

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Neurovědy



Mgr. Iveta Vojtěchová

Poruchy paměti a kognitivní koordinace u potkaních modelů neuropsychiatrických onemocnění

Memory and cognitive coordination impairment in rat models
of neuropsychiatric diseases

Dizertační práce

Vedoucí práce/Školitel: prof. RNDr. Aleš Stuchlík, DSc.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 16. 8. 2021

.....
Mgr. Iveta Vojtěchová

Identifikační záznam:

VOJTĚCHOVÁ, Iveta. *Poruchy paměti a kognitivní koordinace u potkaních modelů neuropsychiatrických onemocnění. [Memory and cognitive coordination impairment in rat models of neuropsychiatric diseases]*. Praha, 2021. 138 s., 4 příl. Dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta. Vedoucí závěrečné práce prof. RNDr. Aleš Stuchlík, Ph.D., DSc.

PODĚKOVÁNÍ

Ze všeho nejdříve bych chtěla velice poděkovat svému školiteli prof. Aleši Stuchlíkovi za odborné vedení mé práce, za pomoc a čas, které mi věnoval během celého mého doktorského studia. Děkuji mu však i za projevy přátelství, lidskosti a pochopení, kterými nikdy nešetřil.

Nesmírně děkuji RNDr. Tomáši Petráskovi, Ph.D. nejen za odborné konzultace při plánování a provádění experimentů, při analýze dat a také při psaní této práce, ale hlavně za všechny udělené rady, kterými mě zasvětil do vědeckého života, a později ho pomohl rozvíjet.

Nemohu opomenout ani práci všech mých kolegů a spolupracovníků jak ve Fyziologickém ústavu AV ČR, tak v Národním ústavu duševního zdraví, jejichž podíl na dokončení této práce, ať už slovem či rukou, je nemalý. Jmenovitě velmi děkuji RNDr. Haně Brožce, Ph.D. za její neocenitelnou pomoc a ochotu poradit při statistickém zpracování dat, bez níž by se pro mne stala práce se statistickým programem neřešitelným oříškem. Velký dík patří také RNDr. Věře Kútné, Ph.D. za její myšlenkové i manuální přispění v části věnované histologické a imunohistochemické analýze, jež je součástí přiložené publikace. Dále děkuji Mgr. Kristýně Malenínské za pomocnou ruku při provádění experimentů a t. č. studentům Ondřeji Klovrzovi a Kláře Tučkové za velkou pomoc při vyhodnocování naměřených dat. Děkuji také všem ostatním, kteří k této práci jakýmkoli způsobem přispěli, byť i jen drobností.

V neposlední řadě musím poděkovat také všem laborantkám a dalším technickým pracovníkům, kteří se starali o experimentální zvířata a během mých experimentů mi vytvořili výborné zázemí. Jejich práce si velmi vážím.

Samozřejmě děkuji také své rodině za celoživotní podporu a za chvíle rozptýlení. Děkuji rovněž všem mým dobrým přátelům za to, že existují, věnují mi část svého času a vždy mě s ochotou vyslechnou.

Ne menší dík ovšem patří i všem potkanům, kteří padli ve prospěch vědy, a bez nichž by moje práce postrádala veškerý smysl. Díky patří i všem ostatním potkanům, kteří tu byli především proto, aby mě naplňovali radostí a vyvolávali mi úsměv na tváři.

A nakonec děkuji všem čtenářům tohoto spisu, současným i budoucím, díky nimž se čas věnovaný jeho psaní nestal promrhaným.

GRANTOVÁ PODPORA

Experimenty pro dizertační práci byly provedeny v Laboratoři neurofyziologie paměti ve Fyziologickém ústavu AV ČR, v.v.i. (FGU) v Praze-Krči, některé ve spolupráci s Národním ústavem duševního zdraví (NUDZ) v Klecanech.

Práce byla podpořena studentským grantem GAUK 172515 a interním studentským grantem NUDZ IGS č. 304 (v rámci MH CZ-DRO: "National Institute of Mental Health–NIMH, IN: 00023752"), udělenými Ivetě Vojtěchové (*publikace č. 3 a 4*).

Studie byly podpořeny také projektem GAČR P304/12/G069 Projekt excelence v oblasti neurověd (*publikace č. 1 a 2*) a projekty GAČR 17-04047S (*publikace č. 3*) a 19-03016S (*publikace č. 4*), udělenými Aleši Stuchlíkovi, a GAČR 18-09296S (*publikace č. 3*) uděleným Karlu Valešovi.

Studie byly podpořeny též projektem AZV 17-30833A (*publikace č. 3 a 4*), uděleným Aleši Stuchlíkovi.

Další podpora: MŠMT LH14053 (*publikace č. 2*); H2020 INFRADEV-01-2017 projekt ID-EPTRI (European Paediatric Translational Research Infrastructure), ERDF projekty „BrainView“ CZ.2.16/3.1.00/2154 a "PharmaBrain" CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007444 (*publikace č. 3*).

Institucionální podpora ve FGU byla poskytnuta projektem RVO: 67985823 (*publikace č. 1–4*).

Institucionální podpora v NUDZ byla poskytnuta projektem „Udržitelnost pro Národní ústav duševního zdraví“, č. LO1611, za finanční podpory MŠMT v rámci Národního programu udržitelnosti I (NPU I) (*publikace č. 1, 3 a 4*), a projektem ED2.1.00/03.0078 (*publikace č. 2*).

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 prenatalní 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 prenatalně) 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 nesterjné 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.

Klíčová slova: paměť; prostorová navigace; kognitivní koordinace; kognitivní úlohy; Morrisovo vodní bludiště; kolotočové bludiště; Alzheimerova choroba; schizofrenie; poruchy autistického spektra; animální model; potkan McGill; potkan Samaritan; lipopolysacharid; postnatální infekce; prenatalní infekce; maternální imunitní aktivace

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.

Keywords: memory; spatial navigation; cognitive coordination; cognitive tasks; Morris water maze; carousel maze; Alzheimer's disease; schizophrenia; autism spectrum disorder; animal model; McGill rat; Samaritan rat; lipopolysaccharide; postnatal infection; prenatal infection; maternal immune activation

OBSAH

PODĚKOVÁNÍ.....	3
GRANTOVÁ PODPORA.....	4
ABSTRAKT	5
ABSTRACT.....	6
OBSAH.....	7
SEZNAM ZKRATEK.....	9
PŘEDMLUVA	12
1. TEORETICKÝ ÚVOD DO PROBLEMATIKY.....	14
1.1. Modelování neuropsychiatrických onemocnění u zvířat.....	16
1.1.1. Validita animálních modelů.....	16
1.1.2. Testování učení, paměti a kognice u laboratorního potkana	17
1.1.3. Testování ostatních behaviorálních domén u potkana.....	30
1.1.4. Potkan jako vhodné zvíře pro studium psychických poruch.....	32
1.2. Alzheimerova choroba a její animální modely.....	33
1.2.1. Porucha paměti jako prvotní symptom a další znaky Alzheimerovy choroby	33
1.2.2. Hypotéza amyloidní kaskády a hromadění hyperfosforylovaného proteinu tau	35
1.2.3. Formy Alzheimerovy choroby a rizikové faktory.....	37
1.2.4. Léčba Alzheimerovy choroby a problémy animálních modelů	37
1.2.5. Genetické modely Alzheimerovy choroby u hlodavců	39
1.2.6. Modely Alzheimerovy choroby založené na negenetických faktorech	42
1.3. Schizofrenie a poruchy autistického spektra a jejich modelování u potkana.....	48
1.3.1. Schizofrenie a poruchy autistického spektra: dříve a dnes.....	48
1.3.2. Prevalence	48
1.3.3. Poruchy kognice a další příznaky schizofrenie	48
1.3.4. Typy schizofrenie	50
1.3.5. Symptomatologie poruch autistického spektra	51
1.3.6. Rozdělení poruch autistického spektra	52
1.3.7. Pohlavní rozdíly u schizofrenie a poruch autistického spektra	53
1.3.8. Komplikace při diagnostice.....	54
1.3.9. Léčba schizofrenie a poruch autistického spektra.....	55
1.3.10. Rizikové faktory rozvoje schizofrenie a poruch autistického spektra a jejich animální modely	56
1.3.11. Časná imunitní aktivace u potkana pomocí lipopolysacharidu: modely schizofrenie a ASD.....	59

2.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	62
2.1.	Cíle dizertační práce	64
2.2.	Přehled publikací přiložených k dizertační práci	65
2.3.	Publikace č. 1	67
2.3.1.	Materiál & metody	67
2.3.2.	Výsledky	70
2.3.3.	Diskuze.....	78
2.4.	Publikace č. 2	84
2.4.1.	Materiál & metody	84
2.4.2.	Výsledky	85
2.4.3.	Diskuze.....	89
2.5.	Publikace č. 3	91
2.5.1.	Materiál & metody	91
2.5.2.	Výsledky	92
2.5.3.	Diskuze.....	96
2.6.	Publikace č. 4	98
2.6.1.	Materiál & metody	98
2.6.2.	Výsledky	99
2.6.3.	Diskuze.....	102
2.7.	Validita a limity zkoumaných modelů AD	104
2.7.1.	Potkan McGill	104
2.7.2.	Potkan Samaritan	104
2.8.	Validita a limity modelů prenatální a časně postnatální infekce pomocí LPS	106
2.8.1.	LPS podané časně postnatálně	106
2.8.2.	LPS podané prenatálně	106
2.9.	Shrnutí & Závěr.....	108
2.10.	Summary & Conclusions.....	109
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	110
	Další publikace autorky.....	143
	Příloha 1	144
	Příloha 2.....	146
	Příloha 3.....	148
	Příloha 4.....	150

SEZNAM ZKRATEK

η_p^2 = *Partial eta squared*

A β = amyloid-beta

A β 1-42 = amyloid-beta obsahující 42 aminokyselin

AAPA = úloha aktivní alotetické vyhýbání se místu (*active allothetic place avoidance*)

AD = Alzheimerova demence/choroba

AICD = *amyloid precursor protein intracellular domain*

AKV = akvizice

AMPA = α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazolpropionová kyselina

ANOVA = analýza variance

APOE2, APOE3, APOE4 = apolipoprotein E2, E3, E4 (různé alely)

APP = amyloidní prekurzorový protein (*amyloid precursor protein*)

ASD = poruchy autistického spektra (*autistic spectrum disorders*)

ATP = adenosintrifosfát

BACE1 = beta-sekretáza (*beta-site APP-cleaving enzyme*)

CA1, CA2, CA3 = *cornu Ammonis* 1, 2 a 3 (oblasti hipokampu)

CRMP2 = *Collapsin response mediator protein 2* (gen)

DISC1 = *Disrupted in Schizophrenia 1* (gen)

DRD2 = *Dopamine receptor D2* (gen)

EEG = elektroencefalografie

ERBB4 = gen pro postsynaptické receptory ErbB4

FDA = *United States Food and Drug Administration*

FMRP = *Fragile X mental retardation protein* (gen)

Fyz = fyziologický roztok

GABA = kyselina γ -aminomáselná (*γ -aminobutyric acid*)

GAD65, GAD67 = glutamát dekarboxyláza 65 a 67

GD = gyrus dentatus

GEE = *generalized estimating equations*

GLUT2 = membránový glukosový transportér

H. M. = Henry Molaison

h β APP751 = lidský amyloid prekurzorový protein 751

HETERO = heterozygot (potkan McGill)

HOMO = homozygot (potkan McGill)

i.c.v. = intracerebroventrikulární aplikace

i.p. = intraperitoneální aplikace

IL = interleukin

LPS = lipopolysacharid
MAM = metylazoxymetanol acetátu
MAPT = protein tau asociovaný s mikrotubuly (*microtubule-associated protein tau*)
MCI = mírná kognitivní porucha (*mild cognitive impairment*)
MeCP2 = *methyl CpG binding protein 2* (gen)
mv = mechová vlákna (*mossy fibers*)
n.s. = nesignifikantní výsledek
NLGN3, NLGN4 = neuroliginy 3 a 4
NMDA = *N*-methyl-D-aspartát
NOL = test rozpoznání přemístěného objektu (*novel object location*)
NOR = test rozpoznání nového objektu (*novel object recognition*)
NRG1 = *Neuregulin 1* (gen)
NRXN1 = gen pro adhezivní protein neurexin 1
OR = *odds ratio*
pd = perforující dráha (*perforant pathway*)
polyI:C = *polyinosinic:polycytidylic acid* (kyselina)
PSEN1 = gen pro presenilin 1
PV+ interneurony = parvalbumin-pozitivní interneurony
RET = *retrieval*
REV = *reversal* (přeučení)
s.c. = subkutánní injekce
SEM = střední chyba průměru (*standard error of the mean*)
Schk = Schafferovy kolaterály (*Schaffer collaterals*)
SHANK3 = gen pro protein postsynaptické density Shank3
TgF344-AD = transgenní potkan Fischer 344
TLR3, TLR4 = *Toll-like receptor 3 a 4*
TNF = *tumor necrosis factor*
TSC1, TSC2 = *tuberous sclerosis complex 1 a 2* (geny)
WHO = Světová zdravotnická organizace (*World Health Organization*)
WT = *wild type*
zk = zpětné kolaterály (*recurrent collaterals*)

PŘEDMLUVA

Schopnosti *učit se* a *pamatovat si* neodmyslitelně patří k životu člověka i jiných živočichů, a jsou klíčové pro jejich fungování i přežití. Narušené učení a poškozená paměť či jiné kognitivní schopnosti se u lidí typicky objevují při neurodegenerativních onemocněních, jako jsou různé formy demence, ale provází i řadu dalších psychických poruch. Alzheimerova choroba, schizofrenie nebo poruchy autistického spektra ve svých symptomatologiích obsahují více či méně závažné poškození kognitivních funkcí, paměti a prostorové orientace, narušené učení či sníženou kognitivní flexibilitu. U Alzheimerovy choroby jde o vůbec první klinické projevy, u schizofrenie představují dokonce celou skupinu kognitivních symptomů.

