

Disertační práce byla zpracována v rámci kombinované formy postgraduálního studia na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Plzni.

**Uchazeč:** MUDr. Jan Cendelín

**Školitel:** Doc. MUDr. František Vožeh, CSc.  
Lékařská fakulta UK v Plzni, Ústav patologické fyziologie,  
Plzeň

**Oponenti:** Doc. MUDr. Jan Mareš, CSc.  
3. LF UK, Ústav normální, patologické a klinické fyziologie,  
Praha

**Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.**  
1. LF UK, Fyziologický ústav, Praha

Stanoviska k disertaci vypracovala Lékařská fakulta v Plzni.

Autoreferát byl odeslán dne:

Obhajoba se koná

dne:

čas:

místo:

Před komisí pro obhajoby disertačních prací v oboru fyziologie a patologická fyziologie

S disertační prací je možné se seznámit na děkanátu LF UK v Plzni,  
Husova 3.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v oboru fyziologie a patologická fyziologie:

**Doc. MUDr. František Vožeh, CSc.**  
Lékařská fakulta UK v Plzni  
Ústav patologické fyziologie

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

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

**Autoreferát doktorandské disertační práce**

**MUDr. Jan Cendelín**

**Plzeň 2008**

## **Poděkování**

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

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

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

## 1. OBSAH

<b>1. OBSAH.....</b>	<b>4</b>
<b>2. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....</b>	<b>5</b>
<b>3. SOUHRN.....</b>	<b>6</b>
<b>4. SUMMARY .....</b>	<b>6</b>
<b>5. ÚVOD - SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....</b>	<b>7</b>
5.1. Stavba a funkce mozečku .....	7
5.2. Poruchy mozečku .....	7
5.2.1. Zvířecí modely dědičných degenerativních poškození mozečku .....	7
5.2.2. Mutantní myši typu Lurcher .....	7
5.3. Neurotransplantace .....	8
5.3.1. Transplantace mozečkové tkáně u zvířecích modelů degenerativních poškození mozečku .....	9
5.4. Vliv fyzické aktivity na kognitivní funkce .....	10
<b>6. VÝCHODISKO .....</b>	<b>10</b>
<b>7. CÍL PRÁCE.....</b>	<b>10</b>
<b>8. MATERIÁL A METODY .....</b>	<b>11</b>
8.1. Uspořádání pokusu .....	11
8.2. Pokusná zvířata.....	11
8.3. Statistické zpracování .....	12
8.4. Transplantace embryonální mozečkové tkáně.....	12
8.4.1. Dárce a odběr transplantátu.....	12
8.4.2. Aplikace transplantátu.....	13
8.5. Vyšetření přítomnosti a morfologie transplantátu .....	13
8.5.1. Histologické zpracování .....	13
8.5.2. Hodnocení přežívání transplantátu .....	13
8.6. Nucená fyzická aktivita .....	14
8.7. Test prostorového učení.....	14
<b>9. VÝSLEDKY.....</b>	<b>15</b>
9.1. Přežívání a morfologie transplantátu .....	15
9.2. Hodnocení vlivu transplantace a fyzické aktivity.....	16
9.2.1. Přežívání transplantátu u trénovaných a netrénovaných myší .....	16
9.2.2.1. Základní srovnání myší typu Lurcher a wild s ohledem na věk .....	18
9.2.2.2. Vliv transplantace a tréninku u dospělých myší.....	22
9.2.2.3. Vliv transplantace a tréninku u mladých myší .....	23
<b>10. DISKUSE .....</b>	<b>26</b>
10.1. Přežívání a struktura transplantátu .....	26
10.2. Vliv nucené fyzické aktivity a transplantace na prostorovou orientaci v Morrisově vodním bludišti.....	28
<b>11. ZÁVĚRY .....</b>	<b>29</b>
<b>12. LITERATURA .....</b>	<b>30</b>
<b>13. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI.....</b>	<b>35</b>

## 2. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BDNF	brain-derived neurotrophic factor
CNS	centrální nervový systém
D1-D10	1.-10. den pokusu v Morrisově vodním bludišti
GFP	zeleně fluoreskující protein (green fluorescent protein)
GluR $\delta$ 2	$\delta$ 2 podjednotka glutamátového receptoru
J	jih, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti
K	kontrola, kontrolní operace
Lc	Lurcher (+/Lc)
MVB	Morrisovo vodní bludiště
n	rozsah souboru
NS	nesignifikantní
obr.	obrázek
Pcd	Purkinje cell degeneration
R	trénink na rotarodu
S	sever, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti
SCA	spinocerebelární atrofie, spinocerebelární ataxie
T	transplantace
tab.	tabulka
V	východ, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti
vs.	versus
WT	wild typ (+/+)
Z	západ, jedna ze startovních pozic v Morrisově vodním bludišti

### 3. SOUHRN

Mutantní myši typu Lurcher jsou modelem olivocerebelární degenerace. Trpí ataxií a poruchou prostorového učení a orientace. Cílem práce bylo posoudit vliv transplantace embryonální mozečkové tkáně a nucené fyzické aktivity i jejich kombinace na schopnost prostorové orientace u myši Lurcher a sledovat přežívání mozečkového transplantátu u dospělých a mladých myši Lurcher a dospělých myši wild. Přežívání transplantátu bylo sledováno u dospělých myši typu wild a mladých a dospělých myši Lurcher kmene B6CBA. Vliv transplantace a nucené aktivity na schopnost prostorové orientace byl zkoumán u dospělých a mladých myši Lurcher téhož kmene. Transplantát získaný z myších embryí bez mutace Lurcher byl aplikován do oblasti mozečku příjemce ve formě solidních kousků. Kontrolním zvířatům bylo aplikováno jen vehikulum. Nucená aktivita spočívala v tréninku na rotarodu. Prostorová orientace byla testována v Morrisově bludišti 9 týdnů po operaci. Histologické vyšetření přítomnosti transplantátu bylo provedeno 3, 6 a 9 týdnů po transplantaci nebo po skončení testu prostorové orientace. Nebyly zjištěny významné rozdíly v přežívání transplantátu mezi dospělými zvířaty Lurcher a wild, ani mezi mladými a dospělými mutanty. U myši wild bylo častější prorůstání transplantátu do hostitelské tkáně než u dospělých myši Lurcher. U mladých mutantů byla v transplantátu častěji patrná struktura mozečkové kůry a častější bylo i prorůstání transplantátu než u dospělých. U žádné skupiny myši nebyl zjevný pokles výskytu transplantátu během sledovaného období. Nebyl zjištěn vliv tréninku na osud transplantátu. Schopnost prostorového učení byla u kontrolních mutantů nižší než u myši wild. Dospělí mutantí dosahovali horších výsledků než mladí. Fyzická aktivita výrazně zlepšila výsledky dospělých myši Lurcher. Vliv transplantace byl mírný. V kombinaci s tréninkem dokonce transplantace snižovala jeho účinnost. U mladých myši Lurcher nebyl patrný vliv transplantace ani tréninku na schopnost prostorové orientace.

### 4. SUMMARY

Lurcher mutant mice represent a model of olivocerebellar degeneration. They suffer from ataxia and deterioration of spatial learning and orientation ability. The aim of the work was to assess the effect of embryonic cerebellar tissue transplantation and enforced physical activity as well as the effect of their combination on spatial orientation ability in Lurcher mice and to observe cerebellar graft survival in adult and young Lurcher and adult wild type mice. The graft survival was analysed in adult wild type mice and young and adult Lurcher B6CBA mice. The effect of the transplantation and enforced activity on spatial orientation was studied in adult and young Lurchers of the same strain. The graft obtained from mouse embryos without the Lurcher mutation was applied into the cerebellar area of the host as solid pieces. Control mice were treated only with vehicle. Enforced activity was represented with rotarod training. Spatial orientation was tested in the Morris maze 9 weeks after the surgery. Histological examination of the graft presence was performed 3, 6 and 9 weeks after the transplantation or after finishing the spatial orientation test. Significant differences in graft survival neither between adult Lurcher and wild type mice nor between young and adult Lurchers were found. In wild type mice graft sprouting into host tissue was slightly more frequent than in adult Lurchers. In young Lurchers, the cerebellar cortical structure was observed more often in the graft and graft sprouting was more frequent than in adult ones. In any of the experimental groups no evident decrease of frequency of graft presence during the period studied was observed. No effect of the training on graft fate was found. Spatial orientation ability was lower in control Lurchers than in wild type mice. Adult mutants reached worse results than young ones. Physical activity significantly improved the performance of adult Lurchers. The effect of the transplantation was moderate. When combined with the training, the transplantation even decreased its effect. In young Lurchers, neither the effect of the transplantation nor the effects of the training on spatial orientation ability were found.

## 5. ÚVOD - SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 5.1. Stavba a funkce mozečku

Mozeček (*cerebellum*) leží v zadní jámě lební dorsálně za prodlouženou míchou a pontem. Skládá se ze dvou hemisfér a mezi nimi ležícího vermis. Na povrchu mozečku je kůra, pod ní bílá hmota složená z neuroglie a nervových vláken. V hloubce bílé hmoty jsou uložena mozečková jádra - *nucleus dentatus*, *emboliformis*, *fastigii* a *globosus*. Kůra mozečku má díky bohatému členění značnou plochu a díky přítomnosti velkého množství hustě rozmístěných drobných neuronů obsahuje více nervových buněk než kůra velkého mozku (Glickstein, 1992). Histologicky je členěna do tří vrstev: molekulární (*stratum moleculare*), ganglionární (*stratum gangliosum*) a granulózní (zrnitá, *stratum granulosum*).

Úlohou mozečku je řízení koordinace pohybů, svalového tonu a rovnováhy. Později byla objevena účast mozečku v motorickém učení (Marr, 1969; Ito, 1984; Houk a spol., 1996; Braitenberg a spol., 1997). Mozeček se však výrazně uplatňuje také v kognitivních funkcích a podílí se i na organizaci vyšší nervové činnosti (Schmahmann a Sherman, 1998; Thach, 2007).

### 5.2. Poruchy mozečku

Poškození mozečku vede nejčastěji k zánikovému mozečkovému syndromu. Vzácněji se vyskytuje iritační mozečkový syndrom. Zánikový syndrom se projevuje zvýšenou pasivitou, dysmetrií, asynergií, intenčním třesem, ataxií stoje a chůze. Iritační mozečkový syndrom je v podstatě opakem zánikového (Myslivoček, 2003). U pacientů s mozečkovým postižením byl kromě obvykle nejnápadnějšího motorického postižení popsán kognitivně-afektivní syndrom (Schmahmann a Sherman, 1998; Schmahmann, 2004).

Rozsáhlou heterogenní skupinu neurodegenerativních chorob postihujících mozeček, jeho spoje a případně další části nervového systému představují dědičné ataxie. Projevují se především progresivním zánikovým mozečkovým syndromem. Autosomálně recesivní ataxie jsou způsobené ztrátou (správně fungujícího) proteinu, nezbytného pro funkci a přežívání určité populace neuronů (Klockengether a Evert, 1998). Příkladem jsou Friedreichova ataxie nebo *ataxia teleangiectatica*. V případě autosomálně dominantních ataxií se předpokládá patologické působení proteinu s abnormálními vlastnostmi (Klockengether a Evert, 1998). Do této kategorie patří rozsáhlá skupina spinocerebelárních ataxií (SCA, spinocerebelární atrofie) (Manto, 2005).

#### 5.2.1. Zvířecí modely dědičných degenerativních poškození mozečku

Stejně jako známe v lidské patologii řadu dědičných degenerativních onemocnění mozečku, existuje i několik různých typů mutantních nebo transgenních myši postižených mozečkovou degenerací. Tato zvířata slouží jako biologické modely onemocnění a používají se k výzkumu funkce mozečku, následků jeho poškození, patogeneze degenerativních chorob mozečku a v neposlední řadě možností terapeutického ovlivnění degenerativního procesu nebo jeho následků. K nejnámějším přirozeným mutantům s degenerací mozečku patří ped mutanti, myši typu weaver, staggerer, hot-foot, nervous, reeler a Lurcher. Příkladem uměle vytvořených mutantů postižených mozečkovou degenerací jsou myši typu SCA1 a SCA2, které jsou modelem lidské spinocerebelární ataxie typu 1 a 2.

Jednotlivé myší modely degenerativního onemocnění mozečku se liší kombinací typů mozečkových buněk, které zanikají, mírou postižení jednotlivých typů buněk, postižením dalších nervových struktur mimo mozeček a také funkčními projevy onemocnění (Lalonde a Strazielle, 2001).

#### 5.2.2. Mutantní myši typu Lurcher

Mutantní myši typu Lurcher jsou přirozeným modelem geneticky podmíněné olivocerebelární degenerace. Dědičnost je semidominantní (Phillips, 1960). Mutanti typu

Lurcher jsou heterozygoti (+/Lc). Mutace postihuje gen pro  $\delta 2$  podjednotku glutamátového receptoru (GluR $\delta 2$ , symbol alely: Grid2<sup>Lc</sup>) (Zuo a spol., 1997). GluR $\delta 2$  je exprimován především Purkyňovými buňkami mozečku a neurony mozkového kmene (Araki a spol., 1993; Lomeli a spol., 1993; Mayat a spol., 1995; Takayama a spol., 1995, 1996; Landsend a spol., 1997). Proto u mutantů typu Lurcher (heterozygotů), dochází postnatálně k zániku právě Purkyňových buněk excitotoxickou apoptózou (Zuo a spol., 1997). Sekundárně ubývá granulárních buněk mozečku a neuronů dolní olivy v důsledku ztráty cíle jejich axonů, kterým jsou Purkyňovy buňky (Wetts a Herrup, 1982a,b). Degenerace je patrná od 8. dne po narození. V 26. dnu života zbývá 9 % Purkyňových buněk, 63. den pouze 3 % a 91. den již v mozečku mutantů typu Lurcher nejsou prakticky žádné Purkyňovy buňky a přežívá asi pouze 10 % granulárních buněk a 30 % neuronů dolní olivy (Caddy a Biscoe, 1976; Caddy a Biscoe, 1979).

