována celá řada, avšak jednoznačná doporučení v tomto směru dosud neexistují. Jednou z látek, která je na základě experimentálních studií považována za velmi perspektivní, je erythropoetin.

Předkládaná disertační práce je rozdělena na dvě části – klinickou a experimentální. Klinická část se zabývá neurorehabilitací u lidí po difusním ischemicko-hypoxickém poškození mozku, jejichž rehabilitace, a to zejména rehabilitace kognitivních funkcí, patří k nejméně úspěšným a nejvíce zanedbávaným. Experimentální část byla prováděna ve spolupráci s Fyziologickým ústavem 1. LF UK na potkanech a sledovala možnosti ovlivnění kognitivních funkcí potkanů vystavených celkové hypobarické hypoxii.

## 2. HYPOXICKÉ POŠKOZENÍ MOZKU

### 2.1. PATOFYZIOLOGIE POŠKOZENÍ MOZKU

Mechanismus poškození mozku je samozřejmě rozdílný u traumat, cévních mozkových příhod či zánětlivého postižení. Důsledkem je primární a sekundární poškození mozkové tkáně.

Primární poškození je způsobeno mechanickými změnami, které jsou největší u traumatického postižení, sekundární změny jsou výsledkem biochemických a patofyziologických změn, které vedou k buněčné smrti. Tyto změny zahrnují mnoho procesů, které jsou důsledkem ischemie, působení excitačních aminokyselin, mozkového edému a zvýšeného intrakraniálního tlaku. V řadě případů nastává vzájemné potencování těchto různých mechanismů.

Pro adekvátní činnost mozkové tkáně je nezbytné dodávání dostatečného množství kyslíku, glukózy a tvorba ATP. Přestože mozek tvoří 2 % tělesné hmotnosti, dostává jednu šestinu klidového srdečního výdeje a 20 % celkové spotřeby kyslíku. Z tohoto faktu vyplývá, že nedostatek kyslíku nebo zhoršené prokrvení může mít nedozírné následky na funkci mozkových buněk.

Hypoxie označuje nedostatek kyslíku ve tkáni při zachované cirkulaci, zatímco ischemie je snížení nebo úplné přerušování krevního průtoku. S izolovanou hypoxií se setkáváme v podmínkách sníženého atmosférického tlaku, při otravě oxidem uhelnatým, těžké anemii a při poruše oxygenace krve. Hypoxie, zejména chronická, bývá velmi dobře tolerována. Neurony jsou schopné náhradního anaerobního metabolismu, díky kterému izolovanou hypoxií dobře tolerují. Hypoxické postižení způsobuje euforii, posléze apatii, ospalost a poruchy myšlení. Při těžké a náhlé hypoxii obvykle nastává bezvědomí a popřípadě epileptické záchvaty.

Ischemie může být pouze ložisková – fokální, jako například u cévní mozkové příhody, nebo celková – globální, jako například při oběhovém selhávání. Podle nejnovějších vědeckých poznatků je patofyziologie poškození buněk u globální ischemie odlišná od změn, které vznikají u ischemie ložiskové.

Ke globální ischemii dochází v okamžiku, kdy krevní oběh nedostatečně kryje požadavky mozku. To se stává při srdeční zástavě nebo cirkulačním selhání a během několika

sekund nastupuje bezvědomí. Pokud se rychle obnoví krevní oběh, navrací se zpravidla i vědomí. Pokud však tento stav přetrvává, postupně se spouští kaskáda patologických reakcí. Během 2–4 minut se vyčerpávají zásoby glukózy a glykogenu. Zásoby ATP jsou vyčerpány během 5 minut, přičemž 50–75 % nároků mozkové tkáně se spotřebovává na udržení iontových gradientů na buněčné membráně. Rychlý průnik sodných iontů do buňky vede k buněčnému a intersticiálnímu edému (Kozler P., 2002). Vstup vápníkových iontů se podílí na uvolňování intracelulárních enzymů, které vedou k buněčné smrti. Nebo jsou nastartovány reakce, které limitují přežití neuronů v průběhu reperfuse a vedou k sekundární buněčné smrti po hodinách až dnech následujících reperfusi. Poškození transportních mechanismů buněčné membrány v akutní fázi vede k pomalému postupnému přetížení mitochondrií vápníkem. Dále dochází uvnitř buněk ke změnám transkripce a translace, čímž buňka ztrácí schopnost produkce stresových proteinů, trofických faktorů či enzymů, které jsou nezbytné pro její přežití (Choi D., 1990).

Výsledný obraz globální ischemie rovněž souvisí s anatomickým uspořádáním cévního zásobování mozkové tkáně. Mezi buňky nejcitlivější na nedostatek kyslíku patří Purkyňovy buňky mozečku a neurony v oblasti hipokampu. Anatomické uspořádání krevního oběhu předurčuje dva typy ischemického postižení („watershed zones and laminar necrosis“).

Po obnovení oběhu v období postischemické hypoperfuse se zvyšuje krevní srážlivost. Zvyšuje se viskozita krve a odpor v cévním řečišti stoupá. Vyvíjí se vasomotorická paralýza v důsledku extracelulární acidózy, která je následována ischemickou vasokonstrikcí. Problémem může být rovněž zvýšení metabolismu v důsledku zvýšeného uvolňování katecholaminů, protože vyčerpaná mozková tkáň nemá dostatek potřebných substrátů. Důsledkem těchto změn bývají často poruchy nervových funkcí a kóma. Při uzdravování se postupně zlepšuje celkový stav pacienta, ale poruchy kognitivních funkcí přetrvávají nejdéle a velmi často bývají jediným trvalým postižením.

U mnoha neurologických postižení se setkáváme s hyperstimulací receptorů specifických aminokyselin jako např. glutamátu a aspartátu. Glutamát je hlavním excitačním neurotransmiterem mozku a jeho interakce se specifickými receptory odpovídá za zprostředkování vyšších nervových funkcí včetně paměti, rozpoznávání, pohybu a senzitivních funkcí. Jedním subtypem těchto receptorů jsou i NMDA (N-metyl-D-aspartát) receptory, kterým je přičítán vliv na poškození mozku. Vazbou ligandu na tyto receptory se otevírají široké kalciové kanály, které umožňují průnik kalciových a sodíkových iontů do buňky a draslíkových iontů z buňky, což vede k prodloužení akčních potenciálů. Aktivace

vápníkové kaskády vede k uvolňování intracelulárních enzymů, které poškozují proteiny, vytvářejí volné radikály, vedou k lipidové peroxidaci, fragmentaci DNA a poškození buněčného jádra (Lipton S.A. et Rosenberg P.A., 1994).

Neurony CNS mohou být z hlediska velikosti a funkce rozděleny na makroneurony a mikroneurony. Makroneurony jsou velké buňky, jejichž dlouhé axony vedou akční potenciály do vzdálenějších oblastí CNS. Mikroneurony jsou malé buňky, zapojené zejména v lokálních neuronálních okruzích. Synapse makroneuronů na postsynaptických excitačních aminokyselinových receptorech mikroneuronů vytvářejí síť, která je základem pro vyšší nervové funkce. Mikroneurony kůry a hipokampu jsou extrémně citlivé na stimulaci NMDA receptorů a neurotoxický vliv zvýšených intracelulárních hladin volného vápníku. Právě tato jejich zranitelnost je jednou ze závažných příčin trvalých následků v podobě poruchy kognitivních funkcí.

Negativní účinky hypobarické hypoxie na kognitivní funkce byly opakovaně popsány nejen u zvířat, ale i u lidí. Perinatální hypoxické poškození mozku vede k mentální retardaci a poruchám učení a paměti (Pokorný J. et al., 1982, Langmeier M. et al., 1989, Kumral A. et al., 2004, Trojan S. et al., 2004). Tyto účinky souvisejí především se strukturami hipokampu, který má důležitou úlohu v učení a krátkodobé paměti.

Hipokampus je součástí tzv. hipokampální formace, kterou tvoří ještě přilehlé části temporálního laloku – gyrus dentatus, subiculum a entorinální oblast, která se nachází v gyrus parahippocampalis. Bohužel různí autoři popisují tyto oblasti různě (Brodal P., 2008). Zatímco dříve byl zájem soustředěn hlavně na vlastní hipokampus, novější studie uvažují o součinnosti hipokampu s okolními strukturami v gyrus parahippocampalis. V hipokampu se rozlišují tři základní oblasti nazývané CA1, CA3 a CA4 (CA – „cornu amonis“) (Zimmer J. et Gähwiler B.H., 1984). Axony granulárních buněk tvoří synapse s dendrity pyramidových buněk a pyramidové buňky vysílají své axony ven z hipokampu. Mezi entorinální kůrou a hipokampem existují velmi přesně popsané dráhy. Všechny synapse tohoto okruhu jsou excitační a jejich transmitterem je glutamát. Celý systém je však mnohem složitější.

Změny navozené hypoxií jsou závislé na intenzitě a době jejího působení (Hale B.S. et al., 1996). Buněčná smrt v oblasti CA1 hipokampu je spojena s poruchou paměti bez jakéhokoliv dalšího neurologického nebo neuropatologického postižení (Naghdi N., et al., 2003, Sinden J.D. et al., 1997). Hypoxie vede k apoptose buněk CA3, gyrus dentatus a laterálního thalamu novorozených potkanů (Nakajima W. et al., 2000).

Různé příčiny hypoxie vedou k poškození CA1 nebo CA3 (Hale B.S. et al., 1996). Hypobarická hypoxie výrazně ovlivňuje oblasti CA1 a CA3 hipokampu s tím, že oblast CA3 je mnohem citlivější na poškození než oblast CA1 (Maiti P. et al., 2007).

Právě možnost terapeutického ovlivnění vznikajících sekundárních změn je předmětem rozsáhlých a početných studií na experimentálních zvířatech.

## **2.2. MODELÝ HYPOXICKÉHO A ISCHEMICKÉHO POŠKOZENÍ MOZKU**

Modely různých typů poškození mozku jsou základem poznávání fyziologických a patofyziologických procesů, které vznikají v důsledku různých poškození mozku. Optimismus, se kterým jsme se setkávali v 90. letech, kdy se zkoušela celá řada látek ovlivňujících mechanismus vzniku těchto změn, byl nahrazen skepsí, neboť celá řada slibných experimentálních studií ve 2. či 3. fázi klinického výzkumu zcela ztroskotala (Xiong Y. et al., 2009). Řada vědců si klade otázku, proč studie, které potvrzují hypotézy o účincích těchto látek na laboratorní zvířata, nevedou k požadovaným výsledkům u lidí. Možné odpovědi souvisejí pravděpodobně s níže uvedenými důvody (Stein D.G., 2007):

1. Před započítím klinických zkoušek je potřeba mít více než dostatečně ověřené účinky v experimentech na zvířatech. Důležité je vzít v úvahu možnosti terapeutického „okna“, výšku dávky, způsob podání jednotlivých látek.
2. Byla identifikována celá řada patologických kaskád, ale není jasné, která z nich převažuje u konkrétního pacienta po konkrétním poškození.
3. Možná bude potřeba vzájemně kombinovat jednotlivé postupy u jednotlivých pacientů.
4. V neposlední řadě jsou velmi důležité metody hodnocení výsledků.

Pokusy na velkých zvířatech mají oproti pokusům na malých laboratorních zvířatech řadu výhod. Je mnohem jednodušší používat obdobné monitorování fyziologických funkcí stejně jako u člověka (např. evokované potenciály, elektroencefalografie, analýza krevních plynů, krevní tlak, hemoglobin). Vyšetření mohou být spojena s vyšetřením neurologickým, neurobehaviorálním. Mozky zvířat jsou gyrencefalické a podobají se mnohem více mozku lidskému. Velkou nevýhodou však je nutnost invazivní chirurgie při vytváření modelu ischemie a značná variabilita ve výsledných obrazech patologické léze. Určitou roli hraje

samozřejmě i cena zvířat a celého chirurgického a anesteziologického vybavení a zabezpečení.

K nejčastěji používaným zvířatům tak patří zejména hlodavci, kteří jsou v poslední době i geneticky upravováni tak, aby měli specifické sledované vlastnosti nebo poruchy (Traystman R.J., 2003). Modely globální ischemie by měly způsobovat zastavení mozkového krevního průtoku. Nejjednodušší metodou vytvoření globální ischemie bez následné reperfuse je dekapitace. Tato technika byla použita již v roce 1964 (Lowry O.H. et al., 1964) a pro biochemickou analýzu metabolických studií dále v 80. letech (Abe K. et al., 1983, Yoshida S. et al., 1985). Dále se používá metoda turniketové ischemie, která však má řadu komplikací. Manžeta, která se přikládá ke krku zvířete a nafukuje se na 600–700 mm Hg (Siemkowitz E. et Hansen, A.J., 1978) totiž komprimuje i jiné struktury a vždy hrozí ireverzibilní poškození kmene mozkového (Kozler P., 2002). Velmi věrným modelem globální ischemie je komorová fibrilace (Traystman R.J., 2003). Tato metoda se používá při výzkumu následků srdeční zástavy a kardiopulmonální resuscitace. K výzkumu globální ischemie se rovněž používá metoda Pulsinelliho a Brierleye (Pulsinelli W.A. et Brierley J.B., 1979), kteří vyvinuli model 4-VO (4 vessel occlusion), okluze čtyř cév. Účinnost tohoto modelu je 50–75 %. Model byl velmi široce používán k morfologickým a metabolickým studiím u zvířat v anestezii (Globus M.Y.T. et al., 1988, 1989, Yoshida S. et al., 1982). Velké využití má i model 2-VO (2 vessel occlusion) s okluzí obou krkavic způsobující ischemii velkého mozku. Jednostranná okluze ACC (arteria carotis communis) využívá neuzavřený Willisův okruh u pískomilů (gerbil – *Meriones unguiculatus*), kterým chybí zadní komunikující artérie, a anastomóza předních mozkových tepen je vytvořena zcela vzácně, asi jenom u 30 % (Kozler P., 2002). Cílem kompresivní ischemie je vytvořit globální hemisferální ischemii zvýšením intrakraniálního tlaku. U hypoxicko-ischemického modelu je zvíře vystaveno na dobu 45 minut hypoxickému prostředí za 24 hodin po jednostranném uzávěru ACC (Levin S., 1960).

Hypoxické postižení bývá simulováno zejména v hypobarické komoře simulující různou nadmořskou výšku a atmosférický tlak (parciální tlak kyslíku). V literatuře je popisována velmi široká škála různých pokusů sledujících zejména vliv hypoxie na funkce centrálního nervového systému, jejichž výsledky se liší nejen simulovanou nadmořskou výškou a dobou působení hypobarické hypoxie, ale především věkem sledovaných zvířat. Tíže postižení mozkových funkcí se dramaticky zvyšuje ve výšce 4 700 m (Shukitt-Hale B. et al., 1998). Krátkodobá paměť potkanů se zhoršuje již po expozici hypoxie ve 4 400 m po jedné hodině (Du J.Y. et al., 1999). Dále je známo, že u lidí po akutní hypoxii ve

2 800 metrech se již za jednu hodinu objevují nepříznivé účinky na náladu a vzrůstá úzkost zdravých jedinců (Li X.Y. et al., 2000a). V další studii jsou popisovány nežádoucí účinky na psychomotoriku již ve 3 600 m za jednu hodinu (Li X.Y. et al., 2000b).

Postnatální vystavení hypobarické hypoxii ve výšce 7 000 m na 19 dnů vedlo k poruše prostorové paměti (Šimonova Z. et al., 2003), zatímco u dospělých potkanů po 2 a 6 hodinové expozici se zhoršila zejména pracovní a dlouhodobá paměť v Morrisově vodním bludišti (Shukitt-Hale, B. et al., 1994). Porucha výbavnosti u podmíněných reflexů se zjistila u potkanů 6 dnů po čtyřdenní expozici hypobarické hypoxii (Chleide E. et al., 1991). Behaviorální studie ukazují na poruchy učení u zvířat vystavených hypoxii na méně než 6 hodin (Shukitt-Hale B. et al., 1994), zatímco morfologické studie ukazují degeneraci neuronů po 2–4 denní expozici (Shukitt–Hale B. et al., 1996, Gozal D. et al., 2001). Intermitentní hypobarická hypoxie novorozených potkanů způsobila redukci apikálních dendritických větví v oblasti CA1 a CA3 hipokampu (Langmeier M. et al., 1989), (Langmeier M. et Marešova D., 1998).

Jiným modelem používaným pro studium důsledků hypoxie je normobarická hypoxie, kde se změň pO<sub>2</sub> dosahuje např. použitím dusíku.

### **2.3. PORUCHY VZNIKAJÍCÍ PO POŠKOZENÍ MOZKU**

Pacienti po poškození mozku mohou mít v důsledku kombinace patofyziologického působení řady mechanismů nejrůznější kombinace poruch somatických, kognitivních neurobehaviorálních a sensorických. O konečných důsledcích vždy rozhoduje typ hypoxie – ischemie, její trvání, intenzita a v neposlední řadě věk pacienta.

Mezi somatické obtíže patří mimo jiné životně důležité vegetativní funkce jako např. regulace srdeční frekvence a dýchání, regulace tělesné teploty (Lippertová-Grünerová M., 2009). Nejčastější však jsou poruchy motorické a senzitivní, mezi nimiž jsou nejčastější a velmi charakteristické centrální parézy (Švestková O. et Angerová Y., 2010). Patří sem však i programování jednoduchých a složitých pohybů, vnímání čítí a sensorické funkce (zrak, sluch, čich, chuť a hmat).

Mezi kognitivní obtíže patří poruchy pozornosti, orientace, paměti, myšlení, učení, apraxie, agnózie, afázie, poruchy abstrakce a zrakověprostorového vnímání. Poruchy kognitivních funkcí ovlivňují spolupráci pacienta a jeho aktivity prakticky ve všech oblastech denního života.



Neurobehaviorální obtíže ovlivňují chování pacienta, patří sem apatie, impulsivita, iritabilita, agresivita, deprese, úzkost, emoční labilita, ztráta iniciativy.

Všechny tyto obtíže mohou významně ovlivnit spolupráci pacienta s lékaři a terapeuty a vývoj celého rehabilitačního programu (Angerová Y. et al., 2010).

## **2.4. NEUROPLASTICITA**

Poškozením mozkové tkáně nastává celá řada neurobiologických změn, které v rekonvalescenci umožní co nejlepší reorganizaci poškozené tkáně. K vývoji nových efektivních terapeutických strategií pro pacienty po těžkém poškození mozku je v rehabilitaci nezbytně nutné diskutovat a zařazovat vždy nejnovější znalosti o možnostech plasticity a reorganizace mozku (Lippertová-Grünerová M. et al., 2006).

Jednu z prvních hypotéz o funkční reorganizaci CNS formuloval berlínský fyziolog Hermann Munk v roce 1877 – tzv. „Vikariationhypothese“ (Munk H., 1877). Munk popsal možnost, že funkci poškozených nebo zničených oblastí převezmou sousedící oblasti kortexu. Tato hypotéza byla v dalších desetiletích několikrát experimentálně zkoumána a potvrzena, ale také opakovaně zpochybňována. V publikaci držitele Nobelovy ceny Ramóna y Cajala z roku 1928 nalézáme velmi pesimistickou hypotézu o tom, že struktura neuronálních oblastí je nezměnitelně dána a při poškození mozku není možná jakákoliv regenerace (Cajal R., 1928). S Cajalovým míněním se ztotožňoval celý lékařský svět po mnoho desetiletí, což vedlo k velmi pesimistickému postoji k možnostem terapie pacientů po těžkém poškození mozku. Až během obou světových válek se postupně zlepšovala péče o vojáky po těžkém poranění hlavy a v klinické praxi se objevovaly stále častěji výsledky, které byly v protikladu k dřívějším hypotézám a umožnily nový, pozitivnější přístup k následkům mozkového zranění.

Pomalu tak začal rozvoj moderní neurorehabilitace. Otfried Foerster ve svých pracích z roku 1936 referoval o možnostech reorganizace mozkových funkcí a význačných možnostech plasticity centrálního nervového systému (Foerster O., 1936).

V 60. letech se objevily práce Raismana (Raisman G., 1969), který již používal elektronový mikroskop a jako první zmapoval v mozku potkanů dvě primárně aferentní dráhy do subkortikálních struktur, které nazval „septální nukleární komplex“. V dalších experimentech přerušil selektivně jednu ze dvou nalezených drah a čekal, k jakým dojde změnám. Po určité době obsadila vlákna z neporušené dráhy uvolněné synapse po původních

přerušených vlákních. Lišil se i typ synaptických váček (vezikul), což dle Raismana pravděpodobně souviselo se změnou uvolňovaného mediátoru. Tímto pokusem tak bylo prokázáno, že synapse v CNS dospělých savců jsou mnohem labilnější, než se původně předpokládalo.

Popsané změny, které ovlivňují vysoce specifické funkce, synapsí však mohou podle autora odstranit důležitý podnět pro dorůstání původních přerušených vláken a negativně ovlivnit celkové funkční důsledky regenerace. Raisman sám s behaviorálními studii nepokračoval, ale jeho práce vedla další výzkumníky k tomu, aby přijali myšlenku, že funkční reorganizace dospělého mozku je možná (Stein D. G., 2007).

Myšlenka, že funkční zlepšení může být podpořeno farmakologicky, vlivy prostředí, hormony a dalšími podněty, je v historii neurověd stále mladá a řadou odborníků v 90. letech ne zcela přijímaná. Naopak v posledním desetiletí je tento pojem používán až příliš, ne však vždy zcela adekvátně. Pokud zadáme v PubMedu pojem neuroplasticita, objeví se více než 11.000 článků (Stein D. G., 2007). Při opakování tohoto zadání k 4. 4. 2011 ve 13.00 hodin bylo nalezeno již 30.649 článků.

Společně s přibývajícím znalostmi o mozkové regeneraci se postupně měnila prognóza mozkového poškození. Rozvíjely se i nové terapeutické formy v rehabilitaci těchto pacientů. K nejdůležitějším cílům moderní rehabilitace patří optimální využití spontánní regenerace a neuronální plasticity.

#### **2.4.1. MECHANISMY NEUROPLASTICITY**

Neuroplasticita je jednou ze základních vlastností nervové tkáně. Vyjadřuje schopnost nervové tkáně vyvíjet se, reagovat nebo přizpůsobovat se vnitřním a vnějším změnám prostředí jak ve fyziologických, tak v patologických podmínkách (Trojan S. et Pokorný J., 1999). Podle účinků aktivace mechanismů neuroplasticity různými stimuly vnitřního a vnějšího prostředí různou intenzitou a dobou trvání v různých obdobích života může být plasticita rozdělena na plasticitu evoluční (v průběhu vývoje), reaktivní (po přechodné expozici určitému podnětu), adaptační (výsledek dlouhodobé opakované expozice) a reparační (funkční nebo strukturální obnova při poruše nervových okruhů), (Pokorný J. et al., 1992, Trojan, S. et al., 1997, Trojan, S. et al., 2004).

V rehabilitaci bude nejdůležitější neuroplasticita reaktivní a reparační. Reaktivní neuroplasticita je okamžitou odpovědí na přechodně působící podnět. Byla popsána řada

takových reakcí, například reakce na hladovění a žízeň, poškození různých částí CNS, reakce na nociceptivní stimuly, které vedou ke zvýšení odolnosti na nedostatek kyslíku zejména u nezralých zvířat (Trojan S., 1978, Pokorný J. et Sivenius J., 1995). Nezralý mozek má schopnost zareagovat na změny vnitřního prostředí přizpůsobením svého metabolismu na buněčné úrovni. Protože tento proces má i některé rysy reakční a některé adaptační, označuje se jako adaptivní metabolická reakce (Trojan S. et Pokorný J., 1999). Zahrnuje zvýšenou utilizaci endogenního glykogenu, posunutí buněčné oxidace k anaerobní glykolýze se šetřením energetických zdrojů (ATP, ADP, kreatinfosfátu), zvýšenou aktivitou některých enzymů, hlavně těch, které se účastní anaerobní glykolýzy a udržování rovnováhy mezi metabolismem glukózy a aminokyselin.

Reparační neuroplasticita vyjadřuje schopnost zotavit se z poškození funkce zásahem do vlastního uspořádání. Mechanismy obnovy jsou kontrolovány genetickými programy, které určují aktivitu jednotlivých součástí nervové tkáně. Tyto programy jsou spouštěny změnami ve vnitřním prostředí nervové tkáně, které provázejí patologický proces (Trojan S. et Pokorný J., 1999). Reparace může vyplývat ze změn v účinnosti nebo v počtu synapsí, z reorganizace („rearrangement“) nebo z pučení dendritického a axonálního větvení (Albensi B.C., 2001, Björklund A. et Stenevi, U., 1981). Reparace je provázena reorganizací lokálních nervových okruhů nebo změnami ve funkčních oblastech mozku (Pokorný J., 1996). V tomto smyslu je výzkum zaměřen na možnosti podpory mechanismů neuroplasticity a umožnění regenerace CNS. Pomocí aktivace přirozených mechanismů nebo pomocí medikace mohou být aktivovány vnitřní neuroplastické mechanismy.

Dosud známými mechanismy, které umožňují neuroplasticitu, jsou zejména: demaskování neuronálních funkčních okruhů, dlouhodobá potenciace (long term potentiation, LTP), diaschíza a sprouting (nová spojení neuronů), (Lippertová-Grünerová M., 2009).

#### **2.4.2. DEMASKOVÁNÍ NEURONÁLNÍCH FUNKČNÍCH OKRUHŮ**

Tradičně vycházíme ze somatotopického uspořádání povrchu těla v somatosenzorickém a motorickém kortexu. Zlepšené možnosti elektrofyziologické diagnostiky vedly v posledních letech k více diferencovanému pohledu na organizaci motorických a somatosenzorických oblastí mozkové kůry. Bylo zjištěno, že na neuronální úrovni existuje velká variabilita motorických reprezentačních oblastí končetin nebo jejich částí (Donoghue J.P. et al., 1992). Díky pozitronové emisní tomografii (PET) a funkční magnetické rezonanční tomografii (fMRI) mohl být u člověka prokázán zároveň oddělený a

překrývající se mozaikový princip kortikální reprezentace (Colebatch J.G. et al., 1991, Rao S.M. et al., 1993).

V experimentálních studiích se zvířaty se prokázalo, že změny organizace motorického kortikálního okrsku mohou probíhat velmi rychle, v některých případech již během hodin. Autoři předpokládají, že funkčně inaktivní, latentní horizontálně seřazené intrakortikální spoje hrají rozhodující roli ve funkční reorganizaci kortikospinálního řízení pohybu. Aktivace, případně disinhibice těchto horizontálních spojení umožňuje flexibilní spojení kortikálních motorických neuronů, které se principiálně mohou podílet na řízení určitých svalů nebo svalových skupin s kooperujícími systémy (Donoghue J.P. et al., 1990, 1992, Schonle P.W., 1993, Jacobs K.M. et Donoghue J.P., 1991).