Všechna tři zmíněná onemocnění jsou velice komplexní, s chronickým průběhem a se závažným společensko-ekonomickým dopadem, a představují enormní psychickou zátěž nejen pro pacienty, ale i jejich rodiny. Pacienti se obávají nepochopení svými blízkými a odvržení ze společnosti. V poslední době lze zaznamenat snahy o destigmatizaci psychických poruch, jako je tomu například u schizofrenie. Přesto je však stále tato porucha opředená mýty, neznalostí a často přehnaným strachem z důsledků pacientových činů. Na druhou stranu někdy bývají tato onemocnění podceňovaná nebo zlehčovaná. Pacienti trpící schizofrenií nebo poruchou autistického spektra mají malou uplatnitelnost na trhu práce, často se jim nedaří normálně zapojit do kolektivu a žít plnohodnotný život. V případě Alzheimerovy choroby se jedná o terminální stadium lidského života s progresivním zhoršováním stavu, zatěžující pacienta i celé jeho okolí.

Neuropsychiatrická onemocnění patří mezi velmi obávaná také kvůli náročné a většinou jen omezeně účinné léčbě. Hlavním problémem je v drtivé většině případů neznalost jejich etiologie, znemožňující odstranění samotné příčiny, jako je to možné u celé řady infekčních nemocí. Jedním z možných přístupů pátrání po těchto příčinách je sledovat vliv různých faktorů na chování a tělesné změny u zvířat, porovnávat tyto behaviorální a neurofyziologické změny s projevy u lidských pacientů a hledat mezi nimi podobnosti. Teprve validní zvířecí model může poskytnout oporu pro testování nových a funkčních terapií. Dnes existuje celá řada animálních modelů zmíněných onemocnění, nicméně mnoho z nich má zásadní limity a jejich zavedení dosud nevedlo k nalezení dostatečně účinné léčby ani jedné z těchto chorob. Je tedy nesmírně žádoucí vyvíjet nové animální modely s lepší validitou.

Tato dizertační práce se věnuje behaviorální charakterizaci vybraných potkaních modelů tří neuropsychiatrických onemocnění, s důrazem na kognici, učení a paměť. Tyto modely byly vytvořeny působením různých vnitřních (genetické mutace) či vnějších (chronické působení prooxidativních substancí, neonatální/maternální imunitní aktivace bakteriálním lipopolysacharidem) faktorů, a experimenty popsané v této práci přispěly k jejich validaci. Konečným cílem je najít vhodné zvířecí modely s dobrou prediktivní, fenomenologickou i konstrukční validitou, které dále poslouží k výzkumu nových a účinných léčebných přístupů. Experimentální část této práce je zaměřena

nejprve na modely Alzheimerovy choroby (potkan McGill, potkan Samaritan), poté na modely schizofrenie a poruch autistického spektra (potkaní model neonatální a prenatální bakteriální infekce).

1. TEORETICKÝ ÚVOD DO PROBLEMATIKY

1.1. Modelování neuropsychiatrických onemocnění u zvířat

1.1.1. Validita animálních modelů

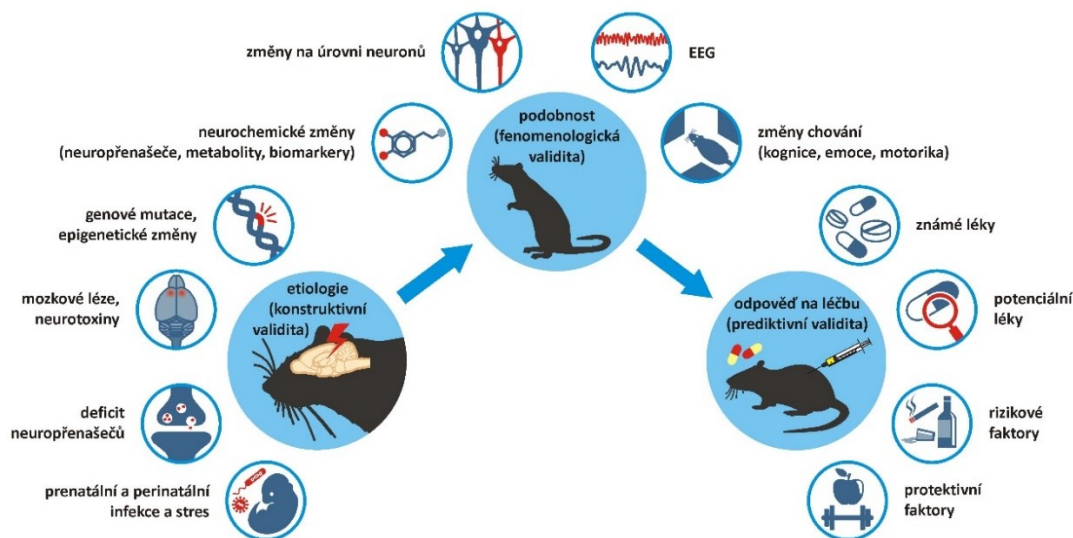
Neuropsychiatrická onemocnění, mezi která patří schizofrenie, poruchy autistického spektra nebo Alzheimerova choroba, jsou považována za specificky *lidská* onemocnění, jejich projevy proto mnohdy z principiálních důvodů nelze měřit u zvířat. Na druhou stranu ale vzniká silný tlak zvířata ke zkoumání patologie duševních poruch využívat, zejména z důvodů etických, kdy není možné na živých lidských subjektech testovat dosud nevyzkoušené léky ani získávat detailní znalosti o mechanismech vzniku těchto poruch. Nejčastěji se používají laboratorní hlodavci, jako je myš nebo potkan, kteří jsou člověku geneticky příbuzní (Do Carmo & Cuello, 2013), a například oproti primátům skýtají řadu praktických výhod.

Animální model nikdy nemůže reflektovat celou šíři zkoumaného onemocnění v přesně takové podobě, v jaké ji vidíme u lidského pacienta, jednoduše proto, že se jedná o *model*, tedy více či méně výraznou simplifikaci dané problematiky (Tordjman et al., 2007). Ve výzkumu modelů se vědci často opírají o projevy chování. Různými manipulacemi je možné fenotyp u laboratorních hlodavců těmto onemocněním alespoň připodobnit. Pokud má být animální model lidského onemocnění užitečný, musí být také validní. Rozlišují se tři – částečně propojené, částečně na sebe navazující – osy validity (Mabunga et al., 2015; Tordjman et al., 2007; **Obr. 1**):

- **konstruktivní**, tj. u zvířete se uplatňují stejné faktory a mechanismy, které u člověka způsobují zkoumané onemocnění (mají podobnou etiologii),
- **fenomenologická**, tj. zvířecí model vykazuje podobný fenotyp jako pacienti s daným onemocněním (mají podobnou behaviorální symptomatologii, neuropatologii a podobné neurofyziologické a neurochemické změny),
- **prediktivní** – zvíře reaguje na podanou látku (např. známé farmakum) podobným způsobem jako člověk, a proto se předpokládá, že i odpověď na nové léky u zvířat bude mít u pacientů analogický účinek. Prediktivní validita může fungovat až v případě, že jsou splněny podmínky obou, nebo alespoň jedné z předchozích validit. Chápat ji lze i v obecnějším smyslu, tedy co nám může model říci o lidské nemoci.

Ideální animální model je takový, který má přesvědčivý a stabilní fenotyp a je reprodukovatelný v rámci jedné i napříč různými laboratořemi. Měl by též zahrnovat všechny tři osy validity, ovšem v praxi většinou jedna nebo dvě tyto komponenty chybí. V případě neuropsychiatrických onemocnění často animální modely postrádají dobrou konstrukční validitu, což je dáno v mnoha případech neznámou etiologií onemocnění. Je tedy jasné, že pátrání po příčinách neuropsychiatrických onemocnění a příprava modelů s dobrou konstrukční validitou jsou klíčové. Je však také zjevné, že samo o sobě nestačí. Pakliže na zvíře aplikujeme známý mechanismus zkoumaného onemocnění, ale zvíře nevykazuje kýžený fenotyp a neliší se od zdravých zvířat, není tento model příliš použitelný pro budoucí zkoumání léků, jelikož není možné vysledovat zlepšení stavu po podání léčiva ani jeho vedlejší účinky. Na druhou stranu použití modelových zvířat

s fenomenologickou validitou, avšak postrádající konstrukční složku, je pro další výzkum rovněž velmi omezené, protože vede pouze k potlačení či zmírnění některých jejích symptomů, ale nemožňuje testovat léky vedoucí k vyléčení choroby cílením na bazální příčinu. Proto je stále potřeba vyvíjet nové a lepší animální modely, nejlépe s vícenásobnou validitou. Nejen o to jsem se pokusila v rámci této dizertační práce.

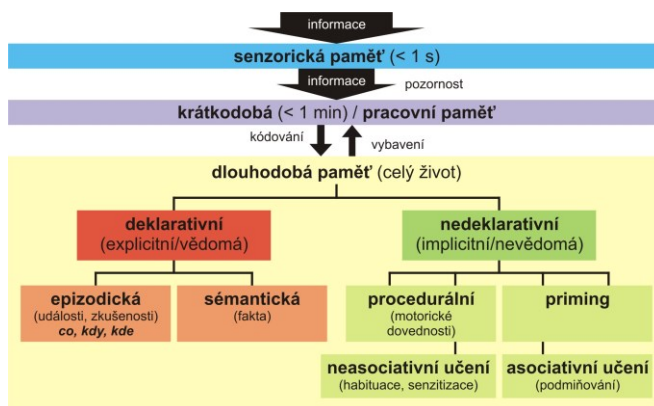


Obr. 1. Tři osy validity animálních modelů. Vytvořeno podle Mabunga et al. (2015).

1.1.2. Testování učení, paměti a kognice u laboratorního potkana

Prostorová paměť a kognitivní mapa

Laboratorní potkan, podobně jako myš, je vhodným subjektem pro studium kognitivních funkcí hned z několika důvodů. Je inteligentní, schopný učit se a pamatovat si události po relativně dlouhou dobu. Je také aktivní, motivovaný k exploraci prostředí a objektů, a rovněž má výbornou schopnost navigace v prostoru (O'Keefe & Nadel, 1978; Tolman, 1948). Prostorová paměť u zvířat spadá do kategorie dlouhodobé vědomé **deklarativní** (explicitní) paměti, která se u lidí dále rozlišuje na paměť epizodickou (události, osobní zážitky a vzpomínky) a sémantickou (znalosti, vědomosti, fakta) (Greenberg & Verfaellie, 2010; Squire & Zola-Morgan, 1991). Sémantickou paměť je ale u zvířat – mají-li nějakou – v podstatě nemožné odlišit od ostatních typů paměti. Proto bývá zvířecí prostorová paměť v literatuře většinou popisována jako analog lidské epizodické deklarativní paměti (Manns & Eichenbaum, 2006). Nejčastější rozdělení typů paměti tak, jak se uvádí u člověka, zobrazuje Obr. 2.



Obr. 2. Typy paměti.

U potkanů je schopnost prostorové navigace široce zkoumána už mnoho desetiletí. Byl u nich dokonce poprvé popsán fenomén kognitivní mapy prostředí (Tolman, 1948), tedy vnitřní reprezentace daného okolního prostoru, díky níž lze volit kratší cesty mezi dvěma místy či plánovat cesty nové (O'Keefe & Dostrovsky, 1971; O'Keefe & Nadel, 1978). Prostorová kognice zahrnuje přijímání a zpracování informací o prostorových vlastnostech různých objektů (velikost, tvar, vzdálenost apod.), tvorbu reprezentací jednotlivých částí prostředí a orientaci v nich (O'Keefe & Nadel, 1978). Kognitivní mapa se vytváří kombinací vjemů z vnějšího světa (vnímání vztahů mezi objekty, podle kterých se orientuje, tzv. alocentrická či alotetická navigace) a informací o poloze jedince vůči tomuto světu (vnímání vztahu jedince k objektům a odhadování pozice jedince z vlastního pohybu, tzv. egocentrická nebo idiotetická navigace, doplněné o uchování informace o výchozím bodě, tzv. integrace dráhy) (Alyan & Jander, 1994; Fortin, 2008; Klatzky, 1998; Mittelstaedt, 1991; Mittelstaedt & Mittelstaedt, 1982; Moghaddam & Bures, 1996; Stuchlík, 2003). Integrace dráhy je obdobou „*dead reckoning*“ (z námořní navigace) a s navigací u zvířat dal tento mechanismus navigační strategie do souvislosti poprvé Charles Darwin (Darwin, 1873; Fortin, 2008). Navigace trasou je výrazně jednodušší formou navigace, protože vyžaduje „pouze“ zapamatování si sekvence orientačních bodů a není tolik závislá na aktivním pohybu; pro tvorbu kognitivní mapy je nutný delší čas k zafixování v referenční paměti, aktivní explorace prostoru a rovněž stálost orientačních značek, je však mnohem flexibilnější (Alyan & Jander, 1994; O'Keefe & Nadel, 1978; Stuchlík, 2003).