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

Olivocerebelární degenerace má u myši typu Lurcher řadu funkčních důsledků. Od konce druhého týdne života se u nich začíná projevovat mozečková ataxie, která výrazně omezuje jejich motorické schopnosti a zhoršuje výsledky v různých testech motoriky (Lalonde a spol., 1992; Thullier a spol., 1997). Změny jsou též v klasickém podmiňování a to především ve výkonu podmíněné reflexní reakce v orofaciální oblasti (Porrás-García a spol., 2005). Mutantní myši typu Lurcher mají sníženou schopnost prostorového učení nebo prostorové orientace (Lalonde a spol., 1988; Vožeh a spol., 2001; Cendelín a Vožeh, 2001, 2002; Porrás-García a spol., 2005). Pokusy v Morrisově vodním bludišti přitom ukázaly, že nejde jen o artefakt způsobený motorickým znevýhodněním mutantů postižených ataxií a snížením jejich rychlosti pohybu v bludišti, ale že se skutečně jedná o poruchu učení nebo prostorové orientace (Hilber, 1998; Porrás-García a spol., 2005). Lalonde a Thifault (1994) vysvětlují horší výsledky mutantů typu Lurcher v Morrisově bludišti poruchou vizuomotorické integrace. Jistá schopnost prostorového učení je u myši Lurcher přesto zachována a projevuje se zkrácením latencí dosažení cíle při opakování pokusu v Morrisově bludišti (Porrás-García a spol., 2005). Prostorové učení je tradičně spojováno především s hipokampem (O'Keefe a Nadel, 1978), který je u myši Lurcher údajně intaktní (Cheng a Heintz, 1997; Resibois a spol., 1997). Přesto u nich bylo zjištěno snížení hipokampální dlouhodobé potenciace (Barcal a spol., 2001, 2002).

### 5.3. Neurotransplantace

Regenerace v centrálním nervovém systému (CNS) je ve srovnání s jinými tkáněmi omezená. Neurogeneze v dospělosti, prokázaná i u savců (Altman, 1962, 1963; Altman a Das, 1965; Gould a Gross, 2002; Dayer a spol., 2003), je nedostatečná k opravě poškození a restituci funkcí. Onemocnění spojená s větší ztrátou neuronů mají proto mnohdy závažné a více či méně nereverzibilní následky. Určitou naději představují neurotransplantace, tedy nahrazení zaniklých neuronů aplikací nových buněk (embryonální nervové tkáň, embryonálních kmenových buněk, adultních kmenových buněk).

Návrat funkcí po transplantaci nervových buněk je možný tam, kde je potřeba především doplnění počtu buněk. Je-li nutné přesné zapojení neuronů do nervových drah, je funkční obnova problematická (Rossi a Cattaneo, 2002). Mattsson a spol. (1997) však přepokládají, že zlepšení poškozených funkcí po mozkovém infarktu je dáno spíše trofickým působením transplantované embryonální tkáň než obnovou přerušených okruhů. Trénink, pestřejší prostředí a rehabilitace přispívají k funkčnímu zlepšení a ovlivňují i morfologii transplantátu u laboratorních zvířat (Döbrössy a Dunnett, 2001, 2003, 2004) a lidí (Polgar a spol., 1997; Brasted a spol., 1999).



V klinické praxi je používána transplantace embryonální tkáně *substantia nigra* k léčbě Parkinsonovy choroby (Björklund a Lindvall, 2000). Ovlivnění dalších chorob CNS neurotransplantacemi je dosud spíše ve stadiu výzkumu na zvířatech. Vhodným experimentálním modelem pro výzkum této problematiky jsou laboratorní zvířata postižená nějakým neurodegenerativním onemocněním nebo ischemicky, chemicky či mechanicky navozeným poškozením CNS.

### 5.3.1. Transplantace mozečkové tkáně u zvířecích modelů degenerativních poškození mozečku

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

U mutantních myší typu **Lurcher** nebyly transplantace mozečkové tkáně zkoumány zdaleka tolik jako u pcd mutantů. Tomey a Heckroth (1993) uvádějí, že přežívání transplantátu u myší Lurcher je nižší než u pcd mutantů. Udávají přežití transplantátu aplikovaného ve formě suspenze po 1 až 2 měsících po transplantaci jen u 50 % dospělých i mladých mutantů Lurcher. Heckroth a spol. (1998) však zmiňují vynikající přežívání transplantátu u myší Lurcher, kterým ve věku 8-10 dnů transplantovali suspenzi embryonálního mozečku. Udávají, že buňky vytvářely agregáty, které se nacházely na povrchu mozečku hostitele a často pronikaly do jeho fisur. Dále pozorovali organotypickou organizaci transplantátu a invazi transplantovaných Purkyňových buněk do molekulární vrstvy kůry mozečku příjemce. Transplantované buňky našli u myší Lurcher především v molekulární vrstvě i Tomey a Heckroth (1993), kteří aplikovali suspenzi buněk, a Dumesnil-Bousez a Sotelo (1993), kteří použili solidní kousky embryonálního mozečku. Tomey a Heckroth (1993) dále uvádějí, že u části myší typu Lurcher našli vlákna transplantovaných buněk vrůstající do mozečkových jader.

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

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

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

směrem do mozečkové kůry a napodobily tak normální migrační cestu z ontogeneze mozečku (Triarhou a spol., 1992). Transplantace mozečku vedla k zlepšení některých parametrů motorických funkcí u pcd myší (Triarhou a spol., 1995, 1996; Zhang a spol., 1996) a SCA1 myší (Kaemmerer a Low, 1999). Dosud nebyl zkoumán vliv transplantace mozečku na schopnost prostorového učení a orientace, které jsou, jak bylo uvedeno výše, u myší postižených degenerací mozečku rovněž narušené.

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

Fyzická aktivita je podstatou rehabilitační a režimové terapie mnoha neurologických onemocnění. Zvyšuje plasticitu nervového systému (Vaynman a spol., 2006) a zlepšuje tak kognitivní funkce u zvířat i lidí (Fordyce a Wehner, 1993; Laurin a spol., 2001). Bylo zjištěno, že pohybová aktivita a obohacené prostředí mírní kognitivní deficit u několika zvířecích mutantních modelů kognitivních poruch (Huang a spol., 2006) a dokonce zvyšují neurogenezi v hipokampu (Kempermann a spol., 1997). Neurogeneze v hipokampu dospělých jedinců může mít význam pro formování dlouhodobé prostorové paměti (Snyder a spol., 2005). Zdá se, že působení fyzické aktivity na kognitivní funkce a plasticitu mozku je zprostředkováno BDNF (brain-derived neurotrophic factor) (Molteni a spol., 2004; Vaynman a spol., 2003, 2004). Cvičení skutečně vede k vzestupu BDNF v mozku (Berchtold a spol., 2005; Vaynman a spol., 2006). U mutantů typu Lurcher vedlo obohacené prostředí stimulační volní pohybovou aktivitu ke zlepšení motorických funkcí a schopnosti prostorového učení (Caston a spol., 1999).

### **6. VÝCHODISKO**

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

### **7. CÍL PRÁCE**

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

## 8. MATERIÁL A METODY

### 8.1. Uspořádání pokusu

Byly provedeny dva dílčí pokusy:

**1. Hodnotili jsme přežívání embryonálního mozečkového transplantátu** u dospělých a mladých myší typu Lurcher kmene B6CBA a u dospělých myší typu wild téhož kmene histologickým vyšetřením přítomnosti transplantátu ve třech obdobích po transplantaci (přibližně po 3, 6 a 9 týdnech). Tento pokus orientačně mapuje přežívání transplantátu u myší Lurcher v období před ukončením testů prostorové orientace a histologickým vyšetřením transplantátů ve druhém pokusu. Kromě toho srovnání přežívání transplantátu u dospělých myší Lurcher s pokročilou degenerací mozečku a u zdravých myší typu wild umožní posoudit, zda má patologicky změněné prostředí hostitelské tkáně zásadní vliv na přežívání transplantátu.

**2. Sledovali jsme vliv transplantace embryonální tkáně mozečku, nucené fyzické aktivity a kombinace transplantace a fyzické aktivity na schopnost prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti u dospělých a mladých myší typu Lurcher kmene B6CBA.** Nucená fyzická aktivita spočívala v opakovaném tréninku na rotarodu.

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

Prostorová orientace byla vyšetřována 9 týdnů po operaci. Kromě toho byly provedeny testy motorické koordinace 4, 8 a 10 týdnů po operaci a u dospělých zvířat i před operací. Tyto motorické testy nejsou předmětem této práce a jsou zmiňovány pro úplnost informací o průběhu pokusu. Jejich detailní popis je uveden v příslušných publikacích (Cendelín a spol., 2007, 2008, v tisku). U myší, kterým byl aplikován transplantát, bylo po skončení funkčních pokusů, tedy 10-11 týdnů po operaci, provedeno histologické vyšetření přežívání transplantátu. Funkční pokusy byly hodnoceny jen u těch z nich, u kterých byl transplantát nalezen.

### 8.2. Pokusná zvířata

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

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

**V pokusu sledujícím přežívání transplantátu** bylo celkem použito 133 myší (mladé myši Lurcher: n=42, dospělé myši Lurcher: n=50, dospělé myši wild: n=41). Do skupiny dospělých myší byla zařazována zvířata starší než 50 dní (průměrný věk: 131,8 dne, směrodatná odchylka: 57,8, maximum: 338 dnů, minimum: 57 dnů). Mladé myši byly operovány ve věku 12-18 dnů (průměrný věk: 13,8 dne, směrodatná odchylka: 0,9).

**V pokusu sledujícím vliv transplantace, nucené motorické aktivity a jejich kombinace na schopnost prostorové orientace** bylo použito celkem 158 zvířat (dospělé myši Lurcher, transplantace, trénované: n=12, dospělé myši Lurcher, transplantace, netrénované:

n=31, dospělé myši Lurcher, kontrolní operace, trénované: n=15, dospělé myši Lurcher, kontrolní operace, netrénované: n=21, dospělé myši wild, kontrolní operace: n=10, mladé myši Lurcher, transplantace, trénované: n=12, mladé myši Lurcher, transplantace, netrénované: n=19, mladé myši Lurcher, kontrolní operace, trénované: n=14, mladé myši Lurcher, kontrolní operace, netrénované: n=16, mladé myši wild, kontrolní operace: n=8). Věk dospělých zvířat v den operace byl rovněž nejméně 50 dnů (průměrný věk: 112,7 dne, směrodatná odchylka: 38,9, maximum: 254 dnů, minimum: 50 dnů). Mladé myši byly operovány ve věku 12-18 dnů (průměrný věk: 13,7 dne, směrodatná odchylka: 1,2).

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

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

### **8.3. Statistické zpracování**

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

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

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

#### **8.4.1. Dárce a odběr transplantátu**

Dárce tkáně byla embrya myši bez mutace Lurcher nesoucí gen pro zelený fluoreskující protein (GFP). Embrya byla získána zkřížením samice stejného kmene, ze kterého pocházel příjemce tkáně (B6CBA), a GFP pozitivního samce kmene C57BL/6-Tg(ACTB-EGFP)1Os/J. Gestační stáří embryí v den odběru transplantátu bylo 12-13 dní.

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

Z hlav embryí byl vypreparován mozkový kmen. Základ mozečku byl oddělen v podobě dvou srpkovitých nebo přibližně polokruhovitých kousků tkáně. Kousky embryonálního mozečku byly shromážděny do plastové zkumavky s výše popsáním roztokem a v chladu uchovávány do doby transplantace (nejvýše 5 hodin). Jednomu příjemci byly aplikovány 2 kousky embryonálního mozečku, tedy množství odpovídající tkáni získané z jednoho embrya.

#### **8.4.2. Aplikace transplantátu**

Dospělí příjemci transplantátu byli anestetizováni směsí ketaminu (100 mg/kg) a xylazinu (16 mg/kg) aplikovanou intraperitoneálně. Mladým myším bylo aplikováno 0,36 mg ketaminu a 0,057 mg xylazinu a tato anestézie byla doplněna kryoanestézií.

Po ostrihání a dezinfekci operačního pole byla myš byla upevněna do stereotaxického aparátu a operační pole bylo opět vydezinfikováno. Asi 1 cm dlouhý řez byl veden skalpelem ve střední čáře v zadní části parietální oblasti a v okcipitální oblasti hlavy. Šíjové svalstvo bylo tupě preparováno ve střední čáře tak, aby byl získán přístup k okcipitální kosti v oblasti pod úponem šíjových svalů a k atlantookcipitální membráně. Membrána byla punktována injekční jehlou, aby unikl malý objem mozkomíšního moku. Tím vznikl v lebce prostor a omezilo se riziko úniku transplantátu z lebky. V okcipitální kosti ve střední čáře pod úpony šíjových svalů (Bregma – 8,7 mm) byl vyvrtán otvor o průměru do 2 mm. Dva kousky embryonálního mozečku v 10 µl vehikula byly injikovány do otvoru mikrokapilárou. Rána byla sešita v jedné vrstvě vstřebatelným materiálem a dezinfikována. Dospělým i mladým kontrolním myším typu Lurcher a wild byla provedena kontrolní operace. Postup byl shodný s průběhem transplantace s tím rozdílem, že místo transplantátu bylo aplikováno 10 µl samotného vehikula.

