

UNIVERZITA KARLOVA

Fakulta tělesné výchovy a sportu

Katedra fyzioterapie

**MODEL KOROVÉ FOKÁLNÍ MOZKOVÉ
ISCHÉMIE U POTKANA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí práce:

MUDr. Jakub Otáhal Ph. D.

Vypracovala:

Klára Kaštylová

Praha, Duben 2009

SOUHRN

Název:

Model korové fokální mozkové ischemie u potkana.

Title:

Model of cortical focal cerebral ischemia of a rat.

Cíle práce:

Zjistit velikost poškození mozkové kůry u dospělého zvířete na základě délky ozařování a podané dávce bengálské červeně.

Metody:

Experimentální studie proběhla na jedincích dospělého laboratorního potkana. Fokální mozková ischemie byla vyvolána aplikací bengálské červeně. Hodnocení poškození mozkové kůry bylo provedeno popisně a pomocí speciálního programu byly vypočítány velikosti lézí, které potom byly jednotlivě srovnávány.

Výsledky:

Demonstrují, že nejvhodnějším parametrem pro srovnávání lézí je změření hloubky léze. Dále ukazují, že hloubka léze je závislá na délce doby ozařování, avšak ne v přímém lineárním vztahu. A mezi použitou koncentrací bengálské červeně nebyly shledány výrazné rozdíly.

Klíčová slova:

Fokální mozková ischemie, bengálská červeně, mozková kůra, metoda fotochemická

Key words:

Focal cerebral ischemia, bengal rose, cerebral cortex, photochemical method

PROHLÁŠENÍ:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci zpracovala samostatně. Dále prohlašuji, že jsem do seznamu použité literatury uvedla všechny použité zdroje.

V Praze dne 5. 4. 2009

.....

Klára Kaštylová

PODĚKOVÁNÍ:

Mé poděkování patří vedoucímu diplomové práce MUDr. Jakobovi Otáhalovi Ph. D. za rady a odborné vedení při psaní diplomové práce.

Tato práce vznikla v rámci grantového projektu AVCR 1QS501210509.

Souhlasím se zapůjčením této diplomové práce ke studijním účelům. Prosím, aby byla vedena evidence vypůjčovateli, kteří musí pramen převzaté literatury řádně citovat.

Jméno a příjmení

Datum

Poznámky

OBSAH:

1. ÚVOD	8
2. TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1 BUNĚČNÁ STAVBA CNS.....	9
2.1.1 Neuron	9
2.1.1.1 Tělo neuronu	10
2.1.1.2 Výběžky neuronu	12
2.1.1.3 Klasifikace neuronů	15
2.1.1.4 Synapse	16
2.1.2 Neuroglie	18
2.1.2.1 Astrocyty	19
2.1.2.2 Oligodendrocyty.....	20
2.1.2.3 Mikroglie.....	21
2.1.2.4 Ependym	22
2.1.3 Vnitřní prostředí CNS.....	23
2.2 MOZKOVÁ KŮRA	24
2.2.1 Topografie hemisfér.....	25
2.2.2 Vnitřní stavba kůry	27
2.2.2.1 Neocortex	28
2.3 CÉVNÍ MOZKOVÁ PŘÍHODA	34
2.3.1 Definice CMP	34
2.3.2 Epidemiologie CMP	34
2.3.3 Rizikové faktory CMP	35
2.3.4 Mozková ischemie	39
2.3.5 Patofyziologie mozkové ischemie	40
2.3.5.1 Mechanismus ischemického poškození CNS.....	40
2.3.5.2 Biochemický průběh	40
2.3.5.3 Kalcium	40
2.3.5.4 Volné radikály	41
2.3.5.5 Laktátová acidóza.....	42
2.3.5.6 Excitotoxiny	42
2.3.5.7 Ultrastrukturální histologické změny	42
2.3.6 Cévní zásobení mozku	43
2.3.7 Projevy mozkové ischemie	43
2.3.8 Ischemické cévní mozkové příhody	45
2.3.8.1 Obstrukční CMP.....	45
2.3.8.2 Neobstrukční CMP.....	45
2.3.8.3 Difúzní sklerotické hypoxické změny mozku.....	46
2.3.8.4 Klinický obraz CMP	46
2.3.9 Léčba ischemických CMP	49
2.3.9.1 Konzervativní léčba	49
2.3.9.2 Intravenózní trombolýza	50
2.3.9.3 Intraarteriální trombolýza.....	50

2.3.9.4	Chirurgická léčba	51
2.3.9.5	Rehabilitace	52
2.3.10	Následky CMP	53
2.4	MODEL Y MOZKOVÉ ISCHÉMIE U POTKANA	54
2.4.1	Intraluminální okluze	54
2.4.2	Transkraniální chirurgický model	55
2.4.3	Abluminální aplikace Endotelinu-1	55
2.4.4	Trombembolický model	56
3.	CÍLE A HYPOTÉZY	58
3.1	CÍLE	58
3.2	HYPOTÉZY	58
4.	METODY	59
4.1	CHARAKTERISTIKA SKUPINY ZVÍŘAT	59
4.2	VYTVOŘENÍ FOKÁLNÍ MOZKOVÉ ISCHÉMIE	59
4.2.1	Chirurgická metodika	59
4.2.2	Bengálská červeň	60
4.3	PERFUZE	62
4.4	ZMRAZENÍ A NAKRÁJENÍ MOZKU V KRYOSTATU	62
4.5	NISSLOVO BARVENÍ	62
4.6	POZOROVÁNÍ POD MIKROSKOPEM	64
5.	VÝSLEDKY	65
5.1	VÝSLEDKY LABORATORNÍHO A MIKROSKOPICKÉHO MĚŘENÍ.....	65
5.2	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A ZHODNOCENÍ VYTYČENÝCH CÍLŮ	71
5.3	SHRNUTÍ	74
6.	DISKUZE	75
7.	ZÁVĚR	78
8.	POUŽITÉ ZKRATKY	79
9.	POUŽITÁ LITERATURA	81

1. ÚVOD

Podle Světové zdravotnické organizace je cévní mozková příhoda (dále jen CMP) funkční porucha mozku, která trvá déle než 24 hodin a není způsobená jinou příčinou než cévní. Cévní mozkovou příhodu způsobuje zástava nebo snížení cirkulace krve mozkovou tkání. Tato choroba je ve vyspělých zemích druhou nejčastější příčinou smrti. V neurologické oblasti je potom 2. nejčastějším onemocněním (po Alzheimerově chorobě), které postihuje ve větší míře populaci nad 55 let. (1)

V České republice je cévní onemocnění mozku třetí nejčastější příčinou smrti a postihne ročně kolem 5% lidí starších 65 let. Mezi 50-60 lety je postiženo 200/ 100 tisíc obyvatel, přičemž kolem 80 let se výskyt mnohonásobně zvyšuje. Průměrný počet pacientů je 400 - 500/ 100 tisíc obyvatel. (23) Mortalita je závislá na péči v akutním stádiu, přičemž v průměru umírá 24% pacientů, do roka 42% a zhruba 25% pacientů je odsouzeno k invalidizaci. (42) Vzhledem k charakteru onemocnění a jeho následkům představuje cévní mozková příhoda nejen sociální ale i ekonomické břemeno pro celou společnost.

Minimálně polovina pacientů po CMP trpí výraznými poruchami, které mají vliv na jejich samostatnost. 20% z nich je zcela závislých na okolí. Rehabilitací, tedy komplexem, který zahrnuje mimo jiné léčebnou, sociální a pracovní rehabilitaci, psychologickou a logopedickou péči přitom potřebuje cca 40% všech pacientů. (16) Je nezbytné začít s rehabilitační péčí co nejdříve. (22) Konkrétní názory na její začátek se však v literatuře různí.

V akutním období může být spolupráce s pacientem ztížena, např. kvůli bezvědomí nebo zmatenosti. Intenzita rehabilitační péče je závislá na aktuálním stavu pacienta a míře poškození, ke kterému v důsledku CMP došlo. Od samého počátku musí být přístup zdravotnického personálu aktivní a individuální. Nejen v léčebné rehabilitaci stimuluje pomocí různých facilitačních technik aferentní systém, přičemž se díky sensorickým vjemům snažíme probudit k činnosti systém motorický, a získáváme rezervy (ve smyslu oblastí, které do té doby nepracovaly na maximum). V okolí mozkové léze dochází také k funkčnímu útlumu a rehabilitace působí na tato místa preventivně, tedy proti rozvoji sekundárních útlumových změn. (1)

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 BUNĚČNÁ STAVBA CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU

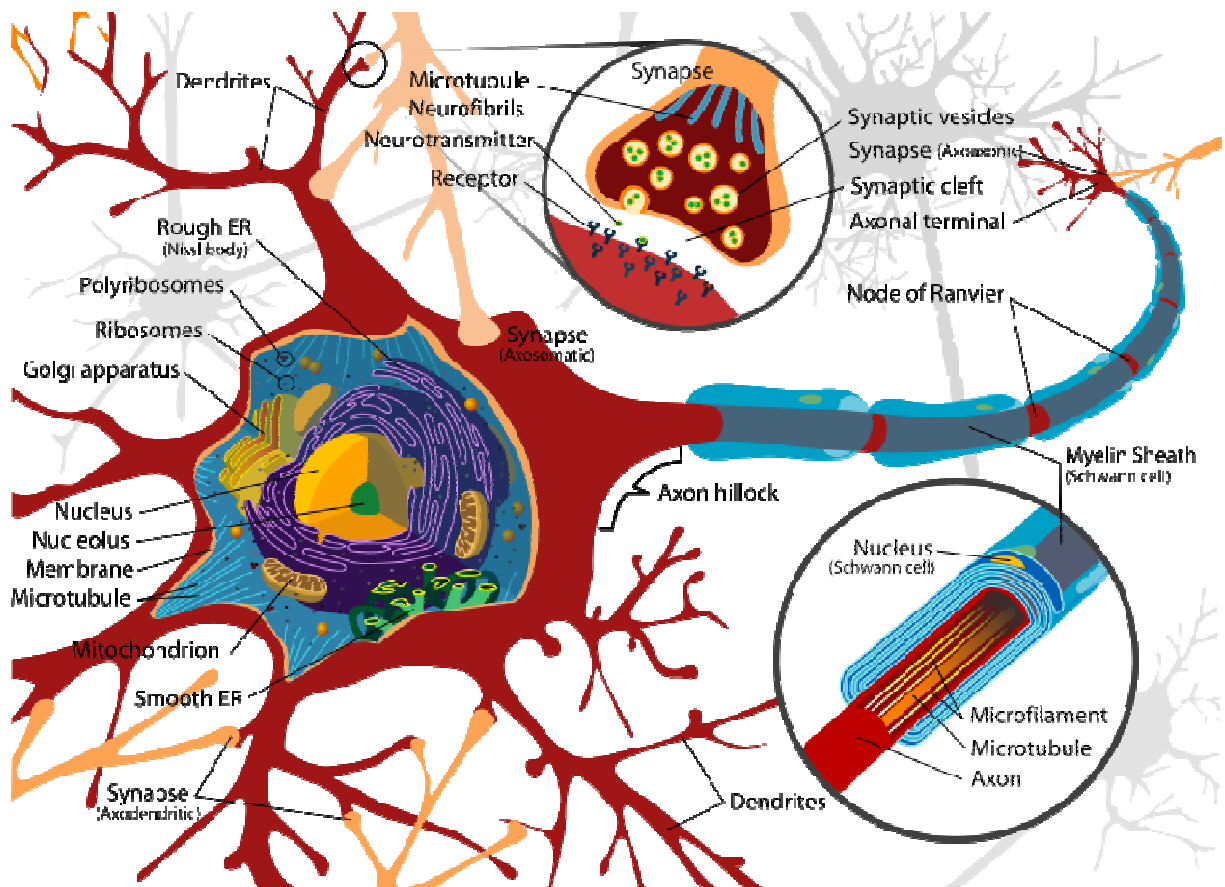
Činnost nervové soustavy je podmíněna stavbou a funkcí jednotlivých nervových buněk a rovněž jejich vzájemnými vztahy. V centrálním nervovém systému vytvářejí nervové buňky komplikovanou a vzájemně mnohočetně propojenou prostorovou síť, se kterou jsou jak z funkčního, tak z morfologického hlediska v úzkém kontaktu gliové elementy. Mezi jednotlivými buňkami nervového systému jsou úzké mezibuněčné prostory, které mimo jiné slouží k přísunu živin a odvádění katabolitů. Tento proces je v nervovém systému výrazně ovlivněn tzv. hematoencefalickou bariérou, která významně napomáhá kontrole a udržování stálého prostředí v CNS. (46)

Po stránce strukturální obsahuje nervová tkáň dva druhy buněk: buňky nervové, čili neurony, které jsou zpravidla opatřeny velkým množstvím výběžků; a několik typů buněk gliových, zvaných též neuroglie (či prostě glie), které poskytují neuronům podporu a ochranu a podílejí se i na jejich činnosti, výživě a na obranných dějích v centrální části nervové soustavy. (19)

2.1.1 NEURON

Základní funkční a anatomickou jednotkou nervové soustavy, kterou popsal roku 1835 J. E. Purkyně, je neuron. Pojem neuron zahrnuje tělo nervové buňky včetně jejích výběžků. (46)

Neurony jsou dráždivé a vodivé buňky. Odpovídají na změny zevního prostředí, různé stimuly, změnou rozdílu elektrického potenciálu, který existuje mezi zevním a vnitřním povrchem jejich membrán. Modifikace elektrického potenciálu může být omezena na místo, které bylo stimulováno, nebo se může šířit (propagovat) po membráně neuronu. Tato propagace změny rozdílu elektrického potenciálu mezi zevním a vnitřním povrchem membrán se nazývá nervový impuls. Úlohu při vzniku nervového impulsu hrají integrální membránové proteiny, které fungují jako iontové kanály. Otevření těchto kanálů a proniknutí sodíkových iontů do buňky způsobuje změnu polarizace daného místa membrány. Ionty mohou difundovat po membráně a může docházet k změně polarizace sousedních míst. Tímto způsobem se změna polarizace po membráně šíří. (25) Schematické znázornění neuronu a jeho funkcí vidíme na obr. 1.



Obr. 1: Schematické znázornění neuronu a jeho funkcí (6)

2.1.1.1 Tělo neuronu – neurocyt, perikaryon

Perikaryon je část neuronu, která obsahuje jádro s přilehlým úsekem cytoplazmy, která toto jádro obklopuje. Cytoplazmatické výběžky nejsou součástí neurocytu. Je

především trofickým centrem neuronu a má i schopnost přijímat vzruchy. Na těle většiny neuronů nacházíme velký počet nervových zakončení, která přinášejí excitační či tlumivé podněty vznikající v jiných nervových buňkách. (19)

Velikost a tvar neurocytů a výběžků jednotlivých neuronů se liší. Některé neurony měří v průměru až 150 μm a patří mezi největší buňky lidského těla. Příkladem mohou být motorické neurony předních rohů míšních. Naopak některé neurocyty patří k nejmenším buňkám v těle. Příkladem mohou být malé neurony ve stratum granulosum mozečku, které měří v průměru 4-5 μm . Tvar těla nervové buňky může být hvězdicovitý, sférický, ovoidní nebo pyramidový. (25)

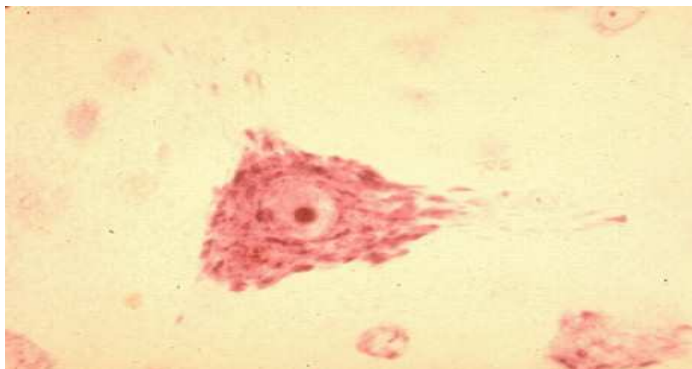
Neurocyty mají vzhled metabolicky vysoce aktivních buněk. Musí neustále produkovat energii nezbytnou pro udržení elektrochemického gradientu na celém velkém povrchu buněk, dochází tu neustále k aktivní produkci a opětné degradaci různých membrán a dalších struktur cytoplazmy. (25)

A. Jádro

Většina nervových buněk má kulovité, neobyčejně velké, euchromatické (slabě se barvící) jádro se zřetelným nukleolem. Dvoujaderné buňky najdeme v sympatických a sensorických gangliích. Chromatin je jemně zrnitý, což je příznakem intenzivní syntetické aktivity těchto buněk. (19)

B. Drsné endoplazmatické retikulum (RER)

Perikaryon obsahuje bohatě rozvinuté drsné endoplazmatické retikulum, uspořádané do shluků paralelních cisteren. V cytoplazmě mezi cisternami se nacházejí četné polysomy; neurony syntetizující jak strukturální proteiny, tak i bílkoviny určené pro transport. Použijeme-li vhodných barviv, jeví se nám drsné endoplazmatické retikulum a volné ribozomy ve světelném mikroskopu jako bazofilní zrnité okrsky zvané Nisslova substance (obr. 2).



Obr. 2: Nisslova substance (7)

Množství Nisslovy substance kolísá podle typu a funkčního stavu neuronů. Obzvláště hojná je ve velkých nervových buňkách, jako jsou motorické neurony. (19)

C. Golgiho komplex

S Golgiho komplexem se u nervových buněk setkáme výhradně v perikaryu. Sestává z rovnoběžných lamel hladkých cisteren uspořádaných po obvodu buněčného jádra. Najdeme zde i něco menších okrouhlých váčků představujících pravděpodobně transportní a sekreční vezikuly. Použijeme-li osmium tetroxid či impregnaci stříbrem, Golgiho komplex se nám zobrazí jako síť nepravidelných vláček. (19)

D. Mitochondrie

Mitochondrie jsou obzvláště hojné v blízkosti zakončení axonů. Jinak jsou roztroušeny v cytoplazmě perikaryí. (19)

E. Neurofilamenta a mikrotubuly

Početná střední filamenta o průměru 10 nm – neurofilamenta – najdeme v perikaryu i výběžcích nervových buněk. Některá fixativa způsobují jejich slepování. Po impregnaci stříbrem je pak můžeme vidět světelným mikroskopem jako neurofibrily. Za některých podmínek lze v tkáňových kulturách spatřit struktury podobné neurofibrilám i v živoucích neuronech. Je tomu tak proto, že neurofilamenta jsou uspořádána v těsné paralelní svazky. Sama o sobě jsou pod úrovní rozlišovací schopnosti světelného mikroskopu. Perikaryon též obsahuje mikrotubuly o průměru 24 nm, identické s těmi, které nacházíme u mnoha jiných druhů buněk. Nervové buňky příležitostně obsahují pigmentové inkluze, jako je lipofúscin, jenž je zbytkem materiálu neztráveného lysosomy, a melanin, jehož funkce je neznámá. (19)

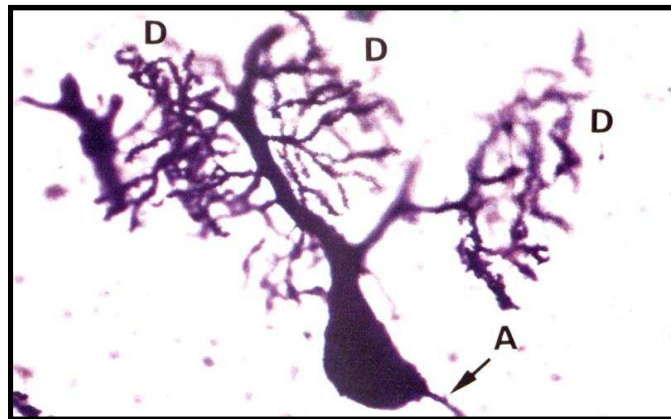
2.1.1.2 Výběžky neuronu

Výběžky nervové buňky jsou dvojího druhu:

- krátké - tzv. dendrity a jsou dostředivé
- dlouhé – tzv. neurity neboli axony a jsou odstředivé

A. Dendrity

Výběžky, které přijímají vstupní informaci (receptivní segment neuronu), označujeme jako dendrity. Dendritů má neuron zpravidla větší počet, bývají kratší a jsou bohatě větvené – vytvářejí dendritický strom (obr. 3). Na povrchu dendritů jsou většinou přítomny dendritické trny. Jejich počet je u jednotlivých typů nervových buněk variabilní a liší se i s ohledem na vzdálenost od somatu a síly dendritické větve. Základní funkcí dendritických trnů je modulace postsynaptického potenciálu při jeho přechodu ze synapse na dendrit. (46)



Obr. 3: Dendrity (45)

Cytoplazma dendritů se neliší od cytoplazmy neurocytu, nevyskytuje se tu ale Golgiho komplex. V širších bazálních úsecích dendritů nacházíme cisterny granulárního endoplazmatického retikula a mitochondrie. Do tenkých distálních úseků dendritů zasahují četné elementy cytoskeletu – neurofilamenta a neurotubuly. V dendritech nacházíme dva k mikrotubulům připojené proteiny – MAP1, který se vyskytuje i v axonech, a MAP2, který se vyskytuje pouze v dendritech. Oba proteiny tvoří můstky mezi mikrotubuly a také připojují mikrotubuly k intermediálním filamentům. Přítomnost různých MAPs v dendritech a v axonech je příčinou jejich rozdílného tvaru. (25)

Dendrity velmi výrazně zvětšují recepční plochu neuronu. Neuron může vstoupit do kontaktu s terminálními úseky axonů velkého počtu dalších neuronů. Bylo zjištěno, že plocha povrchu Purkyňovy buňky mozečku je až $27\,000\ \mu\text{m}^2$. Na této ploše se uskutečňuje řádově až 200 000 kontaktů s terminálními úseky axonů dalších neuronů. (25)

B. Axony

Jako neurit (axon) označujeme výběžek vedoucí vzruch směrem od těla neuronu, někdy značnou rychlostí až 120m/s, tj. přes 400km/h. (46) Většina neuronů má jen jediný axon; vzácně se vyskytují i neurony bez axonu. Axon je výběžek válcovitého tvaru, jehož délka i průměr závisí na typu neuronu a je zpravidla velmi dlouhý. Tak například axony motorických buněk míchy, které inervují svaly nohy, jsou dlouhé až 100 cm. Existují však i neurony s axonem krátkým. (19)

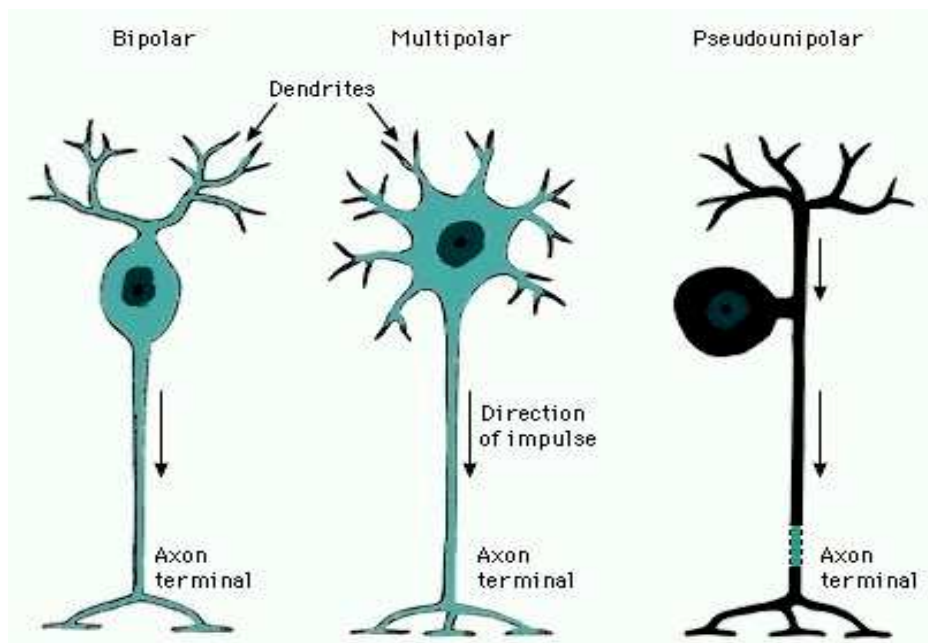
Veškeré axony začínají z oblasti, která se nazývá axonální kónus (hilus), vystupující obvykle z perikarya, někdy však i z kmene hlavního dendritu. Axonální kónus lze od dendritu rozpoznat podle zřetelných cytologických známek: drsné endoplazmatické retikulum ani ribozomy, obsažené v perikaryu a dendritech, do axonálního kónusu nezasahují; mikrotubuly jsou v axonálním kónusu uspořádány do svazků. Plazmatická membrána axonu se nazývá axolemma; její obsah pak axoplazma. V neuronech s myelinizovanými vlákny je úsek axonu mezi kónusem a počátkem myelinové pochvy označován jako iniciální segment. Iniciální segment je místem, kde se algebraicky sčítají různé excitační a inhibiční podněty dopadající na neuron a vyústí v “rozhodnutí“, zda akční potenciál bude dále šířen či nikoliv. Je známo, že v iniciálním segmentu se nachází několik typů iontových kanálů a že tyto kanály jsou klíčové v generování šířící se změny elektrického potenciálu, jenž je podstatou akčního potenciálu čili nervového vzruchu. Iniciální segment axonu je charakterizován přítomností tenké vrstvy elektronodenzního materiálu pod plazmatickou membránou, označovanou jako denzní podvrstva. Mikrotubuly a neurofilamenta pokračují z axonálního kónusu plynule do iniciálního segmentu. (19)

Na rozdíl od dendritů je průměr axonů stálý a axony se na velkou vzdálenost svého průběhu nevětví. Ojedině se od axonu krátce po jeho odstupě odštěpuje výběžek, který se vrací do oblasti těla. Takové výběžky jsou označovány jako kolaterální větve.