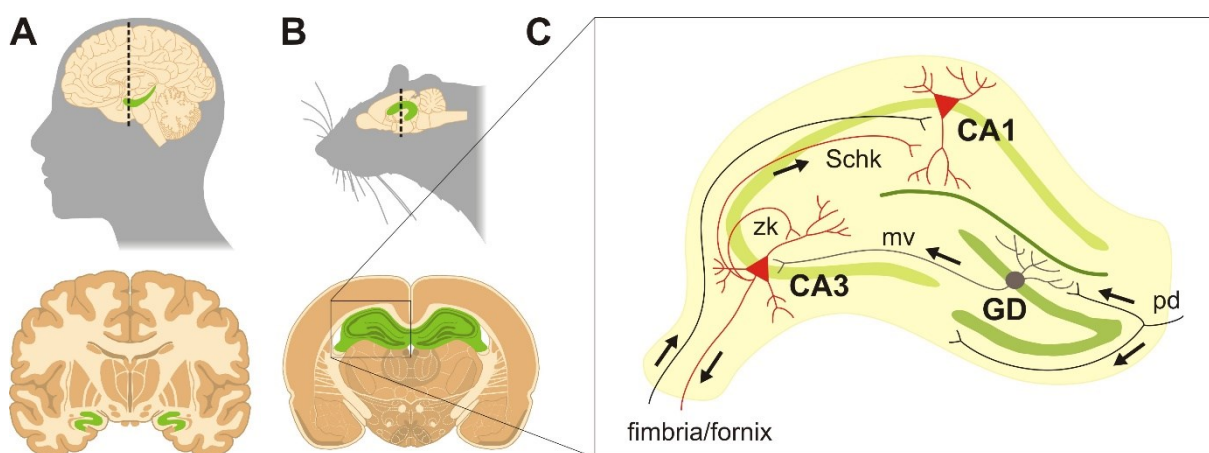
Na tvorbě kognitivní mapy se podílí nejrůznější specifické typy neuronálních buněk. Mezi nejprozkoumanější patří hipokampální pyramidální místové neurony (*place cells*), které se aktivují vždy ve specifickém místě prostoru (O'Keefe & Dostrovsky, 1971; O'Keefe & Nadel, 1978), neurony směru hlavy (*head direction cells*) aktivní vždy, když se zvíře dívá konkrétním směrem, a lokalizované ve vícero strukturách mozku (např. postsubikulu, posteriorní kůře, thalamu a dalších) (Chen et al., 1994; Mizumori & Williams, 1993; Taube et al., 1990), a mřížkové neurony (*grid cells*) v mediálním entorhinálním kortexu, jež generují akční potenciály v místech vytvářejících dohromady pravidelnou mřížku (Fyhn et al., 2004).

Hipokampus

Jednou z nejzásadnějších mozkových struktur asociovaných s učením a deklarativní pamětí je hipokampus, párová (archi)kortikální struktura s laminární organizací nacházející se v mediálním temporálním laloku mozku (Marr, 1971; Naidich et al., 1987; O'Keefe & Nadel, 1978). U potkana je hipokampus snadno přístupný a dobře ohraničený a zabírá mnohem větší objem vůči objemu celého mozku než u člověka; oproti lidskému je zahrnutý s posteriorním záhybem, který ho tak rozděluje anatomicky i funkčně na dorzální a ventrální část (Bannerman et al., 2004; **Obr. 3A, B**).

Funkce hipokampu byly u potkanů bohatě zkoumány zejména v úlohách Morrisovo vodní bludiště a kolotočové bludiště (viz následující kap. 1.1.2.). Potkani s lézí dorzálního, avšak nikoli

ventrálního hipokampu měli výrazně narušenou schopnost se úlohu ve vodním bludišti naučit (Morris et al., 1982; Moser et al., 1993). Tato úloha je vhodnější spíše pro modely Alzheimerovy choroby než schizofrenie či poruch autistického spektra. Její nevýhodou je obecně nízká citlivost k prokázání deficitu vyžadující poměrně velké poškození, zejména pokud se zvířata učí úlohu až po provedení hipokampální léze (Moser & Moser, 1998). Bilaterální léze hipokampu poškodila učení ve vodním bludišti (Morris et al., 1982), ale jednostranná inaktivace nikoli (Fenton & Bures, 1993). Naproti tomu inaktivace i jen jednoho hipokampu vedla k vážnému narušení akvizice v úloze aktivní alotetické vyhýbání se místu v kolotočovém bludišti (Cimadevilla et al., 2001; Wesierska et al., 2005). Obě úlohy shodně testují některé hipokampální funkce jako je kognitivní mapování, kódování a vybavení prostorové paměti. Úloha aktivní alotetické vyhýbání se místu v kolotočovém bludišti ale navíc umožňuje testovat selektivní pozornost (kognitivní koordinaci, viz dále) (Kubik & Fenton, 2005).



Obr. 3. Porovnání velikosti a lokace hipokampu na podélném (nahore) a příčném (dole) řezu mozku u člověka (A) a u potkana (B). Relativní poměr velikosti hipokampu ke zbytku mozku je u potkana výrazně větší než u člověka, a navíc se dělí anatomicky i funkčně na dorzální a ventrální část. (C) Schéma příčného řezu hipokampem. Zobrazeny jsou nejdůležitější struktury a dráhy. Šipky naznačují směr procházející informace. CA = *cornu Ammonis*; GD = *gyrus dentatus*; mv = mechová vlákna (*mossy fibers*); pd = perforující dráha (*perforant pathway*); Schk = Schafferovy kolaterály (*Schaffer collaterals*); zk = zpětné kolaterály (*recurrent collaterals*)

Přijátá informace prochází hipokampem jednosměrně tzv. perforující dráhou z přilehlé entorhinální kůry, přes jednotlivé podoblasti hipokampu (gyrus dentatus → CA3 → CA1), uzavírající tzv. trisynaptickou smyčku (Moser, 2011; O'Keefe & Nadel, 1978; **Obr. 3C**). CA1 oblast je také obousměrně propojena přímo s entorhinální kůrou. Kromě toho CA3 region obsahuje velké množství zpětných (rekurentních) kolaterál – tedy axonů vytvářejících smyčku navracející se zpět k tělu stejného pyramidálního neuronu. Tyto Schafferovy kolaterály umožňují autoasociaci, která je zodpovědná například za doplňování vzorců (reaktivaci úplné reprezentace určité vzpomínky doplněním chybějící informace) (Marr, 1971; Yassa & Stark, 2011). Komplementární funkcí je

separace vzorců (zvýraznění rozdílů mezi dvěma podobnými vzpomínkami a vytvoření nepřekrývajících se reprezentací) (Yassa & Stark, 2011), čehož do jisté míry může využívat i potkan například v úloze rozpoznání přemístěného objektu. Hipokampus také intenzivně komunikuje s prefrontálním kortexem a asociačními korovými oblastmi přes přilehlý entorhinální a perirhinální kortex; k součinnosti hipokampu a korových regionů dochází především při vybavení epizodické a prostorové paměťové stopy, které vyžadují kontext (Moscovitch et al., 2005). Vnitřní konektivita hipokampu a neurální dráhy jsou mezi savci evolučně značně konzervované, a stejně tak i jeho základní funkce (Manns & Eichenbaum, 2006), díky čemuž jsou poznatky získané u potkana do značné míry přenositelné i na člověka.

Glutamátergní transmise trisynaptické smyčky je nejdůležitější excitační dráhou v rámci hipokampální formace, funkce hipokampu ale modulují i další neurotransmitterové systémy. Předpokládá se, že narušené fungování glutamátergního a dopaminergního systému, může být příčinou kognitivních deficitů při schizofrenii (Bubeníková-Valešová et al., 2008). Dále se na regulaci podílí cholinergní systém, který bývá zpočátku nejvíce postižen u pacientů s Alzheimerovou chorobou a může úzce souviset s poruchami paměti (Hampel et al., 2018), serotonergní systém, jenž je zřejmě narušen u poruch autistického spektra a může přispívat ke kognitivní dysfunkci (Muller et al., 2016), a také systém noradrenergní. Kromě toho se ukazuje, že zásadními buňkami pro správné fungování hipokampu jsou rovněž inhibiční GABAergní interneurony. Narušení funkce těchto interneuronů by mohlo být jedním z mechanismů projevu psychózy, potažmo rozvoje schizofrenie (Benes & Berretta, 2001), a bývá dáváno do souvislosti i s poruchami autistického spektra (Saunders et al., 2013; Wöhr et al., 2015).

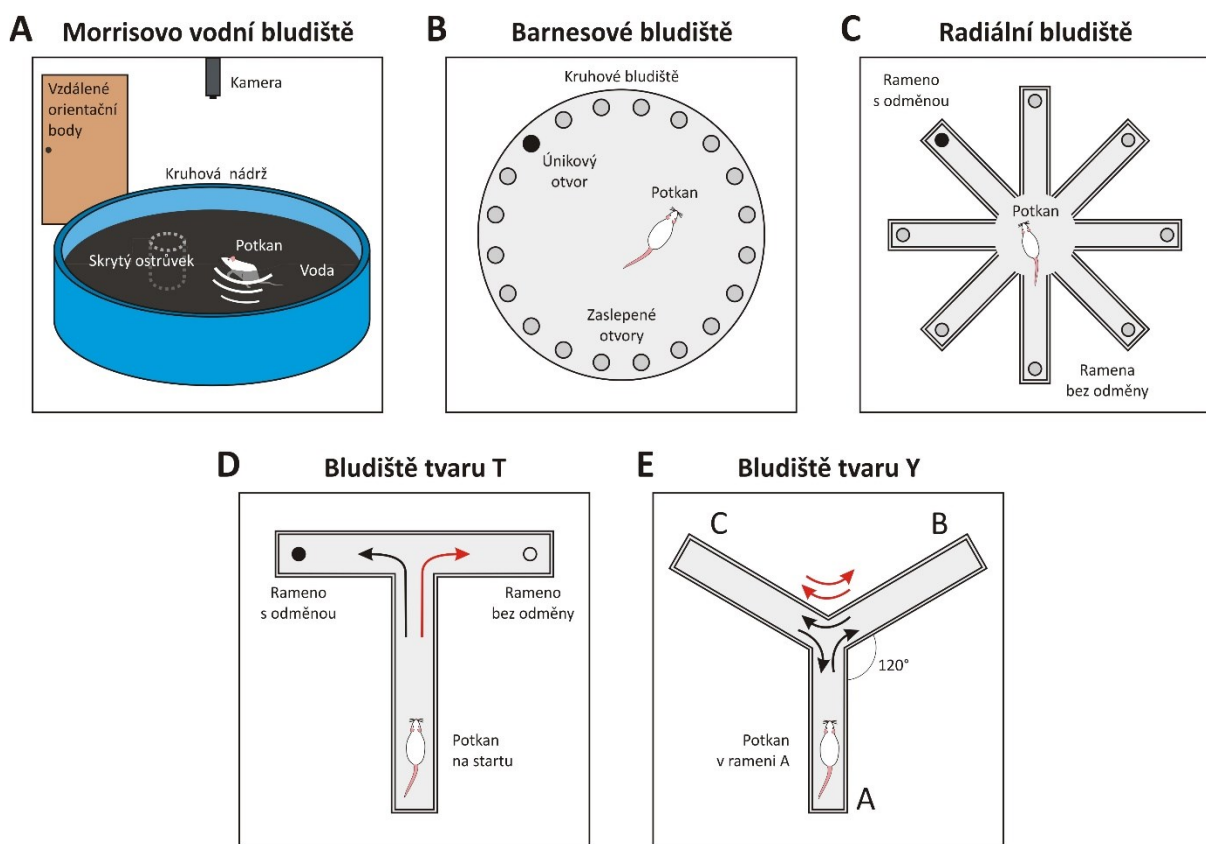
Prostorově-kognitivní úlohy

Deklarativní (explicitní) paměť je paměť vědomá. Do vědomí zvířat přístup nemáme, přesto zvíře může své „prostorové“ vzpomínky vyjádřit v různých prostorových úlohách například nalezením skrytého cíle. Nejznámější a nejpoužívanější úlohou je **Morrisovo vodní bludiště**, navržené na přelomu 70. a 80. let 20. století Richardem Morrisem (Morris, 1981)(**Obr. 4A**). V této úloze má potkan za úkol hledat v kruhovém bazénu malý ostrůvek skrytý pod hladinou vody. Výhodou této úlohy je právě použití vody, která svým promícháváním výrazně redukuje využívání blízkých orientačních bodů (např. pachové značky) a potkan tak musí spoléhat na vizuální vzdálené orientační body a pamatovat si jejich rozmístění ve vztahu k poloze ostrůvku i své aktuální pozici uvnitř bazénu (Morris, 1981, 1984). Při hledání ostrůvku tak potkan kóduje prostor kolem sebe pomocí alocentrických koordinát nezávisle na své pozici (alocentrická navigace), ale také vytváří reprezentace vnějších vodítek a objektů ve vztahu sobě samému (egocentrická navigace). Oba typy navigace jsou vzájemně provázané a v konečném důsledku vyžadují funkční hipokampální formaci. Ventrální hipokampus umožňuje přepínání mezi těmito prostorovými navigacemi (Torres-Berrío et al., 2019). Autoři nedávné publikace (Wang et al., 2020) poukazují na důležitost obou forem navigace

pro tvorbu alotetické kognitivní mapy prostředí a navrhli aktualizovaný model funkční organizace mediálního temporálního laloku (zejména vstupů z entorhinálního kortexu do hipokampu a egocentrické-alocentrické transformace) a přilehlých mozkových struktur. Je známo, že tvorba alocentrických reprezentací je spojena především s aktivací hipokampu a mediálního entorhinálního kortexu, které komunikují s parietální kůrou a dalšími kortikálními oblastmi. V případě egocentrické navigace autoři upozorňují, že při jejich studiu je vždy nutné jasně definovat, ve vztahu k čemu jsou neurální reprezentace definovány, tedy zda k tělu, hlavě nebo očím zvířete. V obecné rovině je k tvorbě egocentrických reprezentací využíváno celé řady mozkových struktur, které obsahují buňky kódující pozici potkana (např. neurony směru hlavy nebo neurony sledující směr a vzdálenost hranic). Patří mezi ně například postsubikulum, postrhinální kortex, parietální kortex, dokonce i některé místové neurony v CA1 oblasti hipokampu, nebo také laterální entorhinální kortex (viz přehledový článek Wang et al., 2020). Laterální entorhinální kortex měl podle dřívějších představ převádět do hipokampu především neprostorové informace, avšak byla prokázána jeho důležitost pro rozpoznávání objektů ve vztahu k určitému prostoru či kontextu (Wilson et al., 2013). To naznačuje egocentrické zpracování, tedy vzájemné provázání informací o objektech, místech a kontextech významných pro formování epizodické paměti. Právě entorhinální kortex má být klíčový pro transformaci egocentrických signálů do alocentrických. Autoři zmíněné studie (Wang et al., 2020) předpokládají, že *laterální* oblast zpracovává alotetické senzorní informace za tvorby reprezentace prostorové informace v egocentrickém referenčním rámci („okolí ve vztahu ke mně“, neboli informace o okolí netýkající se mě, ale viděné z mé perspektivy). *Mediální* oblast entorhinální kůry naproti tomu uplatňuje alocentrický referenční rámec („já ve vztahu k okolí“, zejména směr mé hlavy k objektům v okolním prostředí) a váže idiotetické signály vzniklé vlastním pohybem spolu s alotetickými signály vodítek z prostředí do jednotné reprezentace (Wang et al., 2018, 2020). Oba typy informací jsou posílány z entorhinálního kortexu do hipokampu, kde jsou dále zpracovány a integrovány do kognitivní mapy prostředí. Laterální oblast entorhinální kůry tak zřejmě pomáhá vytvářet *obsah* vzpomínek epizodické (a rovněž prostorové) paměti z egocentrické perspektivy, zatímco mediální oblast spíše její *kontext* (Wang et al., 2020).

