

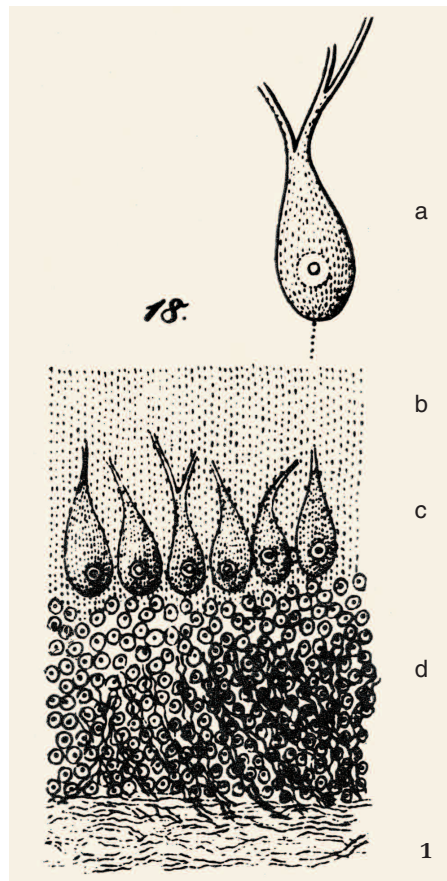
Jan Evangelista Purkyně a mozeček dříve a dnes

Není snadné při známém mnohostranném působení J. E. Purkyně v biologických a medicínských vědách posoudit, ve které jejich oblasti byl jeho přínos největší. Dost možná, díky svému odbornému zaměření, preferuji v tomto hodnocení nervový systém, který zde kladu na první místo. A kdyby snad s tím někdo z posuzovatelů díla tohoto našeho vědce, lékaře, ale i veřejného činitele nesusouhlasil, musel by alespoň uznat, že objevy J. E. Purkyně, především v oblasti centrálního nervového systému, patří k jeho nejvýznamnějším a celosvětově nejznámějším. A jestliže budeme dále hodnotit a oceňovat jeho světovost v tomto směru, musíme udělat rovnítko mezi jménem Purkyně a nejvýznamnějšími nervovými buňkami v mozku, resp. v mozečku. Jan Evangelista je jako první na světě uvídl, v r. 1837 také popsal i vlastnoručně znázornil (obr. 1) a na své pražské přednášce představil odborné veřejnosti. Tehdejší nejvýznamnější badatelé v oblasti nervového systému mu poté projevili nejvyšší uznání tím, že se od té doby tyto neurony nazývají Purkyňovými buňkami a dodnes patří k nejčastěji citovaným odborným termínům medicínské literatury ve světě vůbec.

Stavba a funkce mozečku

Mozeček (*cerebellum*) má to štěstí, že je příkladem mozkové struktury, která bývá dobře známa i široké veřejnosti, a to zejména díky jeho textuře, na řezech připomínající biblický strom života (obr. 3). A také Purkyňovy buňky se svými typicky keříčkovitě uspořádanými dendrity (výběžky vedoucí impulzy směrem do buňky) patří k nejkrásnějším výtvarům živé přírody (obr. 2). Přestože mozeček, ležící v zadní jámě lebni, vývojově patří k zadnímu mozku (vedle prodloužené míchy a Varolova mostu), objemově představuje pouze zlomek celého mozku. Na druhé straně platí, že kůra mozečku obsahuje více neuronů než kortex (kůra) velkého mozku a díky bohaté členitosti tomu odpovídá i její plocha. Na rozdíl od vcelku nepřilíživě zřetelně oddělených 6 korových vrstev velkého mozku kůra mozečku obsahuje pouze tři vrstvy (molekulární, ganglionární a granulórní), velmi dobře patrné, které na svých nákresech zobrazil i Purkyně. Podobně jako velký mozek také mozeček má na svém povrchu šedou hmotu – kůru tvořenou převážně nervovými buňkami, a vespod hmotu bílou obsahující většinou nervová vlákna. Uvnitř té jsou izolované nakupeniny šedé hmoty zvané mozečková jádra. Anatomicky mozeček tvoří dvě hemisféry a mezi nimi ležící *vermis* (červ). Z funkčně vývojového pohledu rozeznáváme tři části mozečku. Podle nervových vláken, odkud převážně přicházejí, jsou to: nejstarší vestibulární mozeček (*archicerebellum*, se spojí z vestibulárních jader), vývojově mladší spinální mozeček (*paleocerebellum*, s dráhami z páteřní míchy) a nejmladší korový mozeček (*neocerebellum*, s aferentací – dostředivými

spoji – zejména z mozkové kůry). *Archicerebellum* ve spolupráci s rovnovážným ústrojím vnitřního ucha přispívá k udržování stoje a rovnováhy, *paleocerebellum* se podílí především na regulaci svalového tonu a *neocerebellum*, ve vzájemné kooperaci s motorickými oblastmi velkého moz-



ku, zajišťuje koordinaci pohybů a tvorbu hybných stereotypů.

