Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

Autoreferát dizertační práce

Role hmatových vousů v kompenzaci zrakového deficitu a vliv neurodegenerativního postižení na krosmodální plasticitu u myšího modelu retinální a olivocerebelární degenerace

Jaroslav Voller

Plzeň 2015

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného doktorského studijního programu Fyziologie a patologická fyziologie na Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni.

Uchazeč:

MUDr. Jaroslav Voller, Ústav patologické fyziologie LF UK v Plzni

Předseda oborové rady:

Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc., Fyziologický ústav 1. LF UK v Praze

Školitel:

Doc. MUDr. František Vožeh, CSc., Ústav patologické fyziologie LF UK v Plzni

Oponenti:

MUDr. Fedor Jagla, CSc., Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava
Prof. MUDr. Jaromír Mysliveček, PhD. Fyziologický ústav 1. LF UK v Praze

Obhajoba disertační práce před komisí pro obhajobu disertačních prací studijního programu Fyziologie a patologická fyziologie se koná
dne: v: hod.

Místo obhajoby:

Tato disertační práce vznikla za podpory grantů:

PRVOUK P36
Specifický vysokoškolský výzkum – 264803
Výzkumný záměr VZ MŠM 021620816

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátě Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Husova 3, Plzeň.

Poděkování

Děkuji svému školiteli, panu Doc. MUDr. Františku Vožehovi, CSc., vedoucímu Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni, za jeho laskavé vedení, pomoc při výběru tématu a cenné rady při tvorbě práce. Děkuji také pracovníkům ústavu patologické fyziologie za pomoc při provedení pokusů, zejména paní Heleně Geciové a paní Ireně Pojarové. Dále bych rád poděkoval panu Doc. MUDr. Radoslavovi Matějovi, Ph.D., primáři Oddělení patologie a národní referenční laboratoře TSE-CJN Thomayerovy nemocnice, za telefonickou konzultaci klasifikace neurodegenerativních onemocnění, a svojí kolegyni ze Šiklova ústavu patologie FN Plzeň, paní doktorce Šárce Hadravské, za její podporu a pomoc při časové organizaci povinností na ŠÚP FN Plzeň v průběhu tvorby této práce.

1. OBSAH

1. OBSAH ... 3
2. SOUHRN ... 6
3. SUMMARY ... 7
4. ÚVOD A CÍL PRÁCE ... 8
5.1 Krosmodální plasticita ... 9
5.2 Role vousů u hlodavců ... 10
5.3 Neurodegenerativní onemocnění ... 10
5.4 Retinitis pigmentosa ... 11
5.5 Myši typu Lurcher ... 11
5.6 Myší model retinální a olivocerebelární degenerace ... 12
6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST ... 12
6.1 Pokusná zvířata ... 12
6.2 Design studie ... 13
6.3 Testy motorických funkcí ... 14
6.3.1 Rotarod test ... 14
6.3.2 Beam walking test ... 14
6.4 Testování spontánní motorické aktivity ... 14
6.5 Testování parametrů chůze ... 14
6.6 Testování excitability CNS ... 15
6.7 Hodnocení přítomnosti retinální degenerace ... 15
6.8 Statistická analýza ... 16
7. VÝSLEDKY ... 16
7.1. Role vousů v kompenzaci zrakového deficitu u myší typu wild (WT) s intaktním mozečkem ... 16
7.1.1 Testy motorických funkcí ... 16
7.1.2 Spontánní motorická aktivita ... 18
7.1.3 Analýza parametrů chůze ... 19
7.1.4 Excitabilita CNS ... 22
7.2 Vliv olivocerebelární degenerace u myší typu Lurcher (Lc) na schopnosti kompenzace zrakového deficitu ... 22
7.2.1 Testy motorických funkcí ... 22
7.2.2 Spontánní motorická aktivita ... 24
7.2.3 Analýza parametrů chůze ... 25
7.2.4 Excitabilita CNS ... 27
8. DISKUZE ... 28
8.1 Role vousů v kompenzaci zrakového deficitu u myší typu wild (WT) s intaktním cerebellem ... 28
8.1.1 Vliv odstranění vousů na motorickou koordinaci a kontrolu chůze ... 28
8.1.2 Vliv vibrisotomie na spontánní motorickou aktivitu ... 30
8.1.3 Vliv odstranění vousů na excitabilitu CNS ... 30

8.2 Vliv olivocerebelární degenerace na schopnosti kompenzace zrakového deficitu u myší typu Lurcher 31
8.2.1 Vliv olivocerebelární degenerace na motorickou koordinaci a kontrolu chůze u modelu chronické a akutní vibrisotomie 31
8.2.2 Vliv olivocerebelární degenerace na spontánní motorickou aktivitu u modelu chronické a akutní vibrisotomie 32
8.2.3 Vliv olivocerebelární degenerace na excitabilitu CNS u modelu chronické a akutní vibrisotomie 32
9. ZÁVĚR 33
10. LITERATURA 34
11. PŘEHLED PUBLIKČNÍ ČINNOSTI AUTORA 39

2. SOUHRN

Senzorická deprivace některé z modalit vede k zefektivnění funkce zbývajících modalit prostřednictvím mechanizmů synaptické plasticity. Myši kmene C3H trpí retinální degenerací typu RD1, která způsobuje téměř úplné oslepnutí v mladém věku. Nezávisle na retinální degeneraci se u některých zvířat vyskytuje i olivocerebelární degenerace podmíněná mutací Lurcher. Toto neurodegenerativní postižení způsobuje postižení motoriky, vyšší excitabilitu CNS a změny synaptické plasticity.

Cílem této práce bylo zhodnotit roli vousů v kompenzaci zrakového deficitu a posoudit vliv olivocerebelární degenerace na tento kompenzační proces. Abychom odlišili roli vousů od ostatních mechanizmů, které se na kompenzaci mohou podílet, studovali jsme efekt dlouhodobé a akutní taktilní deprivace. Sledovali jsme motorické funkce (rotarod test, beam walking test), parametry chůze (CatWalk system), spontánní motorickou aktivitu (open field) a excitabilitu CNS (audiogenní epilepsie).

U vidících myší s intaktním mozečkem neměla vibrisotomie žádný efekt. U slepých zvířat bez mozečkové poruchy ovlivnila chronická taktilní deprivace parametry chůze a výsledky motorických testů. Taktilní informace z vousů mají pro kompenzaci slepoty zásadní význam, což ozřejmila akutní vibrisotomie, po níž došlo k výraznějším změnám parametrů chůze a ke zhoršení výsledků motorických testů. Chronická i akutní taktilní deprivace navodila u zvířat úzkostné chování. Pouze kombinace slepoty a chronické taktilní deprivace vedla ke zvýšení citlivosti sluchu.

U myší Lurcher s olivocerebelární degenerací ovlivnila chronická i akutní taktilní deprivace výsledky motorických testů a spontánní motorickou aktivitu nejen u slepých, ale i u vidících jedinců. Tato zjištění naznačují, že neurodegenerativní postižení narušuje nejenom krosmodální plasticitu, ale negativně ovlivňuje i senzorimotorickou integraci. Metoda audiogenní epilepsie odhalila zvýšenou citlivost sluchu u slepých chonicky taktilně deprivovaných myší. Tento nález může být vysvětlen přirozeně vyšší dráždivostí CNS u myší typu Lurcher.

.

3. SUMMARY

Sensory deprivation in one modality can enhance the development of the remaining modalities via mechanisms of synaptic plasticity. Mice of C3H strain suffers from RD1 retinal degeneration that leads to visual impairment at weaning age. Independently on the retinal degeneration there is also present olivocerebellar degeneration caused by Lurcher mutation. This neurodegenerative disorder causes motor deficits, increased CNS excitability as well as changes in synaptic plasticity.

The aim of this study was to evaluate a role of whiskers in compensation of the visual deficit and to assess the influence of the olivocerebellar degeneration on this process. To differentiate contribution of the whiskers from other mechanisms that can take part in the compensation, we investigated the effect of both chronic and acute tactile deprivation. We focused on motor skills (rotarod, beam walking test), gait control (CatWalk system), spontaneous motor activity (open field) and the CNS excitability (audiogenic epilepsy).

In the seeing mice without olivocerebellar degeneration, the removal of the whiskers had no effect. In the blind animals without olivocerebellar degeneration, chronic tactile deprivation caused changes in gait and impaired the performance in motor tests. Some other compensatory mechanisms were involved but the whiskers are essential because the acute removal of the whiskers revealed more marked change of gait and the worsening of the motor performance. Both chronic and acute tactile deprivation induced anxiety-like behaviour. Only a combination of blindness and chronic tactile deprivation led to an increased sense of hearing.

In both seeing and blind mice suffering from olivocerebellar degeneration, chronic as well as acute tactile deprivation influenced performance in the motor tests and spontaneous motor activity. This finding suggests that neurodegenerative process impairs not only cross-modal plasticity but also sensorimotor integration. Method of audiogenic epilepsy revealed increased sensitivity of hearing in the blind chronically tactile deprived mice. This finding could be explained with increased CNS excitability in the Lurcher mice.

4. ÚVOD A CÍL PRÁCE

Krosmodální reorganizace je fenomén, kdy je poškození nebo ztráta funkce některého ze smyslů kompenzována zvýšením efektivity zachovalých smyslů prostřednictvím mechanismů neuroplasticity. Vzhledem k významnému výskytu vrozených či v pozdějším věku získaných poruch zraku a sluchu u lidí, které značně ovlivňují kvalitu života, je studiu této problematiky věnována značná pozornost. U ztráty zraku jsou popsány kompenzatorní změny ve smyslu zvýšení citlivosti sluchu, hmatu a čichu, a to jak u zvířat, tak i u lidí. Potenciál krosmodální reorganizace a obecně neuroplasticity je nejvyšší v raném věku, s postupem času klesá.

Stárnutí, kromě klesajících kompenzačních schopností mozku, provází další negativní fenomén – výskyt neurodegenerativních onemocnění. Retinitis pigmentosa je geneticky heterogenní skupina progresivní retinální dystrofie, která vede k postupnému zániku fotoreceptorů sítnice. Je jednou z nejčastějších příčin dědičné ztráty zraku v rozvinutých zemích. Při výzkumu jsou zde často používány myší modely retinální degenerace; v současné době je známo 16 spontánních myších mutantů pro toto postižení.