Morrisovo vodní bludiště se zpravidla používá k testování dlouhodobé paměti, kdy se potkan učí pozici skrytého ostrůvku několik po sobě jdoucích dní, čímž je mu umožněno upevnit si tuto paměťovou stopu (Vorhees & Williams, 2006). Poloha ostrůvku se v tomto případě nemění, střídají se však pozice startu vypouštěného potkana. Tím se mu zamezí využití jednodušší navigace trasou, ale zvíře si musí skutečně vytvořit kognitivní mapu a vždy věnovat pozornost okolnímu prostředí. Po osvojení úlohy lze míru přesvědčení o poloze ostrůvku prošetřit jeho vyjmutím (tzv. *probe trial*) a následným měřením pobytu potkana v blízkosti původního umístění (Morris, 1984; Vorhees & Williams, 2006). Pokud po několika dnech učení v Morrisově vodním bludišti ostrůvek přemístíme, potkan si musí tuto novou pozici zapamatovat, čímž testujeme jeho kognitivní či behaviorální flexibilitu, neboli přeučení (tzv. *reversal learning*) (Morris, 1984; Vorhees & Williams, 2006). Schopnost adaptovat se na změny v prostředí zajišťuje prefrontální kortex a ventrální hipokampus,

který do něj projikuje a ovlivňuje jeho fungování (Torres-Berrío et al., 2019). Potkan, který se stále vrací k původní poloze ostrůvku a není schopen si novou polohu zapamatovat, vykazuje stereotypii, neflexibilitu či perseverativní chování (zatvrzelé opakování dříve naučeného), podobně jako pacienti se schizofrenií (Ridley, 1994) nebo poruchou autistického spektra (Maes et al., 2011). V Morrisově vodním bludišti však lze testovat i paměť pracovní (Morris, 1984; Vorhees & Williams, 2006), někdy označovanou jako střednědobou, kdy je pozice ostrůvku měněna každý den, a zůstává stabilní jen v rámci dne. Zdravý potkan zpravidla po několika dnech pochopí, že má ostrůvek hledat na jiném místě a již při druhé plavbě novou pozici bezpečně nalezne. Narušená pracovní i dlouhodobá paměť patří mezi typické symptomy Alzheimerovy choroby, proto se tato úloha často používá k testování jejich animálních modelů.



Obr. 4. Nejpoužívanější prostorově-kognitivní úlohy u laboratorního potkana. **(A)** 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). **(B)** Barnesové bludiště testuje prostorovou navigaci potkana na kruhovém bludišti, které je po obvodu lemované otvory. Potkan musí najít únikový otvor; ostatní otvory jsou zaslepené. **(C)** Potkan při správném řešení úlohy v radiálním bludišti volí rameno, na jehož konci je umístěna odměna. **(D)** Bludiště tvaru T testuje schopnost potkana pamatovat si, na konci kterého ramene se nachází odměna (zde vlevo). Pokud potkan zahne vpravo (znázorněno červenou šipkou), jedná se o chybu. **(E)** V bludišti tvaru Y potkan volně exploruje. Zvíře s nenarušenou prostorovou pamětí ramena pravidelně střídá (spontánně alternuje). Červené šipky naznačují stav, kdy zvíře chybně navštíví rameno B příliš brzy po sobě.

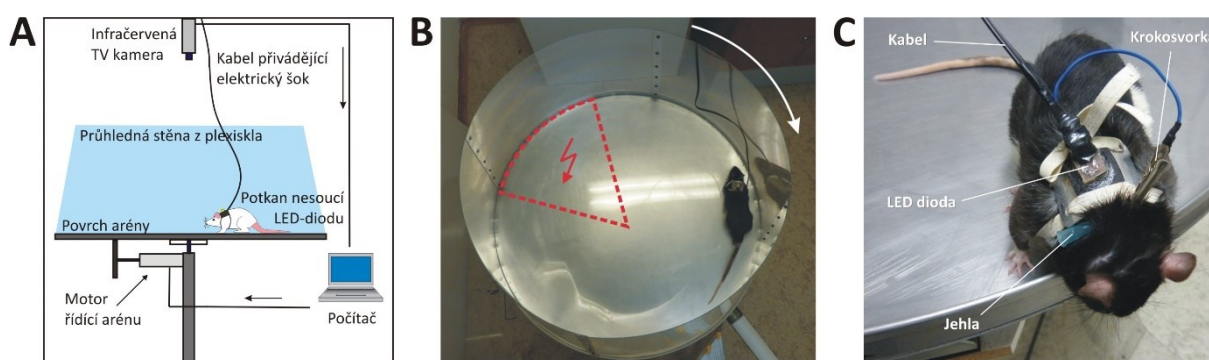
Procedurální aspekty (schopnost plavat a vylézt na ostrůvek, vidět orientační značky a motivaci řešit úlohu) lze sledovat v případě, že necháme potkana navigovat na vynořený a viditelně označený ostrůvek. Navigace na skrytý cíl (*place navigation*) je závislá na funkčním hipokampu a vytvoření reprezentace okolního prostoru s využitím vzdálených orientačních bodů (Morris et al., 1982; O'Keefe & Nadel 1978; Rice et al., 2015), zatímco navigace na viditelný cíl (*cued navigation*) je spíše odpovědí na proximální stimulus v podobě viditelného ostrůvku s následným vytvořením jednoduché asociace (*stimulus-response association*) a na hipokampu závislá není, vyžaduje však nepoškozené dorzolaterální striatum (Chavarriaga et al., 2005; Packard & Knowlton 2002; Rice et al., 2015). Obě strategie mohou být používány souběžně, což bylo ukázáno v úloze kombinující navigaci na skrytý i viditelný ostrůvek (Devan & White 1999; Chavarriaga et al., 2005). Příslušné neurální navigační systémy si do určité míry konkurují a vypnutí jednoho z nich může posílit funkci druhého, např. léze hipokampu u zvířete (Devan & White 1999), nebo deaktivace modulu pro *place navigation* u robota (Chavarriaga et al., 2005), vede k rychlejšímu nacházení viditelného ostrůvku.

Úloha Morrisovo vodní bludiště byla v minulosti dále modifikována, avšak popis jejích variant již přesahuje rámec této dizertační práce a o něco detailněji o nich pojednává moje diplomová práce (Vojtěchová, 2014).

Suchou variantou Morrisova bludiště může být například bludiště Barnesové nebo radiální. V **Barnesové bludišti (Obr. 4B)** běhá zvíře po kruhové plošině, podél jejíhož okraje jsou pravidelně umístěny identické otvory, z nichž jeden ukrývá odměnu (únikový box) (Gawel et al., 2019). Potkan, který si pamatuje pozici tohoto otvoru, jej okamžitě najde, zatímco jedinec s narušenou prostorovou orientací exploruje různé otvory náhodně. Na podobném principu je založeno **radiální bludiště (Obr. 4C)**, které se však skládá zpravidla z osmi ramen obehnaných stěnami; odměna ve formě potravy je v tomto případě umístěna v jamce na konci vybraného ramene (Wenk, 2004). Obtížnějšími variantami těchto úloh jsou různá komplexní bludiště, jejichž cílem je pamatovat si sérii zabočení vlevo-vpravo, nebo dokonce vymýšlet zkratky vedoucí k cíli (Tolman, 1948). Naopak jednodušší variantu představují tříramenná **bludiště tvaru T** (Deacon & Rawlins, 2006; **Obr. 4D**) a **tvaru Y** (zde na sebe rovnocenná ramena přisedají pod stejným úhlem 120°; Kraeuter et al., 2019; **Obr. 4E**). Obě úlohy lze využít pro studium prostorové pracovní paměti (nebo krátkodobé habituace, viz dále; Sanderson & Bannerman, 2012) prostřednictvím spontánní alternace, při které se zvíře rozhoduje, zda zahne doprava nebo doleva. Zdravé zvíře by mělo návštěvu ramen pravidelně střídát a nemělo by se často vracet do téhož ramene. V T-bludišti je možné zvíře naučit preferenci jednoho z ramen s použitím odměny umístěné na jeho konci. Přemístěním odměny do druhého ramene, než na které je potkan naučený, lze tetovat kognitivní flexibilitu.

Unikátním testem prostorové kognice, ve kterém zvíře předem určené místo nevyhledává, ale naopak se mu vyhýbá, jsou různé varianty **kolotočového bludiště (Obr. 5)**, poprvé navrženého a zkonstruovaného na konci 90. let 20. století v Laboratoři neurofyziologie paměti ve Fyziologickém ústavu AV ČR (Bures et al., 1997). Jednou z variant je úloha aktivní alotetické vyhýbání se místu (*active allothetic place avoidance*, AAPA) (Petrásek et al., 2009; Stuchlik et al., 2004a, 2013), při které

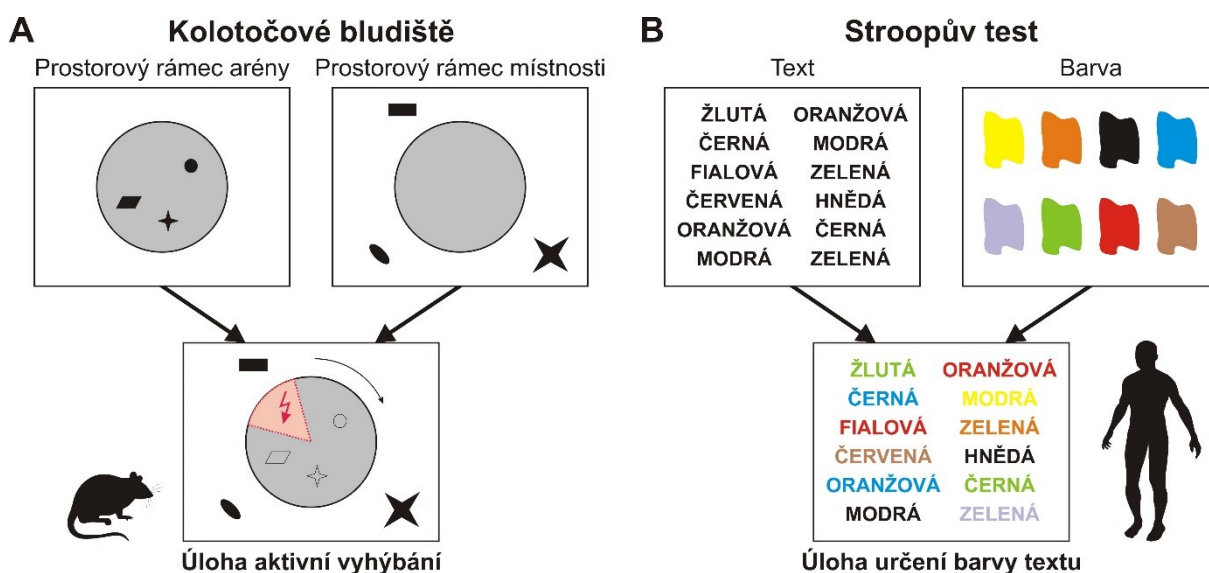
kruhová aréna rotuje a potkan si musí zapamatovat polohu neviditelné kruhové výseče (sektoru). Sektor je stabilní v rámci místnosti, a zvíře se mu musí aktivně vyhnout, jinak je potrestáno mírnou elektrickou rankou (Cimadevilla et al., 2001; Fenton et al., 1998; Stuchlík et al., 2004a; Wesierska et al., 2005). Jak už název napovídá, správné řešení této úlohy vyžaduje aktivní pohyb zvířete, neboť při pasivní nečinnosti je potkan vlivem rotace arény vždy do sektoru zavezen. Někdy se jako dodatečná motivace k pohybu po aréně používá předchozí potravní deprivace a následné sbírání malých potravních kuliček padajících na různá místa arény (Bures et al., 1997; Petrasek et al., 2014a; Stuchlík, 2004b). Ačkoli při této aktivitě (*foraging*) dochází ke konfliktu motivací (averzivní – elektrické ranky, a apetitivní – potrava), data z naší laboratoře ukazují, že zlepšuje výkon zvířat a výrazně snižuje variabilitu dat, a je tedy velmi žádaná.



Obr. 5. Kolotočové bludiště. **(A)** Schéma aparatury. **(B)** Pohled shora na aparaturu s potkanem. Kolem kruhové kovové arény, která může rotovat, je postavena průhledná stěna z plexiskla. 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.

