

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**

Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství

**Helena Hanáková**

**Plasticita po ložiskovém mozkovém  
poškození**

*Bakalářská práce*

Praha 2011

Autor práce: Helena Hanáková

Vedoucí práce: prof.MUDr. Pavel Mareš, DrSc.

Oponent práce:

Datum obhajoby:

## **Bibliografický záznam**

Hanáková, Helena. *Plasticita po ložiskovém mozkovém poškození*. Praha: Karlova univerzita, 2. lékařská fakulta, Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství, 2011. 48 s. Vedoucí diplomové práce Prof. MUDr. Pavel Mareš, DrSc.

## **Anotace**

Práce se zabývá problematikou fokální mozkové ischemie s důrazem na následné plastické změny v mozku, které mohou mít vliv na návrat motorické funkce.

V obecné části jsou vysvětleny základní pojmy týkající se mozkové kůry, klasifikace mozkové ischemie, ischemického ložiska, ischemických změn včetně reperfučního poškození a spontánních autoreparačních procesů.

V hlavní části jsou rešeršně zpracovány výsledky soudobých studií zabývajících se modelem korové fokální ischemie u laboratorního potkana a vlivu rehabilitace na neuroplasticitu a obnovu motorické funkce.

## **Annotation**

The thesis is focused on brain ischemic injury with an accent on subsequent spontaneous and rehabilitation-induced plastic changes related to motor recovery.

General part of thesis describes cortical anatomy and pathophysiology of brain ischaemia including classification of ischemia, ischemic cascade and reperfusion injury. There is also a chapter about spontaneous plasticity and recovery.

The main part gives a survey of rat models of focal cortical ischemia, of functional assessment and rehabilitation. Results of rehabilitation-induced cortical plasticity are also presented.

## **Klíčová slova**

Ischemické poškození, mozková kůra, zvířecí modely, obnova funkce, plasticita

## **Keywords**

Ischemic injury, cortex, animal models, recovery, plasticity

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně pod vedením Prof. MUDr. Pavla Mareše DrSc., uvedla jsem všechny použité literární a odborné zdroje a dodržovala zásady vědecké etiky. Dále prohlašuji, že stejná práce nebyla použita pro získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 15.4. 2011

Helena Hanáková

## **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěla poděkovat Prof. MUDr. Pavlovi Marešovi DrSc za odborné a trpělivé vedení a za cenné rady a připomínky, Mgr. Grigoryiovi Tsenovovi PhD.za praktickou ukázkou fokální mozkové ischemie a konzultaci a celé mojí rodině za trpělivost a spolupráci.

---

# Obsah

<b>OBSAH</b> .....	<b>3</b>
<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>1. MOZKOVÁ KŮRA</b> .....	<b>8</b>
1.1 SOMATOSENZORICKÉ OBLASTI MOZKOVÉ KŮRY .....	9
1.2 MOTORICKÉ OBLASTI MOZKOVÉ KŮRY .....	9
1.3 CÉVNÍ ZÁSOBENÍ MOZKOVÉ KŮRY.....	10
<b>2. ISCHEMICKÉ POŠKOZENÍ MOZKU</b> .....	<b>11</b>
2.1 KLASIFIKACE .....	11
2.2 PŘECHODNÁ A TRVALÁ FOKÁLNÍ ISCHEMIE.....	12
2.3 KOLATERÁLNÍ OBĚH .....	12
2.4 ISCHEMICKÉ JÁDRO A PENUMBRA.....	12
2.5 ISCHEMICKÁ KASKÁDA .....	13
2.5.1 Energetický metabolismus buňky.....	14
2.5.2 Iontová nerovnováha .....	15
2.5.3 Excitotoxicita.....	15
2.5.4 Oxidativní stres.....	15
2.5.5 Imunitní odpověď .....	16
2.5.6 Mozkový edém .....	16
2.5.7 Reperfuze poškození .....	17
2.5.8 Diaschíza.....	17
2.6 REGENERACE MOZKU PO ISCHEMICKÉM POŠKOZENÍ.....	17
<b>3. KOROVÁ PLASTICITA</b> .....	<b>19</b>
3.1 POŠKOZENÍ MOZKU A OBNOVA FUNKCE .....	20
3.2 ČASNÁ AKTIVITA .....	20
3.3 NEUROGENEZE A GLIOGENEZE .....	21
3.4 SYNAPTOGENZE .....	21
3.4.1 Axonální sprouting (pučení) .....	21
3.4.2 Větvění dendritů .....	22
3.5 SYNAPTOPLASTICITA .....	22
3.5.1 Skryté synapse .....	23
3.5.2 LTP (Long Term Potentiation) .....	23
3.6 ROLE GLIÍ.....	24
3.7 NEUROTROFNÍ FAKTORY .....	24
3.7.1 BDNF .....	25
<b>4. MODELY FOKÁLNÍ ISCHEMIE U LABORATORNÍHO POTKANA</b> .....	<b>26</b>
4.1 SOUČASNÉ MODELY .....	26
4.1.1 MCAO (Middle Cerebral Artery Occlusion) .....	26
4.1.2 Tromboembolie.....	26
4.1.3 Fototrombóza .....	27
4.1.4 Endothelinový model .....	27
4.2 MOZKOVÁ KŮRA POTKANA .....	28
4.3 HODNOCENÍ FUNKČNÍHO DEFICITU PO MOZKOVÉ ISCHEMII U POTKANA .....	28
4.3.1 Neurologické testy .....	29
4.3.2 Funkční testy.....	29
4.3.3 Senzomotorické testy .....	30
4.3.4 Hodnocení funkce předních končetin .....	30
4.4 OBOHACENÉ PROSTŘEDÍ VERSUS STANDARD HOUSING .....	32
4.5 REHABILITAČNÍ TRÉNINK .....	33
4.6 DALŠÍ MĚŘENÍ.....	34

---

4.7 VÝSLEDKY .....	34
4.7.1 Vliv fyzické aktivity na funkci ipsilaterální končetiny a plasticitu v kontralaterální hemisféře	34
4.7.2 Vliv fyzické aktivity na plasticitu subkortikálních struktur .....	35
4.7.3 Vliv rehabilitačního tréninku na velikost ischemické léze .....	35
4.7.4 Vliv rehabilitačního tréninku na neurogenezi v dospělém mozku .....	36
<b>5. DISKUSE .....</b>	<b>38</b>
<b>SEZNAM ZKRATEK .....</b>	<b>42</b>
<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>43</b>
<b>LITERATURA .....</b>	<b>44</b>

## ÚVOD

Ischemické poškození mozku je třetí nejčastější příčinou úmrtí ve vyspělé společnosti a jednou z nejčastějších příčin trvalé invalidizace. Fyzioterapeut je nedílnou součástí multidisciplinárního týmu, který se terapií takto postižených lidí zabývá. S využitím technik na neurofyziologickém podkladě je možné ovlivnit rozsah neurologického poškození a zvýšit tak soběstačnost pacienta.

Nejčastější příčina ischemické cévní mozkové příhody- neprůchodnost arteria cerebri media způsobuje poškození sensorických i motorických korových oblastí vedoucí k poruše hybnosti kontralaterální poloviny těla s akcentem poruchy na horní končetině. Náprava funkce je možná do určité míry a záleží na mnoha faktorech, jako je délka trvání a rozsah poškození, komorbidita pacienta, ale i kvalita a cílenost terapeutické intervence.

Neurorehabilitace je dynamicky se rozvíjející obor, který je dnes již plnohodnotnou součástí Evidence Based Medicine. Poznávání mechanismů plastických změn mozkové tkáně je podkladem k vývoji nových rehabilitačních technik, které vedou k podpoření příznivých změn vedoucích k návratu funkce a inhibici nepříznivých vlivů.

Významem rehabilitace v terapii mozkové ischemie se zabývají i některé experimentální studie na laboratorních zvířatech. Laboratorní potkan je vhodný objekt pro studium fokální ischemie díky jeho dostupnosti a člověku podobné fyziologii cévního zásobení mozku. Díky experimentům na zvířatech lze získat poznatky, které by jinak v klinické praxi bylo těžké vypořádat či ověřit.

Cílem této práce je popsat změny mozkové tkáně v důsledku ischemického poškození, a shrnout současné poznatky týkající se následných neuroplastických mechanismů. Zároveň bychom chtěli přiblížit problematiku současných experimentálních studií na potkanech zabývajících se pohybovou terapií a hodnocením jejího vlivu na návrat motorické funkce a neuroplasticitu.



# 1. MOZKOVÁ KŮRA

Mozková kůra tvoří plášť telencephala a je vývojově nejmladší součástí CNS. Mozkovou kůru tvoří dvě hemisféry, které jsou propojeny komisurami, z nichž nejvýznamnější je corpus callosum, ve kterém je asi 200 milionů vláken. Mozkovou kůru tvoří šedá hmota těl neuronů, kterých je v kůře asi 10 bilionů (Snell, 1997, s.506-510). Povrch hemisfér je členitý, což výrazně zvyšuje funkční plochu a je rýhami rozdělen v lobi cerebri, ve kterých sulci cerebri oddělují jednotlivé gyri cerebri.

Mozková kůra o tloušťce mezi 1,5-4,5 mm je rozdělena do 6 vrstev podle převažujícího výskytu jednotlivých typů neuronů (Snell, 1997, s.276-280):

1. nejpovrchnější vrstva je molekulární vrstva, která obsahuje síť tangenciálně orientovaných vláken, především apikálních dendritů pyramidových a fusiformních neuronů z hlubších vrstev nebo axonů hvězdicovitých a Martinottiho buněk a aferentních vláken z thalamu a komisurálních vláken. Tato vrstva obsahuje hodně synapsí.

2. Vnější granulární vrstva obsahuje hodně malých pyramidových a hvězdicovitých buněk, jejichž dendrity vedou do molekulární vrstvy a axony do hlubších vrstev a bílé hmoty.

3. Vnější pyramidová vrstva obsahuje převážně menší pyramidové buňky, jejichž velikost s hloubkou uložení roste. 2. a 3. vrstva jsou nejvýznamnějšími zdroji komisurálních vláken (Trojan et al., 2005, s.53-60).

4. Vnitřní granulární vrstva obsahuje natěsnané hvězdicovité buňky a je zde vysoká koncentrace horizontálních vláken.

5. vnitřní pyramidová vrstva obsahuje velké pyramidové neurony, hvězdicovité a Martinottiho buňky a horizontální vlákna.

6. multifonní vrstva obsahuje nejvíce fusiformních neuronů, modifikované pyramidové buňky a Martinottiho buňky.

Těchto 6 vrstev není stejně zastoupeno ve všech částech mozkové kůry. Kortikální oblasti se dělí na granulární- s větším rozsahem vrstev 2 a 4 a redukci vrstev 3 a 5 a agranulární s větším rozsahem vrstev 3 a 5 a redukcí vrstev 2 a 4 (Snell, 1997, s. 276-280).

Brodmann rozdělil kůru do 52 oblastí podle typu, velikosti a množství buněk, tomuto členění se říká cytoarchitektonické, toto členění není funkční, ale slouží k lepší orientaci na povrchu mozkové kůry.

### **1.1 Somatosenzorické oblasti mozkové kůry**

Primární somatosenzorická kůra (S1) leží v gyrus postcentralis a vyznačuje se vysokou hustotou granulačních buněk ve vrstvě 4, hlavní destinaci talamických vstupů z venteroposteromediálního a venteroposterolaterálního jádra. Organizace primární somatosenzorické oblasti spočívá v somatotopické reprezentaci tělního povrchu v přiléhajících oblastech kůry. Dolní končetiny a trup jsou umístěny více mediálně, následovány horními končetinami, hlavou a jazykem. Projekce těchto částí proporcčně neodpovídá velikosti povrchu těla, ale velikostí dominují nejcitlivější oblasti, tomuto uspořádání říkáme somatotopická mapa. Toto uspořádání je plastické a může být v průběhu života měněno v závislosti na periferní stimulaci nebo místním poškození (Trojan et al., 2004, s. 53-60).