Komu by se zdálo, že to není mnoho, když kromě uvedených spojů má mozeček ještě řadu dalších dvoustranných spojení s jinými významnými částmi mozku, vedle již zmíněného vysokého funkčního potenciálu daného obrovským počtem neuronů, nemylil by se. Od počátku 90. let 20. stol. se totiž na základě experimentálně získaných poznatků, ale i klinických pozorování začal prosazovat názor, že vedle výše uvedených tradičních funkcí se mozeček uplatňuje také ve vyšších nervových funkcích spojených s učením (nejen motorickým, jak někteří badatelé po určité době byli ochotni připustit), paměti a poznávacími aktivitami včetně účasti na emocích (tedy na tzv. kognitivně-emocionálních procesech). Dnes tuto novou koncepci mozečku odborná veřejnost uznává a respektuje ji. Nás velmi těší, že od počátku koncentrace na experimentální studium podstaty a funkčních důsledků mozečkové degenerace, která započala na Ústavu patologické fyziologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni právě v polovině 90. let, jsme na základě našich výsledků toto nové pojetí úlohy mozečku jednoznačně prosazovali a k jeho uznání snad i trochu přispěli. V souhrnu lze tedy úlohu mozečku v nervových funkcích charakterizovat tak, že přijímá senzorické a předzvěstní (předcházející zamýšlené činnosti) impulzy, které zahrnují signalizaci z hlubokých pohybových receptorů svalů, šlach a kloubních pouzder (propriocepci). Ty spojuje s informacemi z motorických povelů, aby výsledkem byla precizní kontrola hybnosti, ale též správná modulace kognitivně emočních aktivit.

Poruchy mozečku

Z toho, co bylo výše uvedeno, nepřekvapí, že poruchy mozečku jsou patrné především na pohybovém ústrojí. Tak je tomu např. nejen při dobrovolně (a často radostně) podstupovaném dočasném vyřazení jeho funkcí v důsledku prostého alcholského opojení (ebriety, stručně v opilosti), ale především pak při různých degenerativních onemocněních. Jde zejména o stavy podmíněné geneticky. Nejsou sice tak časté jako jiné formy neurodegenerací (např. Alzheimerova nebo Parkinsonova nemoc), avšak tím, že invalidizují anebo usmrcují často i ve velmi mladém věku, jsou o to závažnější. Poškození mozečku se nejčastěji projevuje ztrátou nebo částečným vymizením některých funkcí (hypofunkce až afunkce) neboli zánikovým syndromem. Ten je typický zvýšenou pohybovou pasivitou a slabostí končetin, pohybovým třesem a ataxií (porušenými

1 Znázornění „gangliových tělísek“ tak, jak je na jednom ze svých nákrešů (na podkladě vlastní litografie) předvedl odborné veřejnosti J. E. Purkyně r. 1837 v Praze. Jde o první vyobrazení těchto velkých kapkovitých neuronů a také vrstev mozečkové kůry; a – detailní znázornění gangliového tělíška mozečku – dnešní Purkyňovy buňky, b – molekulární, c – ganglionární, d – granulórní vrstva mozečkové kůry

pohyby). Dále se objevuje porucha synchronizace pohybů (asynergie), tzv. přestřelování (hypermetrie), kdy např. ve snaze uchopit předmět ruka do něj naráží, a také neschopnost vykonávat rychle symetricky a koordinovaně protichůdné pohyby (adiachokineze). Typické jsou též poruchy řeči (pomalá, nezřetelná, vyražená) a písma (hrubé, roztřesené). Vedle motorických poruch byly u pacientů s postižením mozečku zjištěny i další poruchy s projevy tzv. kognitivně-afektivního syndromu – zhoršená schopnost tvorby slov, plánování a abstrakce, narušení pracovní paměti, změny osobnosti s otupělými emocemi a nepřiměřeným chováním. Není vyloučen ani vztah ke schizofrenii. V poslední době se ukazuje pravděpodobný vztah abnormalit mozečku také k poruchám psychiky typu autismu.

Méně často se vyskytuje tzv. iritační mozečkový syndrom, kde jde o poruchy plynoucí z patologického dráždění neboli stimulace (hyperfunkce). Příkladem je svalová hypertonie, klidový třes a flekční držení těla, což připomíná hypertonicko-hypokinetický syndrom u parkinsoniků. Není bez zajímavosti, že při jednostranném postižení mozečku, oproti poškození velkého mozku, kdy se např. poruchy hybnosti objevují na straně protilehlé lézi, u mozečkových dysfunkcí bývají projevy stejnostranné. Důvod je ten, že zde nedochází ke křížení příslušných drah, jako je tomu např. u hlavní dráhy (zvané pyramidová), zodpovědné za uvědomělý pohyb a vedoucí vzruchy z motorických oblastí mozkové kůry do páteřní míchy.