Kromě toho, že úloha měří dlouhodobou paměť, jelikož sezení se opakují několik dní po sobě, je také testem prostorové kognitivní koordinace, neboli schopnosti rozlišit relevantní informace (stabilní mimoarénové vzdálené orientační body v místnosti) od irelevantních (orientační body rotující spolu s arénou) (Phillips & Silverstein, 2003; Stuchlík et al., 2013; Wesierska et al., 2005). Analogickým testem u lidí je tzv. Stroopův test (Stroop, 1935), který měří deficit kognitivní koordinace tím, že má jedinec říci správnou barvu, kterou je napsané určité slovo, jehož význam odkazuje na jinou barvu (např. slovo „zelená“ napsané oranžově) (**Obr. 6**). Určení barvy, kterou je slovo napsané (tj. oranžová) má určité zpoždění ve srovnání s určením téže barvy ve čtverci, protože zde dochází k interferenci konfliktního stimulu slova oproti pojmenování barev. Typicky pacienti trpící schizofrenií (ale i jinou psychiatrickou diagnózou) mají s odlišením relevantního významu

problém (Phillips & Silverstein, 2003), podobně jako potkan s indukovanou psychózou (např. pod vlivem fencyklidinu, nebo dizocilpinu, též MK-801, antagonisty NMDA receptorů) není schopen v testu aktivní alotetické vyhýbání se místu rozpoznávat dva odlišné disociované prostorové rámce (rámec rotující arény a stabilní rámec místnosti), tím pádem ani selektivně aktivovat relevantní reprezentaci, a nepříjemnému sektoru se tak nedokáže vyhnout. Pro upřesnění, zda se jedná specificky o deficit segregace rámců, nebo spíše o deficit učení či navigace je potřeba provést více variant testu v kolotočovém bludišti (Kao et al., 2017; Kubík et al., 2014). Ty se liší svou obtížností a každá z nich testuje odlišné kognitivní funkce; jednotlivé varianty jsou detailně představeny v mé diplomové práci (Vojtěchová, 2014). Stejně jako v Morrisově vodím bludišti lze i v této úloze testovat kognitivní flexibilitu a schopnost přeučení přemístěním sektoru na jiné místo arény (Lobellova et al., 2013).



Obr. 6. Porovnání kolotočového bludiště, navrženého pro testování laboratorních potkanů, a Stroopova testu používaného u lidí. Společným jmenovatelem je schopnost kognitivní koordinace, tedy odlišení relevantní informace od irelevantních. **(A)** V úloze aktivní vyhýbání se místu s rotující arénou, ale stabilním zakázaným sektorem, musí potkan rozlišit mezi relevantními orientačními body (značky v prostorovém rámci místnosti) a irelevantními (značky v prostorovém rámci arény), aby úlohu úspěšně řešil. **(B)** Ve Stroopově testu jsou těmito „rámci“ barva a význam textu. Určení barvy, kterou je napsán text s významem barvy jiné, je kognitivně náročnější a odpověď trvá déle, než pouhé přečtení textu nebo určení barevné skvrny.

Prostorovou paměť testujeme také v úloze **rozpoznání přemístěného objektu**, která je však založena na jiném principu než výše popsané úlohy, protože se zde využívá přirozené a nenásilné explorační a zvědavostní chování zvířete (Vogel-Ciernia & Wood, 2015). Potkan je dvakrát po sobě následujícími sezeními vystaven dvěma (nebo i více) objektům, přičemž jeden z objektů je při druhém sezení přemístěn. Zdravý potkan, který si pamatuje předchozí polohu objektu, exploračně více než objekt ve svých původních pozicích. Potkan s poruchou tohoto typu paměti nedává nově usazenému objektu přednost před ostatními.

Další typy učení a paměti

U potkanů lze testovat i některé formy lidské nedeclarativní (implicitní) paměti, tj. paměti bez nutného uvědomění. Takovým příkladem nevědomé paměti je **motorické (procedurální) učení**, které opakovaným tréninkem v různých úlohách na motorickou koordinaci zadních či předních končetin – např. chůze po zrychlujícím se otočném válci (Buitrago et al., 2004), chůze po lati (Goldstein & Davis, 1990) či po žebříčku (Metz & Whishaw, 2002), schodišťový test na úchop přední končetiny (Pagnussat et al., 2009) ad. – vede k motorické dovednosti. Motorické učení zřejmě není závislé na hipokampu, jak ukázala lidská studie s pacientem jménem Henry Molaison (H. M.), který po chirurgickém odstranění většiny mediálního temporálního laloku spolu s velkou částí hipokampu, a to v obou hemisférách, sice trpěl anterográdní a částečnou retrográdní amnézií, avšak motorické učení jako takové postižené neměl; pacient se v motorických dovednostech zdokonaloval, ačkoliv si samotný proces učení nepamatoval (Corkin, 2002; Scoville & Milner, 1957). Pro učení motorických dovedností je v rámci mozku důležité striatum (bazální ganglia) (Wilkinson & Jahanshahi, 2007), mozeček (Lee et al., 2007) a motorický kortex (Kawai et al., 2015), a z neuropřenašecových systémů především systém dopaminergní (Hosp & Luft, 2013). Motorické učení může být zhoršené u pacientů s Alzheimerovou chorobou zejména v pozdější fázi jejího rozvoje, s tím, jak dochází po hipokampu k degeneraci i dalších mozkových struktur; klesá přesnost pohybů a jemné motoriky, později i chůze a hrubších dovedností (Alzheimer's Association, 2017).

Neasociativní učení je jednou z nejjednodušších forem učení, při kterém se odpověď jedince na opakované vystavení témuž podnětu časem buď zeslabuje (habituační), nebo zesiluje (senzitivizační). Jak bylo poprvé popsáno u mořského plže *Aplysia*, při krátkodobé **habituační** dochází v reakci na opakované dráždění neuronu ke sníženému výdeji neuropřenašeče z presynaptického zakončení, jehož projevem je přivyknutí k stimulu; při dlouhodobé habituaci dochází ke změnám také na postsynaptickém neuronu (Glanzman, 2009). Habituační slouží k odfiltrování biologicky nedůležitých stimulů při zachování selektivní pozornosti stimulům relevantním pro přežití, aby nedošlo k přehlcení nervového systému (Carlton, 1968; Rankin et al., 2009).

Behaviorální habituace znamená, že si zvíře postupně přivykne (habituuje se) určitému prostředí, pokud se v něm nachází opakovaně nebo je mu vystaveno dlouhodobě, a věnuje mu obecně menší pozornost (např. méně exploruje), přitom však nedochází k sensorické adaptaci (Corey, 1978; Rankin et al., 2009; Thiel et al., 1998). Behaviorální habituace závisí na hipokampu: zvířata s hipokampální lézí se na prostředí nehabituuují (Corey, 1978), navíc velikost terminálních polí mechových vláken v hipokampu koreluje s mírou habituace (Crusio & Schwegler, 1987). Habituační učení vyžaduje normální fungování cholinergního systému v mozku (do hipokampu vstupují cholinergní neurony lokalizované v mediálním septu) a lze jej významně ovlivnit skopolaminem, antagonistou muskarinových acetylcholinových receptorů (Carlton, 1968; Green et al., 1975; Thiel et al., 1998; Ukai et al., 1994). Vzhledem k tomu, že hipokampální formace a cholinergní neurony jsou jako první poškozeny u pacientů s AD, může habituace představovat zajímavé behaviorální

paradigma v animálních modelech AD. Habituační se zřejmě účastní i inhibiční GABAergní signalizace (Giovannini et al., 2001). Badatelé Sanderson a Bannerman prokázali v experimentu, ve kterém myši vystavovali různým obměnám podmínek při opakovaném vystavení prostředí (dlouhé 24-hodinové vs. krátké 1-min intervaly mezi opakováními, deset krátkých vs. dvě dlouhá sezení apod.), že prostorová habituační závisí na délce trvání mezi expozicemi danému prostředí a jejich počtu. Lze tak rozlišit *krátkodobou* a *dlouhodobou* habituaci jako oddělené procesy, které si vzájemně konkurují, přičemž krátkodobá habituační představuje neasociativní učení, zatímco dlouhodobá habituační je daná posilováním paměti (při opakovaném vystavení prostředí), které odráží asociativní učení (Sanderson & Bannerman, 2011). Studie souhlasí s dřívějším pozorováním (Davis, 1970), při němž se potkání lépe krátkodobě habituovali (vykazovali nižší úlekovou reakci) při opakované expozici zvukovým stimulům, pokud byly intervaly mezi nimi kratší (2 s) než delší (16 s). Pro dlouhodobou habituaci na stimuly však byla výhodná předchozí zkušenost s delšími intervaly mezi stimuly než krátkými. Expozice krátkým a dlouhým stimulům mezi intervaly má tedy opačný efekt na krátkodobou a dlouhodobou habituaci úlekové odpovědi (Davis, 1970). Opakovaný trénink rozprostředný do delšího časového úseku (např. tři 3-min sezení oddělená 1-h intervaly; *spaced learning*) byl též výhodnější v testu rozpoznání nového objektu, v němž zdravé zvíře přirozeně preferuje explorační nového objektu ve srovnání s již prozkoumaným (Vogel-Ciernia & Wood, 2015). Úloha rovněž předpokládá habituaci na zkoumané prostředí s původním objektem. Pokud zvíře explodovalo prostředí s objekty v krátkém časovém úseku (např. jedno 9-min sezení; *massed learning*), preference pro nový objekt 1 hodinu po tréninku pak byla ve srovnání s opakovaným tréninkem nižší (Anderson et al., 2008). Badatelé Sanderson a Bannerman dokonce spekulují, že za krátkodobou habituaci lze považovat i spontánní alternaci měřenou v bludišti tvaru Y nebo T (Sanderson & Bannerman, 2012). Autoři argumentují, že spontánní alternace, kterou projevují i jednoduché organismy, představuje spíše pasivní zkušenost s aktuálně prezentovaným specifickým stimulem vedoucí k dočasné redukci pozornosti a odpovědi na něj. Pracovní paměť naproti tomu vyžaduje aktivní manipulaci s informací a její udržení v paměti. V úlohách testujících prostorovou pracovní paměť se zvíře musí nejprve naučit její pravidla (musí se „naučit alternovat“), zatímco zvířata spontánně alternují i bez znalosti těchto pravidel a bez odměny, což naznačuje, že je tato schopnost vrozená. V přírodě má prostorová alternace zvyšovat úspěšnost hlodavce při prozkoumávání prostředí a hledání potravy, aby nenavštěvoval stále stejná místa, na nichž se zásoby potravy již vyčerpaly, a tím šetřil energii. Vlastními experimenty na myších s vyřazeným genem (*knockout*) pro GluA1 podjednotku α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazolpropionová kyselina (AMPA) receptorů autoři dokazují, že GluA1 podjednotka je zásadní pro prostorovou alternaci a krátkodobou habituaci (Sanderson et al., 2009; Sanderson & Bannerman, 2012). Dlouhodobou habituaci však delece genu pro GluA1 naopak posílila, což podporuje fakt, že oba procesy jsou závislé na odlišných mechanismech; léze hipokampu narušila oba typy habituace (Sanderson et al., 2009; Sanderson & Bannerman, 2012). Prefrontální kortex, důležitý pro pracovní paměť, nemusí být nutně funkční ve všech úlohách zaměřených na alternaci, avšak hraje významnou roli v případech, že v úloze

nastanou neočekávané změny, na které je nutné flexibilně reagovat. Pokud se ovšem spontánní alternací ve skutečnosti netestuje pracovní paměť, ale habituace, je nutné to zohledňovat v translačních studiích na animálních modelech lidských dysfunkcí pracovní paměti (Sanderson & Bannerman, 2012).

Druhým typem neasociativního učení je **senzitivace**. Při ní, na rozdíl od habituace, postupně dochází při opakované expozici k stále intenzivnější behaviorální a neurochemické odpovědi na daný podnět v důsledku posílení synapsí (Hawkins, 1984). Neurobiologické procesy senzitivace jsou základem pro učení posilováním (*reinforcement learning*), například za odměnu, a to u zvířat i u lidí (Schmidt & Beninger, 2006; Weidenauer et al., 2017). Takovou odměnou může být návyková látka (drogy, alkohol) a senzitivace se může objevit při závislosti. Při senzitivaci je odpověď na psychostimulanty (např. amfetamin, kokain) zesílená i při konstantním dávkování, a je opakem drogové tolerance, tj. nižší odpovědi na drogu o stejné dávce (Weidenauer et al., 2017). Amplifikaci neuronální a behaviorální odpovědi na stimul v prostředí (např. stresor) nebo na drogu zprostředkovává neuropřenašeč dopamin. Při senzitivaci (např. k amfetaminu) dochází k hyperaktivaci mezencefalické dopaminergní dráhy (ve *ventral tegmental area* a *nucleus accumbens*), k vyššímu uvolňování dopaminu z presynaptických zakončení a zvyšování jeho extracelulárního množství (viz přehledy Schmidt & Beninger, 2006; Weidenauer et al., 2017). Amfetamin způsobuje u zvířat hyperlokomoci a stereotypie, které s opakovaným podáním drogy nabývají na závažnosti (Robinson & Becker, 1986). U lidí může vyvolat projevy podobné psychóze (Snyder, 1972), podobně jako mají pacienti se schizofrenií, u nichž se předpokládá podobná hyperaktivita mezolimbického dopaminergního systému. Pacienti s akutními projevy schizofrenie mají přirozenou endogenní senzitivaci dopaminergního systému, a jsou tak citlivější k působení amfetaminu než pacienti v remisi nebo lidé bez této psychiatrické diagnózy, přestože nikdy předtím drogu nepožili, a droga u nich může psychózu přímo indukovat (Lieberman et al., 1987; Laruelle, 2000). Hyperaktivace dopaminergního systému u schizofrenie také senzitivuje jedince ke stimulům v prostředí, které jsou jinak neutrální (Schmidt & Beninger, 2006). Senzitivace tak představuje významnou formu učení v animálních modelech schizofrenie.