S1 můžeme rozdělit do čtyř oblastí (1, 2, 3a, 3b) podle buněčné organizace a převažující modality. Oblast 3a leží v sulcus centralis v těsné blízkosti primární motorické oblasti a neurony zde dostávají převážně informace o délce svalu a z hlubokého cití. Area 3b získává informace z rychle a pomalu se adaptujících kožních receptorů a předává je oblasti 1. Oblast 2 získává vstupy z oblastí 3a i 3b. Nejdál od sulcus centralis leží somatosenzorická asociační oblast, která zpracovává vstupy z předchozích oblastí, ale například i z vizuálního kortexu. Lze říci že s postupně se zvyšující vzdáleností od sulcus centralis je funkce somatosenzorických oblastí více a více komplexnější (Nicholls et al., 2001, s.358-360).

Sekundární somatosenzorická kůra (S2) leží posteriorně a ventrolaterálně od oblasti S1 a přijímá informace z S1 a talamu. Mnoho buněk oblasti S2 má bilaterální recepční pole odpovídající na informace z obdobných oblastí obou stran těla.

### **1.2 Motorické oblasti mozkové kůry**

Primární motorická kůra (M1), lokalizovaná ve frontálním laloku v gyrus precentralis, je definována jako část mozkové kůry, která potřebuje nejmenší elektrický

potenciál k vyvolání pohybu kosterních svalů (Nudo, Plautz, Frost, 2001). Jednotlivé oblasti těla jsou reprezentovány v odpovídajících oblastech primární motorické kůry a toto somatotopické uspořádání lze ověřit pomocí korové stimulace jednotlivých skupin motoneuronů, která vyvolá pohyb v příslušných svalech. Stejně jako u somatosenzorické kůry je toto uspořádání disproporční s nejrozsáhlejší reprezentací obličeje a ruky a i tato mapa je plastická v závislosti na zkušenosti nebo poškození. Navíc je M1 mozaikovitě uspořádána do malých korových polí, jejichž mikrostimulací lze vyvolat tentýž pohyb z více korových polí (Trojan et al., 2005, s. 53-60).

Sekundární asociační motorická oblast leží anteriorně od M1 a skládá se z premotorické oblasti a suplementární motorické oblasti (SMA). Obě tyto oblasti také mají somatotopické uspořádání a získávají vstupy ze somatosenzorické asociační oblasti. Premotorická kůra je funkčně propojena s mozečkem a suplementární motorická oblast ještě s bazálními ganglii. Pohyby vyvolané stimulací těchto oblastí jsou komplexní a často bilaterální. Dohromady se somatosenzorickými oblastmi se tyto oblasti podílejí na plánování a programování pohybu.

Dalšími nově objevenými motorickými oblastmi jsou presuplementární motorická oblast (pre-SMA) ležící rostrálně od SMA, premotorické zrakové pole (SEF) a rostrální, dorzální a ventrální cingulární oblasti (Trojan et al. 2005, s. 53-60).

### **1.3 Cévní zásobení mozkové kůry**

Mozková kůra má arteriální zásobení z větví arteria (a.) carotis interna. První odstupující větev je arteria cerebri media, která zásobuje mediální povrch hemisfér, parieto-okcipitální sulcus a oblast dolní končetiny v M1 v gyrus precentralis. Arteria cerebri media je v podstatě pokračováním a. carotis interna a přivádí asi 80 procent jejího průtoku (Snell, 1997, s.506-510), zásobuje laterální povrch hemisfér, kromě dolní části temporálního laloku, který je zásobován třetí větví a. carotis interna - a. cerebri posterior.

Odstupy a povodí a. carotis interna tvoří společně s povodím a. vertebralis propojený Willisův okruh, který umožňuje kolaterální zásobení celé mozkové kůry (Snell, 1997).

## 2. ISCHEMICKÉ POŠKOZENÍ MOZKU

Nedostatečné zásobení tkáně krví se nazývá ischemie. Při ischemii, na rozdíl od anoxie, trpí tkáň nejen nedostatkem kyslíku, ale také glukózy, ischemie navíc zabraňuje i odvodu potenciálně toxických metabolitů. Funkce neuronu je narušena během první minuty trvání ischemie a k ireverzibilním změnám dochází do 4 minut od přerušení dodávky krve (Snell, 1997, s. 506-510). Když je ischemie významná a přetrvávající, neurony a ostatní buňky umírají, tomuto stavu říkáme infarkt.

### 2.1 Klasifikace

Ischemické poškození mozku lze obecně rozdělit na globální, fokální a multifokální.

Globální mozková ischemie postihuje celý orgán, přičemž ne všechny typy nervové tkáně jsou k ischemii stejně citlivé (Otevřel, 2006). Bílá hmota je více odolná k ischemii než šedá hmota, proto kůra při globálním ischemickém poškození odumírá jako první (Woodruff, 2011). Globální ischemie je například způsobena celkovým selháním oběhu.

Při fokální ischemii je nedostatečný krevní průtok jen v určité části mozku. Bývá důsledkem ucpání některé z velkých mozkových arterií, nejčastěji a. cerebri media. Při fokální ischemii vzniká nevratně poškozené ischemické jádro obklopené oblastí reverzibilně poškozených buněk - tzv. penumbrou.

Multifokální ischemie představuje snížení krevního průtoku v několika regionech, ostrůvkovitě rozložených. Multifokální ischemie může být způsobena vmetením mikroembolu do některé arterie zásobující mozek (Braeuninger a Kleinschnitz, 2009).

## **2.2 Přejídná a trvalá fokální ischemie**

Fokální ischemie je buď trvalá nebo přejídná. Výsledkem trvalé ischemie je ohraničené ložisko obklopené zónou méně poškozené tkáně. U obnovení průtoku po více než 3 hodinách je již ischemie klasifikována jako trvalá (Sicard a Fisher, 2009).

Přejídná ischemie způsobí různé stupně ischemického poškození v závislosti na délce trvání ischemie. Po přejídné ischemii je poškození tkáně způsobeno jak samotnou ischemií, tak následky reperfuze. Tento model více koreluje s farmakologicky indukovanou či spontánní trombolýzou nebo s TIA, které jsou u člověka častější než trvalá ischemie bez reperfuze (Sicard a Fisher, 2009).

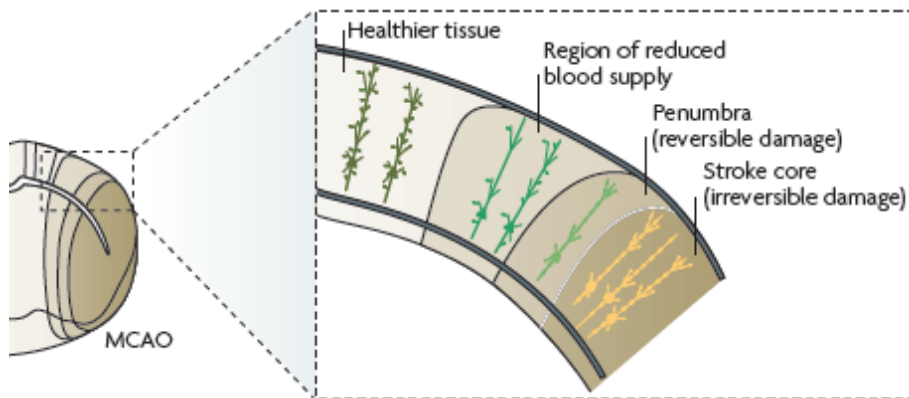
## **2.3 Kolaterální oběh**

Bezprostředně po akutním uzávěru mozkové tepny dochází k významnému poklesu perfuzního tlaku v oblasti mozku zásobovaného touto tepnou. V sousedství ischemického ložiska je průtok krve zachován na normálních hodnotách. Tento děj vede ke změně v cirkulaci krve okolním mozem a stává se podnětem k otevření do té doby němých anastomóz, které mohou vytvořit podmínky pro kolaterální zásobení ischemického ložiska krví. Díky tomu potom dochází k retrográdnímu plnění cévního řečiště ischemické oblasti ve směru tlakového gradientu (Otevřel, 2007).

## **2.4 Ischemické jádro a penumbra**

V oblasti postižené ischemií můžeme rozeznat ischemické jádro a penumbra - tzv. ischemický polostín. Lipton (1999) rozděluje tyto oblasti podle zachovaného krevního průtoku, v jádře je to méně než 15 procent a v penumbře 15-40 procent původní hodnoty. Od těchto hodnot se odvíjí také intenzita ischemických změn. Zatímco v jádře nekroticky odumírají neurony i okolní gliové buňky, penumbra sice není funkční tkáň, ale zachovává si po určitý čas strukturální integritu (Durukan a Tatlisumak, 2007). V penumbře dochází k ischemickým změnám pozvolna, změny zde mohou být reverzibilní a právě na tuto oblast je soustředěno mnoho výzkumů. Výsledná velikost ischemického ložiska, jež je často měřítkem účinnosti dané terapie, závisí hlavně na změnách v oblasti penumbry. Reverzibilita poškození buněk penumbry může vést ke zlepšení funkce v prvních dnech po ischemickém poškození bez ohledu

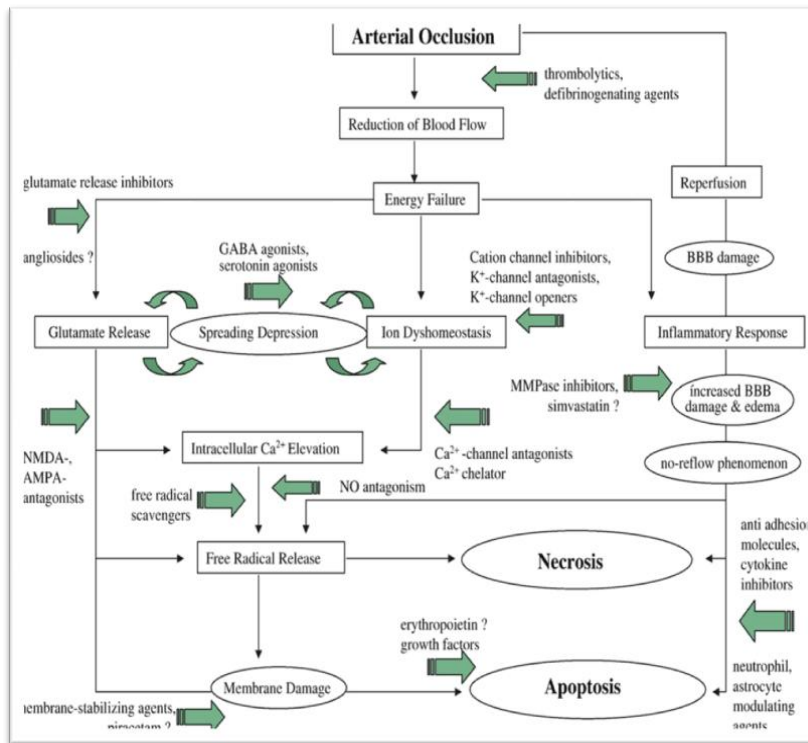
na mozkovou plasticitu (Dietrichs, 2007). Na druhou stranu částečně poškozené neurony v penumbře mohou být zdrojem patologické aktivity.



Obr.1 Poškození struktury dendritů podle úrovně redukce krevního průtoku (Murphy a Corbett, 2009).

## 2.5 Ischemická kaskáda

Časné ischemické změny jsou stejné u trvalé i přechodné fokální ischemie. Hlavní mechanismy vedoucí k buněčné smrti jsou nedostatek ATP, rozvrat iontové homeostázy, excitotoxická masivní depolarizace a imunitní reakce. Těmto dějům vedoucím k buněčné smrti apoptózou nebo nekrotózou říkáme ischemická kaskáda (Durukan a Tatlisumak, 2007). U přechodné ischemie do těchto dějů zasahuje i reperfuční poškození, které ještě zdůrazní devastující následky ischemie.



Obr. 2 Ischemická kaskáda - souběh vzájemně provázaných dějů vedoucích k buněčné smrti cestou apoptózy nebo nekrózy (Durukan, 2006).