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

Mozečky a mozkové kmeny myší, kterým byl aplikován transplantát byly vyšetřeny histologicky ke zjištění přežívání transplantátu a k orientačnímu posouzení jeho lokalizace a struktury. Odběr vzorků tkáně k vyšetření byl proveden u myší použitých pro sledování přežívání transplantátu přibližně 3 (17-25 dnů), 6 (38-46 dnů) a 9 týdnů (59-67 dnů) po transplantaci. 3 týdny po operaci bylo vyšetřeno 13 mladých myší Lurcher, 17 dospělých myší Lurcher a 13 dospělých myší typu wild. Po 6 týdnech bylo vyšetřeno 13 mladých myší Lurcher, 17 dospělých myší Lurcher a 13 dospělých myší wild. 9 týdnů po transplantaci bylo vyšetřeno 16 mladých myší Lurcher, 16 dospělých myší Lurcher a 15 dospělých myší wild.

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

##### **8.5.1. Histologické zpracování**

Pokusná zvířata byla hluboce anestetizována thiopentalem a transkardiálně perfundována fosfátovým pufrům (pH 7,4) a 4% paraformaldehydem (pH 7,4). Mozky byly vyjmuty a vloženy na několik dnů do 4% paraformaldehydu (pH 7,4) k postfixaci. Pak byly vloženy na 16-20 hodin do 30% roztoku sacharózy ke kryoprotekci a zmrazeny. Mozkový kmen, mozeček byly krájeny kryostatem (50µm frontální řezy).

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

Po vyšetření a fotografické dokumentaci nativních preparátů byly řezy obarveny dle Nissla za účelem detailnějšího posouzení morfologie transplantátu.

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

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

výskytu diferencované struktury mozečkové kůry v transplantátu a k porovnání výskytu prorůstání nervových vláken nebo buněk z transplantátu do okolí v jednotlivých skupinách myši byl použit Fisherův test.

#### **8.6. Nucená fyzická aktivita**

Část myši typu Lurcher po transplantaci nebo kontrolní operaci byla vystavena opakovanému tréninku na rotarodu. Průměr válce rotarodu byl 4 cm, rychlost rotace 4 otáčky/min. Trénink byl zahájen 12 dní po operaci. Probíhal v 6 pětidenních cyklech, mezi kterými byly dvoudenní přestávky, tedy po 6 týdnů, a dva dny v sedmém týdnu. Celkem byl trénink proveden v 32 dnech. Denně strávily myši na rotarodu celkem 8 minut. Trénink byl rozdělen do 4 dvouminutových úseků, mezi kterými byly pětiminutové přestávky. Druhá část myši Lurcher byla ponechána bez tréninku, stejně jako všechny myši wild.

#### **8.7. Test prostorového učení**

Prostorová orientace a schopnost prostorového učení byla vyšetřována standardní metodou Morrisova vodního bludiště (Morris, 1984). Pokusný objekt se učí v kruhovém bazénu naplněném vodou hledat ostrůvek. Použili jsme kruhový bazén o průměru 95 cm. Hloubka vody byla 20 cm, výška stěny nad hladinou byla 10 cm. Teplota vody byla 26-29 °C. Ostrůvek byl vyroben z průhledného materiálu. Jeho kruhová plošina o průměru 7,5 cm byla ponořena 0,5 cm pod hladinou vody. Ostrůvek byl tedy pro plavající myš skrytý. Na obvodu bludiště byly určeny 4 startovní body označené jako sever (S), jih (J), západ (Z) a východ (V). Ostrůvek byl trvale lokalizován ve středu jihozápadního kvadrantu.

Pokus byl zahájen 61 dnů po operaci (tj. 6 dnů po posledním dnu tréninku) a probíhal po 10 dnů. Denně byly provedeny 4 starty, každý z jiného startovního bodu v pořadí S, J, Z, V. Střídání startovních pozic ztížilo možnosti idiotetické navigace. V bludišti byla každá myš ponechána nejvýše 60 s. Pokud do té doby nenašla ostrůvek sama, byla na něj navedena. Po každém startu byly myši ponechány na ostrůvku 30 s. Po dobu přestávek mezi starty trvajících 12 minut byly myši umístěny v chovných klecích.

Pohyb myši byl registrován automatickým zařízením EthoVision 3.0 (Noldus, Nizozemsko). Měřeny byly latence dosažení ostrůvku, délka dráhy a průměrná rychlost plavání. V případě nenalezení ostrůvku byla hodnota latence dosažení ostrůvku určena jako maximální doba trvání pokusu, tj. 60 s. Pro každého jedince byly vypočítány průměrné hodnoty ze čtyř startů provedených v daném dnu a teprve ty dále zpracovávány.

K posouzení významnosti změny latencí, délek dráhy a rychlosti plavání v průběhu pokusu byla pro jednotlivé skupiny použita Friedmanova ANOVA. Dále byl hodnocen poměr latencí dosažení ostrůvku poslední a první den pokusu (D10/D1) a obdobně poměr délky dráhy poslední a první den pokusu, které jsou ukazatelem míry změny parametrů. K posouzení závislosti všech sledovaných parametrů (latencí, délek dráhy a rychlosti v jednotlivých dnech pokusu, poměrů latencí a poměrů délek dráhy) na experimentální skupině byl použit Kruskal-Wallisův test. Pro parametry identifikované jako statisticky významně se lišící mezi skupinami byl následně použit Mann-Whitneyův test k posouzení významnosti rozdílů mezi jednotlivými skupinami. Pro parametry, které nezávislely statisticky významně na experimentální skupině, nebyly rozdíly mezi jednotlivými skupinami dále uvažovány.

Z myši, kterým byl aplikován transplantát, byly k vyhodnocení výsledků testu prostorové orientace použity jen ty, u kterých transplantát přežil do doby ukončení pokusů. Zvířata, u nichž transplantát nebyl nalezen, byla vyloučena ze souboru.

## 9. VÝSLEDKY

### 9.1. Přežívání a morfologie transplantátu

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

Přežívání transplantátu									
Týdny po operaci	3			6			9		
	%	ano	ne	%	ano	ne	%	ano	ne
Dospělé WT	69,2	9	4	100	13	0	86,7	13	2
Dospělé Lc	88,2	15	2	88,2	15	2	81,3	13	3
Mladé Lc	84,6	11	2	92,3	12	1	93,8	15	1

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

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

Transplantát byl nejčastěji objeven na povrchu mozečku hostitele nebo částečně zanořený v mozečku (bez ohledu na dobu vyšetření po operaci - u 25 dospělých myší typu wild, 30 dospělých mutantů Lurcher a u 32 mladých mutantů). Vzácněji se nacházel na povrchu pontu nebo prodloužené míchy (u 2 dospělých myší typu wild, 2 dospělých mutantů Lurcher a u 3 mladých mutantů). Jindy byl transplantát uložen laterálně mezi mozečkem a kmenem a byl tak v kontaktu s oběma strukturami nebo se jeden transplantát nacházel na mozečku a další na kmeni (u 8 dospělých myší typu wild, 9 dospělých mutantů Lurcher a u 2 mladých mutantů). U zbývajících 3 jedinců nebylo uložení transplantátu hodnotitelné, neboť ve všech řezech byl transplantát zcela oddělen od hostitelských tkání. Nelze vyloučit, že se jednalo o artefakt vzniklý odtržením povrchně nasedajícího transplantátu.

U většiny myší měl transplantát neuspořádanou strukturu. U ostatních byla alespoň v části transplantátu patrná charakteristická struktura mozečkové kůry s diferencovanými třemi vrstvami. Počty zvířat s prokázanou charakteristickou strukturou diferencovanou alespoň v části transplantátu a počty zvířat s neuspořádanou strukturou jsou uvedeny v tab. 2. U mladých myší Lurcher byla v transplantátu nalezena charakteristická mozečková struktura častěji než u dospělých myší Lurcher (6 týdnů po operaci  $p < 0,001$ ). Rozdíly mezi dospělými zvířaty typu Lurcher a wild nebyly statisticky významné. V žádné skupině myší nebyl patrný trend změny výskytu uspořádané struktury s rostoucím časovým odstupem od transplantace.

Propojení mezi transplantátem a hostitelskou tkání bylo chudé. V mnoha případech byl transplantát ostře ohraničený. U některých zvířat byl okraj transplantátu neostrý a byla

patrná fluoreskující vlákna z něj vybíhající. Tato vlákna však obvykle probíhala spíše paralelně s povrchem mozečku, nikoliv směrem do hloubky k mozečkovým jádrům. Někdy byly v hostitelské tkáni mimo transplantát nalezeny fluoreskující buňky, které tvarem a velikostí odpovídaly buňkám Purkyňovým a měly také pro tento buněčný typ charakteristický dendritický strom, který však byl orientován různými směry. Obvykle se takové buňky nacházely v blízkosti transplantátu. V několika případech bylo pozorováno vrůstání transplantátu do fisur mozečku hostitele. Ve všech případech, kdy transplantát vytvářel nějaké interakce s hostitelskou tkání, byl v kontaktu s mozečkem. U myší, u nichž byl transplantát lokalizován na povrchu mozkového kmene bez kontaktu s mozečkem (celkem 7 zvířat), žádné interakce patrné nebyly. Počty zvířat, u kterých byl transplantát ohraničený, a počty zvířat, u nichž bylo pozorováno prorůstání vláken nebo buněk jsou uvedeny v tab. 3. U dospělých myší typu wild bylo nalezeno prorůstání vláken nebo buněk z transplantátu do hostitelské tkáně častěji než u dospělých myší Lurcher (6 týdnů po operaci  $p < 0,0123$ ). U mladých myší typu Lurcher bylo nalezeno prorůstání častěji než u dospělých (6 týdnů po operaci  $p < 0,03$ ). Nebyl patrný trend změny výskytu prorůstání s rostoucí dobou, která uplynula od transplantace.

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

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

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

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

## 9.2. Hodnocení vlivu transplantace a fyzické aktivity

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

Procentuální vyjádření přežívání transplantátu a počty myší jednotlivých experimentálních skupin, u kterých transplantát přežil a u kterých zanikl, jsou uvedeny v tab. 4. Rozdíly v přežívání mezi jednotlivými skupinami myší nebyly statisticky významné.



Přežívání transplantátu u trénovaných a netréňovaných myší			
	%	ano	ne
Dospělé netréňované	74,2	23	8
Dospělé trénované	66,7	8	4
Mladé netréňované	89,5	17	2
Mladé trénované	100,0	12	0

**Tab. 4:** Přežívání transplantátu u mladých a dospělých trénovaných a netréňovaných myší typu Lurcher v % jedinců, kterým byl transplantát aplikován, a absolutní počty myší, u kterých transplantát přežil a u kterých zanikl.

Morfologické nálezy byly podobné, jako ve skupinách myší vyšetřovaných 3, 6 a 9 týdnů po transplantaci. I v souborech trénovaných a netréňovaných myší byly nalezeny transplantáty rozličné velikosti. Na povrchu hostitelského mozečku nebo částečně v něm zanořený byl transplantát nalezen u 18 netréňovaných a 6 trénovaných dospělých myší, 11 mladých netréňovaných a 8 mladých trénovaných zvířat. Na povrchu mozkového kmene byl transplantát nalezen u 4 dospělých netréňovaných a 1 dospělé trénované myši. Situace, kdy byl transplantát v kontaktu zároveň s mozečkem i kmenem nebo jeden z transplantátů nasedající na mozeček a další na kmen, byla nalezena u 1 netréňované a 1 trénované dospělé myši, u 5 netréňovaných a 4 trénovaných mladých myší. V jednom případě nebylo možné lokalizaci určit.

Počty zvířat s prokázanou strukturou mozečkové kůry alespoň v části transplantátu a počty zvířat s neuspořádanou strukturou jsou uvedeny v tab. 5. Interakce mezi transplantátem a tkání příjemce byly opět chudé. Počty zvířat s patrným prorůstáním vláken nebo buněk a počty zvířat s ohraničeným transplantátem jsou uvedeny v tab. 5. Rozdíly ve výskytu diferencované struktury a prorůstání mezi trénovanými a netréňovanými zvířaty nebyly statisticky významné. Mezi dospělými a mladými trénovanými zvířaty byl významný rozdíl ve výskytu prorůstání (Fisherův test:  $p < 0,0436$ ). U netréňovaných myší rozdíl nebyl statisticky významný.

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

**Tab. 5:** Vlevo: Procento myší s výskytem struktury mozečkové kůry, počty myší Lurcher jednotlivých skupin, u kterých byla nalezena struktura mozečkové kůry, a počty zvířat, u kterých nalezena nebyla. Vpravo: Procento myší s výskytem prorůstání vláken nebo buněk z transplantátu do hostitelské tkáně, počty myší, u kterých bylo prorůstání pozorováno, a počty zvířat, u kterých pozorováno nebylo. Zahrnuta jsou pouze zvířata, u kterých byl transplantát v kontaktu s mozečkem. U 5 zvířat se transplantát mozečku hostitele nedotýkal a u 2 zvířat nebylo hodnocení prorůstání jednoznačné.

