

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Poruchy paměti a kognitivní koordinace u potkaních modelů neuropsychiatrických onemocnění

Memory and cognitive coordination impairment in rat models
of neuropsychiatric diseases

Mgr. Iveta Vojtěchová

Praha, 2021

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor:	Neurovědy
Předseda oborové rady:	prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.
Školící pracoviště:	Oddělení Neurofyziologie paměti Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i. Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 Národní ústav duševního zdraví Topolová 748, 250 67 Klecany
Autor:	Mgr. Iveta Vojtěchová
Školitel:	prof. RNDr. Aleš Stuchlík, DSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

Obsah.....	3
Abstrakt	4
Abstract.....	5
1. Úvod	6
2. Cíle práce a hypotézy	7
3. Materiál & metody	8
3.1. Zvířata	8
3.2. Morrisovo vodní bludiště.....	9
3.3. Kolotočové bludiště	10
3.4. Další paměťové úlohy.....	11
3.5. Statistické analýzy	11
4. Výsledky.....	12
4.1. Potkani McGill.....	12
4.2. Potkani Samaritan	14
4.3. Potkani po časné postnatální aplikaci LPS	15
4.4. Potkani po prenatální aplikaci LPS.....	17
5. Diskuze	19
5.1. Potkani McGill.....	19
5.2. Potkani Samaritan	20
5.3. Potkani po časné postnatální aplikaci LPS	20
5.4. Potkani po prenatální aplikaci LPS.....	21
6. Závěr.....	22
7. Použitá literatura.....	23
Seznam publikací autorky	26
Publikace přiložené k dizertační práci	26
Další impaktované publikace.....	27

Abstrakt

Paměť a prostorová navigace jsou pro člověka nesmírně důležité mozkové funkce a pro zvířata jsou často otázkou života a smrti. U lidí bývají poškozeny při různých neuropsychiatrických onemocněních. Pacienti trpící Alzheimerovou demencí (AD) mají narušenou pracovní i dlouhodobou paměť, navigaci v prostoru i vyšší kognitivní funkce či sociální paměť. Mezi symptomy schizofrenie patří deficit kognitivní koordinace (schopnosti rozlišit relevantnost přicházejících informací) a dezorientace. Intelektuální nedostatečnost zase postihuje některé pacienty s poruchou autistického spektra. Tato onemocnění však neumíme léčit, protože ve většině případů neznáme jejich příčiny. K pochopení jejich etiologie nám mohou pomoci kvalitní animální modely. Tato dizertační práce se věnuje charakterizaci rozsahu poškození zejména kognitivních funkcí – ale dotýká se i ostatních změn chování – u vybraných potkaních modelů AD (transgenní potkan McGill, netransgenní potkan Samaritan) a schizofrenie (časně postnatální a prenatální aplikace lipopolysacharidu simulující bakteriální infekci). Práce diskutuje také validitu uvedených modelů a jejich limity. Výsledky potvrdily u obou modelů AD závažný deficit prostorové navigace, učení a kognitivní koordinace. U potkanů McGill jsme navíc pozorovali poškozenou motorickou koordinaci a problémy s rovnováhou, anxieta a změny v sociálním chování, model tedy dobře odráží i přidružené symptomy, kterými pacienti s AD trpí. Podání lipopolysacharidu (LPS) potkanům časně po narození u nich nezpůsobilo v dospělosti kognitivní poškození, ale vedlo k emocionálnímu narušení. Jiné změny chování jsme u nich ale nezaznamenali a validita modelu v kontextu schizofrenie není jednoznačná, neboť emocionální narušení pro ni není specifické a vyskytuje se i u jiných mentálních poruch. Potkani po maternální imunitní aktivaci (LPS podán prenatálně) představují validní model zejména negativních příznaků schizofrenie (zaznamenali jsme vyšší úlekovou reakci, deficit prepulsní inhibice, redukovanou sociální interakci a změny v komunikaci, anxieta, sníženou aktivitu). Tyto změny se ovšem projevovaly nesteroidně v závislosti na pohlaví zvířat a jejich věku, a naznačují možný překryv s poruchami autistického spektra. Kognitivní symptomy u tohoto modelu nebylo možné ověřit, neboť použitou úlohu si nezvládla osvojit ani kontrolní zvířata. Zjištění ukazují, že potkan McGill je užitečným modelem pro další výzkum. Potkan Samaritan si zaslouží detailnější probádání. A u potkanů po maternální imunitní aktivaci by bylo zajímavé prozkoumat ontogenetický vývoj patologií a jejich mechanismů.

Abstract

The memory and spatial navigation are extremely important brain functions for humans, but they are often the question of life and death for animals. In humans, memory can be disrupted by various neuropsychiatric disorders. The patients suffering from Alzheimer's dementia (AD) have impaired working and long-term memory, spatial navigation, higher cognitive functions and social memory. The deficit of cognitive coordination (the skill to recognize the relevancy of incoming information) and disorientation belong to the symptomatology of schizophrenia. Intellectual disability appears in some patients with autism spectrum disorder. Unfortunately, it is not possible to cure these disorders efficiently because the etiology is not known in the majority of patients. The causes leading to development of these disorders could be revealed using animal models. This thesis contributes to the characterization of the cognitive skills disruptions – as well as other behavioral alterations – in selected rat models of AD (transgenic McGill rat, non-transgenic Samaritan rat) and schizophrenia (lipopolysaccharide model of early postnatal, or prenatal, bacterial infection). The thesis also discusses the validity and limitations of these models. Our results showed a severe deficit of spatial navigation, learning and cognitive coordination in both AD models. In addition, the McGill rats manifested impaired motor coordination and balance problems, anxiety and changes in social behavior, reflecting the additional symptoms observed in human AD patients. The administration of lipopolysaccharide (LPS) in early postnatal life of rats did not lead to cognitive impairment in adulthood. However, it caused emotional disruption. We did not observe any other behavioral alterations in these rats. Validity of the postnatal LPS model is not fully clear because the emotional disruption is not specific and accompanies also other mental disorders. The rats after the maternal immune activation (prenatal LPS exposure) represent a valid model of schizophrenia, especially of the negative symptoms (we observed a higher startle reaction, prepulse inhibition deficit, reduced social interaction and changes in communication, anxiety, and hypoactivity). Nevertheless, the manifestation was dependent on sex and age of the animals, and the observed signs show some overlap with autism spectrum disorder as well. The cognitive impairment could not be measured in the LPS prenatal model, as even the control rats were not able to acquire the task. Taken together, our findings demonstrate that the McGill rat is a useful model for the future AD research. The Samaritan rat requires more detailed examination. Moreover, it would be interesting to explore the ontogeny of the pathologies and mechanisms in the prenatal LPS rats.

1. Úvod

Učení, paměť a další kognitivní schopnosti jsou neoddělitelně spjaty s lidským životem a u zvířat jsou často otázkou přežití. Paměť má mnoho podob. Z časového hlediska lze rozlišovat paměť sensorickou, krátkodobou či pracovní (v řádu minut až hodin) a dlouhodobou, jejíž vzpomínky nás mohou provázet celý život. Epizodická (deklarativní) paměť nám umožňuje uchovávat osobní zkušenosti a vzpomínky na události, které jsme prožili (Greenberg & Verfaellie, 2010). U zvířat zkoumáme paměť prostorovou (O'Keefe & Nadel, 1978), kterou lze do jisté míry považovat za její analog, kdy sledujeme schopnost pamatovat si orientační značky a různá místa v prostředí a schopnost navigovat se na ně nebo se jim vyhýbat. Zvířata však mají, podobně jako lidé, i jiné typy paměti (sociální, emoční, rozpoznávací, motorickou ad.), což nabízí široké možnosti jejich využití na poli behaviorálních neurověd.

Narušení kognice a různých typů paměti je typickým symptomem některých neuropsychiatrických onemocnění. Při Alzheimerově chorobě (též demenci, AD) dochází k degeneraci především oblastí temporálního laloku a hipokampu, struktury zcela zásadní pro epizodickou i prostorovou paměť (Brun & Englund, 1981; O'Keefe & Nadel, 1978). Ty jsou u pacientů s AD poškozeny již na počátku klinických projevů, a narušení dalších typů paměti se objevuje s tím, jak degenerují další oblasti mozku. Pro pacienty trpící schizofrenií je obvyklým projevem dezorientace a deficit kognitivní koordinace, tedy snížená schopnost rozlišit relevantní informace od irelevantních (Phillips & Silverstein, 2003). Některé pacienty s poruchou autistického spektra (*autism spectrum disorder*, ASD) zase postihuje intelektuální nedostatečnost (American Psychiatric Association, 2013).

Většinu pacientů s těmito poruchami neumíme vyléčit. Neznáme příčinu jejich vzniku a ještě zcela nerozumíme dějům, které v mozku těchto pacientů probíhají. K jejich porozumění nám mohou pomoci animální modely. Vhodným modelovým zvířetem je laboratorní potkan pro svou genetickou příbuznost a podobnost člověku. Je to aktivní sociální tvor schopný efektivní navigace v prostoru a změny v jeho chování lze porovnávat se symptomy u lidí.

Tato dizertační práce je zaměřena na dva modely AD, které jsme otestovali v baterii behaviorálních testů s důrazem na kognitivní schopnosti, u nichž jsme předpokládali závažné poškození. Transgenní potkan McGill (Leon et al., 2010) a potkan Samaritan, založený na negenetických faktorech (Lecanu et al., 2006), sdíleli patologii působení zvýšeného množství peptidu amyloidu-beta ($A\beta$), jež je typické pro pacienty s AD. Dizertační práce také prozkoumává potenciální kognitivní poškození u dvou neurovývojových modelů schizofrenie, založených na imunitní aktivaci podáním bakteriálního lipopolysacharidu (LPS) v časném stadiu vývoje (Basta-Kaim et al., 2011; Boksa, 2010). Pokud se potvrdí validita těchto potkaních modelů, mohou být v budoucnu užitečnými nástroji pro výzkum nových potenciálních léků.

2. Cíle práce a hypotézy

Prošetřit kognitivní dovednosti vybraných potkaních modelů Alzheimerovy choroby a schizofrenie/poruch autistického spektra v několika prostorových a paměťových úlohách. Zhodnotit validitu těchto modelů.