Cytoplazma axonu (axoplazma) obsahuje nečetné mitochondrie, mikrotubuly a neurofilamenta i něco cisteren hladkého endoplazmatického retikula. Chybění polyribosomů a RER zvyrazňuje metabolickou závislost axonu na perikaryu. Je-li axon poraněn, jeho periferní části degenerují a zanikají. (19)

2.1.1.3 Klasifikace neuronů

Podle počtu výběžků dělíme neurony na multipolární, bipolární a pseudounipolární (obr. 4).



Obr. 4: Dělení neuronů (45)

Multipolární neurony se v lidském organismu vyskytují nejčastěji. Mají více než 2 výběžky. Jeden výběžek má charakter axonu, ostatní jsou dendrity. Odstupující výběžky dávají neurocytu většinou tvar hvězdicovitý. Příkladem mohou být multipolární neurony předních rohů míšních. Multipolární neurony však mohou mít i jiný tvar. Příkladem jsou pyramidové buňky kůry mozku. (25)

Bipolární neurony se vyskytují v organismu méně často. Vysílají pouze 2 výběžky. Jeden má charakter dendritu a druhý neuritu. Patří sem např. neurony v ganglion vestibulare a ganglion spirale cochleae a bipolární neurony sítnice.

Pseudounipolární neurony mají jen jeden výběžek, který se v blízkosti neurocytu rozděluje do dvou větví. Výběžek tak nabývá tvaru písmene T. Jedna větev směřuje do periferie, druhá do centrálního nervového systému. Po stránce morfologické mají oba výběžky charakter axonu. Terminální arborizace periferní větve přijímá stimuly a funguje jako dendrity. V průběhu ontogeneze se pseudounipolární neuron vyvíjí z neuronu bipolárního. Výběžky lokalizované na protilehlých pólech neurocytu se v průběhu diferenciaci k sobě přibližují a nakonec v blízkosti neurocytu na krátkou

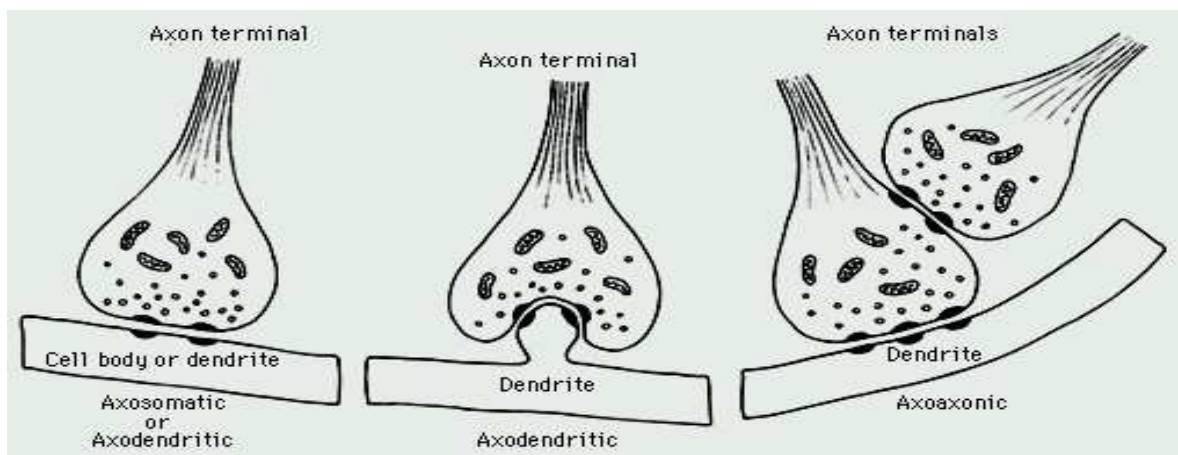
vzdálenost splývají. Po stránce funkční má toto uspořádání velký význam. Nervové impulsy vedené do CNS obcházejí vlastní neurocyt. Pseudounipolární neurony nacházíme v senzitivních gangliích. (25)

2.1.1.4 Synapse

Jsou-li axony uměle stimulovány, vedou vzruch obojím směrem od místa podráždění. Vzruch směřující k tělu buňky však není přenesen na další neurony, narozdíl od vzruchu, jenž dosáhne konečné arborizace axonu. Jedině ten je pak prostřednictvím terminálií schopen podráždit další článek řetězu, ať již je to neuron, sval či žláznová buňka.

Takováto dynamická polarizace převodu nervového vzruchu závisí na vysoce specializovaných strukturách zvaných synapse, jež jsou klasicky definovány jako kontakt jednoho axonu s dendrity, perikaryem nebo velmi vzácně s axonem dalšího neuronu. K synaptickému kontaktu také dochází mezi neurony a svalovými či žláznovými buňkami. Většina synapsí v centrálním nervovém systému je však vytvořena mezi axonem a dendritem (synapse axodendritická) nebo mezi axonem a tělem buňky (synapse axosomatická). Existují však i vzájemné synapse mezi dendrity (dendrodendritické) a mezi axony (axoaxonální). (19)

Typy synapsí vidíme na obr. 5.



Obr. 5: Typy synapsí (45)

Synapse fungují tak, že mění membránový potenciál neuronů a ostatních efektorových buněk. Vliv každé jednotlivé synapse na neuron závisí na tom, do jaké míry je vzdálena od iniciálního segmentu tohoto neuronu. Z toho vyplývá, že vliv přicházející informace

na aktinu neuronu závisí na distribuci, umístění i počtu synapsí na jeho dendritech a buněčném těle.

Na podkladě morfologických znaků můžeme definovat několik typů synapsí. Axonové terminálie mohou vytvářet kulovitá zduření, košíčkovité útvary nebo klubíčkovitá zakončení. Tyto synaptické koncové rozšíření jsou často nazývány boutons terminal. Častěji však axon vytváří ve svém průběhu synapsí několik a taková rozšíření místa podél axonu se označují jako boutons en passage. Podrobná pozorování synapsí elektronovým mikroskopem ukázala, že jsou vysoce specializovanými místy kontaktu dvou buněk. Synapse se skládá z koncové membrány (nesynaptické membrány), přilehlé části mezibuněčného prostoru (synaptické štěrby) a postsynaptické membrány, patřící dendritu, perikaryu, popřípadě axonu jiného neuronu, nebo k membráně svalové či žlázné buňky. V synapsi jsou cytoplazmatické membrány dvou neuronů obvykle vzdáleny 20-30 nm (synaptická štěrbina). V této oblasti jsou membrány k sobě pevně vázány, někdy i prostřednictvím denzních přemostujících filament. Navíc bývají plazmatické membrány obou neuronů v presynaptickém i postsynaptickém úseku obvykle silnější než kdekoli jinde. Příčinou tohoto zřetelného ztlustění je akumulace tmavě se barvících proteinů cytoplazmy pod synaptickou membránou. Na vnitřní stranu obou synaptických membrán jsou zakotvena cytoplazmatická filamenta připomínající podobné útvary v desmosomech. (19)

Cytoplazma axonových zakončení je charakterizována přítomností četných synaptických váček o průměru 20-65 nm; byly dokonce pozorovány i váčky velké 160 nm.

Mezi tvarem a obsahem váčku na straně jedné, a funkcí synapse na straně druhé, existují určité vztahy. Tak okrouhlé, opticky prázdné váčky jsou spojeny s excitačním přenosem na neuromuskulárním spojení i v jiných částech CNS, kde je mediátorem acetylcholin. V axonech vylučujících norepinefrin (noradrenalin) nacházíme váčky o průměru 40-60 nm obsahující denzní jádro měřící 15-25 nm. Neurosekretorické axony obsahují větší sekreční granula o průměru 120-150 nm. Elektrodenzní materiál vyplňuje tato granula bez přítomnosti okrajového projasnění. (19)

Neurofilamenta se v synapsích vyskytují zřídka, avšak mitochondrií je zde značný počet. Synaptické váčky obsahují látky zvané neurotransmitery, které odpovídají za přenos nervových vzruchů synapsí. Tyto mediátory jsou uvolňovány na presynaptické

membráně exostózou a na straně postsynaptické membrány vyvolávají excitační nebo tlumivou odpověď. Membrány synaptických váčků zavzatých do presynaptické membrány procházejí procesem endocytózy a jsou znovu použity k tvorbě nových synaptických váčků.

Kromě právě popsaných chemických synapsí, v nichž je přenos vzruchu zprostředkovan chemickými látkami, se též vyskytují synapse elektrické. V nich jsou neurony propojeny pomocí nexů umožňujících průchod iontů z jedné buňky do druhé, což zprostředkuje jejich elektrické propojení. Elektrické synapse se vyskytují méně často než synapse chemické. (19)

2.1.2 NEUROGLIE

V CNS existuje spolu s neurony několik druhů buněk, označovaných jako neuroglie nebo neurogliové či gliové buňky. Neuroglie odděluje neurony, vytváří myelin a zastává nutritivní a fagocytární funkce. (19)

Jednotlivé typy buněk jsou odlišné po stránce morfologické i funkční. Buňky neuroglie netvoří akční potenciály ani synapse s ostatními buňkami. Zachovávají si však schopnost dělení. Někteří autoři odhadují, že v nervové tkáni připadá zhruba 10 gliových buněk na jeden neuron. Gliové buňky jsou poměrně malé, tvoří však asi polovinu celkového objemu nervové tkáně. (25)

Podle lokalizace rozeznáváme gliové buňky vyskytující se v CNS, v mozku a v míše, a v oblasti PNS. V CNS nacházíme astrocyty a oligodendrocyty, které dohromady označujeme makroglie, buňky mikroglie a dále ependymové buňky. (25)

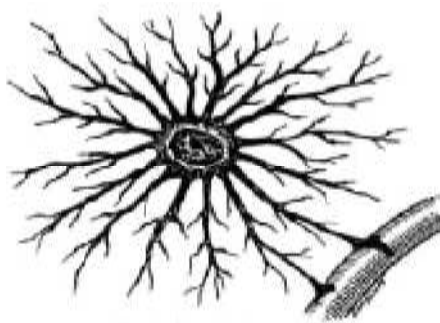
Gliové buňky, u kterých se nepředpokládá, že vytvářejí akční potenciály ani nenavazují s jinými buňkami synaptická spojení, udržují stálé složení tekutin v mozku. Gliové buňky jsou vybaveny receptory pro neurotransmitery a vytvářejí některé peptidy, charakteristické i pro určité neurony. Tímto způsobem pomáhají udržovat chemickou a elektrickou homeostázu neuronů. Na rozdíl od nich si však podržují schopnost mitotického dělení po celou dobu života organismu. Oligodendrocyty vytvářejí myelinovou pochvu axonů v CNS a jsou pravděpodobně nezbytné pro zachování životních funkcí neuronů. (19)

2.1.2.1 Astrocyty

Astrocyty jsou z neurogliových buněk největší a vysílají četné dlouhé výběžky. Obsahují kulatá, slabě se barvící jádra, umístěná ve středu buňky. Řada jejich výběžků je opatřena rozšířenými nožkami (pedikly) opírajícími se o stěny krevních kapilár. Tyto nožky, zvané vaskulární pedikly, neuroglie kompletně obklopují a obalují všechny cévy vyživující tkáň CNS. Výběžky astrocytů jsou též přítomny v souvislé vrstvě bezprostředně pod pia mater kryjící povrch mozku a míchy. Tato souvislá vrstva, obsahující též výběžky jiných typů neuroglie, odděluje vazivo měkkých plen od nervových buněk. Astrocyty se jistou měrou podílejí na vytváření opěrného systému nervové tkáně a jejich výběžky vytvářejí izolační bariéru, která ochraňuje nervový systém. Zajišťují tak pro nervové buňky specificky chráněné a řízené prostředí, nezbytné pro složité děje, odehrávající se při elektrickém vedení signálů. Po poranění CNS astrocyty proliferují a vytvářejí v místě defektu gliovou jizvu. (19)

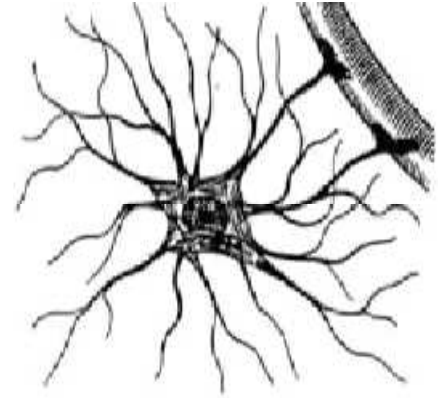
Existují dva typy astrocytů: protoplazmatické, které se vyskytují v šedé hmotě mozku a míchy, a fibrilární, nacházející se především v hmotě bílé. Na snímcích z elektronového mikroskopu rozeznáváme astrocyty podle jejich světlé cytoplazmy, poměrně chudé na organely. Velice hojná jsou intermediární filamenta o průměru 10 nm, složená z gliálního fibrilárního kyselého proteinu.

- A. Protoplazmatické astrocyty (obr. 6): mají hojnou granulární cytoplazmu. Jejich výběžky jsou bohatě větvené, ve srovnání s fibrilárními astrocyty jsou kratší a poměrně široké. Výběžky obalují povrch nervových buněk, synaptické okrsky a krevní cévy.



Obr. 6: Protoplazmatické astrocyty (8)

B. Fibrilární astrocyty (obr. 7): jsou opatřeny dlouhými, štíhlými a hladkými výběžky, které se jen zřídka větví. Na speciálních preparátech impregnovaných stříbrem nalezneme v cytoplazmě fibrilární materiál, jenž pravděpodobně vzniká shlukováním intermediárních filament o průměru 10 nm, která se v buněčných tělech a výběžcích fibrilárních astrocytů hojně vyskytují. (19)



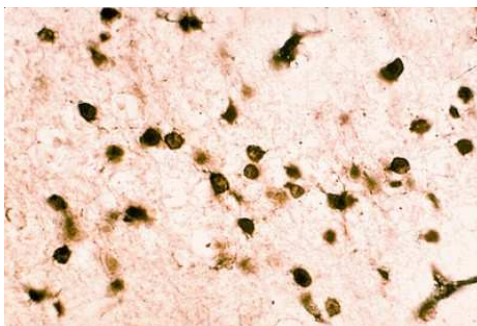
Obr. 7: Fibrilární astrocyt (8)

2.1.2.2 Oligodendrocyty

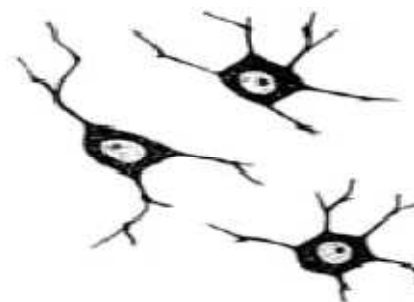
Mají v nervové tkáni zcela specifickou a nezastupitelnou funkci - vytvářet obaly nervových vláken. Buňky oligodendroglie (obr. 8) jsou ve srovnání s astrocyty podstatně menší, stejně tak i jejich tmavě se barvící jádra. V elektronovém mikroskopu vyniká jejich denzní cytoplazma s množstvím mitochondrií a mikrotubulů.

Oligodendrocyty (obr. 9) do sebe zaujímají jedno či několik nervových vláken, která si, seřazeny podél jejich průběhu, postupně předávají. (18)

Oligodendrocyty se vyskytují v šedé i bílé hmotě CNS. V šedé hmotě jsou lokalizovány v těsné blízkosti neurocytů. V bílé hmotě tvoří řady mezi myelinizovanými nervovými vlákny. Počet oligodendrocytů se zvyšuje s růstem složitosti nervového systému u jednotlivých živočišných druhů. U člověka nacházíme nejvyšší počet oligodendrocytů v poměru k počtu neuronů. Hlavní funkcí oligodendrocytů je myelinizace axonů v CNS. (25)



Obr. 8: Oligodendroglie (7)



Obr. 9: Oligodendrocyty (8)

Postupná myelinizace během vývoje přispívá ke zmenšování velikosti extracelulárního prostoru v bílé hmotě. Zároveň se v bílé hmotě postupně objevuje anizotropie, to jest směrově orientovaná difúze látek v extracelulárním prostoru. (44)

Typy buněčné smrti u oligodendrocytů

Buněčná smrt může probíhat formou apoptózy, nekrózy či zkřížením obou uvedených. Hlavní prvky u nekrotického typu buněčné smrti jsou ztráta integrity buněčné membrány, zvýšený otok organel, porucha funkce mitochondrií a vyšší energetická spotřeba. Hlavní rysy apoptózy jsou smrštění buňky, nitrojaderný rozklad DNA a váčkovité výrůstky membrány (tzv. blebbing). U hybridního typu buněčné smrti buňka vykazuje znaky jak apoptózy tak nekrózy. U tohoto typu buněčné smrti se předpokládá, že začátek je podobný apoptóze, ale z nedostatku buněčné energie vyústí v nekrózu. (30)

In vitro a in vivo experimenty prokázaly, že oligodendrocyty jsou velmi náchylné na poškození hypoxií či ischemií. Co spouští smrt oligodendrocytů u mozkové ischemie zůstává k objasnění. (41)

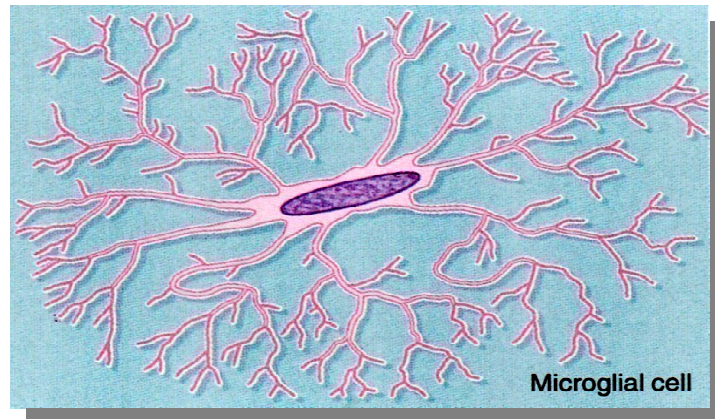
Nejnovější poznatky ukazují, že excitotoxické mechanismy mohou také přispívat k poranění oligodendrocytů. Počáteční studie o buněčné kultuře popisující senzitivitu oligodendrocytů na glutamát ukazují, že glutamátem vyvolaná buněčná smrt oligodendrocytů je vykonána aktivací buď kainátových nebo AMPA receptorů, ale není vykonána NMDA nebo metabotropními receptory. (35)

Poškození myelinu v CNS a PNS je často spojováno s imunitní anebo zánětlivou poruchou. Poškození oligodendrocytů a Schwannových buněk může být zprostředkováno cytokiny, protilátkami a složkami komplementu, nebo specifickou aktivací tzv. receptorů smrti. Imunitní buňky, mikroglie a reaktivní astrocyty jsou všechny zdrojem cytokinů v poškozeném CNS. (35)

2.1.2.3 Mikroglie

Mikroglie (obr. 10) jsou fagocytující elementy, které v nervové tkáni reprezentují mononukleární fagocytární systém. Těla mikrogliových elementů jsou malá, denzní a oploštělá. Jádra obsahují vysoce kondenzovaný chromatin a jsou protažena v dlouhé ose buňky. Tvar jádra umožňuje mikrogliové buňky rozpoznat i na hematoxylin-eosinových

preparátech, neboť jádra ostatní neuroglie jsou kulatá. Mikroglie vysílá krátké výběžky pokryté četnými malými výrůstky, které jim dávají trnitý vzhled. Přestože není tento typ glie příliš hojný, vyskytuje se jak v bílé, tak i v šedé hmotě. (19)

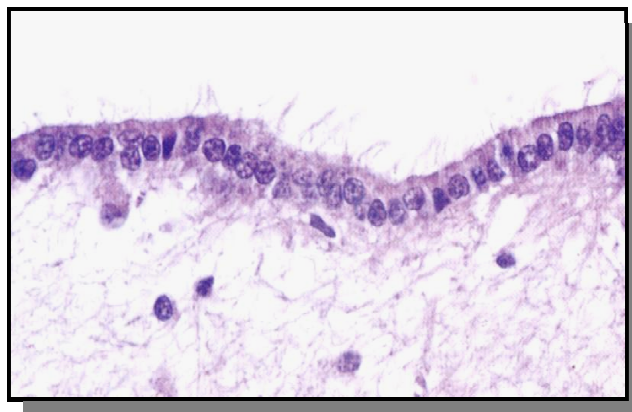


Obr. 10: Mikroglie (45)

Původ mikrogliových elementů je dodnes nejasný, avšak jisté je, že alespoň některé z nich vznikají z krevních monocytů imigrovaných z kapilár. Tato třída mikroglie schopné fagocytosy plní v CNS funkci odklízecí a pravděpodobně i imunitní. (18)

2.1.2.4 Ependym

Ependymové buňky představují fylogeneticky i ontogeneticky nejstarší gliový element. (46)



Obr. 11: Ependym (45)

Ependymové buňky (obr. 11) se odvozují z vnitřní výstelky neurální trubice a zachovávají si, na rozdíl od jiných buněk stejného původu, které vysílají výběžky a mění se na neurony či glii, původní epitelové uspořádání. Ependym vystýlá centrální dutiny mozku a míchy, omývá cerebrospinálním likvorem, který tyto kavity vyplňuje.