### 2.5.1 Energetický metabolismus buňky

Zásoby kyslíku v mozkové tkáni jsou velmi omezené a samy nemohou zajistit normální energetické požadavky déle než po několik sekund. Nedostatek tkáňového kyslíku je jedním z kritických metabolických problémů při mozkové ischemii. Nedostatek kyslíku způsobí, že v průběhu ischemie je produkce ATP v mitochondriích snížena nebo zastavena. Dostupný ATP je využit membránově vázanými ATPázami k udržení iontových gradientů přes buněčnou membránu (Otevřel, 2006).

Během první minuty kortikální ischemie je vyčerpán fosfokreatin a za 2 minuty dosahuje ATP minimálních hodnot. Deplece ATP je jednou z hlavních událostí, která spouští kaskádu reakcí, jako např. ztrátu iontové homeostázy a anaerobní glykolýzu, ovlivňuje metabolismus lipidů a proteinů.

Hypoxie a ischemie zpožďují normální odbourávání glukózy. Místo toho je produkován laktát, snižuje se produkce ATP a výsledkem je buněčná acidóza (Otevřel, 2006).

### **2.5.2 Iontová nerovnováha**

Poškození buněčného energetického metabolismu, jako následek ischemie, vede k rozpadu ATP-dependentních mechanismů, jako je například sodno-draselná pumpa. Zvyšuje se koncentrace sodíku, vápníku a chloridových aniontů intracelulárně, po osmotickém gradientu přibývá intracelulární tekutiny, dochází k efluxu draslíku. Ztráta energetických zásob vyústí nejen v iontovou nerovnováhu, ale i vylití excitačních neurotransmiterů, především glutamátu a inhibici jeho zpětného vychytávání. Glutamát navázaný na AMPA a NMDA receptory způsobuje další influx sodíku a vápníku do buňky (Gonzalez, 2004).

### **2.5.3 Excitotoxicita**

Excitotoxicita je proces vedoucí k zániku nervových buněk, který je způsoben excesivní aktivací glutamátových receptorů (Riljak, 2009). Jednou z možných příčin excitotoxicity může být právě mozková ischemie.

Výše popsaná iontová nerovnováha vede k opakované depolarizaci neuronů a dalšímu vzestupu extracelulární koncentrace draslíku a glutamátu. Další glutamát je uvolňován z poškozených buněk anebo ze synaptických váček pomocí vápníku. Vysoká koncentrace glutamátu vyvolá další depolarizace v okolních neuronech (Riljak, 2009).

### **2.5.4 Oxidativní stres**

Volné radikály vznikají při mnoha dějích provázejících ischemické poškození. Jejich vznik je následkem acidózy, poškození mitochondrií, ale i imunitní reakce. Jejich působení může vést k destrukci všech buněčných komponent od fosfolipidové membrány, přes stavební bílkoviny až po jadernou DNA. Reperfuze ve svém důsledku ještě zvýší jejich koncentraci.



### 2.5.5 Imunitní odpověď

Postischemický zánět zahrnuje jednak infiltraci polymorfonukleárními granulocyty, monocyty a makrofágy v místě poškození a dále aktivaci astrocytů a mikroglíí (Madinier, 2009).

Imunitní reakce mozku se skládá z mnoha vzájemně provázaných dějů, souvisejících s průběhem ischemické kaskády. Jednotlivé molekuly zahrnuté v imunitní odpovědi mají často jak neurotoxický, tak i neuroprotektivní účinek (Ceulemans, 2010). Například TNF (tumor necrosis faktor) alfa se spolu s BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) zřejmě podílí na tvorbě nových neuronálních okruhů v periinfarktové zóně. Tlumení zánětu může proto někdy blokovat plasticitu (Murphy a Corbett, 2009).

Ischemie indukuje produkci prozánětlivých mediátorů, které zvyšují zranitelnost neuronů a zároveň vedou k expresi adhezních molukul - monocytů a makrofágů, které pronikají do nervové tkáně (Ceulemans, 2010).

Astrocyty za fyziologických podmínek chrání nervovou tkáň mnoha mechanismy, mohou puffovat volné kyslíkové radikály, působí protizánětlivě. Při ischemii však dochází ke gliální reakci vedoucí následně ke vzniku gliální jizvy. Tato jizva jednak odděluje poškozenou tkáň od zdravé, ale zároveň tvoří bariéru zabraňující regeneraci v této oblasti.

Hypotermie v subakutní fázi ischemického poškození může zmírnit škodlivé následky imunitní reakce a zmenšit rozsah léze způsobené ischemií (Ceulemans, 2010).

### 2.5.6 Mozkový edém

Při ischemickém poškození vznikají dva druhy mozkového edému. Cytotoxický edém je způsoben iontovou nerovnováhou a narušením buněčné membrány. Extracelulární tekutina jde po koncentračním gradientu do buňky a zvětšuje její objem.

Vasogenní edém nastává při narušení cévní stěny a hematoencefalické bariéry způsobené samotnou ischemií nebo zánětem nebo jako důsledek reperfúze. Tekutina se přes cévní stěnu dostává do extracelulárního prostoru a dochází k útlaku nervové tkáně, narušení kolaterálního zásobení a většímu rozvoji ischemického ložiska.

### **2.5.7 Reperfuzní poškození**

Při přechodné ischemii dochází po různě dlouho trvající ischemii k fázi reperfuze. Reperfuze je znovuobnovení průtoku v přírodní tepně a může být způsobena trombolýzou nebo mechanickou rekanalizací, u endothelinem indukovaného modelu pak uvolněním kontrahované cévní stěny. Změny které nastanou však mohou vyústit v ještě větší poškození tkáně než při samotné ischemii. Dochází k několika patofyziologickým procesům, které zahrnují infiltraci leukocytů, aktivaci krevních destiček a komplementu, postischemickou hyperperfuzi a narušení hematoencefalické bariéry (Pan, 2006). Většina těchto procesů je zahrnuta i v kaskádě reakcí při trvalé ischemii, ale reperfuze je může urychlit a umocnit.

### **2.5.8 Diaschíza**

Ischemické poškození může narušit průběh signálních drah k regionům vzdáleným od ischemického ložiska a tak zasáhnout do funkce těchto oblastí. Tyto změny v oblastech vzdálených od ischemického ložiska, které se projevují změnou elektrickou aktivitou, změněným průtokem krve i metabolismem nazýváme diaschíza. Jedná se například o hyperexcitabilitu neuronů v kontralaterální homotopní oblasti (Buchkremer-Ratzmann, 1996). V souvislosti s ischemií v motorické kůře může docházet k degeneraci kortikothalamických a thalamokortikálních axonů a glióze (Paz, 2010).

Dalšími oblastmi zasaženými sekundárním ischemickým poškozením jsou ipsilaterální thalamus a substantia nigra, u nichž se vyvíjí atrofie v průběhu několika týdnů po ischemickém infarktu (Tamura, 2003).

Fenomén diaschízy může představovat vysvětlení přechodných funkčních deficitů jako je např. ipsilaterální paréza.

Diaschízu je však možné chápat i jako předpoklad pro následné plastické změny (Duffau, 2006).

## **2.6 Regenerace mozku po ischemickém poškození**

Regenerace poškozené tkáně a s ní spojený návrat funkce záleží na mnoha faktorech jako je věk a komorbidita postiženého a jeho celková kondice, rozsah, lokalizace a trvání ischemie a kvalita terapeutického zásahu.

Na spontánní regeneraci mozkové tkáně po ischemickém poškození se podílí jednak ústup sekundárních následků ischemie - např. ústup otoku, utlumení imunitní reakce, ústup gliózy a excitotoxicity. Tyto změny mohou přispět k návratu funkce v nejbližších hodinách nejvýše dnech po ischemickém inzultu.

### 3. KOROVÁ PLASTICITA

Neuroplasticita je schopnost nervové tkáně přizpůsobit svoji strukturu nebo funkci změnám vnitřních nebo vnějších podmínek. Schopnost takto reagovat je u každého jedince jiná a závisí kromě věku a kondice i na genetických předpokladech (Pearson-Fuhrhop, 2010).

Po ischemickém poškození se uplatňují čtyři základní druhy neuroplasticity - reaktivní, reparační a adaptační i evoluční.

Reaktivní neuroplasticita znamená schopnost neuronů zareagovat na aktuální změnu podmínek a uzpůsobit svoje chování a svůj metabolismus těmto podmínkám po dobu jejich působení.

Reparační neuroplasticita je spojena se snahou nervové tkáně zachovat původní poškozenou funkci v co nejvyšší míře a kvalitě. Na její realizaci se podílí například schopnost nepoškozené oblasti v okolí místa léze převzít poškozenou funkci.

Adaptační neuroplasticita se uplatňuje při realizaci kompenzačních mechanismů, které mohou poškozenou funkci nahradit. Obecně lze říci, že reparační neuroplasticita se objevuje spíše u lézí menších rozměrů, u větších lézí již nastupuje plasticita adaptační (Moon, 2009).

Vzhledem k nedávnému objevu neurogeneze v dospělém mozku, má zde uplatnění i čtvrtý druh neuroplasticity, neuroplasticita evoluční, doprovázející zrání, migraci a diferenciaci nových neuronů a gliových buněk.

Dále lze plastické mechanismy provázející ischemické poškození rozdělit rychlou a pomalou neuroplasticitu.

Rychlá neuroplasticita nastupuje v řádu minut a jejím úkolem je ustavit rovnováhu mezi excitací a inhibicí, která je v průběhu ischemie významně narušena. Tato plasticita je přechodná a závislá na GABAergní inhibici (Cauraugh a Summers, 2005).

Pomalá neuroplasticita nastupuje v řádu dní až týdnů. Zahrnuje změny v kortikální organizaci s využitím dlouhodobé potenciace (LTP). Tato plasticita by měla být trvalá a stabilní a zahrnuje tyto děje:

1. kompenzační změny v postižené hemisféře, funkční reorganizace zachovalé nervové tkáně v okolí ložiska;
2. aktivace motorické oblasti a kortikospinálních drah kontralaterální nepostižené hemisféry;
3. zvýšená aktivace neprimárních motorických oblastí, např. dorsální nemotorické kůry na obou hemisférách (Cauraugh a Summers, 2005).

### **3.1 Poškození mozku a obnova funkce**

Motorické mapy umožňují jak učení, tak vyjádření pohybu a tímto způsobem reprezentují jakýsi motorický „engram“ nebo paměťovou stopu. Když je korový region zničen následkem ischemie, tento motorický engram je ztracen. Jedinou cestou pro pravé zotavení je nahradit zrušený okruh. Vzhledem současnému výzkumu, kdy není možné poškozenou tkáň plnohodnotně nahradit implantovanými kmenovými buňkami se jakékoli zotavení děje cestou určitého podílu kompenzačních mechanismů, které jsou zajištěny zachovalými a nově se vyvíjejícími mozkovými okruhy a vedou ke změněnému motorickému chování a novým strategiím. Faktory podílející se na obnově funkce jsou podobné těm, které se zúčastní plasticity ve zdravém mozku. Funkční obnova po ischemickém poškození je založena na strukturálních a funkčních změnách v mozkových okruzích, které mají s poškozenými okruhy blízký funkční vztah a předpokládáme že budou dodržovat stejná pravidla jako během vývoje nervového systému a na zkušenosti závislé plasticitě. Dva faktory umožňují plasticitu v dospělém mozku: Zaprvé překvapivé množství překrývajících se a nadbytečných konexí a zadruhé možnost tvorby nových strukturálních a funkčních okruhů, které mohou změnit mapy příbuzných korových regionů (Murphy a Corbett, 2009).

### **3.2 Časná aktivita**

Pomocí MRI studií a následných histologických zkoumání byla zjištěna aktivita a neuronální rozvoj v několika korových oblastech v souvislosti s ischemickým ložiskem. V bezprostřední blízkosti ischemického ložiska, mezi kortikálními hemisférami a v homotopní oblasti kontralaterální hemisféry s vrcholem 20-30 dní po ischemickém infarktu (Johansson, 2000).