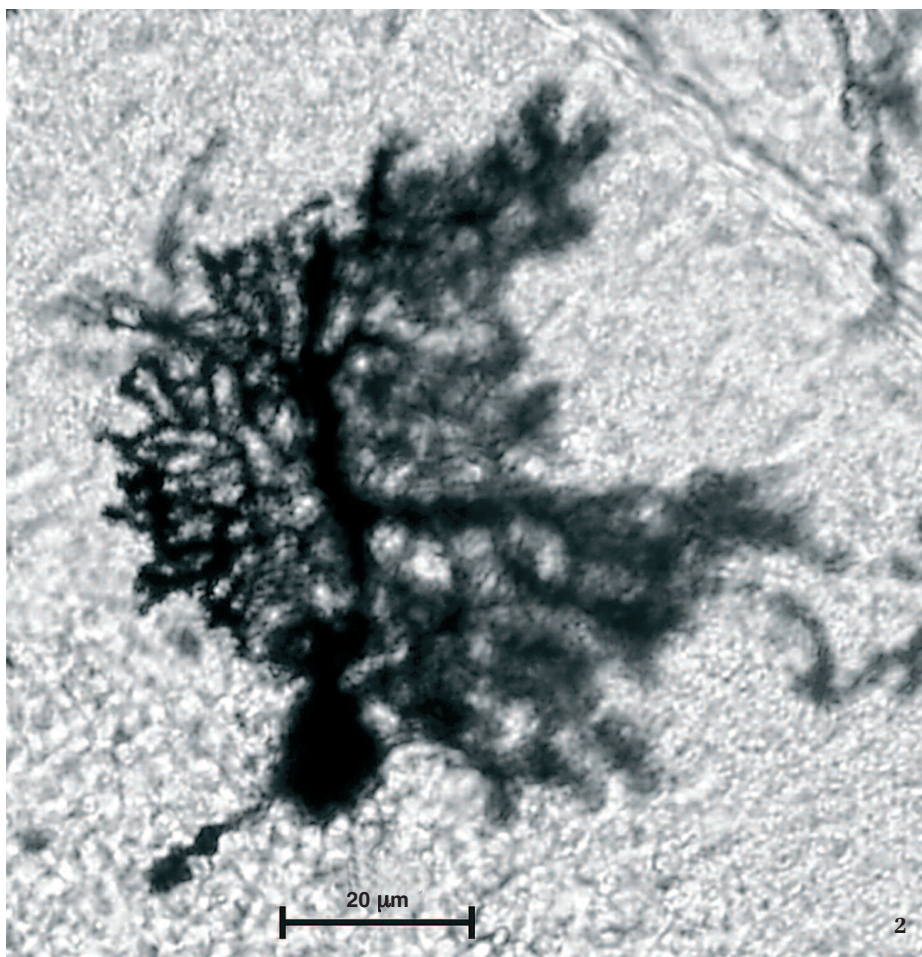
Metody výzkumu mozečku

● Klinické a neurozobrazující postupy
Přestože výše popsané nálezy v oblasti struktury mozečku učinil Purkyně za použití na svou dobu poměrně kvalitního mikroskopu (i když řadu poznatků získal pouze použitím lupy), za hlavní metodu při dalších zkoumáních, včetně pokusů na různých druzích zvířat, mu sloužilo pozorování (např. popsal poruchy hybnosti po experimentálním poškození nebo vyjmutí mozečku).

Právě nejzřetelněji se porucha mozečku projevuje na pohybovém systému (a to platí jak pro člověka, tak pro zvířata). Z toho také vychází orientační vyšetření osob podezřelých z požití alkoholu (jako nezbytný doplněk odběru krve za účelem stanovení jeho hladiny) i první neurologické prohlídky pacientů před dalšími diagnostickými postupy. Vyšetřuje se schopnost stoje a chůze při zavřených očích, koordinace a přesnost pohybů, kvalita řeči a písma. Nové poznatky o funkci mozečku přinesla a dále přináší další specializovaná klinická vyšetření (včetně psychologických) a zejména pak moderní zobrazovací metody (např. PET – pozitronová emisní tomografie, NMR – nukleární magnetická rezonance aj.).

● Experimentální nálezy u zvířat

V experimentálním zkoumání mozečku, tak jako jinde v biomedicíně, hrají nezastupitelnou roli zvířecí modely. Jde především o kmeny myši postižených různými, hlavně degenerativními mozečkovými poruchami, které jsou obdobou chorobných stavů známých z humánní

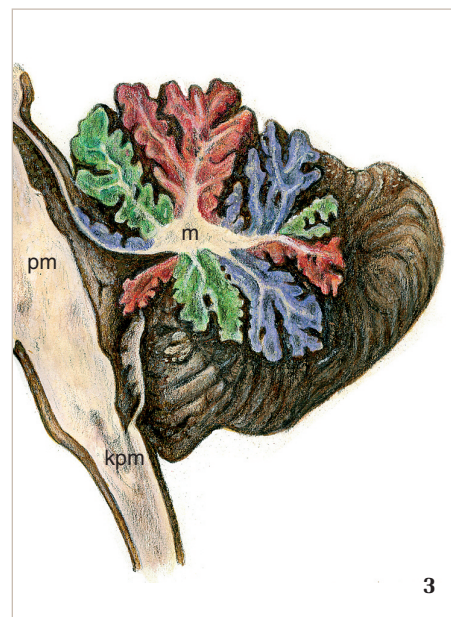


neuropatologie. V podstatě existují dvě skupiny těchto zvířat modelujících různé mozečkové dysfunkce, které postihují člověka.

– Modely vycházející z přirozeně vzniklých mutací genomu, kdy dalším křížením takto postižených jedinců vznikly specificky postižené kmeny myši používané v neurofyziologickém a neuropatofyziologickém výzkumu.