Asociativní učení zahrnuje klasické a operantní podmiňování. **Klasické podmiňování** poprvé popsal I. P. Pavlov na konci 19. století u psů, kteří slinili v reakci na maso a později i na další stimuly, např. zvonění zvonku či bílý plášť (Strickland, 2001). Při pravidelném krmení došlo u psů k vytvoření asociace mezi nepodmíněným biologicky důležitým stimulem (maso), na který vzniká přirozený reflex bez předchozího tréninku, a podmíněným stimulem (zvonek, plášť), který byl zpočátku neutrální. Pro vytvoření asociace a její udržení je potřeba oba stimuly opakovaně prezentovat pohromadě, jinak dojde k extinkci (vyhasnutí asociace, zapomenutí) (Strickland, 2001). U člověka lze měřit klasické podmiňování reflexivním mrknutím oka (*eyeblick conditioning*) jako reakci na tón (podmíněný stimulus) prezentovaný nejprve před nepodmíněným mrknutím do oka, později i bez tohoto nepodmíněného stimulu (Clark & Squire, 1998). U lidí je tvorba asociace mezi nepodmíněným a podmíněným stimulem často spojena s emocemi, ať už v dobrém slova smyslu

(podmíněným podnětem může být např. vůně nebo píseň asociované s hezkou zkušeností v minulosti), nebo v tom špatném, kdy může dojít ke generalizaci a výsledkem je strach z podobných podmíněných podnětů či různé fobie (např. strach ze psů při pokousání v dětství) (Strickland, 2001). Na emoční paměti, tedy vzpomínek spojených s pocity (LaBar & Cabeza, 2006) se podílí hipokampus, který se řadí do limbického systému (Naidich et al., 1987), zejména spolu s amygdalou, ke které ventrální hipokampus přiléhá, a také prefrontálním kortexem. U potkanů lze emoční paměť testovat klasickým strachovým podmiňováním, v němž nepodmíněný stimulus představuje elektrická ranka a podmíněný například tón (Curzon et al., 2009). Úloha kontextuální strachové podmiňování testuje schopnost asociovat si nepříjemnou vzpomínku s daným kontextem, kterým je prostředí obklopující potkana (Curzon et al., 2009); v kontextuální strachové diskriminaci se měří schopnost tento kontext odlišit od neutrálního kontextu (Maren et al., 2013). Je zajímavé, že hipokampus je nepostradatelnou strukturou pro diskriminaci kontextů, zřejmě ne však pro samotné podmiňování (Frankland et al., 1998). Pokud však nepodmíněný podnět následuje po ukončení podmíněného podnětu se zpožděním (*trace conditioning*), hipokampus je také vyžadován (Clark & Squire, 1998). Učení podmiňováním zprostředkovává především dopamin (Weidenauer et al., 2017) a glutamát skrze NMDA receptory, které poskytují molekulární mechanismus pro asociativní synaptickou plasticitu; tvorba nových asociací vede ke změnám aktivity mesolimbických dopaminergních neuronů (Hall et al., 2009). Klasické podmiňování nevyžaduje volní akci. Při **operantním podmiňování** však dochází k posilování podmíněné činnosti v reakci na nepodmíněný podnět v prostředí (např. potrava), jak ukázal již Skinner ve 30. letech 20. století, který operantní podmiňování definoval jako „chování kontrolované svými důsledky“ (Staddon & Cerutti, 2003). U zvířat touto činností, která je zprvu náhodná nebo přirozená a snadno opakovatelná, může být mačkání páčky (např. u potkana) nebo klování (např. u holuba). Pokud v jejím důsledku zvíře obdrží odměnu (případně trest), naučí se tuto činnost používat k jejímu dosažení (nebo vyhnutí). Aby operantní podmiňování proběhlo úspěšně, musí jedinec důsledky svého jednání předvídat. Operantní učení je řízeno septo-hipokampální cholinergní signalizací a zpětnovazebně produkcí dopaminu mířícího z ventrální tegmentální oblasti do septa (Yamamuro et al., 1995). Oba typy asociativního učení mohou být významné ve vztahu k Alzheimerově chorobě i schizofrenii a jejich animálním modelům. Bylo prokázáno, že pacienti trpící Alzheimerovou chorobou měli zpomalenou, ačkoli ne zcela narušenou, tvorbu podmíněných reflexů oproti lidem bez demence, a toto zjištění diskutují autoři studie v souvislosti s poklesem denzity Purkyňových buněk v mozečku (Solomon et al., 1995; Woodruff-Pak & Papka, 1996). Narušené operantní podmiňování bylo pozorováno u transgenního myšího modelu Alzheimerovy choroby (Blackshear et al., 2011). Abnormality v tvorbě asociací hrají významnou roli i v patologii schizofrenie, což může být způsobeno změnami ve fungování glutamatergního a dopaminergního mezolimbického systému, zásadních pro plasticitu a asociativní učení. Některé geny uváděné jako rizikové pro rozvoj schizofrenie jsou zapojené do glutamatergní a dopaminergní signalizace a souvisí s asociativním učením (Hall et al., 2009). Genetické myší modely schizofrenie rovněž vykazují narušené operantní podmiňování (Heyser et al., 2000).

S emoční pamětí je jistě úzce spjata také **sociální paměť**, která je zvláště důležitá jak pro lidské subjekty, tak pro potkany i další sociální zvířata, která žijí v hierarchii a mají mezi sebou složité vzájemné vztahy. Ukázalo se, že pro sociální paměť je zřejmě důležitá specificky CA2 oblast dorsálního hipokampu (Hitti & Siegelbaum, 2014) a CA1 oblast hipokampu ventrálního (Okuyama et al., 2016). Schopnost identifikovat známé jedince a odlišit je od neznámých lze u potkanů sledovat v testu sociálního rozpoznávání, ve kterém zdravý potkan preferuje seznamování s jedincem, se kterým se dosud nesešel, zatímco potkan s poruchou sociální paměti se věnuje známému i neznámému jedinci s podobnou intenzitou (Thor & Holloway, 1982). Obdobnou úlohou, avšak za použití objektů, je test **rozpoznání nového objektu**, v němž zdravé zvíře rovněž přirozeně preferuje explorační nového objektu ve srovnání s již prozkoumaným (také viz výše; Vogel-Ciernia & Wood, 2015). Role hipokampu v rekogniční paměti není zcela vyjasněná, nicméně zdá se, že jeho aktivita není nezbytná pro kódování a vybavení paměti pro objekty v krátkodobém měřítku (v rámci minut), ale je potřebná v případě dlouhodobých vzpomínek; rozpoznávání objektů se účastní též parahipokampální oblasti (Hammond et al., 2004). Rekogniční paměť ve své základní podobě (rozpoznání nového od známého) je nevědomá, a zřejmě sem patří i nám známý pocit „toho/tohle už jsem někde viděl...“. Když si ovšem vybavíme kde a za jakých okolností jsme si danou věc nebo jedince zapamatovali, mluvíme spíše o paměti deklarativní. Potkana se na to druhé zeptat přímo nemůžeme, proto objektivně měříme pouze jeho nevědomou složku.

Dosud nebyla zmíněna také paměť senzoricá (percepční), která trvá jen velmi krátkou dobu (maximálně jednu sekundu) a rovněž probíhá na nevědomé úrovni. Vzniká percepcí senzoricými orgány a je dále komplexně zpracována podkorovými strukturami (talamus, bazální ganglia, amygdala ad.) za účasti hipokampu s přilehlým parahipokampálním gyrem, a kortexu, které proces dále modulují (Kumari et al., 2005).

1.1.3. Testování ostatních behaviorálních domén u potkana

U potkana je možné kromě učení a paměti testovat i jiné domény chování, což z něj dělá vhodný organismus pro modelování širšího spektra symptomatologie neuropsychiatrických onemocnění. Jednou z těchto domén je úzkost, která u lidských pacientů s psychickou poruchou bývá zpravidla zvýšená. U potkana se anxieta nejčastěji měří množstvím času stráveného na otevřených ramenech vyvýšeného křížového bludiště (File et al., 2004), v testu světlo-tma pobyt v jasně nasvíceném kompartmentu vůči pobytu v tmavém kompartmentu (File et al., 2004), nebo preferencí výskytu u stěn oproti centrální oblasti v testu otevřeného pole (Ramos et al., 1997). Ve všech těchto testech se využívá dvou přirozených, ale protichůdných vlastností zvířete, a to přirozené tendence explorační neznámá prostředí, a naopak vyhledávat bezpečné tmavé a těsné prostory. U úzkostnějšího zvířete převažuje druhá zmiňovaná vlastnost. U lidí se rozlišuje strach (z něčeho reálného, má objektivní příčinu) a úzkost (nadměrný neurčitý strach bez konkrétní příčiny či podnětu, doprovázený tělesnými projevy jako např. tachykardie, pocení ad.) jako dvě nestejně

charakteristiky. Kdybychom šli do důsledků, daly by se v některých případech rozlišit i u hlodavců: ve vyvýšeném křížovém bludišti *strach* z pádu z otevřeného ramene, ale objektivně neoprávněná *úzkost* ve světlém kompartmentu v testu světlo-tma; nicméně v literatuře se tyto dvě emoce v podstatě nerozlišují a bývají shrnuty pod termín „anxieta“. I přesto lze tvrdit, že vyvýšené křížové bludiště a test otevřeného pole testuje různé podtypy anxiety (Ramos, 2008). Míru anxiety lze do jisté míry měřit i v některých jiných úlohách, ve kterých je možné zároveň nahrávat na mikrofon s vysokým frekvenčním rozsahem. Pokud se totiž potkani cítí ohroženi, vydávají na frekvencích kolem 22 kHz, tedy pro nás již neslyšitelných, úzkostné vokalizace (Portfors, 2007). Tyto vokalizace jsou na záznamu snadno rozpoznatelné a jejich množství také vyjadřuje míru úzkostného chování.

Potkan je rovněž pověstný svou vysokou explorační aktivitou, kterou lze chápat jako analog motivace a zájmu o okolí u lidí; u pacientů s psychiatrickou diagnózou mohou být sníženy. S explorační souvisí i lokomoční aktivita (u potkana měřena nejčastěji v testu otevřeného pole; Walsh & Cummins, 1976), a s ní zase souvisí motorická koordinace (viz výše jmenované úlohy zaměřené na motorické učení). Hyperlokomoce je například u modelů schizofrenie považována za analog psychózy, protože se u ní předpokládá působení podobného mechanismu (Vojtechova et al., 2016). Nižší lokomoční aktivita nebo poruchy motoriky mohou zase připomínat motorické symptomy pozorované u Alzheimerovy choroby (Alzheimer's Association, 2017).

Pro poruchy autistického spektra je typickým symptomem sociální deficit, ale snížená či narušená schopnost komunikace a změny v sociálním chování se objevují i u schizofrenie (American Psychiatric Association, 2013). Pacienti trpící Alzheimerovou chorobou často vykazují sociální stažení a poruchy komunikace, které jdou ruku v ruce s celkovými změnami osobnosti v důsledku postupující choroby (Alzheimer's Association, 2017). Deficit různých prvků sociálního chování podobný lidským symptomům lze rovněž pozorovat u potkana vystaveného některým manipulacím. Jak již bylo zmíněno, potkan je velmi společenský tvor zvyklý žít ve skupinách a hierarchii, jehož sociální chování čítá rozmanité prvky, a je dokonce rozvinutější než u myši (Whishaw et al., 2001). Navíc je možné u potkana modelovat narušení vzájemné komunikace. Kromě výše zmíněných úzkostných vokalizací totiž potkani vydávají další typy ultrazvuků, například na frekvenční hladině kolem 40 kHz (jednoduché zvuky mláďat volajících matku), a mají i pestrý repertoár více modulovaných zvuků na frekvencích 50 kHz a výše, kterými spolu vzájemně komunikují (Portfors, 2007; Wright et al., 2010). Potkaní modely poruch autistického spektra, schizofrenie nebo i Alzheimerovy choroby tak mohou mít chudší repertoár těchto projevů, menší množství emitovaných zvuků či jinak narušenou ultrazvukovou vokalizaci.

Hojně používaný je test úlekové reakce a její inhibice, které lze aplikovat s výhodou jak na člověka, tak na potkana. Principem je měření míry úlekové reakce (v případě potkana je to míra nadskočení, u lidí reflexní stažení svalů v okolí oka) po krátkém a hlasitém zvukovém stimulu. U některých poruch bývá úleková reakce větší než u zdravých jedinců, například u některých pacientů s poruchou autistického spektra (Kohl et al., 2014). U zdravého jedince lze snížit tento úlekový reflex prezentací kratšího a méně hlasitého zvukového stimulu (tzv. prepulsu) krátce před

silným stimulem (Egerton et al., 2008), avšak u narušeného jedince (typicky u pacienta se schizofrenií nebo potkaního modelu psychózy) může být leknutí stejně, nebo dokonce více intenzivní než bez použití prepulsu (Braff et al., 1999; Egerton et al., 2008). U testu prepulsní inhibice hovoříme o sensorimotorickém zpracování informace (*sensorimotor gating*). V případě prepulsní inhibice se vlastně jedná o krátkodobou habituaci vedoucí ke snížené reaktivitě na určitý podnět (Zaman et al., 2017), ke které však dochází již při prvním stimulu, na rozdíl od výše zmíněné habituace na prostředí.

1.1.4. Potkan jako vhodné zvíře pro studium psychických poruch

Laboratorní potkan představuje pro studium duševních poruch vhodnou alternativu k častěji používané myši. Ačkoli u myši je výhodou zejména levnější a prostorově úspornější chov, snažší manipulace s genomem a vývoj transgenů, z behaviorálního hlediska je potkan vhodnější díky pestré paletě projevů chování, nejen paměťových dovedností, ale i dalších behaviorálních domén. To umožňuje dokonalejší a detailnější behaviorální charakterizaci. Potkan má například rozmanitější sociální chování a vzájemnou komunikaci, jemnější a přesnější motorickou koordinaci a lépe zvládá navigační úlohy ve vodním prostředí (Do Carmo & Cuello, 2013; Wishaw et al., 2001). Kromě toho má větší mozek usnadňující *in vivo* techniky či analýzu tkání (přesnější zacílení při aplikaci látek, snažší odběr cerebrospinální tekutiny či mikrodialýzu s větším objemem či opakováním, elektrofyziologické měření, neurozobrazování ad.) (Do Carmo & Cuello, 2013; Tesson et al., 2005). Je také evolučně bližší člověku a má větší míru podobnosti fyziologických i genetických vlastností (Gibbs et al., 2004), například oproti myši má potkan také 6 izoforem proteinu tau jako člověk (Hanes et al., 2009), což je relevantní pro výzkum Alzheimerovy choroby.