Tyto změny jsou provázeny komunikací mezi buňkami pomocí mnoha signálních molekul, produkcí různých neuroprotektčních látek a růstových faktorů a synchronní elektrofyzilogické aktivity. Studie ukázaly, že produkce proteinů podílejících se na endogenní regeneraci mozkové tkáně je nejvyšší v období několika týdnů po ischemickém infarktu. V tomto období je mozek optimálně otevřený rehabilitační zkušenosti (Biernaskie at al., 2004).

### **3.3 Neurogeneze a gliogeneze**

Poznání, že i v dospělém mozku člověka dochází k dozrání, migraci a diferenciaci multipotentních kmenových buněk, je významným objevem posledních 15 let. Možnost využití neurogeneze při terapii ischemického či jiného poškození mozku však ještě není zcela prozkoumána.

U dospělého jedince dochází za fyziologických podmínek k neurogenezi v několika oblastech v mozku. Nejvíce pozornosti je soustředěno na neurogenezi v subgranulární zóně gyru dentatu hippocampu a v subventrikulární zóně mozku (Filipová, 2010). Zvýšená neurogeneze v těchto oblastech je vyvolána již samotnou ischemií (Zhang, 2008). Periferní stimulace a pobyt v obohaceném prostředí podporují neurogenezi i migraci neuroblastů po fokální korové ischemii (Li, 2008). Naopak stresová reakce neurogenezi inhibuje (Ke et al., 2011). Proliferace, migrace a vývoj neuroblastů je závislý na specifickém mikroprostředí.

### **3.4 Synaptogenze**

Tvorba nových synapsí provázející ischemické poškození byla prokázána in vitro na zvířatech v krátké době po poškození díky přítomnosti syntézy nových proteinů ze skupiny růstových faktorů a neurotrofinů (Duffau, 2006).

#### **3.4.1 Axonální sprouting (pučení)**

Ischemická léze indukuje axonální sprouting jak lokálně - intrakortikální projekce, tak na delší vzdálenosti - interhemisferické projekce. Tento axonální sprouting se významně podílí na budování nových vzorů kortikálních konexí s deafferentovanou nebo částečně poškozenou nervovou tkání. Axonal sprouting po ischemické lézi je

indukován přechodnou synchronní nízkofrekvenční neuronální aktivitou v periinfarktové zóně v období několika dní po ischemickém infarktu, tato aktivita je transkalosálně přenášena do homotopní oblasti kontralaterální hemisféry a axony kontralaterálních neuronů prorůstají do oblasti periinfarktové zóny a ipsilaterálního striata (Carmichael et al., 2003). Tento vzor nízkofrekvenční aktivity je zřejmě přítomen i při vývoji mozku během axonální elongace a synaptogeneze (Carmichael et al., 2003, Nudo et al., 2001).

V období po ischemickém poškození však mohou být v extracelulárním prostředí přítomny molekuly, které mohou axonální růst eliminovat. Jedná se například o molekuly podobné myelinu (Duffau, 2006).

### **3.4.2 Větvení dendritů**

Dendritické trny jako postsynaptická součást glutamátergických synapsí jsou prvním efektem synaptické plasticity. Současná data naznačují, že dendritický strom je pokryt množstvím různých excitačních synaptických kanálů pracujících v různých časových pásmech a s rozličnou mírou na aktivitě závislé senzitivě, umožňující sofistikovanou neuronální plastickou kapacitu (Johansson, 2003).

Fokální ischemie v senzomotorické oblasti způsobí bezprostřední poškození dendritických trnů v průběhu prvních deseti minut ischemie, ale toto poškození je potenciálně reverzibilní. Během prvních 24 hodin je úbytek dendritických trnů v periinfarktové zóně asi 38 procent. Avšak dendritické trny, které zůstaly zachovány zvýší významně svoji délku - až o 25 procent během prvních 6 hodin po ischemii. Tento nárůst délky dendritických trnů může fungovat jako určitá ochrana těla neuronu před destruktivními účinky excitotoxicity (Brown et al., 2008).

### **3.5 Synaptoplasticita**

Hebbovská synaptoplasticita říká, že paměť a učení jsou založeny na modifikaci síly synaptického přenosu mezi neurony, které jsou současně aktivní v důsledku opakování úkolu (Duffau, 2006). Zvýšení synaptické síly je indukováno synchronní aktivitou presynaptického i postsynaptického neuronu. Naopak u neuronů, které se aktivují nesynchronně může dojít z tohoto principu k útlumu (Murphy a Corbett, 2009).

Homeostatická plasticita je mechanismus synaptické stabilizace, zejména pomocí regulace AMPA receptorů. Princip je takový, že u synapsí jejichž aktivita je utlumena, homeostatická plasticita nastaví zvýšení presynaptického přenosu a postsynaptické aktivity, aby se účinnost synapse dostala na základní úroveň. Tato plasticita má svůj význam při vývoji, kdy je nutné zajistit pro určité funkce dostatečný počet funkčních synapsí. Po ischemické obnově má svůj význam v normalizaci excitability synapsí v blízkosti infarktní zóny, která je snížena v důsledku edému, snížení krevního zásobení a metabolismu (Murphy, Corbett, 2009).

Posledním termínem je mataplasticita, kdy některé synapse mohou autoregulovat svoji vlastní účinnost (Duffau, 2006).

### **3.5.1 Skryté synapse**

Vzhledem k dynamické organizaci funkčních map, určitá stabilita kortikálních reprezentací je zajištěná horizontální sítí inhibičních GABA interneuronů.

V normálních podmínkách tyto interneurony blokují horizontální konexe zejména mezi pyramidovými buňkami. Tato inhibice však může být různými způsoby potlačena (např. následkem sensorické deprivace nebo učení) a tyto interkortikální konexe se stanou funkčními. Tento jev je popisován jako hlavní mechanismus krátkodobé synaptoplasticity (Duffau, 2006).

### **3.5.2 LTP (Long Term Potentiation)**

NMDA a AMPA receptory jsou ionotropní glutamátové receptory, které se nacházejí ve všech oblastech mozku. Při jejich aktivaci dochází k otevření kanálu pro průchod kationtů. Často bývají přítomny společně na jedné synapsi. Když elektrická stimulace presynaptického neuronu způsobí vylití glutamátu do synaptické štěrbině, glutamát se naváže na oba typy receptorů, avšak AMPA receptor je aktivován dříve a dochází k mírné depolarizaci postsynaptického neuronu. NMDA receptor umožní průchod pouze malého množství kationtů, protože je blokován hořčíkem. Při masivnější depolarizaci dochází k odblokování NMDA receptoru a ten nyní začne masivně propouštět Na a Ca kationty dovnitř buňky. Ca jako druhý posel spustí uvnitř buňky



kaskádu reakcí, která ve výsledku vede i ke zvýšení počtu AMPA receptorů na postsynaptické membráně a zvýšení účinnosti synapse. Toto je jeden z mechanismů vedoucích k dlouhodobé potenciaci (LTP - Long Term Potentiation).

Opačný děj, kdy dochází ke snížení účinnosti na synapsi nazýváme LTD - Long Term Depression.

### **3.6 Role glií**

Gliové buňky hrají významnou roli v modulaci neuronální aktivity zejména prostřednictvím regulace energetického metabolismu neuronů. Tuto svoji schopnost mohou uplatnit i v rámci neuronální sítě díky vylučování neurotransmiterů a dalších signálních molekul, případně intracelulárními vlnami vápníkových kationtů.

Dalším úkolem je koordinace neuronální migrace ze subventrikulární zóny do mozkové kůry, v jejímž průběhu jsou glie schopny měnit svoji morfologii díky vysoké fenotypové plasticitě. Modifikace velikosti gliových buněk byla prokázána i v krátkém čase (v řádu hodin) po mozkovém poškození (Duffau, 2006).

### **3.7 Neurotrofní faktory**

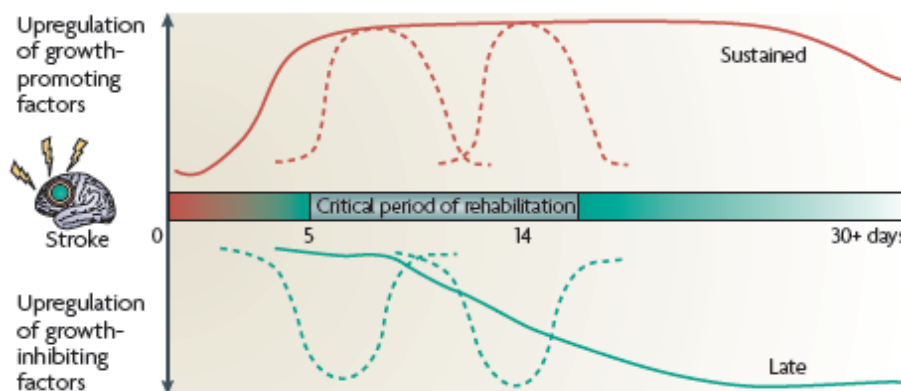
Zlepšení funkce po vystavení obohacenému prostředí je pravděpodobně způsobeno zvýšenou syntézou neurotrofických faktorů. Neurotrofické faktory jsou polypeptidy schopné podpořit přežití neuronů v akutním stadiu. Lokální účinek neurotrofního faktoru může podpořit synaptickou remodelaci a změny v expresi receptorů. Ischemie je silný vyvolavatel genové exprese v mozku. Více než 90 různých genů prokázalo prudký vzestup v prvních minutách až hodinách po navození ischemie a poté rychlý návrat na původní úroveň (Johansson, 2000).

Basic fibroblast growth factor (bFGF) kromě redukce velikosti ischemického ložiska i snižuje rozsah postischemické degenerace thalamu. Nerve growth factor(NGF) zlepšuje paměť a motorické funkce a snižuje atrofii dendritů v zachovaných pyramidových neuronech.

Dalšími významnými neurotrofickými faktory uplatňujícími se v akutním stadiu jsou insulin growth factor, glial cell neurotrophic factor nebo brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Johansson, 2000).

### 3.7.1 BDNF

BDNF je faktor vyskytující se v CNS, nejvíce je produkován v hipokampu, ale i ve striatu nebo kortexu. Podílí se na zvýšení synaptické plasticity a zlepšení motorické funkce (Vaynman, 2004), ale i na schopnosti učení a ukládání informací z krátkodobé do dlouhodobé paměti (Johansson, 2001). Má vliv na presynaptické vylití glutamátu a postsynaptickou expresi AMPA a NMDA receptorů (Chang, 2009). U dospělých potkanů BDNF působí neuroprotektivně a napomáhá přežití buněk po ischemickém i jiném poškození a jeho produkce v hipokampu je zvýšena po motorickém tréninku (Ke et al., 2011).



Obr. 3 Časové okénko pro rehabilitaci - nejvyšší hodnoty growth promoting factors a zároveň nejnižší hodnoty growth inhibiting factors nastávají v období 5-15 dní po ischemickém inzultu (Murphy a Corbett, 2009).

## 4. MODEL Y FOKÁLNÍ ISCHEMIE U LABORATORNÍHO POTKANA

Vzhledem k heterogenitě ischemických cévních mozkových příhod u člověka, existuje i několik druhů experimentálních modelů, které mají toto onemocnění napodobit. Tyto modely by měly splňovat několik základních kritérií: homogenita a reprodukovatelnost vzniklé léze a co nejjednoduší a nejméně invazivní chirurgický zákrok. Laboratorní potkan je vhodným zvířetem pro tyto experimenty vzhledem k jeho finanční i početní dostupnosti a anatomii a fyziologii CNS podobné člověku.

### 4.1 *Současné modely*

Nejčastější příčinou iCMP u člověka je neprůchodnost a. cerebri media, proto se také většina preklinických výzkumů soustředí na její povodí. V současné době je používáno několik modelů fokální ischemie, každý z nich používá jiný mechanismus redukce krevního průtoku, každý má své výhody a nevýhody a hodí se k jinému účelu.