Dále se předpokládá, že adaptivní procesy reorganizace v oblasti centrálního nervového systému probíhají v závislosti na používání dané struktury a je možné je tréninkem v rámci fyzioterapie ovlivnit.

Intenzivní repetitivní stimulací ohraničených okrsků kůže ve spojení s motorickou aktivitou se podařilo v rámci pokusů se zvířaty prokázat, že je možné dosáhnout zvýšení příslušné kortikální reprezentace (Clark S.A. et al., 1988, Sanes J.N. et al., 1992). Další experimentální studie se zvířaty prokazují dynamické procesy a reorganizace v motorické kůži po přerušení periferního motorického nervu nebo po amputaci končetiny, přičemž lze prokázat modifikaci kortikální reprezentace již po několika hodinách (Brasil-Neto J.P. et al., 1992), v některých případech již po 15 až 30 minutách. Při vyšetřování somatosenzorických evokovaných potenciálů získaných podrážděním svalů ruky a prstů nevidomých profesionálních čtenářů Braillova písma (čtoucích 5 až 10 hodin denně) se našlo značné rozšíření somatosenzorické kůry pro oblast svalů pravé ruky, které jsou nutné při čtení Braillova písma. U kontrolní skupiny neprofesionálních čtenářů Braillova písma (méně než 1 hodina denně) se žádné rozšíření somatosenzorické korové reprezentace nezjistilo (Pascual-Leone A. et Torres F., 1993).

Výsledky těchto studií prokazují, že adaptivní procesy reorganizace probíhají v centrálním nervovém systému v závislosti na frekvenci používání, a tím je možné je pozitivně ovlivnit. Opakované používání podporuje také jejich konsolidaci. Tyto poznatky jsou zásadním způsobem významné pro získání nových motorických funkcí i pro jejich obnovu u osob po poškození mozku.

### 2.4.3. DLOUHODOBÁ POTENCIACE (LONG TERM POTENTIATION – LTP)

Zapojení strukturálně preformovaných synaptických spojů je prvním krokem v průběhu funkčního zlepšení motorických deficitů způsobených poškozením centrálního nervového systému. Je ale nutné, aby v dalším průběhu onemocnění došlo ke konsolidaci a optimalizaci nových funkčních systémů a právě na tuto problematiku se zaměřují terapeutické formy rehabilitace. Podle poznatků Moorea (Moore J., 1980) zde hraje důležitou roli zejména takzvaný repetitivní trénink. Ve svých pracích autor popisuje, že při opakovaném používání neuronální spoje dokonaleji fungují.

LTP popisuje jako první studie u buněk hipokampu, v rámci procesů paměti a učení, kde pod ní rozumíme dlouhodobé zvýšení excitačních postsynaptických potenciálů (EPSP) navazujících na krátkou thalamickou stimulaci příslušných aferentací. V souladu s výsledky studií, které se zabývaly významem somatosenzorického kortexu pro motorické učení, se podařilo experimentálně prokázat existenci LTP fenoménu v buňkách motorického kortexu po thalamické stimulaci v somatosenzorickém kortexu (Asanuma H. et Arisian K., 1984, Keller A. et al., 1992). V návaznosti na tuto thalamickou stimulaci byla prokázána pomocí záznamu z motoneuronu mozkové kůry zřetelně zvýšená amplituda excitačního postsynaptického potenciálu po dobu až dvou hodin. Také pro výstup z pyramidových buněk motorického kortexu mohla být při thalamické stimulaci v některých spinálních interneuronech indukována LTP (Keller A. et al., 1992).

Pokusíme-li se tyto výsledky přenést do klinické práce v neurorehabilitaci, vyplývá z nich, že k naučení nové motorické aktivity je nutné žádaný pohyb vykonávat opakovaně. Nová pohybová sekvence se nejdříve provádí pomalu a je velmi závislá na možnosti senzitivní zpětné vazby. V závislosti na době tréninku je možné nový pohyb vykonávat postupně stále rychleji, bez nutnosti senzitivní zpětné vazby ve smyslu senzomotorického seřazení. Pro průběh terapie postižených pacientů je důležité, aby v návaznosti na LTP indukci bylo dosaženo strukturálních synaptických změn a vytvoření nových synaptických spojů, které se experimentálně indukují jak repetitivní elektrickou stimulací, tak specifickými repetitivními formami tréninku (Black J.E. et al., 1990, Keller A. et al., 1992, Asanuma H. et Arrisian K., 1984). Z tohoto důvodu lze předpokládat, že pomocí repetitivního tréninku mohou i u lidí nastat nejen funkční změny synaptických spojů s možností zvýšení efektivity synaptického přenosu (LTP), ale také morfologické změny oslabených synapsí (Rioult-Pedotti M.S. et al., 2000).

#### **2.4.4. DIASCHÍZA**

Fenomén nazývaný diaschíza (diaschisis) byl poprvé popsán v roce 1905 Konstantinem Monakowem (von Monacow C., 1914). Pod tímto pojmem rozumíme ztrátu nebo změnu funkce, například v důsledku výpadku excitačního nebo inhibičního podnětu, v ohraničených oblastech mozku, která vzniká na základě léze jiné, ale anatomicky propojené oblasti. V rámci moderní neuroradiologické diagnostiky mohl být fenomén diaschízy prokázán zejména u ischemických iktů (art. cerebri media) při lézi kontralaterální hemisféry (Lagrze H.L. et al., 1987, Dobkin J.A. et al., 1989) a rovněž v kontralaterálním mozečku (Pappata S. et al., 1990). Diaschíza se v principu považuje za reverzibilní, pokud ale přetrvává delší dobu, může dojít také ke změnám struktury příslušné oblasti.

#### **2.4.5. „SPROUTING“**

Pod pojmem „sprouting“ rozumíme výrůstek, pučení zachovaných axonů a následnou obnovu synaptických kontaktů. Dosud se ale nepodařilo prokázat, zda funkční zlepšení po poškození senzomotorického kortexu probíhá pomocí „sproutingu“. Vycházíme z toho, že morfologické změny a funkční zlepšení probíhají paralelně. Často nacházíme „sprouting“ nejenom v souvislosti s funkčním zlepšením, ale také s nežádoucími procesy maladaptace, jakými jsou dispozice k epileptickým záchvatům nebo ke spasticitě (Boyeson M.G. et al., 1994).

#### **2.4.6. NEUROGENEZE**

Neurogeneze je tvorba nových neuronů v mozkové tkáni. V roce 1965 Altman a Das (Altman J. et Das G.D., 1965) publikovali práci, ve které díky inkorporaci značeného thymidinu objevili buněčnou proliferaci v dospělém mozku potkana v oblasti gyrus dentatus. V lidském mozku byla neurogeneze prokázána až v roce 1998 Eriksonem a spoluautory (Eriksson P.S. et al., 1998). Oblastí, ve které probíhá neurogeneze, je subgranulární zóna (SGZ) gyrus dentatus (GD) (Palmer T.D. et al., 2000, Dayer A.E. et al., 2003, Seri B. et al., 2004) a subventrikulární zóna (SVZ) (Arvidsson et al., 2001, Zhang R. et al., 2004). Neurogeneze vede k průběžnému nahrazování odumřelých neuronů a zvýšení plasticity dospělého mozku (van Praag H. et al., 2002). Důležitým spouštěcím mechanismem zvýšené neurogeneze je např. i hypoxie (Zhang R. et al., 2004).

## 2.5. PLASTICITA A REHABILITACE

Vedle výše uvedených neurobiologických mechanismů, sloužících k reorganizaci mozkových struktur, získávají podle současných vědeckých poznatků důležitou roli některé látky, jako jsou neuromodulátory a neurotropní faktory, které mohou podporovat procesy plasticity mozku.

Znalost procesů učení, které jsou podmínkou mechanismu mozkové plasticity, tvoří základy pro rehabilitaci pacientů s poškozením centrálního nervového systému; ta se zaměřuje v první řadě na znovuoobnovení ztracených funkcí nebo na naučení se novým strategiím kompenzace. Již pro přežití nervových buněk, které následkem poškození mozku utrpěly funkční poškození, je rozhodující jejich stupeň aktivity a závisí také na přísunu růstových faktorů, které mají neuroprotektivní účinek (Lippertová-Grünerová M., 2009).

Pozitivní vliv tréninku na plasticitu mozku se prokázal v rámci mnohých jak klinických, tak i experimentálních studií. Dobrým příkladem tohoto zjištění jsou studie motorického učení prováděné pomocí tréninku obratnosti (šikovnosti). Uvedené studie prokázaly změny specifických oblastí mozku i nárůst počtu synapsí (Asanuma H. et Arrisian K., 1984, Black J.E. et al., 1990, Keller A. et al., 1992, Remple M.S. et al., 2001). Trénink v rámci rehabilitace má tedy pozitivní vliv na plasticitu mozku a podporuje procesy učení a paměti (Trojan S. et al. 2005).

Velmi důležité je uvědomit si důležitost vzájemného propojení systémů motorických, senzitivních a senzoričtých. Somatosenzoričtá informace je nezbytná pro správné provedení pohybu a získávání motorických dovedností (Pavlidis C. et al., 1993, Pearson K., 2000). Asanuma et al. (Asanuma H. et al., 1968) a Asanuma a Arisian (Asanuma H. et Arisian K., 1984) prokázali, že motorické kortikální nervové buňky včetně výchozích buněk pyramidové dráhy přijímají z ohraničených oblastí povrchu těla a z vybraných skupin svalstva somestetické proprioceptivní informace, které jsou schopny modulovat výstup příslušného motorického neuronu. Proud impulsů k mozkové kůře a jeho působení na motorické kortikální neurony může být ovlivněno senzitivními aferentacemi na několika úrovních (Wiesendanger M., 1981, Wiesendanger M. et Miles I., 1982).

Kortikální plasticita může být podporována i dalšími mechanismy, např. transkraniální magnetickou stimulací (Transcranial magnetic stimulation – TMS). TMS je neinvazivní metoda, při které se provádí stimulace mozkové kůry elektrickými impulsy, které jsou

aplikovány jednotlivými pulsy nebo repetitivně v různých frekvencích. Vliv na mozkovou kůru může být jak excitační, tak inhibiční, podle zvolené frekvence (Hallett M., 2000, Maeda F. et al., 2002).

Kombinace TMS a repetitivního volního pohybu odlišného od pohybu provedeného po stimulaci vede k reorganizaci korové reprezentace pro danou část končetiny (nejčastěji se zkouší palec horní končetiny), která kóduje kinematický detail prováděného pohybu. TMS po tréninku pak již vyvolává pohyb, který byl trénován. Čas nutný k tomuto nácviku je u většiny jedinců 15 až 30 minut (Floel A. et Cohen L.G., 2006). Tato forma motorického učení může podporovat počáteční stádia získávání složitějších motorických dovedností, jako je například hra na klavír (Butefish C.M. et al., 2000, Pascual Leone A. et al., 1995). Kapacita motorického kortexu uchovávat krátkodobě pohybovou informaci navozenou motorickým tréninkem může být důležitá pro dlouhodobé procedurální učení, při kterém jsou důležitá basální ganglia (Graybiel A.M., 1995), mozeček (Pascual L.A. et al., 1993) a kortikální oblasti jako např. primární motorický kortex (Karni A. et al., 1995, Shadmehr R. et Mussa-Ivaldi F.A., 1994). Opakování pohybů posiluje určitá spojení v korových neuronálních sítích, která se oslabují při přerušení tréninku. Ukládání a opakování procedurálních informací v krátkodobé paměti analogicky s deklarativní pamětí může přispět i k lepšímu dlouhodobému zapamatování (Squire L.R., 1994, Nyberg L. et al., 1998).



### 3. NEUROREHABILITACE

Neurorehabilitace je multidisciplinární rehabilitační přístup k pacientům s neurologickou problematikou. Tito pacienti mají většinou nejen poškození somatické, zejména poškození motorického systému, ale i poruchy kognitivních funkcí včetně funkcí fatických, a poruchy psychické (Angerová Y. et al., 2010). Z toho vyplývá značná náročnost a nutnost koordinace rehabilitačních metod jednotlivých odborníků v multidisciplinárním rehabilitačním týmu, který je základem dlouhodobého rehabilitačního procesu, jehož cílem by mělo být zařazení člověka s postižením zpět do běžného života. Výsledný účinek neurorehabilitace – kvalita života pacienta – závisí nejen na kvalitě a intenzitě poskytované neurorehabilitace, ale zejména na včasnosti, se kterou se pacient k těmto terapeutickým metodám dostává. Čím dříve je zahájena multidisciplinární rehabilitace, tím lepší je prognóza výsledné kvality života pacienta (Schönle P.W., 1993, Mackay L.E. et al., 1992). Včasná neurorehabilitace začíná již na neurologickém nebo neurochirurgickém intenzivním oddělení (ARO, JIP), je integrovanou součástí terapie a doprovází pacienta již od akutní fáze onemocnění. Jejím cílem je podpora a rozvoj spontánního uzdravení, snížení raných a pozdních komplikací, intenzivní využití schopnosti regenerace a zbývající mozkové plasticity. Terapeutický program se orientuje v první řadě na stávající obtíže, s ohledem na možnost aktuální osobní zátěže (Lippertová-Grünerová M., 2005).

Vzhledem k postižení různých systémů by rehabilitace měla být prováděna multidisciplinárním týmem (lékaři, fyzioterapeuti, ergoterapeuti, zdravotní sestry, logoped, psycholog, protetik, speciální pedagog, sociální pracovník) a měla by být individuálně zaměřená. Důsledkem poruchy somatických, kognitivních a behaviorálních funkcí jsou různě závažné funkční poruchy, které ovlivňují soběstačnost v běžných denních činnostech (ADL – activities of daily living), jako jsou např. sebesycení, oblékání, osobní hygiena atd. Zhoršení soběstačnosti výrazným způsobem ovlivňuje možnost samostatného bydlení a zapojení do všech sociálních aktivit jedince.

Rehabilitace pacienta s velmi těžkým postižením je obvykle dlouhodobou záležitostí. Aby byly výsledky terapie co nejlepší, musí být léčba včasná, intenzivní, koordinovaná a pravidelná. K nejrychlejšímu zlepšování pacientů dochází v prvních dvou letech po postižení mozku (Lippertová-Grünerová M., 2005), ale někteří autoři popisují, že i po delším odstupu

od akutní fáze může být dosaženo úspěchu (Cope D.N. et al., 1991, Scherzer B.P., 1986). Vždy je důležitá dynamika funkčního zlepšování.

Stav pacienta se pravidelně sleduje jednotlivými odborníky pomocí různých objektivizačních funkčních metod (Faktorová M., 2003). Pokud všichni členové multidisciplinárního týmu zjistí, že stav pacienta je již dlouhou dobu stabilizován a od další terapie nelze očekávat žádné zlepšení, je nutné velmi podrobně určit funkční potenciál a vytvořit optimální podmínky pro jeho plné využití. U některých pacientů bude velkým úspěchem alespoň částečná soběstačnost v domácím prostředí, u dalších bude zvažována rekvalifikace, jiní se vrátí ke svému původnímu povolání. Propuštěním ze zdravotnického zařízení by rehabilitace pacienta rozhodně skončit neměla (Švestková O. et Angerová Y., 2010).

Pokud jsme již vyčerpali všechny možnosti léčebné a předpracovní rehabilitace, je nutné navázat na sociální rehabilitaci (na práci sociálního pracovníka v rehabilitačním týmu) a dle individuálních potřeb pacienta zajistit sociální služby a podpory. V tomto směru je třeba využít všech dostupných možností včetně činnosti různých neziskových organizací (občanských sdružení, nadací, obecně prospěšných společností), které se zabývají problematikou lidí po poškození mozku, vhodným způsobem doplňují chybějící služby a podpory a mohou u pacientů, kteří nejsou schopni zaměstnání, nebo u seniorů zajišťovat aktivity a náplň volného času. Při problému v oblasti zaměstnanosti je nezbytné, aby sociální pracovnice navázala spolupráci s pracovním úřadem, který bude vycházet ze závěru multidisciplinárního týmu, týkajícího se optimálních funkčních schopností pacienta a jeho možného zaměstnání, případně rekvalifikace nebo dalšího vzdělávání.

### **3.1. METODY A KONCEPTY POUŽÍVANÉ V REHABILITACI**

Ke své práci používají fyzioterapeuti a ergoterapeuti různých konceptů a metod, které vycházejí z neurofyziologického podkladu. Nejrozšířenějšími metodikami, jichž se využívá k reedukaci pohybových stereotypů a obnovení hybnosti u pacientů s centrálními parézami, jsou propioceptivní nervosvalová facilitace (PNF) neboli cvičení dle Kabata, koncept manželů Bobathových („neurodevelopmental treatment“) a Vojtův princip reflexní lokomoce (Pavlů D., 2002). Můžeme se setkat i s některými dalšími (Roodová, Pote, Brunstromová apod.), přehledně u nás zpracovanými docentkou Pavlů (Pavlů D., 2002). V literatuře existuje jen velmi malý počet studií, které by srovnávaly tradiční terapeutické školy (Lippertová-

Grünerová M., 2009). Doposud nebylo prokázáno, že by některá z popisovaných metod byla úspěšnější než ostatní (Ernst E., 1990, Hummelsheim M., 1996).

V našich podmínkách je nejčastěji používán „Bobath concept“ (BC), který se snažili manželé Bobathovi po celý život doplňovat podle vývoje neurověd (Bobath B., 1990). Po jejich smrti se tímto úkolem zabývá asociace IBITAH (International Bobath Instructors and Tutors Association of Adult Hemiplegy), založená v roce 1985. Podle IBITAH je BC vyšetřovací a terapeutický přístup orientovaný na řešení problémů u dospělých osob s poruchami CNS, které vedou k poruchám funkce. Terapie podle BC vede k optimalizaci funkce ve vlastním prostředí pacienta.

Cílem BC je facilitace normálních pohybových vzorů pomocí propioceptivního vzruchu a modifikace CNS pomocí prožitku z normálního pohybového vzoru (Bobath B., 1990). Nedostatkem této metody byl dlouhou dobu fakt, že pacient je pouze pasivním příjemcem; zanedbával se faktor prostředí. V posledních letech se prosazuje tzv. „task oriented“ model. Podle něj se učí pacient řešit problémy spojené s funkcí, učí se strategie, které umožní koordinovat výkonné a účelové chování. Základem modelu je přizpůsobit vše okolnostem vycházejícím z prostředí, ve kterém se pacient pohybuje. Hlavním cílem je regulace svalového tonu, inhibice patologických pohybových vzorců a zabránění asociovaným reakcím, navození a podpora fyziologických pohybových vzorců, vnímání a procítění pohybu, odbourání strachu, zohlednění postižené strany a trénink integrace oproti kompenzaci. Nejprve se pracovávají tzv. sekvence, selektivní pohyby. Dosažené dílčí pohybové schopnosti se potom skládají v ucelená funkční jednání.

Hlavní zásadou fyzioterapie je dodržování určitých kroků, které přesně kopírují vzorce pohybového vývoje z dětství. Například přetáčení se, sezení, stání nebo převalování, poloha na břiše, vzepření, sezení, chůze. Směr vývoje volního pohybu jde od proximálního k distálnímu, proto se obnovují nejprve pohyby horního trupu, ramen a dolního trupu a kyčelních kloubů. Pohyby jednotlivých končetin by měly být postupně nejprve pasivní, poté aktivní s dopomocí a nakonec aktivní. Během léčby je důležité používat verbálních podnětů. Povel by měly být krátké a snadno srozumitelné, měly by být přizpůsobeny úrovni fatických a kognitivních funkcí pacienta. Proto je velmi důležitá spolupráce s ostatními členy týmu, kteří podrobnou diagnostikou těchto funkcí pomáhají fyzioterapeutovi najít optimální přístup ke konkrétnímu pacientovi.

Využití těchto metod samozřejmě závisí na jednotlivých pracovištích. K nejrozšířenějším metodám v Evropě asi patří již zmíněný „Bobath concept“ a metoda dle

Affolterové. Švýcarská psychologka a logopedka Felicie Affolter vychází z toho, že u pacientů s poškozením mozku je výrazně omezeno vnímání a zpracování podnětů z okolí, což ztěžuje jejich interakci s okolím a následně jejich pohybové možnosti. Cílem této metody je zlepšení porušených schopností vnímání a zpracování sensorických informací z okolí za účelem usnadnit reedukaci postižených motorických funkcí (Affolter F. et Stricker E., 1980). Další velmi používanou metodou v oboru ergoterapie je metoda sensorické integrace – Ayres, která rovněž významně využívá při terapii taktilních podnětů (Ayres A.J. et Tickle L.S., 1980).

Úroveň kognitivních funkcí – čtení, psaní, počítání, smyslové vnímání, srozumitelnost řeči, vyjadřovací schopnosti, paměť, výbavnost z paměti, schopnost rozumět časoprostorovým pojmům – nejlépe hodnotí klinický psycholog, respektive neuropsycholog, eventuelně speciální pedagog. Na základě podrobného vyšetření určuje podrobný rehabilitační plán a dle potřeby se účastní i terapie. Cílem této terapie je co největší obnova kognitivních funkcí (Kulišťák P., 2006). Pokud nelze dosáhnout plné obnovy, je důležitá kompenzace poruch pomocí nově naučených strategií. Velmi důležitá je psychologická pomoc při vyrovnávání se se vzniklou situací, získání patřičného náhledu a realistické plánování v dalším životě.

Každý kognitivní trénink je individuální podle konkrétních obtíží jednotlivých pacientů. Měl by být prováděn raději častěji (2–3x denně) v kratších časových intervalech. Délka tréninku by měla být různá v různých obdobích po příhodě. Zpočátku může být pacient schopný spolupracovat jen několik minut několikrát denně, postupně se může interval podle vývoje stavu prodlužovat až na cca 60 minutové sezení.

Zatímco terapeutické koncepty fyzioterapie a ergoterapie jsou velmi dobře propracované a praxí prověřené, rehabilitace kognitivních funkcí se široce rozvíjí až v posledních 15–20 letech (Ciceron K.D., 2007) a stále probíhá hodnocení jednotlivých konceptů a programů. Až na některé výjimky tyto programy stále čekají na vědecké zhodnocení své účinnosti a prověření v praxi v různých typech zdravotnických a sociálních zařízeních stejně tak jako v různých zemích (Sohlberg M.M. et al., 2000, Wilson B.A. et al., 2001, Wilson B.A. et al., 2003).

### **3.2. VLASTNÍ ZKUŠENOSTI S PROGRAMEM PRO REHABILITACI PACIENTŮ PO POŠKOZENÍ MOZKU**

Na Klinice rehabilitačního lékařství probíhá od roku 1999 Denní stacionář pro pacienty po poškození mozku, který zahrnuje každodenní rehabilitaci multidisciplinárním rehabilitačním týmem. Kromě individuálních aktivit (fyzioterapie, ergoterapie, logopedie, kognitivní trénink) se pacienti účastní i skupinových terapií (muzikoterapie, arteterapie, taneční a pohybová terapie). Tohoto programu se zúčastnilo celkem 382 pacientů po poškození mozku. Funkční hodnocení jejich stavu prošlo v průběhu těchto let značným vývojem. Nakonec se jako nejvíce vypovídající vyšetření soběstačnosti ukázal test FIM – Functional independence measure (Hamilton B.B. et al., 1991), který bude podrobněji popsán v kapitole Metodika.

Mezi sledovanými pacienty patřili k velmi obtížně řešitelným případům, mimo pacienty po traumatickém poškození mozku, zejména pacienti po difusním hypoxickém postižení. Tito pacienti byli velmi obtížně začlenitelní do běžného života, přestože jejich poruchy motorické či fatické nepatřily k těm nejtěžším. Podle údajů uváděných v literatuře se v průběhu rehabilitačního procesu zmínění pacienti zlepšují nejméně (Zwecker-Lazar I. et al., 2003). Právě tyto výsledky měly největší vliv na výběr skupiny, která byla později podrobněji sledována.

### **3.3. REHABILITACE, FYZIOTERAPIE – OBOHACENÉ PROSTŘEDÍ (ENVIRONMENTAL ENRICHMENT – EE)**

Jedním z modelů, který je často využíván v experimentech u potkanů k simulaci multidisciplinární rehabilitace, je model obohaceného prostředí (EE).

Jako obohacené prostředí se označují takové experimentální podmínky, kdy skupina zvířat žije ve větších klecích vybavených různými houpačkami, prolézačkami, běhátky, plošinami a jinými prostředky, které zlepšují sociální interakce, podporují učení, zlepšují paměť a senzickou i motorickou stimulaci. EE je používáno k posuzování vlivu této stimulace na chování zvířat a ovlivňování různých struktur mozku (Krech D. et al., 1960, Rosenzweig M.R. et al., 1962, van Praag H. et al., 2000). Obohacené prostředí je považováno pro laboratorní hlodavce za korelát rehabilitace (Pereira L.O. et al., 2008). V průběhu laboratorních výzkumů bylo prokázáno, že EE má vliv na zvyšování hmotnosti mozku, objem kůry, dendritické větvení, synaptogenesi a přežívání neuronů (Benett E.I. et al., 1969,

Kempermann G. et al., 1997, Belayev A. et al., 2003). Rovněž se ukázalo, že obohacené prostředí snižuje apoptosu nervových prekursorových buněk DG hipokampu. Potkani umístění do tohoto prostředí na 30 dnů mají signifikantně vyšší hladiny mRNA nervového růstového faktoru ve zrakové kůře a hipokampu než ti, kteří byli chováni ve standardních podmínkách (Torasdotter M. et al., 1998). Potkani chováni 11 dnů v EE po těžkém traumatu mozku měli lepší výsledky v Morrisově vodním bludišti a došlo u nich i ke snížení objemu kontusního ložiska.

Jak již bylo popsáno v kapitole 2.4.6., mohou nové neurony vznikat ve dvou oblastech dospělého mozku, a sice v subgranulární zóně gyrus dentatus a v zóně subventrikulární. Tento proces není automatický a může být výrazně ovlivněn vnějším prostředím. Řada prací prokázala pozitivní vliv obohaceného prostředí na neurogenезi v hipokampu dospělých zvířat (Kempermann G. et al., 1997). Dokonce i pozdější aplikace EE může mít vliv na zlepšení prostorové paměti a učení (Lippert-Grüner M. et al., 2007a).