Většina endymových buněk je opatřena pohyblivými řasinkami, které podporují tok mozkomíšního moku. (19)

Ependymové buňky mají velký počet mitochondrií, v apexu umístěný Golgiho komplex a nevalně rozvinuté drsné endoplazmatické retikulum. Boční povrchy některých buněk endymu jsou opatřeny nexy a zonulae adhaerentes, avšak ve velké části mozku zcela chybějí těsná spojení. Proto mohou látky obsažené v likvoru přicházet do kontaktu i s buňkami v hloubi silné vrstvy neuroepitelu.

Kontura bazálního povrchu endymové buňky se mění s jejím umístěním v mozku či míše. Většina buněk má plochou bázi, avšak některé jsou opatřeny dlouhými výběžky, které pronikají hluboko do přilehlé nervové tkáně. Takovýto druh endymových buněk je označován jako tancyty a vyskytuje se ve spodině třetí mozkové komory. (19)

2.1.3 VNITŘNÍ PROSTŘEDÍ CNS

CNS vykonává své funkce činnostmi neuronů. K tomu je třeba vnitřního prostředí, které zajistí dynamickou iontovou a elektrickou rovnováhu, ochranu před působením cizorodých látek a které bude neurony dostatečně zásobovat energií a odstraňovat degradační produkty metabolismu tak, aby neurony nepoškozovaly. To je zajišťováno:

- buněčnými elementy – tj. glií
- vnitřním prostředím v užším slova smyslu – tj. extracelulárním prostorem a mozkomíšním mokem

Systém extraneuronálních prostorů je představován:

- systémem mozkových komor
- subarachnoideálními prostory mozku a míchy
- extracelulárním prostřednictvím nervové tkáně. (32)

2.2 MOZKOVÁ KŮRA

Mozková kůra (kůra velkého mozku - pallium – cortex cerebri) tvoří plášť velkého mozku (telencephala) a je fylogeneticky nejmladší částí centrální nervové soustavy. U člověka představuje jeho nejvýznamnější podíl. Během fylogenetického vývoje se zvětšuje kortikalizace funkcí, tj. do mozkové kůry přichází stále větší množství aferentací (dostředivých vláken) a pod kontrolu vzruchů, které z ní vycházejí, se dostává čím dál více tělesných funkcí. Členitá stavba mozkové kůry, výrazně zvětšuje její funkční plochu, která u člověka činí průměrně 2000 cm². (33)

Mozková kůra vzniká z mohutně se rozvíjejících telencefalických váčků, které vyplňují svým vějířovitým rozvojem původní lebeční dutinu. Na basální straně budoucí hemisféry kůra zatlačuje bazální ganglia do hloubky a zespodu je „obrůstá“, až se nakonec dostane k hranici srůstu původního váčku s diencefalónem. Na dorzální straně se oba telencefalické váčky setkávají ve střední čáře a vytvoří tam hlubokou brázdou – fissura longitudinalis cerebri. V tomto stadiu, odpovídá zhruba 3. měsíci nitroděložního života, kůra tvoří skutečný plášť po celém povrchu telencefalón. Pravou i levou hemisféru spojí v hloubce fissura interhemisferica mohutný příčný pruh vláken, corpus callosum, které tak zakryje dosud možný pohled na dorzální stranu thalamu. (38)

Pokračující mohutný plošný růst mozkové kůry předčí růstové možnosti podkorových struktur i vnitřního povrchu lebeční dutiny, a musí se proto zprohýbat – vytvářejí se na něm do hloubky vnořené brázdy, sulci, které mezi sebou ohraničují ven vyklenuté závitky, gyri. Hluboké brázdy bývají označovány jako fissurae. Zprohýbání mozkové kůry je tak velké, že viditelný povrch je tvořen jen 1/3 celkové plochy kůry (2/3 kůry jsou zanořeny do brázd). Některé sulci et gyri jsou konstantní, jiné varírují od individua k individuu, dokonce i jedna hemisféra proti druhé. Gyri i sulci dělají negativní „obtisky“ svého povrchu do vnitřní stěny lebeční dutiny – impresiones gyronum et juga cerebralialia.

Savce s vytvořenými gyry na povrchu mozku označujeme jako gyrencephální, savce, u kterých se gyriфикация nevyvinula, jako lissencephální. Bohatost gyriфикация je závislá především na velikosti těla (hlavně povrchu) a lebky, a není závislá na postavení ve vývojovém systému. Malé zvíře s relativně velkou lebkou (krysa, malé opice) bude mít mozek lissencephální, velké zvíře s relativně malou lebkou (gorila, šimpanz, ale i vůl) bude mít mozek gyrencephální a tento stav nevyjádří výši jejich inteligence. (38)

2.2.1 TOPOGRAFIE HEMISFÉR

A. Hlavní zářezy a laloky

Na konci 3. měsíce intrauterinního života se objevuje na laterální ploše hemisféry vkleslina, insula, která je základem budoucí fossa cerebri lateralis. Insulu přerůstá okolní frontální, parietální a temporální kůra, která nad potopenou inzulu vytvoří v 7. měsíci vzájemným dotekem přerůstajících okrajů fissura lateralis cerebri. Ve 4. měsíci se vytvoří na mediální ploše hemisféry sulcus parieto-occipitalis a sulcus calcarinus. V 5. měsíci je na mediální ploše zřetelný sulcus cinguli. V 6. měsíci se objeví v polovině zevní plochy hemisféry sulcus centralis. V 8. měsíci jsou vytvořeny prakticky všechny významnější sulci.

Průběhem hlavních brázd jsou odděleny mozkové laloky:

Lobus frontalis je před sulcus centralis, lobus parietalis je mezi sulcus centralis a sulcus parieto-occipitalis, lobus occipitalis je za sulcus parieto-occipitalis a lobus temporalis je od ostatních oddělen pomocí fissura lateralis cerebri. Lobus insularis představuje část laterální kůry, potopené pod fissura lateralis cerebri. Shora ho kryje operculum frontale, parietale et temporale. Lobus limbicus je na mediální straně hemisféry oddělen nahoře pomocí sulcus cinguli, ale pokračuje kolem corpus callosum dolů až na mediální plochu temporálního polu, kde je oddělen pomocí sulcus colateralis a sulcus rhinalis. (38)

Corpus callosum, obkroužené limbickým lalokem, má na sagitálním interhemisferickém řezu několik částí: Začíná jako rostrum z lamina terminalis, ohýbá se dozadu jako zesílené genu a pokračuje jako štíhlejší truncus až ke konečnému ztluštění, splenium. Pod splenium a truncus corporis callosi probíhá fornix, který před genu corporis callosi zahýbá obloukem od hypotalamu. Mezi fornix a genu corporis callosi je napjata tenoučká, dvouvrstevná, ependymové přepážka, septum pellucidum.

B. Sulci et gyri

V lobus frontalis nalezneme:

gyrus praecentralis, g. frontalis superior, medius et inferior, na jeho spodní ploše pak gyri orbitales s okrajovým g. rectus a útvary čichového mozku – bulbus olfactorius a z něj vybíhající tractus olfactorius, který se rozdělí na striae olfactoriae medialis,

lateralis et intermedia, aby ohraničily trojúhelníkovité políčko, zvané trigonum olfactorium. Gyrus subcallosus a paraterminalis řadíme k lobus limbicus. (38)

V lobus parietalis uvidíme:

gyrus postcentralis, lobulus parietalis superior a inferior (rozdělená ještě na g. supramarginalis et angularis). Na mediální ploše je vytvořen lobulus paracentralis a za ním praecuneus.

V lobus occipitalis jsou vytvořeny:

variabilní gyri occipitalis na zevní ploše a cuneus na ploše mediální. Dolní hranicí cuneu tvoří sulcus calcarinus, pod kterým je uložen gyrus occipito-temporalis medialis et lateralis (oba navzájem odděluje sulcus colateralis). Oba gyri představují přechod do lobus temporalis.

V lobus temporalis probíhají:

souběžné gyri temporales - superior, medius et inferior. Na horní ploše g. temporalis superior jsou, přivráceny do fossa cerebri lateralis, dva až čtyři krátké příčné gyri temporales transversi. Z okcipitálního laloku sem zasahuje g. occipito-temporalis medialis, jehož pokračováním je g. parahippocampalis. Souběžný s ním je v celé délce temporálního laloku i g. occipito-temporalis lateralis.

V lobus insularis jsou zřetelné:

přední gyri insularis breves a vzadu gyrus insularis longus.

Lobus limbicus je tvarově nejkomplicovanější:

má tvar límce obkružujícího corpus callosum a zatáčejícího až na nejmediálnější plochu temporálního laloku. Začíná pod rostrum corporis callosi jako úzký gyrus subcallosus a za ním uložený ještě užší gyrus paraterminalis (ten představuje povrch septa, přední část stopky telencefalického váčku, srůstající s lamina terminalis). Pokračuje jako gyrus cinguli kolem corpus callosum, na jeho zadním konci zatáčí, zúžen v isthmus gyri cinguli, obloukem dolů a dopředu do temporálního laloku. Nakonec přechází do gyrus parahippocampalis. Gyrus parahippocampalis pokračuje dopředu k temporálnímu pólu a těsně před ním se v podobě písmene U zatáčí nazpět – uncus gyri parahippocampalis. Na zevní straně ho lemuje sulcus colateralis, vpředu pak

jeho pokračování, sulcus rhinalis. Na vnitřní straně gyrus parahippocampalis je sulcus hippocampi. Od uncus gyri parahippocampalis okcipitálním směrem a navnitř od sulcus hippocampi odhalíme jemný a příčně zubatý gyrus dentatus. Na povrchu g.dentatus začíná bílý pásek, fimbria fornicis, která spolu s gyrus dentatus pokračuje zpět k zadnímu okraji corpus callosum, kde g. dentatus končí, a fimbria fornicis zatáčí pod corpus callosum jako crura fornicis. Crura fornicis obou stran jsou navzájem propojena ploténkou bílé hmoty, commisura fornicis. Dále dopředu pod corpus callosum pak pokračuje bílý sloupec, collumnae fornicis, až před foramen interventriculare a zatáčí tu dolů, před thalamus a do hypotalamu. Fornix probíhá středem hypotalamu do corpus mamillare. (38)

2.2.2 VNITŘNÍ STAVBA KŮRY

Z vývojového, funkčního i morfologického hlediska dělíme mozkovou kůru na třívrstevný allocortex, sestávající z archicortexu a paleocortexu, a šestivrstevný neocortex (isocortex). Paleocortex tvoří asi 1%, archicortex asi 3,5% celkové plochy mozkové kůry. Přejídné oblasti, označované jako mesocortex, jsou vytvořeny v místech přechodu paleocortexu do neocortexu, peripaleocortex, a v místech přechodu archicortexu do neocortexu, periarhicortex. (38)

Korové vrstvy vznikají migrací terminativních buněk, uložených periventrikulárně, směrem k povrchu. Migračních vln je několik. Při každé další migrační vlně projdou migrující buňky mezi buňkami již dříve vycestovanými dále k povrchu. Nejhlubší vrstvy jsou proto nejstarší.

V allocortexu nalezneme tři buněčné vrstvy. Nejnapadnější je vrstva prostřední, tvořená většinou většími, pyramidálními buňkami, které jsou také hlavním aferentem. Zbylé dvě vrstvy jsou tvořeny drobnějšími buňkami, zapojenými většinou jako korové interneurony. Hlavní korové aferenty allocortexu přicházejí z povrchové vrstvy, aferenty jdou do hloubky. Tato stará kůra je tedy vedením jednosměrná.

V neocortexu je vytvořeno 6 buněčných vrstev. Třetí a pátá jsou velkobuněčné, ostatní jsou složeny většinou z buněk malých. Hlavní korová aferentace přichází z hloubky, aferenty z povrchních vrstev jsou určeny k propojení s ostatními oblastmi kůry (asociační a komisurální spoje), aferenty hlubokých vrstev míří do jiných struktur CNS. Pátá a šestá vrstva isocortexu odpovídá druhé a třetí vrstvě allocortexu. (38)

2.2.2.1 Neocortex

Je vývojově nejmladší a rozsahem největší část mozkové kůry. Ve vývojové řadě se objevuje teprve u plazů jako malý základ, primordium neopalli. Největšího rozvoje dosáhl až u člověka. (38)

A. Buňky mozkové kůry

V isokortexu se rozlišují dva základní typy neuronů, které jsou sestaveny v 6 vrstvách:

- pyramidové neurony – převládají ve II. a V. vrstvě šestivrstevné kůry; mají trojúhelníkovité perikaryon, z jehož baze a boků vystupují větvící se dendrity, s množstvím dendritických trnů; z hrotu kuželovitého perikarya vystupuje apikální dendrit, delší, směřující spolu s hrotem perikarya kolmo k povrchu kůry; může zasahovat až do její I. vrstvy. Ze středu baze pyramidového neuronu vystupuje axon, který z pyramidových buněk povrchnějších vrstev jde většinou přes bílou hmotu hemisféry do okolních okrsků a do kolaterální kůry. Z axonů odstupují kolaterály k buňkám buď stejné vrstvy kůry, nebo vrstev povrchnějších. (12)
- hvězdicovité (granulární) neurony – jsou typickými korovými interneurony a jsou z korových buněk nejpočetnější. Nejčastěji jsou uloženy ve II. nebo IV. korové vrstvě (Petrovický, 1996). Jejich oválná až multipolární perikarya vysílají větvící se dendrity, hladké nebo opatřené menším počtem trnů; axon hvězdicovité buňky se větví blízko těla buňky nebo v přilehlých vrstvách kůry. (12)

a dva další typy buněk – méně časté:

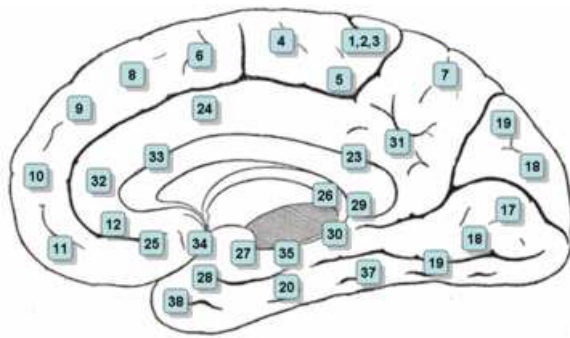
- vřetenovité neurony – jsou uloženy v 6. vrstvě, mají kolmo k povrchu kůry protáhlé perikaryon; dendrity přicházejí z ostatních vrstev kůry, axon vysílá četné kolaterály, opět kolmo k povrchu kůry. Také tyto buňky fungují jako interneurony. (12, 38)
- Martinottiho neurony – jsou multipolární, s paprscitě rozloženými a rozvětvenými dendrity; jsou hlavně v hlubokých vrstvách kůry; axon těchto buněk jde kolmo až do povrchové (I.) vrstvy, kde se větví rovnoběžně

s povrchem kůry. Za průběhu vydává kolaterály do vrstev ostatních. Funguje jako neuron asociující činnost většího počtu dalších buněk různých vrstev. (12)

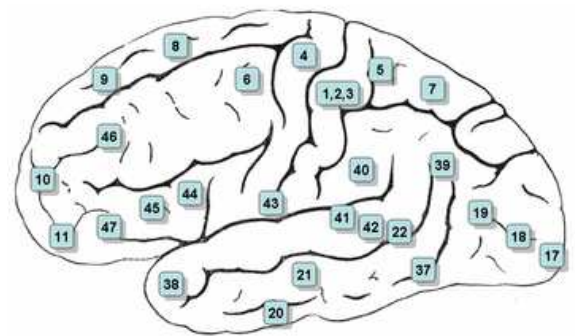
B. Cytoarchitektonické mapy a korové area

Neocortex nemá homogenní strukturu. Dají se v něm rozlišit oblasti, které se navzájem podstatně liší. Rozdíly mohou být v tloušťce, buněčné stavbě, uspořádání vláken, v zapojení do aferentních nebo eferentních spojů, v použitých mediátorech nebo ve funkci. Podle těchto hledisek je také možné popsat a oddělit samostatné úseky kůry – area. (38)

Nejpoužívanější je mapa Brodmannova, která dělí kůru lidského mozku na 11 oblastí (viz. tab. 1) a 52 okrsků (obr. 12, 13). (32)



Obr. 12: Brodmannovy oblasti na mediální a bazální ploše hemisféry (5)



Obr.13: Brodmannovy oblasti na laterální ploše hemisféry (5)

Brodmannovo dělení mozkové kůry

REGIO	AREAE	FUNKCE	POZNÁMKA
Postcentralis	1,2,3,43,(2s)	somatosenzorická, chuťová	zakončení thalamokortikálních vláken
Praecentralis	4,6, (4s)	motorická	Betzovy pyramidové buňky
Frontalis	8,9,10,11,44, 45,46,47, (8s)	asociační	volní úkony, vliv na mimovolní oblast
Insularis	13,14,15,16	integrační	
Temporalis	20,21,22,36,37,38,41,42,52	sluchová	rozdíly mezi druhy
Parietalis	5,7,39,40	asociační	vztah k somestézii
Occipitalis	17,18,19,(19s)	zraková	k zrakové kůře patří i další oblasti
Cingularis	23,24,31,32,33	mimovolní	limbický systém
Retrosplenialis	26,29,30	mimovolní	limbická, alokortex

Hippocampica	27,28,34,35,48,51	čich (34),mimovolní paměť	
Olfactoria	area olfactoria trigonum olfactorium	čichová	tzv. bazální čichová kůra

Tab. 1: Rozdělení podle Brodmana (5)

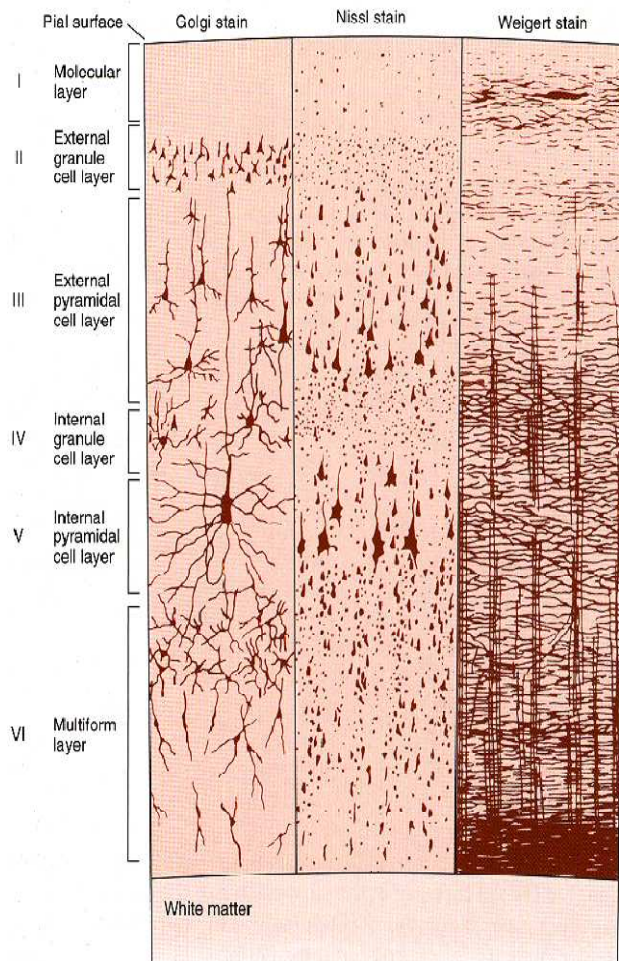
C. Vrstvy mozkové kůry

Výše popsané buňky jsou stavebním podkladem pro 6 korových vrstev. (38) Vrstvy mají tedy cytoarchitektonické uspořádání. (12) Jsou to tyto vrstvy (obr. 14):

- vrstva I. (lamina molecularis) je nejpovrchovější vrstva, často nazývána molekulární nebo také jako bezbuněčná vrstva. (49) Přijímá nespočetně dendritů z lokálních neuronálních okruhů umístěných v hlubších vrstvách. Přesto, že první vrstva je někdy nazývána bezbuněčnou, obsahuje ve skutečnosti několik neuronů a z převážné části je tvořena tangenciálně probíhajícími axony a horizontálně probíhajícími dendrity, které pochází z pyramidových buněk nižších vrstev a v první vrstvě se bifurkačně dělí. (40)
- vrstva II. (lamina granularis externa) je povrchová granulární buněčná vrstva, která zahrnuje směs malých pyramidových buněk a inhibičních neuronů, převážně bipolární buňky. Vrstva dále obsahuje apikální dendrity z pyramidových buněk, jejichž buněčná těla jsou uložena ve vrstvě V. a VI. (49) Buňky této vrstvy mají především asociační funkce. (12)
- vrstva III. (lamina pyramidalis externa) je co se týče buněk nejrozmanitější a, mimo malých hvězdicovitých buněk excitačních a některých buněk typických pro I. vrstvu, obsahuje všechny typy buněk neocortexu. Převážně je však tvořena malými buňkami pyramidovými. (49)
- vrstva IV. (lamina granularis interna) je výhradní svým obsahem malých hvězdicovitých excitačních buněk. Též obsahuje rozmanité inhibiční buňky. IV. vrstva je hlavním přijímacím centrem signálů přicházejících do neocortexu

z talamu. Buňky IV. vrstvy jsou typicky propojeny a vytváří tzv. barely. (49)
Vzhledem k tomu, že většina vláken přichází do IV. vrstvy ze specifických jader talamu, je tloušťka této vrstvy velmi variabilní: téměř chybí v motorických okrcích kůry a je naopak silná v místech senzitivních okrců. (12)

- vrstva V. (lamina pyramidalis interna) je též nazývána vrstva ganglionární a skládá se z velkých a středně velkých pyramidových buněk a dále v oblasti Brodman 4 také z obrovských Betzových pyramidových buněk. (40) Tato vrstva je hlavním zdrojem axonů, které jdou z kůry do podkorových šedých hmot. (12) Jsou to právě tyto pyramidové a kortikospinální neurony, které umožňují pohyby jemné motoriky. Zhruba 31% kortikospinálního traktu vychází z pyramidových buněk uložených v primární motorické kůře (area 4), zbylé pak vychází z frontální motorické asociační oblasti 6, 8 a dále primárních senzitivních oblastí 3, 1, 2 s nepatrným příspěvkem okcipitálního laloku, temporálního laloku a struktur limbického systému. (40)
- vrstva VI. (lamina multiformis) je tvořena neurony heterogenních tvarů. Většina buněk vysílá axony zpět do talamu, avšak VI. vrstva dále obsahuje populaci tzv. Martinnottiho buněk, jejichž axony mají dlouhé projekce napříč všech vrstev neocortexu až do I. vrstvy. Po IV. vrstvě je VI. vrstva dalším hlavním přijímacím centrem neocortexu pro signály z talamu. (49)



Obr. 14: Vrstvy mozkové kůry

Golgiho barvení ukazuje těla neuronů a dendritický strom.

Nisslovo barvení zvýrazňuje také neuronální těla, ale k nim pouze přilehlé proximální úseky dendritů.