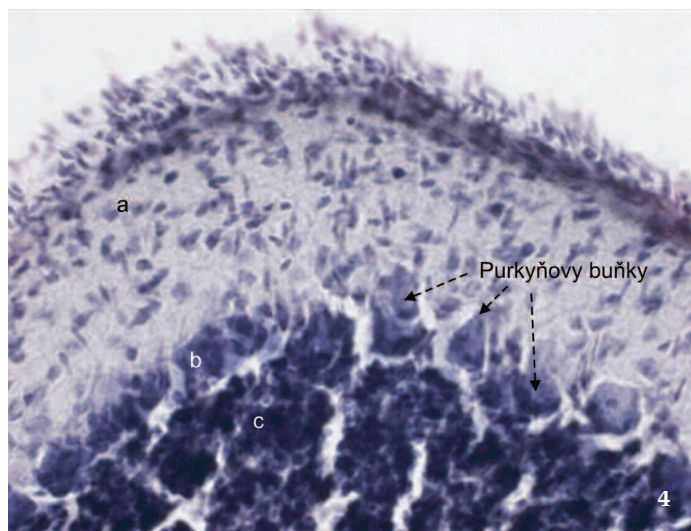
– Modely vzniklé uměle, použitím metod genetického inženýrství, jako transgenní kmeny myši. Tato zvířata představují *de facto* přesnější modely nejen mozečkových, ale i jiných geneticky podmíněných neuropatologií (např. Huntingtonova nemoc, dentatorubrální atrofie, spinální a bulbární svalová atrofie), protože je zde možné přesně definovaným zásahem cíleně ovlivnit genetickou informaci. I tyto myši se používají v obdobných pokusech jako jedinci první skupiny, spadají však do oblasti geneticky modifikovaných organismů (GMO) a je třeba s nimi nakládat podle příslušných legislativních předpisů. Z modelů s postižením mozečku sem patří 6 typů spinocerebelárních ataxií (SCA1, 2, 3, 6, 7 a 17) z více než 20 známých lidských forem. Z myších modelů prakticky všech uvedených neuropatologií jsou nejčastěji používané transgenní myši SCA1 a SCA2.

Experimentální výzkum s využitím zvířecích modelů obou skupin umožňuje studovat patogenetické mechanismy cerebelárních degenerací a na základě jejich poznání uplatňovat více či méně účinné způsoby cíleného ovlivnění a léčby těchto patologických stavů. Že výsledky uvedených experimentů představují významný přínos pro základní neurovědní výzkum



i pro klinickou praxi, je nepochybné. Týká se to především geneticky podmíněných degenerativních onemocnění mozečku s prevalencí 3–9/100 000 (počet onemocnění/počet obyvatel) – autozomálně recesivních (např. Friedreichova ataxie a *ataxia teleangiectactica*) a autozomálně dominantních (výše zmíněných více než 20 typů SCA).

Naše pracoviště, které se ve spolupráci se zahraničními partnery zabývá výzkumem mozečkových degenerací na zvířecích modelech více než 15 let, pracuje s několika modelovými kmeny myši. Jejich rozdělení a přehled uvádíme v následujícím textu.



2 Purkyňova buňka mozečku dospělé myši ve světelném mikroskopu.

Jde o Ramónovu-Molinerovu modifikaci Golgiho impregnační metody.

Foto F. Vožeh

3 Sagitální (předozadní) řez lidským mozkem na úrovni mozečku.

Kromě mozečku (m) je patrná i prodloužená mícha (pm) a také horní část krční páteřní míchy (kpm).

Kreslila M. Chumchalová

4 Mikrofotografie histologického řezu částí kůry mozečku zdravé 14denní myši. Na obrázku jsou zřetelně patrné tři korové vrstvy (a – molekulární, b – ganglionární, c – granulórní) i řada Purkyňových buněk ganglionární vrstvy. Barveno gallocyaninem podle Nissla (zvětšeno 200×)

5 Mikrofotografie histologického řezu částí kůry mozečku 14denní mutantní myši Lurcher (laboratorní kmen s mutací chromozomu způsobující degeneraci části mozečku, blíže v textu). Na obrázku jsou též patrné tři korové vrstvy (a – molekulární, b – ganglionární, c – granulórní), ale v ganglionární vrstvě jsou již pouze atypické, zanikající Purkyňovy buňky, místy již zcela chybějící.

Barveno gallocyaninem podle Nissla (zvětšeno 200×)

Přirozeně vzniklé mutantní kmeny myši 1. skupiny

● Mutantní myši Lurcher

Jde o přirozený model olivocerebelární degenerace (dolní oliva je část mozkového kmene funkčně propojená s mozečkem) vzniklý spontánní mutací. Mutace se týká 6. chromozomu a jde o semidominantní typ dědičnosti s postižením genu kódujícího podjednotku č. 2 glutamátového receptoru. Mutanti Lurcher jsou heterozygoti (+/Lc), zcela zdraví jedinci jsou homozygoti (+/+). Ti tvoří zhruba polovinu zvířat v hnízdě (v případě běžného křížení +/+ samice a Lc/+ samce) a v experimentech slouží jako ideální kontroly. Homozygoti Lc/Lc nejsou životaschopní. Protože gen postižený mutací je exprimován převážně Purkyňovými buňkami, dochází v důsledku poruchy glutamátového receptoru (glutamát je hlavní excitační mediátor, neboli vzrušivý přenašeč v mozku) k jejich postupnému zániku.