## 9.2.2. Prostorová orientace v Morrisově vodním bludišti

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

U myši všech experimentálních skupin byla pozorována schopnost učení v Morrisově vodním bludišti. V průběhu deseti dnů pokusu docházelo ke zkracování latencí dosažení ostrůvku i uplavané dráhy. Určitým vývojem prošla u některých skupin myši i rychlost plavání (hladiny významnosti v tab. 6). Poměr latencí a poměr délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu (D10/D1) ukazující míru změny je uveden v tab. 7. Poměry latencí a dráhy v posledním a prvním dnu se významně lišily mezi experimentálními skupinami myši (pro poměr latencí  $H=53,21496$ ,  $p<0,0001$ , pro poměr délek dráhy  $H=53,19773$ ,  $p<0,0001$ ).

	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	$\chi^2$	p<	$\chi^2$	p<	$\chi^2$
Lc dospělé T+R (n=8)	0,00001	38,5539	0,00019	32,1273	NS	8,65883
Lc dospělé T (n=23)	0,00001	105,137	0,00001	74,1842	0,00856	22,1086
Lc dospělé K+R (n=15)	0,00001	79,3683	0,00001	73,7200	0,00421	24,0619
Lc dospělé K (n=21)	0,00001	82,6998	0,00001	53,6961	0,01605	20,3176
WT dospělé K (n=10)	0,00001	67,2787	0,00001	63,4255	0,01332	20,8582
Lc mladé T+R (n=12)	0,00001	71,0364	0,00001	67,0546	0,03819	17,7499
Lc mladé T (n=17)	0,00001	57,2954	0,00001	40,4182	NS	11,1377
Lc mladé K+R (n=14)	0,00001	72,9168	0,00001	74,026	0,00136	27,082
Lc mladé K (n=16)	0,00001	88,4492	0,00001	77,3046	NS	16,2546
WT mladé K (n=8)	0,00001	53,1191	0,00001	50,3182	NS	12,9879

**Tab. 6:** Statistická významnost změn latencí dosažení ostrůvku, délky dráhy a rychlosti plavání v Morrisově vodním bludišti v průběhu 10 dní pokusu u jednotlivých experimentálních skupin myši typu Lurcher (Lc) s transplantátem trénovaných na rotarodu (T+R), netrénovaných s transplantátem (T), kontrolních trénovaných (K+R), kontrolních netrénovaných (K) a u kontrolních myši typu wild (WT, K) - Friedmanova ANOVA. Hladiny významnosti  $p>0,05$  jsou označeny jako NS (nesignifikantní).

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

**Tab. 7:** Průměrné poměry latencí dosažení ostrůvku a poměry délek dráhy v posledním (D10) a prvním (D1) dnu pokusu v Morrisově vodním bludišti (D10/D1) ± směrodatná odchylka u jednotlivých experimentálních skupin myši typu Lurcher (Lc) a wild (WT).

Latence dosažení ostrůvku i délka dráhy v Morrisově vodním bludišti významně závisely na experimentální skupině zvířat ve všech dnech pokusu s výjimkou prvního. Rychlost plavání se statisticky významně lišila mezi skupinami ve 4. až 10. dnu pokusu. Statistické významnosti jsou uvedeny v tab. 8.

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

**Tab. 8:** Statistická významnost rozdílů latencí, délek dráhy a rychlosti plavání v Morrisově vodním bludišti mezi zvířaty sledovaných experimentálních skupin v jednotlivých dnech pokusu (D1-D10) - Kruskal-Wallisův test pro všech 10 experimentálních skupin (experimentální skupina jako nezávisle proměnná). Hladiny významnosti  $p > 0,05$  jsou označeny jako NS (nesignifikantní). Tam, kde nebyla statisticky významná závislost na experimentální skupině, nebyly rozdíly mezi jednotlivými skupinami dále sledovány.

V testu v Morrisově vodním bludišti byly pozorovány výrazné rozdíly v latencích i délce dráhy mezi jedinci typu wild a kontrolními zvířaty Lurcher u mladých i dospělých myší (obr. 1 A, B). Mladé myši wild dosahovaly od druhého a dospělé od prvního dne pokusu kratších latencí i kratší dráhy než kontrolní mutanti příslušné věkové skupiny (statistická významnost v tab. 9). U mladých myší nebyly rozdíly v rychlosti plavání mezi jedinci typu wild a Lurcher. Dospělé myši typu Lurcher plavaly od čtvrtého dne pokusu (D4) v průměru rychleji než dospělé myši typu wild (statistická významnost v tab. 9) (obr. 1 C).

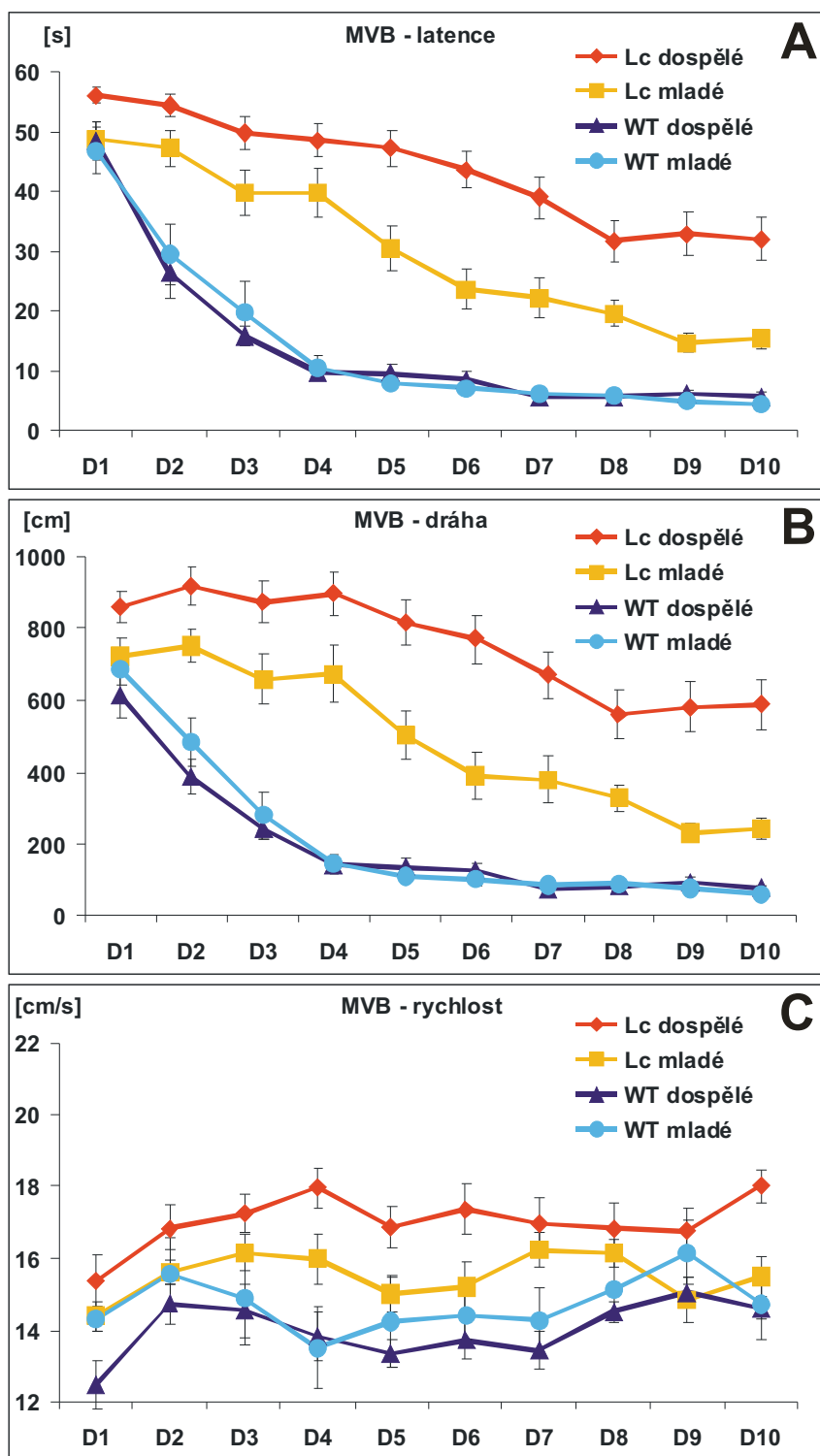
Mladé myši typu wild také dosáhly nižšího poměru latencí ( $U=0$ ,  $p < 0,00009$ ) i poměru délek dráhy ( $U=0$ ,  $p < 0,00009$ ) mezi posledním (D10) a prvním (D1) dnem pokusu než mladé kontrolní myši Lurcher. Rovněž dospělé myši typu wild dosáhly nižšího poměru latencí ( $U=6$ ,  $p < 0,00003$ )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

U myší typu wild nebyly mezi mladými a dospělými jedinci patrné rozdíly v latencích, délkách dráhy ani rychlosti plavání v Morrisově bludišti (obr. 1). Poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu se také významně nelišily (hodnoty v tab. 7).

U kontrolních myší typu Lurcher dosahovala mladá zvířata kratších latencí (v D3, D5-D10) i kratších drah (v D2, D3, D5-D10) než dospělá při mírně nižší rychlosti plavání (v D4, D5, D6, D10) (obr. 1). Statistické významnosti jsou uvedeny v tab. 9. Poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu byly signifikantně nižší u mladých mutantů typu Lurcher než u dospělých (hodnoty viz tab. 7) (pro poměr latencí  $U=75$ ,  $p < 0,00436$ , pro poměr délek drah  $U=66$ ,  $p < 0,00177$ ).

	Latence		Dráha		Rychlost	
	p<	U	p<	U	p<	U
Mladé myši: kontrolní myši typu wild vs. kontrolní myši typu Lurcher						
D1	-	-	-	-	-	-
D2	0,00486	18	0,00847	21	-	-
D3	0,01432	24	0,00401	17	-	-
D4	0,00039	6	0,00076	9	NS	32
D5	0,00118	11	0,00061	8	NS	60
D6	0,00061	8	0,00095	10	NS	51
D7	0,00024	4	0,00015	2	NS	33
D8	0,00015	2	0,00015	2	NS	50
D9	0,00009	0	0,00031	5	NS	45,5
D10	0,00012	1	0,00009	0	NS	51
Dospělé myši: kontrolní myši typu wild vs. kontrolní myši typu Lurcher						
D1	-	-	-	-	-	-
D2	0,00006	10	0,00004	7	-	-
D3	0,00002	2	0,00001	0	-	-
D4	0,00001	0	0,00001	0	0,00085	26
D5	0,00002	3	0,00002	2	0,00054	23
D6	0,00002	2	0,00002	1	0,00114	28
D7	0,00001	0	0,00001	0	0,00235	33
D8	0,00002	2	0,00002	1	0,038402	56
D9	0,00002	3	0,00002	2	NS	60,5
D10	0,000021	3	0,00002	2	0,00005	8
Mladé vs. dospělé mutantní myši typu Lurcher						
D1	-	-	-	-	-	-
D2	NS	119,5	0,02524	95	-	-
D3	0,02625	95,5	0,04305	102	-	-
D4	NS	113	NS	106	0,02524	95
D5	0,00197	67	0,00396	74	0,03068	97,5
D6	0,00048	54	0,00038	52	0,0273	96
D7	0,00241	69	0,00326	72	NS	130
D8	0,01195	86	0,0215	93	NS	148
D9	0,00084	59	0,0006	56	NS	108
D10	0,00084	59	0,00034	51	0,00267	70

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



**Obr. 1:** Průměrné latence dosažení ostrůvku v s (A), délka dráhy v cm (B) a rychlost plavání v cm/s (C) v jednotlivých dnech pokusu v Morrisově vodním bludišti (D1-D10) u dospělých a mladých myši typu wild (WT) a dospělých a mladých kontrolních myši typu Lurcher (Lc). Chybové úsečky představují střední chybu průměru.

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

Dospěle trénované mutantní myši typu Lurcher po kontrolní operaci dosáhly významně kratších latencí a drah (v D3-D10, statistické významnosti v tab. 10) v Morrisově bludišti při nižší rychlosti plavání než netréňované kontrolní mutanti (v D4 - D6, D8, D10, statistické významnosti v tab. 10) (obr. 2). U trénovaných zvířat byly nižší poměry latencí (0,320 vs. 0,567,  $U=72$ ,  $p<0,00609$ ) i délek dráhy (0,341 vs. 0,72,  $U=63$ ,  $p<0,00243$ ) v posledním a prvním dnu pokusu než u netréňovaných.

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

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

Dospěle netréňované myši Lurcher s transplantátem dosáhly významně kratších latencí v Morrisově bludišti než kontrolní netréňované myši Lurcher v jediném dnu (D5) pokusu ( $U=150,5$ ,  $p<0,03251$ ) a významně kratší dráhy pouze v 6. ( $U=149$ ,  $p<0,02976$ ) a 7. dnu ( $U=154$ ,  $p<0,0398$ ) pokusu (obr. 2 A, B). Rychlost plavání byla u těchto dvou skupin zvířat prakticky shodná s výjimkou 10. dne, kdy kontrolní zvířata plavala rychleji ( $U=131$ ,  $p<0,00943$ ) (obr. 2 C). Poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu se významně nelišily (tab. 7).

Dospěle trénované myši Lurcher s transplantátem se v dosažených latencích nelišily významně od netréňovaných kontrolních myši Lurcher. Délka dráhy se výrazněji lišila pouze v D4 ( $U=36$ ,  $p<0,01918$ ) (obr. 2 A, B). Rychlost plavání (obr. 2 C) a poměry latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu se u těchto dvou skupin myši významně nelišily.