Konkrétní cíle:

1. Rozšířit poznatky o kognitivním poškození transgenních potkanů McGill (model AD) v několika úlohách zaměřených na kognici, učení a paměť: prostorová pracovní paměť a habituace (bludiště tvaru Y, Morrisovo vodní bludiště), prostorová dlouhodobá paměť a kognitivní koordinace (Kolotočové bludiště), rozpoznávací paměť (úloha sociálního rozpoznávání, rozpoznání přemístěného a nového objektu).
2. Prozkoumat rozsah kognitivního poškození u potkanů Samaritan (model AD), modelu připraveného chronickou expozicí A β a dvěma prooxidativním substancím. U potkanů otestovat učení a prostorovou referenční paměť (Morrisovo vodní bludiště) a dlouhodobou paměť, kognitivní koordinaci a flexibilitu (Kolotočové bludiště).
3. U potkanů vystavených časně po narození bakteriálnímu lipopolysacharidu (model schizofrenie) otestovat dlouhodobou prostorovou paměť a kognitivní koordinaci v Kolotočovém bludišti. S použitím psychotomimetika MK-801 v dospělosti vytvořit kombinovaný model a ověřit závažnost navozené „psychózy“ v téže úloze zaměřené na kognitivní flexibilitu.
4. Potkany po prenatální expozici bakteriálnímu lipopolysacharidu (též maternální imunitní aktivace) otestovat v dospělosti v Kolotočovém bludišti (kognitivní koordinace a dlouhodobá paměť). Validovat tento model v souvislosti se schizofrenií a ASD.

Hypotézy:

Uvedené cíle testují hypotézu, podle které by potkani McGill a Samaritan měli vykazovat významné poškození jak pracovní a dlouhodobé prostorové paměti, tak i jemnějších kognitivních funkcí, jako je kognitivní koordinace (schopnost rozlišovat mezi relevantními a irelevantními informacemi) nebo flexibilita (schopnost adaptovat své chování ke změněným podmínkám), stejně jako vykazují pacienti s AD. U potkanů McGill jsme předpokládali také narušení neprostorových typů paměti.

U potkanů, vystavených prenatálně či postnatálně působení LPS, jsme očekávali narušení zejména vyšších kognitivních funkcí (kognitivní koordinace, flexibilita), podobně jako jsou tyto schopnosti narušeny u pacientů trpících schizofrenií, případně ASD. Přidaný faktor ve formě akutní aplikace psychotomimetika měl pozorované symptomy ještě více zhoršit.

3. Materiál & metody

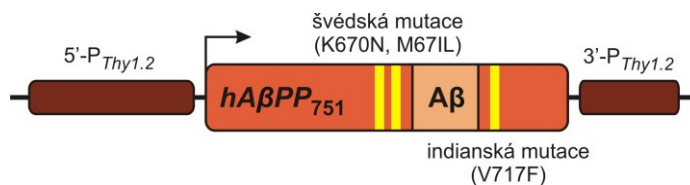
3.1. Zvířata

Potkan McGill. Transgenní potkan McGill-R-Thy1-APP s genetickým pozadím kmene Wistar má v genomu vložený transgen exprimující lidský APP₇₅₁ (*amyloid precursor protein*) nesoucí dvojitou švédskou a indianskou mutaci, o nichž je známo, že způsobují familiální formu AD (**Obr. 1**). U homozygotů se lidský A β začíná akumulovat v hipokampu a

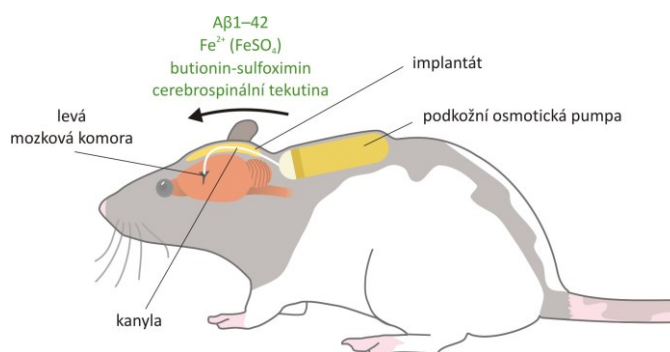
kortexu již týden po narození a v 6 měsících věku se mohou v mozku objevit extracelulární amyloidní plaky (Leon et al., 2010). V naší studii, prováděné ve Fyziologickém ústavu AV ČR, jsme použili homozygoty (samce) a stejně staré nepříbuzné netransgenní (*wild type*, WT) kontroly. Potkani byli zakoupeni od firmy PsychoGenics Inc. (New York, USA).

Potkan Samaritan. Mladé dospělé potkaní samce kmene Long-Evans s patentovaným komerčním názvem Samaritan ratTM jsme pořídili od firmy Taconic Pharmaceuticals (USA). Potkani dostávali intracerebroventrikulární infuzi roztoku, který byl aplikován chronicky po dobu 4 týdnů pomocí osmotické pumpy voperované pod kůži na zádech, která byla spojena s permanentní kanylou zasunutou do levé mozkové komory (Lecanu et al., 2006; **Obr. 2**). Infuze pro experimentální potkany obsahovala A β 1-42 a dvě prooxidativní substance: heptahydrát sulfátu železnatého a L-butionin-(S, R)-sulfoximin, rozpuštěné v umělé cerebrospinalní tekutině. Tyto substance měly indukovat patologii podobnou AD. Kontrolní zvířata (*sham*) dostávala infuzi solventu bez aktivních substancí.

Postnatální aplikace LPS. Mláďatům (samcům) potkanů kmene Wistar/Hann (Velaz Ltd., ČR) byl denně (5.–9. den po narození) intraperitoneálně (i.p.) aplikován LPS (pocházející z *Escherichia coli*, serotyp 026:B6, Sigma-Aldrich)



Obr. 1. Transgen vložený do genomu potkana McGill. Pod transkripční kontrolou myšího promotoru *Thy1.2* se exprimuje lidský amyloid prekurzorový protein (h β APP₇₅₁), který nese dvojitou švédskou a indianskou mutaci. Upraveno podle Leon et al. (2010) a Wilson et al. (2016).



Obr. 2. Potkan Samaritan. Na zádech má pod kůží voperovanou osmotickou pumpu, která je kanylou, ukotvenou v implantátu, propojena s mozkem. Do levé mozkové komory proudí A β 1-42 a dvě prooxidativní substance – železnaté ionty a butionin-sulfoximin – rozpuštěné v umělé cerebrospinalní tekutině.

v dávce 2 mg/kg (skupina „LPS“), nebo fyziologický roztok (skupina „kontrola“). Potkani byli nejprve chováni ve zvěřinci Psychiatrického centra Praha, kde byl připraven model, a později byli převezeni do Fyziologického ústavu AV ČR.

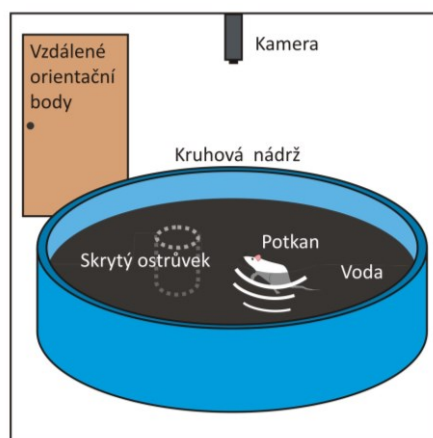
Prenatální aplikace LPS. Březí samice potkanů kmene Wistar (Velaz, Ltd., Praha, ČR) dostaly celkem 8 subkutánních (s.c.) injekcí LPS (pocházející z *Escherichia coli*, serotyp 026:B6, Sigma-Aldrich) v dávce 1 mg/kg, nebo fyziologický roztok (kontrola). LPS byl podáván chronicky každý druhý den od 7. dne březosti do porodu, podle protokolu autorů Basta-Kaim et al. (2011). Příprava modelu i ostatní behaviorální testování (zde nezahrnuté) potomků těchto samic probíhalo v Národním ústavu duševního zdraví. Za účelem otestování v kolotočovém bludišti byla zvířata převezena do Fyziologického ústavu AV ČR. Potomci obou pohlaví byli rozděleni do čtyř skupin: kontrolní samci, LPS samci, kontrolní samice, LPS samice.

3.2. Morrisovo vodní bludiště

Úloha testuje prostorovou navigaci na skrytý cíl a prostorovou paměť. Bludiště sestávalo z kruhové nádrže o průměru 180 cm a výšce 50 cm naplněné vodou o teplotě 21 ± 2 °C. Ve vodě stál průhledný plastový ostrůvek ve tvaru válce o průměru 10 cm. Tato úloha je závislá na neporušeném hipokampu a potkan při ní měl za úkol hledat tento ostrůvek, který byl skrytý pod hladinou vody (Morris, 1981)(**Obr. 3**). Musel při tom využít vzdálené orientační body a pamatovat si jejich rozmístění v prostoru ve vztahu k sobě i poloze ostrůvku. Pozice zvířete byla monitorována kamerou a systémem Tracker (Biosignal Group, USA).

Ve vodním bludišti jsme testovali oba modely AD. **Potkani McGill** první 2 dny navigovali na viditelný ostrůvek (tato varianta slouží k ověření motivace, fyzické schopnosti hledat ostrůvek a vnímání vizuálních orientačních bodů). Ostrůvek byl vynořen nad hladinou vody a viditelně označen. Dalších 8 dní následovala úloha *delayed-matching-to-place* zaměřená na uchování vzpomínek v prostorové pracovní paměti po určité prodlevě (*delay*) mezi 1. a 2. plavbou v tomtéž uspořádání. Prodleva byla buď 15 s (krátká) nebo 90 min (dlouhá).

Potkani Samaritan nejprve 4 dny navigovali na skrytý cíl, poté následoval 1 den *probe trial* bez ostrůvku (prokázání uchované paměťové stopy o pozici

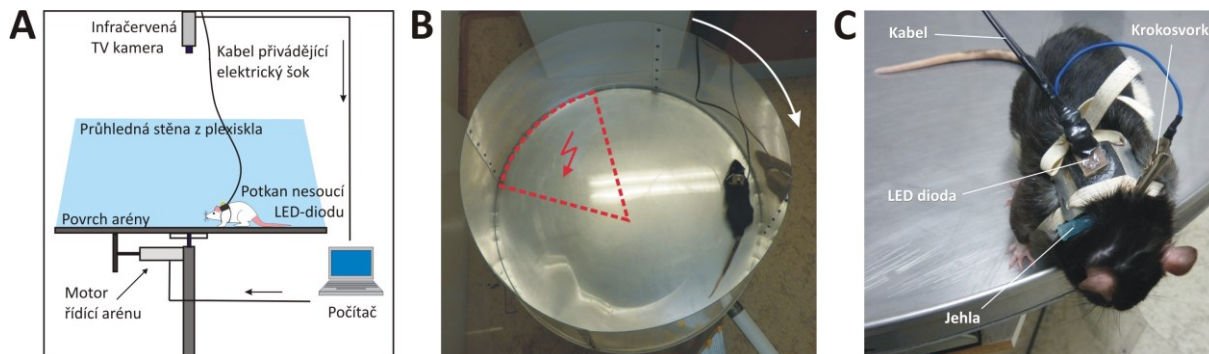


Obr. 3. V Morrisově vodním bludišti má potkan za úkol hledat ostrůvek skrytý pod hladinou vody, která je zakalená barvou (černě pro albinotické kmeny, bíle pro tmavé kmeny potkanů).

ostrůvku a míře přesvědčení potkanů o této pozici), a nakonec 1 den úloha s viditelným ostrůvkem.