U těchto neuronů lze nejspíše mluvit o programované smrti z nadbytku glutamátu, jejich úbytek začíná být patrný již 8. den po narození. Ke konci prvního měsíce života je přítomno necelých 10 % původního počtu Purkyňových buněk a po třetím měsíci života prakticky žádné (viz obr. 4 a 5). Zánik Purkyňových buněk je tedy přímým důsledkem zmíněné mutace. Sekundární úbytek granulórních buněk mozečku (až na 10 % původního počtu) a neuronů dolní olivy (NDO) až na 25 % je pak důsledkem ztráty cíle jejich axonů (neurit, výběžek vedoucí vzruchy z neuronu), tj. Purkyňových buněk. Protože axony Purkyňových buněk směřují do hlubokých jader mozečku, retikulární formace (síťovitá propojovací struktura procházející celým mozgovým kmenem) a také do vestibulárních jader jsou jediným výstupem kůry mozečku, zánik těchto neuronů navozuje funkční dekortikaci cerebela (tedy vyřazení kůry mozečku). Mozečková jádra morfologicky ani funkčně poškozena nejsou. Mutanti Lurcher tak mohou představovat model lidské olivopontocerebelární atrofie (OPCA). Toto dědičné degenerativní onemocnění se u člověka vyskytuje jak v dominantní, tak i v recesivní formě. Důsledky se projevují především ve sféře motoriky, jako poruchy rovnováhy a koordinace pohybů. Jak ukázaly práce naše i dalších autorů, nezanedbatelná schopnost motorického učení však přetrvává.

Mutanti Lurcher mají dále vyšší excitabilitu CNS (chybí tlumivý vliv mozečku) a změněnou reakci na bolestivé podněty. Některé jejich neurony jsou citlivější k neurotoxickým vlivům. Vykazují také poruchy kognitivních funkcí, především prostorového učení v Morrisově vodním bludišti (kde podstatou je hledání polohy pevného ostrůvku skrytého pod hladinou, někdy i viditelného, na základě pamatování si umístění okolních objektů v místnosti) a byly u nich prokázány též změny v klasickém podmiňování mrkacího reflexu. Kromě nervových změn byly i zásluhou našeho výzkumu popsány některé abnormality v endokrinním a imunitním systému, zjištěny změny ve struktuře sleziny a lymfatických uzlin, ale i nadledvin, které svědčí o možných funkčních poruchách těchto systémů. Také brzlík (thymus) ve věku tří měsíců vykazoval známky předčasné involuce (postupného fyziologického

zániku), zatímco u měsíc starých zvířat byl prakticky beze změn. Uvedené nálezy svědčí o úzké provázanosti nervového, endokrinního a imunitního systému, které tvoří jeden funkční celek (což ostatně platí o celém organismu).

Ze čtyř kmenů mutantních myši Lurcher má naše laboratoř k dispozici dva (C3H, B6CBA). U jednoho (C3H) se zároveň vyskytuje geneticky podmíněná retinální degenerace, která je obdobou lidské slepoty vzniklé následkem degenerace sítnice.

● Mutantní myši Pcd

(Purkinje cell degeneration)

Také u nich dochází k zániku téměř všech Purkyňových buněk mozečku mezi 3. a 4. týdnem života. Následuje degenerace granulórních buněk a mozečkových jader, považovaná za sekundární, v důsledku zániku Purkyňových buněk. Jde o autozomálně dědičnou poruchu s genovou mutací na 13. chromozomu. Granulórní buňky zanikají postupně a u jednorokých zvířat zbývá asi 10 % jejich původního počtu. Jádra mozečku ztrácejí na svém objemu do konce 10 měsíců života u mutantů Pcd asi 20 %. Vedle úbytku zmíněných neuronů trpí tyto myši retinální degenerací. Z pozorovatelných příznaků je nejpatrnější těžké postižení motoriky, včetně chůze, při níž se dotýkají břichem podložky, mají rovněž narušenou schopnost prostorového učení v Morrisově vodním bludišti. Stejně jako u mutantů Lurcher je důvodem postižení prostorové navigace a paměti. Jak v naší laboratoři, tak i jinde ve světě bylo prokázáno, že porušení motoriky, patrně na pevné podložce, se netýká plavání ve vodě (to je u postižených myši neporušené), a proto zjišťování prostorového učení a paměti ve vodním bludišti je v tomto směru optimální.

Transgenní myši modely 2. skupiny

Z této skupiny myši s geneticky podmíněným postižením mozečku pracujeme s typem SCA2. Tyto myši nesou lidský mutovaný gen kódující ataxin 2, který způsobuje jednu z dědičně podmíněných tzv. tripletových nemocí – autozomálně dominantní spinocerebelární ataxii typu 2 (SCA2). Takto postižení lidé mají nižší hmotnost mozku a v kůře mozečku je patrný úbytek Purkyňových i granulórních buněk, zasažen je i mozkový kmen, a to

v mostu, dolní olivě, ale také v *substantia nigra*. Mírné degenerativní změny bývají patrné též v červeném jádře (*nucleus ruber*), avšak někdy i v talamu, bazálních gangliích, mozkové kůře, dokonce v míše. Klinicky se objevuje zřetelná progresivní ataxie, vymizelé šlachové reflexy s poruchami vnímání některých smyslových kvalit, mimovolní hybnosti a zhoršením mentálních funkcí.