U myšího kmene C3H se vyskytuje mutace typu Lurcher genu pro glutamátový receptor GluRδ2, kdy dochází k rozvoji olivocerebelární degenerace, a nezávisle na předchozí se navíc ještě vyskytuje retinální degenerace podmíněná mutací genu pro fosfodiesterásu *Pde6b*^{rd1}, která vede během prvního měsíce života k oslepnutí zvířat. Tento model je velice blízký lidské formě retinitis pigmentosa.

Naše předchozí experimenty odhalily, že slepota způsobená retinální degenerací neovlivňuje spontánní motorickou aktivitu ani kontrolu a způsob chůze u myší s nepostiženým mozečkem, ani u zvířat typu Lurcher s olivocerebelární degenerací. Jedním z možných vysvětlení toho pozorování bylo, že ztráta zraku je kompenzována prostřednictvím taktilních vjemů zprostředkovaných sinusovými chlupy neboli vousy.

Cíle této práce v jednotlivých bodech tedy jsou:

- posoudit roli vousů v kompenzaci zrakového deficitu způsobeného retinální degenerací u myšího modelu dlouhodobé taktilní deprivace,
- odlišit vliv kompenzace zprostředkované vousy od dalších mechanizmů, které se na kompenzaci slepoty mohou podílet, u myšího modelu akutní taktilní deprivace,
- zhodnotit vliv neurodegenerativního postižení na mechanizmy krosmodálni plasticity, které se uplatňují v kompenzaci zrakového deficitu.

Při řešení jsme hodnotili:

- motorické schopnosti zvířat rotarod testem a beam walking testem,
- parametry chůze za použití zařízení CatWalk system,
- chování v otevřeném poli,
- excitabilitu CNS metodou audiogenní epilepsie.

5. TEORETICKÝ ÚVOD

5.1 Krosmodální plasticita

Plasticita je specifická schopnost nervového systému se vyvíjet, měnit svoji strukturu a funkci a reagovat tak na změny vnitřního a zevního prostředí za fyziologických i patologických situací (Trojan a Pokorný, 1997; Kolb a spol, 2011). Je rozlišováno několik druhů neuroplasticity. Jako reparační plasticita je označována schopnost nervového systému obnovit svoji funkci porušenou zásahem do struktury nervového systému (Trojan a Pokorný, 1997).

V případě senzorické deprivace některé z modalit dochází ke kompenzatornímu zefektivnění utilizace modalit zbývajících (Rauschecker, 1995; Lazzouni a Lepore, 2014). Tento děj je také označován jako krosmodální plasticita a podle definice v Encyclopedia of Neuroscience (Holmes a spol., 2009) jde o neuroanatomické, neurofyziologické, percepční a behaviorální změny, které nastanou v jedné nebo více senzorických modalitách jako reakce na poškození jiné senzorické modality. U slepých lidí umožňuje kompenzatorní zvýšení taktilní citlivosti číst Braillovo písmo (Sterr a spol., 1998; Fujii a spol., 2009), je citlivější sluch (Lessard a spol., 1998; Roder a spol., 1999) a čich (Murphy a Cain, 1986). U hluchých lidí byly zjištěny změny ve zrakové percepci (Bavelier a spol., 2006; Bottari a spol., 2010). U řady živočišných druhů jsou pro taktilní orientaci důležité sinusové chlupy neboli vibrisy (Ahl, 1986; Rice a spol, 1986). U koček a myší bylo jako následek zrakové deprivace od narození pozorováno kompenzatorní zvýšení citlivosti vibris, jejich prodloužení a morfologické změny v somatosenzorickém kortexu (Rauschecker a spol., 1992).

Krosmodální kompenzatorní změny jsou výrazněji vyjádřeny, jestliže k deprivaci v příslušné modalitě došlo v důsledku vrozené poruchy nebo časně získané léze, nicméně jistá schopnost kompenzace je možná i v dospělém věku (Völgyi a spol., 1993; Sadato a spol., 2002; Petrus a spol., 2014).

5.2 Role vousů u hlodavců

Hmatové neboli sinusové chlupy, označované také jako vibrisy (latinsky vibrissae), jsou důležitou součástí taktilního senzorického aparátu u mnoha savců. Od běžného ochlupení (srsti) se liší tím, že jsou delší, silnější, mají větší folikuly, které jsou senzoricky bohatě inervované, a mají vlastní reprezentaci v somatosenzorickém kortexu (Ahl, 1986; Rice a spol, 1986) U potkanů a myší vychází z každého folikulu 100 – 200 aferentních senzorických vláken z osmi odlišných druhů mechanoceptorů (Rice a spol, 1986; Ebara a spol., 2002). Kmitání vousů, které je pozorováno zejména při lokomoci a exploraci, se označuje jako whisking. Tato činnost je důležitá pro neustálou aktualizaci informací o blízkém okolním prostředí (Kleinfeld a spol., 2006). Vousy jsou důležité pro prostorovou orientaci, lokalizaci objektů a určování vzdáleností či hloubky prostoru. (Knutsen a spol., 2005). Pokusy se slepými potkany prokázaly, že pro měření hloubky prostoru při přeskakování přes mezery v prostoru mají vousy důležitější roli než zrak. (Huston a Masterton, 1986). Významnou roli hrají vousy také při taktilní dikriminaci (Diamond a spol., 2008) a v sociálním chování (Strozik a Fesing, 1981).

5.3 Neurodegenerativní onemocnění

Stárnutí, kromě klesajících kompenzačních schopností mozku, provází další negativní fenomén – výskyt neurodegenerativních onemocnění. Jde o skupinu dědičných či sporadicky se vyskytujících chorob, které jsou charakterizovány progredující ztrátou nervových buněk vedoucí k dysfunkci nervového systému. Následkem je postižení kognitivních, emocionálních, motorických a senzorických funkcí. Mezi nejznámější patří Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba a amyotrofická laterální skleróza (Martin, 1999; Przedborski 2003). V etiologii neurodegenerativních procesů se uplatňuje celá řada vlivů, jejichž podíl se může vzájemně kombinovat (Rubinsztein 2006; Matěj a Rusina, 2012). V současnosti je standardem třídění neurodegenerací z biochemického hlediska do 8 skupin podle specifického proteinu patologicky ukládaného do mozkové tkáně (Matěj a Rusina, 2012).

U neurodegenerativních nemocí jsou též prokázány změny neuroplasticity (Dineley a spol., 2002; Arendt, 2004; Jacobsen a spol., 2006). Pro studium patogeneze a možností terapie neurodegenerativních onemocnění mají značný význam zvířecí modely. Nejčastěji jsou používány myši, jejichž obrovskou výhodou je existence transgenních modelů přesných lidských chorob (Jucker, 2010, Ribeiro a spol., 2013).

5.4 Retinitis pigmentosa

Retinitis pigmentosa je označení pro skupinu dědičných poruch, při nichž dochází k progredující degeneraci světločivných buněk a pigmentového epitelu oka. Výsledkem je postupná ztráta zraku. Celosvětově představuje jednu z nejčastějších progresivních retinálních onemocnění (Hartong a spol., 2006), její prevalence v Evropě a v USA je 1:3000 – 1:5000 (Weleber a spol., 2006). V průběhu rozvoje onemocnění jsou primárně postiženy tyčinky, v pozdějších stádiích dochází také k postižení čípků. Postižené fotoreceptory zanikají mechanizmem apoptózy (Marigo, 2007) Výsledkem procesu je redukce až plný zánik zevní nukleární vrstvy sítnice a pigmentová depozita (Bird, 1995).

Vzhledem ke značnému epidemiologickému významu je tomuto onemocnění ve výzkumu věnována značná pozornost. Výzkum je prováděn nejen v humánní medicíně, ale i za použití zvířecích modelů, zejména myších. Existuje 16 přirozeně se vyskytujících myších kmenů, u nichž v důsledku genetických mutací dochází k degeneraci fotoreceptorů sítnice při současném zachování všech ostatních buněk sítnice (Chang a spol., 2002).

5.5 Myši typu Lurcher

Mutantní myši typu Lurcher představují přirozený model geneticky podmíněné olivocerebelární degenerace. Poprvé popsány byly v roce 1960 R. J. S. Phillipsem (Phillips, 1960). Degenerace je důsledkem semidominantní mutace (*Grid2*^{Lc}) genu pro δ2 podjednotku glutamátového receptoru GluRδ2 (Phillips, 1960; Zuo a spol. 1997). V mozečku mají GluRδ2 receptory významnou roli v synaptogenezi a v synaptické plasticitě u dospělých jedinců, což je důležité pro ukládání nových motorických vzorců (Yazuki, 2004). Neurony zanikají procesem excitotoxické apoptózy (Zuo a spol. 1997).

Mutanti Lurcher jsou heterozygoti, u kterých postnatálně dochází k degeneraci a zániku Purkyňových, granulárních, Golgiho, hvězdicovitých a košíčkových buněk v mozečku a neuronů dolní olivy (Caddy a Biscoe, 1979; Zanjani a spol. 2006). Homozygotní jedinci (Grid2$^{Lc/Lc}$) nejsou životaschopní (Cheng a Heintz, 1997). Nepostižení homozygoti typu wild jsou zcela zdrávi a slouží jako ideální kontrolní zvířata v experimentech s mutanty typu Lurcher.

Nejnápadnějším projevem olivocerebelární degenerace je mozečková ataxie, která významně narušuje motorické funkce (Lalonde a spol. 1992; Thullier a spol., 1997) a narušuje kontrolu chůze a její vzorce (Cendelín a spol., 2010). Dále byla prokázána vyšší excitabilita CNS

(Cendelín a Vožeh, 1999) a změny synaptické plasticity (Barcal a spol., 2001; Yazuki, 2004).

5.6 Myší model retinální a olivocerebelární degenerace

Existuje řada myších kmenů s retinální degenerací typu retinitis pigmentosa a kmenů s olivocerebelární degeneraci. U myší kmene C3H se vyskytují obě tato neurodegenerativní onemocnění, a to nezávisle na sobě. Existují tedy vidící i slepí jedinci s olivocerebelární degenerací a vidící a slepá zvířata bez mozečkového postižení. Tento kmen je tedy vhodný jak ke studiu krosmodální plasticity, tak ke sledování vlivu neurodegenerativního postižení na neuroplasticitu.