Obohacené prostředí zvyšuje počet nových neuronů, residuální neurogenезi a ve spojení s aktivním cvičením (VE – „voluntary exercise“) může mít výrazný vliv na zlepšení výkonnosti zvířat. EE zvyšuje přežívání nových buněk, zatímco VE zvyšuje stupeň proliferace progenitorových buněk. Pokud srovnáváme vliv EE, VE a tréninku, najdeme publikace, které uvádějí, že největší účinek má EE (Olson A.K. et al., 2006). Většina dosud zveřejněných studií prokázala, že zlepšení funkčních obtíží nastává v důsledku motorického učení, ale nikoliv při pouhém provádění intenzivních motorických cviků (Lippertová-Grünerová M., 2009).

Popsaný vliv EE působí nejen na funkční úroveň motoriky a kognitivních funkcí, ale i na neuroanatomické a neurofyziologické procesy, které jsou jejím podkladem (Johansson B.B. et Belichenko P.V., 2002). Funkční zlepšení je využíváno při studiu možnosti ovlivnění řady patologických procesů např. globální a fokální cerebrální ischemie, hypobarické hypoxie, traumatického poranění mozku, poškození mozku vyvolaného různými látkami. V posledních letech se začínají objevovat i práce, které dále obohacují a rozvíjejí možnosti využití EE v popisu efektivnosti rehabilitace. Biernaský, který zavádí v literatuře pojem „enriched rehabilitation“, v roce 2004 prokázal, že po ischemické lézi mozku se díky motorickému výcviku v obohaceném prostředí zlepšuje funkční stav (Biernaskie J. et al., 2004). Poukazuje však i na nezbytnou roli časového faktoru při zahájení rehabilitace. Biernaský pracoval se skupinou potkanů po fokální cerebrální ischemii, kteří měli 5 týdnů rehabilitace v EE. Jedna skupina začala s rehabilitací 5 dnů po příhodě (ER5), další 14 dnů

(ER14) a poslední skupina 30 dnů (ER30). Nejlepších funkčních výsledků dosahovala skupina ER5, která začala s rehabilitací nejdříve. Menší úspěch měla rehabilitace ve skupině ER14 a ve skupině ER30 již nebyl žádný rozdíl ve funkci, oproti zvířatům chovaných v běžných laboratorních podmínkách. Tyto funkční výsledky byly doloženy i morfologickým sledováním oblastí nepostižených ischemií, protože předchozí práce (Biernaskie J. et Corbett D., 2001) v nich prokázala výraznější růst dendritů. U skupiny s nejčasnějším započatím rehabilitace bylo výrazně bohatší a komplexnější dendritické větvení v V. korové vrstvě ve srovnání se standardní skupinou. Dendritické větvení ve skupině ER14 bylo sice zvětšené, ale nelišilo se od kontrolní skupiny stejně jako skupina ER30. Tato práce jasně potvrzuje klinicky sledovaný fakt, že s rehabilitací je nutné začít co nejdříve po vzniku obtíží.

Po působení hypoxie na novorozené potkany dochází k řadě kognitivních poruch – je porušeno rozpoznávání nových objektů, prostorová paměť ve vodním bludišti, schopnost učení (Kumral A. et al., 2004, Mc Clure M.M. et al., 2007). Pereira prokázal, že hypoxie v novorozeneckém věku vede k poruše rozpoznávání objektů (Pereira L.O. et al., 2009). Morfologicky bylo prokázáno, že se snižuje objem hipokampu a striata u obou pohlaví potkanů. V hipokampu bylo prokázáno nejen snížení jeho hmotnosti a zmenšení objemu, ale i nižší hustota neuronů v oblasti CA1 (Rodriquez A.L. et al., 2004). Vliv EE může být ještě potencován farmakologickou podporou obnovy nervových funkcí.

### **3.4. LÁTKOVÉ OVLIVNĚNÍ PLASTICITY MOZKU**

Důležitým mezníkem v historii názorů na možnosti ovlivnění neuroplasticity je objev růstových a neurotrofních faktorů – neurotrofinů v polovině 20. století. Neurotrofiny jsou proteiny, které regulují přežití, proliferaci a diferenciaci neuronů, růst axonů, neurotransmisí a synaptické děje nejen v období vývoje, ale i v dospělosti. Působí v centrálním i periferním nervovém systému na receptory, některé mohou mít zároveň imunomodulační účinky.

Rita Levi-Montalcini popsala historii vývoje nervového růstového faktoru (NGF) v kontextu s objevy prováděnými Viktorem Hamburgerem a jeho žákem Elmerem Buckerem a předpověděla další možnosti využití neurotrofinů v budoucnosti (Levi-Montalcini R., 1987). Na periferním nervovém systému bylo popsáno, že neurotrofiny jsou produkovány v cílových oblastech a jsou retrográdně transportovány v axonech zdravých neuronů k plasmatu buňky (Levi-Montalcini, R., 1976). V oblasti centrálního nervového systému je však situace složitější. Po ischemii nastává v mozku produkce mozkového neurotrofního faktoru (BDNF –

brain derived neurotrophic factor), který působí na zvýšení neurogeneze a ovlivňuje putování progenitorových buněk do míst poranění zejména v neokortexu a subventrikulární zóně. Jeho největší produkce je však v gyrus dentatus v hipokampu, kde zvyšuje množství nově vytvořených granulárních buněk a podílí se na jejich diferenciaci (Schabitz W.R. et al., 2007). Zvýšené množství buněk ovlivněné BDNF však není zřejmě způsobeno jejich zvýšenou tvorbou, ale tím, že neurotrofní faktor zvyšuje jejich přežívání (Choi S.H. et al., 2009). Postupně byly zjišťovány další a další růstové faktory uplatňující se v signalizačních drahách např. epidermální růstový faktor (EGF – epidermal growth factor), faktor stimulující kolonie granulocytů (G-CSF – granulocyte colony stimulating factor), neurotrofní faktor produkovaný gliální buněčnou linií (GDNF – glial cell line-derived neurotrophic factor) a další.

V souvislosti s možností ovlivnit poškození mozku zůstávají v poslední době v popředí zájmu zejména tyto látky – erythropoetin (EPO), karbamoylovaná forma EPO – (CEPO) a darbepoetin (darbEPO). CEPO a darbEPO by měly ovlivnit eventuální nežádoucí účinky EPO, a to zvýšením hematokritu v důsledku stimulace červené krevní řady.

Až dosud se pozornost upírala zejména na neuroprotektivní působení, ale ukazuje se, že důležitá je i podpora neurogeneze, např. v subgranulární zóně gyrus dentatus. Nově vzniklé neurony jsou schopné projikovat axony do oblasti CA3 hipokampu u potkanů (Xiong Y. et al., 2009). Obdobný účinek (podporu neurogeneze) mají i další látky, a to S100B, statiny a oxid dusnatý. Spolu s neurogenézí je po poškození mozku důležitá i remodelace, která zahrnuje angiogenezi, „sprouting“ a synaptogenezi. Strategie, které využívají k remodelaci, jsou označovány jako obnovení funkce nervové tkáně („neurorestoration“).

Látky, které mohou mít jak neuroprotektivní účinky, tak vyvolávat obnovení funkce nervové tkáně, jsou následující:

### **3.4.1. ERYTHROPOETIN (EPO)**

V roce 1906 Carnot a Deflandre zjistili, že humorální faktor reguluje produkci červené krevní řady (Carnot P. et Deflandre C., 1906). Teprve později byl tento faktor nazván erythropoetin a jeho účinky a historii objevů podrobně popsal až Fischer v roce 2003 (Fischer J.W., 2003). Zvýšení hladiny EPO stimuluje erythropoesu v kostní dřeni a vede ke zlepšení zásobení kyslíkem. Gen kódující EPO byl prvním genem, díky kterému byl identifikován hypoxií indukovatelný transkripční faktor (hypoxia inducible factor – HIF-1) a dosud je



jedním z nejlépe charakterizovaných genů, které jsou aktivovány snížením množství kyslíku (Wenger R.H., 2002). V roce 1995 byla detekována mRNA jak pro EPO, tak pro EPOR v mozku myši (Digicaylioglu M. et al., 1995).

Diskrepance mezi zásobením a spotřebou kyslíku navozuje řadu specifických adaptačních mechanismů na buněčné, lokální a systémové úrovni. Tyto mechanismy jsou částečně ovládnuty aktivací hypoxií navozenými transkripčními faktory (HIF-1 a HIF-2), které modulují expresi hypoxií regulovaných genů, např. těch, které dekodují vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) a erythropoetin (EPO).

EPO je glykoprotein, který je produkován hlavně intersticiálními fibroblasty ledvin dospělých jedinců a hepatocyty fétů. EPO uvolněný do systémové cirkulace reguluje v kostní dřeni vývoj červené krevní řady tím, že zabraňuje apoptose erythroidních progenitorových buněk. Ukázalo se však, že EPO funguje jako růstový faktor pro řadu jiných systémů a má i velmi důležitou úlohu v nervovém systému (Marti H.H., 2004). EPO a jeho receptory EPOR mají v CNS gliové buňky, neurony i endotelové buňky. Hypoxie a ischemie jsou velmi důležité pro expresi EPO v CNS. EPO má řadu neuroprotektivních vlastností in vivo i in vitro a ovlivňuje neuromodulaci jednak tím, že zabraňuje poškození neuronů při hypoxii a jednak stimuluje endotelové buňky, a tím podporuje angiogenesi (VEGF) v nervovém systému.

Lidský EPO gen („single-copy“ gen) je umístěn na chromosomu 7, skládá se z pěti exonů a čtyř intronů. Výsledný protein je peptid se 165 aminokyselinami s molekulovou hmotností 30 kDa. Hormon je produkován zejména peritubulárními fibroblasty v dospělých ledvinách a hepatocyty ve fetálních játrech. EPO mRNA však byla zjištěna i v plicích, varlatech a mozku. Nebyla však zjištěna ve svalech, střevech nebo kostní dřeni krys (Tan C.C. et al., 1992).

Po více než 60 letech skupina rumunských vědců prokázala na výzkumech psů a potkanů, že EPO může být produkován v mozku samotném (Baciu I. et al., 2000). Role EPO v CNS však byla definitivně popsána až v souvislosti s pracemi Brinese, který jako první prokázal, že EPO přestupuje hematoencefalickou bariéru (Brines M.L. et al., 2000). Brines rovněž prokázal, že receptor, který podporuje ochranu tkání, je heteromer složený ze dvou EPOR monomerů a dvou molekul CD131 nebo beta společného receptoru (Brines M.L. et al., 2004). Tento receptorový komplex je aktivován pouze tehdy, pokud dojde k hypoxickému poškození mozku, má k EPO nižší afinitu, ale k jeho aktivaci je možná jen krátká expozice EPO (Brines M.L. et Cerami A., 2008). Na rozdíl od něj je běžná exprese EPOR2

v hematopoetických buňkách, která vyžaduje stálé hladiny EPO k podpoře erythropoesy (Cherian L. et al., 2007).

Již koncem 90. let bylo zjištěno, že přímá aplikace – intracerebrální injekce rekombinantního lidského EPO (r-hu-EPO – recombinant human erythropoietin) bezprostředně po hypoxicko-ischemické zátěži vede k významné ochraně mozkové tkáně před hypoxií (Brines M.L. et al., 2008). Pokud se aplikovaly současně i receptory pro EPO (EPOR), došlo k neutralizaci EPO a pozitivní ochranný efekt se neobjevil. Podobně jako hypoxie mohou být spouštěcím mechanismem pro produkci EPO i metabolické změny, hypoglykemie, depolarizace neuronů.

Aplikace přímo do mozkové tkáně však v klinické praxi není příliš praktická a průchod hematoencefalickou bariérou se vzhledem k velikosti molekuly příliš nepředpokládal. Brines se spolupracovníky však svými pokusy prokázal, že EPO je specificky přenášen prostřednictvím kapilárních endotelových buněk (Brines M.L. et al., 2008). Tuto situaci prokázal u okluse arteria cerebri media (MCA) u dospělých 250g potkanů Sprague-Dawley, kdy prováděli v pentobarbitalové anestezii podvaz MCA a současně hodinovou oklusi kontralaterální arteria cerebri media. Před započítím pokusu opakovaně ověřovali vznik hypoxického ložiska. Dále zjišťovali průchod hematoencefalickou bariérou při traumatu mozku pneumatickou pistolí, při experimentálně navozené encefalitidě a rovněž u kainátem navozených epileptických záchvatů.

S využitím specifických polyklonálních protilátek prokázali Brines s kolegy přítomnost EPO a EPOR ve frontálním kortexu a hipokampu, při větším zvětšení to bylo zejména v zakončeních astrocytů v kapilárách. EPOR byly zjištěny zejména uvnitř nebo na povrchu kapilárních endoteliálních buněk. Toto bylo považováno za anatomický podklad prostupu hematoencefalickou bariérou. K průkazu této hypotézy byl zvířatům intraperitoneálně aplikován označený r-hu-EPO a vizualizován na řezech v intervalech 5 hodin a 17 hodin po aplikaci (tyto intervaly byly vybrány s ohledem na dynamiku hladiny aplikované látky v séru). Terapeutickým „oknem“ bylo určeno 6 hodin (Brines M.L. et al., 2008).

Neuroprotektivní působení EPO je spojeno s antiapoptosou, neuroregenerací a protizánětlivým účinkem (Sola A. et al., 2005b). Biologické působení EPO zprostředkované přes EPOR je spojeno přinejmenším se třemi různými cestami. Když se EPO naváže na receptory EPOR, způsobí dimerizaci receptoru, autofosforylaci Janus-tyrosin-kinasy 2 (JAK-2) a aktivaci receptoru. Aktivace JAK-2 vede k fosforylaci různých signálních cest jako

fosfatidylinositol 3-kinasy (PI3K). PI3K potom aktivuje v-akt homolog murinového thymomového virového onkogenu (Akt) a/nebo signální přenašeč a aktivátor transkripce (STAT) 5 a/nebo nukleární faktor (NF)- $\kappa$ B (Sola A. et al., 2005a, Zhang F. et al. 2007). Není dosud jasné, která z těchto cest je buňkou určována. Roli ale jistě hraje i to, o jaký typ buňky se jedná, jaký je její metabolický stav a jaké má k dispozici receptory (Osredkar D. et al., 2010). Tyto cesty jsou pro terapeutickou účinnost EPO zcela zásadní, protože specifické inhibitory PI3K široce zabraňují zvýšení přežívání neuronů při hypoxii. EPO aktivuje PI3K/Akt a extracelulární – signálem regulovanou kinasu (ERK1/2) a podporuje migraci nervových progenitorových buněk v kultivovaných myších mozkových endoteliálních buňkách (Xiong Y. et al., 2009).

Systémová injekce jedné dávky rh-huEPO přechodně zvyšuje neurogenezi v dospělém hipokampu bez dlouhodobého efektu u zdravých myší. Ale podání rh-huEPO na 14 dnů signifikantně zvyšuje počet BrdU značených buněk jak v kontralaterálním, tak ipsilaterálním gyrus dentatus po traumatickém poškození mozku (traumatic brain injury – TBI) a podporuje zlepšení prostorové paměti. Rh-huEPO signifikantně zvyšuje procento nově generovaných buněk, které se diferencují na vyzrálé neurony v granulórní vrstvě kontralaterálního i ipsilaterálního gyrus dentatus. Po aplikaci EPO nebo CEPO byla rovněž prokázána přítomnost neurotropního faktoru BDNF a zlepšení prostorového učení (Xiong Y. et al., 2009).

V posledních letech se kromě vlastního erythropoetinu zjišťují i účinky různých derivátů, které rovněž aktivují erythropoetinový receptor (Leist M. et al., 2004). Jedním z nich je například erythropoetinový glykoprotein darbepoetin alfa (darbEpo), (Cherian L. et al., 2011). Přestože tyto alternativní látky jsou méně nebo vůbec neschopné vazby na EPOR, neuroprotektivní působení je zachováno (Coleman T.R. et al., 2006, Wang I. et al., 2007). Z toho vyplývá, že mechanismus vazby na EPOR nebude tak rozhodující, jak se doposud předpokládalo, a je možné uvažovat i o další alternativě – podjednotce beta receptoru (C beta R), která je komponentou IL-3, IL-5 a faktoru stimulujícího kolonie granulocytů/makrofágů, jak navrhoval Brines v roce 2004 (Osredkar D. et al., 2010).

Mnoho experimentálních studií prokazuje redukci mozkového postižení v různých modelech poškození mozku po aplikaci EPO (Kumral A. et al., 2003, Yatsiv Y. et al., 2005, Zhang F. et al., 2006, Cherian L. et al., 2007, Grasso G. et al., 2007, Xiong Y. et al., 2008, Zhang Y. et al., 2009, Zhu L. et al., 2009). EPO má rovněž ochranný vliv na různé systémové poškození po traumatech mozku včetně poškození plic, myokardu a střev (Emir M. et al.,

2004, Yildirim E. et al., 2005, Zhu L. et al., 2009). Z experimentálních prací vyplývá, že terapeutický účinek EPO na morfologické a funkční změny je zcela nezávislý na hematokritu (Zhang Y. et al., 2009, Xiong Y. et al., 2010).

#### **3.4.2. STATINY**

Statiny zlepšují endotheliální funkce, inhibují zánětlivou odpověď, zvyšují regulaci endotheliální synthasy oxidu dusnatého (e NOS), snižují aktivaci destiček, regulují angiogenezi, neurogenezi a synaptogenezi. Atrovastatin podaný po poškození mozku výrazně snižuje výsledný deficit neurologických funkcí, zvyšuje synaptogenezi v hraniční zóně léze a v oblasti CA3 hipokampu, zvyšuje angiogenezi (Lu D. et al., 2004).

Statiny pomáhají zlepšovat prostorovou paměť u zvířat po TBI. Významná by mohla být i kombinace statinů a kmenových buněk po TBI (Lee O.K.S. et al., 2004).

#### **3.4.3. OXID DUSNATÝ (NO)**

Oxid dusnatý aktivuje guanylylcyklasu, která vede k tvorbě cyklického GMP (cGMP). Jako druhý posel cGMP ovlivňuje různé buněčné pochody včetně regulace buněčné proliferace. Tak může být ovlivněna i neurogeneze a funkční obnova nervové tkáně (Chen J. et Chopp M., 2006) V CNS je NO důležitým poslem v modulaci senzomotorických funkcí, regionálním mozkovým průtokem, formaci synapsí, neuroendokrinní sekrece, paměťových stop. Vlastní mechanismus účinku v neurogenezi však dosud nebyl odhalen (Xiong Y. et al., 2009).

#### **3.4.4. S100B**

S100B je protein, který patří do rodiny nízkomolekulárních proteinů vážících kalcium (Heizmann C.W. et al., 2002). Primárně je produkován buňkami glie, působí jako neurotropní faktor (Wunderlich M.T. et al., 2004). Naopak zvýšená produkce může vést k exacerbaci zánětlivé reakce a neuronální dysfunkce. S100B je uvolňován po poškození mozku a sérové hladiny pozitivně korelují se stupněm poškození CNS. Čím vyšší je hladina S100B, tím závažnější jsou důsledky poškození pro organismus (Gonzalves C.A. et al., 2008).

## 4. HYPOTÉZA A CÍL PRÁCE

Na základě analýzy publikovaných výzkumů a předběžných pozorování byla stanovena tato **základní hypotéza**: Mechanismy neuroplasticity lze aktivovat experimentálními i terapeutickými prostředky.

**Hlavním cílem** práce je prokázat, že kombinace terapie a farmakologického ovlivnění vede u subjektů vystavených difusnímu hypoxickému poškození ke zlepšení výsledného funkčního stavu.

Protože práce má dvě části – klinickou a experimentální, jsou hypotézy i cíle přesněji formulovány pro každou část zvlášť.

**Hypotéza – klinická část**: Multidisciplinární neurorehabilitace pacientů po difusním ischemicko-hypoxickém poškození mozku zlepšuje funkční stav pacientů tím více, čím dříve je prováděna.

**Cíl – klinická část**: Zjistit, jakou roli hraje časový faktor při multidisciplinární neurorehabilitaci v procesu neuroplasticity u pacientů s difusním ischemicko-hypoxickým poškozením mozku.

**Hypotéza – experimentální část**: Pobyt v obohaceném prostředí a farmakologická podporalepší kognitivní funkce u potkanů vystavených globální hypoxii.

**Cíl – experimentální část**: Zjistit, zda kombinace pobytu v obohaceném prostředí a terapie erythropoetinemlepší kognitivní funkce potkanů vystavených hypobarické hypoxii.

## 5. METODIKA

### 5.1. METODIKA – KLINICKÁ ČÁST

#### 5.1.1. CHARAKTERISTIKA SOUBORU

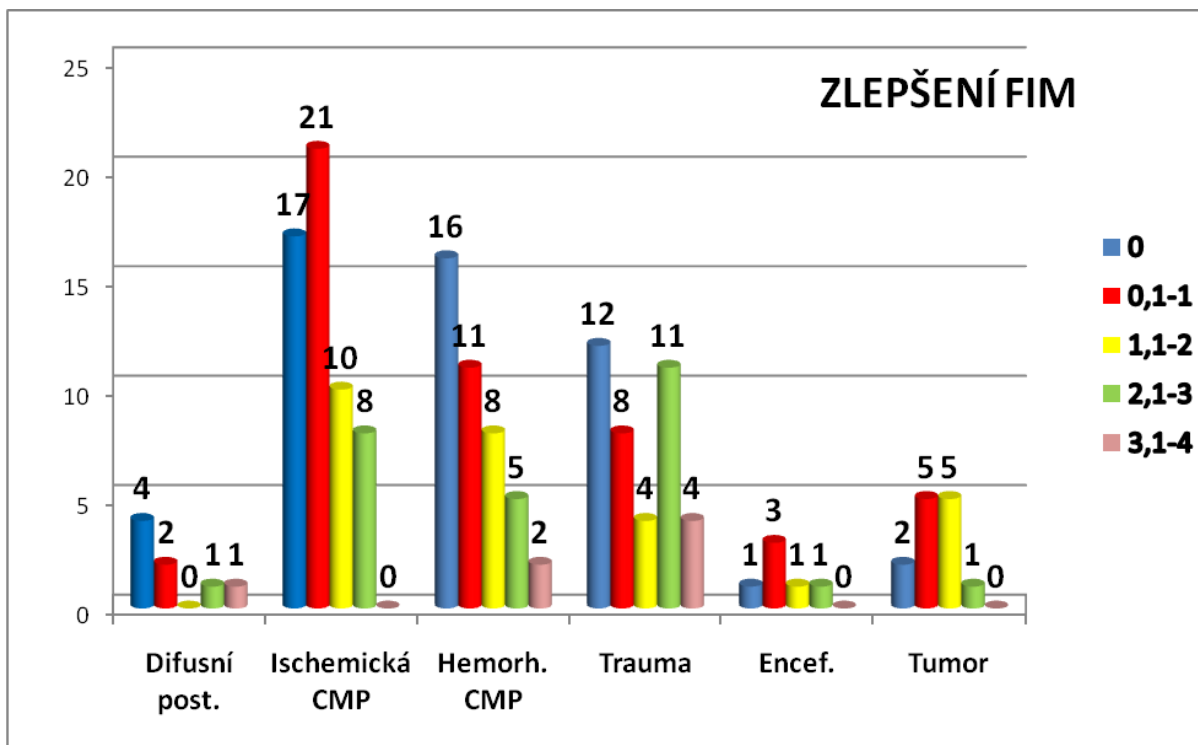
V klinické části byli sledováni pacienti, kteří prošli programem „Denního stacionáře“ (DS) pro pacienty po poškození mozku na KRL. Na základě analýzy výsledků testu „Funkční míra nezávislosti“ (Functional Independence Measure – FIM), který je standardizovaným hodnocením disability a byl vytvořen v roce 1986 v USA (Hamilton B.B. et al., 1991), bylo v letech 2005–2010 vyšetřeno 164 pacientů (98 mužů a 66 žen).

Schopnosti pacienta jsou v tomto testu dokumentovány v oblastech běžných denních činností, mobility, komunikace a kognice a jsou bodovány podle schématu v příloze č. 1. Čím lépe pacient danou činnost zvládá, tím vyšší má hodnocení. Výsledný počet bodů získaných v jednotlivých položkách se vydělí počtem položek a získané číslo 1–7 stanovuje míru závislosti a požadovanou asistenci druhé osoby. Úroveň 1 a 2 znamená úplnou závislost na druhé osobě, úroveň 3–5 znamená modifikovanou závislost, která vyžaduje větší či menší asistenci (nižší úroveň vyžaduje větší asistenci, vyšší úroveň asistenci menší). Úroveň 6 a 7 již nevyžaduje asistenci druhé osoby. Hodnocení bylo prováděno za standardizovaných podmínek.

Pacienti byli vyšetřeni na začátku a na konci programu, který trval šest týdnů. Bodové zlepšení pacientů bylo rozděleno do několika pásem podle toho, o kolik bodů se zlepšili. V tabulce 1 jsou uvedena tato pásma s počty pacientů podle jednotlivých diagnóz. Čísla z tabulky jsou použita v obrázku 1.

**Tab. 1.** Rozdělení pacientů podle zlepšení v testu FIM na začátku a na konci programu Denního stacionáře KRL. CMP – cévní mozková příhoda, Hemorag. (hemorhagická), Encef. (encefalitida).

Zlepšení FIM	Difusní postížení	Ischemická CMP	Hemorag. CMP	Trauma	Encef.	Tumor	Celkem
0	4	17	16	12	1	2	52
0,1-1	2	21	11	8	3	5	50
1,1-2	0	10	8	4	1	5	28
2,1-3	1	8	5	11	1	1	27
3,1-4	1	0	2	4	0	0	7
<b>Celkem pacientů</b>	<b>8</b>	<b>56</b>	<b>42</b>	<b>39</b>	<b>6</b>	<b>13</b>	<b>164</b>



**Obr. 1.** Rozdělení pacientů podle diagnóz a podle zlepšení v testu FIM. Diagnózy: difusní post. (difusní postižení), CMP (cévní mozková příhoda), hemorrh. (hemorhagická), encef. (encefalitida).

Z obrázku 1 je patrné, že nejvyšší procento absolutně nezlepšených pacientů je u difusního ischemicko-hypoxického postižení. Právě tento fakt byl pravým důvodem k podrobnějšímu sledování této specifické skupiny. Kritériem pro zařazení do ní byla diagnóza difusního hypoxicko-ischemického postižení, věk nad 18 let a program kognitivní rehabilitace nejméně 6 měsíců.