#### 4.1.1 MCAO (Middle Cerebral Artery Occlusion)

Mezi nejznámější způsoby patří MCAO. Jedná se buď o podvaz této arterie nebo endovaskulární zavedení tenkého filamenta cestou a. karotis interna. MCAO se provádí buď v proximální části (pMCAO), potom dochází k poškození striata a přilehlé části temporálního laloku mozkové kůry, nebo v distální části (dMCAO), když jde o napodobení čistě korové léze (Bacigaluppi, 2010).

Nevýhodou tohoto postupu je riziko protržení nebo narušení cévní stěny během zákroku a nehomogenita vzniklých lézí.

#### 4.1.2 Tromboembolie

Tromboembolický model se snaží napodobit situaci, kdy u člověka vzniká iCMP v důsledku ucpání arterie trombem či embolem. U zvířecího modelu je injekcí do a. karotis interna vpravena umělá sraženina. Záleží na velikosti vpraveného trombu, zda

vznikne situace napodobující uzávěr a. cerebri media již v její proximální části nebo zda dojde k uzávěru distálních drobných tepének a následně multifokálnímu ischemickému poškození (Bacigaluppi, 2010).

#### 4.1.3 Fototrombóza

Tato metoda využívá vlastností některých látek uvolňovat volné kyslíkové radikály při ozáření světlem o určité vlnové délce (fotodynamické generátory), osvědčenou látkou je bengálská červeň. Bengálská červeň přítomná v cévách pod místem svícení uvolňuje singletový kyslík, který poškozuje endotel, což vede k aktivaci a adhezi destiček s následnou tvorbou trombů (Krýsl, 2007).

Při klasické fototrombóze nedochází na rozdíl od ostatních modelů ke vzniku ischemické penumbry, neboť destrukce cévní stěny všech přívodných arterií v okolí ischemického ložiska znemožňuje kolaterální zásobení. Chybí zde i fáze reperfuze, protože poškozená céva již není schopna regenerace. Již během několika minut zde dochází k masivnímu narušení hematoencefalické bariéry.

V praxi je využíváno několik modifikací fototrombotického modelu, například pomocí tzv. prstencového modelu lze docílit vzniku ischemického jádra obklopeného penumbrou.

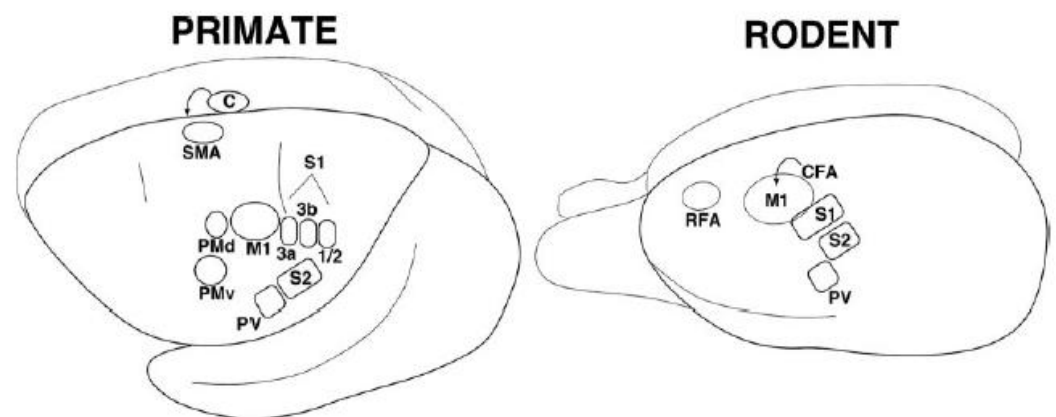
#### 4.1.4 Endothelinový model

Endothelin-1 je vazokonstrikčně působící oligopeptid, který je syntetizován v endotelu arterií. Kromě vazokonstrikce má i řadu dalších biologických vlastností, které ještě nejsou zcela prozkoumány. Bylo prokázáno, že při jeho aplikaci do mozku dochází ke snížení průtoku v místě aplikace a ke vzniku ischemického ložiska (Krýsl, 2007). Místní aplikace ET-1 zahrnující přesné umístění na povrch mozkové hemisféry produkuje lokalizované a na velikosti dávky závislé ischemické léze, není však zcela jasné kolik látky je difúzí vstřebáno do okolí (Soleman, 2010).

Na rozdíl od ostatních modelů zde nedochází k narušení hematoencefalické bariéry ani ke vzniku vazogenního edému. Tento model je spojen s nejnižší mortalitou, proto je využíván pro experimenty na starších zvířatech (Soleman, 2010).

## 4.2 Mozková kůra potkana

Záleží na způsobu indukce fokální korové ischemie a lokalizaci léze, jaké funkční důsledky toto poškození bude mít. A. cerebri media zásobuje frontální a parietální oblast mozkové kůry. V této oblasti se nacházejí somatosenzorické a motorické oblasti, které se u hlodavců a primátů liší. Zřejmě všichni savci mají nejméně 3 somatosenzorické oblasti (S1, S2 a PV) a nejméně jednu motorickou oblast (M1). U potkana je členění těchto oblastí jednodušší než u primátů, ale je zde navíc přítomna rostrální oblast přední končetiny (RFA), která reprezentuje přední končetinu (Nudo, 2007).



Obr. 4 Srovnání somatosenzorických a motorických oblastí primátů a hlodavců (Nudo, 2007).

Při poškození somatomotorické oblasti dochází k funkčnímu deficitu v kontralaterální polovině těla vyznačující se především svalovou slabostí různého stupně, ztrátou citlivosti či ztrátou nervosvalové koordinace. U potkana je postižená přední končetina v retrakci a addukci a při zvednutí za ocas se celé tělo stáčí k nepostižené straně.

K možnosti přesné aplikace ischemického poškození je využívána stereotaktická orientace podle atlasu Paxinose a Watsona (Paxinos a Watson, 1998).

## 4.3 Hodnocení funkčního deficitu po mozkové ischemii u potkana

Pro objektivizaci výsledků různých neuroprotektivních strategií bylo vyvinuto mnoho funkčních neurologických testů využívaných v experimentech se zvířaty, které

hodnotí úroveň zdatnosti a funkčního návratu. Každý test má svá specifika a hodí se k hodnocení jiné mozkové funkce, zatím nebyl vyvinut jediný test, který by pokryl všechny oblasti chování. Některé testy vyžadují předchozí trénink pro stanovení základní úrovně zdatnosti před indukovaným poškozením nervové tkáně.

Zvířata jsou při testech monitorována a výsledná videonahrávka slouží ke kvantitativnímu i kvalitativnímu ohodnocení funkční zdatnosti, případně zlepšení funkce.

### **4.3.1 Neurologické testy**

Test flexe k postižené straně - tento rychlý orientační test se využívá k hodnocení motorického deficitu po MCAO. Při zvednutí potkana nad podložku za ocas zvíře flektuje přední končetinu kontralaterální k postižené hemisféře a celý trup stáčí k postižené straně.

Garcia test hodnotí 6 kritérií s maximálním počtem bodů 18: spontánní aktivita, symetrie použití předních končetin, extenze postižené přední končetiny, šplhání, propriocepce a odpověď na vibrační stimulaci.

28-bodové neuroskóre hodnotí 10 kritérií: otáčení, hybnost, celková kondice, righting reflex, kladení tlapky, chování na vodorovné přídce, chování na nakloněné rovině, úchop, kontralaterální reflex, taxie se zrakovou kontrolou, rotace na nepostiženou stranu.

### **4.3.2 Funkční testy**

Catwalk - systém pro snímání parametrů chůze v tunelu pomocí kamery umístěné pod ním. Sledované parametry jsou krokový vzor, rychlost jednotlivých končetin, doba postoje a tlak na podložku.

Basket test - zvíře je umístěno do drátěného koše, který je s ním převrácen. Zvíře se snaží pomocí šplhání po stěnách koše dostat zpět do své klece, počítá se čas, za který úkol splnil.

Cylinder test - zvíře je umístěno do průhledného válce a jeho chování je nahráváno. Potkan vzhledem k jeho průzkumné povaze, zkouší pomocí předních končetin vyšplhat po stěně válce. Počítá se 20 dotyků stěny přední končetinou a procento dotyků postižené končetiny. Tento test se používá k hodnocení symetrie postižení. Zde

je vhodné stanovit základní úroveň již před mozkovým postižením, protože určitá stranová preference může být přítomna i u zdravého zvířete.

The ledged beam test - zvíře jde po kladině, která se směrem k jeho cíli zužuje, počítá se počet sklouznutí končetiny přes okraj kladiny. Test se používá k hodnocení funkce postižené zadní končetiny, vypovídá však i významně o funkci předních končetin.

Ladder walk - tento test se používá k hodnocení obratnosti chůze a funkce předních i zadních končetin. Zvíře jde spontánně přes horizontálně zavěšený žebřík, jehož příčky jsou od sebe ve variabilní vzdálenosti, aby nedošlo ke kompenzační opoře postižených končetin díky očekávané poloze příček (Metz a Whishaw, 2002). Tento test vyžaduje minimální trénink a je vhodný k hodnocení funkce v chronické stadiu nebo během dlouhodobé terapie.

### **4.3.3 Senzomotorické testy**

Rotarod test- Zvíře musí postupovat proti směru otáčení rotujícího válce, kde je možné nastavit akceleraci otáček. Zvíře se postupně učí reagovat na akceleraci a nespadnout. Tento test se používá k hodnocení senzomotorické koordinace a motorického učení, které bývá u pacientů po ischemickém poškození narušeno stejně jako u experimentálních zvířat. Rotarod test vyžaduje předchozí trénink, ale může být využit i v rámci rehabilitačního tréninku.

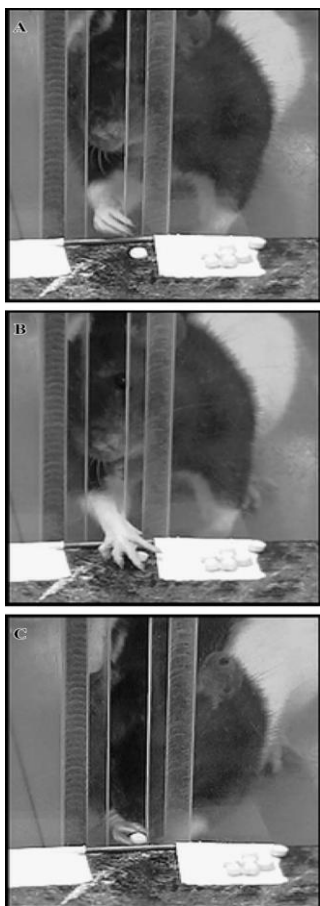
Corner test- Potkan je v rohu mezi dvěma příčkami svírajícími úhel 30 stupňů umístěn tak, že jsou podrážděny vousy na obou stranách hlavy a zvíře se reflexně napřímí a otočí o 180 stupňů. Zdravé zvíře se otáčí náhodně, zvíře s jednostrannou korovou lézí se otočí vždy na stranu ipsilaterální k postižené hemisféře pomocí nepostižené přední končetiny. Tento test a jeho hodnocení může odpovídat hodnocení neglect syndromu (Schaar, Breneman, Schavitz, 2010).

### **4.3.4 Hodnocení funkce předních končetin**

Skilled Reaching test - zvíře je trénováno aby prostrčilo přední končetinou otvorem ve stěně klece z plexiskla, dosáhlo na malou tabletu jídla, uchopilo ji a podalo si ji do úst. Výsledkem je hodnocení úspěšnosti pokusu či počtu pokusů, případně kvalitativní biometrická měření způsobu podání potravy (Moon, 2009). Tento test lze

modifikovat změnou vzdálenosti jídla od okraje klece, čím je vzdálenost větší, tím je větší i obtížnost testu.

Zdravé zvíře rotuje přední končetinu převážně pomocí pohybu končetiny, nejdříve do pronace pro úchop jídla a potom pomocí supinace dopraví potravu k ústům. Postižený potkan kompenzuje neschopnost izolované rotace postižené končetiny rotací trupu a úklonem hlavy. Díky tomuto testu lze rozeznat pravé obnovení funkce od kompenzačních pohybů (Moon, 2009).