Olivocerebelární degenerace je způsobena mutací *Grid2*^{Lc}. Retinální degenerace je autozomálně recesivně dědičné postižení typu *Pde6b*^{rd1}, který byl dříve také označován jako rd1. Tento model je velice blízký lidské formě retinitis pigmentosa (Lambiase a Aloe, 1996; Strettoi a spol, 2002). Do konce 4. týdne života odumírají prakticky všechny fotoreceptory (Carter-Dawson a spol., 1978). Výsledný stav negativně ovlivňuje zrakovou orientaci zvířat (Voller a spol., 2005). Zůstává však zachována schopnost suprese sekrece melatoninu jako odpověď na světelnou stimulaci. (Goto a Ebihara, 1990).

Při provádění behaviorálních pokusů zaměřených na parametry chůze a chování v otevřeném poli u vidících a slepých myší jsme nepozorovali žádné rozdíly, a to ani u myší typu wild s intaktním mozečkem, ani u mutantních myší Lurcher (Voller a spol., 2008).

6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Pokusná zvířata

Byly použity myši kmene C3H obou pohlaví z konvenčního chovu Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni. Pokusná zvířata byla získávána křížením samice typu wild (+/+) a samce typu Lurcher (+/Lc). Část zvířat obou typů byla nositelem mutace *Pde6b*^{rd1} , výsledkem byly tedy 4 skupiny zvířat: vidíci myši typu Lurcher, slepé myši typu Lurcher, vidící myši typu wild a slepé myši typu wild. Potrava a voda byly myším dostupné *ad libitum*. Teplota v chovném zařízení byla 22-24 ºC a vlhkost vzduchu 60-80 %. Cykly světlo a tmy se střídaly pravidelně po 12 hodinách (6-18/18-6).

6.2 Design studie

Abychom byli schopni studovat roli vousů v kompenzaci zrakového deficitu a odlišit jejich účast v tomto procesu od dalších mechanismů, které se na kompenzaci mohou podílet, sledovali jsme vliv jak chronické, tak akutní taktilní deprivace. U myší typu wild s nepostiženým cerebellem (WT) i u zvířat typu Lurcher (Lc) byly vytvořeny následující skupiny: 1 – intaktní zrak / zachované vousy (Rd- Wh); 2 - intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, (Rd- Wh/Lt); 3 - intaktní zrak / akutní taktilní deprivace (Rd- Wh/Ac); 4 – retinální degenerace / zachované vousy (Rd+ Wh), 5 – retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace (Rd+ Wh/Lt); 6 – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace (Rd+ Wh/Ac). Celkem tedy vzniklo 12 skupin zvířat. Protože naše předchozí experimenty neodhalily rozdíly ve výsledcích mezi samci a samicemi, byly ve skupinách použity myši obojího pohlaví v rovnoměrném zastoupení.

WT	Rd - Wh	Rd - Wh– /LT	Rd - Wh– /Ac	Rd + Wh	Rd + Wh– /LT	Rd + Wh– /Ac
Lc	Rd - Wh	Rd - Wh– /LT	Rd - Wh– /Ac	Rd + Wh	Rd + Wh– /LT	Rd + Wh– /Ac

Tab.1: experimentální skupiny: WT: typ wild s intaktním cerebelem, Lc: mutanti Lurcher. Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

U modelu dlouhodobé taktilní deprivace byly vousy stříhány pravidelně od 10. dne života až do až do začátku experimentů. U modelu akutní taktilní deprivace byly vousy ustřiženy den před zahájením pokusů.
Ve věku 3 měsíců byly zahájeny experimenty: 1. den testování motorických schopností a spontánní motorická aktivita v otevřeném poli, 2. den odpočinek, 3. den vyšetřování parametrů chůze a excitability CNS. Následně byla zvířata usmrcena předávkováním Thiopentalem a byly jim vyjmuty oči pro histologické vyšetření sítnice. V pokusu bylo použito celkem 153 myší ve věku kolem 3 měsíců (průměrný věk 90±4 dny), kdy je již u myší typu

Lurcher dokončen proces olivocerebelární degenerace. Počet zvířat v experimentálních skupinách byl 11-15.

6.3 Testy motorických funkcí

6.3.1 Rotarod test

Rotarod test slouží k vyšetřování motorické koordinace a motorického učení. Při vyšetření je zvíře umístěno na vrchol rotujícího válce a jeho úkolem je se udržet na válci a nespadnout, jde tedy o nucenou motorickou aktivitu (McIlwain a spol., 2001). Měřili jsme čas, po který jsou myši schopny udržet se na rotarodu, tzv. latence pádu (fall latence). Horní časový limit byl 120 sekund. Jestli byl tento čas dosažen, byl test ukončen. Myši podstoupily 4 cykly testování, pro každé zvíře byl spočítán průměrný čas.

6.3.2 Beam walking test

Beam walking test je určen k vyšetřování jemné koordinace pohybů a udržování rovnováhy zvířat. Tento test hodnotí schopnost zvířat udržet se na tenké kladině a přejít přes ni (Lalonde a spol., 1996). Jestliže se myš udržela na kladině 120 sekund, byl pokus ukončen. Myši podstoupily 4 cykly testování, pro každé zvíře byl spočítán průměrný čas latence pádu.

6.4 Testování spontánní motorické aktivity

Spontánní motorickou aktivitu jsme vyšetřovali metodou otevřeného pole (open field test, Hall, 1932), která je používána u potkanů a myší pro hodnocení lokomoční aktivity, explorace prostředí a slouží jako základní test pro hodnocení chování souvisejícího s anxietou. (Christmas a spol., 1970). Myš byla vložena do středu čtvercové arény a ponechána volně se pohybovat po dobu 5 minut. Sledovali délku trajektorie a relativní čas, který zvířata strávila v centrální zóně arény.

6.5 Testování parametrů chůze

Parametry chůze jsme testovali pomocí zařízení CatWalk (Noldus Information Technology bv, Nizozemsko), které je využíváno pro hodnocení chůze a rovnováhy např. při zkoumání ataxie (Cendelín a spol., 2010), či cévních mozkových příhod (Encarnacion a spol., 2011). Zvířata volně přecházejí po skleněné desce koridoru, který je zespodu snímán digitální kamerou, která zaznamenává došlapy končetin. Software následně umožňuje

kvantitativní analýzu statických a dynamických parametrů chůze (Hammers a spol, 2006).

Od každé myši bylo získáno 5 záznamů, při nichž zvíře překonalo koridor přímým směrem bez zatáčení a bez zastavení. Hodnoty z jednotlivých záznamů pro každé zvíře byly zprůměrovány. Hodnotili jsme následující parametry (pro snazší a přehlednější zpracování výsledků a grafů ponecháváme názvy parametrů v angličtině s náležitým českým vysvětlením v závorkách): walking speed (rychlost chůze v mm/s), regularity index (% pravidelných vzorců kroků), paw angle (úhel vytočení plosky končetiny od dlouhé osy koridoru v úhlových stupních), stride length (délka kroku v mm), stand (doba, po kterou je ploska v kontaktu s podložkou v s), swing (doba překmitu končetiny mezi jednotlivými došlápnutími na podložku v s), swing speed (rychlost překmitnutí končetiny mezi jednotlivými došlapy v m/s), base of support - BOS (vzdálenost mezi párem končetin v témže pletenci v mm), support (kombinace končetin, které jsou současně v kontaktu s podložkou v % doby chůze).

6.6 Testování excitability CNS

Excitabilitu CNS jsme testovali pomocí metody audiogenní epilepsie. Tato metoda je u potkanů a myší běžně používaným experimentálním přístupem zejména v epileptologii (Löscher, 1999). Audiogenní záchvaty jsou reflexní záchvaty provokované hlasitým zvukem. K hodnocení citlivosti CNS na zvukové podněty jsme použili protokol, který byl vypracován na Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni (Cendelín a Vožeh, 1999). Pokusné zvíře jsme vystavili zvukovému podnětu o hladině intenzity 90 dB. Maximální doba trvání stimulu byla 60 vteřin. Jestliže se však u myši došlo k výskytu křečí, byla stimulace ihned ukončena. Reakci zvířat na zvukový podnět jsme hodnotili na pětistupňové škále: 1 - žádná reakce nebo pouze orientačně-pátrací reakce; 2 - krátký běh nebo přerušované pobíhání; 3 - prudký běh, výskoky; 4 - výskyt tonicko-klonických křečí; 5 - křeče končící smrtí pokusného zvířete.

6.7 Hodnocení přítomnosti retinální degenerace

Přítomnost či absence retinální degenerace byla prokazována post mortem histologickým vyšetřením sítnic pomocí preparátů barvených hematoxylinem-eosinem.

6.8 Statistická analýza

U všech experimentů jsme jako základní provedli porovnání výsledků vidících versus slepých myší se zachovanými vousy, které se v chovu přirozeně vyskytují. Dále jsme v rámci skupin podle absence, či přítomnosti retinální degenerace porovnávali výsledky myší se zachovanými vousy oproti výsledkům jedinců vystavených buď chronické, nebo akutní taktilní deprivaci. Protože získaná data podle Kolmogorova-Smirnovova testu nevykazovala normální distribuci, použili jsme pro všechny parametry a experimentální skupiny neparametrický Mann-Whitney test s následnou Bonferroniho korekcí. Jako statisticky významné jsme považovali výsledky, kde $p<0,05$. Výsledky v grafech jsou vyjádřeny jako průměr ± SEM. Pro statistickou analýzu byl použit program GraphPad InStat 3.06 (San Diego, CA, USA).

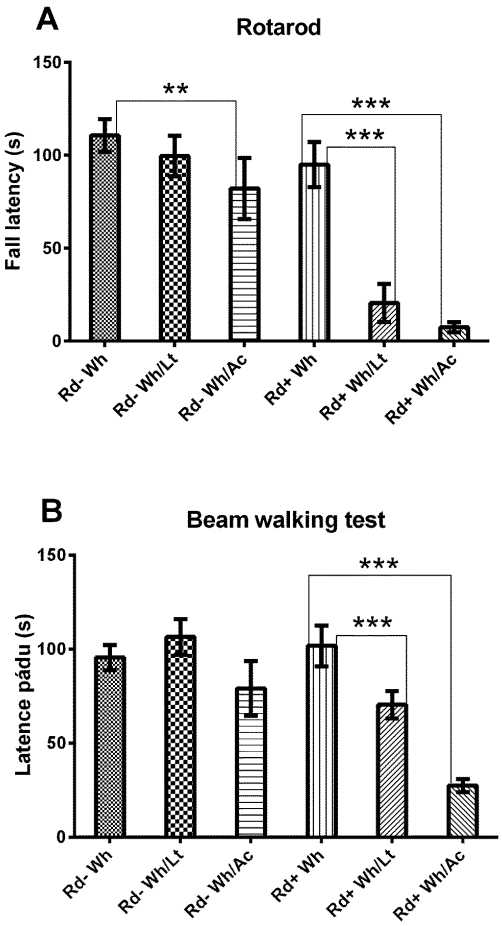
7. VÝSLEDKY

Ani u myší typu wild, ani u mutantů Lurcher nebyly v žádném z testů zjištěny rozdíly mezi vidícími a slepými zvířaty se zachovanými vousy. Rovněž jsme nepozorovali rozdíly mezi výsledky samců a samic.