Do souboru bylo zařazeno 24 pacientů, 9 žen (37,5 %) a 15 mužů (62,5 %) s hypoxicko-ischemickým poškozením mozku. Dvacet pacientů mělo kardiopulmonální resuscitaci pro komorovou fibrilaci vzniklou při akutním infarktu myokardu nebo idiopaticky. U čtyř ostatních pacientů byla příčina odlišná, jednalo se o dvě strangulace a dvě tonutí. Rovněž oni podstoupili kardiopulmonální resuscitaci. V rámci souboru byli 4 vysokoškoláci, 15 středoškoláků a 5 vyučených pacientů.

Ke sledování vlivu rehabilitace na vývoj funkčního stavu byly použity tyto standardizované testy:

- a) Test FIM (viz příloha 1),
- b) Meiliho test krátkodobé vizuální paměti (Meilli R., 1955).

V průběhu vyšetření tímto testem klinický psycholog ukazuje pacientovi 30 obrázků po dobu dvou minut. Následně si má pacient během čtyř minut vybavit, které obrázky viděl. 13 až 15 bezchybně zapamatovaných obrázků je hodnoceno jako průměr, nižší počet správných odpovědí svědčí o podprůměru. Méně než 10 správných odpovědí je již považováno za výrazné poškození krátkodobé paměti.

Kromě krátkodobé paměti byla sledována i paměť dlouhodobá, která byla zkoušena pouze cílenými dotazy na standardní situace a události z minulosti pacienta (např. školní docházka, důležité rodinné události atd.). Dále byly zjišťovány anamnestické údaje – věk, pohlaví, vzdělání, datum začátku onemocnění, doba, která uplynula od vzniku onemocnění do přijetí na naši kliniku, diagnóza, objektivní nález, zobrazovací vyšetření, délka resuscitace, délka bezvědomí, přítomnost vegetativního stavu, nálezy zobrazovacích metod, přítomnost motorických poruch, fatických poruch, doba od počátku onemocnění k přijetí na rehabilitaci.

Program spočíval v pravidelných ambulantních terapiích na KRL 2x týdně po dobu jednoho měsíce, potom již 1x týdně po 2 měsíce a dále 1x za 14 dnů po 3 měsíce. Terapie byly zaměřeny na trénink kognitivních a fatických funkcí (trénink paměti, pozornosti, orientace, reedukace řečových funkcí), reedukaci pohybových stereotypů, zlepšení a nácvik sociálních interakcí. Byly používány verbální i nonverbální terapeutické techniky a běžné fyzioterapeutické koncepty podle předem stanoveného individuálního plánu. V mezidobí plnili pacienti domácí úkoly, které dostávali od terapeutů. Plnění úkolů bylo kontrolováno terapeuty a rodinnými příslušníky, kteří docházeli do programu spolu s pacienty. Úkoly byly zadávány na základě individuálních obtíží, které byly verifikovány vstupním neuropsychologickým, logopedickým, ergoterapeutickým a fyzioterapeutickým vyšetřením a zejména vyšetřením soběstačnosti testem FIM.



### 5.1.2. HODNOCENÍ

Výsledky byly statisticky zpracovány a byla zjišťována závislost jednotlivých sledovaných parametrů na ovlivnění výsledků rehabilitace. Pro srovnávání dvou skupin pacientů (příčiny kardiální a ostatní) byl použit Kruskal-Wallisův test kvantitativních parametrů a Mann-Whitneyův test. Pro závislost mezi kvalitativními parametry (diagnóza a ostatní kvalitativní parametry) byl proveden  $\chi^2$  (chí kvadrát), v případě malých četností byl použit Fischerův test. Wilcoxonovým testem pro dva závislé výběry bylo otestováno, zda se liší hodnoty Meiliho testu a testu FIM před rehabilitací a po ní. Parametry před a po rehabilitaci byly měřeny McNamarovým testem kvalitativních parametrů. Dále byl použit Spearmanův neparametrický koeficient korelace mezi kvantitativními parametry.

Pacienti přicházejí na KRL na základě doporučení různých odborníků (lékařů nemocničních, ambulantních specialistů, praktických lékařů, eventuálně na základě žádosti samotné rodiny či některých terapeutů), proto přicházejí i s různou úrovní dokumentace z minulosti. Bohužel se u některých pacientů nepodařilo dohledat například vyšetření zobrazovacích metod a oni sami následné vyšetření odmítli.

## 5.2. METODIKA – EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 5.2.1. POKUSNÁ ZVÍŘATA

Studie byla prováděna v souladu se „Směrnicí o chovu a využití laboratorních zvířat 1. LF UK“ a s „Centrální komisí Univerzity Karlovy pro ochranu zvířat“.

Zkoumáno bylo 61 potkanů – samců kmene Wistar albino z vlastního chovu Fyziologického ústavu 1. LF UK ve věku tři měsíce při začátku pokusu. Hmotnost zvířat na začátku pokusu se pohybovala mezi 400 až 500 gramy. Zvířata byla chována v místnosti se stálou teplotou mezi 20 a 23°C, byl zachováván 12 hodinový rytmus světla a tmy. Komerčně vyráběnou potravu pro potkany a vodu měla zvířata k dispozici *ad libitum*. Jedenkrát týdně byl prováděn úklid klecí, zvířata a jiné předměty byly vyjmuty z klecí. Testování probíhalo pravidelně v intervalu 10.00 až 14.00 hodin. Před začátkem pokusu byla zvířata randomizována a rozdělena do 8 skupin podle vztahu k obohacenému prostředí, vystavení hypoxii a aplikaci EPO. Skupiny byly značeny podle přítomnosti či nepřítomnosti sledované skutečnosti.

**Tab. 2.** Použité zkratky ve sledovaných skupinách

<b>Charakteristika</b>	<b>Označení</b>
potkani chovaní v obohaceném prostředí	EE +
potkani chovaní ve standardních podmínkách	EE –
potkani vystavení hypobarické hypoxii	Hypo +
potkani kontrolní skupiny bez hypoxie	Hypo –
potkani s aplikací erythropoetinu	EPO +
potkani s aplikací natrium chloratum	EPO –

### **5.2.2. HYPOXIE, KONTROLY**

Při výzkumu byla použita hypobarická komora Fyziologického ústavu 1. LF UK, která pracuje na principu kontinuálního snižování tlaku vzduchu uvnitř komory, čímž se mění i parciální tlak atmosférického kyslíku. Tlak je určován pomocí výškoměru. Snižovaný tlak v komoře je dosažen a následně udržován pomocí soustavy vývěv. Sledovaná zvířata byla umístěna do komory na 60 minut do simulované nadmořské výšky 8000 m ( $pO_2 = 266,9$  mm Hg). Této výšky bylo dosaženo během 10 minut, po ukončení expozice trvalo její snížení na výchozí hodnotu rovněž 10 minut.

Kontrolní skupina byla také umístěna do hypobarické komory na stejnou dobu jako skupina experimentální bez následného snižování tlaku a simulace vyšší nadmořské výšky. Obě skupiny zvířat byly do komory umístěny ve standardních plastových klecích.

### **5.2.3. OBOHACENÉ PROSTŘEDÍ**

Skupina, která byla chována v obohaceném prostředí (EE+) od počátku studie, tedy od tří měsíců věku, měla dohromady 30 zvířat. Obohacené prostředí bylo tvořeno třemi napůl plastovými a napůl kovovými klecemi. Dvě klece byly o velikosti 57 x 38 x 20 cm, prostřední klec měla rozměry 57 x 38 x 40 cm a měla dvě dřevěná podlaží. Všechny klece byly propojeny rourou o průměru 12 cm. Uvnitř klecí byly houpačky, hrazdičky, provazy, větve a

další předměty umožňující a stimulující hru, trénink a motorickou aktivitu. Standardní prostředí sestávalo z běžných plastových klecí (27 x 42 cm) bez jakýchkoliv dalších předmětů.

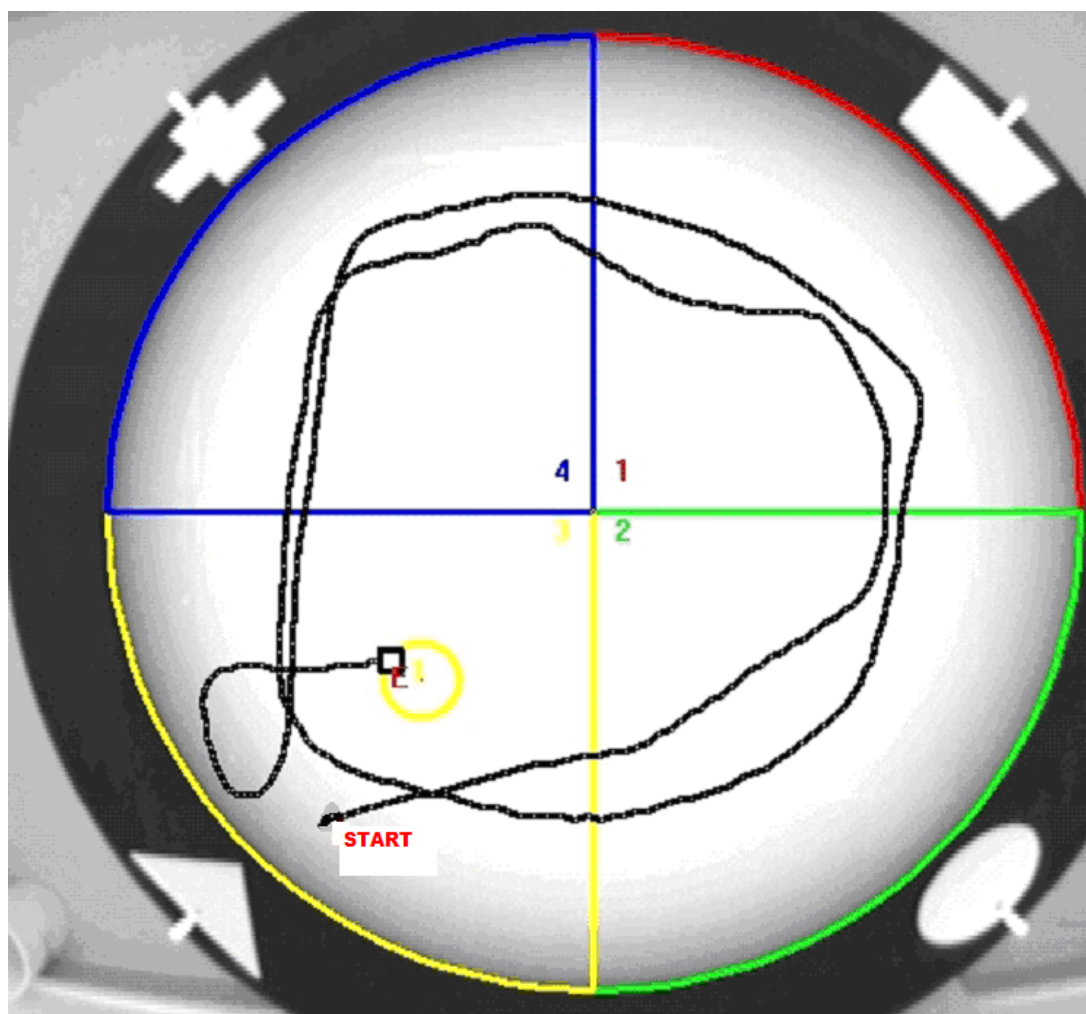
#### **5.2.4. ERYTHROPOETIN**

Skupina zvířat označená EPO + dostala bezprostředně po expozici hypoxii 8.den pokusu intraperitoneální injekci erythropoetinu (EPREX, epoetinum alfa, Janssen-Cilag, 400 or 1 000 IU/0,1 ml) v dávce 5000 IU/kg hmotnosti podle doporučení (Brines M.L. et al., 2000, Siren A.L. et al., 2001, Osredkar D. et al., 2010). Kontrolní skupina EPO – dostala ve stejném čase intraperitoneálně fyziologický roztok (Natrium Chloratum, sol. isotonica, Hoechst-Biotika) ve stejném dávkování na kilogram hmotnosti jako EPO.

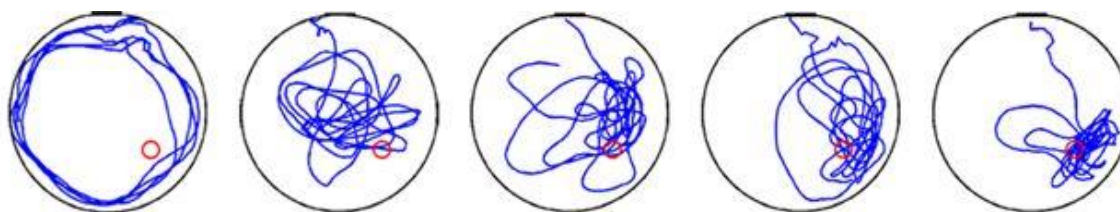
#### **5.2.5. MORRISOVO VODNÍ BLUDIŠTĚ**

Morrisovo vodní bludiště (MWM – „Morris water maze“) tvoří kruhový bazén o průměru 1,8 m a výšce 50 cm. Hladina vody o teplotě 22–23°C byla ve výšce 23 cm ode dna. Bazén byl naplněn nezabarvenou vodou. Cíl tvořil transparentní ostrůvek o průměru 10 cm, který byl umístěn 2 cm pod hladinou, byl umístěn asymetricky od středu bludiště v jeho severozápadním kvadrantu a jeho pozice byla konstantní po celou dobu pokusu. Bazén byl v tiché místnosti, jejíž stěny byly označeny obrázkovými symboly, které byly viditelné z bazénu a mohly sloužit potkanům k prostorové orientaci. Bludiště bylo rozděleno na čtyři stejné kvadranty (sever – východ, sever – západ, jih – východ a jih – západ) a mělo čtyři označené startovací pozice pro plavby potkanů, které byly orientovány podle stran (sever, západ, jih a východ). V programu Morrisova vodního bludiště byly nastaveny velikosti zmíněných startovacích oblastí a při umístění potkana do tohoto pole program automaticky započal měření. Plavby všech potkanů byly snímány videokamerou se snímací frekvencí 12,5 snímků za sekundu, která byla připevněna ke stropu nad bludištěm a propojena s počítačem. Kamera umožňovala snímání normálního televizního obrazu, jeho zobrazení na TV obrazovce a současně umožňovala snímat optický signál z infračervené diody, kdy pomocí hardwarové zásuvné karty šlo signál zobrazovat na monitoru PC a dále jej zpracovávat. Dioda byla umístěna v ping-pongovém míčku a gumičkou připevněna na tělo potkana současně se závěsem, který byl rovněž připevněn ke stropu místnosti.

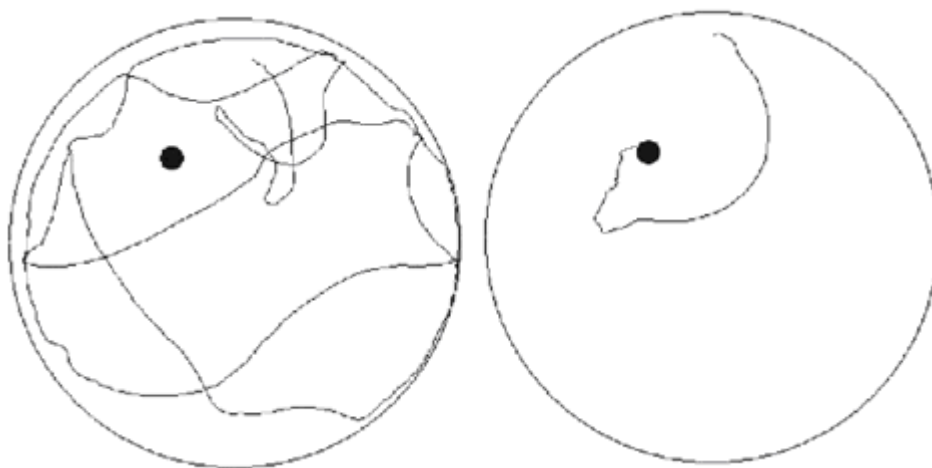
Na obr. 2 je schematicky zachyceno Morrisovo vodní bludiště s příkladem vyznačené trasy. Na obr. 3 a 4 jsou další příklady tras potkanů při úspěšných i neúspěšných pokusech ve vodním bludišti.



**Obr. 2.** Příklad dráhy potkana v MWM.



**Obr. 3.** Příklad vývoje průběhu dráhy potkana v MWM v různých pokusech.



**Obr. 4.** Příklad trasy neúspěšného počátečního pokusu potkana v MWM a rychlého úspěšného opakovaného pokusu.

#### 5.2.6. PROGRAMOVÉ VYBAVENÍ

Software pro záznam a analýzu testů v Morrisově vodním bludišti, jehož autorem je Julij Kaminskij, byl vytvořen na objednávku pro účely sledování pohybu potkanů.

Tento program umožňuje měřit a zobrazovat dráhu potkana a dobu, kterou potkan potřebuje pro dosažení cíle v Morrisově vodním bludišti. Rovněž umožňuje vytvářet tabulkové souhrny výsledků, na jejichž základě lze určit délky trasy, kterou potkani v jednotlivých plavbách uplavali a latence, ve kterých dosáhli ostrůvku. Měřily se všechny pokusy a potom byla vypočtena průměrná latence dosažená v průběhu jednoho tréninkového dne pro každého potkana. Pokud potkan nedosáhl ostrůvku v intervalu 60 sekund, byl posazen na ostrůvek a byla započtena latence 60 sekund.

V průběhu pokusu byla měřena i délka trasy od startu k dosažení plošiny a ukončení plavby. Opět byly měřeny průměry pro každé zvíře v průběhu jednoho dne. Pokud potkan nenašel plošinu ve stanoveném čase, byla započtena trasa odplavaná do limitu 60 sekund.

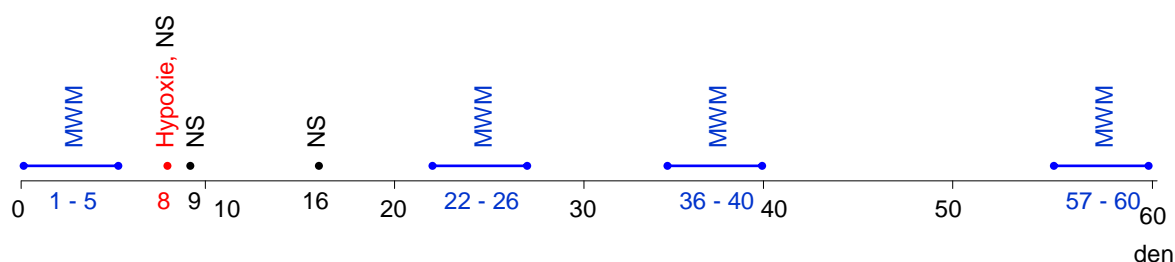
#### 5.2.7. PRŮBĚH POKUSU

Potkani byli tři dny před začátkem pokusu přeneseni ze zvěřince FÚ do laboratoře, aby se adaptovali na změněné prostředí. Trénink a sledování kognitivních funkcí probíhalo v Morrisově vodním bludišti ve čtyřech jednotlivých periodách (rozplavbách). Každá perioda trvala pět po sobě následujících dnů. V každém tréninkovém dni potkan absolvoval osm pokusů.

Pokus začal vložením potkana do vody proti stěně na jednom ze čtyř označených startovních míst (sever, jih, východ, západ). Účelem pokusu bylo, aby potkan našel do 60 sekund ponořenou plošinu. Když ji nenašel, byl na ni položen a ponechán 15 sekund a potom byl znovu vložen do vody na dalším startovacím místě. Po ukončení plaveb byl potkan vytažen z vody, osušen a umístěn buď do standardního akvária nebo do společného prostoru v rámci obohaceného prostředí.

Jednotlivé tréninky začaly 1., 22., 36. a 57. den pokusu. 8. den pokusu byli potkani vystaveni hypoxii nebo pouze umístění do hypobarické komory.

Před umístěním do komory, jednu hodinu po ukončení hypoxie, 9. a 16. den byl vyšetřován neurologický obraz potkanů pomocí neuromotorického vyšetření „neuroskore“ (NS), které je podrobněji popsáno na další straně. Vzhledem k tomu, že ve všech sledovaných obdobích nedošlo k jeho změně, bylo poslední plánované měření vynecháno. Na obrázku 5 je grafické znázornění časového průběhu pokusu.



**Obr. 5.** Grafické znázornění časového průběhu pokusu. NS – neuroskore, MWM – Morrisovo vodní bludiště.

### 5.2.8. NEUROMOTORICKÉ VYŠETŘENÍ

U všech zvířat bylo opakovaně provedeno ve výše zmíněných intervalech neuromotorické vyšetření podle zavedené testovací baterie Composite Neuroscore (NS) (Lippertová-Grünerová M., 2009).

Toto hodnocení umožňuje posoudit funkce předních a zadních končetin i jednotlivých stran odděleně, dále schopnost reagovat na odpor ze strany působící síly na podložce (manuální odsunutí) a také možnost posoudit schopnosti stoje na desce s nastavením různých

stupňů sklonu. Každý sledovaný výkon je obodován od 0 do 4, kde 0 je nejhorší výsledek, 4 znamená normální stav. Výsledky jsou sečteny do kumulativního skóre, maximální počet je 28 bodů.

V následující tabulce 3 je popis sledovaných úkonů.

**Tab. 3.** Composite Neuroscore (NS)

Flexe přední končetiny (reakce při držení za ocas)

Flexe zadní končetiny (reakce při držení za ocas)

Odpor proti tlaku ze strany (zleva, zprava)

Schopnost udržet se na šikmé rovině (vlevo, vpravo, vertikálně) s maximálním úhlem od 50°

Každé zvíře bylo testováno stejnou osobou, která neznala jeho příslušnost do skupiny. Test prokázal vysokou interpersonální reliabilitu a byl použit v řadě studií (Faden A.I. et al., 1989, McIntosh T.K. et al., 1989, Lippertová-Grünerová M., 2009).

### 5.2.9. HODNOCENÍ

Data byla zpracována s využitím neparametrického Kruskal-Wallisova testu. Výpočet testového kritéria byl obdobně jako u testu pro dva výběry založen na pořadových číslech, která jsou přiřazena hodnotám v souboru, vzniklém spojením všech výběrů. Jestliže proměnná  $X$ , která rozděluje hodnoty proměnné  $Y$  do skupin, nabývá více než dvou hodnot, můžeme získat více než dva nezávislé výběry.

## 6. VÝSLEDKY

### 6.1. VÝSLEDKY – KLINICKÁ ČÁST

V tabulce 4 jsou základní charakteristiky souboru – průměrný věk, průměrná doba do přijetí na KRL, průměrná délka resuscitace a průměrná délka bezvědomí.

**Tab. 4.** Charakteristika souboru

<b>Sledovaný parametr</b>	<b>Hodnota</b>	<b>Medián</b>
Průměrný věk (roky)	44,8 ± 15,8	50,5
Průměrná doba do přijetí na KRL (měsíce)	7,21 ± 5,7	5,0
Průměrná délka resuscitace (minuty)	14,0 ± 10,6	11,5
Průměrná délka bezvědomí (dny)	18,6 ± 21,3	14,0

Nález na CT nebo MRI mělo 10 pacientů, zbývajících 14 mělo CT i MRI negativní. Všichni pacienti měli kognitivní poruchy, motorickou poruchu mělo jen 10 a fatickou poruchu 5 pacientů.

V tabulce 5 jsou uvedeny jak hodnoty Meilliho testu a testu FIM na začátku a na konci programu, tak zlepšení v testu FIM.

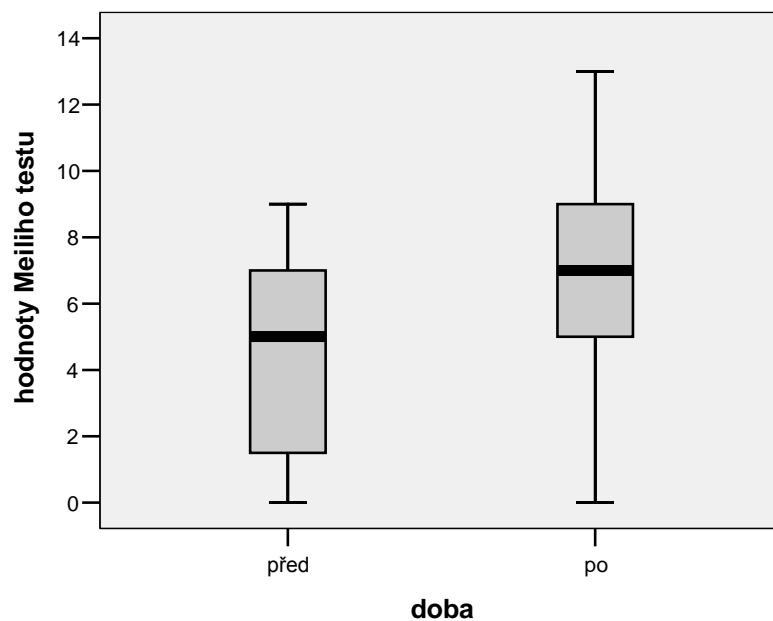


**Tab. 5.** Hodnoty Meilliho testu a testu FIM na začátku a na konci terapie.

Číslo pacienta	Meilliho test Počátek	Meilliho test Konec	FIM Počátek	FIM Konec	FIM Zlepšení
1	0	0	1,2	1,4	0,2
2	9	9	5,8	5,8	0
3	7	4	5,1	5,5	0,4
4	5	9	6,1	6,1	0
5	5	5	5,8	5,8	0
6	6	7	6,1	6,4	0,3
7	8	13	6,8	7	0,2
8	0	9	5,7	6,7	1
9	0	6	4,5	5,5	1
10	5	9	6,3	6,5	0,2
11	3	8	5,2	5,3	0,1
12	8	7	3,9	6,2	2,3
13	7	7	6,1	6,1	0
14	5	5	5,4	5,4	0
15	7	9	6,1	6,2	0,1
16	4	5	6,3	6,3	0
17	0	1	5,3	5,5	0,2
18	5	7	2	5,7	3,7
19	0	5	5,5	6,6	1,1
20	1	1	5,2	5,2	0
21	6	6	5,4	5,4	0
22	6	10	6,2	6,4	0,4
23	2	8	5,6	5,8	0,2
24	7	6	6,2	6,6	0,4
<b>Celkový průměr</b>	<b>4,42±2,95</b>	<b>6,5±3,02</b>	<b>5,325±1,312</b>	<b>5,808±1,064</b>	<b>0,492±0,864</b>

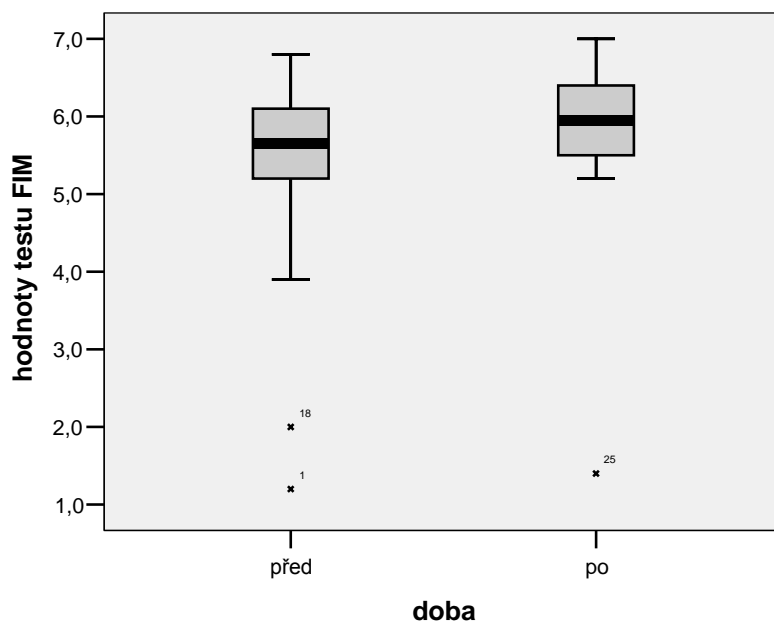
Neparametrickým testem Wilcoxonovým (pro dva závislé výběry) bylo testováno, zda se liší hodnoty Meiliho testu a testu FIM před rehabilitací a po ní. Můžeme konstatovat, že hodnoty obou testovaných parametrů po rehabilitaci jsou statisticky významně vyšší ( $p = 0,01$ ) než před rehabilitací.