Weigertovo barvení zvýrazňuje axonální distribuci. (49)

2.3 CÉVNÍ MOZKOVÁ PŘÍHODA

2.3.1 DEFINICE CMP

Cévní mozkové příhody jsou podle WHO definovány jako rychle se rozvíjející ložiskové, občas i celkové příznaky poruchy mozkové funkce trvající déle než 24 hodin nebo končící smrtí nemocného, bez přítomnosti jiné zjevné příčiny než cévního původu. (36)

2.3.2 EPIDEMIOLOGIE CMP

V ČR roste úmrtnost na cévní mozkové příhody (CMP, iktus) rychleji než úmrtnost na ischemickou chorobu srdeční (ICHS) a prevalence iktů se stále více posouvá do produktivního věku. (22) Roční prevalence iktů v Evropě je 2 na 1000 obyvatel, 10-12 % takto nemocných má do roka recidivu. Ischemický iktus nebo tranzitorní ischemická ataka (TIA) jsou tak jedněmi z hlavních prediktorů recidivy CMP, souhrnné riziko se za pětileté údobí udává 30-40%. Nemocní po iktu jsou rovněž ohroženi infarktem myokardu (IM) (15%) a úmrtím z jiných vaskulárních příčin (15%). (21)

Akutní cévní mozková příhoda je časté onemocnění s devastujícími následky (Kalita, 2006). Incidence je v Evropě okolo 150-200 na 100 000 obyvatel za rok, je druhou (event. třetí) nejčastější příčinou smrti ve světě, příčinou úmrtí u 1/3 pacientů v následujících 6 měsících, vedoucí příčinou invalidity, druhou nejčastější příčinou demence, hlavní příčinou deprese jak u pacientů, tak u jejich opatrovatelů. Ekonomické náklady, zejména na péči následnou, jsou astronomické. (21)

V posledních letech se zvyšuje výskyt iktů, a to nejen u seniorů, ale i u osob v produktivním věku. V Evropě se do r. 2020 očekává až 30% nárůst incidence proti incidenci na konci minulého století. U nás je situace zvláště závažná pro dvakrát až třikrát vyšší incidenci a dvojnásobnou mortalitu ve srovnání se zeměmi západní a severní Evropy, zejména u mužů ve věkové kategorii 49-65let.

Změnu tohoto nepříznivého stavu můžeme dosáhnout jen zásadními změnou organizace péče a přístupu k akutní léčbě. Iktus je stejně akutní, neodkladný stav jako infarkt myokardu nebo kranio cerebrální poranění. (21)

V posledním desetiletí se rovněž změnil názor na léčitelnost časně fáze ischemického iktu, který odpovídá současným znalostem molekulární patofyziologie cévní mozkové

příhody a závěrům řady multicentrických, randomizovaných klinických i experimentálních studií. Nové informace o patofyziologii CMP poskytly rovněž nové zobrazovací metody mozku, zejména perfuzní a difuzně vážené magneticko-rezonanční zobrazení mozku (MRI), pozitronová emisní tomografie (PET) a další metody nukleární medicíny, včetně kombinace zobrazovacích metod. Proto byla vypracována nová organizační a léčebná doporučení, která převážně vycházejí z poznatků medicíny postavené na důkazech. (21)

Péče o ikty je problematikou multidisciplinární, nelze si ji představit bez úzké spolupráce s internistou (kardiologem), oborem rehabilitace, logopedie, psychologie a radiodiagnostiky a v neposlední řadě bez možnosti návaznosti na léčbu neurochirurgickou, angiochirurgickou anebo endovaskulární. Přesto je nezbytné, aby celý management určoval jeden obor a tím je neurologie a v ní se vyvíjející specializace „iktologie“. Jen neurolog vzdělaný v problematice iktů, který zvládl zásady intenzivní péče, může být oním integrujícím a vedoucím článkem v péči o cévní mozkové příhody. (21)

2.3.3 RIZIKOVÉ FAKTORY CMP

Jedním z nejvýznamnějších poznatků pro prevenci a primární intervenci cévních onemocnění je koncepce rizikových faktorů, která má svůj základ ve Framinghamské studii z r. 1963. Epidemiologické studie ukázaly, že čím větší je prevalence rizikových faktorů, tím větší incidenci onemocnění můžeme očekávat.

Co jsou rizikové faktory nemoci? Choroby se nevyskytují náhodně, ale ve vztazích k základním příčinám. Poznání těchto vztahů je klíčem k porozumění příčinnosti. Tyto vztahy představují rizikové faktory pro vznik nemoci. (22)

Většina CMP vzniká jako následek kombinace medicínských příčin (např. vysoký krevní tlak) a příčin návykových (např. kouření). Takovéto příčiny nazýváme rizikovými faktory.

Některé rizikové faktory mohou být regulovány nebo i zcela eliminovány, a to buď léčebnými prostředky – např. užíváním určitých léků, nebo prostředky nemedicínskými, jako je např. změna životního stylu. To jsou tzv. ovlivnitelné rizikové faktory. Udává se, že až 85% CMP lze předcházet kontrolou těchto ovlivnitelných rizikových faktorů. (15)

Rizikový faktor je tedy taková vlastnost, zjišťovaná u dosud zdravých osob, která se vyskytuje u osob s pozdější manifestací choroby častěji než u osob, které touto chorobou ne onemocní. (22)

Rizika CMP jsou podobně jako u kardiovaskulárních onemocnění rozdělitelná do dvou skupin:

A. neovlivnitelná, mezi která patří

- věk - četnost výskytu CMP stoupá s věkem, přesněji řečeno riziko vzniku iktu narůstá od 45. roku věku. Po dosažení 50 let jsou vždy každé další 3 roky života spojeny s vyšším rizikem vzniku CMP, a to o 11-20%. U lidí nad 65 let je riziko nejvyšší, nicméně až 25% všech iktů vzniká u dospělých mladších 65 let a 4% u osob mezi 15 a 40 lety. CMP nejsou časté u dětí do 15 let, a pokud se vyskytnou, pak obvykle jako důsledek vrozené srdeční vady, vrozených cévních abnormalit, úrazy hlavy nebo krku, migrény nebo krevní choroby. (2, 15)
- pohlaví – u mužů pod 65 let je asi o 20% vyšší riziko vzniku ischemické nebo hemoragické CMP než u žen. U žen je zase bez ohledu na věk větší riziko vzniku subarachnoidálního krvácení (SAK), a to až o 50%. U žen se rovněž 3x snadněji vytvoří intrakraniální tepenná výduť (aneurysma). Tyto pohlavní rozdíly jsou méně výrazné u mladých dospělých, kde jsou muži i ženy postiženi téměř stejně. (15)
- rasa a geografické podmínky – CMP, zejména hemoragické, jsou jak známo častější u lidí původu afrického, afrokaribského, asijského, maorijského a obyvatel tichomořských ostrovů než u Evropanů. Např. obyvatelé tichomořských ostrovů a příslušníky kmene Maorů na Novém Zélandu postihují CMP ve věku o 10-15 let mladších než Evropany. Důvody pro tento fakt nejsou zcela jasné, ale výskyt hypertenze, diabetu a dalších rizikových faktorů je u těchto populací vyšší (Feigin). Zajímavé jsou údaje z Finska: vyšší mortalita na cévní onemocnění vůbec je provázána i nálezem měkké vody (z jezer) a nižším obsahem magnezia, kalia, kalcia, mědi a manganu v půdě. (22)
- dědičnost – dědičné faktory jsou velmi vzácně přímou příčinou iktů. Přesto geny hrají významnou roli u některých rizikových faktorů CMP. Výskyt iktu v

rodině, obzvláště vyskytl-li se u dvou a více rodinných příslušníků mladších 65 let, zvyšuje pravděpodobnost prodělání iktu. Genetické faktory jsou obzvláště důležité u subarachnoidálních krvácení, kde se uplatňují přibližně v 7% všech případů a až ve 20% u mladých lidí. Příbuzní 1. stupně (děti) osob, které prodělaly SAK, jsou vystaveni o 2-5% vyššímu riziku subarachnoidálního krvácení. (15)

- meteorologické faktory - tyto vztahy sledoval Bartko. Zjistil korelaci mezi nízkými teplotami a vyšší frekvencí výskytu ložiskových ischemií. Vyšší frekvence byla i při vzestupu teplot nad 40°C a současné koncentraci vodních par nad 1,87 kPa, též při poklesu atmosférického tlaku. Významnější než vlastní hodnota meteorologických faktorů se však zdá být rychlost jejich změny. (22)

B. ovlivnitelná, do kterých patří

- vysoký krevní tlak (hypertenze) – byla prokázána jako rizikový faktor CMP snad ve všech studiích, a to i bez ohledu na věk, pohlaví, rasu či zemi (Kalvach, 1997). Zvýšené riziko CMP a ostatních kardiovaskulárních chorob začíná na hodnotě 115/75 mmHg a zdvojnásobuje se s každým nárůstem o 20/10mmHg. Lidé s jednoznačně stanovenou hypertenzí jsou vystaveni 7x vyššímu riziku vzniku CMP než lidé s normálním krevním tlakem. (15)
- hypotenze – se stále více zdůrazňuje jako významný rizikový faktor ložiskové ischemie mozku. Zpravidla se neuplatňuje samostatně, ale odkrývá jinou, dosud latentní místní poruchu. Proto je také významnějším faktorem u starších lidí. Mitchinson přisuzuje 40% fatálních cévních mozkových příhod starých lidí akutní hypotenzi vzniklé z extrakraniálních příčin, nejčastěji u srdečních selhání, okultních krvácení a pokračující embolizaci do plicnice. (22)
- diabetes mellitus – toto onemocnění způsobuje změny v cévním systému a podporuje vznik aterosklerózy. Lidé s diabetem (1. nebo 2. typu) mají 3x větší pravděpodobnost postižení mozkovou mrtvicí než zbytek populace. Lidé s diabetem také mají tendenci mít: těžší postižení po mrtvici, častější nebo opakované mrtvice a vyšší riziko smrti po mrtvici. (2, 3)
- ateroskleróza – je jednou z hlavních příčin CMP. (15) Ateroskleróza je způsobena uloženými tukovými nánosy nazývanými pláty na cévních stěnách.

Je nejčastější příčinou ucpání artérie a vyskytuje se častěji, postupuje rychleji a projevuje se v mladším věku u lidí s diabetem. Rizikové faktory, které mohou vést k ateroskleróze, jsou hypertenze, zvýšená hladina krevních tuků a kouření. (3)

- vysoká hladina tuků, např. cholesterolu v krvi – přestože jsou lipidy nedílnou součástí našeho těla, vysoká hladina krevních lipidů zvyšuje riziko vzniku aterosklerózy a nemoci srdečních tepen. Přibližně o 20% zvyšuje riziko vzniku ischemické CMP. (15)
- různé srdeční poruchy, jako např. stavy po srdečním infarktu, fibrilace – míhání síní, onemocnění srdečních chlopní či přítomnost chlopní umělých, neprasklé mozkové aneurysma, některé nemoci srdeční přepážky. (2, 15)
- kouření – znásobuje riziko vzniku CMP 4x. Moderní studie ukazují, že riziko CMP je přibližně o 20 % vyšší pro ženy kuřačky než pro muže kuřáky a že ženy jsou celkově citlivější k nebezpečným následkům kouření. Dokonce i pasivní kouření zvyšuje pravděpodobnost vzniku CMP až o 80%. Riziko vzniku iktu je úměrné množství i době trvání vdechování kouře. Ti, kdo kouří 20 a více cigaret za den, jsou vystaveni téměř dvojnásobnému riziku oproti těm, kteří kouří méně. Čím více let se kouří, tím větší je pravděpodobnost vzniku CMP. (15)
- nezdravá strava
- tělesná nečinnost – u fyzicky neaktivních lidí je téměř o 50% větší pravděpodobnost vzniku CMP než u lidí aktivních. (15)
- nadváha – zvyšuje riziko iktu asi o 15% tím, že podporuje vývoj hypertenze, srdečního onemocnění, diabetu II. typu a aterosklerózy.
- konzumace většího množství alkoholu – alkohol v množství přesahujícím 0,5 l 12° piva, 0,5 cl tvrdého alkoholu nebo 2dcl vína na den zvyšuje riziko všech typů cévním mozkových příhod. (2)
- ostatní: antikoncepční pilulky, hormonální substituční terapie, těhotenství, stres a deprese, drogy, úrazy krku.

Mnohé z těchto rizikových faktorů se vzájemně ovlivňují, jeden může zesilovat účinek druhého a obráceně. Riziko vzniku iktu narůstá s počtem kombinovaných rizikových faktorů. Nicméně většiny rizikových faktorů se můžeme vyvarovat nebo je alespoň účinně kontrolovat. (15)

Poznání rizikových faktorů je důležité především pro objasnění těch příčinných vztahů, jejichž ovlivněním můžeme snížit incidenci nemoci, tedy pro aktivní prevenci. Potřebuje znát jednak individuální riziko, jednak riziko pro společnost. Dále je třeba znát, který z rizikových faktorů působí relativně samostatně, které se vzájemně potencují a které se uplatňují jen v interakci s jinými. V těchto vzájemných relacích je potřebné ještě mnohé objasnit. Rizika cévní mozkové příhody jsou v hlavních rysech souhlasná s riziky ostatních cévních onemocnění, mají však dílčí odlišnost ve svém významu. (22)

2.3.4 MOZKOVÁ ISCHÉMIE

Mozkové infarkty jsou mnohem častější než mozková krvácení, představují asi 75 - 80 % cévních mozkových příhod. Některé případy, považované dříve za ischemii, se nyní při CT ukazují jako hemoragie. (23)

Ischemie je jednou z hlavních příčin neuronálního poškození u neurochirurgických pacientů. Objevuje se, když je krevní průtok příliš nízký, než aby mohl dodat dostatek kyslíku k zajištění buněčných membránových funkcí. Faktory nebo parametry uplatňující se v ischemických procesech zahrnují arteriální mozkový krevní průtok přes karotidy a vertebrální artérie, které jsou propojeny Willisovým okruhem, obstrukci venózního odtoku, krevní tlak, intrakraniální tlak (ICP), mozkovou autoregulaci, obsah O₂ a CO₂ v krvi, koncentraci hemoglobinu, buněčný metabolismus a teplotu. Snažíme se porozumět jemné souhře mezi těmito faktory a parametry, čímž můžeme zlepšovat výsledky u našich neurochirurgických pacientů. (37)

2.3.5 PATOFYZIOLOGIE MOZKOVÉ ISCHÉMIE

Cévní mozkové příhody vznikají v důsledku poruchy prokrvení části nebo celého mozku (ischémie), krvácením do mozkové tkáně (hemoragie) nebo krvácením do subarachnoideálního prostoru. Vzácnou příčinou je postižení žilního systému. V etiopatogenezi CMP mají dominantní postavení cévní zásobení mozku a regulační mechanismy mozkové cirkulace. (36)

2.3.5.1. Mechanismus ischemického poškození CNS

Prvotní výzkumy a pozorování mechanismů ischemického poškození byly zaměřeny na relativně jednoduché biochemické a fyziologické změny, o kterých se vědělo, že vychází z přerušení cirkulace. Příkladem těchto změn jsou: ztráta vysoce energetických sloučenin, acidóza zapříčiněná anaerobní tvorbou laktátu a vymizelý průtok díky otoku astrocytů s kompresí mozkových kapilár. Následné výzkumy ukázaly, že problematika je mnohem komplexnější než se původně myslelo a zahrnuje interakce mnoha faktorů. (13)

2.3.5.2 Biochemický průběh

V průběhu 20 sekundového přerušování krevního toku savčím mozkiem za podmínek normotermie dochází k vymizení EEG. Pravděpodobně jako výsledek selhání vysoce energetického metabolismu. V průběhu 5 minut hladina vysoce energetických fosfátů téměř vymizí (deplece ATP) a dojde k těžkému narušení elektrolytové rovnováhy: draslík začne rychle unikat z intracelulárního kompartmentu a sodík s kalciumem vnikají do buněk. Sodíkový influx způsobí zvýšený obsah intracelulární vody obzvláště v astrocytech. (13)

2.3.5.3 Kalcium

Za normálních okolností je vápník obsažen v extracelulárním prostředí v 10 000 násobně vyšší koncentraci než v intracelulárním prostředí. Tento poměr je udržován nejméně 4 mechanismy:

- aktivní membránová Ca^{2+} pumpa vázaná na ATP
- sodno-vápníkovou výměnnou pumpou poháněnou spádem sodíkových iontů

- sekvestrací intracelulárního vápníku v endoplazmatickém retikulu poháněnou ATP
- sekvestrací vápníku uvnitř mitochondrií

Ztráta vysoko energetických sloučenin v průběhu ischemie způsobující narušení sodnodraselného gradientu ve své podstatě eliminuje 3 ze 4 mechanismů buněčné homeostázy kalcia. Tím je způsoben rychlý a masivní influx vápníku do buněk. Zbylý mechanismus, mitochondriální sekvestrace způsobí přetížení mitochondrií vápníkem a tím omezenou kapacitu oxidativní fosforylace. Zvýšení intracelulárního vápníku aktivuje membránové fosfolipázy a proteinkinázy. Důsledkem aktivace fosfolipáz je produkce volných mastných kyselin včetně kyseliny arachidonové, induktora prostaglandinu. Degradace membrán fosfolipázami dále snižuje membránovou integritu a tím i účinnost kalciových pump, což dále podporuje k přetěžování buňky vápníkem a neschopnosti regulovat hladinu intracelulárního kalcia po ischemické epizodě. Volné mastné kyseliny pak dále přispívají k degradaci buněčných membrán. Produkce kyseliny arachidonové způsobuje biochemickou kaskádu končící produkcí tromboxanů a leukotrienů. Obě tyto sloučeniny jsou známé tkáňové iritanty, které mohou způsobit agregaci destiček, srážení krve, vazospasmus a otok s následnou neschopností znovu obnovení adekvátní mozkové perfúze po obnovení krevního průtoku. (13)

2.3.5.4 Volné radikály

V průběhu ischemie hydrolýza ATP cestou AMP vede k akumulaci hypoxantinu. Zvýšení nitrobuněčného vápníku usnadňuje konverzi xantin dehydrogenázy na xantin oxidázu. V průběhu reperfúze a reintrodukce kyslíku, xantin oxidáza je schopna vyprodukovat z kyslíku a hypoxantinu xantin a superoxid. Ještě ničivější radikály však mohou být produkovány Haber-Weissovou reakcí: $O_2^- + H_2O \xrightarrow{Fe^{3+}} O_2 + OH^- + OH^-$. Tato reakce je katalyzovaná železem (Fe^{3+}), které je ve vázané formě obsažen v organismu např. v cytochromech, transferinu, hemoglobinu a dalších. Toto vázané železo se snadno uvolňuje za anaerobních podmínek.

V průběhu reperfúze a reoxygenace dochází k značnému zvýšení hladiny volných kyslíkových radikálů, které ničí buňky a kapilární membrány.

Reoxygenace vede znovu k obnovení hladin ATP, což přispívá k aktivnímu infixu vápníku do mitochondrií, jejich přetížení vápníkem a destrukcí. (13)

2.3.5.5 Laktátová acidóza

Laktátová acidóza významně přispívá v patofyziologii ischemie. Bylo prokázáno, že hladina laktátu nad prahem 18 až 25 micromol/g vede k ireverzibilnímu neuronálnímu poškození. Pokles pH a následky laktátové acidózy poškozují a inaktivují mitochondrie. Degradace NADH (které je potřebné pro syntézu ATP) laktátovou acidózou může dále přispívat k neschopnosti obnovy normální hladiny ATP po ischemii. Laktátová acidóza navíc způsobuje zvýšené uvolňování Fe^{3+} a tím zvyšuje poškození vyvolané volnými radikály. (13)

2.3.5.6. Excitotoxiny

Excitační neurotransmitery, které jsou uvolňovány v průběhu ischemie, hrají významnou roli v etiologii neuronálního ischemického poškození. Ty oblasti mozku, které jsou ischemií nejvíce zranitelné, jako např. neocortex a hippocampus jsou bohatě vybaveny excitačními AMPA (alpha-amino-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) a NMDA (N-methyl-d-aspartate) receptory. Mechanismus, který excitotoxiny způsobují poškození, není dosud pochopen. Je známo, že usnadňují vstup vápníku do neuronu. Stejně tak se ale ví, že jsou neurotoxické pro buňky i v prostředí chudém na vápník. NMDA receptory zůstávají dlouho aktivovány v místě chabé perfúze na okraji infarktové zóny (tzv. penumbra). V oblasti úplné ischemie však po obnovení cirkulace dochází k jejich rychlé inaktivaci. Tyto poznatky objasňují, že blokáda NMDA receptorů je schopna pomoci v oblasti ischemického polostínu (penumbry), ale je již neúčinná v oblasti globální ischemie. V současné době se pozornost obrací na tzv. non-NMDA antagonisty jakými jsou inhibitory kainátových a AMPA receptorů. (13)

2.3.5.7. Ultrastrukturální histologické změny

V průběhu sekund po začátku mozkové ischemie dochází ke kompletnímu vymizení intersticiálních prostor, jakožto následek buněčného otoku podmíněného sodíkovým influxem a poruchy membránové iontové regulace. (13)

V centru ischemie, kde průtok činí méně než 10% jsou buňky odsouzené k zániku. Mezi předchozí zónou a nepoškozenou tkání se nachází oblast tzv. ischemického polostínu (penumbra), kde průtok tvoří 20-60% normálu. Buňky v této oblasti nejsou dosud ischemií poškozeny, nýbrž pouze omráčeny. Osud těchto buněk může být pozitivně ovlivněn farmakologickou intervencí. (11)

2.3.6 CÉVNÍ ZÁSOBENÍ MOZKU

Mozek je zásobován čtyřmi magistrálními přívodnými tepnami: párovými vnitřními krkavicemi a párovými vertebrálními artériemi (které se spojují v artérii bazilární). Prostřednictvím komunikujících artérií vytvářejí tyto tepny na spodině mozku tzv. Willisův okruh, nesmírně důležitou spojku nejen mezi karotickým a vertebrobasilárním povodím, ale též mezi pravou a levou stranou mozkové cirkulace. Willisův okruh umožňuje redistribuci krve z dobře zásobených oblastí mozku do oblastí insuficientních a kompenzuje tak nebezpečí vzniku lokální ischemie. Z Willisova okruhu vycházejí dva systémy arterií. Velké párové tepny probíhají po povrchu mozku a zásobují kortikální a subkortikální oblasti mozkové tkáně. Drobné perforující artérie odstupují z přední (karotické) i zadní (vertebrobasilární) části Willisova okruhu a zásobují centrální struktury mozku, především bazální ganglia, thalamus, hypotalamus a dráhy vnitřního pouzdra. Mozkový kmen je zásoben větévkami z vertebrobasilárního povodí, mozeček třemi párovými mozečkovými tepnami. (36)

Každá oblast mozku má tedy svou zásobující artérii, každá artérie má své cévní teritorium. Mezi jednotlivými sousedními povodími i mezi povrchními a hlubokými arteriálními systémy existují spojky, jsou však velmi variabilní, obvykle malého funkčního významu. Důležité jsou ovšem spojky mezi větvemi zevní a vnitřní karotidy, které se mohou příznivě uplatnit za některých patologických stavů.

Žilní systém je tvořen jednak hlubokým systémem vv.cerebri internaе, spojující se v nepárovou v.cerebri magna odvádějící krev z centrálních struktur mozku, jednak povrchovými žilami odvádějícími krev z mozkové kůry a podkorových oblastí. Ústí do žilních splavů tvrdé pleny. Hlavní odvodné žíly z intrakraniální oblasti jsou vv.jugulares internaе.