Obr. 5 Skilled reaching task- 1. Fáze taxie, 2. Fáze úchopu, 3. Fáze podání jídla k ústům (Allred a Jones, 1999).

Adhesive Removal test - Tento test hodnotí zároveň taktilní citlivost a motorickou zdatnost předních končetin. Na dorsum obou předních končetin je přilepen malý kousek lepicí pásky. Zvíře se okamžitě v rámci čištění (groomingu) snaží této pásky zbavit, je počítán čas než zvíře dosáhne prvního kontaktu s páskou (senzitivní funkce) a potom čas odstraňování (motorická funkce). Hodnotí se obě přední končetiny. U tohoto testu je vhodné stanovit základní úroveň zdatnosti na obou končetinách.



Zvířata s ischemickou lézí preferují nejdříve odstraňování pásky na ipsilaterální (nepostižené) končetině (Schaar et al, 2010).

#### **4.4 Obohacené prostředí versus standard housing**

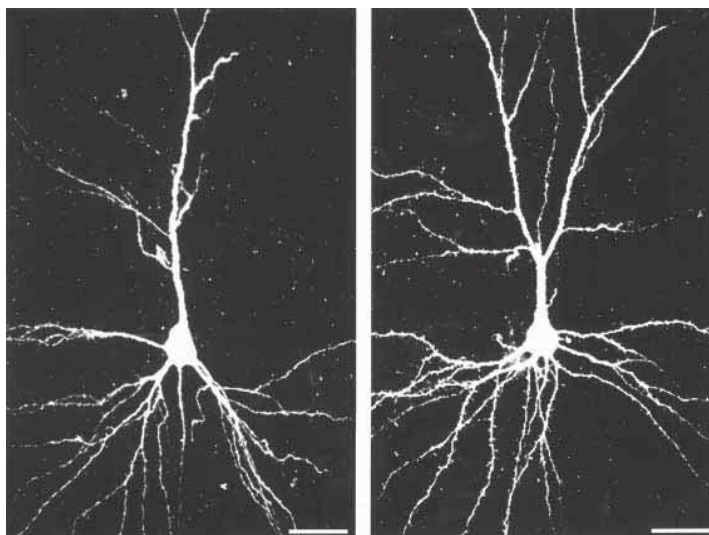
Obohacené prostředí nabízí mnoho podnětů pro všestranný rozvoj. Potkani ubytovaní v obohaceném prostředí sdílí větší prostor ve větším počtu (obvykle 5-10), pro možnost sociální interakce. Je zde umístěno množství předmětů k prozkoumávání a jejich umístění je pravidelně měněno. Zvířata mají k dispozici žebřík, běhací kolo nebo jiné zařízení pro možnost dobrovolné fyzické aktivity. Potkani, která mají dobrovolnou fyzickou aktivitu vykazují vyšší koncentraci BDNF v hippocampu a nižší míru stresu než potkani, kteří podstoupili trénink nedobrovolně (Ke et al., 2011).

Obohacené prostředí se podílí na regeneraci mozkové tkáně a návratu funkce po ischemickém poškození a je využíváno v kombinaci s farmakoterapií nebo rehabilitačním tréninkem pro demonstraci příznivého vlivu terapie.

Obohacené prostředí zvyšuje neurogenezi v hipocampu jak ve zdravém mozku potkana (Nilsson et al., 1999), tak po MCAO (Matsumori et al., 2006). Zvyšuje synaptickou plasticitu indukovanou přechodnou fokální ischemií postižené i nepostižené hemisféře (Xu et al., 2009).



Obr.6 Zvířata žijící v obohaceném prostředí (Murphy a Corbett, 2009).



Obr. 7. Větvení dendritů u zvířat žijících ve standard housing a poté přemístěných do enriched environment (Johansson, 2000).

#### **4.5 Rehabilitační trénink**

Rehabilitační trénink může být specifický, k trénování jedné konkrétní zdatnosti - např. skilled reaching training nebo rotarod training. Nebo k napodobení technik využívaných u CMP u lidských pacientů- např. forced limb use nebo constraint induced movement therapy (CIMP).

Constraint inducent movement therapy používaná k terapii pacientů nejen po CMP využívá indukci pohybů postižené končetiny pomocí omezení pohybu v končetině zdravé. U potkana je tato terapie simulována pomocí fixace přední končetiny sádrovým obvazem a postižená končetina je tak nucena k opěrné i fázičké funkci (Zhao et al., 2009).

Tato terapie se vyvinula na principu forced use, který vychází z poznatků, že nastupující kompenzační pohyby brání pravému zotavení postižené hemisféry (Zhao et al., 2009).

Jednoduchý trénink na běhátku se používá pro srovnání se sofistikovanějšími metodami, k hodnocení obecného významu fyzické aktivity nebo u starších zvířat. Ekvivalentem u lidských pacientů je chůze.

Akrobatický trénink dává velký prostor kreativitě, využívá průzkumnické povahy potkanů, vynalézavosti při cestě za potravou. Slouží k všestrannému rozvoji motorických schopností pomocí různých forem úkolů - šplhání po laně, po stěně, využití labilní plochy, úzkých mostů.

Jako motivace během tréninku nebo motorických testů je využíváno jídlo - nejčastěji kousek jablka, banánu nebo lentilka emenems. Zvířata mají omezený přístup k potravě, aby se jejich hmotnost snížila nejčastěji na 80-90 procent původní hmotnosti.

#### **4.6 Další měření**

K ohodnocení mozkové plasticity během obnovy funkce u laboratorních zvířat jsou využívány metody, které jsou u lidských pacientů nemožné. Jsou to převážně histologické techniky. Jednou z nich je měření rozsahu neurogeneze pomocí BRDU imunohistochemie, dále měření rozsahu ischemického ložiska nebo Golgi-Cox analýza pro měření dendritické komplexnosti páté korové vrstvy.

Míra synaptoplasticity v jednotlivých oblastech mozku je zkoumána pomocí imunohistochemického rozboru, který znázorňuje míru exprese synaptophysinu a BDNF.

In vivo mikrodialýzou lze zjistit hladiny excitačních neurotransmiterů.

#### **4.7 Výsledky**

##### **4.7.1 Vliv fyzické aktivity na funkci ipsilaterální končetiny a plasticitu v kontralaterální hemisféře**

Rehabilitační trénink a obohacené prostředí má vliv na zlepšení funkce postižené přední končetiny a zvýšení dendritického růstu v homotopní oblasti kontralaterální hemisféry po endothelinem indukovaném korovém ischemickém poškození (Biernaskie a Corbett, 2001).

Ischemické poškození senzomotorické oblasti indukuje plastické změny v homotopní oblasti kontralaterální hemisféry a zlepšení funkce ipsilaterální (nepostižené) končetiny. Luke, Allred a Jones (2004) zkoumalí, zda motorická zdatnost nepreferované končetiny může být zlepšena malým ischemickým poškozením (indukovaným endothelinem-1) ipsilaterální oblasti senzomotorické reprezentace přední

končetiny. Zároveň zkoumali plasticitu homotopní oblasti kontralaterální hemisféry a vliv motorického dovednosního tréninku. Ischemická léze indukovala zvýšení objemu nepostižené hemisféry, zvýšení počtu synapsí na neuron a zvýšení počtu perforovaných a multisynaptických zakončení v homotopní oblasti kontralaterální hemisféry. Neprokázala však významný vliv motorického tréninku na rozsah těchto plastických změn. Motorický trénink pouze zlepšil funkci přední končetiny ve skilled reaching testu. Později Allred a Jones (2004) potvrdili tyto výsledky i u samic potkanů.

#### **4.7.2 Vliv fyzické aktivity na plasticitu subkortikálních struktur**

Ding et al. (2003) prokázali u unilaterální ischemické korové léze zlepšení motorické funkce a zvýšenou plasticitu v ipsilaterálním thalamu indukovanou senzomotorickým tréninkem na přístroji rotarod. Tento jev popsali dříve i u zdravých potkanů (Ding et al., 2002)..

Seo (2010) popsal zvýšení plasticity v ipsilaterálním hippocampu také koordinačním rotarod tréninkem po fokální ischemii.

Chang (2009) popsal zvýšené hladiny BDNF a glutamátu ve striatu korelující se zlepšením motorické funkce po absolvování dvoutýdenního tréninku na běhátku. Hodnoty se však významně nelišily mezi skupinou zdravých potkanů a potkanů po MCAO.

#### **4.7.3 Vliv rehabilitačního tréninku na velikost ischemické léze**

Risedal et al.(1999) srovnávali efekt brzkého (24hodin) a opožděného (1 týden) rehabilitačního tréninku na obnovení funkce a velikost ischemického ložiska. Potkani, kteří začali trénovat 24 hodin po operaci vykazovali větší rozsah zničené tkáně. Obě trénované skupiny vykazaly lepší motorickou funkci ve srovnání s netrénovanou kontrolní skupinou.

Wang, Yu a Jang (2005) prokázali významný zmenšení objemu infarktového ložiska po dvoutýdenním nuceném tréninku na běhátku ve srovnání s kontrolními skupinami bez tréninku a to jak u mladých (3-4 měsíce), tak starých potkanů (22-26 měsíců).

Allred a Jones (2008) zkoumali vliv tréninku nepoškozené (ipsilaterální) končetiny na změny v okolí ischemického ložiska a funkci postižené (kontralaterální) přední končetiny po unilaterálním ischemickém poškození SM kortexu. Rehabilitační trénink zaměřený na nepostiženou přední končetinu ještě zhoršil funkci postižené končetiny a snížil neuronální aktivaci pomocí transkripčních faktorů v okolí postižené oblasti.

Naopak Marin et al. (2003) neprokázali vliv dobrovolné fyzické aktivity (běhací kolo) na histologické (velikost ischemického ložiska, synaptogeneze v okolí ischemického ložiska) ani EEG parametry oproti skupině potkanů bez fyzické aktivity. Trénující potkani vykázali lepší výsledky pouze ve funkčních testech (foot fault test, paw referent test).

Moon et al. (2009) zkoumali zda u malé fototrombotické léze v motorické kůře reprezentující přední končetinu dojde k úplnému návratu funkce přední končetiny. U zvířat byla biometricky snímána kvalita skilled reaching analýzou jednotlivých pohybů. Úplný návrat funkce potvrdil dříve předpokládanou plasticitu neuronů v okolí léze.

Velikost ischemické léze zřejmě nekoreluje s rozsahem obnovy motorické funkce, ale může představovat komplikaci při jakémkoli dalším poškození nervové tkáně nebo u stárnoucího mozku (Johansson, 2000).

#### **4.7.4 Vliv rehabilitačního tréninku na neurogenezi v dospělém mozku**

Zhao et al. (2009) prokázali po fokální ischemii navozené MCAO zlepšení motorické funkce (beam walking test) korelující se zvýšenou neurogenezí jak v hippocampu, tak v subventrikulární zóně u potkanů, kteří podstoupili rehabilitační trénink metodou CIMT. Neprokázali však vliv na velikost ischemického ložiska.

Ke et al. (2011) srovnávali efekt dobrovolné aktivní, nucené aktivní a pasivní fyzické aktivity na návrat motorické funkce po přechodné fokální ischemii v povodí MCA. Zjistili, že dobrovolné cvičení vede k nejvyššímu vzestupu BDNF a zároveň nejmenší stresové reakci. Naopak nejvyšší stresová reakce byla u nucené fyzické aktivity.

Clarke et al. (2009) zkoumali, zda rehabilitační trénink v chronickém stadiu může ještě zlepšit obnovení funkce a plastické změny v mozkové kůře. Potkani po en-

dothelinem indukované ischemii M1 a striata podstoupili v akutním stadiu buď standard housing bez rehabilitace nebo obohacené prostředí s rehabilitačním tréninkem. Po tomto období byli vystaveni následnému rehabilitačnímu tréninku v obohaceném prostředí. V jednotlivých fázích podstoupili testování. Přestože brzká rehabilitace výrazně zlepšila obnovení funkce, po pozdním rehabilitačním tréninku již nedošlo ani k obnovení funkce ani k nárůstu dendritické hustoty.