Průměrná hodnota Meiliho testu na počátku rehabilitace byla  $4,42 \pm 2,95$  (medián 5,0). Průměrná hodnota Meiliho testu na konci byla  $6,50 \pm 3,02$  (medián 7,0). Na obrázku 6 jsou znázorněny tyto průměrné hodnoty před a po rehabilitaci.



**Obr. 6.** Hodnoty Meiliho testu před a po rehabilitaci  $p = 0,01$ .

Průměrná hodnota FIM testu na počátku byla  $5,325 \pm 1,312$  (medián 5,65). Průměrná hodnota FIM testu na konci byla  $5,808 \pm 1,064$  (medián 5,95). Průměrné zlepšení FIM bylo  $0,492 \pm 0,864$  (medián 0,2). Grafické znázornění průměrných hodnot FIM na začátku a na konci rehabilitace je na obrázku 7.



**Obr. 7.** Hodnoty testu FIM na začátku a na konci rehabilitace  $p = 0,01$ .

**x** extrémní hodnoty s číslem pacienta v souboru

Poruchu dlouhodobé paměti měli na začátku velmi těžkou čtyři pacienti, těžkou deset a lehkou opět deset pacientů. Poruchu dlouhodobé paměti měli na konci velmi těžkou tři, těžkou devět a lehkou dvanáct pacientů (tab. 6).

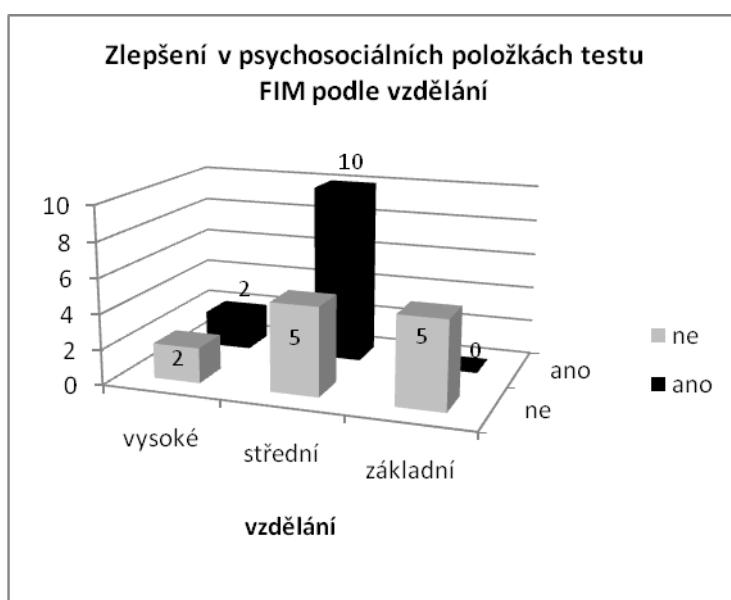
**Tab. 6.** Poruchy dlouhodobé paměti

Porucha dlouhodobé paměti	Lehká	Těžká	Velmi těžká
Počátek sledování	10	10	4
Konec sledování	12	9	3

Mann-Whitneyovým testem pro dva nezávislé výběry (2 typy příčin ischemicko-hypoxického postižení (kardiální a ostatní) se nepodařilo prokázat na zvolené hladině

významnosti 0,05, že je ve sledovaných ukazatelích mezi pacienty statisticky významný rozdíl.

T testem  $\chi^2$  (chí-kvadrát), v případě malých četností Fischerovým testem, se zjišťovalo, zda je nějaká závislost mezi zlepšením FIM ve fyzických položkách (FP) a FIM v psychosociálních položkách (PP), (ano 1, ne 0) a mezi dalšími sledovanými kvalitativními parametry (vzdělání, pohlaví, doba resuscitace, doba do přijetí na KRL, medikamentosní léčba, vegetativní stav, hyperbarická oxygenoterapie v anamnéze). Na hladině významnosti 0,05 se tuto závislost podařilo prokázat u jediného sledovaného parametru, a tím bylo vzdělání. Závislost zlepšení v psychosociálních položkách testu FIM na vzdělání je na obrázku 8.



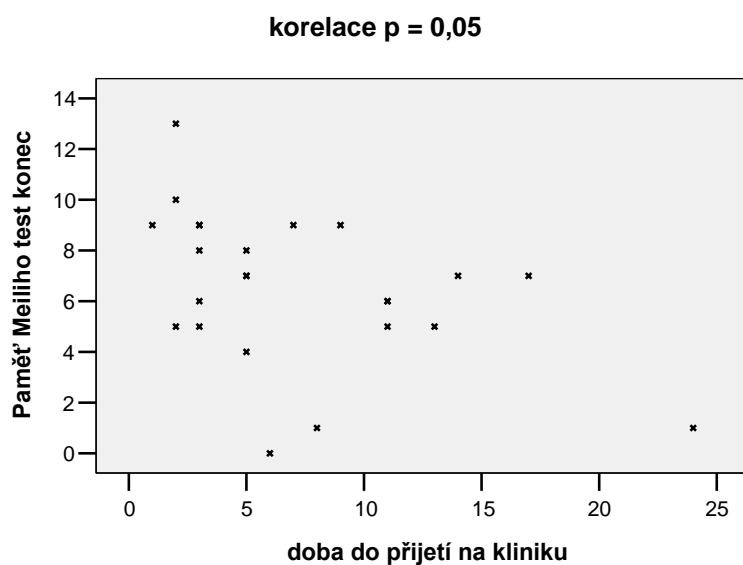
**Obr. 8.** Zlepšení v psychosociálních položkách testu FIM.

Obrázek 8 znázorňuje, že statisticky významné (na hladině významnosti 0,05) zlepšení FIM PP souvisí s premorbidním vzděláním. Pouze vyučení se nezlepšují oproti ostatním v položkách psychosociálních ( $p = 0,019$ ) a středoškoláci se oproti ostatním zlepšují ( $p = 0,045$ ).

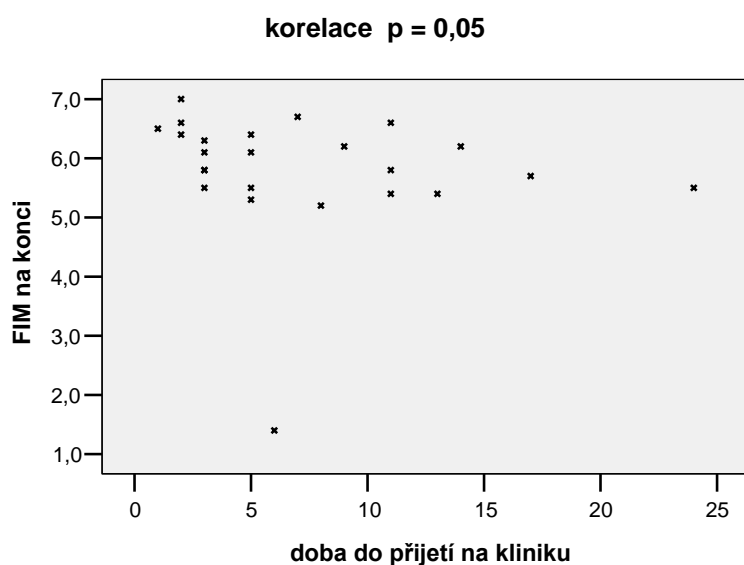
Mann-Whitneyovým testem (pro dva nezávislé výběry) se podařilo prokázat, že na hladině významnosti 0,05 mají pacienti se zlepšeným FIM PP vyšší bodové hodnoty v Meiliho testu  $7,92 \pm 2,31$  oproti nezlepšeným  $5,08 \pm 3,06$ .

Hledání závislostí mezi kvantitativními parametry (Spearmanův neparametrický koeficient korelace mezi kvantitativními parametry) ukázalo, že na zvolené hladině významnosti 0,05 věk nekoreluje se žádným sledovaným parametrem.

Na obrázku 9 jsou znázorněny korelace doby přijetí na KRL a hodnot Meiliho testu na konci rehabilitace. Na obrázku 10 je korelace doby přijetí na KRL a hodnot testu FIM na konci terapie.



**Obr. 9.** Korelace doby přijetí na KRL a hodnot Meiliho testu na konci rehabilitace



**Obr. 10.** Korelace doby přijetí na KRL a hodnot testu FIM na konci

Doba do přijetí na KRL koreluje s Meiliho testem na konci rehabilitace ( $p = 0,05$ ). Čím dříve byl pacient přijat, tím vyšších (lepších) hodnot v testu dosáhl. Dále ještě koreluje s FIM na konci ( $p = 0,05$ ) rehabilitace, čím dříve byl přijat, tím vyšších hodnot ve FIM dosáhl.

Délka resuscitace a délka bezvědomí nekoreluje s žádným sledovaným parametrem.

## 6.2. VÝSLEDKY EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI

V průběhu pokusu po hypobarické hypoxii došlo k úmrtí dvou zvířat, proto nemají sledované podsoubory stejný počet členů. V tabulce 7 je uvedena charakteristika podsouborů.

Výsledky po zpracování podle Kruskal-Wallisovy analýzy jsou uvedeny v tabulce 8. Hlavním dělením bylo umístění potkanů do obohaceného prostředí.

**Tab. 7.** Charakteristika podsouborů podle umístění do EE (+/-), pobytu v hypobarické hypoxii (+/-) a aplikace EPO (+/-).

Charakteristika podsouboru	EE + EPO+/-	EE+ Hypo + EPO+/-	EE+ Hypo - EPO+/-	EE- EPO+/-	EE- Hypo + EPO+/-	EE- Hypo- EPO+/-
Číslo skupiny	1	2	3	4	5	6
Počet potkanů (n)	29	15	14	30	16	14

Skupinu 1 tvořilo 29 zvířat, která žila v obohaceném prostředí (EE+), měla nebo neměla aplikován EPO (EPO+/-). Rozhodujícím kritériem byl pobyt v EE a aplikace EPO. Nebylo rozlišeno, zda byla či nebyla vystavena hypoxii. Ve skupině 2, kde bylo 15 zvířat, již byly sledovány všechny tři parametry. Patřila sem zvířata, která žila v obohaceném prostředí (EE+), podstoupila hypoxii (HYPO+) a byl sledován vliv EPO (EPO+/-). Ve skupině 3 bylo 14 zvířat, která žila v obohaceném prostředí (EE+), nepodstoupila hypoxii (HYPO-) a byl sledován vliv EPO (EPO+/-).

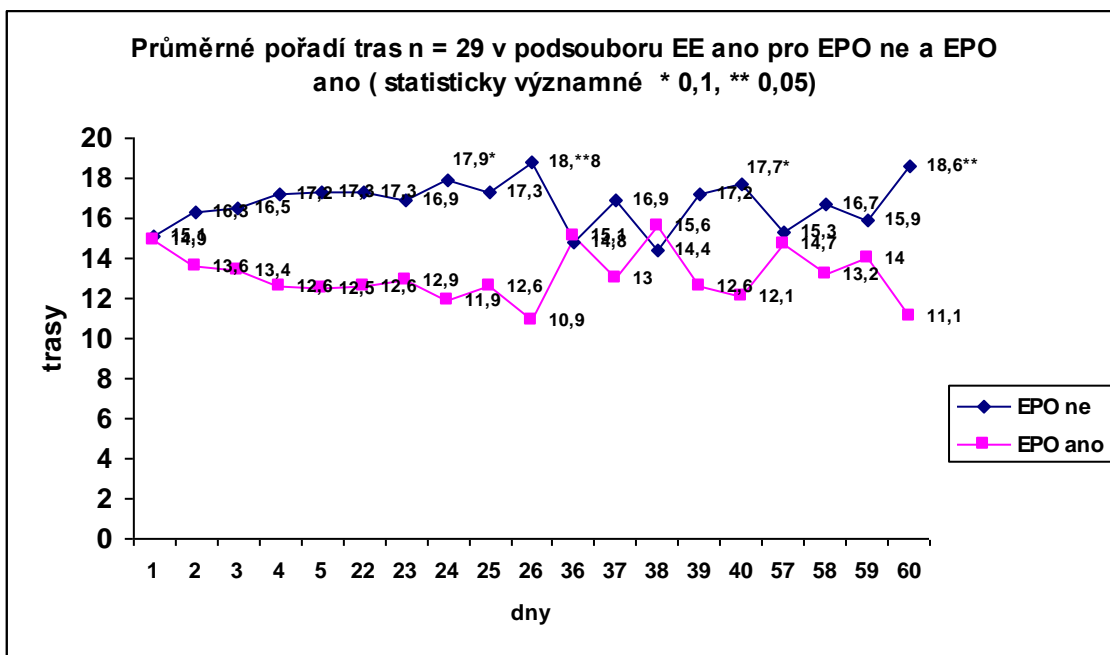
Ve skupině 4 se 30 zvířaty, která žila ve standardních podmínkách (EE-) a měla nebo neměla EPO (EPO+/-), nebylo zohledněno, zda byla vystavena hypoxii. Ve skupině 5 bylo 16 zvířat, která žila ve standardních podmínkách (EE-), měla hypoxii (HYPO+) a bylo rozlišeno, zda byl nebo nebyl aplikován EPO (EPO+/-). Ve skupině 6 bylo 14 zvířat, která žila ve standardních podmínkách (EE-), nepodstoupila hypoxii (HYPO-) a byla rozlišena podle toho, zda jim byl nebo nebyl aplikován erythropoetin. Výsledky vybraných skupin jsou v tabulce 8.

**Tab. 8.** Výsledky Kruskal-Wallisovy analýzy pro označené soubory. Počet zvířat – n, hladina významnosti – p, tučně zvýrazněny výsledky statisticky významné, zaokrouhlené na hladinu 0,1, červeně vyznačeny výsledky zaokrouhlené na hladinu 0,05.

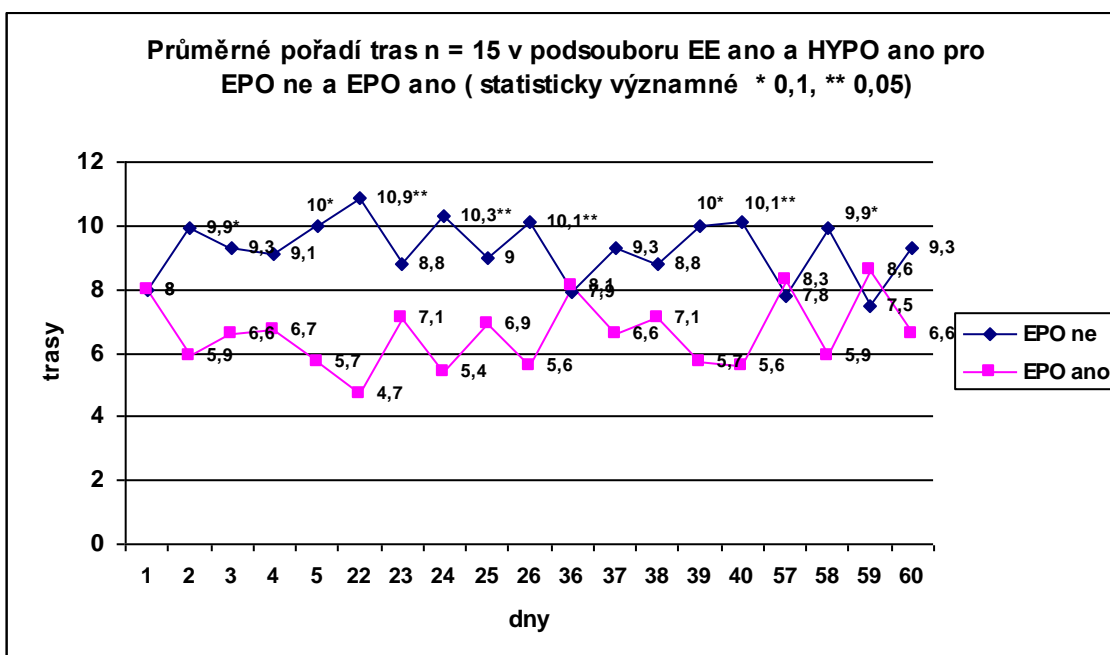
Den pokusu	Skupina 1 n = 29 p	Skupina 2 n = 14 p	Skupina 4 n = 30 p	Skupina 5 n = 16 p
1	0,965	1,000	0,576	0,294
2	0,383	<b>0,083</b>	0,419	<b>0,074</b>
3	0,337	0,247	0,237	<b>0,016</b>
4	0,150	0,298	0,101	<b>0,016</b>
5	0,127	<b>0,064</b>	0,237	0,115
22	0,138	<b>0,008</b>	0,663	0,172
23	0,206	0,487	0,520	0,172
24	<b>0,061</b>	<b>0,037</b>	0,820	0,208
25	0,138	0,355	0,885	0,248
26	<b>0,013</b>	<b>0,049</b>	0,724	0,753
36	0,930	0,908	0,885	0,753
37	0,222	0,247	0,663	0,401
38	0,694	0,487	0,787	0,462
39	0,150	<b>0,064</b>	0,885	0,753
40	<b>0,081</b>	<b>0,049</b>	0,852	0,843
57	0,861	0,817	0,548	0,916
58	0,275	<b>0,083</b>	0,756	0,674
59	0,541	0,643	0,756	0,834
60	<b>0,018</b>	0,247	0,694	1,000

Na obrázcích 11 a 12 jsou výsledky zpracovány graficky. V každém testovaném dnu bylo sestaveno pořadí tras potkanů od nejlepšího k nejhoršímu a tato pořadí byla v popsáných skupinách vzájemně porovnávána.





**Obr. 11.** Průměrné pořadí tras v podsouboru 1 dle Kruskal-Wallisovy analýzy.  
x = den pokusu, y = pořadí tras



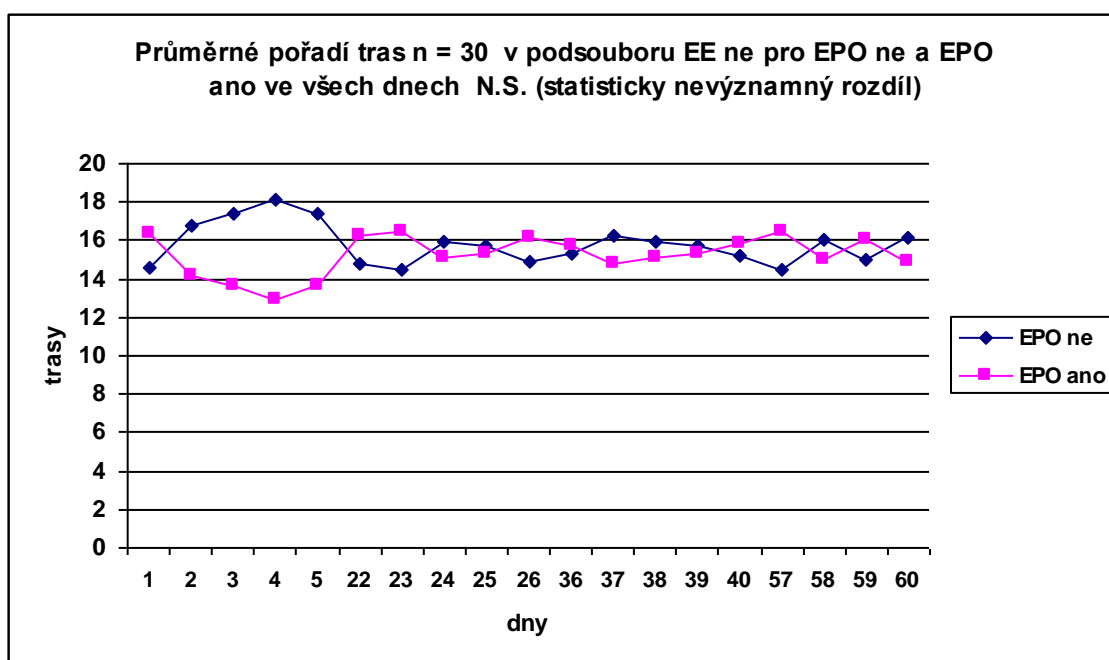
**Obr. 12.** Průměrné pořadí tras v podsouboru č. 2 dle Kruskal-Wallisovy analýzy.  
x = den pokusu, y = pořadí tras.

Z obrázku 11 je vidět, že obě skupiny byly již před aplikací hypoxie a EPO rozdílné, ale tento rozdíl nebyl statisticky významný. V prvním týdnu plavání po hypoxii, tedy od

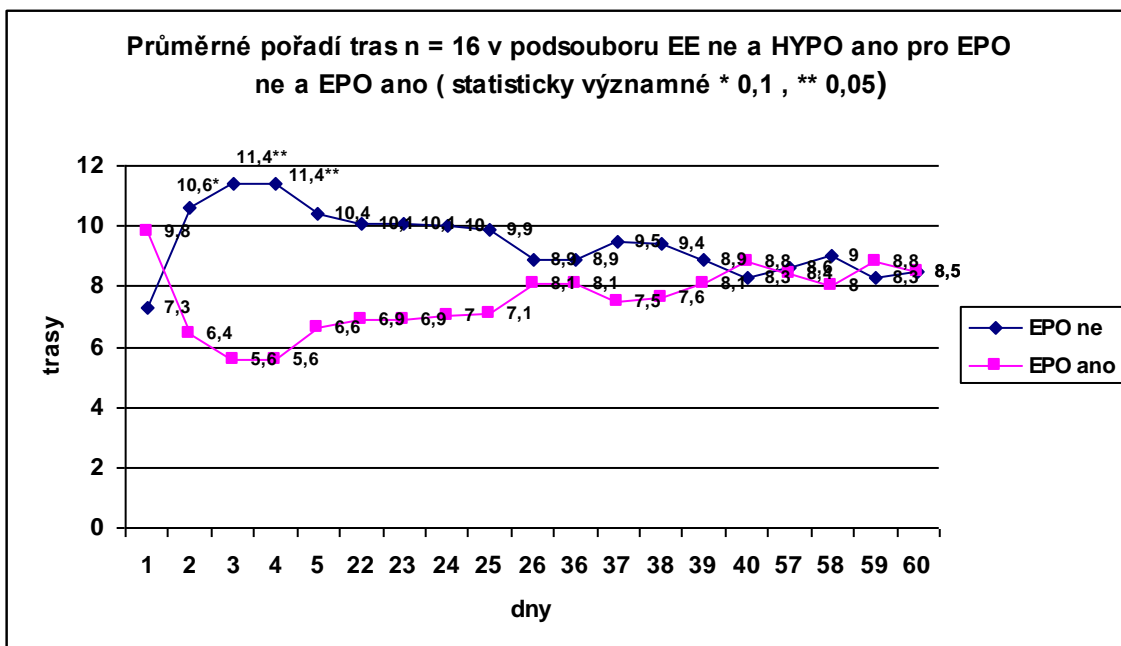
22. dne pokusu, je patrné, že skupina s EPO se zlepšuje, zatímco skupina bez EPO se spíše zhoršuje. 24. a 26. den jsou tyto rozdíly statisticky významné na hladinách významnosti ( $p = 0,061$ ) a ( $p = 0,013$ ). V dalších cyklech po pauze se situace opakuje, statisticky významná je 40. a zejména 60. den pokusu, na hladinách významnosti ( $p = 0,081$ ) a ( $p = 0,018$ ).

Obrázek 12 znázorňuje průměrné pořadí tras v podsouboru EE ano, hypo ano pro EPO ano a ne. Je vidět, že skupina s aplikací EPO po hypoxii je celkově lepší než skupina bez EPO. Statisticky výrazné jsou tyto rozdíly zejména 22., 24. a 26. den ( $p = 0,008$ ,  $p = 0,037$  a  $p = 0,049$ ), 39. a 40. den ( $p = 0,064$  a  $p = 0,049$ ) a 58. den ( $p = 0,083$ ). Tyto skupiny se však statisticky významně liší již před aplikací hypoxie a EPO, a sice 2. a 5. den na hladinách významnosti ( $p = 0,083$  a  $p = 0,064$ ).

Na obrázcích 13 a 14 jsou výsledky dalších porovnávaných podsouborů.



**Obr. 13.** Průměrné pořadí tras v podsouboru 4 dle Kruskal-Wallisovy analýzy.  $x$  = den pokusu,  $y$  = pořadí tras.



**Obr. 14.** Průměrné pořadí tras v podsouboru 5 dle Kruskal-Wallisovy analýzy. x = den pokusu, y = pořadí tras.

Na obrázku 13 jsou patrné malé, nikoliv však statisticky významné rozdíly mezi skupinami již na počátku pokusu. V dalším průběhu jsou křivky již velmi podobné, zvířata bez EPO se celkově zlepšují, s EPO se naopak zhoršují. Rozdíly však nejsou statisticky významné.

Na obrázku 14 jsou vidět velké statisticky významné rozdíly již před aplikací hypoxie a EPO. Skupina s EPO je lepší, ale postupně se zhoršuje. Rozdíly mezi skupinami však již nejsou statisticky významné.

Výsledky jsou zcela obdobné při analýze latencí.