Další typy transgenních zvířat v našem výzkumu

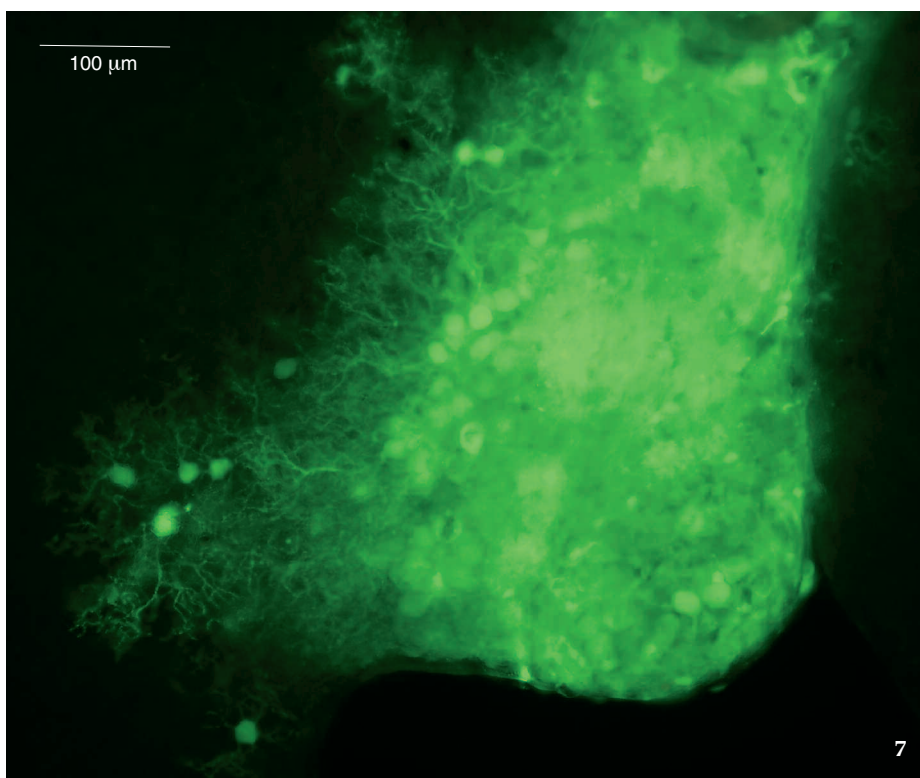
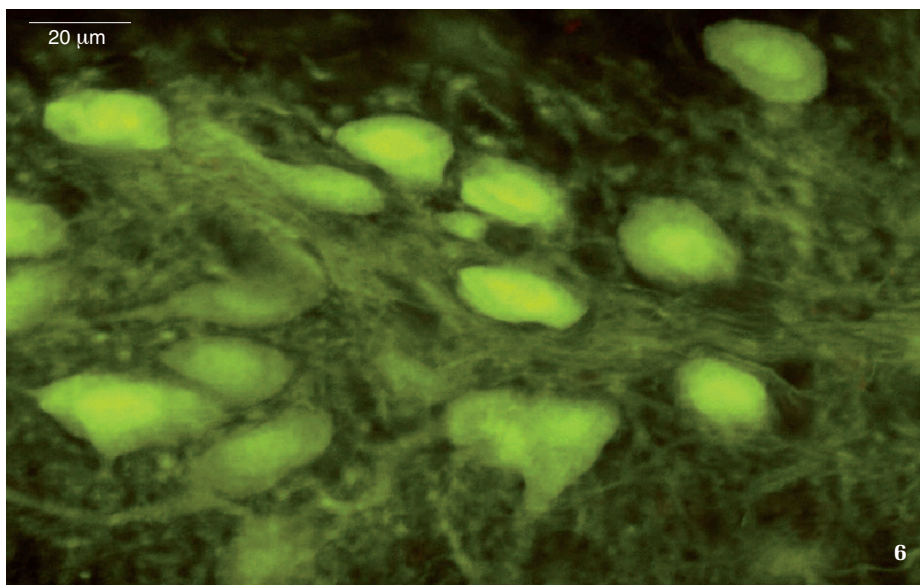
● GFP (Green Fluorescent Protein) myši kmene B6CBA

Těmto zvířatům byl metodami genetického inženýrství do jejich genetické informace vložen speciální gen (původem z fluoreskující medúzy). Ten způsobil, že jsou tkáně transgenních zvířat a také případné transplantáty z nich získané nadány schopností fluorescence v UV světle (obr. 6 a 7). Toho využíváme při hodnocení výsledků neurotransplantací do mozečku ve fluorescenčním mikroskopu. Není bez zajímavosti, že je tento gen možné za stejným účelem (tj. označení buněk a posléze jejich snadné identifikace) přenést i do buněčných kultur, např. jsou-li použity k transplantaci.

Jiné možnosti výzkumu

Další možností využití laboratorních zvířat v experimentálním neurovědním výzkumu je instrumentální navození patologických stavů cílenými zásahy do zvolené struktury. Zde je možné za použití stereotaktické metody (slouží k přesné lokalizaci a zasažení jakéhokoli místa v předem prostorově zmapovaném mozku), zničením anebo stimulací vybrané struktury vyvolat zánikové nebo dráždivé (iritační) jevy, modelující obdobné vrozené či získané nervové poruchy u člověka. Tyto zákroky, stejně jako všechny ostatní experimenty na laboratorních zvířatech, se provádějí za dodržování přísných legislativních předpisů a etických norem týkajících se zacházení se zvířaty; biomedicínský výzkum se zatím bez nich neobejde. Jako příklad lze v případě mozečku uvést možnost vyřazení (anebo dráždění) některých hlubokých jader u laboratorních potkanů, s následným studiem důsledků zákroku i možností ovlivnění. Některé tyto experimenty se uskutečňují jako akutní, stále více se však prosazují dlouhodobé studie, kdy např. s různými stimulačními anebo registračními elektrodami umístěnými do různých oblastí mozku mohou zvířata vést prakticky normální život s tím, že jsou cíleně vyšetřována v určitých situacích.