3.3. Kolotočové bludiště

Aparatura (Bures et al., 1997) sestávala z kovové kruhové arény o průměru 82 cm obklopené průhlednou stěnou z plexiskla. V počítačovém programu Tracker (Biosignal Group, USA) byl na aréně definován „zakázaný sektor“ (kruhová výseč v úhlu 60°), který nebyl na aréně viditelně označen, a zvíře si jeho polohu muselo zapamatovat podle vizuálních orientačních značek. Při vstupu do sektoru byl potkan trestán mírnými elektrickými rankami (šoky), dokud sektor neopustil (**Obr. 4**). Aréna může být buď stabilní (pasivní vyhýbání se místu), nebo může rotovat. Pokud aréna rotuje, ale sektor zůstává stabilní vůči místnosti, mluvíme o úloze aktivní alotetické vyhýbání se místu (Petrásek et al., 2009; Stuchlík et al., 2004). Rotace umožňuje segregaci prostorových rámců (arény vs. místnosti), kdy potkan musí odlišit relevantní orientační značky (v místnosti) od irelevantních (na aréně). Úloha tak testuje nejen dlouhodobou prostorovou paměť, ale také kognitivní koordinaci (Phillips & Silverstein, 2003; Stuchlík et al., 2013; Wesierska et al., 2005). Správné řešení této úlohy vyžaduje nepoškozené hipokampy a aktivní pohyb zvířete, neboť při pasivní nečinnosti je potkan vlivem rotace arény vždy do sektoru zavezen.



Obr. 4. Kolotočové bludiště. (A) Schéma aparatury. (B) Pohled shora na aparaturu s potkanem. Kruhová kovová aréna může rotovat. Zakázaný sektor (kruhová výseč označená červenými přerušovanými čarami) není pro potkana na aréně viditelný, ale je definován v programu na počítači. Při vstupu do sektoru potkan obdrží mírnou elektrickou ranku, která ho má motivovat k útěku a zapamatování si polohy sektoru. (C) Udílení elektrických ranek (šoků) je umožněno propojením potkana přes kovovou jehlu umístěnou transdermálně na hřbetě potkana, ke které je připevněna krokosvorka s kabelem. Potkan nese na zádech také infračervenou LED diodu, díky níž může program sledovat jeho trajektorii. Druhá LED dioda je umístěná po obvodu arény a umožňuje snímat její rotaci. Díky tomu je možné získat nachozenou dráhu jak na rotující aréně, tak vzhledem ke stabilní místnosti.

V kolotočovém bludišti byli otestováni všechny čtyři zmíněné modely.

Potkany McGill jsme testovali ve 4 fázích: (1) habituace na stabilní arénu (bez šoků), při které sbírali cereální kuličky dopadající na arénu, (2) pasivní vyhýbání se místu se stabilním sektorem i arénou, (3) habituace na rotující arénu (bez šoků) a (4) aktivní vyhýbání se místu s rotující arénou, ale stabilním sektorem.

Potkany Samaritan jsme nejprve habituovali na prostředí arény (1 den na stabilní aréně, 1 den na rotující aréně), poté jsme je testovali v úloze aktivní vyhýbání se místu. Ve fázi akvizice si potkani museli zapamatovat polohu sektoru a vyhýbat se mu. Ve fázi přeučení (*reversal*), která testuje kognitivní flexibilitu, byla poloha sektoru změněna o 180° a potkani se museli novou pozici přeučit.

Dospělí **potkani po časné postnatální aplikaci LPS** prošli nejprve úlohou aktivní vyhýbání se místu (akvizice), a poté fází přeučení (*reversal*) s pozicí sektoru otočenou o 180°. Během přeučení navíc polovina zvířat z každé skupiny dostávala 30 min před sezením i.p. injekci psychotomimetika MK-801 (dizocilpin; Sigma-Aldrich, ČR) v dávce 0,08 mg/kg jako dodatečnou zátěž vyvolávající akutní psychózu. Druhá polovina zvířat obdržela fyziologický roztok jako kontrolu, čímž vznikly celkem 4 skupiny: Kontrola+Fyz, LPS+Fyz, Kontrola+MK-801, LPS+MK-801. Během každého sezení jsme zároveň nahrávali ultrazvukovou vokalizaci (mikrofon Ultramic 250K, Dodotronic, Italy) jako měřítko emočního stavu zvířat.

Dospělí **potkani po prenatální aplikaci LPS** byli habituováni na nerotující arénu, poté se učili úlohu aktivní vyhýbání se místu (akvizice) na rotující aréně.

3.4. Další paměťové úlohy

U potkanů McGill jsme provedli další testy zaměřené na kognici a paměť: **bludiště tvaru Y** (pracovní paměť, habituace), **test sociálního rozpoznávání** a **test rozpoznání přemístěného a nového objektu**. Tyto úlohy však nepotvrdily předpokládaný deficit paměti, není jim zde proto věnován další prostor, nicméně detailněji jsou popsány v dizertační práci.

3.5. Statistické analýzy

Data z Morrisova vodního bludiště a kolotočového bludiště byla analyzována offline pomocí software CM Manager 0.4.0 (Bahnik, 2014). Chování potkanů McGill v ostatních úlohách bylo hodnoceno manuálně v programu EthoWatcher (Crispim Junior, 2012) s použitím videonahrávek. Audacity 2.1.2 software sloužil k nahrávání i následné offline analýze přítomnosti anxiózní vokalizace na frekvenci kolem 22 kHz.

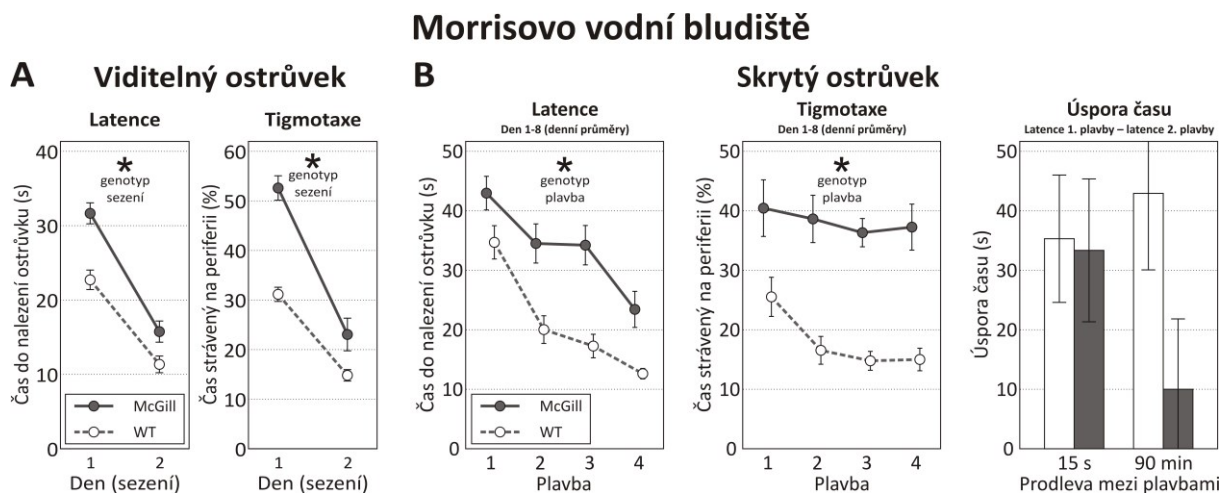
Statistická analýza byla provedena za pomoci software GrapPad Prism 7 (potkani McGill), STATISTICA (potkani Samaritan), nebo IBM SPSS Statistics (LPS modely). Behaviorální data jsme analyzovali pomocí *t*-testu, v případě opakovaných měření analýzy variance (ANOVA), a to dvoucestné (potkani

McGill, potkani Samaritan ve vodním bludišti s viditelným ostrůvkem a v kolotočovém bludišti), *mixed effect* (potkani Samaritan ve vodním bludišti se skrytým ostrůvkem), nebo trojcestné (LPS modely). V případě nenormálního rozdělení byla data transformována, nebo byly použity neparametrické testy. Ultrazvuková vokalizace byla hodnocena testem *generalized estimating equations* (GEE; postnatální LPS model), protože výstup byl binární (vokalizace přítomná/nepřítomná). Příslušnost ke skupině (LPS nebo kontroly) spolu s počtem vstupů do sektoru byly použity jako indikátor výskytu vokalizací. Signifikanci jsme stanovili na hladině $p < 0,05$.