Výsledky dospělých trénovaných myši typu Lurcher s přežívajícím transplantátem a výsledky netréňovaných myši Lurcher s transplantátem se velmi podobaly ve všech sledovaných parametrech a nebyly mezi nimi žádné významné rozdíly (obr. 2, tab. 7).

Dospěle trénované kontrolní myši typu Lurcher dosáhly ve srovnání s trénovanými zvířaty s transplantátem ve 3., 9. a 10. dnu pokusu kratších latencí (pro D3  $U=10$ ,  $p<0,00125$ , pro D9  $U=26$ ,  $p<0,0282$ , pro D10  $U=17,5$ ,  $p<0,00609$ ) a kratší dráhy (pro D3  $U=11$ ,  $p<0,00157$ , pro D9  $U=21$ ,  $p<0,01183$ , pro D10  $U=8$ ,  $p<0,00079$ ) (obr. 2 A, B). Rychlost plavání se významně nelišila a ani v poměrech latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu nebyly významné rozdíly (obr. 2 C, tab. 7).

Ve srovnání s netrénovanými mutanty Lurcher s transplantátem také dosáhly trénované kontrolní myši kratších latencí ve 2.-6. a 10. dnu (pro D2 U=85,  $p<0,00898$ , pro D3 U=64,5,  $p<0,00126$ , pro D4 U=77,  $p<0,00435$ , pro D5 U=80,5,  $p<0,00601$ , pro D6 U=104,  $p<0,0408$ , pro D10 U=97,  $p<0,02416$ ) a kratší dráhy v 3.-6. a 8.-10. dnu pokusu (pro D3 U=56,  $p<0,00051$ , pro D4 U=57,  $p<0,00055$ , pro D5 U=61,  $p<0,00087$ , pro D6 U=91,  $p<0,01495$ , pro D8 U=102,  $p<0,03527$ , pro D9 U=95,  $p<0,02065$ , pro D10 U=89,  $p<0,01265$ ) (obr. 2 A, B) při mírně nižší rychlosti (pro D5 U=78,  $p<0,00478$ ) (obr. 2 C). V poměrech latencí a délek dráhy v posledním a prvním dnu pokusu významné rozdíly nebyly zjištěny (tab. 7).

Nejlépeších výsledků v Morrisově bludišti tedy dosáhly trénované kontrolně operované myši. Ani ty se však nevyrovnaly myším wild, jejichž latence i dráha byly výrazně kratší téměř po celý průběh pokusu. Rychlost plavání byla přitom podobná nebo dokonce ve 4. dnu pokusu významně nižší u myši wild (statistické významnosti v tab. 11) (obr. 2). U myši wild byly také výrazně nižší poměry latencí (U=7,  $p<0,00017$ ) i délek dráhy (U=11,  $p<0,00039$ ) v posledním a prvním dnu pokusu než u trénovaných myši Lurcher (tab. 7).

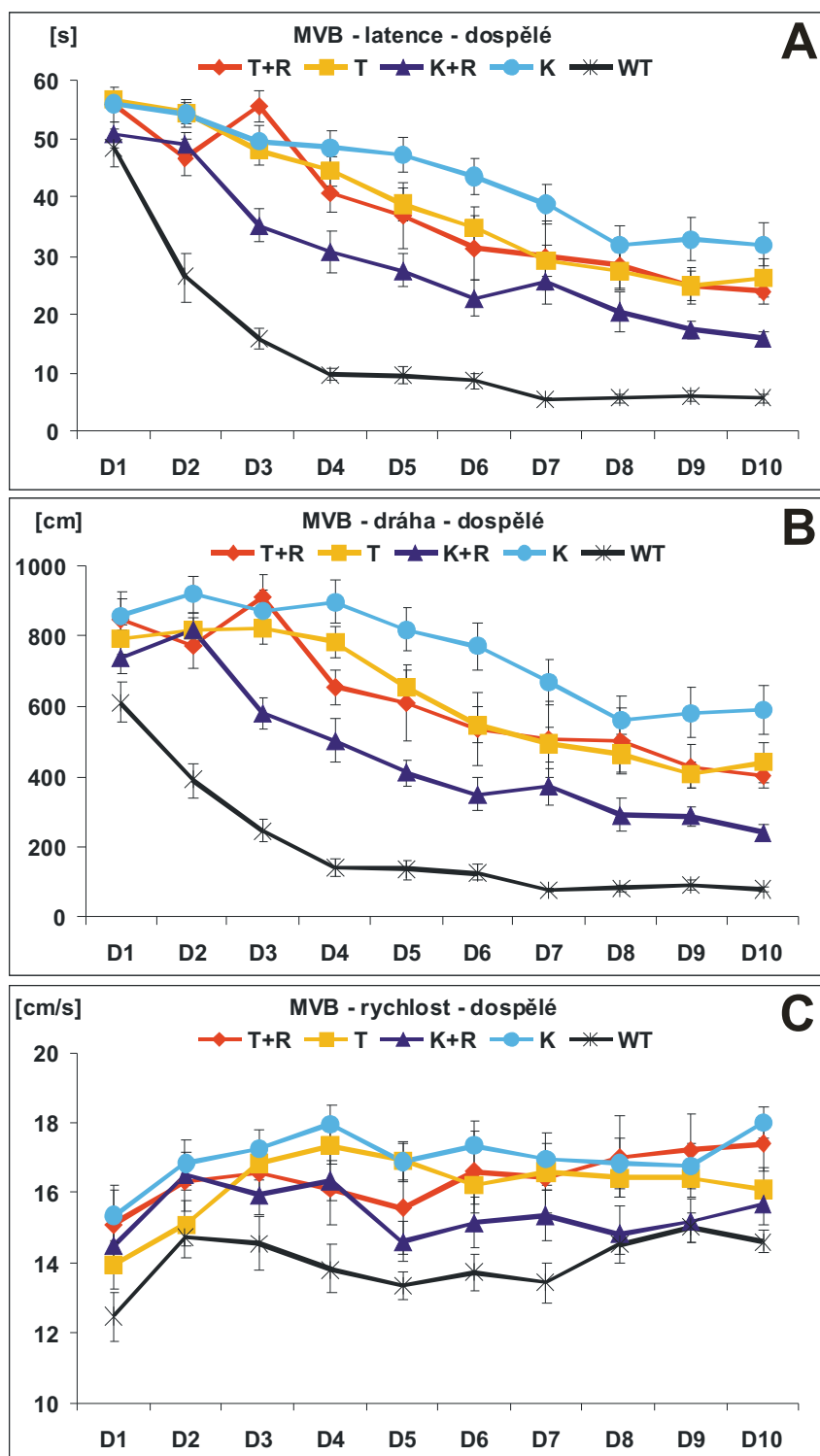
Parametry měřené v Morrisově bludišti u myši s přežívajícím transplantátem nevykazovaly souvislost s velikostí transplantátu ani s interakcemi s hostitelskou tkání.

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

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

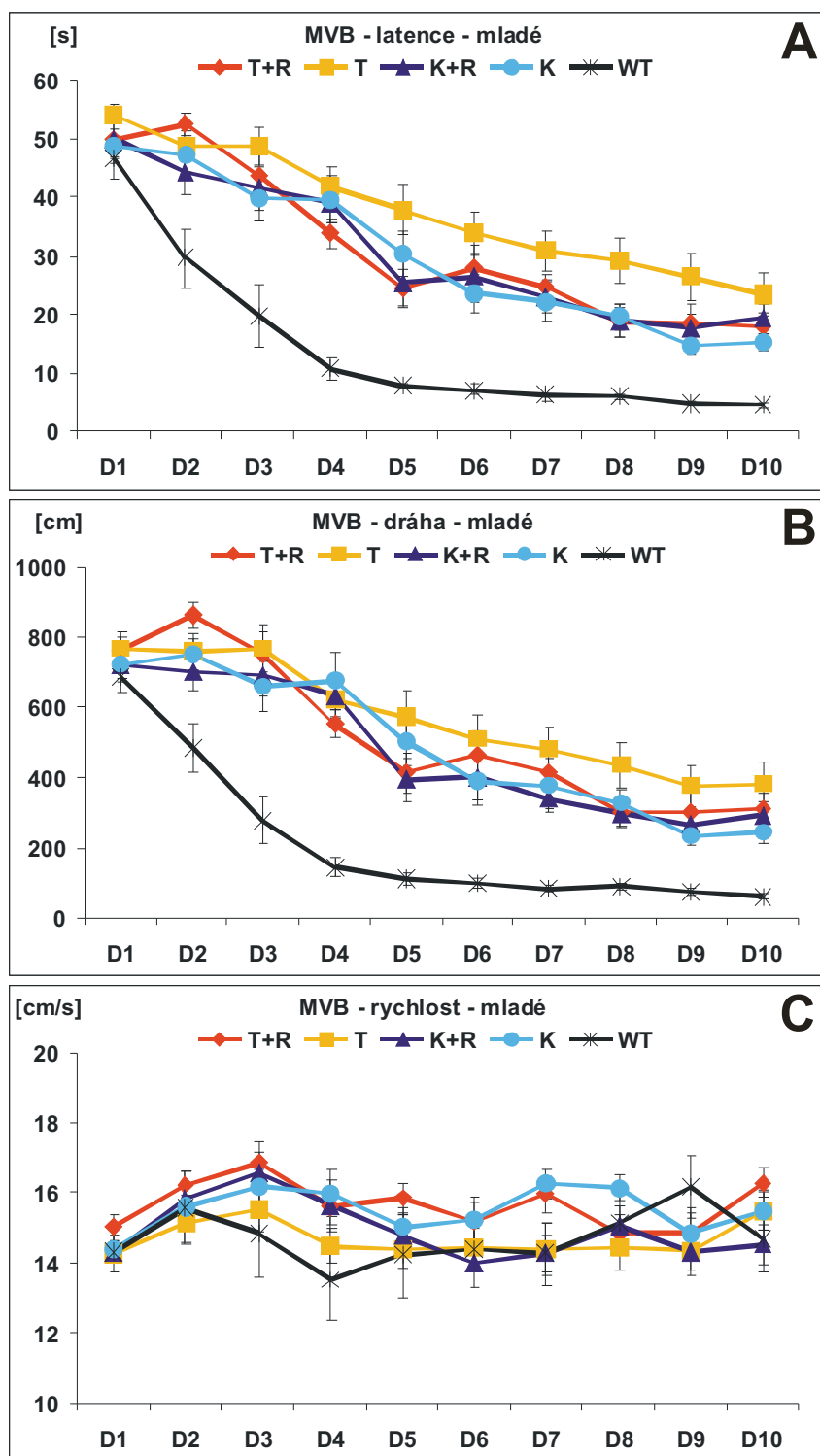
### 9.2.2.3. Vliv transplantace a tréninku u mladých myši

U mladých myši Lurcher nebyly mezi netrénovanými kontrolními zvířaty a zvířaty ovlivněnými tréninkem, transplantací nebo oběma způsoby statisticky významné rozdíly v latencích, délce dráhy ve vodním bludišti ani v poměrech latencí a poměrech délek dráhy v prvním a posledním dnu pokusu (obr. 3, tab. 7). Výjimkou byly rozdíly v rychlostech plavání mezi kontrolní skupinou netrénovaných myši Lurcher a skupinou netrénovaných myši s transplantátem (pro D4 U=80,  $p<0,04368$ , D7 U=63,  $p<0,00856$ , D8 U=74,  $p<0,02554$ ), mezi kontrolními netrénovanými a trénovanými zvířaty (pro D7 U=45,  $p<0,00536$ ) a mezi kontrolními netrénovanými zvířaty a skupinou trénovaných myši s transplantátem (pro D7 U=50  $p<0,03273$ ). Ve všech případech plavaly netrénované kontrolní myši rychleji.



**Obr. 2:** Průměrné latence dosažení ostrůvku v s (A), délka dráhy v cm (B) a rychlost plavání v cm/s (C) v jednotlivých dnech pokusu v Morrisově vodním bludišti (D1-D10) u dospělých myši typu Lurcher s transplantátem trénovaných na rotarodu (T+R), netrénovaných s transplantátem (T), kontrolních trénovaných (K+R), kontrolních netrénovaných (K) a u kontrolních dospělých myši wild (WT). Chybové úsečky představují střední chybu průměru.





**Obr. 3:** Průměrné latence dosažení ostrůvku v s (A), délka dráhy v cm (B) a rychlost plavání v cm/s (C) v jednotlivých dnech pokusu v Morrisově vodním bludišti (D1-D10) u mladých myši typu Lurcher s transplantátem trénovaných na rotarodu (T+R), netrénovaných s transplantátem (T), kontrolních trénovaných (K+R), kontrolních netrénovaných (K) a u kontrolních mladých myši wild (WT). Chybové úsečky představují střední chybu průměru.

## 10. DISKUSE

### 10.1. Přežívání a struktura transplantátu

Přežívání solidního embryonálního mozečkového transplantátu u myši typu Lurcher kmene B6CBA bylo ve všech skupinách více než šedesátiprocentní. Bylo tedy vyšší, než jaké popisují u mladých i dospělých mutantů Lurcher Tomey a Heckroth (1993), kteří udávají přežití u poloviny zvířat při použití buněčné suspenze, která i v naší laboratoři přežívala hůře než solidní transplantát (Schmidtmayerová a spol., 2005). Zároveň naše nálezy podporují tvrzení Tomey a Heckrotha (1993), že přežívání mozečkového transplantátu je u myši Lurcher nižší než u pcd mutantů.