## 5. DISKUSE

Téma neuroplasticita je pro obor fyzioterapie jedno z klíčových a zároveň je natolik široké, že v rámci bakalářské práce nelze zdaleka vyčerpat. Hranice poznání se v tomto směru stále posouvá, spíše však cestou jednotlivých poznatků, jejichž význam bude možno hodnotit až s odstupem času a nástupem poznatků dalších. Neuroplasticita po ischemickém poškození mozku je svým způsobem specifická neboť zde dochází k vzájemnému prolínání patofyziologických a plastických dějů a ischemie samotná je spouštěčem těchto plastických mechanismů. Zároveň je přítomno mnoho vnějších vlivů, které působí jak na vznik primárního onemocnění, tak na následné změny mozkové tkáně.

Neurorehabilitace stejně jako ostatní neuroprotektční strategie se stala v posledních letech předmětem mnoha experimentálních studií. Zatímco systematické testování nových léčiv na zvířatech je přikázáno zákonem, testování nových rehabilitačních strategií na potkanech se nemusí zdát zcela opodstatněné. Význam povinného testování léčiv je zřejmý, je třeba eliminovat možné nežádoucí účinky, které by mohly nemocného namísto terapie spíše poškodit. Neurorehabilitace prochází vývojem jako všechny terapie a od některých strategií se ustupuje na základě empirické zkušenosti. Vzhledem k variabilitě pacientů a jejich onemocnění nikdy nemůžeme přesně určit, jak by se onemocnění a zotavování vyvíjelo bez zásahu terapeuta a zda byla terapie účinná. Kontrolované studie na potkanech s uniformní lézí nám toto srovnání umožňují. Invazivní transkraniální zobrazení, nepřetržitý EEG monitoring a možnost in vitro zkoumání nám dovolí nahlédnout do anatomie a fyziologie poškozeného mozku mnohem hlouběji než u lidských pacientů. Další nespornou výhodou je možnost sledování dlouhodobých změn v krátkém časovém horizontu

vzhledem k délce života laboratorního potkana. Navíc výsledky potvrzující význam neurorehabilitace na materiální úrovni jsou argumentem, který značně zvyšuje prestiž našeho oboru, který je již plnohodnotnou součástí EBM.

Význam výsledků získaných studii na zvířatech je však třeba přeložit. Centrální mozková příhoda u lidských jedinců je důsledkem mnoha predispozic, jako je diabetes, vysoký krevní tlak, obezita nebo věk. Experimentální modely většinou vyvolají mozkovou ischemii u jinak zdravého, mladého zvířete. Pro posouzení jednotlivých molekulárních a buněčných dějů, které provázejí ischemické poškození je třeba co nejvíce eliminovat variabilitu léze i experimentálních zvířat. Výsledky které takto získáme nejsou stejné jako u komplexních klinických podmínek u pacientů s centrální mozkovou příhodou (Nudo, 2007).

Ve všech studiích zabývajících se vlivem obohaceného prostředí vycházejí velmi dobré výsledky týkající se jak obnovy funkce, tak dendritického větvení nebo produkce neurotrofních faktorů. Johansson (2000) však upozorňuje, že potkani ubytovaní standartně žijí spíše v podmínkách senzoričké deprivace. Otázkou zůstává, zda vliv nemocničního prostředí je pro člověka srovnatelný se standardním ubytováním nebo s obohaceným prostředím používaným během experimentů.

Význam patofyziologických dějů provázejících ischemické poškození je velice diskutabilní, zda se ještě jedná o destruktivní proces nebo zda už nastupuje regenerační fáze a plasticita. Průběh ischemické kaskády je popsán po dobu několika dní (Lipton, 1999), ale exprese genů a neurotrofních faktorů začíná několik hodin po ischemickém infarktu (Johansson, 2000). Hyperexcitabilita v okolí ischemického ložiska a v homotopní kontralaterální oblasti je projevem diaschízy a přechodné ztráty funkce těchto oblastí, ale zároveň frekvence excitací stimuluje a naviguje interkortikální i interhemisferický axonální sprouting (Carmichael, 2003). Imunitní reakce zvyšuje koncentraci volných kyslíkových radikálů, otok a narušení hematoencefalické bariéry, ale ve stejné době již zánětlivé mediátory mohou spolupracovat s růstovými faktory na tvorbě nových neuronálních okruhů (Ceulemans, 2010).

Rozpory jsou i v názorech na zapojení vzdálených oblastí do reparačního procesu. Murphy a Corbett (2009) říkají, že pokud není možnost převzetí funkce v blízkosti léze (z důvodu velikosti ischemického ložiska), pak přichází na řadu funkčně příbuzné oblasti téže hemisféry. Teprve pokud léze zabírá větší část povrchu hemisféry, pak přebírají funkci homotopní oblasti kontralaterální hemisféry. Naopak jiná autoři



zdůrazňují roli homotopních oblastí kontralaterální hemisféry v souvislosti se zvýšenou elektrofyziologickou aktivitou v komisurálních vláknech (Buchkremer-Ratzmann, 1996). Tato aktivace homotopní oblasti kontralaterální hemisféry je pro některé autory měřítkem pozitivní neuroplasticity (Allred a Jones, 2002), pro jiné však nepříznivým vlivem, který inhibuje funkční zapojení oblastí postižených (Zhao, 2009). Cauraugh a Summers (2005) tuto komisurální aktivitu využívají k indukci bilaterálních pohybů, které jsou podle nich cestou k návratu funkce postižené končetiny.

Z těchto poznatků a rozporů vycházejí dva odlišné druhy terapie využívané v klinické praxi. Jednou je Constraint-Induced Movement Therapy, která se snaží pomocí fixace nepostižené končetiny zabránit tomu, aby kompenzační používání nepostižené strany inhibovalo návrat funkce strany postižené, zároveň nucené používání postižené končetiny vede k nové aferentaci a podílí se na tvorbě nových okruhů v okolí místa léze (Zhao, 2009). Tato strategie je v praxi využívána, není však možné ji aplikovat u všech pacientů, je třeba aby zůstala funkce postižené končetiny do určité míry zachována, navíc se tato strategie využívá až několik měsíců po příhodě. Je podložena mnoha kontrolovanými studii na lidských pacientech. Experimenty na zvířatech jsou zde zavádějící ve smyslu větší univerzálnosti využití, neboť u potkanů, kteří mají mnoho mechanismů zabudovaných podkorově, nedochází při korové ischemii ke kompletní ztrátě funkce tak často.

Terapie na principu bilaterálních pohybů se snaží využít tu část eferentních neuronů nepostižené mozkové hemisféry, které se ve svém průběhu nekříží a jsou schopny vyvolat ipsilaterální pohyby a tvoří tak určitou funkční rezervu (Cauraugh a Summers, 2005). Tato teorie však naráží na interhemisferickou inhibici a ta vede zřejmě ke zhoršení zručnosti postižené strany oproti kontrolní skupině (Gonzales, 2004).

Velká skupina studií se zabývá indukcí neurogeneze po ischemickém poškození pomocí různých terapeutických postupů, jak farmakoterapie, tak pohyboterapie. Význam neurogeneze v dospělém mozku není zdaleka objasněn. Zvýšení neurogeneze v prostředí postiženém ischemií není samo o sobě přínosem, pokud nově vytvořené neurony nemají podmínky pro migraci a konečnou diferenciaci. Navíc neurogenez v dospělém mozku vznikají jen gliové buňky nebo malé neurony, ne však nové pyramidové neurony. Další roli zde zřejmě hraje místo neurogeneze a zda se jedná o ipsilaterální nebo kontralaterální neurogenezi.

Ve snaze přiblížit se více klinickým podmínkám přibývá experimentů na zvířatech, ve kterých jsou použita zvířata vyššího věku nebo například zvířata hypertenzní (některé kmeny laboratorních potkanů jsou spontánně hypertenzní). Stejně tak je zde tendence ověřovat výsledky získané na zvířatech mužského pohlaví potvrzovat ještě na zvířatech ženského pohlaví, zejména z důvodu možné neuroprotektivní funkce progesteronu.

Experimenty na zvířatech vyššího věku jsou spojeny s vyšší mortalitou během experimentu a je zde omezená možnost testování pohybové terapie, kterou by postižená zvířata vyššího věku fyzicky zvládla. Když se omezíme na obohacené prostředí a pohybovou terapii na běhátku, do lidského prostředí přeloženo jako senzorycká stimulace a dobrovolná chůze, můžeme u obou těchto možností konstatovat všeobecnou prospěšnost. Mnohem zajímavějším přínosem těchto studií je možnost pozorovat klesající funkční rezervu mozku a zjistit limity regenerace. Ve svojí práci jsem se však studii na zvířatech vyššího věku podrobněji nezabývala, plasticita mozku v souvislosti s rostoucím věkem by proto bylo zajímavé téma k samostatnému zpracování.

Studie zabývající se vhodným načasováním rehabilitačního tréninku hledají časové okénko, kdy jsou nejvýhodnější podmínky k plasticitě z hlediska hladin neurotrofních a neuroinhibičních faktorů. Další faktor, který se objevuje ve větší skupině studií, je stresová reakce způsobená nedobrovolnou pohybovou terapií (Ke, 2011), ale například i sociálním prostředím. Redukce stresu u pacientů po cévní mozkové příhodě je téma, které je zatím v klinické praxi málo zdůrazňováno. Přesto psychické vlivy mají zřejmě významný vliv na vnitřní prostředí nervové soustavy.

Mozková ischemie je významným činitelem působícím indukci plastických mechanismů. Studium těchto mechanismů je důležité pro fyzioterapii, aby fyzioterapeut mohl do tohoto procesu vstoupit a jeho práce umocnila přirozené autoreparační procesy a napomáhala inhibici destruktivních procesů. Morfologie mozku je vysoce plastická a proto ovlivnění aferentních vstupů je významným terapeutickým nástrojem, je přitom možno využít principů souvisejících jak s plasticitou mozku během vývoje, tak s plasticitou indukovanou učením a opakováním dovedností.

## SEZNAM ZKRATEK

a.- arteria

AMPA-  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-. 5-methyl-4-isoxazolepropionate

ATP- Adenosin Trifosfát

BDNF- Brain Derived Neurotrophic Factor

CIMT- Constraint-induced Movement Therapy

CMP- Cévní mozková příhoda

M1- Primární motorická oblast

NMDA- N-methyl-D-aspartát

S1-Primární somatosenzorická oblast

S2- Sekundární somatosenzorická oblast

SMA- Suplementární motorická oblast

TNF- Tumor Necrosis Factor

## ZÁVĚR

Ischemické poškození je kaskádou mnoha reakcí, které jsou vzájemně provázané a je zde tenká hranice mezi destruktivními, protektivními a plastickými mechanismy.

Mozek dospělého jedince má po ischemickém poškození k dispozici mnoho mechanismů, které mohou vést k návratu funkce

Tyto plastické mechanismy je možné podpořit rehabilitací.

Rehabilitaci lze zacílit na indukci konkrétního druhu plasticity.

Není zřejmé, které plastické změny vedou k návratu funkce a které jsou maladaptivní.

## LITERATURA

ALLRED, Rachel P.; JONES, Theresa A. Unilateral ischemic sensorimotor cortical damage in female rats: forelimb behavioral effects and dendritic structural plasticity in the contralateral homotopic cortex. *Experimental Neurology*. 2004, 190, 2, s. 433-445. ISSN 0014-4886.

ALLRED, Rachel P.; JONES, Theresa A. Maladaptive effects of learning with the less-affected forelimb after focal cortical infarcts in rats. *Experimental Neurology*. 2008, 210, 1, s.172-181. ISSN 0014-4886.

BUCHKREMER-RATZMANN, Irmgard, et al. Electrophysiological Transcortical Diaschisis After Cortical Photothrombosis in Rat Brain. *Stroke*. 1996, 27, s.1105-1111. ISSN 0039-2499.