7.1. Role vousů v kompenzaci zrakového deficitu u myší typu wild (WT) s intaktním mozečkem

7.1.1 Testy motorických funkcí

V rotarod testu byl u vidících myší pozorován vliv pouze akutní vibrisotomie, kdy měla zvířata kratší latenci pádu než kontrolní jedinci se zachovanými vousy ($p<0.01$). U slepých zvířat byly latence pádu kratší u chronické i akutní taktilní deprivace ($p<0.001$). V beam walking testu neměla u vidících myší vibrisotomie vliv na latence pádu. U slepých zvířat jsme pozorovali kratší latence u akutní i chronické ($p<0.001$) vibrisotomie (obr. 1A a B).

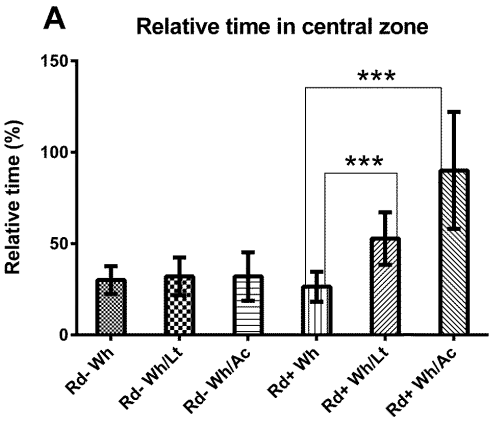


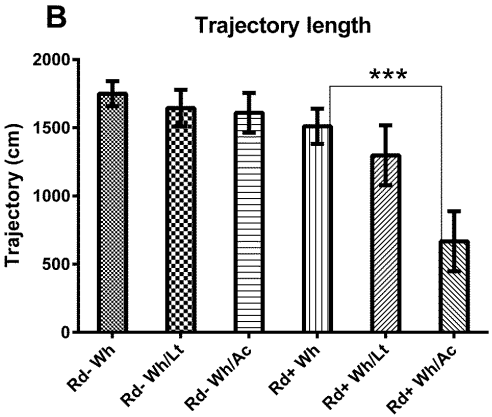
Obr. 1: Motorické funkce myší typu wild (WT) A – rotarod test, latence pádu (s); B – beam walking test, latence pádu (s). ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace /

dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

7.1.2 Spontánní motorická aktivita

V otevřeném poli jsme u myší s intaktním mozečkem nepozorovali rozdíly mezi skupinami vidících zvířat. U slepých myší strávila zvířata s chronickou i akutní taktilní deprivací delší dobu v centrální zóně arény ($p<0.001$). Myši s akutní vibrisotomií navíc ještě měly kratší ujitou vzdálenost ($p<0.001$) než kontrolní slepé myši se zachovanými vousy (obr. 2A a B).

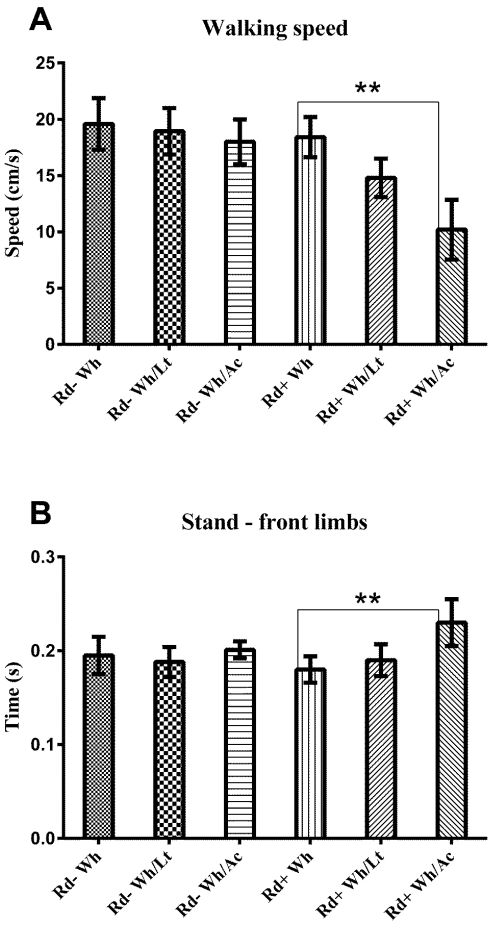


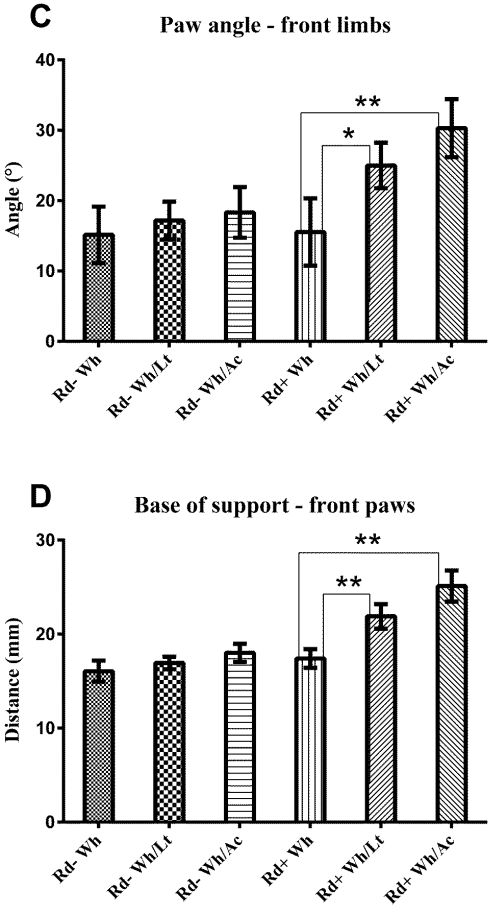


Obr. 2: Open field, myši typu wild (WT) A – relativní čas v centrální zóně (%); B – délka trajektorie (cm). *** $p < 0.001$. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

7.1.3 Analýza parametrů chůze

Statisticky významné rozdíly v parametrech chůze jsme zaznamenali pouze u slepých zvířat. Myši s chronickou taktilní deprivací měly větší úhel vytočení (paw angle) předních končetin ($p<0.05$) a širší bázi (base of support), rovněž předních končetin ($p<0.01$). Ve skupině zvířat s akutní vibrisotomií jsme pozorovali větší úhel vytočení a širší bázi předních končetin, nižší rychlost chůze a delší dobu kontaktu předních končetin (stand) s podložkou ($p<0.01$) (obr. 3A-D).

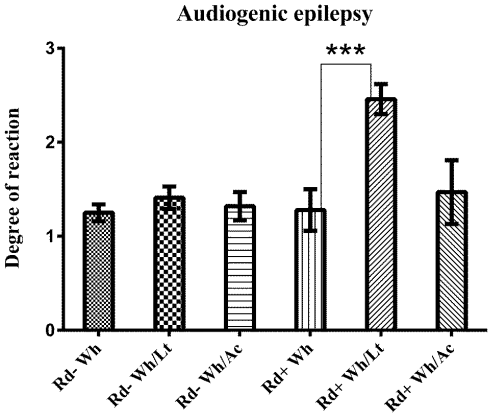

A
Walking speed
Speed (cm/s)
25
20
15
10
5
0
**
Rd- Wh
Rd- Wh/Lt
Rd- Wh/Ac
Rd+ Wh
Rd+ Wh/Lt
Rd+ Wh/Ac
B
Stand - front limbs
Time (s)
0.3
0.2
0.1
0.0
**
Rd- Wh
Rd- Wh/Lt
Rd- Wh/Ac
Rd+ Wh
Rd+ Wh/Lt
Rd+ Wh/Ac



Obr 3: Analýza chůze myší typu wild (WT) A - walking speed (cm/s); B – stand – přední končetiny (s); C - paw angle – přední končetiny (°); D - base of support – přední končetiny (mm). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

7.1.4 Excitabilita CNS

Metoda audiogenní epilepsie u vidících zvířat s intaktním cerebelem neprokázala vliv vibrisotomie na změny citlivosti ke zvukovému podnětu. U slepých myší byla zjištěna vyšší citlivost pouze v případě chronické vibrisotomie ($p<0,001$), akutní odstranění vousů ke změnám citlivosti nevedla (obr. 4).



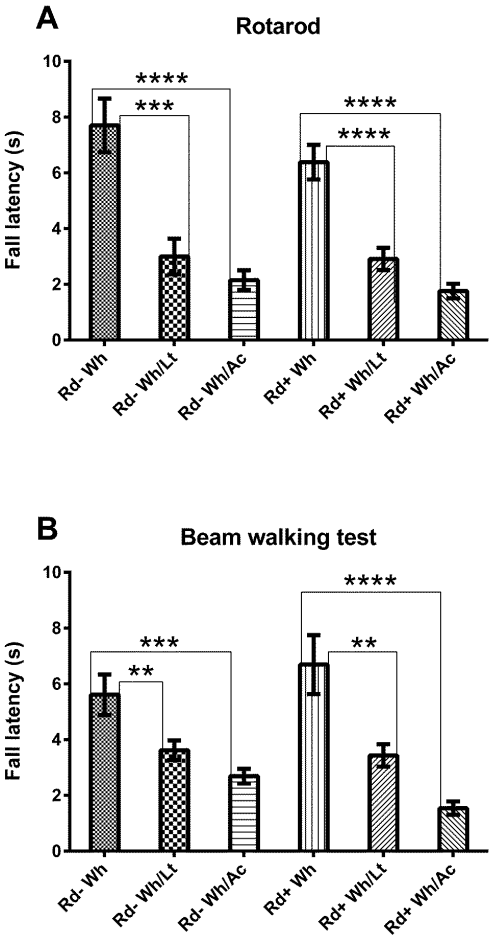
Obr.4: Audiogenní epilepsie (stupeň reakce) u myší typu wild (WT).
*** $p<0.001$. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

7.2 Vliv olivocerebelární degenerace u myší typu Lurcher (Lc) na schopnosti kompenzace zrakového deficitu

7.2.1 Testy motorických funkcí

V rotarod testu bylo u vidících myší pozorováno zkrácení latence pádu u chronické i akutní vibrisotomie ($p<0,001$ respektive $p<0,0001$). Stejný efekt jsme pozorovali i slepých myší v případě chronické i akutní

taktilní deprivace (p<0.0001). V beam walking testu vedla chronická i akutní deprivace ke zkrácení latence pádu jak u vidících myší (p<0,01 respektive p<0,001), tak i u zvířat s retinální degenerací (p<0,0001), (obr. 5A a B).