4. Výsledky

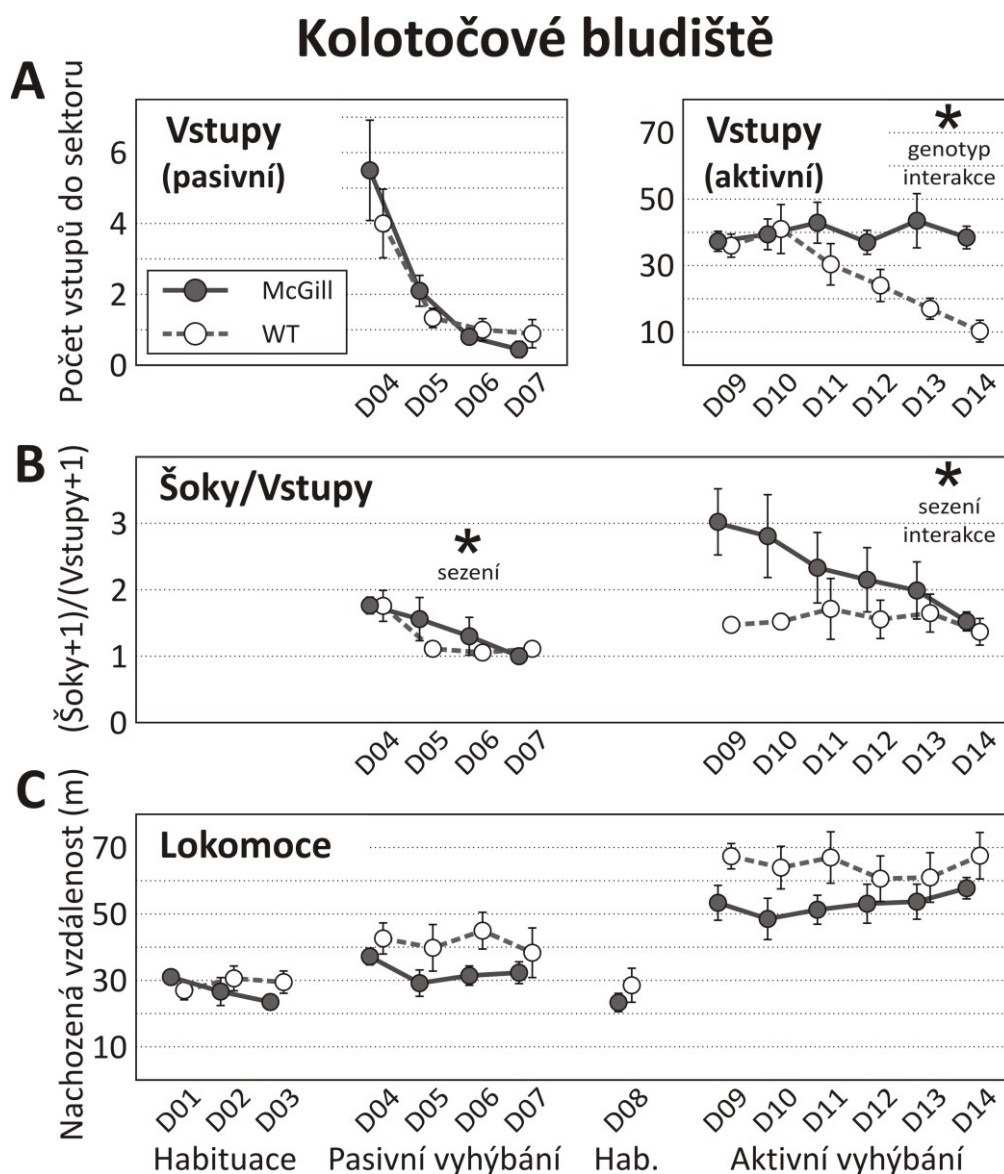
4.1. Potkani McGill

Morrisovo vodní bludiště (Obr. 5). Ve variantě s viditelným ostrůvkem i úloze se skrytým ostrůvkem vykazovali potkani McGill signifikantně delší latence k nalezení ostrůvku než kontroly. Vizuálním pozorováním jsme nezaznamenali problémy s plaváním, avšak potkani McGill přijali vyhledávací strategii pomaleji. Tigmataxe byla vyšší u skupiny McGill v obou variantách úlohy. Hodnota úspory času (*savings*) mezi 1. a 2. plavbou v rámci dne nebyla v případě krátké prodlevy signifikantně odlišná mezi skupinami a v případě dlouhé prodlevy analýza ukázala trend naznačující horší výsledek u potkanů McGill.



Obr. 5. Morrisovo vodní bludiště. **(A)** Ve variantě s viditelným ostrůvkem se obě skupiny potkanů zlepšovaly v latenci do nalezení ostrůvku, ale výkon potkanů McGill byl signifikantně horší ($p < 0,001$) než výkon kontrolních potkanů (**vlevo**), což lze vysvětlit vyšší tigmataxí (**vpravo**), kdy potkani McGill strávili na periferii bazénu více času než kontroly ($p < 0,0001$). **(B)** V úloze se skrytým ostrůvkem vykazovali potkani McGill delší latence nalezení ostrůvku než kontroly ($p < 0,0001$, **vlevo**), ačkoli se výkon obou skupin postupně v rámci dne zlepšoval (efekt plavby, $p < 0,0001$). Tigmataxe (**uprostřed**) byla opět vyšší u potkanů McGill ($p = 0,0001$). Úspora času, jako měřítko zlepšení mezi 1. a 2. plavbou v rámci dne (**vpravo**), byla srovnatelná u obou skupin, ale v případě dlouhé prodlevy (90 min) byla tato hodnota u potkanů McGill nižší ve formě trendu ($p < 0,1$) poukazující na horší výkon. Kroužky a sloupce ukazují průměry skupin \pm SEM. WT = *wild type*; * $p < 0,05$

Kolotočové bludiště (Obr. 6). Ve fázi pasivního vyhýbání se místu vstupovali potkani McGill do sektoru stejně málo jako kontroly. Počet šoků na počet vstupů (*skill learning index*) se také nelišil mezi skupinami; zvířata obvykle vyběhla ze zakázaného sektoru již po prvním šoku, což značí dobrou motivaci a motorickou odpověď. Ve fázi aktivního vyhýbání se místu byl počet vstupů do sektoru u potkanů McGill signifikantně vyšší a pouze kontrolní potkani svůj výkon s časem zlepšovali. Kontrolní zvířata vykazovala dobré únikové reakce (*skill learning index*) již od počátku, zatímco potkani McGill si správnou strategii (tj. vyběhnout ze sektoru ihned po obdržení šoku) osvojovali pomaleji.



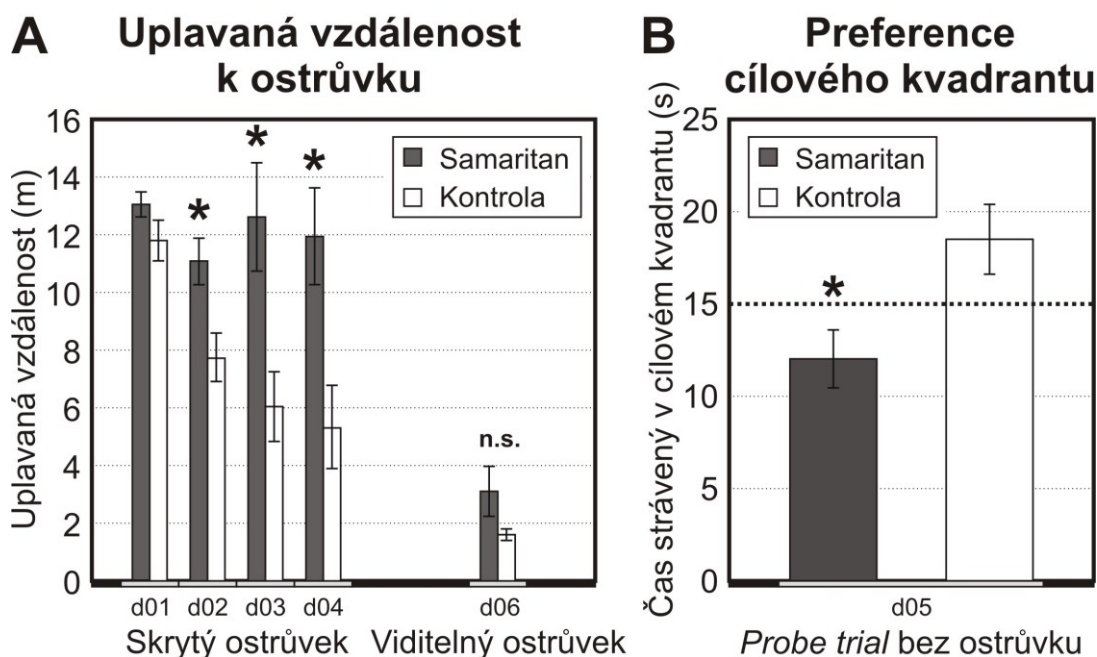
Obr. 6. Kolotočové bludiště. Úloha sestávala z habituace na stabilní arénu, pasivního vyhýbání, 10-min habituace na rotující arénu a tréninku aktivního vyhýbání. (A) Počet vstupů do zakázaného sektoru byl během fáze pasivního vyhýbání od počátku nízký (vlevo) a s každým dalším sezením se dále snižoval podobně u obou skupin zvířat. Ve fázi aktivního vyhýbání (vpravo) počet vstupů do sektoru výrazně vzrostl a u potkanů McGill zůstal celou dobu vysoký (potkani se úlohu nenaučili; $p < 0,05$) oproti kontrolním potkanům, kteří se úlohu naučili řešit (interakce genotyp*sezení, $p < 0,005$). (B) Počet šoků na počet vstupů

(*skill learning index*) se nelišil mezi skupinami v žádné fázi testu, ale v každé z nich se s časem zlepšoval. Při aktivním vyhýbání byli potkani McGill zpočátku horší než kontroly, ale zlepšovali se a na konci experimentu dosahovali úrovně kontrol (interakce genotyp*sezení, $p < 0,05$). (C) Celková nachezená vzdálenost byla podobná u obou skupin. Kroužky ukazují průměry skupin \pm SEM. D = den (sezení); WT = *wild type*; * $p < 0,05$

4.2. Potkani Samaritan

Morrisovo vodní bludiště (Obr. 10). Ve fázi se skrytým ostrůvkem uplavali potkani Samaritan oproti kontrolám delší dráhu, než našli ostrůvek, což značí zhoršenou paměť. V *probe trial* strávili potkani Samaritan méně času v cílovém kvadrantu než kontroly. Zřejmě zvolili špatnou vyhledávací strategii: hodnota času v cílovém kvadrantu je nižší než 15 s (tedy než náhodně plavající potkan), mírně preferovali opačný kvadrant a vykazovali vyšší tigmotaxi. V úloze s viditelným ostrůvkem nebyl signifikantní rozdíl mezi skupinami.