Morfologicky normální a funkčně zdatný cévní systém mozku je podmínkou optimální mozkové cirkulace. (36)

2.3.7 PROJEVY MOZKOVÉ ISCHÉMIE

Ischemické cévní mozkové příhody vznikají v důsledku kritického snížení mozkové perfúze části mozku nebo celého mozku. Tvoří přibližně 80% všech CMP.

Za normálních okolností se mozková perfúze pohybuje v rozmezí 50-60 ml/100gmozkové tkáně/min. Dojde-li k jejímu poklesu, je tato situace zpočátku částečně kompenzována vazodilatací arteriál a zvýšením extrakce kyslíku z krve, a pokud průtok krve nepoklesne pod hodnotu 20ml, není neuronální funkce významněji ovlivněna. Jde o tzv. syndrom nouzové perfúze. Poklesne-li však krevní průtok pod hodnotu 20ml, kompenzační mechanismy jsou již nedostatečné, perfúze již nestačí zajistit energetické nároky neuronů, dochází k poruše jejich funkce provázené klinickými příznaky ischemické léze. Hypoxická mozková tkáň se nachází v tzv. ischemickém polostínu, postižená oblast se nazývá zona penumbra. Tento stav je reverzibilní, a pokud se perfúze včas upraví, odezní zcela i klinická symptomatologie (mechanismus tranzitorní cévní mozkové příhody). Při poklesu krevního průtoku pod hodnotu 10ml dochází však již úplnému selhání regulačních mechanismů, rozvíjí se ischemická biochemická kaskáda, lipidová peroxidace a volné radikály způsobují terminálně ireverzibilní strukturální změny mozkové tkáně, buněčnou smrt. Rozvíjí se encefalomalacie, mozkový infarkt. (36)

Rozsah a stupeň ischemického postižení nervové tkáně záleží na řadě faktorů. Je-li postižena menší oblast, stačí často kolaterální krevní oběh zajistit bazální perfúze redistribucí krve do ischemického ložiska z jeho okolí, a to i po dobu několika hodin. Při postižení většího teritoria podléhá obvykle centrální oblast rychle nekróze (mozkový infarkt), v periferní části však mozkové buňky díky kolaterálnímu oběhu po určitou dobu přežívají a jsou schopny reparace (zona penumbra). Kolaterální oběh je tak jedním z nejdůležitějších kompenzačních mechanismů při hypoxii mozkové tkáně. Jeho vydatnost je úměrná mozkové perfúze. Terapeutické úsilí v akutním stadiu cévní mozkové příhody musí tedy směřovat k podpoře kolaterálního oběhu, především zajištěním dostatečného krevního tlaku (při ztrátě autoregulace v ischemickém ložisku je krevní průtok zcela pasivně závislý na hodnotě krevního tlaku) a optimální fluidity krve.

Velmi významným faktorem je i rychlost rozvoje ischemické mozkové příhody. Pozvolna vznikající ischemické postižení (trombotický uzávěr) poskytuje obvykle dostatek času na rozvoj funkčně plnohodnotného kolaterálního oběhu, a tak i úplný uzávěr magistrální přívodné mozkové tepny může být zcela asymptomatický. Naopak při rychlém uzávěru cévy (embolie) jsou podmínky pro vytvoření kolaterálního oběhu daleko méně příznivé a riziko vzniku encefalomalacie je významnější. Proto léčba musí

být zahájena v co nejkratší době, v intervalu, kdy nervová tkáň v zona penumbra je ještě schopna reparace, ideálně do 3 hodin po vzniku cévní mozkové příhody. Není-li obnovena dostatečná perfúze, dochází postupně k transformaci zona penumbra v encefalomalacii s trvalým funkčním poškozením. (36)

2.3.8 ISCHEMICKÉ CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODY

Ischemické CMP se dělí na:

- obstrukční
- neobstrukční
- difuzní (4)

2.3.8.1 Obstrukční CMP

Na predilekčních místech dochází k poruše endotelu, prasklinám, zhrubění vnitřního povrchu tepny a zde se zachytí krevní elementy, ateromatózní hmoty, tvoří se fibrin, a tak vzniká trombus, který lpí na stěně. Trombus může postupně tepnu úplně uzavřít nebo se může drolit a jako embolus být zanesen do perifernějších tepen popř. až menší tepnu uzavřít. Při uzávěru a. cerebri media dochází většinou k těžké a rozsáhlé malacii s hemiplegií nebo afázií. Postižení ostatních cév vede k příslušným výpadovým jevům. Vývoj CMP trvá většinou minuty, hodiny, eventuálně i dny, často vzniká během spánku, nebývá provázena bezvědomím, bolestí hlavy, TK není rozhodující, i když hypertenzní změny na cévách hrají svoji roli, často dojde k příhodě při náhlém poklesu krevního tlaku. Embolie je dramatická příhoda, která se odehrává v sekundách, často je provázena náhlou ztrátou vědomí. Nejčastějším zdrojem jsou sraženiny v srdci (při fibrilaci síní, infarktu myokardu, srdečním aneurysmatu atd.). Dalším zdrojem je a. carotis interna. Embolie jsou často provázeny vývojem spazmů, takže počáteční obraz je těžký, spazmy ale spontánně nebo v důsledku léčby ustoupí a klinický obraz se zmírní. (4)

2.3.8.2 Neobstrukční CMP

Cévy v oblasti mozku nejsou postiženy žádným procesem, který by je zužoval nebo obturoval. Mozkovým buňkám se nedostává kyslíku, protože je nedostatečné prokrvení, nízká saturace krve kyslíkem, anémie. Jedná se o příčiny extrakraniální, které vedou k

hypoxii. Hypoxie je generalizovaná, mozek je postižen celý, proto dochází k poruše vědomí a často ke křečím. Nejčastější je kardiální původ hypoxie (IM, poruchy srdečního rytmu, pokles TK). Situaci zhoršují porušené reologické vlastnosti krve. Jde především o nedostatečný přívod tekutin, kdy se tok zpomalí a je větší sklon k agregaci destiček. Taktéž chronická respirační nedostatečnost vede k nedostatečnému okysličení krve a difuzní cerebrální hypoxii. (4)

2.3.8.3 Difuzní sklerotické hypoxické změny mozku

Jedná se o onemocnění vyššího a vysokého věku. Je způsobeno difuzními změnami na cévách celého mozku. Tepny mají nepravidelný průsvit, střídají se místa nepravidelně zúžená s následnými rozšířeními, některé tepny jsou uzavřeny tromby, což má za následek mnohočetná malatická ložiska. Z drobných rozšíření cév ve tvaru arteriosklerotických malých aneurysmat může dojít k drobným krvácením. V mozku jsou malatická ložiska, postmalatická ložiska nebo posthemoragické pseudocysty různé velikosti, různé lokalizace a různého stáří. Mozek je zmenšený, subarachnoidální prostory a mozkové komory jsou rozšířeny. V klinickém obraze můžeme nacházet pseudoneurastenické obtíže, pacienti si stěžují na bolesti hlavy, závratě, zvýšenou únavnost, dráždivost, poruchy spánku. Později se dostavují poruchy paměti a postupně dochází k obrazu demence. Dalším typickým obrazem je pseudobulbární syndrom, kdy nemocní mají poruchy výslovnosti ve smyslu dysartrie nebo poruchy polykání. (4)

2.3.8.4 Klinický obraz ischemických CMP

Klinický obraz u ischemických CMP je značně variabilní v závislosti na lokalizaci hypoxie, jejím rozsahu, rychlosti jejího vzniku, kompenzačních mechanismech makro- i mikrocirkulace, celkovém zdravotním stavu nemocného, preventivní léčbě i kvalitě a včasnosti urgentní intenzivní péče v samém začátku onemocnění. Ischemická CMP je častěji náhle vzniklé onemocnění. Postupný rozvoj klinické symptomatologie však rovněž není vzácností. Je způsoben pokračujícím uzávěrem přívodné artérie, postupným selháváním kompenzačních mechanismů nebo spoluúčastí celkové mozkové hypoxie.

Podle dynamiky progresu a regrese cévních mozkových příhod můžeme rozlišovat několik typů mozkové ischemie. (36)

A. Tranzitorní cévní mozková příhoda (transient ischemic attack - TIA)

Tento obraz je charakteristický tím, že se většinou dosti rychle objeví neurologická symptomatologie různě těžká, trvá několik hodin nebo jen minut, ale důležité je, že vše beze zbytku ustoupí do 24 hodin. Tyto příhody mohou přicházet různě často, krátkodobě někdy i vícekrát za den, nebo třeba 2x do roka. (34) Většina tranzitorních příhod však trvá mnohem kratší dobu, obvykle méně než 30 minut. Podle definice WHO není TIA cévní mozkovou příhodou, ale je rizikovým faktorem, varovným signálem obvykle závažného kardiovaskulárního onemocnění, který nesmí být podceněn, neboť tranzitorní příhody znamenají vysoké riziko následné závažnější cévní mozkové příhody. (36)

Jednou z forem je tzv. amaurosis fugax, kdy nemocného náhle postihne ztráta zraku na jednom oku, ale zrak se opět plně upraví. Jiným častým projevem je porucha v oblasti hybného systému, může se projevit poklesem koutku ústního, poruchou výslovnosti, snížením síly jedné končetiny nebo celé poloviny těla.

Opakování těchto přechodných poruch může být uniformní, vždy jde o stejný druh postižení (vždy hemiparéza, afázie, atd.), nebo se mohou různé příznaky střídat.

Příčinou TIA jsou nejčastěji mikroembolie. Jsou-li projevy vždy stejné, z jednoho řečiště, pak bude nejspíše zdrojem embolů úlomek trombu z příslušné magistrální tepny. Jindy je příčinou náhlý vzestup TK, kdy mozek nemá schopnost kompenzace vzestupu TK v arteriosklerotickém řečišti. Na tuto možnost pomýšlíme, jde-li o nemocného, který je normotoniik a při TIA zjistíme vysoký TK. Potvrdí nám to okolnost, že snížení tlaku postupuje současně s úpravou neurologické symptomatologie. Další častou příčinou transientní ischemické příhody je pokles celkové cirkulace-což bývá při kardiálních poruchách-při infarktu myokardu, při poruchách rytmu srdečního nebo poklesu TK z nejrůznějších příčin. Pokles celkové cirkulace může dekompenzovat průtok v arteriosklerotických mozkových cévách, které byly na kritické, ale stále ještě dostatečné hranici. Mluvíme o kardiocerebrálním syndromu. (34)

Jelikož se výpadová symptomatologie zcela upraví, předpokládáme, že pokles prokrvení v příslušné oblasti neklesl pod 10%, mozkové buňky nezanikly, jsou schopny při zlepšení prokrvení (spontánně nebo medikamentózně) opět plně fungovat.

Můžeme se však dočkat překvapení, když u nemocných s TIA provádíme CT mozku. V některých případech skutečně je nález zcela normální, ale nezřídka přes úplnou úpravu klinického stavu nalezneme hypotenzní ložisko nebo dokonce několik ložisek. Jsou to zřejmě následky trvalejší a hrubší ischemie, ale v oblasti tzv. klinicky němé. Může to být oblast okolních spazmů, které byly v této němé oblasti, a místo, odkud byla klinická symptomatologie při TIA, nebylo postiženo poklesem prokrvení pod 10% a bylo tedy schopno plné reparace funkce. (34)

B. Reverzibilní cévní mozková příhoda (reversible ischemic neurologic deficit – RIND)

Reverzibilní cévní mozková příhoda je významnější fokální mozkovou hypoxií než TIA, trvá déle než 24 hodin, odeznívá do 14 dnů, někdy s trvalým funkčním deficitem. (36)

Klinická symptomatologie odpovídá - jako vždy - místu postiženému poruchou prokrvení. Opět jde nejčastěji o hemiparézu, afázii atd., tedy z povodí a.cerebri media, resp. a.carotis interna.

Rovněž příčiny jsou podobné, jen kvantitativně výraznější a déle trvající. Častěji nacházíme nálezy ischemických změn na CT, což dokazuje, že část ložiska byla ireverzibilně postižena a značná úprava je dána asi lepšími podmínkami kolaterálního krevního zásobení. Mohou se otevřít nebo zesílit spojky mezi jednotlivými povodími periferních tepen, a tak si řečiště navzájem pomáhají.

Dojde tedy k ne příliš rozsáhlé a ne příliš hrubé poruše mozkové tkáně a velký význam v úpravě má zde, kromě medikamentózní terapie, rehabilitace hybných poruch, event. poruch řeči atd. (34)

C. Progredující cévní mozková příhoda (stroke in evolution – ES)

Progredující iktus je postupně narůstající fokální mozková hypoxie s progresí klinických příznaků. (36) Přes intenzivní léčbu se stav nemocného stále horší. Nemocný přichází s lehkou poruchou hybnosti třeba jedné končetiny nebo s lehkou poruchou fatickou a v průběhu hodin až dnů se symptomatologie prohlubuje do kompletní těžké hemiplegie nebo třeba totální afázie. V prvních hodinách, resp. dnech, nemůžeme rozhodnout, zda jde o TIA, RIND nebo o progredující iktus.

Příčinou progredujícího iktu je nejčastěji narůstání trombu ve větší cévě. Klinická symptomatologie začíná, když průtok zúženým řečištěm klesne pod 50%, a jak se dále řečiště zužuje rychlým narůstáním trombu, je příslušná oblast stále méně zásobena a také rozsah ischemického postižení je stále větší. Když dojde k úplnému uzávěru, dojde po několika minutách k ireverzibilnímu zániku mozkové tkáně – encefalomalacii a iktus je dokončen. Dalšími faktory, které způsobují progresi klinického stavu, mohou být zhoršené reologické vlastnosti krve, kolísání TK oběma směry, selhávání celkového kardiovaskulárního systému a konečně přidružené komplikace respirační, které mohou celou situaci letálně zakončit. Při tomto nepříznivém průběhu se zhoršuje vědomí nemocného až do kómatu. Pokud nedojde k fatálnímu průběhu a nemocný akutní fázi překoná, zůstává většinou velký neurologický nález. (34)

D. Dokončená cévní mozková příhoda (completed stroke- CS)

Dokončený iktus je obrazem ireverzibilní ložiskové hypoxie mozku s trvalým funkčním deficitem. (36) Vývoj může trvat minuty až hodiny, nezdědka zjistí nemocný své postižení ráno po probuzení, domnívá se, že iktus vznikl náhle, ale stav se pozvolna vyvíjel během spánku. Někdy se celý obraz může vytvořit v nárazech několika zhoršení během dne.

Příčiny tohoto průběhu ischemické cévní mozkové příhody jsou prakticky stejné jako ty, které jsme uvedli u ostatních forem ischemických CMP. Rovněž diagnostický a terapeutický postup je stejný. (34)

2.3.9 LÉČBA ISCHEMICKÝCH CMP

2.3.9.1 Konzervativní léčba

- léky na zlepšení prokrvení postižené oblasti nebo ostatních tkání
- prevence a léčba edému (otoku) mozku, prevence a event. léčba infekčních komplikací (zápal plic, infekce močových cest), prevence dekubitů atd.
- prevence časného opakování nebo pokračování příhody
- rehabilitace (20)

2.3.9.2 Intravenózní trombolýza

- podání trombololytika obvykle do žíly na ruce, případně centrálním žilním katetrem
- léčbu je nutné podat do tří hodin od chvíle, kdy došlo k CMP (20)

2.3.9.3 Intraarteriální trombolýza

- metoda, při níž se během angiografického vyšetření do ucpané mozkové cévy zavede tříslem speciální mikrokatestr, kterým se aplikuje trombololytikum přímo do krevní sraženiny, působí tedy lokálně
- tato metoda je účinnější a bezpečnější než intravenózní trombolýza – podává se až 10krát menší množství léku než u intravenózní trombolýzy, neboť lék působí přímo ve sraženině
- novinkou je kombinace této metody s mechanickou trombolýzou, při níž se pomocí speciálního nástroje při katetrizaci sraženina „ručně“ rozrušuje na menší části, které se odsávají nebo „odplaví“ z ucpané tepny a mohou být dále léčeny; při současném použití obou metod se snižuje i dávka podaného trombololytika (v některých případech se nemusí podávat vůbec), čímž se snižuje riziko krvácivých komplikací
- léčbu je nutné provést do 6 hodin (v určitých specifických případech i později)

Úskalí trombololytické léčby

Trombololytická léčba je vhodná pouze pro 3–5 % pacientů, neboť má řadu úskalí a kontraindikací.

1/ Časové okno – jednou z podmínek pro podání trombolýzy je to, aby se pacient dostal včas na pracoviště, kde lze ihned provést správnou diagnostiku, která je u CMP velmi složitá, a kde trombolýzu provádí. Důležitá je organizace primární péče. Například v kardiologii je primární péče o pacienty s infarktem již zorganizována dokonale, je osvěta jak u pacientů, tak na straně záchranné služby, obvodních lékařů atd., takže lidé s infarktem se dostanou velice rychle na specializované pracoviště. U CMP tento systém ještě tak dobře nefunguje. V České republice, ale i mnohde ve vyspělých zemích, totiž dosud neexistuje infrastruktura, která by cíleně řešila dostupnost kvalitní péče pro

každého pacienta. Často se zbytečně ztrácí čas tím, že je pacient vezen na pohotovost, odtud do menší nemocnice, pak na CT a odtud teprve na specializované pracoviště. Diagnostiku i léčbu je nutné provádět na jednom místě – na specializovaném pracovišti, které je schopné 24 hodin denně pacienta správně zhodnotit a léčbu zahájit.

2/ Vedle dodržení časového okna (3, resp. 6 hodin) je pro podání obou trombolýz zásadní fakt, zda do postižené oblasti proniká bočními (kolaterálními) cestami alespoň částečně krev (bazální průtok), která zabrání tomu, aby tkáň definitivně odumřela. Pokud je tato oblast zcela odříznutá od krevního zásobení, není možné postiženou tkáň zachránit ani při dodržení potřebného časového okna, neboť mozkové buňky nemohou bez kyslíku přežít. Bazální průtok krve dokáže oddálit fatální průběh CMP o několik klíčových hodin.

3/ Kontraindikace – trombolýzu není možné provést, pokud klinický obraz pacienta neodpovídá indikačním kritériím nebo pokud např. pacient prodělal v posledních třech měsících rozsáhlejší operaci, má maligní onemocnění či již CMP nedávno prodělal.

4/ Nákladnost léčby – další problém trombolýtické léčby spočívá v její ceně, průměrné náklady na léčbu jednoho pacienta přesahují 50 tisíc korun za jednu intravenózní trombolýzu. Pojišťovny sice léčbu hradí, ale ve stejné výši jako daleko levnější konzervativní léčbu, takže větší množství trombolýz může vážně narušit hospodaření celé nemocnice. (20)

2.3.9.4 Chirurgická léčba

U ischemických cévních mozkových příhod jsou k dispozici v zásadě dva možné chirurgické postupy:

- odstranění překážky (endarterektomie) – karotická endarterektomie je indikována při hemodynamicky významné stenóze a. carotis interna ať už asymptomatické zjištěné nalezením šelestu nad karotidou a prokázané pomocí sonografie a angiografie, nebo u takové, která způsobuje embolizaci do cerebrálního řečiště s klinickým obrazem TIA, RIND nebo dokončeného iktu s malým reziduálním nálezem.
- nebo její obejití (anastomózy) – extra-intrakraniální anastomóza je operace, při které se napojí extrakraniální a. temporalis superficialis na intrakraniální větev

a. cerebri media. Indikována k této operaci jsou vysoká postižení a. carotis interna, postižení bifurkace společné krkavice, které není vhodné pro endarterektomii, a postižení a. cerebri media. Princip spočívá v tom, že v intrakraniální tepně se obrátí proud a z naší větve zevní krkavice se tak posílí prokrvení v oblasti intracerebrální. Předpokladem je snížený tlak v intracerebrálním řečišti, aby k obrácení toku krve mohlo dojít. (34)

2.3.9.5 Rehabilitace

Léčebná rehabilitace je všeobecně považována za samostatný medicínský obor, který však má některé speciální rysy. Pokud jde u pacienta o těžké zdravotní postižení, které svými důsledky přesahuje čistě zdravotní problematiku, musí léčebná rehabilitace navazovat na rehabilitaci sociální a pracovní (u dětí i pedagogickou). Společně tvoří rehabilitaci ucelenou. (22) Rehabilitace je velmi významnou složkou v léčbě CMP. Dá se říci, že následky po CMP jsou přímo úměrné kvalitě a intenzitě léčebné rehabilitace od samého začátku CMP. (34) Léčebná rehabilitace by měla být prováděna již od akutního stádia nemoci. Měla by být zajišťována rehabilitačním týmem, jehož všichni členové se na programu podílejí. Tím je dosaženo komplexnosti péče o pacienta. Členy týmu jsou především lékař, fyzioterapeut, ergoterapeut, logoped, psycholog, sociální pracovníce, případně protetický technik. (48).

Po cévní mozkové příhodě nastává nejprve rychlý, později stále pomalejší vývoj, který lze sledovat nejméně po dobu půl roku, často déle než rok.

Lékaři i pacienti si musí uvědomit, že cíle rehabilitace se mění v závislosti na etapě vývoje a také na stupni a typu postižení. V různých fázích nemoci bývá některý z níže uvedených cílů nejdůležitější, i když sledujeme současně vždy alespoň dva z nich:

1. bránit vzniku sekundárních změn
2. s využitím facilitačních metod podporovat spontánní úpravu mozkové poruchy
3. umožnit pacientovi soběstačnost nácvikem běžných denních činností a aktivního transportu (chůze) s použitím pomůcek a později nácvikem substitučních mechanismů

4. ve spolupráci s rodinou a okolím vytvořit pacientovi podmínky pro životní a popřípadě pracovní začlenění; motivovat pacienta pro pozitivní přístup k životu a seznámit ho s programem kondičního cvičení

Z hlediska rehabilitačních cílů existuje hranice (i když neostrá) mezi osobami v produktivním věku, u nichž je vhodné věnovat značné úsilí pracovnímu začlenění, a osobami v důchodovém a předdůchodovém věku, kde je hlavním cílem udržení soběstačnosti a sociálních kontaktů. (22)

2.3.10 NÁSLEDKY CÉVNÍ MOZKOVÉ PŘÍHODY

Následky se odvíjejí od rozsahu, v jakém je mozková tkáň postižena. Záleží tedy na tom, jak rychle se podaří obnovit průtok krve postiženou tepnou, a zachránit tak oblast mozku, která nepodlehla definitivní zkáze.

Klinické spektrum následků kolísá od minimálního, tzn., že se člověk vrátí do života zcela zdrav (bez jakéhokoliv postižení), až po kóma či smrt. Mezi méně závažné následky patří například lehká porucha hybnosti jedné ruky či nohy nebo porucha citlivosti; tyto poruchy lze výrazně zlepšit nebo upravit rehabilitací. Těžkým postižením je pak tzv. plegie (úplné ochrnutí) jedné končetiny nebo hemiplegie (úplné ochrnutí pravé nebo levé poloviny těla), porucha řeči (jak schopnost mluvit, tak schopnost rozumět), porucha schopnosti číst a psát, různé typy poruch vědomí.