## 7. DISKUSE

Globální mozková hypoxie vede velmi často k těžkému poškození mozku. Jednou z nejčastějších příčin tohoto typu hypoxického postižení je srdeční zástava v důsledku srdečních arytmií. Tito pacienti jsou zpravidla v terénu resuscitováni, ale více než polovina z nich má po resuscitaci známky neurologického postižení (Pußwald G. et al., 2000). I přes dobře vedenou neurorehabilitaci zůstává dále více než polovina z nich s těžkými neurologickými deficity, zejména s poruchami kognitivních funkcí, které vedou ke zhoršení soběstačnosti (Fertl E. et al., 2000, Pußwald G. et al., 2000, Holzer M. et al., 2005, Neumar R.W. et al., 2008). Mezi kognitivními obtížemi převažují zejména poruchy paměti, které jsou dávány do souvislosti především s poškozením hipokampu (Drysdale E.E. et al., 2000, Tomiyasu, J.L. et al., 1984), objevují se však i práce, které prokazují poškození více oblastí mozku (Markowitsch H.J. et al., 1997, Grubb N.R. et al., 2000). Grubb se spolupracovníky např. sledoval u skupiny 17 pacientů po resuscitaci pro srdeční zástavu v terénu a u 12 kontrolních pacientů po nekomplikovaném akutním infarktu myokardu poruchy paměti v souvislosti s volumetrií různých oblastí mozku. Zjistili, že pacienti s poruchami paměti mají signifikantně snížený nejen objem levého amygdalohipokampálního komplexu, ale i objem celého levého temporálního laloku a celého mozku. Tento výsledek může svědčit o tom, že celková mozková atrofie je mnohem více odpovědná za poruchy paměti u postižených pacientů než selektivní postižení hipokampu.

K obdobným výsledkům došel i Markowitsch se spolupracovníky, který použil k podrobnému vyšetření mozkové tkáně pacientů po srdeční zástavě pozitronovou emisní tomografii a zjistil, že mají mnohem větší postižení různých oblastí než jenom oblast hipokampu nebo temporálního laloku (Markowitsch H.J. et al., 1997). Z těchto důvodů je zcela evidentní, že jsou nutné další studie zaměřené na podrobné vyšetřování kognitivních funkcí u pacientů po kardiopulmonálních resuscitacích pro srdeční zástavu (Grubb N.R. et al., 2000).

Ve sledovaném souboru našich pacientů byly výsledky obdobné, pacienti měli nejen poruchy krátkodobé paměti, ale i poruchy dlouhodobé paměti a pozornosti. Pouze tři pacienti měli poruchu krátkodobé paměti při dobré paměti dlouhodobé. Deset pacientů mělo kromě poruchy kognitivních funkcí i motorickou poruchu. Tito pacienti měli dle dokumentace nález na CT nebo MRI většinou ve formě difusních ložisek v bílé hmotě. Pacienti, kteří měli pouze

poruchu kognitivních funkcí, měli negativní nálezy na zobrazovacích metodách (CT a MRI). Z technických a ekonomických důvodů neměli pacienti provedeno více vypovídající vyšetření SPECT, PET ani funkční MRI. Zcela v souladu s popisovanými výsledky (Fertl E. et al., 2000, Pußwald G. et al., 2000, Holzer M. et al., 2005, Neumar R.W. et al., 2008) se naši pacienti jen velmi mírně zlepšovali v soběstačnosti v testu FIM a v Meiliho testu. Ani po zlepšení v těchto testech většina z nich nebyla soběstačná v běžných denních činnostech. Průměrná hodnota FIM byla na konci terapie stále pod šest, což znamená modifikovanou závislost, tedy nutnou dopomoc druhé osoby. V případě krátkodobé paměti byly hodnoty i na konci terapie výrazně podprůměrné a jen jediný pacient dosáhl 13 bodů, což je průměr normální populace.

Statistické údaje získané z ÚZIS (Ústav zdravotnických informací a statistiky) o pacientech po kardiopulmonálních resuscitacích v terénu, kteří mají poruchy kognitivních funkcí, jsou velmi nespolehlivé. Pokud je uvedena kardiální diagnóza jako první, bylo v ČR v roce 2009 jen 12 takových pacientů obdobně jako v r. 2008 a 2007 (13 a 12). Pokud je jako první uvedena diagnóza popisující kognitivní poruchy, je těchto pacientů dalších 10 v roce 2009, v roce 2008 je jich 12 a v roce 2007 potom 10 pacientů. Mezinárodní údaje uvádějí čísla zhruba stokrát vyšší ve vztahu k počtu obyvatel. Problémem v tomto případě je fakt, že pacienti s kognitivními deficity jsou velmi obtížně popsatelní v Mezinárodní klasifikaci nemocí (MKN) a většinou se skrývají pod jinými diagnózami, jejichž analýza by byla mnohem více zavádějící. Proto tyto počty považuji za velmi nepřesné a pro podrobné zmapování těchto pacientů bude mít význam až zpracování výsledků Mezinárodní klasifikace funkčních schopností, disability a zdraví (MKF), která popisuje přímo postižení jednotlivých funkcí člověka (Švestková O. et al., 2009). Povinné používání této klasifikace je sice již uzákoněno, ale v praxi se začíná používat jen velmi pozvolna.

Přestože i našim denním stacionářem prošlo těchto pacientů velmi málo ve srovnání s ostatními skupinami poškození mozku (Obr. 1), a ani v ambulantní terapii nepatří ke zcela běžným, podařilo se na základě několikaleté práce shromáždit skupinu 24 pacientů po globální mozkové hypoxii, kteří byli podrobněji popsáni ve výsledcích. Přestože se pacienti v uvedeném souboru po rehabilitaci zlepšili, nebylo toto zlepšování zcela dostatečné, v průměru zůstali podle testu FIM v kategorii částečné závislosti formou supervize. Potřebovali tedy dohled druhé osoby při provádění běžných denních činností. Největším problémem byla krátkodobá vizuální paměť, která se sice zlepšovala, ale ani tak nedosáhla hodnot umožňujících samostatnost v běžném životě. Zajímavé bylo zjištění, že pacienti s vyšším premorbidně dosaženým vzděláním se významněji zlepšují v psychosociálních

položkách testu FIM než pacienti s nižším stupněm vzdělání. Skutečnost, že úroveň kognitivních funkcí a premorbidní sociální postavení ovlivňují schopnost komunikace a mohou zlepšit celkovou deterioraci pacientů po poškození mozku, však popsala již řada dalších autorů (Anstey K., Christensen H., 2000, Catellani R. et al., 2002, Kesler S.R. et al., 2003, Young B.G., 2009).

Pacienti se po rehabilitaci zlepšovali jak v testu FIM, tak v Meiliho testu. V případě Meiliho testu, který sleduje zejména krátkodobou vizuální paměť, však byla průměrná hodnota stále na 6,5 bodech z celkových 30 maximálně možných a jen nejlepší pacient měl konečnou hodnotu 13 bodů, což je průměr. Výsledky tak korelují s ostatními studiemi, které popisují po difusním hypoxickém postižení pomalejší a celkově méně výrazné zlepšování stavu, častější nutnost dohledu druhé osoby než u jiných příčin poškození CNS (FitzGerald A. et al., 2010). Hlavním problémem bývá porucha paměti, především paměti krátkodobé a vizuální (Zwecker-Lazar I. et al., 2003, FitzGerald A. et al., 2010).

Délka resuscitace ani délka bezvědomí v popisovaném souboru nekorelovaly s žádným sledovaným parametrem. Obě informace však byly získávány zejména anamnesticky nebo z propouštěcích zpráv z postakutního období, což může být velmi nepřesné. Ve velkých multicentrických studiích, které sledují především spontánní obnovu cirkulace, se výrazně liší výsledky mezi jednotlivými pracovišti, protože jsou stále velmi nepřesně definované jednotlivé parametry zaznamenávající zlepšování pacientů (Neumar R.W. et al., 2008). Výše popsané výsledky podporují nutnost hledání dalších možností, jak podpořit rehabilitační proces. Jednou z možností hledání nových cest je výzkum na laboratorních zvířatech.

Při hledání vhodného modelu globálního hypoxického postižení, jehož patofyziologické působení na CNS je odlišné od fokálního postižení (Siesjo B.K. et al., 1995), byla zvolena hypobarická hypoxie, se kterou má Fyziologický ústav 1. LF UK dlouholeté zkušenosti a jehož vědečtí pracovníci publikovali řadu prací s touto problematikou (např. Pokorný J. et al., 1982, 1989, Langmeier M. et al., 1987, 1989, Trojan S. et al., 2004).

V experimentálních studiích bylo opakovaně prokázáno, že hypobarická hypoxie způsobuje morfologické změny a trvalé poškození neuronů v mozku potkanů (Kirino T., 1982, Titus et al., 2007). Těžká (více než 5 000 m) a chronická (3–4 dny) hypoxie způsobuje odumření v hlubokých a periferních strukturách mozku, jako jsou oblasti CA3, CA1 a gyrus dentatus hipokampu, thalamus, kůra mozková, striatum (Smith P. et al., 1993, Freyaldenhoven T.E. et al., 1997, Naghdi N. et al., 2003). Hypoxie působící v neonatálním období může výrazně ovlivnit diferenciaci a vyzrávání pyramidových buněk i interneuronů

hipokampu (Pokorný J. et al., 1989). Velmi důležitou úlohu však hraje délka působení hypoxie. Již přechodná pětiminutová ischemie byla dostatečná, aby způsobila ireverzibilní změny oblasti CA1 v mozku potkana. Tyto změny však byly viditelné až za 4 dny (Kirino T., 1982), podle některých autorů již za 2–4 dny (Jensen M.S. et al., 1991), s využitím světelného mikroskopu již za 2 dny (Hale B.S. et al., 1996). Po 3–4 dnech však byly změny velké a ireverzibilní. Na základě tohoto poznatku byl v prováděném pokusu zvolen interval jednoho týdne, kdy s pokusnými zvířaty nebyly kromě testu neuroscore prováděny žádné další testy proto, aby mohly být dostatečně vyvinuty případné změny navozené hypoxií a působením EPO.

Při přenášení poznatků z experimentů do klinické praxe je rovněž nutné vzít v úvahu, že mozek potkanů je méně senzitivní na hypoxii než mozek lidský (Hale B.S. et al., 1996).

K posthypoxickým změnám vede narušení různých mechanismů, jejichž přesná posloupnost není dosud zcela známa. Patří sem např. glutamátová toxicita, výkyvy hladin noradrenalinu a dopaminu, poškození metabolismu monoaminů, zvýšení stresových hormonů, přebytek vápníkových iontů atd. Celkový počet poškozených buněk je tedy jak na úkor permanentní degenerace (Cummings J.L. et al., 1984, Hale B.S. et al., 1996), tak na úkor apoptosy v CA1 a CA3 (Nakajima W. et al. 2000). Buněčná smrt neuronů v oblasti CA1 hipokampu je spojena se ztrátou paměti bez jakéhokoliv neurologického nebo neuropatologického nálezu (Sinden J.D. et al., 1997, Nagdi N. et al., 2003, Brodal P., 2008).

Někteří autoři popisují, že zranitelnost neuronů v oblasti CA3 je větší než v oblasti CA1 (Maiti P. et al., 2007), někteří naopak prokazují větší zranitelnost neuronů v oblasti CA1 (Kirino T., 1982, Naghdi N. et al. 2003). Kadar vysvětluje různé postižení CA1 a CA3 příčinou, která hypoxii vyvolala. Pyramidové buňky CA3 byly v jeho pokusech nejvíce poškozeny po hypobarické hypoxii a v procesu běžného stárnutí, zatímco neurony v oblasti CA1 byly poškozeny především po kortikosteroidech, globální ischemii a inhibici cholinesterázy (Kadar T. et al., 1998). Zkoumání různorodosti postižení při různých vyvolávajících příčinách by tak mohla pomoci při hledání cest k jejich ovlivnění.

Kromě vyvolávající příčiny hraje, jak již bylo řečeno, velkou roli i délka působení patologické noxy. Popisuje se, že neurony CA1 jsou poškozeny velmi rychle, protože obsahují více NMDA (ionotropních) receptorů (Cassina P. et al. 2002). Naopak oblast CA3 obsahuje méně ionotropních a více metabotropních glutamátových receptorů, které způsobují opožděnou neurotoxicitu (Maiti P. et al., 2007). Právě delší expozice hypobarické hypoxii vedla k většímu poškození oblasti CA3 než CA1, i když poškození CA1 nemůže být zcela

zanedbáno (Maiti P. et al., 2007). Neurony v oblasti CA3 jsou propojeny přes gyrus dentatus s eferentními spoji z entorhinální kůry (Brodal P., 2008), přičemž neexistuje přímé spojení mezi ní a oblastí CA1. Neurotoxické působení glutamátu a aspartátu, jejichž hladiny po hypoxii prudce stoupají, přerušuje hlavní excitaci do hipokampu buď lézí entorhinálního kortexu nebo destrukcí granulárních buněk, které za normálních okolností chrání oblast CA1 před hypoxickým poškozením (Hagan J.J. et Beaughard M., 1990). Neurony oblasti CA3 pravděpodobně hrají velmi důležitou roli v procesech zabezpečujících funkce paměti (Hasselmo M.E. et Wyble B.P., 1997, Lisman J.E., 1999, Lorincz A. et Buzsaki G., 2000) a destabilizují neuronální okruhy hipokampu.

Jestliže v nervových buňkách nastávají vlivem hypoxie ireverzibilní změny, které nejsme schopni dosavadními způsoby terapie zlepšit (Zwecker-Lazar I. et al., 2003, FitzGerald A. et al., 2010, Lippertová-Grünerová M., 2005, 2009), hledá současná neurorehabilitace další možnosti, jak minimalizovat následky globální hypoxie mozku s využitím neuroprotektivních látek nebo podporou neuroplasticity. Někteří autoři popisují velmi dobré účinky včasné multimodální stimulace (Lippert-Grüner M. et al., 2007b), transkraniální magnetické stimulace (Hallett M., 2000, Maeda F. et al., 2002, Floel A. et Cohen L.G., 2006) nebo hluboké mozkové stimulace (Yamamoto T. et Katayama Y., 2005). Jako velmi perspektivní se však jeví možnost farmakologické podpory neurorehabilitace, která může mít jak vliv neuroprotektivní, tak neuroregenerační. Při experimentech byly popsány pozitivní účinky řady látek, ale po přenesení do klinických stádií zkušek výsledky z experimentů příliš neuspěly (Fuhrer M.J., 2003, Xiong Y. et al., 2009). Je to dáno pravděpodobně tím, že druhová specifičnost je velká (Traystman R.J., 2003) a že sledováním jedné látky nejsme schopni postihnout složitost a vzájemnou provázanost jednotlivých procesů (Xiong Y. et al., 2009). Po desetiletí výzkumů se nakonec k perspektivním látkám zařadil progesteron, jehož působení je již ve stádiích klinických zkušek (Stein D.G. et al., 2008) a erythropoetin. Jeho pozitivní účinky na oblasti vystavené hypoxii jsou neuroprotektivní, neuroregenerační a protizánětlivé (Siren A.L. et al., 2001, Marti H.H., 2004, Osredkar D. et al., 2010, Cherian L. et al., 2011).

V poslední době se dostávají do popředí spíše deriváty EPO, například darbopoetin, jehož výhodou je zejména delší poločas účinku, který umožňuje prodloužit časové intervaly při jeho podávání (Cherian L. et al., 2011). Další výhodou derivátů erythropoetinu je fakt, že nezvyšují hematokrit, jehož vyšší hodnoty mohou vést k některým komplikacím léčby EPO. Při aplikaci EPO se např. zvýšilo riziko kardiovaskulárních onemocnění a následné smrti (Fischbane S. et Nissenson A.R., 2007) a klinické zkušky s EPO u iktů byly pozastaveny



(Carmichael S.T., 2010). Pozornost se v současné době upírá k derivátům erythropoetinu, které působí na společný beta cytokinový receptor (Siréne A.L. et al., 2009) a mají neuroprotektivní účinky, což je například již dříve zmíněný darbopoetin.

Podmínkou účinnosti celkově podávaných látek na centrální nervový systém je průnik hematoencefalickou bariérou. U EPO byla tato skutečnost prokázána Brinesem v roce 2000 (Brines M.L. et al., 2000). Ke zvýšení uplatnění efektu EPO je rovněž důležitá předchozí exprese genu EPOR pro receptor EPO. Hladina EPOR ve tkáních předurčuje odpověď na samotný EPO a je v různých oblastech mozku různá. V hipokampu je např. jejich počet vyšší než ve ventrální limbické oblasti (Nadam J. et al., 2007). Subletální dávky škodlivých účinků okolního prostředí zvyšují toleranci mozkové tkáně k tomuto poškození (Gidday J.M., 2006, Ruscher K. et al., 2002) a mohou rovněž zvýšit expresi EPOR genu (Sancheza P. et al., 2009).

Ve snaze co nejvíce přizpůsobit experiment klinické situaci bylo hlavním cílem předkládané práce zjistit, zda farmakologická (EPO) podpora neurorehabilitace bezprostředně po vystavení hypobarické hypoxii povede ke zlepšení prostorové paměti a učení. Jednou z možností simulace multidisciplinární neurorehabilitace lidí (kombinace fyzioterapie, ergoterapie, kognitivního tréninku) je u potkanů pobyt v obohaceném prostředí. Jeho pozitivní vliv je popisován jak na funkční zlepšení motoriky a kognitivních funkcí (Grabowski M.M. et al., 1995, Ohlsson A.L. et Johansson B.B., 1995, Johansson B.B. et Ohlsson A.L., 1996, Gobbo O.L. et O'Mara S.M., 2004), tak na změny neuroanatomické a neurofyziologické (Greenough W.T. et Volkmar F.R., 1973, Rosenzweig M.R., 1978, Zhao L.R. et al. 2001, Johansson B.B. et Belichenko P.V., 2002, Pereira L.O. et al., 2008, 2009). V našem případě se potvrdilo, že statisticky významné rozdíly mezi skupinami zvířat jsou jen v případě kombinace pobytu v obohaceném prostředí s aplikací EPO. Samotné podávání erythropoetinu žádný statisticky prokazatelný význam nemělo. Zvířata bez EE se ve skupině s hypoxií dokonce zhoršovala. Tento fakt by podporoval hypotézu, že rozhodující vliv na konečný funkční stav zvířat (zlepšení učení a prostorové paměti) má hlavně kombinace pobytu v obohaceném prostředí s aplikací erythropoetinu, které zlepšuje výsledky samotného EE.

Tyto výsledky mohou souviset s tím, že EE, které měla zvířata již před aplikací EPO, mohlo zvýšit počet receptorů pro EPO (EPOR) a způsobit tak zlepšení konečného výsledku jeho působení (Rampon C. et al., 2000, Nithianantharajah J. et Hannan A.J., 2006). Teprve vazba EPO na EPOR umožňuje neuroprotektivní působení EPO, čímž úroveň genové exprese EPOR předurčuje odpověď tkáně na EPO (Chen Z.Y. et al., 2006, Yu X. et al., 2002).

Proto je výsledné působení erythropoetinu závislé na vzájemné součinnosti systému EPO a EPOR. Vzhledem k tomu, že množství receptorů EPOR je v různých oblastech mozku různé, hledají se cesty, jak jejich expresi zvýšit tam, kde je jejich množství nedostatečné. Ukazuje se, že je to možné například vystavením mozku opakované lehké hypoxii v kombinaci s EE (Sancheza P.M. et al., 2009). EE skutečně zvýšilo transkripci EPOR v dorsálním hipokampu a ventrální limbické oblasti a zvýšilo odolnost dorsálního hipokampu a neokortexu k hypoxii. Naproti tomu k maximální expresi EPOR došlo ve ventrálním hipokampu a ventrální limbické oblasti po opakované hypoxii nezávisle na tom, zda byla zvířata v EE či nikoliv. Z tohoto příkladu vyplývá, že celá situace je mnohem složitější a pravděpodobně existují další fyziologické a patofyziologické procesy, které selektivně zvyšují EPOR v určitých oblastech mozku, ale dosud nejsou identifikovány (Sancheza P.M. et al., 2009). Popsané výsledky podporují koncept, že optimalizace vlivu neuroprotektivních látek může vyžadovat předchozí aktivaci ovlivňovaných receptorů podprahovým opakovaným působením vnějšího prostředí (Lipton S.A., 2007).

Přestože podpora mechanismů neuroplasticity patří k velmi perspektivním a důležitým možnostem zlepšování terapie pacientů po poškození mozku, neměl by být zanedbáván ani fakt, že tato podpora může mít nejen účinky pozitivní, ale i negativní. Tímto negativním důsledkem může být aktivace některých nežádoucích příznaků jako například poruch hybnosti ve smyslu dystonií, vyvolání neuropatické bolesti či epileptických záchvatů (Carmichael S.T., 2010). Právě kombinace farmakologického ovlivnění neuroplasticity a funkčního tréninku by měla optimalizovat výsledný stav psychosenzomotorického potenciálu pacientů a jejich schopnost zapojit se do běžného života.

V posledních letech se v základním výzkumu výrazně pokročilo ve studiu mechanismů neuroplasticity. Existuje však velký nepoměr mezi těmito povzbudivými výsledky a jejich ověřováním v klinických pokusech a zaváděním do praxe zejména v oblasti neurorehabilitace. Floel a Cohen (Floel A. et Cohen L.G., 2006) se domnívají, že jedním z problémů nedostatečného převádění experimentálních výsledků do klinických studií je neschopnost správně sestavit paradigmatu klinických výzkumů, a proto shrnují řadu konkrétních postupů, které by mohly být pro tyto účely využity (např. behaviorální paradigmatu, protražovanou senzomotorickou stimulaci, deaferentaci, kortikální stimulaci atd.).

## 8. ZÁVĚR

V neurorehabilitaci se v současné době setkáváme se stále těžšími pacienty, kteří díky pokrokům v medicíně přežívají i taková postižení, která byla v minulosti neslučitelná se životem. Terapie získaných obtíží je velmi dlouhodobá a bohužel často ani přes intenzivní terapii multidisciplinárním rehabilitačním týmem nevede k dostatečnému zlepšení, které by umožnilo pacientův návrat zpět do běžného sociálního prostředí včetně jeho zařazení do práce. Přestože se současná neurorehabilitace snaží využívat všech dostupných metod ke zlepšování psychosenzomotorického potenciálu svých pacientů, nejsou její výsledky vždy povzbudivé. Hledají se proto cesty, jak podpořit mechanismy neuroplasticity v dlouhodobém rehabilitačním procesu.

Na základě vlastní dlouhodobé práce s pacienty po poškození mozku různé etiologie je zřejmé, že prognóza pacientů po difusním ischemicko-hypoxickém postižení je nejsložitější, proto byla tato skupina podrobněji sledována. Zjistilo se, že pacienti, kteří se dostanou dříve k multidisciplinárnímu rehabilitačnímu programu, mají lepší výsledky funkčního stavu než ti, kteří se k němu dostanou později. Tento fakt platil i ve skupině všech 164 pacientů vyšetřených testem FIM na začátku a na konci pobytu v Denním stacionáři. U podrobněji sledované skupiny v půlročním ambulantním terapeutickém programu bylo ale zjištěno, že i přes postupné zlepšování zůstává u většiny z nich porucha kognitivních funkcí, zejména krátkodobé vizuální paměti, a celkově se podle testu FIM zlepšují jen minimálně. Potvrzení skutečnosti, že časový faktor hraje velmi důležitou úlohu v procesu neurorehabilitace, tedy, že pacienti, kteří se dostanou dříve do rehabilitačního programu, dosahují lepších výsledků v soběstačnosti, je potvrzením předem stanovené hypotézy klinické části práce.

Jednou z cest, která by mohla zlepšit neuspokojivý výsledný funkční stav sledovaných pacientů, je farmakologická léčba, jmenovitě využití erythropoetinu.

Tato hypotéza byla ověřována v experimentálním modelu u potkanů vystavených hypobarické hypoxii. Na základě statisticky ověřených výsledků bylo potvrzeno, že kombinace pobytu v obohaceném prostředí a aplikace erythropoetinu zlepšuje konečný stav kognitivních funkcí potkanů. Samotný erythropoetin tento účinek nemá. Ukazuje se, že může být využit u řady poškození centrálního nervového systému, například u mozkových traumat, cévních mozkových příhod, demyelinizací, poškození míchy a dalších. Zdá se, že v praxi je

lepší využití jeho derivátů, které mají delší poločas účinku a nemají některé nežádoucí vlivy. V případě jeho klinického využití je však nutné brát v úvahu, že procesy, které probíhají v mozku po jeho poškození, jsou tak složité, že jedna látka může být současně podporující, ale i škodící, podle toho, v jakém okamžiku, jakému pacientovi, při jakém typu léze a při jaké další terapii ji podáváme. Podrobné zkoumání všech těchto souvislostí je velmi náročné a často zavádějící.

Moderní medicína se dostává ke stále složitějšímu poznávání vnitřního prostředí a hledá cesty, jak co nejvíce zlepšit výslednou kvalitu života pacientů. Právě spolupráce kliniků a vědců v experimentální medicíně by měla pomoci dále posunout jak odhalení příčin, tak terapii nejsložitějších zdravotních problémů.