Morrisovo vodní bludiště

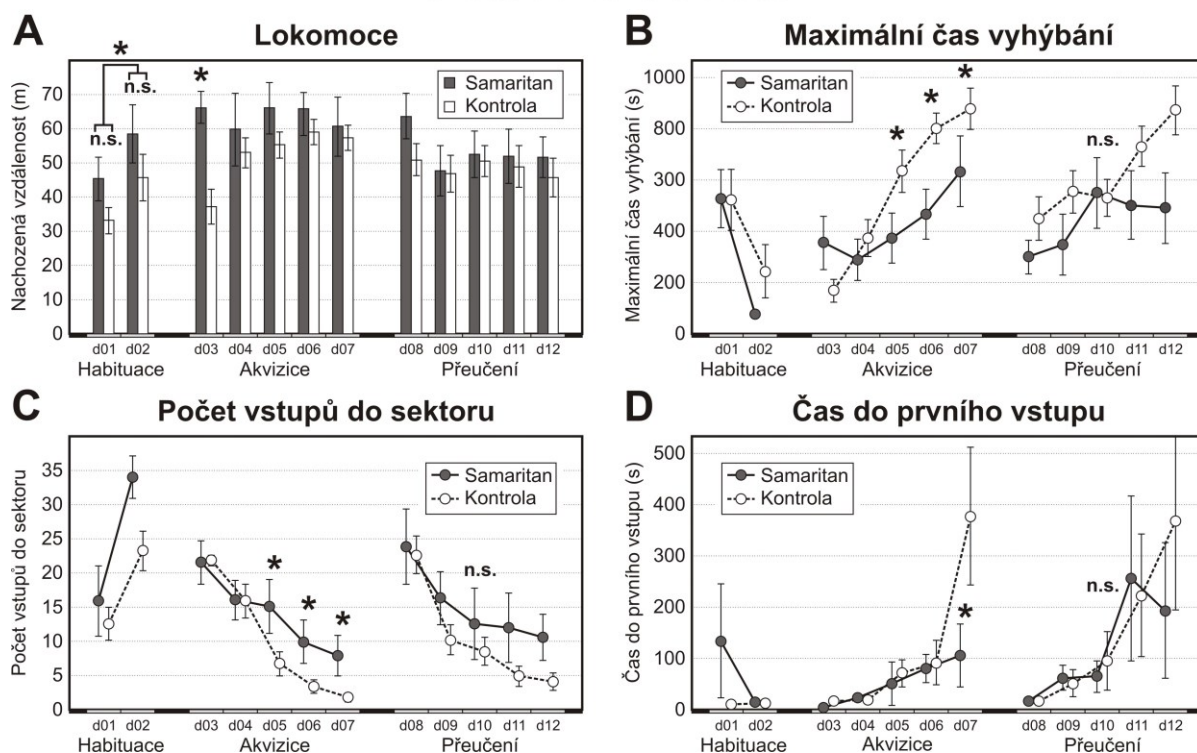


Obr. 10. Morrisovo vodní bludiště. (A) Uplavaná vzdálenost k ostrůvku. Během akvizice se skrytým ostrůvkem ve stabilní pozici (den 1–4) byl výkon potkanů Samaritan významně horší a v průběhu tréninku se nezlepšoval. Test s viditelným ostrůvkem (den 6) ukázal, že potkani z obou skupin měli motivaci a byli schopni doplatvat k ostrůvku. (B) *Probe trial* s odebraným ostrůvkem (1 plavba v den 5). Potkani Samaritan strávili v cílovém kvadrantu méně času než kontroly, což naznačuje poškození paměti nebo prostorové navigace. Jejich čas je pod hranicí náhodné hodnoty (15 s, přerušovaná čára). Sloupce ukazují průměry skupin \pm SEM. d = den testu; n.s. = nesignifikantní výsledek; * $p < 0,05$ (*t*-test na zprůměrovaných datech)

Kolotočové bludiště (Obr. 11). Potkani Samaritan měli poslední 3 dny akvizice oproti kontrolám kratší maximální čas mezi dvěma vstupy a vyšší počet vstupů do sektoru. V čase do prvního vstupu se paměť zlepšila výrazněji kontrolním potkanům ve srovnání s potkany Samaritan. Výsledky prostorových parametrů

ukazují, že modelová zvířata byla v akvizici horší než kontroly. Během přeučení nebyl patrný signifikantní rozdíl mezi skupinami v žádném z parametrů.

Kolotočové bludiště



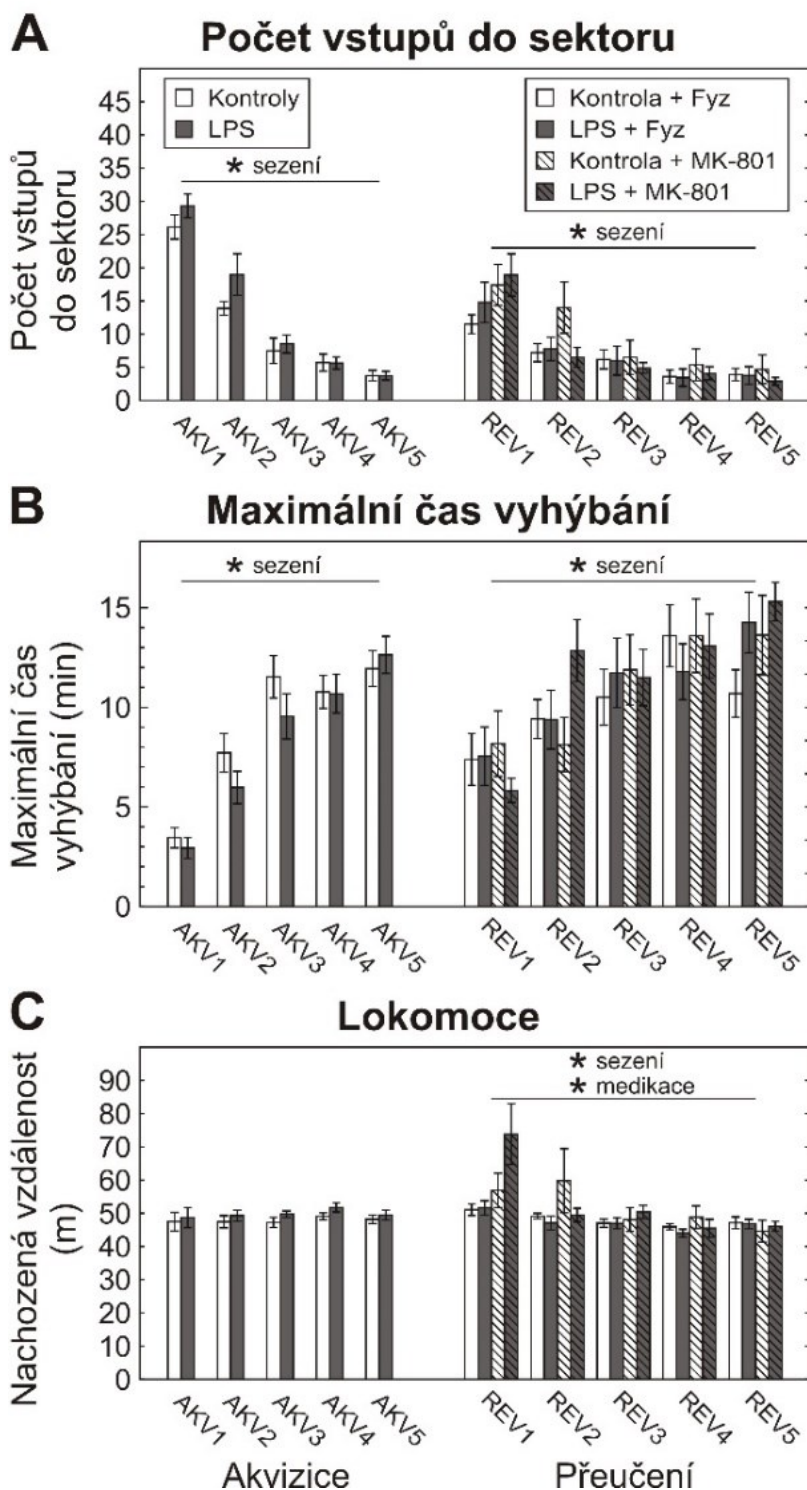
Obr. 11. Kolotočové bludiště. Úloha byla rozdělena na 2 sezení habituace (den 1–2), akvizici (den 3–7) a přeučení (den 8–12). (A) Celková nachozená vzdálenost je měřítkem lokomoční aktivity. V habituaci nebyl rozdíl mezi skupinami signifikantní. V akvizici u kontrolních zvířat lokomoce stoupala, zatímco u potkanů Samaritan byla stabilní (signifikantní interakce skupina*den). Ve fázi přeučení již nebyl patrný žádný rozdíl mezi skupinami. (B) Maximální čas vyhýbání určuje nejdelší periodu úspěšného vyhýbání se sektoru v rámci sezení. Opět se neukázal signifikantní efekt skupiny, ale byla významná interakce naznačující pomalejší učení u potkanů Samaritan během akvizice. V přeučení nevyšel signifikantně ani efekt skupiny, ani interakce skupina*den, ačkoli graf naznačuje podobný trend. (C) Počet vstupů do sektoru je dalším měřítkem schopnosti se vyhýbat. Rozdíl mezi skupinami opět nebyl signifikantní, ale významná interakce skupina*den indikuje pomalejší učení a horší výkon u potkanů Samaritan během akvizice. V přeučení patrná tendence k vyšším hodnotám počtu chyb u potkanů Samaritan zůstala nesignifikantní. (D) Čas do prvního vstupu do sektoru je měřítkem dlouhodobé paměti mezi sezeními. Rozdíl mezi skupinami byl pouze ve formě trendu a signifikantní interakce skupina*den opět ukazuje na horší výkon na konci akvizice u potkanů Samaritan. Ve fázi přeučení nebyl patrný žádný významný rozdíl, což může být dáno velkou variací v rámci skupin. Kroužky a sloupce ukazují průměry skupin \pm SEM. d = den testu; * $p < 0,05$ (t -test na zprůměrovaných datech); n.s. = nesignifikantní výsledek

4.3. Potkani po časně postnatální aplikaci LPS

Kolotočové bludiště (Obr. 12). V akvizici nebyl patrný rozdíl mezi skupinami, LPS potkani se úlohu naučili stejně dobře jako kontroly. Počet vstupů do sektoru se postupně snižoval a maximální čas mezi dvěma vstupy zvyšoval u obou

skupin, což značí úspěšné osvojení si úlohy. Změnu polohy sektoru se v další fázi (*reversal*) potkani přeúčili dobře a efekt LPS ani medikace MK-801 nevyšly signifikantně. Mezi sezeními bylo u všech zvířat vidět významné zlepšování v počtu vstupů do sektoru i nárůst maximálního času mezi dvěma vstupy, u kterého byly hodnoty již od počátku vysoké. Analýza odhalila signifikantní efekt medikace na lokomoci, kdy potkani po MK-801 nachodili delší vzdálenost než kontroly. Efekt LPS však významný nebyl.