Ve výčtu možností získávání důležitých poznatků v biologických vědách (tedy i v neurovědním výzkumu) jsou v neposlední řadě též metody vývojové a srovnávací biologie. Ty vycházejí z faktu, že se život vyvíjel od nejjednodušších systémů po složitější, přičemž jeho jednotlivé formy tvoří pomyslounou pyramidu. Některé z nich, nebo pozůstatky po nich přetrvávají dodnes. Jejich studiem lze na mnohem jednodušších strukturách a funkcích pochopit i složité mechanismy obdobných orgánů a soustav na vyšších úrovních, včetně člověka. V případě mozečku je to řada srovnávacích studií, které započaly



už zkoumáním základů cerebela u ryb (chrupavčitých i kostěných) přes bezčelistné (agnatha) až po porovnání s mozečkem ptáků a savců. Ač se to zdá neuvěřitelné, i takto získané poznatky významně přispěly k vytváření a formulování výše uvedené a dnes všeobecně uznávané nové koncepce mozečku.

Současné metodiky experimentálního výzkumu a možnosti interpretace

Z možností využití především zvířecích modelů ve výzkumu mozečku lze dále uvést celou škálu laboratorních postupů, které dovolí studovat zvolenou problematiku z mnoha pohledů. Tradičně se řada laboratorních aktivit v biologii, a tedy i v neurovědách, dělí podle vědeckého zaměření na morfologické (anatomie, histologie) a funkční (fyziologie). I když v posledních letech dochází k určitému prolínání těchto procedur, v laboratorní praxi stále používáme např. klasické (neuro)histologické způsoby krájení a barvení

6 a 7 Mikrofotografie kůry mozečku 39 dnů staré myši Lurcher tři týdny po transplantaci embryonální nervové tkáně ve formě solidního transplantátu (obr. 6) a 177 dnů staré myši Lurcher 10 týdnů po transplantaci embryonální nervové tkáně ve formě suspenze buněk (obr. 7). Jak solidní transplantát, tak tkáň pro přípravu buněčné suspenze byly odebrány z mozečku 12denního embrya GFP myši (blíže v textu). V zobrazení fluorescenčním mikroskopem jsou na obr. 6 patrné zeleně fluoreskující Purkyňovy buňky v ne zcela typickém uspořádání. Na obr. 7 vidíme zeleně fluoreskující transplantát, na jehož levém okraji se nacházejí Purkyňovy buňky s již vyvinutým typickým dendritickým větvením. V obou případech jde o různě dlouho přežívající transplantát. Snímky: J. Cendelín, pokud není uvedeno jinak

vzorků tkáně za účelem získání mikroskopicky hodnotitelných preparátů. Ty v závislosti na speciálních postupech dovolí studovat strukturální charakteristiky již od subbuněčné úrovně (elektronová mikroskopie), až po zobrazení buněk, včetně jejich rozlišení a uspořádání např. do různých vrstev, jader apod. (optická mikroskopie). Prohlídním postupů je myšleno to, že se dnes využívají moderní histochemické a ještě více imunohistochemické metody, které v preparátech označují většinou přesně definované bílkoviny a jiné látky, ať již v podobě specifických receptorů, mediátorů nebo enzymů. Výsledný, byť neživý obraz, nyní často využívající imunofluorescenci (fluorescenční mikroskopie), podává informace nejen o stavbě, ale též o funkčním stavu dané struktury, tkáně nebo buněk. A to vše v závislosti na tom, v jaké situaci, po jakém ovlivnění došlo k odebrání příslušného vzorku.

Jednoznačně funkční projevy lze samozřejmě sledovat pouze na živém organismu (buňce, tkáňové kultuře, orgánu), a to na specifických projevech. Může jít např. o elektrofyziologické vyšetření mozku. Sem patří snímání spontánního EEG, nebo vyvolané mozkové aktivity po smyslovém podráždění. Získat lze i záznam buněčných výbojů (po předchozí elektrické a přesně definované stimulaci) vykazujících elementární známky učení na buněčné úrovni v určité struktuře, jako je např. hipokampální dlouhodobá potenciace (LTP – Long-term potentiation) nebo dlouhodobá deprese (LTD – Long-term depression) typická také pro mozeček. I zde výsledky vyšetření závisejí na situaci, v jaké sledování probíhá, v čem spočívalo předchozí či průběžné ovlivňování, zda jde o pokusné nebo kontrolní zvíře atp.

Je pochopitelné, že v případě studia komplexních nervových funkcí, na nichž se podílí i mozeček, je třeba používat sofistikovaných, tzv. behaviorálních metod, které jsou schopny postihnout změny chování, paměti, učení a pohybových aktivit.

K tomu slouží celá řada testů motoriky (např. vyšetření pohybu na otáčejícím se válci, úzkém břevně, šikmém žebříku nebo hodnocení visu na hrazdě), emočně úzkostného chování (sledování pohybu v otevřeném poli) anebo kognitivních funkcí. Příkladem může být testování prostorové paměti v různých typech bludišť v rozličných variantách uspořádání, jako je tomu u zmíněného Morrisova vodního bludiště.