Trpí-li pacient po CMP následky, je neopominutelnou součástí léčby rehabilitace pod odborným vedením. Rehabilitace se zaměřuje na to, aby nepostižená část mozku co nejvíce převzala funkci postižené tkáně, existují různé reedukační programy na zlepšení a rehabilitaci řeči (logopedie), rehabilitaci hybnosti, pacienti se učí náhradním pohybům tak, aby byli co nejvíce soběstační a mohli žít v rámci možností co nejkvalitnější život. (20)

2.4 MODELY MOZKOVÉ ISCHÉMIE U POTKANA

Ischemické poškození CNS představuje komplexní dynamicky se měnící proces sestávající z mnoha složitě provázaných dějů. Již více než 160 let jsou vytvářeny stále rafinovanější experimentální modely ve snaze o napodobení situace u humánních hypoxicko-ischemických mozkových příhod. Hlavním cílem modelování ischemie byla vždy možnost testovat v kontrolovaných podmínkách různé neuroprotektivní strategie. (26)

Obecně lze modely rozdělit na:

- 1) globální (např. hypobarická hypoxie, okluze aa.vertebrales a podvaz obou aa.carotides u laboratorního potkana, někdy za současné iatrogenní systémové hypotenze „four vessel occlusion“, či jen okluze obou aa.carotides bez, či s hypotenzí)
- 2) fokální (např. okluze a.cerebri media, fototrombóza, endotelinový model, či modely embolické)

Oproti etiopatogeneticky heterogenním humánním iktům mají experimentální modely řadu výhod, jako např. relativní uniformitu vzniklých lézí, možnost odstupňování závažnosti ischemie či různým způsobem kvantifikovatelné patologické důsledky. (26)

U humánní mozkové mrtvice, na rozdíl od zvířecího modelu, je permanentní okluze spíše výjimkou než pravidlem. Ve významném procentu případů dochází následně k rekanalizaci uzavřené tepny. Proto byly vyvíjeny snahy, získat zvířecí modely co nejvíce se přibližující lidskému průběhu mozkové mrtvice s možností následné rekanalizace. (28)

2.4.1 INTRALUMINÁLNÍ OKLUZE

Tato technika využívá vlákno (např. nylonové struktury), které má předurčený průměr, který je roven průměru cévního lumen v místě odstupu střední mozkové tepny od vnitřní karotidy. Toto vlákno je postupně zaváděno cestou společné karotidy až dokud nedosáhne počátku střední mozkové tepny (MCA), kde svým průměrem uzavře lumen tepny. V tu chvíli vlákno blokuje veškerý průtok krve. Znovuobnovení tohoto krevního toku je umožněno pouhým vytažením tohoto vlákna, čímž se uvolní případný průtok krve. Studie na těchto modelech také umožňují zdokumentovat např. ztrátu

amplitudy EEG, neurologické deficity, tvorbu otoků, mozkového infarktu a mortalitu spojenou s různou délkou ischemie a reperfúze. Četné publikace uvádějí různé varianty této metody, které se liší např. tím, že některými dodatečnými vlákny obturují i různé možné kolaterální přítoky do postižené oblasti. Protože u této metody není prováděna kraniektomie, poškozením vyplívajícím z retrakce mozku, manipulace s cévami, ztráty teploty a vysušením je zabráněno. Trvání ischemie může být precizně kontrolováno. Hlavní nevýhodou této techniky je nevyhnutelné poškození endoteliální vystélky vnitřní karotické tepny, které následně může přispívat k patologickým procesům ve stěnách tepny, ke změnám permeability mozkové tepny a může být také zdrojem embolů, což může podstatně ovlivnit průběh v ischemické oblasti. (28)

2.4.2 TRANSKRANIÁLNÍ CHIRURGICKÝ MODEL

Využívá přímé vizualizace MCA po provedené kraniektomii. MCA je následně okludována chirurgicky např. elektrokauterizací nebo podvazem arterie. Okluze může být permanentní, nebo transientní po uvolnění okluze. Výhodou metody je, díky vizualizaci, možnost okluze v různém průběhu tepny (proximální nebo distální okluze) a dále možnost volby uvolnění okluze a reperfúze tepny v daném čase od okluze. Nevýhodou metody je nutná kraniektomie. (26, 28, 51)

2.4.3 ABLUMINÁLNÍ APLIKACE ENDOTELINU-1

V roce 1985 popsal Hickey vazokonstrikčně působící oligopeptid syntetizovaný endoteliálními buňkami. Vzhledem ke svému původu dostal jméno endotelin (ET). Posléze se ukázalo, že existuje celá skupina strukturálně příbuzných peptidů, dnes označovaných jako ET-1, ET-2 a ET-3, a že zdaleka nejdou syntetizovány jen v endotelu. V mozku se za normálních okolností vyskytuje především ET-1, v menší míře však i ET-3. (26)

Endotelin-1 je endogenní peptid s výrazně vazokonstrikčními účinky v mozkových cévách. (28) Kromě vazokonstrikce mají endoteliny řadu dalších biologických účinků. Konkrétně v mozku se podílí na indukci proliferace astrocytů (17), ovlivňující coupling nexů mezi astrocyty, pravděpodobně mají vliv na rychlý anterográdní axonální transport. (26)

Unikátní je, že jeho účinek je extrémně dlouhý. V in situ experimentech, poločas potřebný k maximálnímu obnovení kalibru piálních cév byl zhruba 45 až 60 minut. Při

intracisternální aplikaci pikomolárního množství tohoto peptidu se zjistilo, že vede k závažnému poškození mozkového kmene u krysy, která je při vědomí. (28)

Jako první využil endotelinu jako exogenního faktoru vyvolávajícího ischemii Agnati v roce 1991. Jednalo se o aplikaci ET-1 do oblasti corpus striatum laboratorního potkana. Potkanům byly provedeny trepanace kalvy a ET-1 byl přímo injekčně aplikován do mozkové kůry. Agnati pomocí mikrodializačních technik zjistil v místě injekce zvýšení koncentrace laktátu a dopaminu (nikoli glutamát) a na základě histologických nálezů konstatoval vznik ischemické léze v místě aplikace. (26, 50) Touto metodou lze vyvolat ischemii v různých oblastech mozkové tkáně díky přímé injekční aplikaci do tkáně pod stereotaktickou kontrolou. (26, 31, 47) V následujících letech byly publikovány modifikace modelu: intracerebroventrikulární podání, aplikace na povrch mozku a hojně používaná metoda aplikace do blízkosti a. cerebri media. (26)

Při endotelinové okluzi a. cerebri media byl peptid aplikován do oblasti obnažené střední cerebrální arterie, což vedlo k indukci závažné ischemie v teritoriu tepny. Počáteční změny v krevním toku jsou srovnatelné s těmi, které můžeme vidět u permanentního uzávěru střední mozkové tepny. Následné studie odhalily, že reprodukovatelná, na dávce závislá ischemie, navozená endotelinem v teritoriu střední mozkové tepny je následována postupnou reperfúzí dříve okludované cévy. Výhodou této techniky je reverzibilita ischemie, chybění mechanického poškození exponované cévy (intraluminální manipulací) a fakt, že rozsah a trvání ischemie může být kontrolováno do určité míry koncentrací aplikovaného peptidu. Nevýhodou je potřeba kraniektomie a tudíž problémy spojené s preparací na otevřené lebce. (28)

2.4.4 TROMBEMBOLICKÝ MODEL

Trombembolické modely spadají do 3 hlavních kategorií:

1) Autologní embolizace

Autologní emboly jsou zavedeny do vnitřní karotické tepny, aby způsobily uzávěr menších tepen v distálnější oblasti ve směru toku. Při této metodě je krev vyjmuta z těla zvířete, ve vnějším prostředí je navozeno její sražení a následně je znovu zavedena do mozkové cirkulace. Studie trombembolických agens odhalily, že lidský aktivátor plasminogenu není účinný v desintegraci autologních krysích trombů. Tato překážka

byla odstraněna použitím lidské krve k tvorbě sraženin, u nichž je možné použít desintegraci trombů lidský aktivátor plasminogenu. (28)

2) Mikrosférová embolizace

Používány jsou kalibrované mikroembolizující materiály. Velikost infarktu a neurologického deficitu koreluje s distribucí a počtem těchto materiálů. Výhody trombembolických modelů jsou minimální chirurgické manipulace a schopnost zapříčinit ischemii u zvířat, která jsou při vědomí. Nejdůležitější limitací těchto modelů je, že rozsahy a velikosti produkovaných infarktů nemohou být vždy stejné vzhledem k určité nepředvídatelnosti distribuce mikroembolizujícího materiálu. Přes tyto nevýhody, studie využívající trombembolické modely dobře ilustrují návrat krevního toku a následků trombolýzy a recirkulace. (28)

3) Fotochemicky navozená fokální cerebrální trombóza

Trombóza ve specifické krevní tepně je vyvolána aplikací fotosenzitivního barviva (např. bengálská červeň) a bezprostředním ozářením místa budoucí požadované léze světelným paprskem o specifické vlnové délce. Reakce mezi světelným paprskem a barvivem vyvolaná tvorkou kyslíkových radikálů, které způsobují oxidaci endotelových lipidů a krevních elementů. Toto navozuje agregaci krevních destiček a následnou trombózu. Tato technika vyžaduje retrakci skalpu, avšak nevyžaduje kraniektomii. Světlo o určité vlnové délce prostoupí lebkou a dostává se do mozku, aby zreagovalo s bengálskou červení uvnitř cév. Výhodou je preparace na uzavřené lebce a možnost kontrolovat stupeň poškození a eventuálně velikost léze manipulováním s intenzitou světelného paprsku a koncentrací fotochemické látky. Tato technika může být různým způsobem modifikována, např. je možné ozařovat tepnu většího kalibru, kde dochází k tvorbě trombů, které následně embolizují ve směru krevního toku. (28)

3. CÍLE A HYPOTÉZY

3.1 CÍLE

Cílem mé diplomové práce bude posoudit poškození mozkové kůry u dospělého zvířete na základě doby ozařování a podané dávce bengálské červeně (BR). Následně vyhodnotit nejvhodnější množství BR a čas ozařování tak, aby modelům působil co nejhomogennější léze, tzn. získání ideálního modelu jako vstupního bodu pro další studie.

Cíle:

- 1) Zjistit nejvhodnější způsob měření rozsahu léze. V úvahu připadá měření plochy léze, hloubka léze (tzn. vzdálenost od povrchu mozkové kůry) a šířku léze (tzn. vzdálenost mezi nejvzdálenějšími body).
- 2) Vyhodnotit závislost velikosti léze na délce ozařování. Chceme ověřit, zda-li u zvířat ozařovaných po různě dlouhou dobu se velikosti lézí liší a zda-li jsou v přímé úměře k délce ozařování.
- 3) Zjistit jakým způsobem je velikost léze závislá na množství podané BR.

3.2 HYPOTÉZY

- 1) Pomocí fotochemické metody lze vytvořit lézi v CNS zvířete.
- 2) Pro lézi je možno vyvinout metodu hodnocení, která je závislá na parametrech ozáření nebo koncentraci.
- 3) Předpokládáme, že velikost lézí je závislá na délce ozařování.
- 4) Předpokládáme, že velikost lézí je závislá na koncentraci podané dávky BR.
- 5) Z velikosti léze půjde zpětně usuzovat na množství podané dávky či délku expozice záření.
- 6) Předpokládáme, že lze navrhnout správnou koncentraci BR a dobu ozáření, abychom získali podobné léze.

4. METODY

4.1 CHARAKTERISTIKA SKUPINY ZVÍŘAT

Tato práce probíhala formou experimentu. Experiment proběhl na samčích jedincích laboratorního potkana rodu Wistar dospělého věku. Zvířata byla držena ve stabilní sociální skupině pod kontrolou vnějšího prostředí (teploty $22 \pm 1^\circ\text{C}$ a vlhkosti 50-60%, za 12 hodinového střídání světla a tmy) s volným přístupem ke krmivu a k vodě. Experiment byl schválen etickou komisí Fyziologického ústavu Akademie věd České Republiky. S laboratorními potkany bylo zacházeno v souladu s platnými směrnici pro práci s laboratorními zvířaty (vyhl. 265/19 Sb.)

4.2 VYTVOŘENÍ FOKÁLNÍ MOZKOVÉ ISCHÉMIE

Fokální mozková ischemie CNS byla vyvolána fotochemicky. K osvětlení byl použit Laser-Roithner s výkonem 50mW a vlnovou délkou 535 nm. Metodika využívá schopnosti některých látek uvolňovat volné kyslíkové radikály při ozáření světlem o určité vlnové délce. My jsme použili bengálskou červeň, která při ozáření generuje singletový kyslík. Původně byla jako zdroj světla využívána xenonová oblouková lampa (vlnová délka 560nm), v dnešní době je však již většinou nahrazena lasery a jen vzácněji se používá bílého světla (vzhledem k nutnosti použití výrazně vyšší intenzity záření). Po intravenózním podání bengálské červeně do v. jugularis je ozařováno stereotakticky definované místo na kalvě (pokud to experiment nevyžaduje, není, vzhledem k dobrému transkalvárnímu průniku světla, nutná trepanace). Bengálská červeň přítomná v cévách pod místem svícení uvolňuje singletový kyslík, který poškozují endotel, což vede k aktivaci a adhezi destiček s následnou tvorbou trombů a tím vytváří mozkovou ischemii.

4.2.1 CHIRURGICKÁ METODIKA

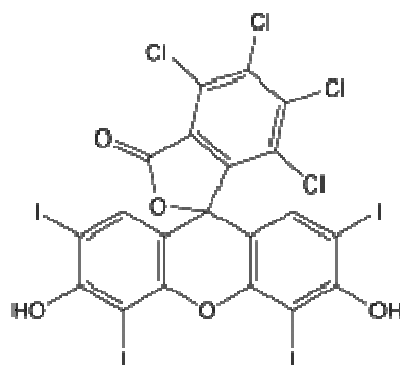
Po zvážení zvířete, je potkan rodu Wistar anestetizován nejdříve etherem, poté isofluranem, který udržuje zvíře v anestezii po celou dobu operace. Operační pole je oholeno a laboratorní potkan je fixován v poloze na břiše. Nejdříve vedeme řez na proximální třetině hlavy a provedeme stažení skalpu. Laterálně od bregmy označíme místo, kam bude poté směřovat osvětlení a vybrousíme zde kruhový otvor o velikosti 2mm. Poté zafixujeme potkana v poloze na zádech a vedeme řez na přední straně hrudníku. Preparujeme v. jugularis interna, kam pomalu aplikujeme bengálskou červeň.

Poté zašijeme a vrátíme potkana zpátky do polohy na břicho a umístíme ho do stereotaktického aparátu, kde je stále udržován v anestezii. Aparát nastavíme tak, aby osvětlení směřovalo na označené místo. A po určitou dobu ozařujeme 2 cm od místa označení. Poté vrátíme zpátky na stůl, zašijeme a laboratorního potkana uložíme do čistého kotce. V průběhu probouzení z narkózy můžeme pozorovat neurologické příznaky poškození ipsilaterálních motorických center. Zvíře napadá na kontralaterální stranu, točí se do kruhu apod.

4.2.2 BENGÁLSKÁ ČERVENĚ

Bengálská červeně (obr. 15)

(4,5,6,7-tetrachloro-2',4',5',7'-tetraiodofluorescein).



Obr. 15: Rose Bengal (9)

Použití bengálské červeně v jednotlivých studiích (Tab. 2)

Parametry jednotlivých studií fotochemické cerebrální ischemie laboratorního potkana:

Studie	Bengal rose (mg)	Světelný zdroj	Intenzita (W/cm ²)	Expozice (min)
Watson et al., 1985	10	Xenon arc lamp, 60 nm, filtr 560 nm	0,64	20

Van Reempts et al., 1987	10	150 W fiberoptic/ halogenová lampa	Nebyla měřena	20
Grome et el., 1988	15	Xenonová lampa 75 Watt, 570 tepelný filtr	Nebyla měřena	15
DeRyck et al., 1989	15 nebo 20	Halogen 150 W	Nebyla měřena	20
Boquillon et al., 1992	10	Argonová laser, 3W 570 nm	0,064; 0,16; 0,32; 0,64	zadána dle intenzity
Lanens et al., 1995	10	Halogen (150 W) fiberoptic/halogen	Nebyla měřena	20
Lee et al., 1996	20	Xenon arc lampa, 300 W,	0,5	5
Schroeter et al. 2001	10	150 W	Nebyla měřena	20
Pevsner et al., 2002	20	Halogen, 150 W fiberoptic	0,1	30

Tab. 2: Použití BR v jednotlivých studiích (39)

4.3 PERFÚZE

Histologické zpracování vzorků vyžaduje fixaci tkáně. Po usmrcení zvířat byla provedena fixace tkáně perfúzí. Účelem fixace je rychlá a šetrná denaturace bílkovin protoplazmy buněk a tkání tak, aby byla zachována struktura tkáně.

U laboratorních potkanů došlo k navození ischemické cévní mozkové příhody pomocí bengálské červeně. Zvířata se poté nechaly přežít. Poté byla zvířata anestetizována uretanem v letální dávce (2,5 g/kg, i.v.). Cévní řečiště zvířete bylo propláchnuto transkardiálně, přes levou komoru do aorty pufovaným fyziologickým roztokem. Po 10 minutách následoval vlastní fixační roztok, 4% paraformaldehyd rozpuštěný v 0,1 M fosfátového pufru, pH 7.4 (1 ml/ g), +40C, na 10 minut. Po perfúzi byl z lebky mozek vyjmut a mozková tkáň byla dále fixována v roztoku paraformaldehydu další 3 hodiny. Pro přípravu zmražených řezů byla tkáň vložena do kryoprotektivního roztoku sacharózy (10, 20 a 30%) o +4°C. Poté byly mozky zmrazeny v suchém ledu a uloženy do -70°C.

4.4 ZMRAZENÍ A NAKRÁJENÍ MOZKU V KRYOSTATU

Mozky byly nařezány na koronální řezy (50 µm, série 1-5) na Cryocutu Leika 1600 a řezy uloženy do kryoprotektivního roztoku (30% ethylen glycol, 25% glycerol v 0.05 M pufru fosforečnanu sodného) v -20°C do doby zpracování. Od každého mozku byla získána série řezů, které byly následně seřazeny v pořadí od frontálních k dorzálním, tak aby vždy byla zachycena oblast léze i s částí nepoškozené tkáně jak ve frontálním tak dorzálním směru. Poté byly řezy nataženy na sklíčka.

4.5 NISSLOVO BARVENÍ

V tomto případě se jedná o speciální neurohistologickou metodu přehledného barvení, kde se používají bazické anilínové barvy jako kresylviolet, gallocyanin, toluidinová modř aj., které barví tzv. plazmatickou Nisslovu substanci – tigroid, tj. granulární endoplazmatické retikulum. Bohaté zastoupení odpovídá vysoké proteosyntetické aktivitě neuronu. V neuritu není přítomna, mizí u jeho odstupů. Za určitých patologických stavů Nisslova substance zaniká. (29)

Kresylviolet, stejně jako toluidinová modř, barví cytoplazmu nervových buněk světle modře a hrudky toroidní substance a jádérko tmavomodře. Nisslovo barvení je nejčastěji užíváno k vizualizaci funkčního stavu neuronů. (10)

Na preparátech barvených dle Nissla lze popsat mozkové infarktové ložisko a jeho objem, ale i vzniklý edém. Následně pak byl zjišťován efekt fyzického cvičení před experimentální ischemií na rozsah edému u potkanů. (14)

Barvení dle Nissla dále využíváme k detekci experimentálních ischemických lézí, k dodatečné kontrole správné lokalizace stereotakticky zavedených elektrod či ohodnocení vývoje transplantátu. Svoje místo má i ve výuce při demonstraci možností vyšetření nervové tkáně. (29)

Barvení Nissl:

- 1) 96% ethanol + chloroform (1:1) - 1-4 hod.
- 2) 100% ethanol - 110 min % denaturovaný
- 3) 90% ethanol - 10 min.
- 4) 70% ethanol – 5min
- 5) destilovaná H₂O – krátký oplach
- 6) Kresol violet – 10-15 min.
- 7) oplach v destilované H₂O okyselené; 0,25 ml CH₃ COOH; pak krátký oplach pod tekoucí vodou
- 8) 70% ethanol – asi 2 min.
- 9) 90% ethanol – asi 5 min.
- 10) 100% ethanol – asi 5 min.
- 11) 100% ethanol – asi 5 min.
- 12) aceton : xylen (2:1) – krátce
- 13) aceton: xylen (1:1) – krátce

- 14) aceton : xylen (1:2) – asi 2 min.
- 15) xylen – 5-10 min.
- 16) xylen
- 17) uložení obarvených skel s řezy do vysokých kyvet s xylenem, nejlépe do druhého dne
- 18) montování krycích skel Solakrylem

Toto barvení se používá pro mražené montované řezy na želatinová skla. Po nakrájení se řezy nechají dobře uschnout chráněné před prachem.

Veškeré roztoky musejí být čisté a přefiltrované, mohou se ale použít opakovaně. Pro dobrou kvalitu je nezbytné použít naprosto bezvodný 100% ethanol především před posledním krokem barvení, tj. před přenesením skel do xylenu. Je proto nezbytné vysušit 99 % denaturovaný ethanol s použitím bezvodného síranu měďnatého (musí být bíle zbarvený). Ten se připraví vyžháním modré skalice a může se opět používat opakovaně (žháhá se pouze suchý a zbavený všech zbytků ethanolu). Vysoušení se provádí tak, že se bezvodný síran měďnatý nasype do láhve s 99 % denaturovaným lihem a nechá se stát po dobu několika dní či týdnů za občasného protřepávání. Jestliže se vysoušedlo zbarví modře, je třeba jej vyměnit! Před použitím se ethanol musí zfiltrvat!

Při barvení se provádí mikroskopická kontrola řezů po opláchnutí v 90 % ethanolu (pozadí musí být spíše bílé, buňky modré). Není-li pozadí dostatečně světlé, lze se vrátit zpět do 70 % ethanolu, kdy se řezy ještě odbarví.

4.6 POZOROVÁNÍ POD MIKROSKOPEM

Po zaschnutí a zakrytí řezů krycími sklíčky jsem provedla pozorování mozků pod mikroskopem. Byly srovnávány řezy s nejrozsáhlejšími lézemi od jednotlivých zvířat a poté byly řezy převedeny přes mikroskop do počítače, kde byly pomocí speciálního programu Cell^P od firmy Olympus vyhodnoceny z daného řezu rozsahy, hloubky a šířky jednotlivých lézí.

5. VÝSLEDKY

V úvodní části zabývající se výsledky mého výzkumu nejdříve provádím seznámení se získaným výsledky mikroskopického měření a s laboratorním materiálem. V další části se snažím potvrdit stanovené cíle.

5.1 VÝSLEDKY LABORATORNÍHO A MIKROSKOPICKÉHO MĚŘENÍ

V následující tabulce č. 3 uvádím souhrn všech výsledků mikroskopického měření.