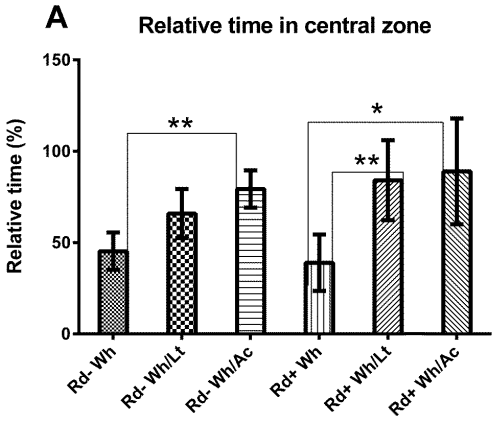


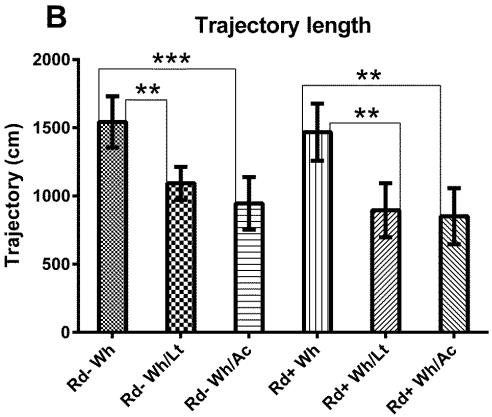
Obr. 5: Motorické funkce myší typu Lurcher (Lc) A – latence pádu (s) v rotarod testu; B – latence pádu (s) v beam walking testu. ** p<0.01,

*** p<0.001, **** p<0.0001. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

7.2.2 Spontánní motorická aktivita

V otevřeném poli u vidících myší Lurcher vedlo dlouhodobé stříhání vousů ke zkrácení trajektorie ve srovnání s jedinci se zachovanými vousy (p<0.01). Akutní taktilní deprivace se u vidících myší projevila zkrácením trajektorie (p<0.001) a delší strávenou relativní dobou v centrální zóně arény (p<0.01). U slepých myší vedla chronická i akutní vibrisotomie ke zkrácení trajektorie (p<0.01) a delší relativní době strávené v centrální zóně (p<0.01 respektive p<0.05), (obr. 6A a B).

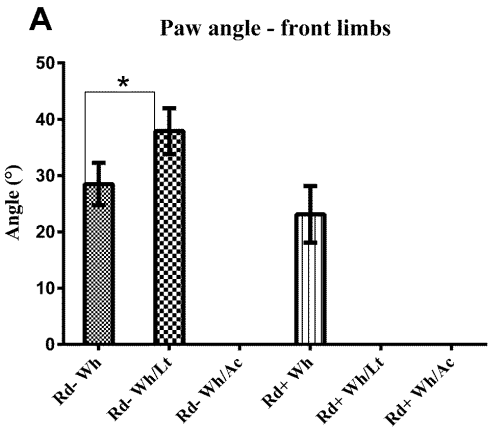


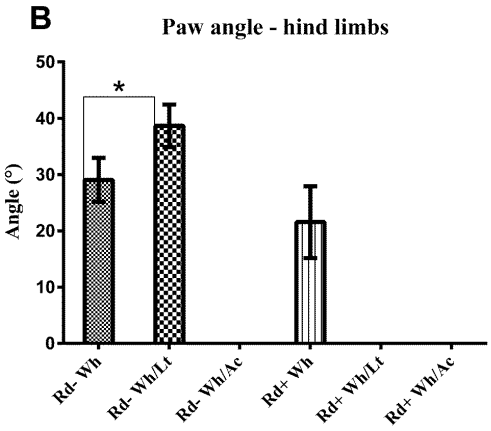


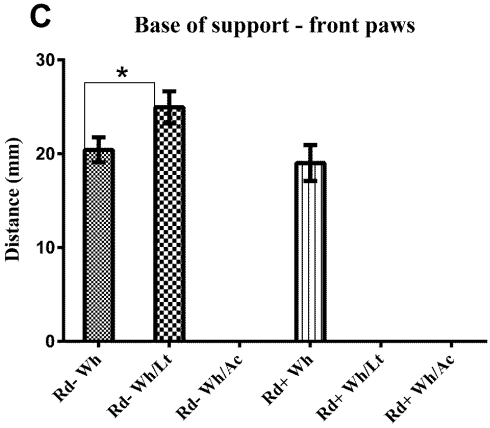
Obr. 6: Open field, myši typu Lurcher (Lc) A – relativní čas v centrální zóně (%); B – délka trajektorie (cm); * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

7.2.3 Analýza parametrů chůze

Analýza parametrů chůze byla možná pouze u vidících a slepých myší se zachovanými vousy a u skupiny vidících myší s pravidelně střihanými vousy. U vidících myší s akutní vibrisotomií a slepých myší s opakovanou i akutní vibrisotomíí nebylo možné parametry chůze analyzovat, protože se nepodařilo získat dostatečné množství zpracovatelných záznamů, tedy takových, kde myš překoná koridor zařízení CatWalk přímým směrem bez zatáčení a bez zastavení. Vidící myši s opakovanou vibrisotomií měly oproti vidícím zvířatům se zachovanými vousy větší úhel vytočení předních ($p<0.05$) i zadních končetin ($p<0.05$) a širší bázi předních končetin ($p<0.05$), (obr. 7A-C).


A
Paw angle - front limbs
Angle (°)
50
40
30
20
10
0
*
Rd- Wh
Rd- Wh/Lt
Rd- Wh/Ac
Rd+ Wh
Rd+ Wh/Lt
Rd+ Wh/Ac

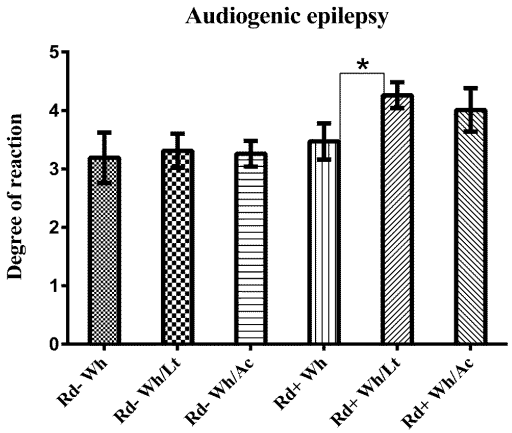

B
Paw angle - hind limbs
Angle (°)
50
40
30
20
10
0
*
Rd- Wh
Rd- Wh/Lt
Rd- Wh/Ac
Rd+ Wh
Rd+ Wh/Lt
Rd+ Wh/Ac



Obr 7: Analýza chůze myší typu Lurcher (Lc) A - paw angle – přední končetiny (°); B – paw angle – přední končetiny; C - base of support – přední končetiny (mm); * $p<0.05$. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

7.2.4 Excitabilita CNS

Metoda audiogenní epilepsie u vidících zvířat s olivocerebelární degenerací neprokázala vliv jak chronické, tak ani akutní vibrisotomie na změny citlivosti ke zvukovému podnětu. U slepých myší byla zjištěna vyšší citlivost v u skupiny myší vystavené chronické taktilní deprivaci ($p<0,05$), (obr. 8).



Obr.8: Audiogenní epilepsie (stupeň reakce) u myší typu Lurcher (Lc); ***p<0.05. Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM. Legenda: Rd- Wh: intaktní zrak / zachované vousy, Rd- Wh/Lt: intaktní zrak / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd- Wh/Ac: intaktní zrak / akutní taktilní deprivace, Rd+ Wh: retinální degenerace / zachované vousy, Rd+ Wh/Lt: retinální degenerace / dlouhodobá taktilní deprivace, Rd+ Wh/Ac: – retinální degenerace / akutní taktilní deprivace.

8. DISKUZE

8.1 Role vousů v kompenzaci zrakového deficitu u myší typu wild (WT) s intaktním cerebellem

8.1.1 Vliv odstranění vousů na motorickou koordinaci a kontrolu chůze

Stejně jako chronická, tak ani akutní taktilní deprivace po odstranění vousů neměla u myší s nepostiženým zrakem vliv na parametry chůze a nevedla ani ke změnám výsledků beam-walking testu. Ačkoliv taktilní impulsy z vousů hrají významnou roli v lokomoci a udržování rovnováhy jak na souši, tak i ve vodě (Ahl, 1982), je patrné, že intaktní zrak a tedy zachovaná možnost vizuomotorické koordinace jsou pro sledované vlastnosti dostačující. Kdyby nebyly žádné změny pozorovány pouze při

chronické taktilní deprivaci, mohli bychom předpokládat, že se při kompenzaci senzorického deficitu v důsledku vibrisotomie uplatnily kompenzační mechanismy krosmodální plasticity. Protože jsme však stejný výsledek zaznamenali i v případě akutní vibrisotomie, je pravděpodobné, že pro kontrolu chůze a udržování rovnováhy na kladině je dostatečná právě samotná vizuomotorická kontrola bez nutné účasti vousů.

U dospělých potkanů byly při vibrisotomii pozorovány změny držení těla a odlišný způsob přibližování čenichu k předmětům v okolí, tedy v tigmotaxi. (Mayer a Mayer, 1992). Stejnou asymetrii zaznamenali i Luhmann a spol. při experimentálních lézích „barrel" kortexu u myší. Zvířata s jednostrannou lézí vykazovala vyšší kontralaterální tigmotaxi hodnocenou prostřednictvím tzv. wall-scanningu. (Luhmann a spol., 2005).

Možným vysvětlením skutečnosti, že jsme při vyšetřování parametrů chůze nezjistili rozdíly ani u dlouhodobé, ani u akutní vibrisotomie ve srovnání s kontrolními zvířaty, je uspořádání pokusu při hodnocení chůze. Zaznamenávali jsme pouze plynulé přechody středem koridoru, takže v našich záznamech se tigmotaxe nijak neuplatňovala. Rovněž u beam-walking testu se tigmotaxe neuplatnila, protože zvířata přecházela úzkou lávku v otevřeném vyvýšeném prostoru beze stěn.