Kolotočové bludiště

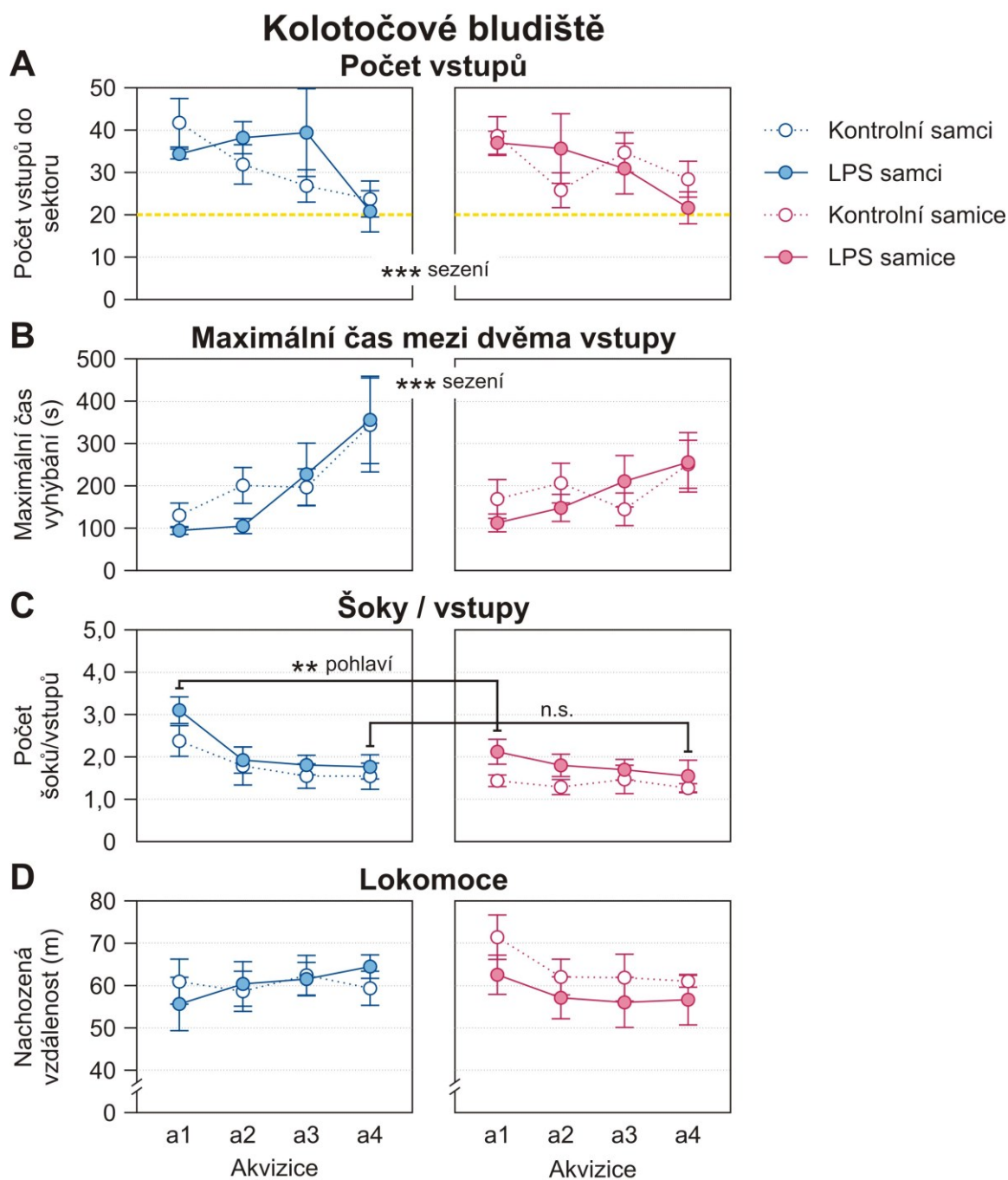


Obr. 12. Kolotočové bludiště. Postupné zlepšování bylo patrné (A) v počtu vstupů do sektoru i (B) v maximálním čase mezi dvěma vstupy. V kognici jsme však nepozorovali žádné rozdíly mezi LPS skupinou a kontrolami ani během akvizice, ani ve fázi přeučení, a ani významný vliv MK-801. (C) Lokomoční aktivita také nebyla ovlivněna LPS, avšak akutní aplikace MK-801 ji zvýšila, a to zejména na začátku přeučení (REV1 a REV3). Sloupce ukazují průměry skupin \pm SEM. AKV = akvizice; Fyz = fyziologický roztok (kontrolní aplikace); REV = reversal; * $p < 0,05$

Vyhodnocovali jsme také anxiózní 22-kHz vokalizace, které potkani vydávali během sezení v kolotočovém bludišti. Předpokládali jsme, že anxiózní vokalizace byly důsledkem chyb vedoucí k obdržení elektrických ranek. Nenašli jsme rozdíl v celkové vokalizaci, ovšem zjistili jsme, že u kontrolních zvířat přítomnost vokalizací závisela na počtu vstupů do sektoru (což zřejmě reflektovalo rostoucí frustraci z neúspěšného řešení úlohy), zatímco LPS potkani úzkostně vokalizovali nezávisle na počtu vstupů do sektoru (vokalizovali i když chybovali málo). To znamená, že emocionální odpověď, indikovaná anxiózní vokalizací, se vztahovala k neúspěšnému řešení úlohy pouze u kontrolní skupiny zvířat, ale LPS potkani vokalizovali anxiózně, i když úlohu úspěšně řešili.

4.4. Potkani po prenatální aplikaci LPS

Kolotočové bludiště (Obr. 13). Statistická analýza neprokázala signifikantní efekt LPS ani v jednom ze sledovaných parametrů. Signifikantní efekt pohlaví byl pozorován pouze v parametru počet šoků na počet vstupů první den akvizice (a1), kdy samice měly tento poměr šoky/vstupy nižší než samci; poslední den akvizice (a4) se již pohlaví mezi sebou nelišila. Potkani (bez ohledu skupinu či pohlaví) se během akvizice postupně zlepšovali, ačkoli ani poslední den akvizice (a4) nedosáhli uspokojivého výsledku.



Obr. 13. Kolotočové bludiště. LPS samci ani LPS samice se nelišili od kontrolních zvířat v žádném z kognitivních parametrů (A–C). (A) V počtu vstupů do zakázaného sektoru docházelo k postupnému zlepšování, ale ani kontrolní zvířata nebyla schopna si úlohu dobře osvojit. Žlutá přerušovaná čára označuje počet otáček arény za jedno sezení (1krát za minutu), tj. minimální počet teoretických vstupů do zakázaného sektoru; hodnoty nad touto hranicí znamenají neschopnost zapamatovat si polohu sektoru a neefektivní vyhýbání. (B) Maximální čas vyhýbání se s časem zvyšoval, avšak bez rozdílu mezi skupinami. (C) Samci obdrželi zpočátku (a1) více šoků na počet vstupů do sektoru než samice ($p = 0,002$), ale čtvrtý den akvizice (a4) již tento rozdíl nebyl patrný (n.s.). (D) Statistická analýza neodhalila signifikantní efekt LPS ani pohlaví na lokomoční aktivitu, a nedocházelo ani k významnému vývoji v čase. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

5. Diskuze

5.1. Potkani McGill

Potkani McGill vykazovali výrazné kognitivní poškození. V **kolotočovém bludišti** si nebyli schopni osvojit úlohu aktivní vyhýbání se místu, zatímco kontrolní zvířata se úlohu učila dobře. Potkani McGill měli zpočátku problém s pochopením principu úlohy (tedy že mají po obdržení elektrické ranky utéci pryč). Na šoky však viditelně reagovali, nelze tuto skutečnost tedy vysvětlit sníženým prahem bolesti. Postupně se ale jejich výkon zlepšoval až na úroveň kontrol, které ovšem princip úlohy (únikovou reakci) ovládly již první den akvizice. V úloze pasivní vyhýbání se místu bez rotující arény se potkani McGill učili podobně dobře jako kontroly. Tato úloha je však jednodušší, protože nevyžaduje selektivní pozornost k jednomu vybranému referenčnímu rámci; orientační značky v místnosti lze aplikovat pro sektor i arénu současně (oba jsou stabilní). Narušená prostorová kognice nasvědčuje vážnému deficitu hipokampální funkce, což odpovídá symptomům pozorovaným u lidských pacientů s AD, nebo lidí s amnestickou mírnou kognitivní poruchou, která předchází následný rozvoj demence (Gazova et al., 2012). Hipokampální formace je mezi prvními postiženými mozgovými strukturami jak u lidí s AD, tak u modelového potkana McGill (Leon et al., 2010).

V úloze **Morrisovo vodní bludiště** zaměřené na pracovní paměť dosahovali potkani McGill ve variantě s krátkým intervalem mezi prvními dvěma plavbami (15 s) úroveň netransgenních zvířat. Ve variantě s delším intervalem (90 min) u nich byla menší úspora času (*savings*) mezi prvními dvěma plavbami (učení jednoho sezení, *single-trial learning*) pouze ve formě trendu, poškození pracovní paměti tedy nebylo příliš výrazné. Transgenní potkani ovšem nacházeli skrytý ostrůvek obecně s delší latencí než kontrolní potkani, což by mohlo svědčit o narušené prostorové paměti. Vysvětlením může být vyšší anxiety (tigmotaxe), procedurální deficit (pomalejší osvojení efektivní strategie hledání ostrůvku) či zhoršené zrakové vnímání. Nález naznačují obecnější poškození chování, které sahá až za hranici kognitivní domény. Leon et al. (2010) na rozdíl od nás neviděli deficit ve variantě s viditelným ostrůvkem a reportovali čistý kognitivní deficit. Popisují ale narušené učení ve vodním bludišti v úloze zaměřené na dlouhodobou paměť. Toto zjištění podporuje i naše nálezy v kolotočovém bludišti s testem na dlouhodobou prostorovou paměť.

U potkanů McGill jsme dále pozorovali projevy úzkosti (kromě vodního bludiště také v testu světlo-tma, kolotočovém bludišti vydáváním úzkostných vokalizací a vyvýšeném křížovém bludišti). Projevy úzkosti jsou běžné u animálních modelů AD (Lee et al., 2004; Pentkowski et al., 2018) i u starších lidí trpících mírnou kognitivní poruchou či AD (Beaudreau & O'Hara, 2008; Porter et al., 2003).

5.2. Potkani Samaritan

Potkani Samaritan vykazovali narušené učení a poškozenou dlouhodobou paměť. V **Morrisově vodním bludišti** si nedokázali účinně zapamatovat polohu skrytého ostrůvku a efektivně jej nalézt. Ani při plavbě *probe trial* bez ostrůvku nepreferovali cílový kvadrant s původní pozicí ostrůvku. K neúspěchu mohla přispět vyšší anxieta (tigmotaxe); procedurální poškození jsme nepozorovali. Lecanu et al. (2006) sledovali pouze efekty experimentální manipulace na vybavení vzpomínek získaných ještě před chirurgickým zákrokem, zatímco naše experimenty zahrnovaly prošetření schopností učení, (přesnosti) vybavení si vzpomínky a zvládání procedurálních aspektů úlohy již u připravených modelových zvířat.