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

Do oblasti mozečku příjemce jsme aplikovali dva transplantáty. Dva kousky fluoreskující tkáně však byly nalezeny jen u některých zvířat. Mnohdy byla nalezena jen jedna část, jindy naopak více než dvě. Nález jednoho transplantátu lze vysvětlit zánikem druhého. V případech, kdy měl transplantát značné rozměry a členitý tvar, došlo pravděpodobně ke spojení obou aplikovaných částí v jeden útvar. Pokud byl přítomen větší počet kousků, byly obvykle menších rozměrů. Mohlo se jednat o zbytky transplantátu, nebo mohlo dojít k jeho roztržení na několik fragmentů během nasávání do kapiláry, což jsme několikrát pozorovali.

V některých případech se u myši typu wild i Lurcher v části transplantátu diferencovala charakteristická trojvrstevná struktura mozečkové kůry. Tento jev pozorovali i Sotelo a Alvarado-Mallart (1987b) u myši pcd. Heckroth a spol. (1998) popsali u mutantů Lurcher vytvoření mozečkové struktury dokonce po aplikaci buněčné suspenze.

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

Skutečnost, že transplantát neprorůstal do mozkového kmene, ani když s ním byl v kontaktu velkou plochou, podporuje názor, že migrace buněk a prorůstání vláken může

směřovat jen do vhodné tkáně a že pohyb transplantovaných Purkyňových buněk směřuje především do molekulární vrstvy mozečku (Alvarado-Mallart a Sotelo, 1993; Sotelo a Alvarado-Mallart, 1987a; Sotelo a spol., 1990; Triarhou a spol., 1992).

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

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

Carletti a Rossi (2005) popisují rozdíly v diferenciaci embryonálních buněk mozečku aplikovaných ve formě suspenze u pcd mutantů a myši typu wild, kdy u zdravých myši tvořily granulární buňky podstatně větší část z buněk odvozených z transplantátu než u mutantů pcd. Heckroth a spol. (1998) našli u 4 myši typu wild, kterým aplikovali suspenzi embryonálních mozečkových buněk, jen omezený průnik transplantovaných neuronů do hostitelské tkáně. V téže práci přitom popisují infiltraci molekulární vrstvy mutantů Lurcher transplantovanými buňkami (Heckroth a spol., 1998) a jejich nálezy jsou tedy v tomto směru opačné než naše. Naproti tomu Triarhou a spol. (1987) udávají, že prostředí hostitelského mozečku mutantů nenarušuje přežití Purkyňových a granulárních buněk v solidním mozečkovém transplantátu u myši typu pcd a weaver. Buňky aplikované ve formě suspenze jsou v těsnějším kontaktu s hostitelskou tkání než buňky v solidním transplantátu, který jsme použili i v naší studii. Roli tedy hraje i forma transplantátu a existuje názor, že pokusy se solidními transplantáty neposkytují dostatečnou informaci o vlivu prostředí hostitelského mozečku na směr diferenciaci transplantovaných buněk (Carletti a Rossi, 2005).

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

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

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

Rozdíl mezi neovlivněnými mutanty Lurcher a myšmi typu wild ve schopnosti dosáhnout ostrůvku v Morrisově vodním bludišti jsme ukázali již v dřívě (Porrás-García a spol., 2005). Současné pokusy potvrdily horší schopnost učení u myší typu Lurcher a jsou ve shodě s poznatky o deficitu prostorové orientace u těchto mutantů (Lalonde a spol., 1988). Přesto však u myší Lurcher všech experimentálních skupin byla patrná jistá schopnost učení.

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

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

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

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

Pokud je o morfologii transplantátu, byl u velké části zvířat ostře ohraničený. V ostatních případech bylo sice patrné prorůstání vláken nebo migrace buněk z transplantátu do okolí, avšak masivní kolonizace mozečku příjemce transplantovanými Purkyňovými buňkami a vrůstání axonů do oblasti mozečkových jader nebyly pozorovány. Proto také nelze předpokládat výrazné funkční projevy dané náhradou zaniklých Purkyňových buněk transplantovanými buňkami, které by se zapojily do nervových okruhů přerušovaných degenerativním procesem. Spíše je nutno uvažovat o nespécifickém trofickém působení embryonální tkáně podporujícím plasticitu mozku (Cendelín a spol., 2006, v tisku). Obdobně vysvětluje mechanismus zlepšení funkcí poškozených mozkovým infarktem po následné transplantaci embryonální tkáně Mattsson a spol. (1997). Zároveň je nutno vzít v úvahu i možné negativní působení transplantátu. V řadě případů jsme pozorovali deformaci a stlačení mozečku příjemce transplantátem větších rozměrů, který připomínal neinvazivně rostoucí tumor, nebo naopak defekt v mozečku příjemce v okolí drobného, pravděpodobně rozpadajícího se transplantátu. Tyto negativní změny mohly limitovat možnosti funkčního zlepšení daného tréninkem.

Nález určitého, byť mírného zlepšení v Morrisově bludišti po transplantaci je podporován zjištěním Barcala a spol. (v tisku), který u myší použitých v této práci po skončení testu prostorového učení vyšetřil dlouhodobou hipokampální potenciaci. Zjistil významně vyšší úroveň potenciace u trénovaných myší Lurcher s přežívajícím transplantátem ve srovnání s kontrolními mutanty. Toto zlepšení by mohlo být opět vysvětlováno trofickým působením embryonální tkáně na mozek příjemce, včetně hipokampu, a příznivým vlivem fyzické aktivity na synaptickou plasticitu v mozku a jmenovitě v hipokampu (Kempermann a spol., 1997).

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

U mladých myší Lurcher jsme nepozorovali pozitivní vliv transplantace, ani fyzické aktivity na schopnost orientace v Morrisově bludišti. Mladí kontrolní mutanti však dosahovali lepších výsledků než dospělí. Zdá se tedy, že fyzická aktivita mírní deficit spojený s vyšším věkem, který nebyl pozorován u myší typu wild (Cendelín a spol., 2008). Pro ověření této hypotézy bude třeba provést studii u několika věkových skupin myší Lurcher i wild.

## 11. ZÁVĚRY

1. Nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v přežívání solidního embryonálního mozečkového transplantátu mezi dospělými mutanty typu Lurcher kmene B6CBA a dospělými jedinci typu wild téhož kmene. Rovněž nebyly rozdíly v přežívání transplantátu mezi mutanty Lurcher operovanými v dospělosti a mutanty operovanými ve věku 12 až 18 dnů. Ve struktuře transplantátu byly nalezeny mírné rozdíly mezi dospělými zvířaty typu wild a Lurcher a mezi mladými a dospělými mutanty Lurcher. Nucenou fyzickou aktivitou přežívání transplantátu významně ovlivněno nebylo.
2. V období 3 až 9 týdnů po transplantaci nedocházelo k rychlému zániku transplantátu a jeho výskyt byl v tomto období stabilní, i přes regresivní změny patrné v některých případech.
3. Potvrdili jsme nižší schopnost prostorového učení nebo orientace u myší typu Lurcher kmene B6CBA ve srovnání se zvířaty typu wild téhož kmene. Přes tento deficit je u myší typu Lurcher zachovaná určitá schopnost učení v Morrisově vodním bludišti.
4. Nucená fyzická aktivita vedla u dospělých myší typu Lurcher kmene B6CBA k významnému zlepšení schopnosti prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti.
5. Přínos aplikace solidního embryonálního mozečkového transplantátu byl u dospělých myší typu Lurcher, s ohledem na nedostatečný funkční efekt a možné negativní působení na původní tkáň příjemce, sporný. Kombinace transplantace a nucené fyzické aktivity nevedla u dospělých myší typu Lurcher k vzájemnému posílení účinků obou způsobů ovlivnění a transplantace v tomto případě dokonce spíše snižovala efekt tréninku.
6. U mladých myší typu Lurcher kmene B6CBA nebyl zjištěn významný vliv transplantace ani fyzické aktivity na schopnost prostorové orientace v Morrisově vodním bludišti.
7. Vzhledem ke zjištěným rozdílům v účinnosti nucené fyzické aktivity na schopnost prostorové orientace v závislosti na věku pokusných myší typu Lurcher, bude vhodné provedení studie ontogenetického vývoje prostorového učení u mutantů typu Lurcher včetně sledování možností jeho ovlivnění.

## 12. LITERATURA

1. Altman, J.: Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135(3509):1127-1128, 1962.
2. Altman, J.: Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. Postnatal growth and differentiation of the mammalian brain, with implications for a morphological theory of memory. *Anat. Rec.* 145(4): 573–591, 1963.
3. Altman, J., Das, G.D.: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.* 124(3): 319-334, 1965.
4. Alvarado-Mallart, R.M., Sotelo, C.: Cerebellar grafting in murine hereditary degenerative ataxia. Current limitations for a therapeutic approach. *Adv. Neurol.* 61: 1981-1992, 1993.
5. Araki, K., Meguro, H., Kushiya, E., Takayama, C., Inoue Y, Mishina, M.: Selective expression of the glutamate receptor channel delta 2 subunit in cerebellar Purkinje cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 197(3): 1267-1276, 1993.
6. Barcal, J., Cendelín, J., Vožeh, F.: Hippocampal long-term potentiation in adult Lurcher mutant mice: effect of embryonal cerebellar graft and motor training. *Prague Med. Rep.* (v tisku).
7. Barcal, J., Jelínková, D., Štenglová, V., Vožeh, F., Žalud, V.: The functional-morphological correlations of hippocampal LTP in the cerebellar degeneration model caused by the change of NOS activity. *Physiol. Res.* 51(4): P 2, 2002.
8. Barcal, J., Vožeh, F., Žalud, V.: Hippocampal electrical activity in two strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(5): 200-202, 2001.
9. Berchtold, N.C., Chinn, G., Chou, M., Kessler, J.P., Cotman, C.W.: Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat. *Neuroscience* 133(3): 853-861, 2005.
10. Björklund, A., Lindvall, O.: Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nature Neurosci.* 3(6): 537-544, 2000.
11. Braitenberg, V., Heck, D., Sultan, I.: The detection and generation of sequences as a key to cerebellar function: experiments and theory. *Behav. Brain. Sci.* 20(2): 229-237, 1997.
12. Brasted, P.J., Watts, C., Torres, E.M., Robbins, T.W., Dunnet, S.B.: Behavioural recovery following striatal transplantation: effects of postoperative training and P-zone volume. *Exp. Brain Res.* 128(4): 535-538, 1999.
13. Caddy, K.W.T., Biscoe, T.J.: The number of Purkinje cells and olive neurones in the normal and Lurcher mutant mouse. *Brain Res.* 111(2): 396-398, 1976.
14. Caddy, K.W.T., Biscoe, T.J.: Structural and quantitative studies on the normal C3H and Lurcher mutant mouse. *Phil. Trans. Roy. So. Lond. B.* 287(1020): 167-201, 1979.
15. Carletti, B., Rossi, F.: Selective rather than inductive mechanisms favour specific replacement of Purkinje cells by embryonic cerebellar cells transplanted to the cerebellum of adult Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice. *Eur. J. Neurosci.* 22(5): 1001-1012, 2005.
16. Caston, J., Devulder, B., Jouen, F., Lalonde, R., Delhay-Bouchaud, N., Mariani, J.: Role of an enriched environment on the restoration of behavioral deficits in Lurcher mutant mice. *Develop. Psychobiol.* 35(4): 291-303, 1999.
17. Cendelín, J., Korelusová, I., Schmidt Mayerová, B., Vožeh, F.: A preliminary study of cerebellar graft survival and its functional consequences in Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 44(1-2):1-6, 2006.

18. Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: Preliminary study of the effect of repeated motor training on spatial learning ability in adult Lurcher mutant mice. *Prague Med. Rep.* 108(1): 49-56, 2007.
19. Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of repeated rotarod training on motor skills and spatial learning ability in Lurcher mutant mice. *Behav. Brain Res.* 189(1): 65-74, 2008.
20. Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of cerebellar transplantation and enforced physical activity on motor skills and spatial learning in adult Lurcher mutant mice. *Cerebellum* (v tisku).
21. Cendelín, J., Vožeh, F.: Comparison of the effect of the D1 dopamine receptor influencing on spatial learning in two different strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(1-2): 73-75, 2001.
22. Cendelín, J., Vožeh, F.: Comparison of some neural functions in two different strains of Lurcher mutant mice. *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 189, 2002.
23. Dayer, A.G., Ford, A.A., Cleaver, K.M., Yassae, M., Cameron, H.A.: Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 460(4): 563-572, 2003.
24. Döbrössy, M.D., Dunnett, S.B.: The influence of environment and experience on neural grafts. *Nature Rev. Neurosci.* 2(12): 871-879, 2001.
25. Döbrössy, M.D., Dunnett, S.B.: Motor training effects on recovery of function after striatal lesions and striatal grafts. *Exp. Neurol.* 184(1): 274-284, 2003.
26. Döbrössy, M.D., Dunnett, S.B.: Environmental enrichment affects striatal graft morphology and functional recovery. *Eur. J. Neurosci.* 19(1): 159-168, 2004.
27. Döbrössy, M.D., Dunnett, S.B.: Training specificity, graft development and graft-mediated functional recovery in a rodent model of Huntington disease. *Neuroscience* 132(3): 543-552, 2005.
28. Dumesnil-Bousez, N., Sotelo, C.: Partial reconstruction of the adult Lurcher cerebellar circuitry by neural grafting. *Neuroscience* 55(1): 1-21, 1993.
29. Fordyce, D.E., Wehner, J.M.: Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Brain Res.* 619(1-2): 111-119, 1993.
30. Ghatti, B., Triarhou, L.C., Alyea, C.J., Low, W.C., Chang, A.C.: Timing of neuronal replacement in cerebellar degenerative ataxia of Purkinje cell type. *Prog. Brain Res.* 82: 197-202, 1990.
31. Glickstein, M.: The cerebellum and motor learning. *Cur. Opin. Neurobiol.* 2(6): 802-806, 1992.
32. Gould, E., Gross, C.G.: Neurogenesis in Adult Mammals: Some Progress and Problems. *J. Neurosci.* 22(3): 619-623, 2002.
33. Heckroth, J.A., Hobart, N.J.H., Summers, D.: Transplanted neurons alter the course of neurodegenerative disease in Lurcher mutant mice. *Exp. Neurol.* 154(2): 336-52, 1998.
34. Hilber, P., Jouen, F., Delhay-Bouchaud, N., Mariani, J., Caston, J.: Differential roles of cerebellar cortex and deep nuclei in learning and retention of spatial task: studies in intact and cerebellectomized Lurcher mutant mice. *Behav. Genet.* 28(4): 299-308, 1998.
35. Houk, J.G., Buckingham, J.T., Barto, A.: Models of the cerebellum and motor learning. *Behav. Brain Sci.* 19(3): 368-383, 1996.