Jediný efekt vibrisotimie u vidících myší jsme pozorovali na rotarod testu, kde měla skupina vidících myší s akutně odstraněnými vousy horší výsledky. To je možné vysvětlit konstrukcí zařízení. Průměr rotujícího válce, na kterém myši chodily, je příliš malý, aby myš stojící na jeho vrcholu, mohla kontrolovat jeho povrch zrakem, a musí proto spoléhat na taktilní percepci. Při jejím náhlém odstranění dochází ke ztrátě orientace a koordinace pohybů s rotujícím válcem.

Výsledky testů se slepými zvířaty odhalily patrné rozdíly při dlouhodobé taktilní deprivaci ve srovnání s akutní. Z těchto rozdílů je patrné, že v případě kombinace dlouhodobé zrakové a taktilní deprivace, tedy ztrátě velice důležitých informačních vstupů pro senzorimotorickou integraci, se uplatnily i další mechanizmy, hrající roli v kontrole motorického systému (svalového tonu, postury, motorické kordinace). Lze předpokládat kompenzatorní krosmodální zvýšení efektivity systémů jako je propriocepce, vestibulární systém a somatosenzorická aferentace z končetin (Hasan a Stuart, 1998). Nicméně, naše výsledky svědčí pro skutečnost, že klíčovou roli v kompenzaci zrakového deficitu v motorických úlohách vyžadujících koordinaci pohybů a udržování rovnováhy hrají právě vousy, protože akutní vibrisotomie u slepých myší způsobila výraznější změny v parametrech chůze a ve výsledcích motorických testů.

8.1.2 Vliv vibrisotomie na spontánní motorickou aktivitu

Skutečnost, že u vidících myší nemá odstranění vousů, ať dlouhodobé, či akutní, vliv na délku trajektorie v otevřeném poli, svědčí pro to, že na krátké vzdálenosti je zrak pro orientaci postačující. A naopak, skutečnost, že slepá zvířata s vousy se chovají stejně jako vidící jedinci, potvrzuje fakt, že vousy jsou pro orientaci důležité. U myší s retinální degenerací je zachováno vnímání intenzity světla (Foster a spol, 1991), což spolu se zachovanou možností taktilní percepce pomocí vousů patrně vysvětluje rovněž stejnou relativní dobu strávenou v centrální zóně arény, která je otevřená a tudíž více osvětlená než periferní zóna při stěnách.

U slepých myší absence vousů chování v otevřeném poli významně ovlivnila. Chronická taktilní deprivace a ještě výrazněji deprivace akutní vedla u zvířat ke snížení motorické aktivity. Tento nález lze interpretovat jako projevy úzkostného chování, tzv. anxiety-like behaviour, které může být vysvětleno stresem navozeným senzorickou deprivací (Belzung a Griebel, 2001). Uspořádání testování v otevřeném poli, které jsme použili, slouží jako základní screening explorace nového prostředí a míry anxiety, a my jsme hodnotili pouze horizontální aktivitu zvířat, tedy jen dráhu a čas v různých oblastech arény. Sofistikovanější zařízení umožňují hodnotit i chování zvířat ve vertikální rovině, kdy je pomocí snímacích paprsků zaznamenáváno vzpřimování zvířat v průběhu pobytu v otevřeném poli (Crawley a Bailey, 2008). Je možné, že existují rozdíly ve vertikálním chování mezi zvířaty sledovaných skupin, v horizontální aktivitě jsme však u nich rozdíly nepozorovali, a naše laboratoř pro výše zmíněné komplexnější sledování vybavena není.

8.1.3 Vliv odstranění vousů na excitabilitu CNS

Testování excitability CNS pomocí metody audiogenní epilepsie neukázalo žádné změny u vidících myší jak u chronické, tak ani u akutní taktilní deprivace. U slepých zvířat se projevila zvýšená citlivost sluchového systému pouze v případě chronické taktilní deprivace, tedy v případě kombinovaného dlouhodobého deficitu zraku a hmatu z vousů. U slepých myší se zachovanými vousy jsme žádné změny oproti vidícím vousy nepozorovali. Tento náš nález je v rozporu s výsledky celé řady pozorování jak pokusných zvířat, tak i lidí, kde byly v případě slepoty bez dalších senzorických deficitů zaznamenány kompenzatorní změny ve smyslu zvýšení citlivosti sluchu jak na elektrofyziologické, tak i strukturální a behaviorální úrovni (Rauschecker a Korte, 1993; Yaka a spol., 1999; Piché a spol., 2007).

Skutečnost, že v naší práci jsme nezjistili zvýšení citlivosti u slepých myší se zachovanými vousy, lze patrně vysvětlit volbou metody

zkoumání citlivosti ke zvukovému podnětu. Metoda audiogenní epilepsie byla objevena náhodou ve dvacátých letech minulého století při studování podmíněných reflexů u myší, kdy se při použití zvukového podnětu při podávání krmení nečekaně objevily epileptické záchvaty (Vasiliev, 1924).
Na základě našich výsledků se zdá, že tato metoda není dostatečně citlivá, aby zaznamenala jemné změny ve sluchovém systému, které nejsou tak výrazné, jako jsme pozorovali v případě kombinovaného senzorického deficitu, a je tedy pro podobné sledování nevhodná. Je možné, že na behaviorální úrovni by se sledování kompenzatorních změn sluchu dalo lépe studovat pomocí metody acoustic startle reflex (ASR), což je nepodmíněná motorická reflexní reakce na náhlý krátce trvající zvukový podnět. Na rozdíl od námi použité metody audiogenní epilepsie a jejího vyhodnocení, lze u ASR charakter zvukového podnětu snadno modulovat a hodnocení motorické reakce je v moderních přístrojích, díky využití potenciometru, velice přesné a citlivé (Yeomans a Frankland, 1995).

8.2 Vliv olivocerebelární degenerace na schopnosti kompenzace zrakového deficitu u myší typu Lurcher

Přestože v teoretickém úvodu je v kapitole 5.3 zmíněn průkaz, že neurodegenerativní onemocnění negativně ovlivňuje neuroplasticitu, a v kapitole 5.5 je konkrétně popsán vliv olivocerebelární degenerace na synaptickou plasticitu u myší typu Lurcher, nenalezli jsme práce popisující vliv neurodegenerativních procesů na krosmodílní plasticitu, ani u lidí, ani u zvířecích modelů. Proto, na rozdíl od předchozí kapitoly 8.1 nemáme s čím naše výsledky a závěry z nich plynoucí porovnávat.

8.2.1 Vliv olivocerebelární degenerace na motorickou koordinaci a kontrolu chůze u modelu chronické a akutní vibrisotomie

U vidících myší typu Lurcher vedla jak chronická, tak i akutní taktilní deprivace ke zkrácení latencí v obou testech, tedy v rotarod testu a beam walking testu. Z této skutečnosti lze usuzovat, že olivocerebelární degenerace negativně ovlivňuje senzorimotorickou integraci. U slepých myší způsobila chronická i akutní vibrisotomie zkrácení latencí v obou testech, což je stejný jev, jako u skupiny myší typu wild. Z tohoto nálezu tedy nemůžeme hodnotit, zda neurodegenerativní postižení u myší typu Lurcher ovlivňuje možnosti krosmodální kompenzace.

Při vyšetřování parametrů chůze se nám kromě kontrolních skupin, tj. vidících a slepých myší se zachovanými vousy, podařilo analyzovat chůzi pouze u skupiny vidících zvířat s opakovaným stříháním vousů. U těchto myší způsobila opakovaná dlouhodobá vibrisotomie změny některých

parametrů chůze, což jsme u zvířat typu wild nepozorovali. Protože taktilní impulsy z vousů hrají významnou roli v lokomoci a udržování rovnováhy (Ahl, 1982), je zde patrné, že jejich absence nebyla, na rozdíl od myší typu wild, kompenzována, což svědčí pro postižení krosmodální plasticity. Skutečnost, že v případě vidících myší akutní, a v případě slepých chronická i akutní taktilní deprivace vedla k tak výrazným změnám charakteru chůze, že nebylo možné záznamy analyzovat, je tak dalším nepřímým potvrzením toho, že neurodegenerativní postižení negativně ovlivnilo schopnosti krosmodální plasticity. Parametry chůze těchto zvířat by mohlo jít analyzovat pomocí zařízení na principu šlapacího kola (treadmill), kde je na rozdíl od CatWalk systému zvířatům pohyb vnucen rotujícím válcem, v němž jsou uzavřena, a nemají tak možnost se zastavovat či výrazně měnit směr chůze.

8.2.2 Vliv olivocerebelární degenerace na spontánní motorickou aktivitu u modelu chronické a akutní vibrisotomie

V otevřeném poli jsme na rozdíl od myší typu wild pozorovali změny chování charakteru anxiety-like behaviour v důsledku stresu navozeného senzorickou deprivací nejen u slepých myší, ale i u vidících jedinců, a to v případě opakované i u akutní vibrisotomie. U neurodegenerativního postižení tedy samotný zrak bez náležitých taktilních informačních vstupů z vousů není plně dostačující k orientaci v neznámém prostředí, a absence taktilních vjemů vede k rozvoji stresu, což podporuje domněnku narušené senzorimotorické integrace.

8.2.3 Vliv olivocerebelární degenerace na excitabilitu CNS u modelu chronické a akutní vibrisotomie

Výsledky testování excitability CNS pomocí metody audiogenní epilepsie u myší typu Lurcher byly obdobné jako u myší typu wild. V případě kombinace zrakového deficitu a dlouhodobé taktilní deprivace jsme zaznamenali zvýšenou citlivost ke zvukovému podnětu. V tomto případě bychom mohli uvažovat o tom, že na tomto nálezu může mít podíl ta skutečnost, že myši typu Lurcher mají přirozeně zvýšenou citlivost ke zvukovým podnětům (Cendelín a Vožeh, 1999). Přesnější výsledky na behaviorální úrovni by mohlo poskytnout použití metody acoustic startle response, popřípadě na funkční úrovni též vyšetření sluchových evokovaných potenciálů.