Úloha aktivní vyhýbání se místu v **kolotočovém bludišti** rovněž ukázala deficit učení a kognitivní koordinace, což je u tohoto modelu nové zjištění. Během akvizice se potkani Samaritan polohu zakázaného sektoru učili, ale pomaleji než kontroly. Deficit kognitivní koordinace dobře odráží poškození i u lidských pacientů s AD. Meta-analýza autorů Ben-David et al. (2014) ukazuje narušenou selektivní pozornost u pacientů s AD při Stroopově testu, který lze považovat za analog úlohy aktivní vyhýbání v kolotočovém bludišti u potkanů. Naše pozorování lze vysvětlit i obecnějším poškozením prostorové navigace a paměti, které jsme viděli i ve vodním bludišti a které samo o sobě stačí ke snížení výkonu v kolotočovém bludišti. Následná fáze přeučení (*reversal*) se změnou polohou sektoru neprokázala u potkanů Samaritan významně narušenou kognitivní flexibilitu. Zjištění je ale obtížné interpretovat. Je možné, že pro potkany Samaritan byla tato fáze jednodušší, pokud si nezapamatovali původní polohu sektoru, než pro kontrolní potkany, kteří měli předchozí polohu sektoru dobře zafixovanou.

5.3. Potkani po časně postnatální aplikaci LPS

Úloha aktivní vyhýbání se místu v **kolotočovém bludišti** je vhodná na testování animálních modelů schizofrenie (Petrásek et al., 2009; Stuchlik et al., 2004, 2013). Potkani, kterým byl časně postnatálně aplikován LPS, v dospělosti však nevykazovali známky poškozené kognitivní koordinace a prostorové paměti. Ověřili jsme také kognitivní flexibilitu ve fázi přeučení (*reversal*) se změnou polohou sektoru. U poloviny zvířat jsme navíc akutně aplikovali dizocilpin (MK-801), psychotomimetikum, které u laboratorních zvířat simuluje akutní psychózu (Bubeníková-Valešová et al., 2008). Stejně jako jsou pacienti se schizofrenií hypersenzitivní k psychotomimetickým látkám (Bramness et al., 2012; Malhotra et al., 1997), u animálních modelů schizofrenie se také předpokládá zhoršení stavu po jejich aplikaci. V naší studii ovšem potkani neměli problém s přeučením polohy sektoru ani vlivem rané zkušenosti s LPS, ani dizocilpinu v dospělosti, a dokonce ani při kombinaci těchto dvou faktorů. Dizocilpin vede k narušení kognice, ale námi použitá dávka (0,08 mg/kg) je

hraniční a nepůsobuje toto poškození vždy (Lobellova et al., 2013; Stuchlík et al., 2004; Vojtechova et al., 2016). V našem případě měl dizocilpin malý a přechodný efekt na lokomoci. Hyperlokomoce po podání dizocilpinu je v literatuře popisována u laboratorních hlodavců opakovaně po různých dávkách (Kubík et al., 2014; Lobellova et al., 2013; Stuchlík & Vales, 2005; Zajaczkowski et al., 2003; Zuo et al., 2006).

Překvapivě LPS potkani vydávali při řešení úlohy v kolotočovém bludišti anxiózní ultrazvukové vokalizace (22 kHz) nezávisle na tom, zda v úloze byli, nebo nebyli úspěšní. Kontrolní zvířata vokalizovala pouze v případě neúspěchu (produkce ultrazvuků závisela na počtu vstupů). Potkani obecně vydávají 22-kHz vokalizace v nepříjemných situacích, když se bojí nebo cítí úzkost (Portfors, 2007). Pokud tyto vokalizace produkovali LPS potkani i v případě, že úlohu zvládali, znamená to emocionální narušení, tedy emoce nepřiléhavé dané situaci. Problematická adaptace na nové situace a emocionální změny, včetně anxiety, patří do symptomatologie schizofrenie (Huppert & Smith, 2001; Tordjman et al., 2007).

V ostatních behaviorálních úlohách jsme u modelových zvířat nepozorovali významné změny chování. Porovnání našich zjištění s ostatními studiemi je velmi obtížné, neboť efekty časné postnatální aplikace LPS na projevy zvířat jsou v literatuře popsány jen velmi vzácně, navíc s použitím jiného designu podávání LPS, a v kombinaci s psychotomimetikem nejsou popsány vůbec. Naše komplexní behaviorální studie tak představuje důležitý vhled do této problematiky.

5.4. Potkani po prenatální aplikaci LPS

Dospělí potkani prenatálně vystavení LPS se nelišili ve sledovaných parametrech v **kolotočovém bludišti** od kontrolních zvířat. Nebylo však možné rozklíčovat rozsah deficitu kognitivní koordinace a dlouhodobé prostorové paměti, protože úspěšného řešení úlohy nedosáhli ani kontrolní potkani, kteří i poslední den akvizice měli vysoký počet vstupů; hodnota 20 vstupů/sezení je považována za hraniční hodnotu učení (při 1 otáčce arény/minutu může být nehybný potkan do sektoru zavezen právě 20krát). Proč nebyli potkani schopni úlohu efektivně řešit, není příliš jasné, protože již dříve byla prokázána schopnost potkanů kmene Wistar úlohu řešit (Vales et al., 2006; viz také kap. 4.3). Prostým vysvětlením může být ztráta zraku způsobená např. nevhodně vysokou intenzitou osvětlení ve zvěřinci, na kterou jsou albinotické kmény potkanů velmi citliví (Burn, 2008). Úloha také mohla pro potkany představovat příliš stresující zátěž; všechny předchozí zkušenosti (hodně ostatních behaviorálních testů, převoz mezi pracovišti, krátká habituace ad.) mohly ovlivnit jejich výkon.

Studie odhalila u modelových potkanů jiné změny v chování (deficit prepulsní inhibice, zvýšený úlekový reflex, nižší míru sociálního kontaktu, změny

v ultrazvukové vokalizaci, anxietu, hypoaktivitu), které se podobají symptomům pozorovaným u pacientů se schizofrenií, nebo ASD. Změny souvisely s věkem a pohlavím studovaných zvířat, což naznačuje, že srovnatelný zásah do vývoje organismu, např. infekce v těhotenství jako v případě našeho modelu, by mohl vést k rozvoji různých duševních poruch, nebo alespoň různě silným projevům určitých symptomů, v závislosti na pohlaví postiženého jedince, stejně jako samci a samice našich modelových zvířat projevovali různý behaviorální fenotyp.

6. Závěr

Transgenní potkani McGill nesoucí mutace lidského APP se ukázali jako validní model AD, a to nejen z hlediska závažného poškození kognitivních funkcí (učení a dlouhodobá paměť, prostorová navigace, kognitivní koordinace), ale i dalších aspektů chování, jako je anxieta, posturální problémy a zhoršená motorická koordinace a změny v sociálním chování a vokální komunikaci. AD je typická kognitivním selháním, avšak pacienti trpí řadou dalších problémů, které bývají při studiu animálních modelů často opomíjeny. Naše studie je významná právě prozkoumáním také jiných domén chování v široké baterii testů, z nichž některé byly u tohoto modelu vyzkoušeny vůbec poprvé. U netransgenních potkanů Samaritan, vystavených čtyřtýdennímu působení amyloidu A β 1-42 a dvěma prooxidativním substancím, jsme prokázali výrazné kognitivní poškození (prostorové učení a dlouhodobá paměť, kognitivní koordinace), což prokazuje fenomenologickou validitu k AD. Vzhledem k tomu, že se tomuto modelu věnovala pouze jedna studie, byla naše práce velkým přínosem.

Výkon potkanů, vystavených časně postnatálně nebo prenatalně působení LPS, v úloze na kolotočovém bludišti neodráží kognitivní symptomy pozorované u pacientů se schizofrenií či ASD. Potkani s postnatálním podáním LPS nejevili známky kognitivního poškození, zatímco u potkanů s prenatalním podáním LPS nebylo možné toto poškození zhodnotit, protože zvolenou úlohu nezvládla ani kontrolní zvířata. Oba modely však prozrazují emocionální narušení. Potkani po postnatálním podání LPS nejevili změny v žádné další testované doméně chování, zatímco prenatalní vystavení LPS navíc způsobilo změny v sociálním chování a komunikaci, dále nižší aktivitu, zvýšený úlekový reflex a narušené sensorimotorické zpracování informace, přičemž tyto změny byly specifické pro jedno nebo druhé pohlaví. V případě postnatálního podání LPS je validita modelu ve vztahu ke schizofrenii sporná, protože emocionální narušení není specifickým symptomem schizofrenie. Naproti tomu potkaní model s prenatalní expozicí LPS vykazuje širší spektrum schizofrenii-podobného chování, obzvláště negativních symptomů, s přesahem do symptomatologie ASD (v závislosti na pohlaví zkoumaných zvířat).

7. Použitá literatura

- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®)* (5th Edition). American Psychiatric Association.
- Bahnik, S. (2014). Carousel Maze Manager. Version 0.4.0. Available online at https://github.com/bahniks/CM_Manager_0_4_0
- Basta-Kaim, A., Fijał, K., Budziszewska, B., Regulska, M., Leśkiewicz, M., Kubera, M., Gołombiowska, K., Lason, W., & Wędzony, K. (2011). Prenatal lipopolysaccharide treatment enhances MK-801-induced psychotomimetic effects in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *98*(2), 241–249.
- Beaudreau, S. A., & O’Hara, R. (2008). Late-life anxiety and cognitive impairment: A review. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, *16*(10), 790–803.
- Ben-David, B. M., Tewari, A., Shakuf, V., & Van Lieshout, P. H. H. M. (2014). Stroop effects in Alzheimer’s disease: Selective attention speed of processing, or color-naming? A meta-analysis. *Journal of Alzheimer’s Disease*, *38*(4), 923–938.
- Boksa, P. (2010). Effects of prenatal infection on brain development and behavior: A review of findings from animal models. *Brain, Behavior, and Immunity*, *24*(6), 881–897.
- Bramness, J. G., Gundersen, Ø. H., Guterstam, J., Rognli, E. B., Konstenius, M., Løberg, E.-M., Medhus, S., Tanum, L., & Franck, J. (2012). Amphetamine-induced psychosis—A separate diagnostic entity or primary psychosis triggered in the vulnerable? *BMC Psychiatry*, *12*(1), 221.
- Brun, A., & Englund, E. (1981). Regional pattern of degeneration in Alzheimer’s disease: Neuronal loss and histopathological grading. *Histopathology*, *5*(5), 549–564.
- Bubeníková-Valešová, V., Horáček, J., Vrajová, M., & Höschl, C. (2008). Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *32*(5), 1014–1023.
- Bures, J., Fenton, A. A., Kaminsky, Y., & Zinyuk, L. (1997). Place cells and place navigation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *94*(1), 343–350.
- Burn, C. C. (2008). What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, *112*(1–2), 1–32.
- Crispim Junior, C. F., Pederiva, C. N., Bose, R. C., Garcia, V. A., Lino-de-Oliveira, C., & Marino-Neto, J. (2012). ETHOWATCHER: validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals. *Computers in Biology and Medicine*, *42*(2), 257–264.
- Gazova, I., Vlcek, K., Laczó, J., Nedelska, Z., Hyncicova, E., Mokrisova, I., Sheardova, K., & Hort, J. (2012). Spatial navigation—A unique window into physiological and pathological aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *4*.
- Greenberg, D. L., & Verfaellie, M. (2010). Interdependence of episodic and semantic memory: Evidence from neuropsychology. *Journal of the International Neuropsychological Society*, *16*(5), 748–753.
- Huppert, J. D., & Smith, T. E. (2001). Longitudinal analysis of subjective quality of life in schizophrenia: Anxiety as the best symptom predictor. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, *189*(10), 669–675.
- Kubík, Š., Buchtová, H., Valeš, K., & Stuchlík, A. (2014). MK-801 impairs cognitive coordination on a rotating arena (Carousel) and contextual specificity of hippocampal