36. Huang, F.L., Huang, K.P., Wu, J., Boucheron, C.: Environmental enrichment enhances neurogranin expression and hippocampal learning and memory but fails to rescue the impairments of neurogranin null mutant mice. *J. Neurosci.* 26(23): 6230-6237, 2006.
37. Cheng, S.S., Heintz, N.: Massive loss of mid- and hindbrain neurons during embryonic development of homozygous Lurcher mice. *J. Neurosci.* 17(7): 2400-2407, 1997.
38. Ito, M.: *The cerebellum and neural control.* Raven, New York, 1984.
39. Kaemmerer, W.F., Low, W.C.: Cerebellar allografts survive and transiently alleviate ataxia in a transgenic model of spinocerebellar ataxia Type-1. *Exp. Neurol.* 158(2): 301-311, 1999.
40. Kempermann, G., Kuhn, H.G., Gage, F.H.: More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386(6624): 493-495, 1997.
41. Klockengether, T., Evert, B.: Genes involved in hereditary ataxias. *Trends Neurosci.* 21(9): 413-418, 1998.
42. Kohsaka, S., Takayama, H., Ueda, T., Toya, S., Tsukada, Y.: Reorganization of cerebellar cell suspension transplanted into the weaver mutant cerebellum and immunohistochemical detection of synaptic formation. *Neurosci. Res.* 6(2): 162-166, 1988.
43. Lalonde, R., Botez, M.I., Joyal, C.C., Caumartin, M.: Motor abnormalities in Lurcher mutant mice. *Physiol. Behav.* 51(3): 523-525, 1992.
44. Lalonde, R., Lamarre, Y., Smith, A.M.: Does the mutant mouse Lurcher have deficits in spatially oriented behaviours? *Brain Res.* 455(1): 24-30, 1988.
45. Lalonde, R., Strazielle, C.: Motor performance and regional brain metabolism of spontaneous murine mutations with cerebellar atrophy. *Behav. Brain Res.* 125(1-2): 103-108, 2001.
46. Lalonde, R., Thifault, S.: Absence of an association between motor coordination and spatial orientation in Lurcher mutant mice. *Behav. Genet.* 24(6): 497-501, 1994.
47. Landsend, A.S., Amiry-Moghaddam, M., Matsubara, A., Bergersen, L., Usami, S., Wenthold, R.J., Ottersen, O.P.: Differential localization of delta glutamate receptors in the rat cerebellum: coexpression with AMPA receptors in parallel fiber-spine synapses and absence from climbing fiber-spine synapses. *J. Neurosci.* 17(2): 834-842, 1997.
48. Laurin, D., Verreault, R., Lindsay, J., MacPherson, K., Rockwood, K.: Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch. Neurol.* 58(3): 498-504, 2001.
49. Lomeli, H., Sprengel, R., Laurie, D.J., Kohr, G., Herb, A., Seeburg, P.H., Wisden, W.: The rat delta-1 and delta-2 subunits extend the excitatory amino acid receptor family. *FEBS Lett.* 315(3): 318-322, 1993.
50. Macklis, J.D.: Transplanted neocortical neurons migrate selectively into regions of neuronal degeneration produced by chromophore-targeted laser photolysis. *J. Neurosci.* 13(9): 3848-3863, 1993.
51. Manto, M.U.: The wide spectrum of spinocerebellar ataxias (SCAs). *The Cerebellum* (4): 2-6, 2005.
52. Marr, D.A.: A theory of cerebellar cortex. *J. Physiol.* 202(2): 437-470, 1969.
53. Mattsson, B., Sorensen, J.C., Zimmer, J., Johansson, B.B.: Neural grafting to experimental neocortical infarcts improves behavioral outcome and reduces thalamic atrophy in rats housed in enriched but not in standard environments. *Stroke* 28(6): 1225-1231, 1997.
54. Mayat, E., Petralia, R.S., Wang, Y.X., Wenthold, R.J.: Immunoprecipitation, immunoblotting, and immunocytochemistry studies suggest that glutamate receptor delta



- subunits form novel postsynaptic receptor complexes. *J. Neurosci.* 15(3 Pt 2): 2533–2546, 1995.
55. Molteni, R., Wu, A., Vaynman, S., Ying, Z., Barnard, R.J., Gomez-Pinilla, F.: Exercise reverses the effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience* 123(2): 429-440, 2004.
  56. Morris, R.G.M.: Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Meth.* 11: 47-60, 1984.
  57. Mysliveček, J.: *Základy neurovědy*. Triton, Praha, 2003.
  58. O'Keefe, J., Nadel, L.: *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Clarendon Press, 1978.
  59. Phillips, R.J.S.: 'Lurcher'. A new gene in linkage group XI of the house mouse. *J. Genet.* 57: 35-42, 1960.
  60. Polgar, S., Borlongan, C.V., Koutouzis, T.K., Todd, S.L., Cahill, D.W., Sanberg, P.R.: Implications of neurological rehabilitation for advancing intracerebral transplantation. *Brain Res. Bull.* 44(3): 229-232, 1997.
  61. Porras-García, E., Cendelín, J., Domínguez-del-Toro, E., Vožeh, F., Delgado-García, J.M.: Purkinje cell loss affects differentially the execution, acquisition and prepulse inhibition of skeletal and facial motor responses in Lurcher mice. *Eur. J. Neurosci.* 21(4): 979-88, 2005.
  62. Resibois, A., Cuvelier, L., Goffinet, A.M.: Abnormalities in the cerebellum and brainstem in homozygous Lurcher mice. *Neuroscience* 80(1): 175-190, 1997.
  63. Rossi, F., Cattaneo, E.: Neural stem cell therapy for neurological diseases: dreams and reality. *Nature Rev. Neurosci.* 3(5): 401-409, 2002.
  64. Schmähmann, J.D.: Disorders of the cerebellum: ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 16(3): 367-378, 2004.
  65. Schmähmann, J.D., Sherman, J.C.: The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 121(4): 561-579, 1998.
  66. Schmidtmayerová, B., Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: Various methods of Purkinje cells transplantation and their functional response in Lurcher mutant mice. *Prague. Med. Rep.* 106(1): 79-84, 2005.
  67. Snyder, J.S., Hong, N.S., McDonald, R.J., Wojtowicz, J.M.: A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience* 130(4): 843-852, 2005.
  68. Snyder, E.Y., Yoon, C., Flax, J.D., Macklis, J.D.: Multipotent neural precursors can differentiate toward replacement of neurons undergoing targeted apoptotic degeneration in adult mouse neocortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94(21):11663-11668, 1997.
  69. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M.: Growth and differentiation of cerebellar suspensions transplanted into the adult cerebellum of mice with hereditary degenerative ataxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83(4): 1135-1139, 1986.
  70. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M.: Embryonic and adult neurons interact to allow Purkinje cell replacement in mutant cerebellum. *Nature* 327(6121): 421-423, 1987a.
  71. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M.: Reconstruction of the defective cerebellar circuitry in adult Purkinje cell degeneration mutant mice by Purkinje cell replacement through transplantation of solid embryonic implants. *Neuroscience* 20(1): 1-22, 1987b.

72. Sotelo, C., Alvarado-Mallart, R.M., Gardette, R., Crepel, F.: Fate of grafted embryonic Purkinje cells in the cerebellum of the adult "Purkinje cell degeneration" mutant mouse. I. Development of reciprocal graft-host interactions. *J. Comp. Neurol.* 295(2): 165-187, 1990.
73. Takayama, C., Nakagawa, S., Watanabe, M., Mishina, M., Inoue, Y.: Light- and electron-microscopic localization of the glutamate receptor channel delta 2 subunit in the mouse Purkinje cell. *Neurosci. Lett.* 188(2): 89-92, 1995.
74. Takayama, C., Nakagawa, S., Watanabe, M., Mishina, M., Inoue, Y.: Developmental changes in expression and distribution of the glutamate receptor channel delta 2 subunit according to the Purkinje cell maturation. *Dev. Brain Res.* 92(2): 147-155, 1996.
75. Takayama, H., Toya, S., Shinozaki, T., Inoue, H., Otani, M., Kohsaka, S., Tsukada, Y.: Possible synapse formation by embryonic cerebellar tissue grafted into the cerebellum of the weaver mutant mouse. *Acta Neurochir. Suppl.* 43: 154-158, 1988.
76. Thach, W.T.: On the mechanism of cerebellar contributions to cognition. *Cerebellum* 6(3): 163-167, 2007.
77. Thullier, F., Lalonde, R., Cousin, X., Lestienne, F.: Neurobehavioral evaluation of lurcher mutant mice during ontogeny. *Dev. Brain Res.* 100(1): 22-28, 1997.
78. Tomey, D.A., Heckroth, J.A.: Transplantation of normal embryonic cerebellar cell suspensions into the cerebellum of Lurcher mutant mice. *Exp. Neurol.* 122(1): 165-170, 1993.
79. Triarhou, L.C.: The cerebellar model of neural grafting: Structural integration and functional recovery. *Brain Res. Bull.* 39(3): 127-138, 1996.
80. Triarhou, L.C., Low, W.C., Ghetti, B.: Transplantation of cerebellar anlagen to hosts with genetic cerebellocortical atrophy. *Anat. Embryol.* 176(2): 145-154, 1987.
81. Triarhou, L.C., Low, W.C., Ghetti, B.: Intraparenchymal grafting of cerebellar cell suspensions to the deep cerebellar nuclei of pcd mutant mice, with particular emphasis on re-establishment of a Purkinje cell cortico-nuclear projection. *Anat. Embryol. (Berl.)* 185(5): 409-420, 1992.
82. Triarhou, L.C., Wei, Z., Wei-Hua, L.: Graft-induced restoration of function in hereditary cerebellar ataxia. *Neuroreport* 6(14): 1827-1832, 1995.
83. Triarhou, L.C., Zhang, W., Lee, W.H.: Amelioration of the behavioral phenotype in genetically ataxic mice through bilateral intracerebellar grafting of fetal Purkinje cells. *Cell Transplant.* 5(2): 269-277, 1996.
84. Vaynman, S., Ying, Z., Gomez-Pinilla, F.: Interplay between BDNF and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience* 122(3): 647-657, 2003.
85. Vaynman, S., Ying, Z., Gomez-Pinilla, F.: Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur. J. Neurosci.* 20(10): 2580-2590, 2004.
86. Vaynman, S., Ying, Z., Wu, A., Gomez-Pinilla, F.: Coupling energy metabolism with a mechanism to support brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity. *Neuroscience* 139(4): 1221-1234, 2006.
87. Vogel, M.W., Caston, J., Yuzaki, M., Mariani, J.: The Lurcher mouse: Fresh insight from an old mutant. *Brain Res.* 1140: 4-18, 2007.
88. Vožeh, F., Cendelín, J., Štenglová, V., Barcal, J., Záhlava, J.: The development of spatial learning in a model of olivocerebellar degeneration. *Homeostasis* 41(1-2): 64-66, 2001.
89. Wetts, R., Herrup, K.: Interaction of granule, Purkinje and inferior olivary neurons in Lurcher chimaeric mice. I. Qualitative studies. *J. Embryol. Exp. Morph.* 68: 87-98, 1982a.

90. Wetts, R., Herrup, K.: Interaction of granule, Purkinje and inferior olivary neurons in Lurcher chimeric mice. II. Granule cell death. *Brain Res.* 250(2): 358–362, 1982b.
91. Zhang, W., Lee, W.H., Triarhou, L.C.: Grafted cerebellar cells in a mouse model of hereditary ataxia express IGF-I system genes and partially restore behavioral function. *Nat. Med.* 2(1): 65-71, 1996.
92. Zuo, J., De Jager, P.L., Takahasi, K.J., Jiang, W., Linden, D.J., Heintz, H.: Neurodegeneration in Lurcher mice caused by mutation of  $\delta 2$  glutamate receptor gene. *Nature* 388(6644): 769-773, 1997.