BACIGALUPPI, Marco, et al. Animal Models of Ischemic Stroke. : Part Two: Modeling Cerebral Ischemia. *Open Neurology Journal*. 2010, 4, s. 34-38, ISSN 1874-205X.

BIERNASKIE, Jeff; CORBETT, Dale . Enriched Rehabilitative Training Promotes Improved Forelimb Motor Function and Enhanced Dendritic Growth after Focal Ischemic Injury . *The Journal of Neuroscience*. 2001, 21, 14, s. 5272-5280. ISSN 0270-6474.

BIERNASKIE, J.; CHERNENKO, G.; CORBETT, D. Efficacy of rehabilitative experience declines with time after focal ischemic brain injury.. *Journal of Neuroscience*. 2004, 24, 5, s. 1245-54. ISSN 0270-6474.

BRAEUNINGER, Stefan; KLEINSCHNITZ, Christoph. Rodent models of focal cerebral ischemia: procedural pitfalls and translational problems. *Experimental & Translational Stroke Medicine*. 2009, 8, s. 1-11. ISSN 2040-7378.

BROWN, CE; WONG, C; MURPHY, TH. Rapid morphologic plasticity of peri-infarct dendritic spines after focal ischemic stroke.. *Stroke : a journal of cerebral circulation*. 2008, 39, 4, s. 1286-91. ISSN 0039-2499.

CARMICHAEL, S. Thomas. Plasticity of Cortical Projections after Stroke. *Neuroscientist*. 2003, 9, 1, s. 64-75. ISSN 1073-8584.

CAURAUGH, JH; SUMMERS, JJ. Neural plasticity and bilateral movements: A rehabilitation approach for chronic stroke. *Progress in Neurobiology*. 2005, 5, 75, s. 309-320. ISSN 0555-4047.

CEULEMANS, An-Gaëlle, et al. The dual role of the neuroinflammatory response after ischemic stroke: modulatory effects of hypothermia. *Journal of Neuroinflammation*. 2010, 1, s. 74. ISSN 1742-2094.

CLARKE, Jared, et al. The Effects of Repeated Rehabilitation “Tune-Ups” on Functional Recovery After Focal Ischemia in Rats. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2009, 23, 9, s. 886-894. ISSN 1545-9683.

CHANG, Hung- Chin, et al. Effects of treadmill training on motor performance and extracellular glutamate level in striatum in rats with or without transient middle cerebral artery occlusion. *Behavioural Brain Research*. 2009, 205, 2, s. 450-455. ISSN 0166-4328.

DIETRICH, E. Hjernens plastisitet– perspektiver for rehabilitering etter hjerneslag. *Tidsskr Nor Lægeforen*. 2007, 127, 9, s. 1228-1231. ISSN 0029-2001

DING, Y., et al. Synaptic plasticity in thalamic nuclei enhanced by motor skill training in rat with transient middle cerebral artery occlusion. *Neurological Research*. 2003, 25, 2, s. 189-194. ISSN 0161-6412.

DING, Y., et al. Functional improvement after motor training is correlated with synaptic plasticity in rat thalamus. *Neurological Research* [online]. 2002, 24, 8, s. 829-836. ISSN 0161-641.

DUFFAU, Hugues. Brain plasticity: From pathophysiological mechanisms to therapeutic applications. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2006, 13, 9, s.885-897. ISSN 0967-5868.

DURUKAN, Aysan; TATLISUMAK, Turgut. Acute ischemic stroke: Overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2007, 87, s. 179-197. ISSN 0091-3057.

GONZALES, Claudia R.L., et al. Evidence for bilateral control of skilled movements: ipsilateral skilled forelimb reaching deficits and functional recovery in rats follow motor cortex and lateral frontal cortex lesions. *European Journal of Neuroscience*. 2004, vol. 20, s. 3442-3452. ISSN 0953-816X.

FILIPOVÁ, Marcela. *Indukce neurogeneze a gliogeneze po ischemickém poškození CNS* [online]. [s.l.], 2010. 33 s. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta. Dostupné z WWW: <[http://www.natur.cuni.cz/biologie/fyziologie-zivocichu/bp\\_filipova.pdf](http://www.natur.cuni.cz/biologie/fyziologie-zivocichu/bp_filipova.pdf)>.

JOHANSSON, Barbro B. Brain Plasticity and Stroke Rehabilitation : The Willis Lecture. *Stroke*. 2000, 31, s. 223-230. ISSN 0039-2499.

JOHANSSON, Barbro B. Environmental influence on recovery after brain lesions in rat. *Journal of Rehabilitation Medicine*. 2003, 41, s. 11-16. ISSN 1650-1977.

KE, Z., et al. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. *PLoS ONE*. 2011, 6, 2. Dostupný z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21347437>>. ISSN 1932-6203.

- KRÝSL, David. Současné modely experimentální ischemie CNS: fototrombóza a intracerebrální aplikace endothelinu-1. *Československá fyziologie*. 2007, 56, č.1, s. 4-9, ISSN 1210-6313.
- LI, WL, et al. Enhanced neurogenesis and cell migration following focal ischemia and peripheral stimulation in mice. *Dev Neurobiol.* 2008, 13, s. 1474-86. ISSN 1932-8451.
- LIPTON, Peter. Ischemic Cell Death in Brain Neurons. *Physiological Reviews*. 1999, Vol. 79, No. 4, s. 1432- 1532. ISSN 0031-9333.
- LUKE, Linslee M.; ALLRED, Rachel P.; JONES, Theresa A. Unilateral Ischemic Sensorimotor Cortical Damage Induces Contralesional Synaptogenesis and Enhances Skilled Reaching With the Ipsilateral Forelimb in Adult Male Rats. *Synapse*. 2004, 54, s. 187-199. ISSN 0887-4476.
- MADINIER, Alexandre, et al. Microglial Involvement in Neuroplastic Changes Following Focal Brain Ischemia in Rats. *PLoS ONE*. 2009, Issue 12, volume 4, s. e801. Dostupný z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2779656/?tool=pubmed>>.
- MARIN, Raul, et al. The effect of voluntary exercise exposure on histological and neurobehavioral outcomes after ischemic brain injury in the rat. *Physiology and Behavior* . 2003, 80, 2-3, s. 167-175. ISSN 0031-9384 .
- MATSUMORI, Y., et al. Enriched environment and spatial learning enhance hippocampal neurogenesis and salvages ischemic penumbra after focal cerebral ischemia.. *Neurobiology of disease*. 2006, 1, s. 187-98. ISSN 0969-9961.
- METZ, GA; WHISHAW, IQ. The ladder rung walking task: a scoring system and its practical application.. *Journal of visualized experiments : JoVE*. [online]. 2009, 28, [cit. 2011-04-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19525918>>. ISSN 1940-087X.
- MOON, Seong-Keun, et al. Both compensation and recovery of skilled reaching following small photothrombotic stroke to motor cortex in the rat. *Experimental Neurology*. 2009, 218, 1, s. 145-153. ISSN 0014-4886.
- MURPHY, Timothy D.; CORBETT, Dale . Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Neuroscience*. 2009, 10, s. 861-872. ISSN 0306-4522.
- NICHOLLS, John G., et al. *From Neuron to Brain*. Fourth Edition. USA : Sinauer Associates Inc., 2001. 580 s. ISBN 0-87893-439.
- NILSSON, M., et al. Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory. *Journal of neurobiology*. 1999, 39, 4, s. 569-78. ISSN 0022-3034.
- NUDO, JR. Postinfarct Cortical Plasticity and Behavioral Recovery. *Stroke*. 2007, 38, s. 840-845. ISSN 0039-2499.

- NUDO, Randolph J.; PLAUTZ, Erik J.; FROST, Shawn B. Role of adaptive plasticity in recovery of function after damage to motor cortex. *Muscle and Nerve*. 2001, 24, s. 1000-1019. ISSN 0148-639X.
- OTEVŘEL, Filip, et al. Korelace pO<sub>2</sub> a apoptózy u fokální mozkové ischemie a vliv systémové hypertenze. *Československá neurologie*. 2007, 70, 103 (2), s. 168-173. ISSN 0009-0581.
- OTEVŘEL, Filip. *Fokální mozková ischemie a dlouhodobá reperfuze u potkana -- vliv systémové hypertenze na rozsah apoptózy a nekrózy* [online]. Masarykova univerzita v Brně, 2006. 98 s. Dizertační práce. Masarykova univerzita v Brně, lékařská fakulta. Dostupné z WWW: <[http://is.muni.cz/th/26195/lf\\_d/Otevrel\\_Filip\\_-\\_disertace.txt](http://is.muni.cz/th/26195/lf_d/Otevrel_Filip_-_disertace.txt)>.
- PAN, Jie, et al. Reperfusion injury following cerebral ischemia: pathophysiology, MR imaging, and potential therapies. *Neuroradiology*. 2007, 49, 2, s.93-102. ISSN 1079-8110.
- PAZ, JT, et al. Focal cortical infarcts alter intrinsic excitability and synaptic excitation in the reticular thalamic nucleus. *Journal of Neuroscience*. 2010, 15, 30, s. 5465-79. ISSN 0270-6474.
- RILJAK, V., et al. Mechanizmy excitotoxicity. *Československá fyziologie*. 2009, 58, 1, s. 23-27. ISSN 1210-6313.
- SCHAAR, Krystal L.; BRENNEMAN, Miranda M.; SAVITZ, Sean I. Functional assessments in the rodent stroke model. *Experimental & Translational Stroke Medicine*. 2010, 2, 13, s. 1-11. ISSN 1939-067X.
- SEO, H.G., et al. Early motor balance and coordination training increased synaptophysin in subcortical regions of the ischemic rat brain. *Journal of Korean medical science*. 2010, 25, 11, s. 1638-1645. ISSN 1011-8934.
- SICARD, Kenneth M.; FISHER, Marc. Animal models of focal brain ischemia. *Experimental & Translational Stroke Medicine* [online]. 2009, 1, 7, [cit. 2011-01-31]. Dostupný z WWW: <<http://www.etsmjournal.com/content/1/1/7>>.
- SNELL, Richard S. *Clinical Neuroanatomy for Medical Students*. Fourth Edition. USA : Lippincott-Raven Publisher, 1997. 560 s. ISBN 0-316-80103-8.
- SOLEMAN, Sara, et al. Sustained sensorimotor impairments after endothelin-1 induced focal cerebral ischemia (stroke) in aged rats. *Experimental Neurology*. 2010, 222, 1, s. 13-24. ISSN 0014-4886.
- TAMURA, Akira, et al. Imaging of remote areas after focal cerebral ischemia. *International Congress Series*. 2003, 1252, s. 321-327. ISSN 0531-5131.
- TROJAN, Stanislav , et al. *Fyziologie a léčebná rehabilitace motoriky člověka*. 3. vydání. Praha : Grada, 2005. 240 s. ISBN 80-247-1296-2.



VAYNMAN, S; YING, Z; GOMEZ-PINILLA, F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition.. *The European journal of neuroscience*. 2004, 10, 20, s. 2580-90. ISSN 0953-816X.

WANG, RY; YU, SM; YANG, YR. Treadmill training effects in different age groups following middle cerebral artery occlusion in rats. *Gerontology* . 2005, 51, 3, s. 161-165. ISSN 0304-324X .

WOODRUFF, TM, et al. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Molecular neurodegeneration* [online]. 2011, 6, 11, [cit. 2011-04-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21266064>>. ISSN 1750-1326.

XU, X.; YE, L.; RUAN, Q. Environmental enrichment induces synaptic structural modification after transient focal cerebral ischemia in rats. *Experimental Biology and Medicine*. 2009, 3, s. 296-305. ISSN 1535-3699.

ZHANG, Rui Lan, et al. Ischemic stroke and neurogenesis in the subventricular zone. *Neuropharmacology*. 2008, 55, 3, s.345-352, ISSN 0028-3908.

ZHAO, Chuansheng, et al. Constraint-Induced Movement Therapy Enhances Neurogenesis and Behavioral Recovery after Stroke in Adult Rats. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2009, 218, s. 301-308. ISSN 0040-8727.