9. ZÁVĚR

V první části práce se zvířaty typu wild jsme u modelu akutní a chronické taktilní deprivace metodou vibrisotomie prokázali významnou úlohu vousů v kompenzaci zrakového deficitu způsobeného retinální degenerací. Ostatní mechanizmy krosmodální plasticity jsou schopné částečné kompenzace v případě kombinované dlouhodobé zrakové a taktilní deprivace, ale jsou nedostatečné v případě náhlé taktilní deprivace u slepých dospělých jedinců. Tato pozorování se týkají některých motorických funkcí a kontroly chůze, zatímco spontánní motorická aktivita je ovlivněna jak chronickou, tak i akutní taktilní deprivací. Zvýšená citlivost k hlasitým zvukovým podnětům byla pozorována pouze v případě slepoty kombinované s chronickou taktilní deprivací.

Samotný zrak (spolu s ostatními mechanizmy), bez účasti vousů, je dostačující pro lokomotorické funkce. U slepých myší se vousy účastní kompenzace zrakového deficitu. V případě dlouhodobé zrakové a taktilní deprivace se kompenzace účastní i další mechanizmy kompenzace, což je patrné z odlišných výsledků akutní taktilní deprivace. U motorických funkcí vyžadujících koordinaci pohybů a u kontroly chůze hrají vousy klíčovou roli v kompenzaci zrakového postižení - ani dlouhodobá taktilní deprivace nevedla k plné kompenzaci prostřednictvím ostatních mechanizmů. Pro spontánní aktivitu v otevřeném poli jsou zrak a vousy nepostradatelné. Citlivost CNS ke zvukovým podnětům není ovlivněna samotnou zrakovou, nebo taktilní deprivací. Pro kompenzatorní zvýšení citlivosti sluchu musí dlouhodobá zraková a taktilní deprivace působit současně.

Ve druhé části práce jsme sledovali vliv neurodegenerativního postižení na výše popsané kompenzační mechanizmy u modelu chronické a akutní taktilní deprivace v případě myší Lurcher. Změny chování slepých zvířat po chronické i akutní vibrisotomii v motorických testech, při analýze parametrů chůze a v otevřeném poli dokládají, že neurodegenerativní postižení snižuje kompenzační schopnosti prostřednictvím mechanizmů krosmodální plasticity. V těchto experimentech jsme, na rozdíl od myší typu wild snepostiženým mozečkem, u myší Lurcher pozorovali vliv chronické i akutní taktilní vibrisotomie též u vidících myší, což nasvědčuje tomu, že olivocerebelární degenerace negativně ovlivňuje senzorimotorickou integraci. Při testování excitability CNS jsme pozorovali její zvýšení v případě kombinace slepoty a dlouhodobé taktilní deprivace, což může být důsledkem přirozeně vyšší dráždivosti CNS jako projevu olivocerebelární degenerace.

V práci jsme odhalili limity některých metod, ať se jedná o uspořádání experimentu (CatWalk systém), nebo citlivost metody (audiogenní epilepsie), a diskutovali jsme možnosti, jak tyto nedostatky eliminovat pomocí použití jiných testů. Studium krosmodální plasticity a

zejména její ovlivnění neurodegenerativním postižením CNS potřebuje důkladnější studium, pro které muže být tato práce východiskem.

10. LITERATURA

1. Ahl, A.S.: Evidence of use of vibrissae in swimming in Sigmodon fulviventer. Anim. Behav. 30: 1203–1206, 1982.
2. Ahl, A.S.: The role of vibrissae in behavior - a status review. Veterinary Research Communications. 10(4), 245-268, 1986.
3. Arendt, T.: Neurodegeneration and plasticity. Int J Dev Neurosci. Nov;22(7):507-14, 2004.
4. Barcal, J., Vožeh, F., Žalud, V.: Hippocampal electrical activity in two strains of Lurcher mutant mice. Homeostasis. 41(5): 200-202, 2001.
5. Bavelier, D., Dye, M. W. G., Hauser, P. C.: Do deaf individuals see better? Trends in Cognitive Sciences. 10, 512–518, 2006.
6. Belzung, C., Griebel, G.: Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: A review. Behavioural Brain Research. 125:141–149, 2001.
7. Bird, A.C.: Retinal photoreceptor dystrophies. Edward Jackson Memorial Lecture. Am. J. Ophthalmol. 119:543, 1995.
8. Bottari, D., Nava, E., Ley, P., Pavani, F.: Enhanced reactivity to visual stimuli in deaf individuals. Restorative Neurology and Neuroscience. 28, 167–179, 2010.
9. Caddy, K.W.T., Biscoe, TJ.: Structural and quantitative studies on the normal C3H and Lurcher mutant mouse. Philos Trans R Soc London Ser B Biol Sci. 287:167-201, 1979.
10. Carter-Dawson, L.D., LaVail, M.M., Sidman, R.L.: Differential effect of the rd mutation on rods and cones in the mouse retina. Invest Ophthalmol Vis Sci. 17:489–498, 1978.
11. Cendelín, J., Vožeh, F.: Assessment of CNS excitability in natural model of cerebellar degeneration. Homeostasis. 39: 3-4, 1999.
12. Cendelín, J., Voller, J., Vožeh, F.: Ataxic gait analysis in a mouse model of the olivocerebellar degeneration. Behavioural Brain Res. 2010.
13. Crawley, J.N., Bailey, K.R.: Chapter 5. Anxiety-Related Behaviors in Mice. Methods of Behavior Analysis in Neuroscience, Second Edition. CRC Press, 2008.
14. Diamond, M.E., von Heimendahl, M., Arabzadeh, E.: Whisker-mediated texture discrimination. PLoS Biol. 6(8), e220, 2008.

15. Dineley, K.T., Xia, X.F., Bui, D., Sweatt, J.D., Zheng, H.: Accelerated plaque accumulation, associative learning deficits, and up-regulation of alpha 7 nicotinic receptor protein in transgenic mice co-expressing mutant human presenilin 1 and amyloid precursor proteins. Journal of Biological Chemistry. 277:22768-22780, 2002.
16. Ebara, S., Kumamoto, K., Matsuura, T., Mazurkiewicz, J.E., Rice, F.L.: Similarities and differences in the innervation of mystacial vibrissal follicle–sinus complexes in the rat and cat: A confocal microscopic study. The Journal of Comparative Neurology. 449 (2): 103–119, 2002.
17. Encarnacion, A., Horie, N., Keren-Gill, H., Bliss, T.M., Steinberg, G.K., Shamloo, M.: Long-term behavioral assessment of function in an experimental model for ischemic stroke. Journal of Neuroscience Methods. 196. 247-257, 2011.
18. Foster, R.G., Provencio, I., Hudson, D., Fiske, S., De Grip, W., Menaker, M.: Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (rd/rd). J Comp Physiol A. 169(1):39-50, 1991.
19. Fujii, T., Tanabe, H.C., Kochiyama, T., Sadato, N.: An investigation of cross-modal plasticity of effective connectivity in the blind by dynamic causal modeling of functional MRI data. Neurosci Res. Oct;65(2):175-86, 2009.
20. Goto, M., Ebihara, S.: The influence of different light intensities on pineal melatonin content in the retinal degenerate C3H mouse and the normal CBA mouse. Neurosci Lett. 108:267–272, 1990.
21. Hall, C.S.: Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. Journal of Comparative Psychology. 18 (3):385–403, 1934.
22. Hamers, F.P., Koopmans, G.C., Joosten, E.A.: CatWalk-Assisted Gait Analysis in the Assessment of Spinal Cord Injury. J Neurotrauma. 23: 537-548, 2006.
23. Hartong, D.T., Berson, E.L., Dryja, T.P.: Retinitis pigmentosa. Lancet. 368(9549):1795-809, 2006.
24. Hasan, Z., Stuart, D.G.: Animal solutions to problems of movement control: the role of proprioceptors, Annu Rev Neurosci. 11:199–223, 1988.
25. Holmes, N.P., Calvert, G.A., Spence, C.: Multimodal integration. In: Binder MD, Hirokawa N, Windhorst U (eds) Encyclopedia of Neuroscience. Springer. 2009.
26. Hutson, K.A., Masterton, R.B.: The sensory contribution of a single vibrissa's cortical barrel. J Neurophysiol. 56:1196-1223, 1986.
27. Chang, B., Hawes, N.L., Hurd, R.E., Davisson, M.T., Nusinowitz, S., Heckenlively, J.R.: Retinal degeneration mutants in the mouse. Vision Res. 42(4):517-25, 2002.

28. Cheng, S.S., Heintz, N.: Massive loss of mid- and hindbrain neurons during embryonic development of homozygous Lurcher mice. J Neurosci. 17:2400-2407, 1997.
29. Christmas, A.J., Maxwell, D.R.: A comparison of the effects of some benzodiazepines and other drugs on aggressive and exploratory behaviour in mice and rats. Neuropharmacology. 9 (1):17–29, 1970.
30. Jacobsen, J.S., Wu, C.C., Redwine, J.M., Comery, T.A., Arias, R., Bowlby, M., Martone, R., Morrison, J.H., Pangalos, M.N., Reinhart, P.H., Bloom, F.E.: Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci USA. 103:5161-5166, 2006.
31. Jucker, M.: The benefits and limitations of animal models for translational research in neurodegenerative diseases. Nat Med. 16(11):1210-4, 2010.
32. Kleinfeld, D., Ahissar, E., Diamon, M.E.: Active sensation: insights from the rodent vibrissa sensorimotor system. Current Opinion in Neurobiology. 16:435–444, 2006.
33. Knutsen, P.M., Derdikman, D., Ahissar, E.: Tracking whisker and head movements in unrestrained behaving rodents. J Neurophysiol. 93:2294-2301, 2005.
34. Kolb, B., Muhammad, A., Gibb, R.: Searching for factors underlying cerebral plasticity in the normal and injured brain. J Commun Disord. Sep-Oct;44(5):503-14, 2011.
35. Lalonde, R., Botez, M.I., Joyal, C.C., Caumartin, M.: Motor abnormalities in Lurcher mutant mice. Physiol Behav. 51: 523-525, 1992.
36. Lalonde, R., Joyal, C.C., Thifault, S.: Beam sensorimotor learning and habituation to motor activity in lurcher mutant mice. Behav Brain Res. 74(1-2): p. 213-6, 1996.
37. Lambiase, A., Aloe, L.: Nerve growth factor delays retinal degeneration in C3H mice. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 234 Suppl 1:S96-100, 1996.
38. Lazzouni, L., Lepore, F.: Compensatory plasticity: time matters. Front Hum Neurosci. Jun 12;8:340, 2014.
39. Lessard, N., Pare, M., Lepore, F., Lassonde, M.: Early-blind human subjects localize sound sources better than sighted subjects. Nature. 395:278–280, 1998.
40. Löscher, W.: Animal Models of Epilepsy and Epileptic Seizures. Handbook of Experimental Pharmacology Volume. 138, pp 19-62, 1999.
41. Luhmann, H.J., Huston, J.P., Hasenöhrl, R.U.: Contralateral increase in thigmotactic scanning following unilateral barrel-cortex lesion in mice. Behav Brain Res. 157(1):39-43, 2005.