OZNAČENÍ	DÁVKA BR	DOBA OZÁŘENÍ	ROZSAH LÉZE	HLOUBKA LÉZE	ŠÍŘKA LÉZE
1 (BR 1)	10 mg/kg	2 minuty	0,90 mm ²	1,07 mm	1,71 mm
2 (BR 2)	10 mg/kg	5 minut	0,71 mm ²	1,15 mm	1,22 mm
3 (BR 2)	10 mg/kg	10 minut	2,25 mm ²	1,49 mm	2,20 mm
4 (BR 3)	10 mg/kg	20 minut	1,09 mm ²	0,93 mm	2,07 mm
5 (BR 3)	10 mg/kg	30 minut	2,56 mm ²	1,68 mm	2,32 mm
6 (BR 4)	5 mg/kg	15 minut	1,55 mm ²	1,71 mm	1,95 mm
7 (BR 5)	5 mg/kg	15 minut	3,14 mm ²	1,73 mm	3 mm
8 (BR 6)	10 mg/kg	15 minut + kraniektomie	1,60 mm ²	1,41 mm	1,59 mm
9 (BR 7)	10 mg/kg	15 minut + kraniektomie	0,7 mm ²	1,27 mm	1,22 mm

10 (BR 8)	10 mg/kg	15 minut + kraniektomie	0,51 mm ²	1 mm	0,9 mm
11 (BR I.)	5 mg/kg	15 minut	3,04 mm ²	1,63 mm	3,20 mm
12 (BR II.)	5 mg/kg	15 minut	2,63 mm ²	1,39 mm	2,59 mm
13 (BR IV.)	5 mg/kg roztoku	15 minut	1,16 mm ²	0,88 mm	2,12 mm
14 (BR V.)	5 mg/kg	15 minut	0,54 mm ²	0,80 mm	1,54 mm

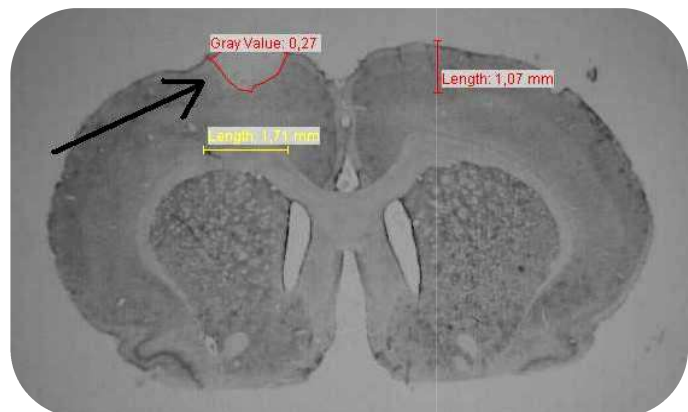
Tab. 3: Výsledky měření

Modely č. 8,9,10 byly ozařovány nestandardním způsobem s použitím kraniektomie. Výsledky těchto 3 modelů i přes to, že jsou ozařovány stejnou dobu a je jim podaná stejná dávka BR, jsou tak variabilní, že je nepoužívám ve svých výpočtech. Z tohoto důvodu ani nadále nedoporučuji v následných studiích vytvářet léze s kraniektomií. Model č. 15 (BR III.) do výsledného měření neuvádím, protože zvíře zemřelo během ozařování.

A dále popisuji jednotlivé modely separátně.

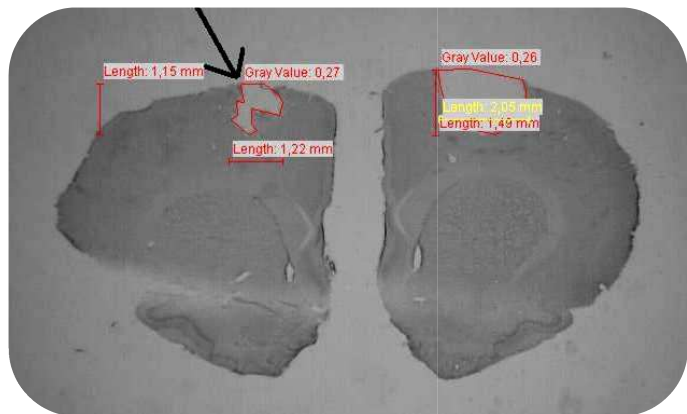
MODEL Č. 1

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 2 minuty
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 0,90 mm²
- hloubka léze: 1,07 mm
- šířka léze: 1,71 mm



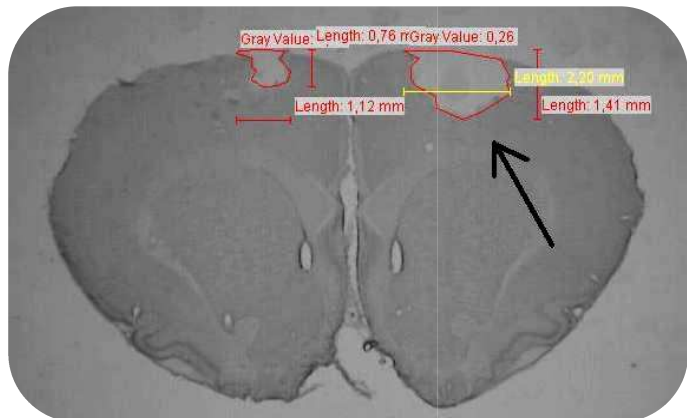
MODEL Č. 2

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 5 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 0,71 mm²
- hloubka léze: 1,15 mm
- šířka léze: 1,22 mm



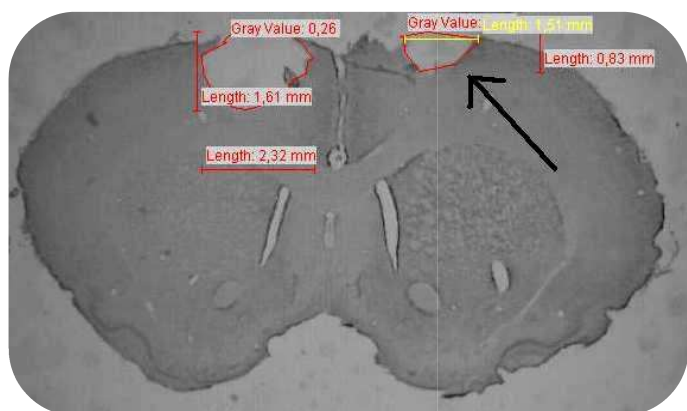
MODEL Č. 3

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 10 minut
- místo záření: pravá hemisféra
- rozsah léze: 2,25 mm²
- hloubka léze: 1,49 mm
- šířka léze: 2,20 mm



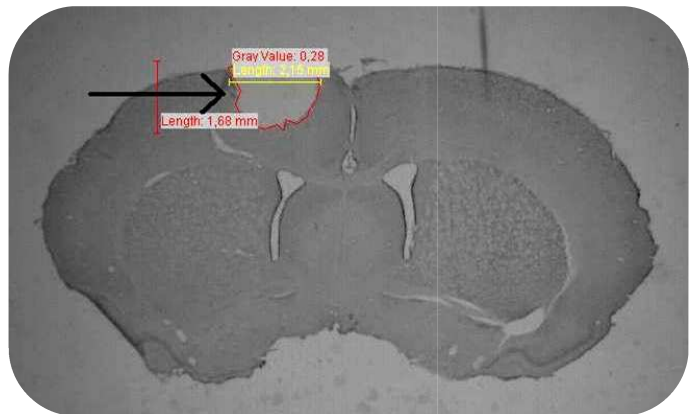
MODEL Č. 4

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 20 minut
- místo záření: pravá hemisféra
- rozsah léze: 1,09 mm²
- hloubka léze: 0,93 mm
- šířka léze: 2,07 mm



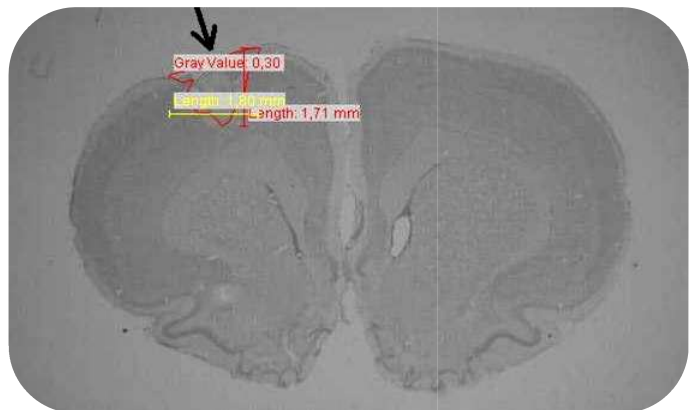
MODEL Č. 5

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 30 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 2,56 mm²
- hloubka léze: 1,68 mm
- šířka léze: 2,32 mm



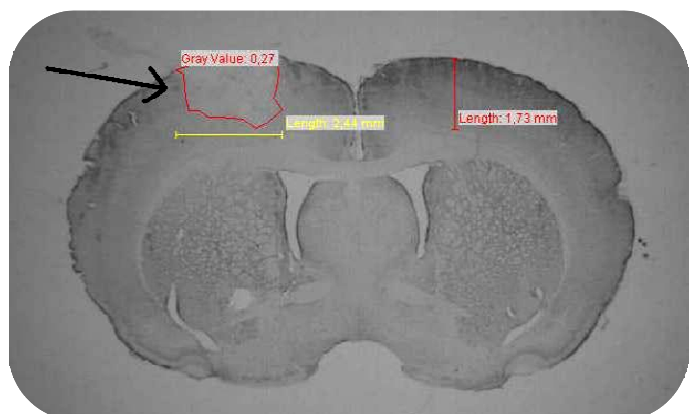
MODEL Č. 6

- dávka BR: 5 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 1,55 mm²
- hloubka léze: 1,71 mm
- šířka léze: 1,95 mm



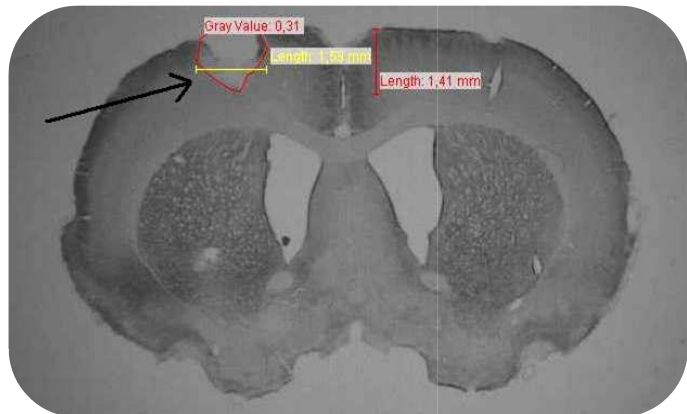
MODEL Č. 7

- dávka BR: 5 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 3,14 mm²
- hloubka léze: 1,73 mm
- šířka léze: 3 mm



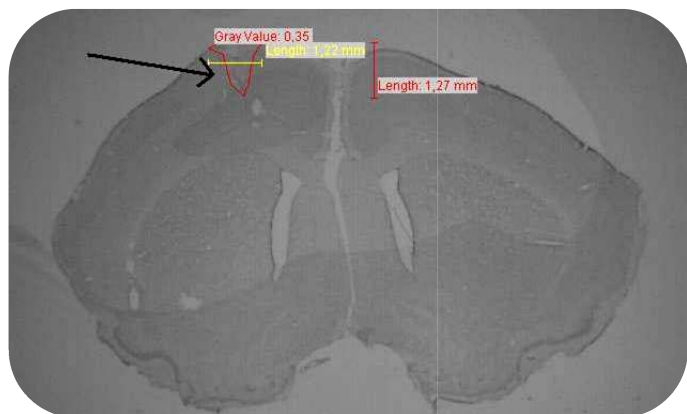
MODEL Č. 8

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- kraniektomie
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 1,60 mm²
- hloubka léze: 1,41 mm
- šířka léze: 1,59 mm



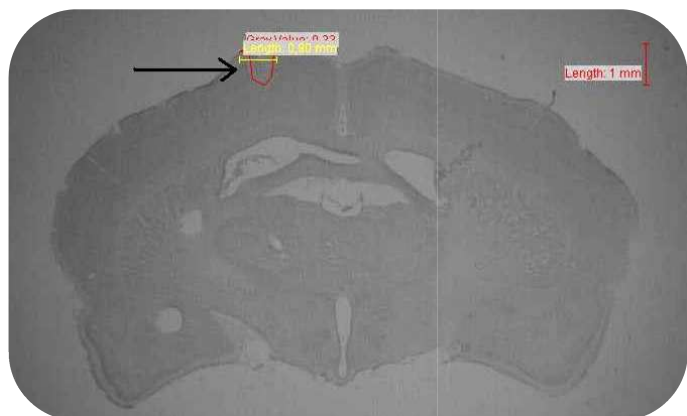
MODEL Č. 9

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- kraniektomie
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 0,7 mm²
- hloubka léze: 1,27 mm
- šířka léze: 1,22 mm



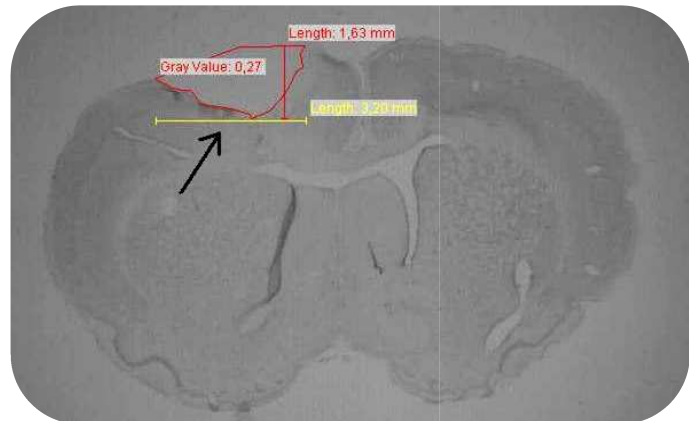
MODEL Č. 10

- dávka BR: 10 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- místo záření: levá hemisféra
- kraniektomie
- rozsah léze: 0,51 mm²
- hloubka léze: 1 mm
- šířka léze: 0,9 mm



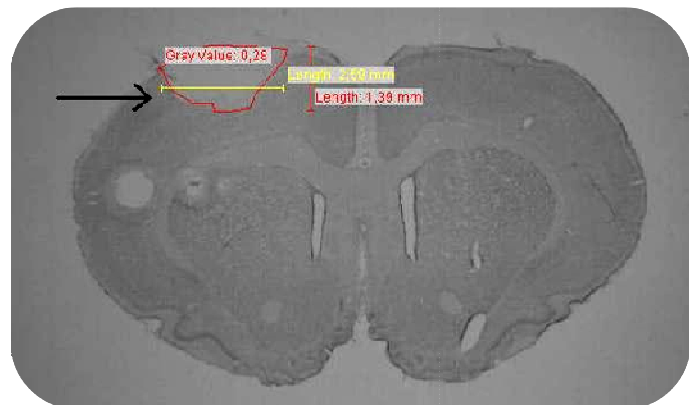
MODEL Č. 11

- dávka BR: 5 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 3,04 mm²
- hloubka léze: 1,63 mm
- šířka léze: 3,20 mm



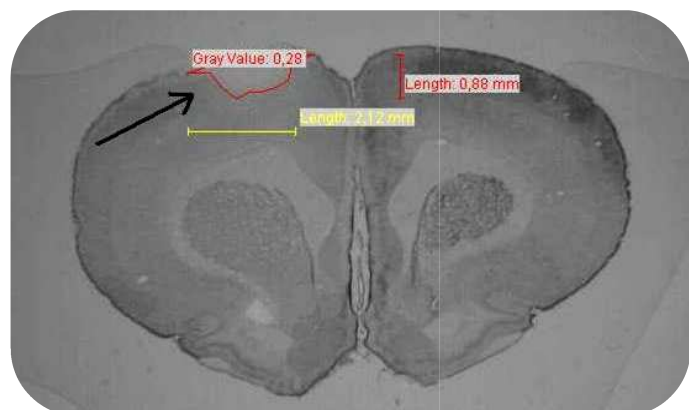
MODEL Č. 12

- dávka BR: 5 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 2,63 mm²
- hloubka léze: 1,39 mm
- šířka léze: 2,59 mm



MODEL Č. 13

- dávka roztoku: 5 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 1,16 mm²
- hloubka léze: 0,88 mm
- šířka léze: 2,12 mm



MODEL Č. 14

- dávka BR: 5 mg/kg
- doba ozáření: 15 minut
- místo záření: levá hemisféra
- rozsah léze: 0,54 mm²
- hloubka léze: 0,80 mm
- šířka léze: 1,54 mm



5.2 VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A ZHODNOCENÍ VYTYČENÝCH CÍLŮ

Cílem č. 1 bylo zjistit nejvhodnější způsob měření rozsahu léze. V úvahu připadaly 3 možné metody hodnocení (tj. rozsah, hloubka, šířka). Pro vyhodnocení jsem použila modely zvířat, které splňovaly tyto kritéria:

- a. všem zvířatům byla aplikována stejná dávka barviva vzhledem k jejich hmotnosti (tedy 5 mg/kg)
- b. všechny exempláře byly ozařovány stejně dlouhou dobu (tj. 15 minut)

Tyto požadavky splňoval model č. 6, 7, 11, 12, 14. Model č. 13 byl kontrolní. Splňuje sice časová kritéria, avšak místo dávky BR, mu byla podána stejná dávka fyziologického roztoku. Tudíž byla léze menší a nezařazuji tento model do výpočtu.

Výsledky:

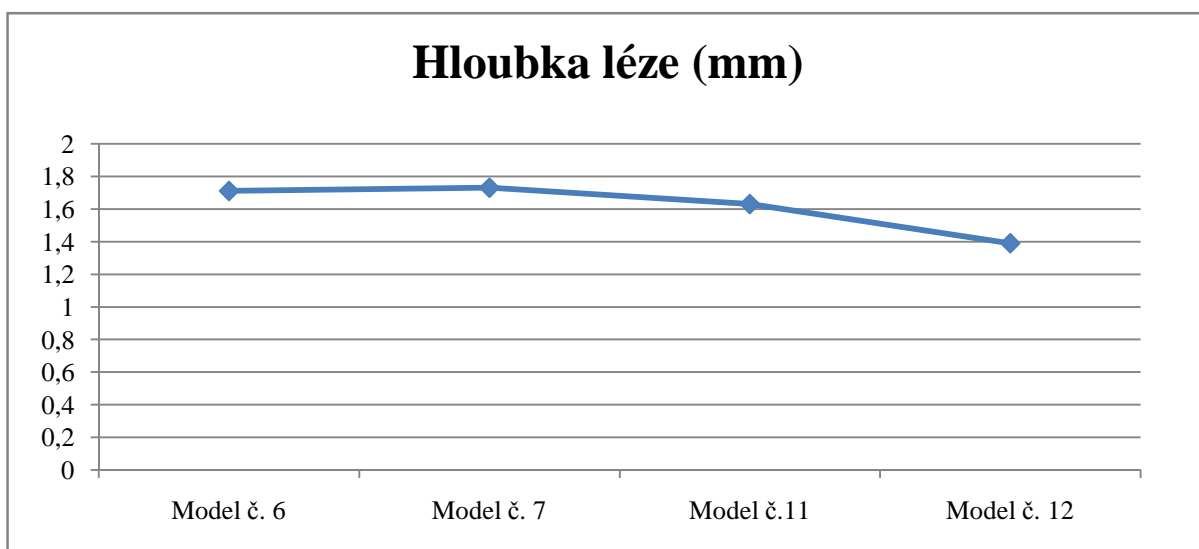
- průměrná plocha léze: 2,18 mm²
průměrná odchylka plochy léze: 0,908 mm² (41%)
- průměrná hloubka léze: 1,452 mm
průměrná odchylka plochy léze: 0,28 mm (19%)
- průměrná šířka léze: 2,456 mm
průměrná odchylka šířky léze: 0,424 mm (17%)

Hodnocení:

Model č. 14 se svými parametry výrazně odchyľuje od ostatních modelů z této skupiny a nápadně se podobá kontrolnímu modelu, což lze nejspíše přičíst chybnému postupu při zpracování. Pokud bychom nepoužili pro výpočet hodnoty z tohoto modelu, výsledky by jasně favorizovaly hloubku léze jako nejvhodnější způsob pro popis léze.

Bez použití modelu č. 14 ve výpočtu jsou výsledky tyto:

- průměrná plocha léze: 2,59 mm²
průměrná odchyľka plochy léze: 0,52 mm² (20%)
- průměrná hloubka léze: 1,615 mm
průměrná odchyľka plochy léze: 0,112 mm (7%)
- průměrná šířka léze: 2,685 mm
průměrná odchyľka šířky léze: 0,415 mm (16%)



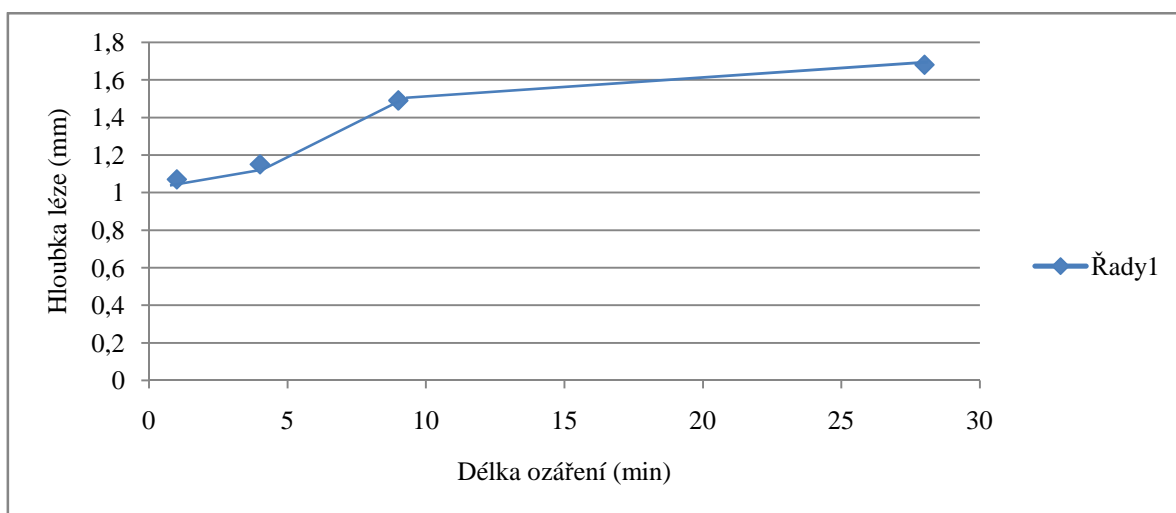
Graf č. 1: Hloubka léze

Z uvedených výpočtů vyplývá, že u zvířat, které byly ozařovány stejně dlouho dobu a byla jim aplikována stejná dávka barviva, je nejvíce konstantní hloubka léze (viz. graf č. 1). Vzhledem k tomu, že hodnoty šířky léze a obzvláště hodnoty plochy léze jsou více variabilní, favorizují hloubku léze jako hlavní parametr pro srovnávání účinků ozařování.

Cílem č. 2 bylo vyhodnotit velikost léze na délce ozařování. Zjišťovali jsme, zda-li u zvířat ozařovaných po různě dlouhou dobu se velikosti lézí liší a zda-li jsou v přímé úměře k délce ozařování. Pro vyhodnocení jsem použila zvířata, která splňovala tyto kritéria:

- a. všem zvířatům byla aplikována stejná dávka barviva vzhledem k jejich hmotnosti (tedy 5 mg/kg)
- b. všechny exempláře byly ozařovány různě dlouhou dobu (tj. 2, 5, 10, 20, 30 minut)

Tyto požadavky splňoval model č. 1,2,3,4,5. Bohužel model č. 4 se nápadně podobá kontrolnímu modelu a tedy ho nezařazuji do výpočtu.