# Příloha č. 1 Příklad záznamu vyšetření podle testu FIM

Jméno:  Datum narození:

**FUNKČNÍ MÍRA NEZÁVISLOSTI - FIM**  
Functional Independence Measures

Ú R O V N Ě	7	Úplná nezávislost	NEVÝŽADUJE ASISTENCI
	6	Modifikovaná nezávislost	
	5	Částečná závislost	VÝŽADUJE ASISTENCI
	4	Supervize (dohled)	
	4	Minimální asistence (klient = 75% +)	
	3	Mírná asistence (klient = 50% +)	
	2	Úplná závislost	
1	Maximální závislost (klient = 25% +)		
1	Celková závislost (klient = 0% +)		

	Přijem	Propuštění
<b>Osobní hygiena</b>		
A Přijem jídla	6	6
B Osobní hygiena	4	4
C Koupání	5	5
D Oblékání - horní polovina těla	4	5
E Oblékání - dolní polovina těla	4	5
F Použití WC	7	7
<b>Kontrola sfinkterů</b>		
G Kontrola močení část I	7	7
část II		
H Kontrola vyprazdňování část I	7	7
část II		
<b>Přesuny</b>		
I Postel, židle, vozík	7	7
J Toaleta	7	7
K Vana, sprchový kout	5	5
<b>Lokomoce</b>		
L Chůze/jízda na vozíku W C	7	7
M Schody	7	7
<b>Komunikace</b>		
N Rozumění A V	5	5
O Exprese (vyjadřování) V N	6	6
<b>Sociální schopnosti</b>		
P Sociální interakce	5	5
Q Řešení problémů	4	4
R Paměť	4	5
<b>Celkové FIM</b>		
celkový počet bodů:	101	104
celkový průměr:	5,61	5,78
průměr A-M:	5,92	6,08
průměr N-R:	4,80	5,00
<b>Vypracoval (a):</b>		

**VÝSLEDKY FIM:**

Komentář

## LITERATURA

1. **Affolter, F., Stricker, E.** Perceptual processes as prerequisites for complex human behavior. Bern: Huber-Verlag, 1980. 179 s.
2. **Abe, K., Yoshida, S., Watson, B.D., Busto, R., Kogure, K., Ginsberg, M.D.**  $\alpha$ -Tocopherol and ubiquinones in rat brain subjected to decapitation ischemia. *Brain Res.*, 1983, 273, 166-169.
3. **Albensi, B.C.** Models of brain injury and alterations in synaptic plasticity. *J. Neurosci. Res.*, 2001, 65, 279-283.
4. **Altman, J., Das, D.G.** Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.*, 1965, 124, 319-335.
5. **Angerová, Y., Švestková, O., Vele, F., Süssová, J., Sládková, P., Lippertová-Grünerová, M.** Neurorehabilitace, *Cesk. Slov. Neurol. N.*, 2010, 73, 106(2), 131-135.
6. **Anstey, K., Christensen, H.** Education, activity, health, blood pressure and apolipoprotein E as predictors of cognitive change in old age: a review. *Gerontology*, 2000, 46 (3), 163-177.
7. **Arvidsson, A., Kokaia, Z., Lindvall, O.** N-methyl-D-aspartate receptor-mediated increase of neurogenesis in adult rat dentate gyrus following stroke. *Eur. J. Neurosci.*, 2001, 14, 10-18.
8. **Asanuma, H., Stoney, S.D., Abzug, C.** Relationship between afferent input and motor out-tow in cat motor sensory cortex. *J. Neurophysiol.*, 1968, 31, 680-681.
9. **Asanuma, H., Arissian, K.** Experiments on functional role of peripheral input to motor cortex during voluntary movements in the monkey. *J. Neurophysiol.*, 1984, 152, 212-227.
10. **Ayres, A.J., Tickle, L.S.** Hyperresponsivity to touch and vestibular stimuli as a predictor of positive response to sensory integration procedures by autistic children. *Am. J. Occup. Ther.*, 1980, 34(6), 375-381.
11. **Baciu, I., Oprisiu, C., Derevenco, P., Vasile, V., Muresan, A., Hriscu, M., Chis, I.** The brain and other sites of erythropoietin production. *Rom. J. Physiol.*, 2000, 37, 3-14.
12. **Belayev, A., Saul, I., Liu, Y., Zhao, W., Ginsberg, M.D., Valdes, M.A., Busto, R., Belayev, L.** Enriched environment delays the onset of hippocampal damage after global cerebral ischemia in rats. *Brain Res.*, 2003, 964(1), 121-127.
13. **Benett, E.I., Rosenzweig, M.R., Diamond M.C.** Rat brain: effects of environmental enrichment on wet and dry weights. *Science*, 1969, 163, 825-826.
14. **Biernaskie, J., Corbett, D.** Enriched rehabilitative training promotes improved forelimb motor function and enhanced dendritic growth after focal ischemic injury. *J. Neurosci.*, 2001, 21(14), 5272-5280.
15. **Biernaskie, J., Chernenko, G., Corbett, D.** Efficacy of Rehabilitative Experience Declines with Time after Focal Ischemic Brain Injury. *J. Neurosci.*, 2004, 25(5), 1245-1254.
16. **Björklund, A., Stenevi, U.** Regeneration of monoaminergic and cholinergic neurons in the mammalian central nervous system. *Physiol. Rev.*, 1981, 59, 62-100.
17. **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. U.S.A.*, 1990, 87, 5568-5572.
18. **Bobath, B.** Adult hemiplegia: evaluation and treatment. 3.vyd., Londýn: Heinemann Medical Books, 1990. 190s.

19. **Boyeson, M.G., Jones, J.L., Harmon, R.L.** Spraying of motor function after cortical injury. A new perspective on underlying mechanisms. *Arch. Neurol.*, 1994, 51 (4), 405-414.
20. **Brasil-Neto, J.P., Cohen, L.G., Pascual-Leone, A., Jabir, F.K., Wall, R.T., Hallett, M.** Rapid reversible modulation of human motor outputs after transient deafferentation of the forearm: a study with transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 1992, 42(7), 1302-1306.
21. **Brines, M.L., Patel, N.S., Villa, P., Brines, C., Mennini, T., de Paola, M., Erbayraktar, S., Sepodes, B., Thiemermann, Ch., Ghezzi, P., Yamin, M., Hand, C.C., Xie, Q.W., Coleman, T., Cerami, A.** Nonerythropoietic, tissue protective peptides derived from the tertiary structure of erythropoietin. *Proc. Nat. Acad. Sci, U.S.A.*, 2008, 105, 10925-10930.
22. **Brines, M.L., Ghezzi, P., Keenan, S.** Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A.*, 2000, 97, 10526-10531.
23. **Brines, M.L., Grasso, G., Fiordaliso, F., Sfacteria, A., Ghezzi, P., Fratelli, M., Latini, R., Xie, Q.W., Smart, J., Su-Rick, C.J., Pobre, E., Diaz, D., Gomez, D., Hand, C., Coleman, T., Cerami, A.** Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common  $\beta$ -subunit heteroreceptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2004, 101, 10925-10930.
24. **Brines, M.L., Cerami, A.** Erythropoietin-mediated tissue protection: reducing collateral damage from the primary injury response. *J. Intern. Med.*, 2008, 264, 405-432.
25. **Brodal, P.** Centrálny nervový systém, štruktúra a funkcia. Martin: Osveta, 2008. 517s.
26. **Butefisch, C.M., Davis, B.C., Wise, S.P., Sawaki, L., Kopylev, L., Classens, E., Cohen, L.E.** Mechanisms of use-dependent plasticity in the human motor cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2000, 97, 3661-3665.
27. **Cajal, R.** Degeneration and regeneration of the nervous system. London: Oxford university press, 1928.
28. **Carmichael, S.T.** Translating the frontiers of brain repair to treatments: starting not to break the rules. *Neurobiol. Dis.*, 2010, 37(2): 237.doi:10.1016/j.nbd.2009.09.005.
29. **Carnot, P., Deflandre, C.** Sur l'activité hémopoïétique des différents organes au cours de la régénération du sang. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1906, 143, 432-435.
30. **Cassina, P., Peluffo, H., Pehar, M., Martinez-Palnia, L., Ressaia, A., Beckman, J.J., Estevez, A.G., Barbieto, L.** Peroxynitrite trigger a phenotypic transformation in spinal cord astrocytes that induces motor neurons apoptosis. *J.Neurosci.Res.*, 2002, 67, 21-29.
31. **Catellani, R., Tanzi, F., Lombardi, F., Mazzucchi, A.** Competitive re-employment after severe Traumatic Brain injury: clinical, cognitive and behavioural predictive variables. *Brain inj.*, 2002, 16(1), 51-64.
32. **Chen, Z.Y., Warin, R., Noguchi, C.T.** Erythropoietin and normal brain development: Receptor expression determines multi-tissue response. *Neurodegener. Dis.*, 2006(3), 68-75.
33. **Cherian, L., Goodman, J.C., Robertson, C.** Neuroprotection with erythropoietin administration following controlled cortical impact injury in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007, 322, 789-794.
34. **Cherian, L., Goodman, J.C., Robertson, C.** Improved cerebrovascular function and reduced histological damage with darbepoetin alfa administration after cortical impact injury in rats. *JPET fast forward*, 2011 DOI:10.1124/jpet.110.176602.

35. **Chleide, E., Bruhwyler, J., Mercier, M.** Enhanced resistance effect of piracetam upon hypoxia-induced impaired retention of fixed interval reponding in rats. *Pharmacol Biochem. Behav.*, 1991, 40, 1-6.
36. **Choi, D.W.** Cerebral Hypoxia: Some New Approaches and Unanswered Questions. *J. Neurosc.* 1990, 10(8), 2493-2501.
37. **Choi, S.H., Li, Y., Parada, L.F., Sisodia, S.S.** Regulation of hippocampal progenitor cell survival, proliferation and dendritic development by BDNF. *Mol. Neurodegener.*, 2009, 4,52, doi: 10.1186/1750-1326-4-52.
38. **Ciceron, K.D.** Cognitive rehabilitation. In: Zasler, N.D., Katz, D. I., Zafonten, R. D. Brain Injury Medicine, Principles and practice. New York: Demos Medical Publishing, LLC, 2007, 765-777.
39. **Clark, S.A., Allard, T., Jenkins, W.M., Merzenich, M.M.** Receptive fields in the body-surface map in adult cortex defined by temporally correlated inputs. *Nature*, 1988, 332 (6163), 444-445.
40. **Colebatch, J.G., Deiber, M.P., Passingham, R.E., Friston, K.J., Frackowiak, R.L.** Regional cerebral blood flow during voluntary arm and hand movements in human subjects. *J.Neurophysiol.*, 1991, 65(6), 392-401.
41. **Coleman, T.R., Westenfelder, Ch., Togel, F.E., Yang, Y., Hu, Z., Stevenson, L., Leuvenink, H.G.D., Ploeg, R.J., d'Uscio, L.V., Katusic, Z.S., Ghezzi, P., Zanetti, A., Kaushansky, K., Fox, N.E., Cerami, A., Brines, M.** Cytoprotective doses of erythropoietin or carbamylated erythropoietin have markedly different procoagulant and vasoactive activities. *PNAS* 2006, 103(15), 5965- 5970.
42. **Cope, D.N., Cole, J.R., Hall, K.M., Barkan, H.** Brain injury: analysis of outcome in a post-acute rehabilitation system.Part I: General analysis. *Brain Inj.*, 1991, 5(2), 111-125.
43. **Cummings, J.L., Tomiyasu, U., Read, S., Benson, F.** Amnesia, with hippocampal lesion after cardiopulmonary arrest. *Neurology*, 1984, 34, 676-681.
44. **Dayer, A.G., Ford, A.A., Cleaver, K.M., Yassaee, M., Cameron, H.A.** Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol*, 2003,460:563-572.
45. **Digicaylioglu, M., Bichet, S., Marti, H.H., Wenger, R.H., Rivas, L.A., Bauer, C., Gassmann, M.** Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mous brain. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1995, 92, 3717-3720.
46. **Dobkin, J.A., Levine, R.L., Lagreze, H.L., Dulli, D.A., Nickles, R.J., Rowe, B.R.** Evidence for transhemispheric diaschisis in unilateral stroke. *Arch.Neurol.*, 1989, 46 (12), 1333-1336.
47. **Donoghue, J.P., Leibovic, S., Sanes, J.N.** Organization of the forelimb area in squirrel monkey motor cortex: representation of digit, wrist, and elbow muscles. *Exp.Brain Res.*, 1992, 89 (1), 1-19.
48. **Donoghue, J.P., Suner, S., Sanes, J.N.** Dynamic organization of primary motor cortex output to target muscles in adult rats. II. Rapid reorganization following motor nerve lesions. *Exp.Brain Res.*, 1990, 79(3), 492-503.
49. **Drysdale, E.E., Grubb, N.R., Fox, K.A., O'Carroll, R.E.** Chronicity of memory impairment in long-term out-of-hospital cardiac arrest survivors. *Resuscitation*, 2000, 47(1), 27-32.
50. **Du, J.Y., Li, X.Y., Zhuang, Y., Wu, X.Y., Wang, T.** Effects of acute mild and moderate hypoxia on human short memory. *Space Med. Eng.*, 1999, 12, 270-273.
51. **Emir, M., Ozisik, K., Cagli, K., Misirlioglu, M., Ozisik, P., Iscan, Z., Yildirim, E., Kilinc, K., Sener, E.** Effect of erythropoietin on bcl-2 gene expression in rat cardiac myocytes after traumatic brain injury. *Transplant. Proc.*, 2004, 36, 2935-2938.



52. Ernst, E. A review of stroke rehabilitation and physiotherapy. *Stroke*, 1990, 21, 1081-1085.
53. Eriksson, P.S., Perfilieva, E., Bjork-Eriksson, T., Alborn, A.M., Nordborg, C., Peterson, D.A., Gage, F.H. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat. Med.*, 1998, 4, 1313-1317.
54. Faden, A.I., Demediuk, P., Vink, R. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science*, 1989, 244, 98-800.
55. Faktorová, M. Vyšetření ergoterapeutem a terapie kognitivních a percepčních poruch u pacientů po postižení mozku. In: Kol. autorů, *Neurologie 2003*. Praha: Triton, 2003. 386 s
56. Fertl, E., Vass, K., Sterz, F., Gabriel, H., Auff, E. Neurological rehabilitation of severely disabled cardiac arrest survivors. Part I. Course of post-acute inpatient treatment. *Resuscitation.*, 2000, 47, 231-239.
57. Fishbane, S., Nissenson, A.R. The new FDA label for erythropoietin treatment: How does it affect hemoglobin target? New FDA label for erythropoietin treatment. *Kidney International*, 2007, 72, 805-813.
58. Fisher, J.W. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp. Biol. Med.*, 2003, 228, 1-14.
59. FitzGerald, A., Hosakere A., Prior, A., McNeill, E., Pentland, B. Anoxic brain injury: Clinical patterns and functional outcomes. A study of 93 cases, *Brain Inj.*, 2010, 24(11), 1311-1323.
60. Floel, A., Cohen, L.G. Translational studies in neurorehabilitation: From bench to bedside. *Cog. Behav. Neurol.*, 2006, 19(1), 1-10.
61. Foerster, O. Übungstherapie. In: Blumke, O., Foerster, O. *Handbuch der Neurologie*. Berlin:Springer, 1936, 316-414.
62. Freyaldenhoven, T.E., Ali, S.F., Schmued, L.C. Systemic administration of MPTP induced thalamic neuronal degeneration in mice. *Brain Res.*, 1997, 759(1), 9-17.
63. Fuhrer, M.J. Overview of clinical trials in medical rehabilitation: impetuses, challenges, and needed future directions. *Am.J.Phys.Med.Reh.*, 2003, 82 (10 Suppl), 8-15.
64. Gidday, J.M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2006, 7, 437-448.
65. Globus, M.Y.T., Busto, R., Dietrich, W., Martinez, E., Valdes, I., Ginsberg, M.D. Intra ischemic extracellular release of dopamine and glutamate is associated with striatal vulnerability to ischemia. *Neurosci. Lett.*, 1988, 91, 36-40.
66. Globus, M.Y.T., Busto, R., Dietrich, W., Martinez, E., Valdes, I., Ginsberg, M.D. Direct evidence for acute and massive norepinephrine release in the hippocampus during transient ischemia. *J. Cerebr. Blood F. Met.*, 1989, 9, 892-896.
67. Gobbo, O.L., O'Mara, S.M. Impact of enriched environment housing on brain-derived neurotrophic factor and on cognitive performance after a transient global ischemia. *Behav. Brain Res.*, 2004, 152, 231-241.
68. Gonzalves, C.A., Concli, L.M., Nardin, P. Biological and methodological features of the measurement of S100B, a putative marker of brain injury. *Clin. Biochem.*, 2008, 41, 755-763.
69. Gozal, D., Daniel, J.M., Dohanich, G.P. Behavioral and anatomical correlates of chronic episodic hypoxia during sleep in rat. *J. Neurosci.*, 2001, 21, 2442-2450.
70. Grabowski, M.M., Sorensen, J.C., Mattson, B., Zimmer, J., Johansson, B.B. Influence of an enriched environment and cortical grafting on functional outcome in brain infarcts of adults rats. *Exp. Neurol.*, 1995, 133, 96-102.

71. **Grasso, G., Graziano, F., Sfacteria, A., Carletti, F., Meli, F., Maugeri, R., Passalacqua, M., Certo, F., Fazio, M., Buemi, M., Iacopino, D.G.** Neuroprotective effect of erythropoietin and darbepoetin alfa after experimental intracerebral hemorrhage. *Neurosurgery*, 2009, 65, 763-769.
72. **Grasso, G., Sfacteria, A., Meli, F., Fodale, V., Buemi, M. and Iacopino, D.G.** Neuroprotection by erythropoietin administration after experimental traumatic brain injury. *Brain Res*, 2007, 1182, 99-105.
73. **Greenough, W.T., Volkmar, F.R.** Pattern of dendritic branching in occipital cortex of rats reared in complex environment. *Exp.Neurol.*,1973, 10, 491-504.
74. **Graybiel, A.M.** Building action repertoires: memory and learning functions of the basal ganglia. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 1995, 5, 733-741.
75. **Grubb, N.R., Fox, K.A., Smith, K., Best, J., Blane, A., Ebmeier, K.P., Michael, F., Glabus, M.F., O'Carroll, R.E.** Memory impairment in out-of-hospital cardiac arrest survivors is associated with global reduction in brain volume, not focal hippocampal injury. *Stroke*, 2000, 31, 1509-1514.
76. **Hagan, J.J., Beaughard, M.** The effect of fore brain ischaemia on spatial learning. *Behav.Brain res.*, 1990, 41, 151-160.
77. **Hale, B.S., Kadar, T., Marlowe, B.E., Stillman, M.J., Galli, R.L., Levy, A., Devine, J.A., Lieberman, H.R.** Morphological alterations in the hippocampus following hypobaric hypoxia. *Human Exp.Toxicol.*, 1996, 15, 312-319.
78. **Hallett M.** Transcranial magnetic stimulation and the human brain. *Nature*. 2000, 406, 147-150.
79. **Hamilton, B.B., Laughlin, J.A., Granger, C.V., Kayton, R.M.** Interrater agreement of the seven level Functional Independence Measure (FIM). *Arch. Phys.Med. Rehabil.*, 1991, 72, 790.
80. **Hasselmo, M.E., Wyble, B.P.** Free recall and recognition in a network model of the hippocampus: simulating effects of scopolamin on human memory function. *Behav. Brain Res.*, 89, 1-34.
81. **Heizmann, C.W., Fritz, G., Schafer, B.W.** S100 proteins: structure, function and pathology. *Front. Biosci*, 2002, 7, 1356-1368.
82. **Holzer, M., Bernard, S.A., Hachimi-Idrissi, S., Roine, R.O., Sterz, F., Müllner, M.** On behalf of the Collaborative Group on Induced Hypothermia for Neuroprotection After Cardiac Arrest. Hypothermia for neuroprotection after cardiac arrest: Systemic review and individual patient data meta - analysis. *Crit. Care Med.*, 2005, 33(2), 414-418.
83. **Hummelsheim, H.** Die rehabilitation zentraler Laehmungen-eine Standortbestimmung. *Aktuelle Neurologie*, 1996, 23, 7-14.
84. **Jacobs, K.M., Donoghue, J.P.** Reshaping the cortical motor map by unmasking latent intracortical connections. *Science*, 1991, 251(4996), 944-947.
85. **Jensen, M.S., Lambert, J.D.C., Johansen, F.F.** Electrophysiological recordings from rat hippocampus slices following in vivo brain ischemia. *Brain.Res.*,1991, 544, 166-175.
86. **Johansson, B.B., Belichenko, P.V.** Neuronal plasticity and dendritic spines: Effect of environmental enrichment on intact and postischemic brain *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002, 22, 89-96.
87. **Johansson, B.B., Ohlsson, A.L.,** Environment, social interaction and physical activity as determinants of functional outcome after cerebral infarction in the rat. *Exp.Neurol.* 1996, 139, 322-327.

88. **Kadar, T., Dachirs, S., Hale, B.S., Levy, A.** Sub regional hippocampal vulnerability in various animal models leading to cognitive dysfunction. *Neural Trans.*, 1998, 105, 987-1004.
89. **Karni, A., Meyer, G., Jezard, P., Adams, M., Turner, R., Ungerleider, L.** Functional MRI evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning. *Nature*, 1995, 377, 155-158.
90. **Keller, A., Arissian, K., Asanuma, H.** Synaptic proliferation in the motor cortex of adult cats after long-term thalamic stimulation. *J. Neurophysiol.*, 1992, 68(1), 295-308.
91. **Kempermann, G., Kun, H.G., Gage, F.H.** More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, 1997, 386, 493-495.
92. **Kesler, S.R., Adams, H.F., Blasey, C.M., Bigler, E.D.** Premorbid intellectual functioning, education, and brain size in traumatic brain injury: an investigation of the cognitive reserve hypothesis. *Appl. Neuropsychol.*, 2003, 10 (3), 153-162.
93. **Kirino, T.** Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischaemia. *Brain Res.*, 1982, 239, 57-69.
94. **Kozler, P.** Experimentální *in vivo* modely ischemie mozku. *Čs. Fyziol.*, 2002, 51(2), 61-68.
95. **Krech, D., Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L.** Effects of environmental complexity and training on brain chemistry. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 53, 1960, 509-519.
96. **Kulišťák, P.** Model neuropsychologické rehabilitace po úrazech hlavy. In: Preiss, M., Kučerová, H. *Neuropsychologie v neurologii*. Praha: Grada Publishing, 2006, 331-340.
97. **Kumral, A., Ozer, E., Yilmaz, O., Aghisaroglu, M., Gokmen, N., Duman, N., Ulukus, C., Genc, S., Ozkan, H.** Neuroprotective effect of erythropoietin on hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol. Neonate*, 2003, 83, 224-228.
98. **Kumral, A., Uysal, N., Tugyan, K., Sonmez, A., Yilmaz, O., Gokmen, N., Kiray M., Genc, S., Duman, N., Koroglu, T.F., Ozkan, H., Genc, K.** Erythropoietin improves long-term spatial memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Behav. Brain Res.*, 2004, 153, 77-86.
99. **Lagrze, H.L., Levine, R.L., Pedula, K.L., Nickles, R.J., Sunderland, J.S., Rowe, B.R.** Contralateral flow reduction in unilateral stroke: evidence for transhemispheric diaschisis. *Stroke*, 1987, 18(5), 882-886.
100. **Langmeier, M., Maresova, D.** Intermittent hypobaric hypoxia during development-morphologic changes in the neocortex and hippocampus. *Cesk Fyziol*, 1998, 47, 62-66.
101. **Langmeier, M., Pokorný, J., Mareš, J., Mareš, P., Trojan, S.** Effects of prolonged hypobaric hypoxia during postnatal development on myelination of the corpus callosum in rats. *J. Hirnforsch.*, 1987, 28, 385-395.
102. **Langmeier, M., Pokorný, J., Mareš, J., Trojan, S.** Changes of the neuronal structure produced by prolonged hypobaric hypoxia in infant rats. *Biomed. Biochem. Acta*, 1989, 48, 204-207.
103. **Lee, O.K.S, Ko, Y.Ch., Kuo, T.K., Chou, S.H., Li, H.J., Chen, W.M., Chen, T.H., Su, Y.** Fluvastatin and lovastatin but not pravastatin induce neuroglial differentiation in human mesenchymal stem cells. *J. Cell. Biochem.*, 2004, 93, 917-928.
104. **Leist, M., Ghezzi, P., Grasso, G., Bianchi, R., Villa, P., Fratelli, M., Savino, C., Bianchi, M., Nielsen, J., Gerwien, J., Kaloupek, P., Larsen, A.K., Helboe, L., Christensen, S., Pedersen, L.O., Nielsen, M., Torup, L., Sager, T., Sfacteria, A., Erbayraktar, S., Erbayraktar, Z., Gokmen, N., Yilmaz, O., Cerami-Hand, C., Xie, Q.W., Coleman, T., Ceram, A., Brkneš, M.** Derivatives of erythropoietin that are tissue protective but not erythropoietic. *Science*, 2004, 305, 239-242.

105. **Levi-Montalcini, R.** Nerve growth factor: its role in growth, differentiation and function of the sympathetic adrenergic neuron. *Prog. Brain Res.*, 1976, 45(76), 235-258.
106. **Levi-Montalcini, R.** The nerve growth factor 35 years later. *Science*, 1987, 237, 1154-1162.
107. **Levin, S.** Anoxic-ischemic encephalopathy in rats. *Amer. J. Pathol.*, 1960, 36, 1-17.
108. **Li, X.Y., Wu, X.Y., Fu, C., Shen, X.F., Wu, Y.H., Wang, T.** Effects of acute mild and moderate hypoxia on human mood state. *Space Med. Med. Eng.(Beijing)* 2000 a, 13, 1-5.
109. **Li, X.Y., Wu, X.Y., Fu, C., Shen, X.F., Yang, C.B., Wu, Y.H.** Effects of acute exposure to mild or moderate hypoxia on human psychomotor performance and visual-reaction time. *Space Med. Med. Eng.(Beijing)*, 2000 b, 13, 235-239.
110. **Lippert-Grüner, M., Maegele, M., Garbe, J., Angelov, D.N.** Late effects of enriched environment (EE) plus multimodal early stimulation (MEOS) after traumatic brain injury in rats: ongoing improvement of neuromotor function despite sustained volume of CNS lesion. *Exp. Neurol.*, 2007 a, 203, 82-94.
111. **Lippert-Grüner, M., Maegele, M., Pokorný, J., Angelov, D.N., Švestková, O., Wittner, M., Trojan, S.** Early rehabilitation model shows positive effects on neural degeneration and recovery from neuromotor deficits following traumatic brain injury. *Physiol. Res.*, 2007 b, 56, 359-368.
112. **Lippertová-Grünerová, M.** Neurorehabilitace. Praha: Galen, 2005. 350s.
113. **Lippertová-Grünerová, M.** Trauma mozku a jeho rehabilitace. Praha: Galen, 2009. 148s.
114. **Lippertová-Grünerová, M., Švestková, O., Angerová, Y., Brtnická, P., Pfeiffer J.** Mechanismy neuroplasticity a jejich dopad na rehabilitaci pacientů po poškození mozku. *Eurorehab*, 2006, 16(3-4), 78-83.
115. **Lipton, S.A., Rosenberg, P.A.** Excitatory amino acids as a final pathway in neurologic disorders. *New England J. of Med.*, 1994, 330(9), 613-622.
116. **Lipton, S.A.** Pathologically activated therapeutics for neuroprotection. *Nat. Rev. Neurosci*, 2007, 8, 803-808.
117. **Lisman, J.E.** relating hippocampal circuitry to function: recall of memory sequences by reciprocal dentate CA3 interactions. *Brain Res.*, 1999, 22, 233-242.
118. **Lorincz, A., Buzsaki, G.** Two phase computational model training long-term memories in the entorhinal-hippocampal region. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2000, 911, 83-111.
119. **Lowry, O.H., Passoneau, J.V., Hasselberger, F.X., Schulz, D.W.** Effect of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. *J. Biol. Chem.*, 1964, 249, 18-30.
120. **Lu, D., Goussev, A., Chen, J., Pannu, P., Li, Y., Mahmood, A., Chopp, M.** Atorvastatin reduces neurological deficit and increase synaptogenesis, angiogenesis and neuronal survival in rats subjected to traumatic brain injury. *J. Neurotrauma*, 2004, 21, 21-32.
121. **Mackay, L.E., Bernstein, B.A., Chapman, P.E., Morgan, A.S., Milazzo, L.S.** Early intervention in severe head injury, long-term benefits of a formalized program. *Arch. Phys. Med. Rehab.*, 1992, 73(7), 635-641.
122. **Maeda, F., Gangitano, M., Thall, M., Pascual-Leone, A.** Inter- and intra-individual variability of paired - pulse curves with transcranial magnetic stimulation (TMS). *Clin. Neurophysiol.*, 2002, 113, 376-382.
123. **Maiti, P., Singh, S.B., Muthuraju, S., Veleri, S., Ilavazhagan, G.** Hypobaric hypoxia damages the hippocampal pyramidal neurons in the rat brain. *Brain res*, 2007, 1175, 1-9.