Je třeba říci, že na našem pracovišti používáme většinu výše uvedených metod a ve spolupráci s dalšími laboratoři v ČR i v zahraničí také některé další. Tak tomu bylo např. u zmíněného studia učení typu podmiňování mrkacího reflexu, zprostředkovaného především mozečkem. I zde jsme ve spolupráci se španělskými kolegy zjistili změny u mutantů Lurcher ve srovnání se zdravými kontrolními zvířaty. Vedle vývojových charakteristik a konsekvencí vrozené degenerace mozečku na myších modelech dále studujeme zejména možnosti ovlivnění rozvoje této poruchy. Příkladem může být farmakologická blokáda nebo stimulace některých mediátorových či receptorových systémů mozku (dopaminergního, oxidu dusnatého, NMDA glutamátového receptoru). Dalším ze způsobů je ovlivnění nucenou motorickou aktivitou a v posledních letech též neurotransplantací. Ty začaly nejprve implantací embryonální mozečkové tkáně do mozečku myší postižených degenerací, v poslední době se pak soustředujeme na transplantace embryonálních kmenových buněk (značených GFP). V této souvislosti chystáme zároveň se štěpem podávat jako podpurnou látku nervový růstový faktor (BDNF). Některé naše výsledky, zejména u mutantních myší Lurcher, již byly uvedeny (vyšší citlivost neuronů dolní olivky mutantních myší Lurcher k neurotoxinu ve srovnání s kontrolami, změny prahu bolesti, nezměněná schopnost plavání u těchto mutantů ve srovnání s kontrolními zvířaty). Za zmínku stojí i nálezy, které ukázaly, že nucená a pravidelná fyzická

aktivita postižených myší (chůze na otáčejícím se válci) zlepšila výsledky motorických testů. Ve srovnání s netrénovanými postiženými kontrolními zvířaty u nich došlo k lepším výsledkům při testování prostorové paměti v Morrisově vodním bludišti. Navíc byl u trénovaných postižených jedinců setřen negativní vliv stárnutí na zmíněný kognitivní výkon. Tento příznivý efekt fyzické aktivity na zlepšení kognitivních funkcí, lepší vyrovnávání se s pohybovým postižením, jakož i nepochybný účinek proti předčasným projevům stárnutí lze úspěšně přenést i na člověka.

Pokud jde o efekt dosud provedených transplantací, byly vyhodnocovány zároveň s posuzováním kvality transplantátu a doby jeho přežívání. Jednoznačné výsledky zatím nejsou, nicméně přežívání transplantátu bylo převážně dobré s efektem na sledované funkce zatím spíše nespecificky (troficky anebo stimulačně) příznivým. Na základě dosavadních výsledků a zejména pak s možnostmi využít i dalších kmenů myší, které máme nově k dispozici, hledíme na naši příští experimentální práci s optimismem.

Co říci závěrem? Mozeček je struktura, která badatele v oblasti neurověd pořádně zaskočila. Především v posledních dvou desetiletích museli vědci neustále doplňovat, opravovat a přehodnocovat jeho roli v nervových funkcích, a to hlavně v souvislosti s jeho zapojením do těch nejvyšších. Velmi si vážíme objevů, které J. E. Purkyně nejen při studiu mozečku učinil. Zároveň nás to však svým způsobem zavazuje k tomu, aby neurovědy a věda v České republice obecně obstály v nevypsané soutěži se světem alespoň částečně tak, jako ve své době tento náš velký vědec a myslitel.

Podporováno výzkumným záměrem VZ MSM 0021620816.

● Semináře a vědecké kavárny

Jan Kolář: Věda, média a my – jak číst mezi řádky ve zprávách o vědě (1. 11. v 15 hod., AV ČR, Národní 3, Praha 1)

Michal Koblížek: Výzkum mořských pouští (2. 11. v 18 hod., Literární kavárna knihkupectví Academia, nám. Svobody 13, Brno)

Jana Jiroušková: Přívětivá tvář Afriky (3. 11. v 16 hod., Kulturně-literární centrum Academia Ostrava, Zámecká 2, Ostrava)

David Storch, Zdeněk Konopásek, Jan Frei: Věda jako hybná síla pokroku pod lupou sociologie, filozofie a biologie (3. 11. v 10 hod., Centrum pro teoretická studia UK v Praze a AV ČR, Husova 4, Praha 1)

● Kolokvium

Vědci hledají vědce. Jak motivovat středoškolské studenty pro vědeckou práci? (1. 11. v 16 hod., Učená společnost ČR a Asociace ředitelů gymnázií, Clam-Gallasův palác, Husova 20, Praha 1)

Přednášky je možné shlédnout on line (výběr je uveden i na str. LXXX v kulúru tohoto čísla Živý), další podrobnosti najdete na webové stránce: www.tydenvedy.cz.

Akademie věd České republiky

Z programu Týdne vědy a techniky

Vědecký festival Týden vědy a techniky se koná 1.–11. listopadu 2011 v každém krajském městě a na mnoha dalších místech České republiky. Do letošního 11. ročníku se zapojilo celkem 55 ústavů AV ČR – jejich dny otevřených dveří jsou určeny všem zájemcům o dění ve vědě. Doprovodný program nabízí popularizační přednášky, výstavy, promítání filmů, vědecké kavárny, workshopy, semináře i exkurze.

● Výstavy

Otto Wichterle – český vědec a vynálezce (Praha, Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v. v. i., a Česká centra)

Rostlinné hrátky (Praha, Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.)

Popularizace vědy ve Velké Británii (Praha, British Science Association)

Quo vadis, scientia? (Praha, Učená společnost ČR, Comenius, o. p. s., a Archiv hl. m. Prahy)

Věda pro zdraví lidí (Praha, Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i.)

Poklady z mikulčického trezoru (Praha a Brno, Archeologický ústav AV ČR, v. v. i.)

Věda v Moravskoslezském kraji (Ostrava, Fakultní nemocnice Ostrava a různé vědecké instituce)