Přestože je potkan vhodným zvířecím modelem, stále se jedná o model, jehož projevy se přeci jen liší od skutečné lidské choroby a pouze ji napodobuje. Je proto důležité u každého modelu otestovat vždy více domén chování současně. Kombinace testů pomůže zpřesnit interpretaci získaných výsledků a lépe validovat zkoumaný model.

1.2. Alzheimerova choroba a její animální modely

1.2.1. Porucha paměti jako prvotní symptom a další znaky Alzheimerovy choroby

Alzheimerova choroba (též Alzheimerova demence, AD) byla poprvé vědecky popsána roku 1907 nezávisle dvěma psychiatry a neuropatologym, Aloisem Alzheimerem v Mnichově a Oskarem Fischerem v Praze. Každý z nich popsal zřejmě jinou formu AD, přesto dnes nese tato choroba souhrnný název pouze po prvním jmenovaném (Goedert, 2008).

AD se řadí mezi neurodegenerativní onemocnění s nenápadným nástupem a obvykle pomalým vývojem, typicky postihující starší jedince. V klinice je často obtížné ji odlišit od jiných typů demence. Kromě výrazného zhoršení čichu (Murphy, 2019) bývají prvotními symptomy, které na sobě pozoruje především sám pacient, nápadné zapomínání a narušená epizodická paměť, neschopnost zapamatovat si nové informace a obecně zhoršení kognice, včetně exekutivních funkcí jako je plánování, organizace složitějších projevů, kontrola úkonů, flexibilita apod. Bývá poškozena jak pracovní, tak dlouhodobá paměť, a rovněž prostorová navigace, kdy pacienti bývají často zmateni a dezorientováni a mají problém vzpomenout si na cestu. Kromě epizodické paměti se objevuje také deficit sémantické paměti, a k narušenému ukládání vzpomínek přispívá i deficit pozornosti (Alzheimer's Association, 2017; Bondi et al., 2008).

Kromě toho obsahuje klinická symptomatologie AD i další změny v chování, které pacientům s AD neméně komplikují život. Patří sem emocionální změny (úzkost, deprese, apatie, agitace), nespavost, a později i zhoršená komunikace a jazykové dovednosti, celková zmatenost či narušená motorická koordinace, která zahrnuje nejen chůzi a jemnou motoriku rukou, ale rovněž obtížné mluvení a polykání. V pozdější fázi onemocnění se objevuje také narušené sociální rozpoznávání osob, včetně rodinných příslušníků a ošetřovatelů, kteří jsou s pacientem v každodenním kontaktu, a obecně transformace celé osobnosti (Alzheimer's Association, 2017).

Mezi první a nejvýznamněji postižené oblasti mozku patří entorhinální kortex, mediální temporální a limbické struktury, jako je hipokampus a amygdala, u kterých míra poškození navíc koreluje se závažností kognitivního poklesu. Velmi brzy je také zasažen posteriorní cingulární gyrus. V nejzávažněji postižených regionech navíc dochází v pokročilých stádiích onemocnění k významnému ztenčení kůry a úbytku neuronů, a kortikální atrofie též koreluje s redukcí regionálního průtoku krve. Temporální patologie perzistuje několik let, než se rozšíří do dalších kortikálních oblastí (zbytek temporálního kortexu a frontální a parietální laloky), což vede ke zhoršení dalších funkčních domén. Naopak velmi dlouho je ušetřeno anteriorní cingulum, sensorimotorický kortex a zrakový kortex, jichž se neurodegenerace týká až v pozdních fázích onemocnění, kdy dochází k celkové atrofii mozku (Brun & Englund, 1981; D'Acunto et al., 2018; Thompson et al., 2007). Co se týče neuropřenašečových systémů, u AD dochází především ke ztrátě cholinergních a glutamatergických neuronů (D'Acunto et al., 2018).

Klinická fáze onemocnění trvá několik let a je charakteristická postupným zhoršováním. AD může předcházet mírná kognitivní porucha (*mild cognitive impairment*, MCI) (Petersen et al., 2014),

u které se projevuje plató fáze mírné kognitivní dysfunkce (Bondi et al., 2008), a která bývá považována za rizikový faktor či prodromální fázi demence. MCI je definována jako kognitivní dysfunkce závažnější než se předpokládá pro daný věk a vzdělání, avšak neovlivňující běžné denní aktivity (Grande et al., 2016). Podle počtu poškozených kognitivních domén a toho, zda je nebo není narušena také paměť, se rozlišují čtyři typy MCI: amnestická MCI pouze se zhoršenou pamětí (*amnesic MCI single-domain*), amnestická MCI s narušenou pamětí a dalšími kognitivními doménami (*amnesic MCI multiple-domain*) a neamnestická MCI s narušenou jednou (*non-amnesic MCI single-domain*) či více nepaměťovými kognitivními doménami (*non-amnesic MCI multiple-domain*) (Hughes et al., 2011; Michaud et al., 2017). Diagnóza MCI, zejména amnestické a multi-doménové (Hughes et al., 2011; Michaud et al., 2017), předznamenává velmi zvýšenou pravděpodobnost pozdějšího rozvoje AD, kdy dojde k prudkému poklesu kognitivních funkcí (Bondi et al., 2008), avšak nemusí se transformovat v klinickou demenci vždy. Řada pacientů s MCI totiž trpí dalšími fyzickými a psychiatrickými komorbiditami, které samy o sobě snižují kognitivní výkon a jejichž léčba či prevence může zpomalit kognitivní pokles, nebo dokonce zvrátit nepříznivý vývoj MCI do stavu normální kognice úměrné věku (Grande et al., 2016). Také aktivní životní styl dělá stav MCI u některých pacientů reverzibilním (Shimada et al., 2019). Návrat do normální kognice je slibný u pacientů s neamnestickou MCI nebo amnestickou MCI bez poškození dalších kognitivních domén (Hughes et al., 2011).

Patofyziologické procesy ovšem začínají mnoho let předtím, než se projeví klinické symptomy (Budson & Solomon, 2012). To je označováno jako preklinická fáze. Existuje snaha výzkumníků najít a rozlišit spolehlivé biomarkery, které by pomohly určit diagnózu AD s mnohaletým předstihem. V současné době bez fungujících léčiv je etickou otázkou, zda by budoucím pacientům vědomí přítomnosti těchto biomarkerů v jejich těle více neuškodilo, než pomohlo. Falešně pozitivní nález biomarkerů a nesprávná časná diagnóza MCI mohou pacienta zbytečně zatěžovat nadměrným stresem s nepříznivým dopadem na jeho zdraví. Zvýšení spolehlivosti biomarkerů a zpřesnění kognitivního vyšetření však může pacienta připravit na budoucí zdravotní stav a donutit ke změně životního stylu či začít aktivně řešit zdravotní problémy. Právě MCI může představovat slibné terapeutické okno pro léčebnou intervenci (Karakaya et al., 2013; Sabbagh et al., 2020). V současné době se klade větší důraz na raná stadia onemocnění a jejich potenciální ovlivnění jak u klinických zkoušek, tak v preklinickém výzkumu. Je totiž možné, že řada experimentálních léků u pacientů nefunguje, protože je dostávají pozdě, když je patologie již příliš rozvinutá a mozek nevratně poškozen. Čím dříve se podaří onemocnění diagnostikovat, tím dříve může být zahájena léčba. I v preklinickém výzkumu se proto u zvířat začíná modelovat spíše MCI než AD (Samaey et al., 2019; Tanaka et al., 2020).

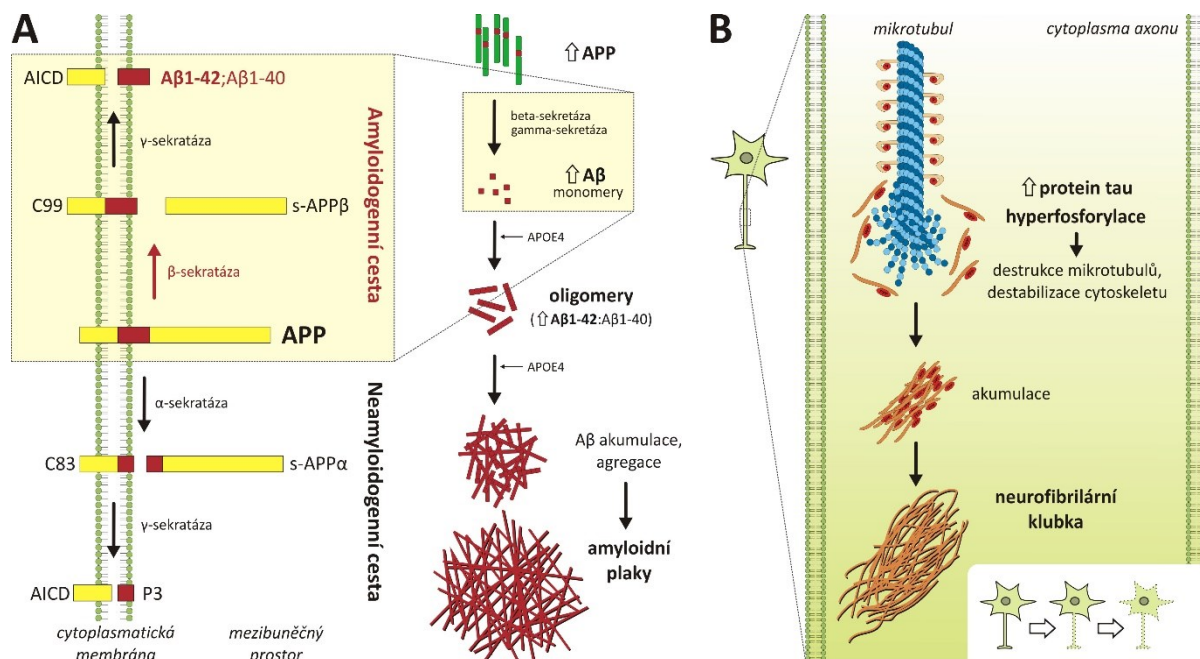
1.2.2. Hypotéza amyloidní kaskády a hromadění hyperfosforylovaného proteinu tau

Jednou z klíčových molekul v patologii AD je peptid **amyloid-beta (A β)**. Monomery A β jsou fragmenty štěpení amyloidového prekurzorového proteinu (*amyloid precursor protein, APP*), který je rozštěpán pomocí enzymů beta-sekretáza (*beta-secretase, nebo též beta-site APP-cleaving enzyme, BACE1*) (Sinha et al., 1999; Vassar et al., 1999) a gamma-sekretáza (De Strooper et al., 1998; Haass & Steiner, 2002; Wolfe et al., 1999) (**Obr. 7A**). A β se vyskytuje jak uvnitř buněk, tak v extracelulárním prostoru, a má sklony k agregaci, zejména jeho varianta končící zbytkem 42 (**A β 1-42**). Nejvýraznějším výsledkem procesu agregace jsou extracelulární amyloidní plaky (*amyloid plaques*), nicméně těmi nejtoxičtějšími, které nejvíce přispívají k rozvoji AD, jsou oligomery, a to zejména cytoplasmatické oligomery (Benilova et al., 2012; Goedert & Spillantini, 2006; Wirths et al., 2004).

Druhou důležitou molekulou v patologii AD je protein **tau** (James et al., 2015), který se za normálních podmínek váže na mikrotubuly v axonech neuronů a stabilizuje je. V mozku pacientů s AD je protein tau hyperfosforylovaný, což vede k jeho odstavování z mikrotubulů a destabilizaci cytoskeletu, která přispívá k rozpadu synapsí a následné ztrátě neuronů (Iqbal et al., 2005). Hyperfosforylovaný protein tau se akumuluje do intracelulárních neurofibrilárních klubek (*neurofibrillary tangles*), které se později objevují i vně neuronů (Tabaton et al., 1991) (**Obr. 7B**). Člověk má šest izoforem proteinu tau, z nichž všechny mohou procházet abnormální posttranslační modifikací, nadměrnou fosforylací, ovlivňující jeho konformační charakteristiky, a podílet se tak na AD patologii (Hanes et al., 2009). Amyloidní plaky a neurofibrilární klubka bývají doprovázeny zánětlivými procesy zahrnujícími aktivované mikroglie a astrocyty, dále oxidativním stresem, strukturálními a funkčními poškozeními synapsí a celkovou neuronální degenerací.

Hypotéza amyloidní kaskády předpokládá, že hromadění A β v mozku a oslabený systém jeho odstraňování (*clearance*) jsou hlavní příčinou patologie AD (Karran et al., 2011; Selkoe & Hardy, 2016). Klinické testy zaměřené na imunoterapii pomocí protilátky proti A β (např. solanezumab, semagacestat, tramiprosate, bapineuzumab ad.) v některých případech sice uspěly v redukcii amyloidní zátěže, ovšem v drtivé většině případů selhaly ve zlepšení klinických projevů AD (nepřinesly kognitivní ani funkční zlepšení), a některé měly dokonce vážné vedlejší účinky (Brothers et al., 2018; Doody et al., 2014; Lannfelt et al., 2014; Salloway et al., 2014; Sevigny et al., 2016). A β totiž není jen odpadní produkt štěpení APP, ale hraje v organismu důležité fyziologické role (Brothers et al., 2018), proto jeho odstranění mohlo způsobit jiné zdravotní komplikace. Amyloidní zátěž bohužel spolehlivě nepredikuje funkční poškození, protože množství amyloidních plaků u pacientů striktně nekoreluje s kognitivním poklesem (Perez-Nievas et al., 2013; Perrin et al., 2009). Navíc byl nahromaděný amyloid nalezen také u kognitivně normálních starších jedinců, a naopak, významná část pacientů s demencí nápadně připomínající AD vykazují nízkou, nebo žádnou akumulaci A β (Monsell et al., 2015; Reiman et al., 2009). Původně důraz kladený na plaky se

postupně přenesl na oligomery, které jsou nyní cílem potenciálních terapeutik (viz např. přípravek ALZ-801 od firmy Alzheon popsany v kap. 1.2.4.).