124. **Markowitsch, H.J., Weber-Luxemburger, G., Ewald, K., Kessler, J., Heiss, W.D.** Patients with heart attacks are not valid models for medial temporal lobe amnesia: a neuropsychological and FDG-PET study with consequences for memory research. *Eur. J. Neurol.*, 1997, 4, 178-184.
125. **Marti, H.H.** Erythropoietin and the hypoxic brain. *J.Exp.Biol.*, 2004,207, 3233-3242.
126. **Mc Clure, M.M., Threlkeld, S.W., Fitch, R.H.** Auditory processing and learning memory following erithropoitin administration in neonatally hypoxic-ischaemic injured rats. *Brain Res.*, 2007, 1132, 203-209.
127. **McIntosh, T.K., Vink, R., Noble, L., Yamakami, I., Fernyak, S., Soares, H., Faden, A.L.** Traumatic brain injury in he rat: characterization of a lateral fluid - percussion model. *Neuroscience*, 1989, 28, 233- 244.
128. **Meilli, R.** Lehrbuch der Psychologischen Diagnostik. Bern,Stuttgart: Huber, 1955, 448 s.
129. **Moore, J.** Neuroanatomical considerations relating to recovery of function following brain injury, In: Bach-y-Vita, P. Recovery of function: theoretical considerations for brain injury rehabilitation. Bern: Huber, Verlag, 1980, 9-91.
130. **Munk, H.** Zur Physiologie der Grosshirnrinde. *Berliner klin. Wochenschrift*, 1877, 14, 505-506.
131. **Nadam, J., Navarro, F., Sanchez, P., Moulin, C., Georges, B., Laglaine, B., Pequignot, J.M., Morales, A., Ryvlin, P., Bezin, L.** Neuroprotective effects of erythropoietin in the rat hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus. *Neurobiol. Dis.*, 2007, 25, 412-426.
132. **Naghdi, N., Majlessi, N., Bozorgmehr, T.** The effect of anisomysin (a protein synthesis inhibitor) on spatial learning memory in CA1 region of rat hippocampus. *Behav. Brain. Res.*, 2003, 139, 69-73.
133. **Nakajima, W., Ishida, A., Lange, M.S., Gabrielson, K.L., Wilson, M.A., Martin, L.J., Blue, M.E., Johnston, M.V.** Apoptosis has a prolonged role in the neurodegeneration after hypoxic ischemia in the newborn rat. *J. Neurosci*, 2000, 20(21), 7994-8004.
134. **Neumar, R.W., Nolan, J.P., Adrie, Ch., Aibiki, M., Berg, R.A., Böttiger, B.W., Callaway, C., Clark, R.S.B., Geocadin, R.G., Jauch, J.C., Kern, K.B., Laurent, I., Longstreth, W.T., Merchant, R.M., Morley, P., Morrison, L.J., Nadkarni, V., Peberdy, M.A., Rivers, E.P., Rodriguez-Nunez, A., Sellke, F.W., Spaulding Ch., Sunde, K., Vanden Hoek T.** Post-Cardiac Arrest syndrome, ILCOR Consensus statement. *Circulation*, 2008, 118, 2452-2483.
135. **Nithianantharajah, J., Hannan, A.J.** Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2006, 7, 697-709.
136. **Nyberg, L., Macintosh, A.R., Tulving, E.** Functional brain imaging of episodic and semantic memory with positron emission tomography. *J. Mol. Med.*, 1998, 76, 48-53.
137. **Ohlsson, A.L., Johansson, B.B.** Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats. *Stroke*, 1995, 26, 644-649.
138. **Olson, A.K., Eadie, B.D., Ernst, C., Christie, B.R.** Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus*, 2006, 16, 250-260.
139. **Osredkar, D., Sall, J.W., Bickler, P.E., Ferriero, D.M.** Erythropoietin promotes hippocampal neurogenesis in in vitro models of neonatal stroke. *Neurobiology of Disease*, 2010, 38, 259-265.
140. **Palmer, T.D., Willhoite, A.R., Gage, F.H.** Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J.Comp. Neurol.*, 2000, 425, 479-494.

141. **Pappata, S., Mazoyer, B., Train Dinh, S., Cambon, H., Levasseur, M., Baron, J.C.** Effect, of capsular or thalamic stroke on metabolism in the cortex and cerebellum: a positron tomography study. *Stroke a journal of cerebral circulation*, 1990, 21 (4): 519-524.
142. **Pascual-Leone, A., Grafoman, J., Clark, K. et al.** Procedural learning in Parkinson's disease and cerebellar degeneration. *Ann. Neurol.*, 1993, 34, 594-602.
143. **Pascual-Leone, A., Nguyet, D., Cohen, L.G., Brasil-Neto, J.P., Cammarota, A., Hallet, M.** Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills. *J. Neurophysiol.*, 1995, 74, 1037-1045.
144. **Pascual-Leone, A., Torres, F.** Plasticity of the sensorimotor cortex representation of the reading finger in Braille readers. *Brain* 1993, 116(1), 39-52.
145. **Pavlidis, C., Miyashita, E., Asanuma, H.** Projection from the sensory to the motor cortex is important in learning motor skills in the monkey. *J. Neurophysiol.*, 1993, 70, 733-741.
146. **Pavlů, D.** Speciální fyzioterapeutické koncepty a metody I. Brno: *CERM*, 2002. 239s.
147. **Pearson, K.** Motor systems. *Curr Opin Neurobiol.*, 2000, 10, 649-654.
148. **Pereira, L.O., Nabinger, P.M., Starpasson, A.C., Nardin, P., Gonsalves, C.A., Siqueira, I.R., Netto, C.A.** Long term effects of environmental stimulation following hypoxia-ischemia on the oxidative state and BDNF levels in rat hippocampus and frontal cortex. *Brain Res.*, 2009, 1247, 188-195.
149. **Pereira, L.O., Szrappasson, A.C.P., Nobinger, P.M., Achaval, M., Netto, C.A.** Early enriched housing results in partial recovery of memory deficits in female, but not male, rats after neonatal hypoxia-ischemia. *Brain Res.*, 2008, 1218, 257-266.
150. **Pokorný, J.** Reaction of neurones in the dentate gyrus to the interruption of intrahippocampal pathways. *Phys. Res.*, 1996, 45 3OP.
151. **Pokorný, J., Pečová, Y., Trojan, S., Langmeier, M.** Hypoxia and development of interneurons of the rat hippocampus. *Physiol. Bohemoslov.*, 1989, 38, 215-222.
152. **Pokorný, J., Sivenius, J.** Sensitivity to global brain ischaemia during postnatal development of rats. *Physiol.Res.* 1995, 44, 1P.
153. **Pokorný, J., Trojan, S., Fischer, J.** Changes of the rat hippocampus after prolonged postnatal hypoxia. *Physiol. Bohemosl.*, 1982, 31, 193-202.
154. **Pokorný, J., Trojan, S.** The Development of hippocampal structure and how it is influenced by hypoxia. *Acta Univ. Carol. Med. Monogr.*, 1986, 113, 1-79.
155. **Pulsinelli, W.A., Brierley, J.B.** A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*, 1979, 10, 267-272.
156. **Pußwald, G., Fertl, E., Falzl, M., Auf, E.** Neurological rehabilitation of severely disabled cardiac arrest survivors. Part II. Life situation of patients and families after treatment. *Resuscitation*, 2000, 47, 231-239.
157. **Raisman, G.** Neural plasticity in the septal nuclei of the adult rat. *Brain Res.*, 1969, 14, 25-48.
158. **Rampon, C., Jiang, C.H., Dong, H., Tang, J.P., Lockhart, J.P., Schulz, P.G., Tsien, T.Z., Hu, J.** Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2000, 97, 12880-12884.
159. **Rao, S.M., Binder, J.R., Bandettini, P.A., Hammeke, T.A., Yetkin, T.Z., Jesmanowicz, A, Lisk, L.M., Morris, G.L., Mueller, W.M., Estkowsli, L.D., Wong, E.C., Houghton, V.M., Hyde, J.S.** Functional magnetic resonance imaging of complex human movements. *Neurology*, 1993, 43(11), 2311-2318.
160. **Remple, M.S., Bruneau, R.M., Van den Berg, P.M., Goertzen, C., Kleim, J.A.** Sensitivity of cortical movement representations to motor experience: Evidence that

- skill learning but not strenght training induces cortical reorganization, *Behav. Brain Res.*, 2001, 123, 133-141.
161. **Rioutl-Pedotti, M.S., Friedman, D., Donoghue, J.P.** Learning-Induced LTP in Neocortex. *Science*, 2000, 533, DOI: 10.1126/science.290.5491.533.
  162. **Rodrigues, A.L., Arteni, N.S, Abel, C., Zylbersztejn, D., Chazan, R.,Viola, G., Xavier, L., Achaval, M., Netto, C.A.** Tactile stimulation and maternal separation prevent hippocampal damage in rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. *Brain Res.*, 2004, 1002, 94-99.
  163. **Rosenzweig, M.R., Krech, D., Bennet, E.L., Diamond, M.** Effects of environmental complexity and training on brain chemistry and anatomy. *J. Comp. Physiol.*, 1962, 429-437.
  164. **Rosenzweig, M.R.** Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environment, *Brain Res.*, 1978, 153, 563-576.
  165. **Ruscher, K., Freyer, D., Karsch, M., Isajev, N., Megow, D., Sawitzki, B., Priller, J., Dirnagl, U., Meisel, A.** Erythropoietin is a paracrine mediator of ischemic tolerance in the brain: Evidence from an in vitro model. *J. Neurosci.*, 2002, 22, 10291-10301.
  166. **Sanes, J.N., Wang, J., Donoghue, J.P.** Immediate and delayed changes of rat motor cortical output representation with new forelimb configurations. *Cerebral cortex*, 1992, 2, 141-152.
  167. **Sancheza, P.E., Faresa, R.P., Rissoe, J.J., Bonneta, Ch., Bouvarda, S., Le-Cavorsina, M., Georgesa, B., Moulina, C., Belmeguenaia, A., Bodenneca, J., Moralesa, A., Pequignota, J.M., Baulieuf, E.E., Levineh, R.A., Bezina, L.** Optimal neuroprotection by erythropoietin requires elevated expression of its receptor in neurons. *PNAS*, 2009, 106, 24 www.pnas.org\_cgi\_doi\_10.1073\_pnas. 0901840106.
  168. **Schabitz, W.R., Steigleder, T., Cooper-Kuhn, C.M., Schwab, S., Sommer, C., Schneider, A., Kuhn, H.G.** Intravenous brain-derived neurotrophic factor enhances poststroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis. *Stroke*, 2007, 38, 2165-2172.
  169. **Scherzer, B.P.** Rehabilitation following severe head trauma: results of a three-year program. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 1986, 67(6), 366-374.
  170. **Schönle, P.W.** Neurologische Frührehabilitation erste epidemiologische und medizinische Untersuchungsergebnisse. In: von Wild, K. *Spektrum der Neurorehabilitation*. München: Verlag, 1993, 125-130.
  171. **Seri, B., Garcia-Verdugo, J.M., Collado-Morente, L., McEwen, B.S., Alvares-Buylla, A.** Cell types, lineage and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 2004, 478, 359-378.
  172. **Shadmehr, R., Mussa-Ivaldi, F.A.** Adaptive representation of dynamics during learning of a motor task. *J. Neurosci.*, 1994, 14, 3208-3224.
  173. **Shukitt-Hale, B., Banderet, L.E., Lieberman, H.R.** Elevation dependent symptom, mood and performance changes produced by exposure to hypobaric hypoxia. *Int. J. Aviat. Psychol.*, 1998, 8, 319-334.
  174. **Shukitt-Hale, B., Kadar, T., Marlow, B.E., Stillman, M.J., Galli, R.L., Levy, A., Devine, J.A., Lieberman, H.R.** Morphological alterations in the hippocampus following hypobaric hypoxia. *Hum. Exp. Toxicol*, 1996, 15, 312-319.
  175. **Shukitt-Hale, B., Stillman, M.J., Welch, D.I., Levy, A., Devine, J.A., Lieberman, H.R.** Hypobaric hypoxia impairs spastial memory in an elevation dependent fashion. *Behav. Neural. Biol.*, 1994, 141, 195-205.
  176. **Siemkowicz, E., Hansen, A.J.** Clinical restitution following cerebral ischemia in hypo-, normo- and hyperglycemic rats. *Acta Neurol Scand*, 1978, 58, 1-8.

177. **Siesjo, B.K., Katsura, K.I., Zhao, Q., Folbergrová, J., Pahlmark, K., Siesjo, P., Smith, M.L.** Mechanisms of secondary Brain damage in Global and Focal Ischemia: A speculative Synthesis. *J. Neurotraum.*, 1995, 12(5), 943-956.
178. **Sinden, J.D., Doubell, F.R., Kershaw, T.R., Nelson, A., Chadwick, A., Jat, P.S., Noble, M.D., Hodges, H., Gray, J.A.** Recovery of spatial learning by grafts of a conditionally immortalized hippocampal neuro-epithelial cell line into the ischaemia lesioned hippocampus. *Neuroscience*, 1997, 81, 599-608.
179. **Sirén, A.L., Faßhauer, T., Bartels, C., Ehrenreich, H.** Therapeutic potential of Erythropoietin and its structural function variants in the nervous system. *Neurotherapeutics*, 2009, 6, 108-127.
180. **Sirén, A.L., Fratelli, M., Brines, M., Goemans, C., Casagrande, S., Lewczuk, P., Keenan, S., Gleiter, C., Pasquali, C., Capobianco, A., Mennini, T., Heumann, R., Cerami, A., Ehrenreich, H. Ghezzi, P.** Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2001, 98, 4044-4049.
181. **Smith, P., Kesner, R.P., Chiba, A.A.**, Continuous recognition and spatial and non-spatial stimuli in hippocampal lesion rats. *Behav. Neural. Biol.*, 1993, 59, 107-115.
182. **Sohlberg, M.M., McLaughlin, K.A., Pavese, A., Heindrich, A., Posner, M.I.** Evaluation of attention process training and brain injury education in person with acquired brain injury. *J. Clin.Exp.Neuropsychol.*, 2000, 22, 656-676.
183. **Sola, A., Rodrigo, M., Lee, B.H., Genetta, T., Wen, T.C.** Erythropoietin after focal cerebral ischemia activates Janus kinase-signal transducer and activator of transcription signaling pathway and improves brain injury in postnatal day 7 rats. *Pediatr.Res.* 2005a, 57, 481-487.
184. **Sola, A., Wen, T.C., Hamrick, S.E., Ferriero, D.M.** Potential for protection and repair following injury to the developing brain: a role for erythropoietin? *Pediatr.Res.* 2005b, 57, 110R-117R.
185. **Squire, L.R.** Memory and forgetting: long-term and gradual changes in memory storage. *Int. Rev. Neurobiol.*, 1994, 37, 243-269.
186. **Stein, D.G.** Concepts of CNS Plasticity and Their Implications for Understanding Recovery After Brain Damage. In Zasler, N.D., Katz, D.I., Zafonte, R.D. *Brain Injury Medicine, Principles and Practice*, New York: Demos, 2007, 97-108.
187. **Stein, D.G., Wright, D.W., Kellermann, A.L.** Does progesterone have neuroprotective properties? *Ann. Emer. Med.* 2008, 51, 164-172.
188. **Šimonová, Z., Štěrbová, K., Brožek, G., Komárek, V., Syková, E.** Postnatal hypobaric hypoxia in rats impairs water maze learning and the morphology of neurones and macroglia in cortex and hippocampus. *Beh. Brain Res.*, 2003, 141, 195-205.
189. **Švestková, O., Angerová, Y.** Rehabilitace po cévní mozkové příhodě. v Kalvach, P., *Mozkové ischemie a hemorhagie. 3. přepracované a doplněné vydání*, Praha: Grada 2010, 359-379.
190. **Švestková O., Angerová Y., Sládková P.** Mezinárodní klasifikace funkčních schopností, disability a zdraví (ICF): kvantitativní měření kapacity a výkonu. *Cesk. Slov. Neurol. N.* 2009, 72(105), 580-586.
191. **Tan, C.C., Eckardt, K.U., Firth, J. D., Ratcliffe, P. J.** Feedback modulation of renal and hepatic erythropoietin mRNA in response to graded anemia and hypoxia. *Am. J. Physiol.*, 1992, 263, 474-481.
192. **Titus, A.D.J., Shankaranarayana, R., Harsha, H.N., Ramkumar, K., Srikumar, B.N., Singh, S.B., Chattarji, S., Raju, T.R.** Hypobaric hypoxia-induced dendritic atrophy of hippocampal neurons is associated with cognitive impairment in adult rats. *Neuroscience*, 2007, 145(1), 265-278.



193. Tomiyasu, J.L., Read, S., Benson, F. Amnesia with hippocampal lesion after cardiopulmonary arrest. *Neurology*, 1984, 34(5), 676-681.
194. Torasdotter, M., Perfilieva, E., Johansson, U., Orwar O., Eriksson, P.S. Enriched environment results in higher levels of nerve growth factor mRNA in the rat visual cortex and hippocampus. *Beh. Brain Res.*, 1998, 93, 83-90.
195. Traystman, R.J., Animal models of Focal and Global Cerebral Ischemia. *ILAR Journal*, 2003, 44(2), 85-95.
196. Trojan, S. Adaptation of the central nervous system to oxygen deficiency during ontogenesis. *Acta Univ. Carol. Med. Monographia*, 1978, 85, 5-180.
197. Trojan, S., Druga, R., Pfeiffer, J. Fyziologie a léčebná rehabilitace motoriky člověka. 3. přepracované a doplněné vydání, Praha: Grada Publishing, 2005. 240 s.
198. Trojan, S., Langmeier, M., Marešová, D., Mourek, J., Pokorný, J. Plasticity of the Brain in Neuroontogenesis. *Prague Medical Report*, 2004, 105 (2), 97-110.
199. Trojan, S., Mourek J., Pokorný J. Teorie plasticity mozku. *Čs. Psychiatr.*, 1997, 93 326-331.
200. Trojan, S., Pokorný, J. Theoretical aspects of neuroplasticity. *Physiol.Res.*, 1999, 48, 87-96.
201. van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F.H., Neurol.consequences of environmental enrichment. *Nat. Rev.*, 2000, 1, 191-198.
202. van Praag, H., Schinder, A.F., Christie, B.R., Toni, N., Palmer, T.D., Gage, F.H. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*, 2002, 415, 1030-1034.
203. von Monakow, C. Die localisation im groshirn und der abbau der funktion durch kortikale herde. In: Harris, P.K.,editor. Brain and behaviour. 1. vydání, Londýn: Penguin Books; 1914, 27-36.
204. Wang, I., Zhang, Z.G., Gregg, S.R., Zhang, R.L., Jiao, Z., Le Tourneau, Y., Liu, X., Feng, I., Gerwien, J., Torup, L., Leist, M., Noguchi, C.T., Chen, Z.I., Chopp, M. The Sonic hedgehog pathway mediates carbamylated erythropoietin-enhanced proliferation and differentiation of adult neural progenitor cells. *J.Biol.Chem.*, 2007, 282, 32462-32470.
205. Wenger, R.H. Cellular adaptation to hypoxia: O<sub>2</sub>-sensing proteinhydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors and O<sub>2</sub>-regulatedgene expression. *FASEB J.* 2002,16, 1151-1162.
206. Wiesendanger, M. The pyramidal tract. Its structure and function. In Towe, A.L., Luschei, E.S. Handbook of behavioral neurobiology, 5.vyd. New York: Plenum Press, 1981, 401-491.
207. Wiesendanger, M., Miles, I. Ascending pathway of low threshold muscle afferents to the cerebral cortex and its possible role in motor control. *Phys. rev.*, 1982, 62, 1234-1270.
208. Wilson, B.A., Emilie, H.C., Quirk, K., Evans, J.J. Reducing everyday memory and planning problems by means of a paging system, a randomised control crossover study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 2001, 70, 477-482.
209. Wilson, B.A., Scott, H., Evans, J., Emslie, H. Preliminary report of a NeuroPage service within a health care system. *NeuroRehab*, 2003, 18, 3-8.
210. Wunderlicht, M.T., Wallesch, C.W., Goertler, M. Release of neurochemical markers of brain damage is related to the neurovascular status on admission and the site of arterial occlusion in acute ischemic stroke. *J.Neurol. Sci*, 2004, 227(1), 49-53.
211. Xiong, Y., Lu, D., Qu, C., Goussev, A., Schallert, T., Mahmood, A., Chopp, M. Effects of erythropoietin on reducing brain damage and improving functional outcome after traumatic brain injury in mice. *J. Neurosurg.*, 2008, 109, 510-521.

212. **Xiong, Y., Mahmood, A., Chopp, M.** Emerging treatments for traumatic brain injury, Expert Opinion. *Emerging Drugs*, 2009, 14 (1), 67-84.
213. **Xiong, Y., Mahmood, A., Qu, C., Kazmi, H., Zhang, Z.G., Noguchi, C.T., Schallert T., Chopp, M.** Erythropoietin improves histological and functional outcomes after traumatic brain injury in mice in the absence of the neural erythropoietin receptor. *J. Neurotrauma*, 2010, 27, 205-215.
214. **Yamamoto, T., Katayama, Y.** Deep brain stimulation therapy for the vegetative state *Neuropsychol. Rehabil.*, 2005, 15(3,4), 406-413.
215. **Yatsiv, I., Grigoriadis, N., Simeonidou, C., Stahel, P.F., Schmidt, O.I., Alexandrovich, A.G., Tsenter, J., Shohami, E.** Erythropoietin is neuroprotective, improves functional recovery, and reduces neuronal apoptosis and inflammation in a rodent model of experimental closed head injury. *FASEB J.*, 2005, 19, 1701-1703.
216. **Yildirim, E., Ozisik, K., Solaroglu, I., Kaptanoglu, E., Beskonakli, E., Sargon, M.F., Kilinc, K., Saminci, U.** Protective effect of erythropoietin on type II pneumocyte cells after traumatic brain injury in rats. *J. Trauma*, 2005, 58, 1252-1258.
217. **Yoshida, S., Abe, K., Busto, R., Watson, B.D., Kogure, K., Ginsberg, M.D.** Influence of transient ischemia on lipid-soluble antioxidants, free fatty acids and energy metabolites in rat brain. *Brain Res.*, 1982, 245, 307-316.
218. **Yoshida, S., Busto, R., Watson, B.D., Santiso, M., Ginsberg, M.D.** Postischemic cerebral lipid peroxidation in vitro: Modification by dietary vitamin E. *J. Neurochem.*, 1985, 44, 1593-1601.
219. **Young, B.G.** Neurologic Prognosis after Cardiac Arrest. *N. Engl. J. Med.*, 2009, 361(6), 605-611.
220. **Yu, X., Shaka, J.J., Eells, E.B., Suarez-Quian, C., Przygodzki, L.M., Beleslin-Cokic, B., Lin, Ch.S., Nikodem, V.M., Hempstead, B., Flanders, K.C., Constantini, F., Noguchi, C.T.** Erythropoietin receptor signalling is required for normal brain development. *Development*, 2002, 129, 505-516.
221. **Zhao, L.R., Risedal, A., Wojcik, A., Hejzlar, J., Johansson, B.B., Kokaia, Z.** Enriched environment influences brain-derived neurotrophic factor levels in rat forebrain after focal stroke *Neurosci. Lett.*, 2001, 165-172.
222. **Zhang, F., Signore, A.P., Zhou, Z., Wang, S., Cao, G., Chen, J.** Erythropoietin protects CA1 neurons against global cerebral ischemia in rat: potential signaling mechanisms. *J. Neurosci. Res.*, 2006, 83, 1241-1251.
223. **Zhang, F., Wang, S., Cao, G., Gao, Y., Chen, J.** Signal transducers and activators of transcription 5 contributes to erythropoietin-mediated neuroprotection against hippocampal neuronal death after transient global cerebral ischemia. *Neurobiol. Dis.*, 2007, 25, 45-53.
224. **Zhang, R., Zhang, Z., Wang, L., Wang, Y., Gousev, A., Zhang, L., Ho, K.L., Morshead, C., Chopp, M.** Activated neural stem cells contribute to stroke-induced neurogenesis and neuroblast migration toward the infarct boundary in adult rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab*, 2004, 24, 441-448.
225. **Zhang, Y., Xiong, Y., Mahmood, A., Meng, Y., Qu, Ch., Schallert, T., Chopp, M.** Therapeutic effects of erythropoietin on histological and functional outcomes following traumatic brain injury in rats are independent of hematocrit, *Brain Res.*, 2009, 1294, 153-164.
226. **Zhu, L., Jin, W., Pan, H., Hu, Z., Zhou, J., Hang, C., Shi, J.** Erythropoietin inhibits the increase of intestinal labile zinc and the expression of inflammatory mediators after traumatic brain injury in rats. *J. Trauma*, 2009, 66, 730-736.

- 227. Zimmer, J., Gähwiler, B. H.** Cellular and connective organization of slice cultures of the rat hippocampus and fascia dentata. *J.Comp.Neurol.* 1984, 228, 432-446. doi: 10.1002/cne.902280310.
- 228. Zwecker-Lazar, I., Schwartz, J., Ring, H.** Long term functional outcome after inpatient rehabilitaton of anoxic brain damaged patients – Abstracts, 2nd World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine - ISPRM, Prague, May 18-22, 2003, 54.