### 13. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI

#### Články v časopisech s impakt faktorem:

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

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

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

9. Vožeh, F., Voller, J., **Cendelín, J.**: Neural functional and morphological consequences of retinal degeneration in C3H Lurcher mutant and wild type mice. *Prague Med. Rep.* 107(1): 95-102, 2006.
10. Barcal, J., Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: The time-dependent block of NMDA glutamate receptor influences hippocampal LTP in inborn cerebellar degeneration mouse model. *Prague Med. Rep.* 108(1): 29-36, 2007.
11. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Preliminary study of the effect of repeated motor training on spatial learning ability in adult Lurcher mutant mice. *Prague Med. Rep.* 108(1): 49-56, 2007.
12. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Motor and visuospatial abilities in a model of olivocerebellar and retinal degeneration – Lurcher mutant mice of C3H strain. *Prague Med. Rep.* 108(1): 37-48, 2007.
13. Mysliveček, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Kunová, M., Markvartová, V., Vožeh, F.: Changes of dopamine receptors in mice with olivocerebellar degeneration. *Prague Med. Rep.* 108(1): 57-66, 2007.

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

1. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Posouzení excitability CNS u přirozeného modelu cerebelární degenerace. *Plzeň. lék. Sborn.* 65: 5-9, 1998.
2. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Assessment of CNS excitability in natural model of cerebellar degeneration. *Homeostasis* 39(3-4): 115-116, 1999.
3. Vožeh, F., Motáňová, A., **Cendelín, J.**: Functional impact of affecting some mediator systems in cerebellar degeneration. *Homeostasis* 40(3-4): 129-131, 2000.
4. **Cendelín, J.**, Voller, J., Žalud, V., Barcal, J., Vožeh, F.: The effect of high frequency electromagnetic field on spatial learning in two strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(5): 206-208, 2001.
5. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Comparison of the effect of the D1 dopamine receptor influencing on spatial learning in two different strains of Lurcher mutant mice. *Homeostasis* 41(1-2): 73-75, 2001.
6. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Sledování funkce D1 dopaminového receptoru v prostorovém učení u modelu olivocerebelární degenerace. *Plzeň. lék. Sborn.* 67, 147-153, 2001.
7. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Yamamotová, A., Rokyta, R.: CNS excitability and pain perception in two strains of mice afflicted with the some type of cerebellar degeneration (Lurcher mutants). *Homeostasis* 41(5): 196-199, 2001.
8. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Štenglová, V., Barcal, J., Záhlava, J.: The development of spatial learning in a model of olivocerebellar degeneration. *Homeostasis* 41(1-2): 64-66, 2001.
9. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Jelínková, D., Křížková, A., Šíma, P., Štenglová, V.: The effect of a diet supplemented with nucleotides on functional parameters of the brain in neurodefective and healthy mice. *Homeostasis* 41(1-2): 69-72, 2001.
10. Žalud, V., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: EEG recording in mice during exposure to high-frequency electromagnetic field. *Homeostasis* 41 (5): 203-206, 2001.
11. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Záhlava, J., Žalud, V.: The spontaneous cortical and hippocampal activity of normal and neurodefective brain influenced by the high-frequency electromagnetic field. *Homeostasis* 42(5): 229-233, 2003.
12. **Cendelín, J.**, Barcal, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of various levels of dopaminergic transmission influencing the spatial learning process in healthy and neurodefective Lurcher mutant mice (C57Bl/7). *Homeostasis* 42(5): 239-241, 2003.
13. Schmidtmayerová, B., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: Vliv vysokofrekvenčního elektromagnetického pole na podráždění a útlum CNS u normálních a neurodefektních myší. *Plzeň. lék. Sborn.* 70: 23-27, 2003.

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

#### **Sjezdová abstrakta (výběr):**

1. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Motáňová, A.: Some Characteristics of spatial and motor learning in a model of cerebellar degeneration. Third Conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 14.-15.11.1999, Programme and abstracts: 69, 1999.
2. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Influencing of D1 dopamine receptors in the process of spatial learning in Lurcher mutant mice. 77. Fyziologické dny, České Budějovice, 7.-9. 2. 2001, *Physiol. Res.* 50(5): p5, 2001.
3. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Spatial learning in two different strains of Lurcher mutant mice. Fourth Conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 26.-27.10.2001, Programme and abstracts:99, 2001.
4. Vožeh, F., **Cendelín, J.**: Spatial learning in Lurcher mutant mice using two arrangements of Morris water maze. Fourth Conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 26.-27.10.2001, Programme and abstracts: 97, 2001.
5. **Cendelín, J.**, Žalud, V., Jelínková, D., Štenglová, V., Vožeh, F., Vrba, J.: The effect of high frequency electromagnetic field on spatial learning in healthy and neurodefective mice. 78. Fyziologické dny, Piešťany, 5.-8.2.2002, *Physiol. Res.* 51(4): 6P, 23, 2002.
6. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Comparison of some neural functions in two different strains of Lurcher mutant mice. 4th International Congress of Pathophysiology, Budapest - Hungary, 29.6.-5.7.2002, *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 189, 2002.
7. Vožeh, F., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Jelínková, D., Křížková, A., Štenglová, V.: Functional expressions of activity dependent plasticity in a model of cerebellar degeneration. 4th

- International Congress of Pathophysiology, Budapest - Hungary, 29.6.-5.7.2002, *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 186, 2002.
8. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: Cortical and hippocampal activity in cerebellar neurodegeneration model during its exposition to high-frequency electromagnetic field. Sixth IBRO world congress of neuroscience, Praha, 10.-15.7.2003, Abstract book: 454, 2003.
  9. **Cendelín, J.**, Barcal, J. Korelusová, I., Voller, J., Vožeh, F., Žalud, V.: Strain differences in spatial learning and CNS excitability in young healthy and neurodefective mice chronically exposed to high-frequency electromagnetic field. Sixth IBRO world congress of neuroscience, Praha, 10.-15.7.2003, Abstract book: 438, 2003.
  10. **Cendelín, J.**, Porrás-García, E., Dominguez del Toro, E., Sanchez-Campusano, R., Vožeh, F., Delgado-García, J.M.: Behavioral characteristics and associative learning in an animal model of cerebellar degeneration (Lurcher mice). *Neuroscience 2003*, New Orleans - USA, 8.11.2003, Viewer and itinerary planner: Program No 73.1, 2003.
  11. Porrás-García, E., **Cendelín, J.**, Domínguez del Toro, E., Sánchez-Campusano, R., Vožeh, F., Delgado-García, J.M.: Propiedades funcionales y capacidad de aprendizaje asociativo en un modelo animal de degeneración cerebelosa (rotón mutante Lurcher). X Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia, Lleida – Spain, 6.-9.9.2003. *Rev. Neurol.* 37(11):1093-1094, 2003.
  12. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Štenglová, V.: Cognitive consequences of cerebellar degeneration in two strains of Lurcher mutant mice. Sixth IBRO world congress of neuroscience, Praha, 10.-15.7.2003, Abstract book: 441, 2003.
  13. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: The effect of whole-body and local high-frequency electromagnetic field exposure on the brain electrogeny. 15. konference českých a slovenských patofyziologů. Hradec Králové, 22.-23.9.2004. *Physiol. Res.* 53: 47P, 2004.
  14. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Žalud, V.: High-frequency electromagnetic field exposition influences an electrical activity of normal and neurodefective brain. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): 6P, 2004.
  15. **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: The role of motor and cognitive abilities in spatial learning task in Lurcher mutant mice. 15. konference českých a slovenských patofyziologů. Hradec Králové 22.-23.9.2004. Abstrakt: *Physiol. Res.* 53: 49P, 2004.
  16. **Cendelín, J.**, Vožeh, F., Barcal, J., Korelusová, I., Markvartová, V., Sobotka, P., Štenglová, V., Vožeh, F., Záhlava, J., Žalud, V.: Modernization of practical experimental education in Pathophysiology. 15. konference českých a slovenských patofyziologů. Hradec Králové 22.-23.9.2004. *Physiol. Res.* 53: 49P, 2004.
  17. **Cendelín, J.**, Korelusová I., Barcal, J., Vožeh, F.: Various levels of D<sub>1</sub> dopamine receptor blockade in the process of spatial learning in wild type and Lurcher mutant mice of the C3H strain. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): P8, 2004.
  18. **Cendelín, J.**, Schmidtmayerová, B., Štenglová, V., Vožeh, F.: CNS excitability in normal and neurodefective C3H mice exposed to high-frequency electromagnetic field. Biological effects of EMFs 3rd international workshop, Kos - Greece, 4.-8.10.2004, Proceedings: 866-871, 2004.
  19. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Štenglová, V., Vožeh, F., Žalud, V.: Changes of brain functions in normal and neurodefective mice exposed to high-frequency electromagnetic field during the second postnatal month. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): P16, 2004.
  20. Vožeh, F., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Štenglová, V., Žalud, V.: The effect of high-frequency electromagnetic field on some brain functions in healthy and neurodefective mice. Kos - Greece, 4.-8.10.2004, Proceedings: 1113-1120, 2004.

21. Vožeh, F., **Cendelín, J.**, Štenglová, V., Korelusová, I., Voller, J., Schmidtmayerová, B., Barcal, J.: The effect of high-frequency electromagnetic field on some brain characteristics in healthy and neurodefective mice. 80. Fyziologické dny, Praha, 3.-5.2.2004. *Physiol. Res.* 53(4): P43, 2004.
22. Žufan, J., **Cendelín, J.**: Automated evaluation of manifestation of learning. MOSIS '04, Ostrava, 19-21.4.2004, Proceedings of 38th International Conference: 267-274, 2004.
23. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F., Žalud, V.: Dlouhodobá hipokampální potenciace a prostorové učení u dvou kmenů myši s degenerací mozečku. 81. Fyziologické dny, Košice, 2.-4.2.2005, Zborník prác a abstraktov: 10-12, 2005.
24. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Schmidtmayerová, B., Vožeh, F.: Assessment of cerebellar graft survival and its functional consequences in Lurcher mutant mice. International C.I.A.N.S. Conference 2005. Bratislava, 29.6.-2.7.2005, Book of Abstracts: 30, 2005.
25. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Chování zdravých a neurodefektních myši typu Lurcher kmenů C3H a C57Bl/7 v Morrisově vodním bludišti. 81. Fyziologické dny, Košice, 2.-4.2.2005, Zborník prác a abstraktov: 37-38, 2005.
26. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Cerebellar graft survival in Lurcher mutant mice derived from two strains. Joint meeting of ENI-NET and the Czech Neuroscience Society, Praha, 19.-21.11.2005, Programme and abstracts: 101, 2005.
27. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Barcal, J., Vožeh, F., Žalud, V.: Mozkové funkce u normálních a neurodefektních myši vystavených vysokofrekvenčnímu elektromagnetickému poli v průběhu čtvrtého měsíce života. 81. Fyziologické dny, Košice, 2.-4.2.2005, Zborník prác a abstraktov: 93-94, 2005.
28. Vožeh, F., Voller, J., **Cendelín, J.**: Brain functional-morphological consequences of retinal degeneration in C3H Lurcher mutant mice. Joint meeting of ENI-NET and the Czech Neuroscience Society, Praha, 19.-21.11.2005, Programme and abstracts: 102, 2005.
29. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F., Žalud, V.: Vliv dlouhodobé a krátkodobé blokády glutamatergní transmise na hipokampální potenciaci u animálního modelu mozečkové degenerace. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.-10.6. 2006, Program a zborník abstraktov: 39, 2006.
30. Barcal, J., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F., Žalud, V.: Hippocampal LTP in the inborn cerebellar degeneration mouse model: modulation by embryonal graft transplantation and BDNF. 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr. vol.3: A013.1, 2006.
31. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Přežívání embryonálního mozečkového transplantátu u dospělých zdravých a neurodefektních myši typu Lurcher kmene C3H. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.-10.6.2006, Program a zborník abstraktov: 21, 2006.
32. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: Does the forced motor activity influence embryonic cerebellar graft development and functional effect in C57Bl/7 Lurcher mutant mice? 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr. vol.3: A236.1, 2006.
33. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: Vliv krátkodobého působení MK-801 na motorické a kognitivní funkce u normálních a neurodefektních myši kmene C57Bl/7. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.10. 6. 2006, Program a zborník abstraktov: 38, 2006.
34. Korelusová, I., **Cendelín, J.**, Vožeh, F.: The effect of embryonic cerebellar graft on motor activity. 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr., vol.3: A236.9, 2006.
35. Porras, E., **Cendelín, J.**, Domínguez-Del-Toro, E., Vožeh, F., Delgado-García, J. M.: Associative learning capabilities in an animal model of cerebellar cortex degeneration

- (Lurcher mutant mice). 5th Forum of European Neuroscience. Viena - Austria, 8.-12.7.2006, FENS Abstr., vol.3: A006.7, 2006.
36. Vožeh, F., Barcal, J., **Cendelín, J.**, Králíčková, M., Křížková, A., Mandáková, P., Slípka, J., Šíma, P.: Mutantní myši Lurcher a experimentální výzkum zaměřený na nové pojetí cerebela a neuro-endokrino-imunitních vztahů. 16. konferencia slovenských a českých patofyziológov, Martin, 9.10.6.2006, Program a zborník abstraktov: 20, 2006.
  37. Vožeh, F., Doněk, A., **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vrba, J.: The effect of high-frequency electromagnetic field on some somatic and nervous characteristics in healthy and neurodefective mice. Biological effects of EMFs 4th international workshop, Crete - Greece, 16.-20.10. 2006, Proceedings: 1241-1249, ISBN 960-233-173-9, 2006.
  38. **Cendelín, J.**, Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of enforced physical activity and cerebellar transplantation on spatial learning in Lurcher mutant mice. Sixth conference of the Czech Neuroscience Society, Praha, 19.-20.2007, Programme and abstracts: 78, 2007.