Graf č. 2: Závislost hloubky léze na délce ozařování

V grafu č. 2 popisují závislost hloubky léze na délce ozařování při konstantní koncentraci barviva. Hloubku léze jsem použila, protože nejlépe odpovídá závislosti na délce ozáření (viz cíl č. 1). Z grafu č. 2 je patrné, že se stoupající délkou doby ozáření se prohlubuje léze. Dále však je z grafu patrné, že nárůst hloubky léze je největší již na počátku záření a se stoupající dobou ozáření se nárůst hloubky léze zmenšuje, tj. výrazné prodloužení délky ozařování nad 30 minut bude k hloubce léze přispívat již jen nepatrně. Př.: po 2 minutách ozařování dosahuje léze hloubky 1,07 mm. Po dalších 8 minutách ozáření se tato hloubka prodlouží o plných 40%, avšak pokud bychom nezářili jen 8 minut, ale plných 28 minut, tak by se léze prohloubila o 57%. Z čehož je vidět, že

nárůsty hloubek lézí se s časem zkracují. Z toho vyplývá, že je zbytečné ozařovat zvířata déle než 30 minut, ale je nutné je ozařovat nejméně 10 minut.

Cílem č. 3 bylo zjistit jak je velikost léze závislá na množství podané BR (5 mg/kg proti 10 mg/kg). Pro výpočet tohoto úkolu jsem použila 4 modely, které byly ozářeny 15 minut po podání BR o koncentraci 5mg/kg. Jsou to modely č. 6,7,11,12. Průměrná hloubka léze u těchto modelů byla 1,615 mm. Průměrná odchylka byla 0,1125 mm, tzn., že hloubky lézí se pohybovaly u těchto zvířat v rozsahu: 1,39 až 1,73 mm. Vzhledem k tomu, že nemáme model, který by byl ozařován přesně 15 minut, a kterému byla podána dávka 10mg/kg, vycházím ve svých výpočtech z ostatních zvířecích modelů, u kterých jsme aplikovali aplikaci 10 mg/kg. Z grafu vyplývá, že u těchto modelů, které by byly ozařovány 10-20 minut by se rozsahy hloubky lézí pohybovaly od 1,45 mm do 1,6 mm. Z toho plyne, že rozsahy hloubek lézí se při koncentracích 5 mg/kg a 10 mg/kg spíše kryjí a tudíž hloubka léze v těchto případech příliš nezávisí od toho, zda-li použijeme koncentraci 5mg/kg nebo 10 mg/kg.

5.3 SHRNUÍ:

1. Nejvhodnějším parametrem pro srovnávání lézí je změření hloubky léze.
2. Hloubka léze je závislá na délce doby ozařování, avšak ne přímou úměrou, tzn., že výrazné prodlužování doby ozáření nad 30 minut nevede k markantnímu prohloubení. Za vhodnou dobu ozařování považuji 15 až 20 minut.
3. Mezi použitou koncentrací 5mg/kg a 10mg/kg neshledávám výrazný rozdíl.

6. DISKUZE

Mozkový iktus klade mimořádně těžké břemeno na pacienty samotné, jejich rodiny a pečovatele i na celou společnost. Každý rok prodělají iktus asi 0,2 procenta populace, téměř třetina z nich zemře do 12 měsíců, třetina dosáhne znovu nezávislosti na pomoci druhých. U lidí, kteří cévní příhodu přežili, je vyšší riziko dalšího iktu nebo srdečního infarktu.

Cévní mozkové příhody jsou obrovskou výzvou pro společnost, neboť počet lidí jimi postižených bude v blízké budoucnosti povážlivě stoupat. Riziko mozkového iktu se zvyšuje s věkem – a naše populace progresivně stárne (žijeme déle a generace velmi početných dětí po druhé světové válce se nyní stává padesátníky a šedesátníky). Tuto situaci však lze do jisté míry řešit. Byly stanoveny dvě hlavní strategie, jak toto riziko snížit:

- zabránit prvním iktům v celé populaci a opakovaným iktům mezi osobami přežívajícími svou první mozkovou příhodu - poznáním a potlačením rizikových faktorů, které je vyvolávají,
- ošetřit pacienta při poruše mozkového průtoku nejrychleji, jak je to jen možné, aby se optimalizovaly šance na přežití bez trvalého poškození. (15)

Zatímco v prvním bodě jsme odkázáni na životní styl pacienta, dispenzární, screeningovou a preventivní péči lékaře, je to zejména období po prodělaném iktu, kdy se ve velké míře uplatňuje role fyzioterapeuta. V první fázi, tzn. ve fázi bezprostředně navazující na prodělaný iktus, ať je jeho etiologie jakákoliv (ischemická či hemoragická), sehrává klíčovou roli v prognóze pacienta lékařská intervence, která může ve velké míře ovlivnit rozsah vzniklé léze a např. zachránit velkou část populace nervových buněk v oblasti zona penumbra trombolýzou při ischemickém CMP. Na tyto lékařské zákroky navazuje péče fyzioterapeuta, který využívá plasticity centrální nervové soustavy. Je to schopnost nervových buněk (vzhledem k tomu, že nervové buňky se nemohou obnovovat a jejich poškození se hojí gliální jizvou) do jisté míry převzít funkce po odumřelých neuronech a vytvořit nové spoje, částečně zastupující funkci chybějících buněk.

Záměrem několika postupně na sebe navazujících studií, v jejichž úvodní části hraje roli má studie, je sledovat schopnost plasticity CNS a možnost jejího ovlivnění fyzickou

zátěží (ve vztahu k pacientům fyzioterapeutickými postupy). Modelovou situací v našich studiích je vyvolat v laboratorních podmínkách u laboratorního potkana ischemii v oblasti motorické kůry a část z těchto probandů podrobit fyzické zátěži a zbylé části tuto zátěž neumožnit. Vzhledem k tomu, že hlavním objektem pozorování bude motorická složka a její vývoj v čase, je nutné provést modelovým zvířatům lézi v oblasti motorické kůry. Metody, kterými je možné provést CMP (ischemickou) jsou popsány v kapitole o modelech mozkové ischemie u potkana. V naší studii jsme si vybrali fotochemickou metodu jako zdroj ischemické léze u laboratorních potkanů. Důvodem pro vybrání této metody je předpoklad, že po podání chemické látky, která se rovnoměrně rozptýlí krevním systémem po celém těle včetně průchodu do CNS, bude možné vytvořit v určité definované oblasti pomocí fotoefektu lézi požadovaných vlastností. Cílem mé práce bylo zhodnotit účinky fotochemické metody a do jisté míry se pokusit navrhnout nejvhodnější postup, jak vytvořit ischemickou lézi v dalších studiích. Obzvláště výhodné by bylo získat metodu, pomocí které by se dalo s časovým odstupem po vytvoření léze ověřit, že objekt pozorování obdržel na počátku námi požadovanou dobu ozařování a dávku bengálské červeně.

Podobnou studii předvedli např. Keiner et al. v roce 2008, který se zabýval vlivem rehabilitace na gliální buňky v okolí ischemické léze, vyvolané fotochemickým efektem a cílil ji na oblast motorické kůry ovládající pohyb předloktí u laboratorních potkanů. Keiner et al. ve své studii použili podobný standardní protokol tvorby léze a zkoumali vliv tzv. obohaceného prostředí na plasticitu mozkové kůry a rozvoj změn v oblasti zona penumbra mozkové léze. Zajímavé závěry jeho studie jsou např. tyto – velikost lézí se u obou skupin významně neliší jak v 10. dni po vytvoření léze, tak ani ve 42. dni vytvoření léze. Probandi, kteří byli umístěni do obohaceného prostředí (s možností aktivně využívat různé cvičící pomůcky – žebříky atd.) měli následně signifikantně lepší schopnost použití handicapované končetiny. Dalším důležitým závěrem výzkumu je tvrzení, že nejvýznamnějšího zlepšení dosahují probandi pouze v prvním týdnu po iktu a později již nedosahují výraznějšího zlepšení. (24)

V první fázi svého výzkumu jsem se zaměřila na hodnocení léze vytvořené fotochemickým efektem při aplikaci bengálské červeně. Teoretický předpoklad, že léze se vytvoří pouze a jen v oblasti, kudy přímo prochází světelný paprsek, se nenaplnil. Lze to vysvětlit tím, že fotochemický efekt je sice vyvolán v oblasti procházejících paprsků, nicméně, jak i vyplývá z popisu metody v dané kapitole, fotochemický efekt a

tvorba radikálů se odehrává v krevním systému, jehož povodí a tok je od místa ozáření u každého zvířete individuální a tudíž výsledné léze nemohou být rigidními „válcí“, ale u každého zvířete se léze mírně odchyluje. Dále zde přispívá i fixace preparátu, při které dochází k mírnému svrašťení, které může přispívat k nepřesnosti v měření. Nicméně tyto změny při fixaci se týkají jak probandů ozářených, tak i kontrolních, tudíž je lze do jisté míry zanedbat. Důležitým poznatkem však je, že u probandů jsou poměrně malé individuální vlivy na hloubku léze. Úspěšně se mi podařilo ověřit, že hloubka léze významně závisí na délce ozařování. Nejprve jsem zjišťovala, jakým způsobem závisí hloubka léze na době ozařování a podařilo se mi zjistit, že s prodlužující se dobou ozařování (v rámci minut) se i prohlubuje hloubka léze. V další fázi se mi podařilo ověřit, že naopak při stejné délce doby ozařování jsou maximální hloubky léze od povrchu CNS u probandů poměrně identické. To mne vedlo k úvaze, v jakém vztahu je délka doby ozařování a hloubka léze a výsledkem není přímá úměra, ale, jak jsem očekávala, nárůst rozdílů hloubky léze s časem se podstatně snižuje (tzn., že i když se s prodlužujícím časem hloubka léze zvyšuje, tak s narůstající dobou ozáření přibývá o stále menší části), tudíž je možné navrhnout dobu délky ozařování, která se zdá být nejvhodnější vzhledem k požadované hloubce léze. Z toho však vyplývá i důležitá okolnost, že na základě hloubky léze u standardní populace probandů (tzn. u takových, kteří dostali předem určené množství bengálské červeně a určitou dobu byli ozařováni) lze rámcově ověřit správnost postupu při tvorbě léze. Dále jsem ověřovala, zda se velikost léze liší u skupin probandů po aplikaci bengálské červeně o koncentraci 5mg/kg a 10mg/kg, které jsem měla k dispozici. Rozdíl mezi těmito dvěma koncentracemi není signifikantní, avšak pro další studie doporučuji použít pouze jednu koncentraci a nedoporučuji je libovolně zaměňovat. Dále jsme v průběhu výzkumu zkoumali, zda je možné použít modely, u kterých byla provedena při ozařování kraniektomie. Velikosti lézí však byly natolik odlišné, že pro možnost dalšího využití doporučuji přehodnocení postupu při zpracování probandů.

7. ZÁVĚR

V mé diplomové práci jsem se snažila najít ideální model fokální mozkové ischemie u laboratorního potkana. Ideální model bude využit při dalších studiích, v kterých se bude zkoumat plasticita mozku. Mozková ischemie byla navozena fotochemickou metodou. Byla vyhodnocována velikost mozkové ischemie v závislosti na délce ozáření a na podané koncentraci bengálské červeně. Podařilo se mi ověřit, že velikost léze významně závisí na délce ozáření. Po vyhodnocení výsledků je patrné, že se stoupající délkou doby ozáření se léze prohlubuje. Dále je však patrné, že nárůst hloubky léze je největší již na počátku záření a se stoupající dobou ozáření se nárůst hloubky léze zmenšuje, tj. výrazné prodloužení délky ozáření nad 30 minut bude k hloubce léze přispívat již jen nepatrně. Za vhodnou dobu ozáření tedy považuji 15 až 20 minut, případně s korekcí dle požadované hloubky léze. A dále jsme zjistili, že rozsahy velikostí lézí se při koncentracích 5 mg/kg a 10 mg/kg, které jsme měli k dispozici, spíše kryjí a že velikost léze v tomto případě příliš nezávisí na množství podané bengálské červeně. Avšak pro další studie bych doporučila si zvolit pouze jednu z těchto koncentrací podávané bengálské červeně a v jednotlivých pokusech ji nezaměňovala.

8. POUŽITÉ ZKRATKY

a - arteria

AMP – adenosinmonofosfát

AMPA - α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-izoxazolpropionát

ATP - adenosintrifosfát

CMP – cévní mozková příhoda

CNS – centrální nervový systém

CS – dokončená cévní mozková příhoda (completed stroke)

CT- počítačová tomografie (computer tomography)

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EEG – elektroencefalografie

ES – progredující cévní mozková příhoda (stroke in evolution)

ICHS – ischemická choroba srdeční

ICP – intrakraniální tlak

IM – infarkt myokardu

MAP 1 – mikrotubulární asociovaný protein 1

MAP 2 - mikrotubulární asociovaný protein 2

MAPs - mikrotubulární asociované proteiny

NADH - Nicotinamid Adenin Dinucleotid Hydrid

NMDA – N-metyl-D-aspartát

PNS – periferní nervový systém

RER – drsné endoplazmatické retikulum

RIND- reverzibilní cévní mozková příhoda (reversible ischemic neurologic deficit)

SAK – subarachnoidální krvácení

TIA – tranzitorní ischemická ataka (transient ischemic attack)

TK – krevní tlak

v - vena

WHO – World Health Organization

9. POUŽITÁ LITERATURA

1. ADAMČOVÁ, H. a kol. *Neurologie*. Praha: Triton, 2003. ISBN 80-7254-431-4
2. ANONYM. *Cévní mozková příhoda* [online]. © [cit. 2009-01-20]. URL: <<http://www.fnusa.cz/files/mrtvice.pdf>>
3. ANONYM. *Cévní mozková příhoda* [online]. © [cit. 2009-01-20]. URL: <http://www.mozkovaprihoda.cz/jnp/cz/cmp/priciny_cmp.html>
4. ANONYM. *Hypertenze a mozek* [online]. © [cit. 2009-01-25]. URL: <http://www.zdravcentra.sk/cps/rde/xbcr/zcsk/KPH_4.3.pdf>
5. ANONYM. *Mozková kúra*. [online]. © 2009 [cit. 2009-01-19]. URL: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Mozková_kúra>
6. ANONYM. *Neuron* [online]. © 2009 [cit. 2009-01-13]. URL: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Neuron>>
7. ANONYM. *Nervová tkáň*. [online]. © 2005-2008 [cit. 2008-01-11]. URL:<<http://www.biology.estranky.cz/fotoalbum/histologie/nervovy-system>>
8. ANONYM. *Obecná neurofyziologie*. [online]. © 2009 [cit. 2009-02-27]. URL: <<http://www.vscht.cz/kot/resources/studijni-materialy/fyzi-p-006/prezentace.pdf>>
9. ANONYM. *Rose bengal*. [online]. © 2009 [cit. 2009-01-13]. URL:<http://en.wikipedia.org/wiki/Rose_bengal>
10. BEREZHNAIA, L., A. Primary structural moduli of the dorsal thalamic nuclei and motor cortex in man. *Morfologiia*, 2006, vol. 129, no 1, pp. 9-24.
11. BROŽÍČKOVÁ, C. *Poškození axonů a oligodendrocytů u fokální mozkové ischemie vyvolané aplikací endothelinu-1*. Praha, 2008. Diplomová práce na Fakultě Tělesné Výchovy a Sportu Univerzity Karlovy na katedře fyzioterapie. Vedoucí diplomové práce MUDr. Jakub Otáhal Ph. D.
12. ČIHÁK, R. *Anatomie 3*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-7169-140-2.
13. DARWIN, M. *Pathophysiology of Ischemic Injury* [online]. © [cit. 2009-01-24]. URL: <<http://www.alcor.org/Library/html/ischemicinjury.html>>

14. DING, Y. H., LI, J., YAO, W. X., RAFOLS, J. A., CLARK, J. C., DING, Y.
Exercise preconditioning upregulates cerebral integrins and enhances cerebrovascular integrity in ischemic rats. *Acta Neuropathologica*, July 2006, vol. 112, no 1, pp. 74-84.
15. FEIGIN, V. *Cévní mozková příhoda. Prevence a léčba mozkového iktu*. Praha: Galén, 2007. ISBN 978-80-7262-428-7.
16. HACKE, W. a kol. *Doporučení pro péči o pacienty s cévní mozkovou příhodou*. [online]. © 2002 [cit. 2008-11-05]. URL: <<http://www.cmp.cz/html>>
17. HAMA, H., UESUGI, M., KASUYA, Y., GOTO, K. Astrocytes and endothelins: possibilities for tissue-repair in damaged central nervous system. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 1997, vol. 109, no 3, pp. 129-43.
18. JELÍNEK, R. a kol. *Skripta histologie a embryologie* [online]. © [cit. 2009-01-10]. URL: <<http://old.lf3.cuni.cz/histologie/materialy/doc/skripta.pdf>>
19. JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J., KELLEY, R. O. *Základy histologie*. H&H, 2002. ISBN 80-85787-37-7.
20. KALINA, M., JANOUŠKOVÁ, L. *Cévní mozková příhoda se dnes nevyhýbá ani dvacetiletým*. Tisková konference na Homolce [online]. © 2006 [cit. 2009-01-10]. URL: <www.homolka.cz/common/files/2006-06-01_tm_cevni_mozk_prihoda.doc>
21. KALITA, Z. *Akutní cévní mozkové příhody*. Praha: Maxdorf, 2006. ISBN 80-85912-26-0.
22. KALVACH, P. a kol. *Mozkové ischemie a hemoragie*. Praha: Grada, 1997. ISBN 80-7169-109-7.
23. KÁŠ, S., *Neurologie v běžné lékařské praxi*. Praha: Grada, 1997. ISBN 80-7169-339-1.
24. KEINER, S., WURM F., KUNZE, A. Rehabilitative therapies differentially alter proliferation and survival of glial cell populations in the perilesional zone of cortical infarcts. *Glia* 2008, no. 56, pp. 516-527.

25. KONRÁDOVÁ, V., UHLÍK, J., VAJNER, L. *Funkční histologie*. 2.vyd.H&H, 2000. ISBN 80-86022-80-3.
26. KRÝSL, D. Současné modely experimentální ischemie CNS : fototrombóza a intracerebrální aplikace endotelinu-1. *Československá fyziologie*, 56/2007, č. 1, s. 4-9.
27. LINDOVSKÝ, P. *Cévní mozková příhoda* [online]. © [cit. 2009-01-20]. URL: <<http://www.medlin.cz/graphics/cmp.pdf>>
28. MACRAE, M. New models of focal cerebral ischemia. *British Journal of Clinical Pharmacology*, October 1992, vol. 34, no. 4, pp. 302-8.
29. MARKVARTOVÁ V., VOŽEH, F. Mikroskopická vyšetření v neuropatologickém výzkumu. *Československá fyziologie*, 56/2007, č. 1, s. 22-30.
30. MARTIN, L. J., et al. Neurodegeneration in excitotoxicity, global cerebral ischemia, and target deprivation: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Brain research bulletin*, July 1998, vol. 46, no. 4, pp. 281-309.
31. MÁTÉFFYOVÁ, A., OTÁHAL, J., TSENOV, G., MAREŠ P., KUBOVÁ, H. Intrahippocampal injection of endothelin-1 in immature rats results in neuronal death, development of epilepsy and behavioral abnormalities later in life. *European Journal of Neuroscience*, 2006, vol. 24, pp. 351-360.
32. MYSLIVEČEK, J. *Základy neurovědy*. Praha: Triton, 2003. ISBN 80-7254-234-6.
33. MYSLIVEČEK, J., MYSLIVEČKOVÁ-HASSMANOVÁ, J. *Nervová soustava - Funkce, struktura a poruchy činnosti*. Praha: Avicenum, 1989.
34. NEBUDOVÁ, J. *Cévní mozkové příhody-minimum pro praxi*. Praha: Triton, 1998. ISBN 80-85875-54-3.
35. NESS, J. K., GOLDGERG, M. P. Oligodendrocyte and Schwann cell injury, In: *Neuroglia*, 2nd edition, New York: Oxford University Press 2004, Chapter 34, pp. 430-442.
36. NEVŠÍMALOVÁ, S., RŮŽIČKA, E., TICHÝ J. a kol. *Neurologie*. Praha: Galén, 2002. ISBN 80-7262-160-2.

37. OTEVŘEL, F. *Fokální mozková ischemie a dlouhodobá reperfúze u potkana – vliv systémové hypertenze na rozsah apoptózy a nekrózy*. Brno, 2006. Disertační práce na Lékařské Fakultě Masarykovy Univerzity. Školitel disertační práce prof. MUDr. Anna Vašků, CSc.
38. PETROVICKÝ, P. *Centrální nervový systém*. Praha: Karolinum, 1996. ISBN 80-7184-108-0.
39. PEVSNER, P. H., EICHENBAUM, J. W., MILLER, D. C., PIVAWER, G., et al. A phototrombotic model of small early ischemic infarcts in the rat brain with histologic and MRI correlation. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, May-June 2001, vol. 45, no. 3, pp. 227-233.
40. RHAWN, J. *Neocortex* [online]. © 2000-2006 [cit. 2009-01-14]. URL: <<http://brainmind.com/Neocortex.html>>
41. SHIBATA, M., et al. Caspase determines the vulnerability of oligodendrocytes in the ischemic brain. *The Journal of Clinical Investigation*, September 2000, vol. 106, no. 5, pp. 643-653.
42. SLADKÁ, J. *Cévní mozkové příhody - současné názory na možnosti léčby*. [online]. © 1998 [cit. 2009-02-20]. URL: <http://www.zdrava-rodina.cz/med/med698/m698_37.htm>
43. SVĚTOVÁ ZDRAVOTNICKÁ ORGANIZACE (WHO). *Rehabilitace po CMP, průvodce nejen pro rehabilitační pracovníky*. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0592-3.
44. ŠIMONOVÁ, Z. *Morfologické změny gliových buněk ovlivňující difúzní parametry extracelulárního prostoru*. Praha, 2001. Disertační práce na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy. Školitel disertační práce Prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.
45. ŠPAČEK, M. *Nervová tkáň z pohledu histologie a embryologie*. [online]. © [cit. 2009-01-14]. URL: <<http://old.lf3.cuni.cz/histologie/materialy/doc/nervova%20tkan.pdf>>
46. TROJAN, S. a kol. *Lékařská fyziologie*, Praha: Grada Avicenum, 2004. ISBN 80-247-0512-5.

47. TSENOV, G., MÁTÉFFYOVÁ, A., MAREŠ, P., OTÁHAL, J., KUBOVÁ, H. Intrahippocampal Injection of Endothelin-1: A New Model of Ischemia-induced Seizures in Immature Rats. *Epilepsia*, 2007, vol. 48, no. 5, pp. 7-13.
48. VOTAVA, J. Rehabilitace osob po cévní mozkové příhodě. *Neurologie pro praxi*, 2001, č. 4, str. 184-189.
49. WELLS, R. B. *Cortical Neurons and Circuits: A Tutorial Introduction* [online]. © 2005 [cit. 2009-01-15]. URL: <http://www.mrc.uidaho.edu/~rwells/techdocs/Cortical%20Neurons%20and%20Circuits.pdf>
50. WINDLE, V., SZYMANSKA, A., BUTTON, S. G., WHITE, CH., BUIST, R., PEELING, J., CORBETT, D. An analysis of four different methods of producing focal cerebral ischemia with endothelin-1 in the rat. *Experimental Neurology*, 2006, vol. 201, no. 2, pp. 324-334.
51. ZHANG, Z., ZHANG, R. L., JIANG, Q., RAMAN, S. B., CANTWELL, L., CHOPP, M. A new rat model of thrombotic focal cerebral ischemia. *Journal of Cerebral blood flow and metabolism*, February 1997, vol. 17, no. 2, pp. 123-135.