- immediate-early gene expression in a rat model of psychosis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 75.
- Lecanu, L., Greeson, J., & Papadopoulos, V. (2006). Beta-amyloid and oxidative stress jointly induce neuronal death, amyloid deposits, gliosis, and memory impairment in the rat brain. *Pharmacology*, 76(1), 19–33.
- Lee, K.-W., Lee, S. H., Kim, H., Song, J.-S., Yang, S.-D., Paik, S. G., & Han, P.-L. (2004). Progressive cognitive impairment and anxiety induction in the absence of plaque deposition in C57BL/6 inbred mice expressing transgenic amyloid precursor protein. *Journal of Neuroscience Research*, 76(4), 572–580.
- Leon, W. C., Canneva, F., Partridge, V., Allard, S., Ferretti, M. T., DeWilde, A., Vercauteren, F., Atifeh, R., Ducatenzeiler, A., Klein, W., Szyf, M., Alhonen, L., & Cuello, A. C. (2010). A novel transgenic rat model with a full Alzheimer's-like amyloid pathology displays pre-plaque intracellular amyloid- β -associated cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(1), 113–126.
- Lobelova, V., Entlerova, M., Svojanovska, B., Hatalova, H., Prokopova, I., Petrasek, T., Vales, K., Kubik, S., Fajnerova, I., & Stuchlik, A. (2013). Two learning tasks provide evidence for disrupted behavioural flexibility in an animal model of schizophrenia-like behaviour induced by acute MK-801: A dose–response study. *Behavioural Brain Research*, 246, 55–62.
- Malhotra, A. K., Pinals, D. A., Adler, C. M., Elman, I., Clifton, A., Pickar, D., & Breier, A. (1997). Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology*, 17(3), 141–150.
- Morris, R. G. M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, 12(2), 239–260.
- O'Keefe, J., & Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Clarendon Press ; Oxford University Press.
- Pentkowski, N. S., Berkowitz, L. E., Thompson, S. M., Drake, E. N., Olguin, C. R., & Clark, B. J. (2018). Anxiety-like behavior as an early endophenotype in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 61, 169–176.
- Petrásek, T., Benkovičová, K., Valeš, K., & Stuchlík, A. (2009). Navigační úloha aktivního alotetického vyhýbání se místu (AAPA): Užitečná metoda pro hodnocení prostorové kognice a chování laboratorních zvířat. *Psychiatrie*, 13(4), 195–200.
- Phillips, W. A., & Silverstein, S. M. (2003). Convergence of biological and psychological perspectives on cognitive coordination in schizophrenia. *Behavioral and Brain Sciences*, 26(1), 65–138.
- Porter, V. R., Buxton, W. G., Fairbanks, L. A., Strickland, T., O'Connor, S. M., Rosenberg-Thompson, S., & Cummings, J. L. (2003). Frequency and characteristics of anxiety among patients with Alzheimer's disease and related dementias. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 15(2), 180–186.
- Portfors, C. V. (2007). Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 46(1), 28–34.
- Stuchlík, A., Petrásek, T., Prokopová, I., Holubová, K., Hatalová, H., Valeš, K., Kubík, Š., Dockery, C., & Wesierska, M. (2013). Place avoidance tasks as tools in the behavioral neuroscience of learning and memory. *Physiological Research*, 62(Suppl. 1), S1–S19.
- Stuchlik, A., Rezacova, L., Vales, K., Bubenikova, V., & Kubik, S. (2004). Application of a novel Active Allothetic Place Avoidance task (AAPA) in testing a pharmacological model

- of psychosis in rats: Comparison with the Morris Water Maze. *Neuroscience Letters*, 366(2), 162–166.
- Stuchlík, Ales, & Vales, K. (2005). Systemic administration of MK-801, a non-competitive NMDA-receptor antagonist, elicits a behavioural deficit of rats in the Active Allothetic Place Avoidance (AAPA) task irrespectively of their intact spatial pretraining. *Behavioural Brain Research*, 159(1), 163–171.
- Tordjman, S., Drapier, D., Bonnot, O., Graignic, R., Fortes, S., Cohen, D., Millet, B., Laurent, C., & Roubertoux, P. L. (2007). Animal models relevant to schizophrenia and autism: Validity and limitations. *Behavior Genetics*, 37(1), 61–78.
- Vales, K., Bubenikova-Valesova, V., Klement, D., & Stuchlik, A. (2006). Analysis of sensitivity to MK-801 treatment in a novel active allothetic place avoidance task and in the working memory version of the Morris water maze reveals differences between Long-Evans and Wistar rats. *Neuroscience Research*, 55(4), 383–388.
- Vojtechova, I., Petrasek, T., Hatalova, H., Pistikova, A., Vales, K., & Stuchlik, A. (2016). Dizocilpine (MK-801) impairs learning in the active place avoidance task but has no effect on the performance during task/context alternation. *Behavioural Brain Research*, 305, 247–257.
- Wesierska, M., Dockery, C., & Fenton, A. A. (2005). Beyond memory, navigation, and inhibition: Behavioral evidence for hippocampus-dependent cognitive coordination in the rat. *Journal of Neuroscience*, 25(9), 2413–2419.
- Wilson, E. N., Abela, A. R., Do Carmo, S., Allard, S., Marks, A. R., Welikovitch, L. A., Ducatenzeiler, A., Chudasama, Y., & Cuello, A. C. (2016). Intraneuronal amyloid beta accumulation disrupts hippocampal CRTC1-dependent gene expression and cognitive function in a rat model of Alzheimer disease. *Cerebral Cortex*, 27(2), 1–11.
- Zajackowski, W., Czyrak, A., & Wedzony, K. (2003). A competitive antagonist of NMDA receptors CGP 40116 attenuates experimental symptoms of schizophrenia evoked by MK-801. *Polish Journal of Pharmacology*, 55(5), 703–711.
- Zuo, D.-Y., Zhang, Y.-H., Cao, Y., Wu, C.-F., Tanaka, M., & Wu, Y.-L. (2006). Effect of acute and chronic MK-801 administration on extracellular glutamate and ascorbic acid release in the prefrontal cortex of freely moving mice on line with open-field behavior. *Life Sciences*, 78(19), 2172–2178.

Seznam publikací autorky

Publikace přiložené k dizertační práci

Petrasek, T., **Vojtechova, I.**, Lobellova, V., Popelikova, A., Janikova, M., Brozka, H., Houdek, P., Sladek, M., Sumova, A., Kristofikova, Z., Vales, K., & Stuchlik, A. (2018). The McGill transgenic rat model of Alzheimer's disease displays cognitive and motor impairments, changes in anxiety and social behavior, and altered circadian activity. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 250. **IF = 3.633**

Petrasek, T., Skurlova, M., Maleninska, K., **Vojtechova, I.**, Kristofikova, Z., Matuskova, H., Sirova, J., Vales, K., Ripova, D., & Stuchlik, A. (2016). A rat model of Alzheimer's disease based on Abeta42 and pro-oxidative substances exhibits cognitive deficit and alterations in glutamatergic and cholinergic neurotransmitter systems. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8, 83. **IF = 4.504**

Vojtechova, I.*, Petrasek, T., Maleninska, K., Brozka, H., Tejkalova, H., Horacek, J., Stuchlik, A., & Vales, K. (2018). Neonatal immune activation by lipopolysaccharide causes inadequate emotional responses to novel situations but no changes in anxiety or cognitive behavior in Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, 349, 42–53. **IF = 2.770**

Vojtechova, I.*, Maleninska, K., Kutna, V., Klovrcza, O., Tuckova, K., Petrasek, T., & Stuchlik, A. (2021). Behavioral alterations and decreased number of parvalbumin-positive interneurons in Wistar rats after maternal immune activation by lipopolysaccharide: Sex matters. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3274. **IF = 5.923**

*Všechna prvoautorství jsou zároveň korespondující autorství.

Další impaktované publikace

Petrasek, T., Prokopova, I., Sladek, M., Weissova, K., **Vojtechova, I.**, Bahnik, S., Zemanova, A., Schönig, K., Berger, S., Tews, B., Bartsch, D., Schwab, M. E., Sumova, A., & Stuchlik, A. (2014). NogoA-deficient transgenic rats show deficits in higher cognitive functions, decreased anxiety, and altered circadian activity patterns. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 90. **IF = 3.270**

Vojtechova, I.*, Petrasek, T., Hatalova, H., Pistikova, A., Vales, K., & Stuchlik, A. (2016). Dizocilpine (MK 801) impairs learning in the active place avoidance task but has no effect on the performance during task/context alternation. *Behavioural Brain Research*, 305, 247–57. **IF = 3.002**

Petrasek, T., **Vojtechova, I.**, Klovřza, O., Tuckova, K., Vejmola, C., Rak, J., Sulakova, A., Kaping, D., Bernhardt, N., de Vries, P., Otahal, J., Waltereit, R. (2021). mTOR inhibitor improves autistic-like behaviors related to Tsc2 haploinsufficiency but not following developmental status epilepticus. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 13(1), 14. **IF = 3.487**

Janikova, M., Mainerova, K., **Vojtechova, I.**, Petrasek, T., Svoboda, J., Stuchlik, A. (2021). Memantine and riluzole exacerbate, rather than ameliorate behavioral deficits induced by 8-OH-DPAT sensitization in a spatial task. *Biomolecules*, 11(7), 1007. **IF = 4.879**

Juza, R., Stefkova, K., Dehaen, W., Randakova, A., Petrasek, T., **Vojtechova, I.**, Koblřova, T., Pulkrabkova, L., Muckova, L., Mecava, M., Prchal, L., Mezeiova, E., Musilek, K., Soukup, O., Korabecny, J. (2021). Synthesis and in vitro evaluation of novel dopamine receptor D₂ 3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one derivatives related to aripiprazole. *Biomolecules*, 11(9), 1262. **IF = 4.879**

*Všechna prvoautorství jsou zároveň korespondující autorství.