42. Marigo, V.: Programmed cell death in retinal degeneration: targeting apoptosis in photoreceptors as potential therapy for retinal degeneration. Cell Cycle. 6(6), 652-655, 2007.
43. Martin, J.B.: Molecular basis of the neurodegenerative disorders. N Engl J Med. 340(25):1970-1980, 1999.
44. Matěj R., Rusina R.: Neurodegenerativní onemocnění: přehled současné klasifikace a diagnostických neuropatologických kritérií. Čes.-slov. Patol.. 48, No. 2, p. 83-90, 2012.
45. McIlwain, K.L., et al.: The use of behavioral test batteries: effects of training history. Physiol Behav. 73(5): p. 705-17, 2001.
46. Meyer, M. E., Meyer, M. E.: The Effects of Bilateral and Unilateral Vibrissotomy on Behavior within Aquatic and Terrestrial Environments. Physiology & Behavior. 51(4): 877-880, 1992.
47. Murphy, C., Cain, W. S.: Odor identification: Theblind are better. Physiology & Behavior. 37, 177–180, 1986.
48. Petrus, E., Isaiah, A., Jones, A. P., Li, D., Wang, H., Lee, H. K., et al. Crossmodal induction of thalamocortical potentiation leads to enhanced information processing in the auditory cortex. Neuron 81, 664–673. doi: 10.1016/j.neuron.2013.11.023. 2014.
49. Phillips, R.J.S.: "Lurcher", a new gene in linkage group XI of the house mouse. J Genet. 57:35-42, 1960.
50. Piché, M., Chabot, N., Bronchti, G., Miceli, D., Lepore, F., Guillemot, J.P.: Auditory responses in the visual cortex of neonatally enucleated rats. Neuroscience. 145(3):1144-56, 2007.
51. Przedborski, S., Vila, M., Jackson-Lewis, V.: Series Introduction: Neurodegeneration: What is it and where are we?. J Clin Invest. 111(1): 3–10, 2003.
52. Rauschecker, J., Tian, B., Korte, M., Egert, U.: Crossmodal changes in the somatosensory vibrissa/barrel system of visually deprived animals. Proc Natl Acad Sci USA. 89:5063–5067, 1992.
53. Rauschecker, J.P., Korte, M.: Auditory compensation for early blindness in cat cerebral cortex. J Neurosci. Oct;13(10):4538-48, 1993.
54. Rauschecker, J.P.: Compensatory plasticity and sensory substitution in the cerebral cortex. Trends Neurosci. 18: 36–43, 1995.
55. Ribeiro, F.M., Camargos, E.R., de Souza, L.C., Teixeira, A.L.: Animal models of neurodegenerative diseases. Rev Bras Psiquiatr. 35 Suppl 2:S82-91, 2013.
56. Rice, F.L.; Mance, A. Munger, B.L.: A comparative light microscopic analysis of the sensory innervation of the mystacial pad. I. Innervation of vibrissal follicle-sinus complexes. The Journal of Comparative Neurology. 252 (2): 154–174, 1986.

57. Roder, B., Teder-Salejarvi, W., Sterr, A., Rosler, F., Hillyard, S. A., Neville, H. J.: Improved auditory spatial tuning in blind humans. Nature. 400, 162–166, 1999.
58. Rubinsztein, D.C.: The roles of intracellular protein-degradation pathways in neurodegeneration. Nature. 443 (7113): 780–6, 2006.
59. Sadato, N., Okada, T., Honda, M., Yonekura, Y.: Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study. Neuroimage. Jun;16(2):389-400, 2002.
60. Sterr, A., Müler, M.M., Elbert, T., Rockstroh, B., Pantev, C., Taub, E.: Changed perceptions in Braille readers. Nature. 391:134–135, 1998.
61. Strettoi, E., Porciatti, V., Falsini, B., Pignatelli, V., Rossi, C.: Morphological and functional abnormalities in the inner retina of the rd/rd mouse. J Neurosci. 1;22(13):5492-504, 2002.
62. Strozik, E., Festing, M.F.W.: Whisker trimming in mice. Lab Anim. 15:309–12, 1981.
63. Thullier, F., Lalonde, R., Cousin, X., Lestienne, F.: Neurobehavioral evaluation of lurcher mutant mice during ontogeny. Dev. Brain Res. 100(1): 22-28, 1997.
64. Trojan, S., Pokorný, J.: Teoretický a klinický význam neuroplasticity. Bratislavske lekarske listy. 98(12), 667–673, 1997.
65. Vasiliev, G.A.: Concerning the mechanism of the "Parfenov reaction". Russian Physiological Journal 6 issue 4–6:74–81, 1924.
66. Völgyi, B., Farkas, T., Toldi, J.: Compensation of a sensory deficit inflicted upon newborn and adult animals. A behavioural study. Neuroreport. 4(6):827-9, 1993.
67. 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. 106:85–90., 2005.
68. Voller, J., Cendelín, J., Vožeh, F.: Gait analysis of the C3H strain mice using the CatWalk, COST B30-Neuronal regeneration and plasticity. 5th Menagement Committee Meeting and 4-th Working Groups Meeting in Bilbao. April 11-12, 2008.
69. Weleber, R.: Retinitis pigmentosa and allied disorders. In: Ryan, S., Ogden, T., Schachat, A., eds.: Retina. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc. 334-40, 1994.
70. Yaka, R., Yinon, U., Wollberg, Z.: Auditory activation of cortical visual areas in cats after early visual deprivation. Eur J Neurosci. Apr;11(4):1301-12, 1999.
71. Yeomans, J.S., Frankland, P.W.: The acoustic startle reflex: neurons and connections. Brain Res Brain Res Rev. 21(3):301-14, 1995.

72. Yuzaki, M.: The delta2 glutamate receptor: a key molecule controlling synaptic plasticity and structure in Purkinje cells. Cerebellum. 3(2):89-93, 2004.
73. Zanjani, S.H., Selimi, F., Vogel, M.W., Haeberle, A.M., Boeuf, J., Mariani, J., Bailly, Y.J.: Survival of interneurons and parallel fiber synapses in a cerebellar cortex deprived of Purkinje cells: studies in the double mutant mouse Grid2Lc/-;Bax−/−. J Comp Neurol. 497:622-635, 2006.
74. Zuo, J., De Jager, P.L., Takahasi, K.J., Jiang, W., Linden, D.J., Heintz, H.: Neurodegeneration in Lurcher mice caused by mutation of δ2 glutamate receptor gene. Nature. 388:769-773, 1997.

11. PŘEHLED PUBLIKČNÍ ČINNOSTI AUTORA

1. **Voller, J.**, Potužáková, B., Šimeček, V., Vožeh, F.: The role of whiskers in compensation of visual deficit in a mouse model of retinal degeneration. Neurosci Lett. 558:149-53, 2014. (**IF= 2.055**)
2. Cendelín, J., **Voller, J.**, Vožeh, F.: Ataxic gait analysis in a mouse model of the olivocerebellar degeneration. Behav Brain Res. 210(1): 8-15, 2010. (**IF= 3.629**)
3. **Voller, J.**, Doněk, A., Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.: The effect of D1-like receptor blockade on motor functions and spatial learning in B6CBA mice. Prague Med. Rep. 109(1): 32-39, 2008.
4. 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
5. **Voller, J.**, Cendelín, J., Tonar, Z., Korelusová, I., Vožeh, F.: Functional consequences of retinal degeneration in spatial orientation in spatial orientation in C3H wild type and Lurcher mutant mice. Prague Med. Rep. 106(1): 85-90, 2005
6. Cendelín J, **Voller, J.**, Zalud V, Vozeh F.: Spatial learning in two strains of Lurcher mice exposed to high frequency electromagnetic fields. Cesk. Fysiol. 52(2):90-1, 2003.
7. **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 in health and disease. 42(5): 225-229, 2003.
8. Vožeh, F., Cendelín, **J., Voller**, J., Schmidtmayerová, B., Štenglová, V., Jelinková, 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 in Health and Disease. 42 (5): 236-239, 2003.

9. 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 in health and disease. 41(5): 206-208, 2001.

Přednášky na odborných setkáních

1. 40. Mezioborová konference o klinickém a experimentálním výzkumu vyšších nervových funkcí, Plzeň, 2004: Role degenerace sítnice v prostorové orientaci u zdravých a neurodefektních myší kmene C3H. **Voller J.**, Cendelín J., Tonar Z., Vožeh F.
2. 14. Neurooontogenetický diskusní den, Praha, 2004: Funkční následky retinální degenerace pro prostorovou orientaci myší typu Wild a Lurcher kmene C3H. **Voller, J.**, Cendelín, J., Vožeh, F.
3. CIANS Conferrence Brno, 2007: The effect of D1 like receptor blockade on motor functions, spatial learning and CNS excitability in B6CBA mice. **Voller, J.**, Doněk, A., Cendelín, J., Korelusová, I., Vožeh, F.
4. 84. Fyziologické dny, Martin, Slovensko, 2008: Motorické projevy olivocerebelární a retinální degenerace u mutantních myší typu Lurcher kmene C3H. **Voller, J.**, Cendelín, J., Vožeh, F.
5. COST B30 MC and WGs meeting, Bilbao, Španělsko 2008: Gait analysis of the C3H strain mice using the CatWalk system. **Voller, J.**, Cendelín, J., Vožeh, F.
6. 17. konference českých a slovenských patofyziologů, Praha, 2008: Praktická výuka patofyziologie na Lékařské fakultě UK v Plzni. **Voller, J.**, Vožeh, F.
7. 21. Neuroontogenetický diskusní den, Praha, 2011: Role hmatových vousů v kompenzaci zrakového postižení u myšího modelu retinální degenerace. **Voller, J.**, Potužáková, B., Šimeček, V., Vožeh, F.
8. 52. Studentská vědecká konference LF UK v Plzni, 2012: Role hmatových vousů v kompenzaci zrakového postižení u myšího modelu retinální degenerace. **Voller, J.**, Potužáková, B., Šimeček, V.