Obř. 7. Patologické procesy odehrávající se v mozku pacientů s AD. **(A)** Levý panel: Při neamyloidní cestě štěpení amyloidního prekursorového proteinu (APP), za účasti enzymů α -sekretáza a γ -sekretáza, vznikají neškodné produkty (P3 a AICD, amyloid precursor protein intracellular domain). Při amyloidní cestě (u pacientů s AD) je však APP za pomoci β -sekretázy, a následně γ -sekretázy, rozštěpán na AICD a monomery amyloidu-beta (A β), především jeho toxické formy s 42 aminokyselinami (A β 1-42). Pravý panel: Monomery A β se dále spojují do větších celků, zvaných oligomery, obsahující především vysoce agregující formu A β 1-42. V průběhu AD dochází především v mezibuněčném prostoru k další agregaci těchto oligomerů a akumulaci do velkých celků zvaných amyloidní plaky. Agregaci podporuje i apolipoprotein E4 (APOE4), jehož alela vyskytující se v genomu lidí představuje významný rizikový faktor rozvoje AD. **(B)** Protein tau se za normálních podmínek váže k mikrotubulům cytoskeletu neuronů, čímž je stabilizuje. Při rozvoji AD však dochází k jeho hyperfosforylaci (navázání nadměrného množství fosfátových zbytků), která způsobuje změnu jeho konformace a odvázení z mikrotubulů. Tím dochází k destabilizaci cytoskeletu a rozpadu neuronů, ke kterému významně přispívá i akumulace hyperfosforylovaného tau za tvorby neurofibrilárních klubek.

Neurofibrilární klubka akumulovaného hyperfosforylovaného proteinu tau lépe korelují s kognitivním poškozením (Brier et al., 2016) a patologie tau je sama o sobě schopná zapříčinit ztrátu neuronů (Karran et al., 2011). Tau patologie však není specifická pro AD, protože se objevuje i u jiných typů demencí, jako je frontotemporální demence nebo demence s Lewyho tělísky (Kantarci et al., 2017; Spina et al., 2017). Proto se pro diagnózu AD používají patologie spojené jak s A β , tak s proteinem tau (Budson & Solomon, 2012). Obě patologie se zřejmě navzájem ovlivňují, nebo dokonce potencují (Samaey et al., 2019), ale dosud nepanuje shoda, která z patologií se objevuje dříve a spouští rozvoj té druhé. Vzájemné působení obou patologií zhoršuje onemocnění, a obě přispívají k poškození synapsí vedoucím k neurodegeneraci (Selkoe, 2002; Spiers-Jones & Hyman,

2014). Jejich role ve smyslu příčiny rozvoje AD ale zůstává kontroverzní. Ačkoli hromadění A β v mozku neoddiskutovatelně přispívá k postupnému rozvoji AD, nemusí být jedinou nebo hlavní příčinou jejího vzniku. Je pravděpodobné, že propuknutí AD vyžaduje nějaký spouštěč (*trigger*), který iniciuje proces abnormální akumulace proteinů řetězovou reakcí nebo pozitivní zpětnou vazbou. Hypotéza amyloidní kaskády tak popisuje spíše *mechanismus* než *příčinu* rozvoje tohoto onemocnění. O alternativních hypotézách etiologie AD a rizikových faktorech a jejich modelování u hlodavců blíže pojednávají následující kapitoly (kap. 1.2.5. a 1.2.6.).

1.2.3. Formy Alzheimerovy choroby a rizikové faktory

Diagnostika AD rozlišuje dvě formy, které se projevují podobnou symptomatologií, avšak liší se v etiologii. Tento fakt není příliš často zohledňován v souvislosti s animálními modely AD, i když přitom může být zcela zásadní pro pochopení vzniku a procesu rozvoje onemocnění a hledání funkčních léčebných postupů.

Familiální forma AD je charakterizována časným nástupem (před 65. rokem života) (Drummond & Wisniewski, 2017), rychlým progresem a závažnějším průběhem. Nazývá se „familiální“, protože je asociována s mutací genů s vysokou penetrancí (Citron et al., 1992; Drummond & Wisniewski, 2017; Haass, 1994; Haass et al., 1995; Hardy, 1997). Jedná se zejména o dědičné autozomálně dominantní mutace v genu APP (např. švédská, indianská, londýnská ad.) nebo presenilinu 1 či presenilinu 2, tj. komponenty gamma-sekretázy (Haass & De Strooper, 1999). Tyto mutace vedou ve svém důsledku k vyšší produkci peptidu A β , respektive jeho delší a vysoce fibrilogenní/amyloidogenní variantě A β 1-42 (Haass & De Strooper, 1999; Hardy, 1997), který je považován za nejtoxičtější formu vedoucí k rozvoji AD.

Naproti tomu **sporadická** forma AD má pozdější nástup (od 65 let) (Drummond & Wisniewski, 2017), nevykazuje vzorec mendelovské dědičnosti a její příčiny nejsou známy. Nejznámější genetický rizikový faktor je přítomnost alely apolipoproteinu E4 (APOE4) (Farrer, 1997), která zřejmě oproti ostatním alelám (APOE2, APOE3) významně zhoršuje odstraňování (*clearance*) A β (Castellano et al., 2011) a naopak podporuje jeho oligomerizaci (Cerf et al., 2011). Hlavním rizikovým faktorem sporadické formy AD je však nepřekvapivě vysoký věk (Karran et al., 2011).

1.2.4. Léčba Alzheimerovy choroby a problémy animálních modelů

AD patří k nejobávanějším onemocněním vyspělého světa. Dostupná léčba je limitována pouze na inhibitory cholinesterázy a memantin, inhibitor receptoru NMDA (*N*-methyl-D-aspartát), s doplňkovou medikací kontrolující komorbiditu, jako jsou například poruchy nálady nebo psychotické příznaky v pozdním stádiu. Ani jeden z těchto léků ovšem není schopen efektivně zastavit či dokonce zvrátit postup nemoci, spíše ji ulehčují menší a dočasnou úlevou od některých symptomů (Carreiras et al., 2013; Tan et al., 2014). Hledání nových terapeutických přístupů

pokračuje, ale drtivá většina kandidátů na léky, kam spadají antioxidanty a různé přírodní produkty (např. resveratrol, kurkumin, čajové katechiny, fytoestrogeny atd.), stejně jako anti-amyloidní terapie nebo terapie inhibitory BACE1, v klinických testech naprosto selhaly, přestože jejich testování na zvířecích modelech poskytlo slibná data (Banik et al., 2015; Cummings et al., 2014; Geldenhuys & Darvesh, 2015; Imbimbo & Watling, 2019). Jen za dekádu 2002–2012 skončilo neúspěchem 413 klinických studií (Itzhaki et al., 2016) a podíl selhání testovaných léčiv dosáhl neuvěřitelných 99,6 % (Cummings et al., 2014).

V červnu letošního roku byl americkou *United States Food and Drug Administration* (FDA) schválen přípravek aducanumab (s komerčním názvem Aduhelm od americké firmy Biogen Inc.) pro léčbu AD (U.S. Food & Drug Administration, 2021a,b); jedná se o první lék proti AD po osmnácti letech od roku 2003. Aducanumab je monoklonální protilátka s vysokou afinitou k agregovanému A β (ne však k monomerům), jejíž opakovaná intravenózní aplikace vede k redukci amyloidních plaků (Sevigny et al., 2016). Tento lék ovšem budí rozpaky, protože postrádá silnou evidenci účinnosti a bezpečnosti, a může mít závažné vedlejší účinky jako je otok mozku, krvácení ad. (Walsh et al., 2021). Věrohodnosti nepomáhá ani fakt, že lék prošel zrychleným schvalovacím řízením a po případném dodatečném neprokázání klinického benefitu pro pacienty může být z trhu stažen (U.S. Food & Drug Administration, 2021a,b),

V květnu 2021 vstoupil do třetí fáze klinických zkoušek (pod názvem APOLLOE4) přípravek ALZ-801, vyvinutý firmou Alzheon českého neurologa Martina Tolara (Tolar et al., 2021). ALZ-801 je proléčivo homotaurinu, modifikované aminokyseliny původně vyvinuté pod názvem tramiprosat (Alzhemed), který vazbou na monomery A β 1-42 mění jejich konformaci a inhibuje jejich agregaci do oligomerů (Abushakra et al., 2016; Kocis et al., 2017). ALZ-801 se však ve srovnání s tramiprosatem, do kterého se konvertuje *in vivo*, lépe vstřebává a déle vydrží v krevním řečišti (Hey et al., 2018). ALZ-801 zatím přináší slibné výsledky v léčbě AD, přičemž její největší přínos se předpokládá u vysoce rizikových pacientů, tedy homozygotů v APOE4 v časném stadiu onemocnění (Abushakra et al., 2017; Tolar et al., 2020). Oproti náročným a riskantním infuzím protilátek mířeným na odstraňování již vzniklých amyloidní shluků je výhodou látky ALZ-801 orální podání ve formě tablety s dobrou penetrací molekuly do mozku a bez závažných vedlejších účinků, s cílem zamezit shlukování monomerů do oligomerů, tedy již samotné tvorbě těchto shluků (Kocis et al., 2017; Hey et al., 2018; Tolar et al., 2020).

Počet pacientů s AD rapidně roste ruku v ruce se stárnutím globální populace (Alzheimer's Association, 2017; Geldenhuys & Darvesh, 2015). V roce 2005 bylo celosvětově pacientů postižených demencí asi 24 milionů, z toho asi 17 milionů s diagnózou AD. Nejvyšší prevalence demence u osob starších 60 let byla ve vyspělých zemích (6,4 % v Severní Americe, 5,4 % v západní Evropě), zatímco v méně vyspělých zemích byla nižší (Reitz et al., 2011); je ovšem nutné brát v potaz, že v rozvojových zemích je také nižší délka dožití, a tedy nižší pravděpodobnost rozvoje AD, a navíc méně kvalitní zdravotní péče, včetně méně přesné diagnostiky a monitoringu neuropsychiatrických chorob. Incidence činila asi 1 % (10,5 na 1000 obyvatel) v Severní Americe a téměř 0,9 % (8,8 na 1000

obyvatel) v západní Evropě, a incidence demence, včetně AD, exponenciálně vzrůstá s věkem (Reitz et al., 2011). Předpokládá se, že do roku 2040 bude prevalence stoupat každých 20 let dvojnásobně (Reitz et al., 2011). Pacienti s touto chronickou vysilující poruchou mají omezené možnosti léčby a představují pro společnost velkou socio-ekonomickou zátěž (Alzheimer's Association, 2017), protože se stanou dříve či později plně závislí na pomoci druhých lidí, typicky rodinných příslušníků, kteří se často musejí vzdát své pozice v zaměstnání na několik let. Kromě toho je u pečujících pozorována zvýšená prevalence deprese a anxiety oproti běžné populaci (Sallim et al., 2015). Proto je zde naléhavá potřeba nalezení nových a efektivních terapeutických přístupů.

Sporadická forma AD postihuje více než 95 % pacientů, zatímco identifikované genetické mutace v APP a presenilinu jsou zodpovědné pouze za asi 1 % všech případů AD (Drummond & Wisniewski, 2017). Přesto je však naprostá většina existujících animálních modelů založena právě na genetické manipulaci napodobující familiální formu choroby. Proto, ačkoli vykazují konstruktivní i fenomenologickou validitu, jsou aplikovatelné jen na malé procento pacientů s AD. Přenos výsledků z preklinických animálních studií do klinické praxe, která řeší především sporadickou formu AD, stojí na předpokladu, že obě formy AD jsou srovnatelné ve své odpovědi na terapii. Vysoký podíl selhání terapií u pacientů ale silně naznačuje, že tyto předpoklady jsou mylné. Mnohé z existujících studií na transgenních hlodavcích se zaměřují pouze na kognitivní poškození, ale malá pozornost je věnována nekognitivním symptomům a komorbiditám, které jsou ovšem neméně důležité v klinické praxi. Zde existuje značný potenciál pro další preklinický výzkum.

Dobré modely sporadické formy AD v současnosti chybějí. Spontánně vzniklé stavy u domestikovaných savců, jako je například syndrom psí kognitivní dysfunkce (*Canine cognitive dysfunction syndrom*), jsou v tomto ohledu možná zajímavější, jelikož sdílejí mnoho histopatologických a behaviorálních projevů s lidskou AD (Drummond & Wisniewski, 2017; Madari et al., 2015; Smolek et al., 2016). U myší a potkanů, kteří patří mezi nejpoužívanější laboratorní zvířata vůbec, je nutné tyto deficity navodit uměle, jelikož není známo, že by se u nich přirozeně objevovala demence či podobná dysfunkce odpovídající patologii AD. Otázkou zůstává, proč tomu tak je. Jedním z možných vysvětlení je přítomnost nějakých mechanismů, které vzniku takovéto choroby brání. Zatím se ale jako pravděpodobnější vysvětlení jeví jejich krátká doba života, po kterou nestihne přirozeně k těmto devastujícím procesům dojít. Důkazy ale zatím neexistují.

1.2.5. Genetické modely Alzheimerovy choroby u hlodavců

Ačkoli transgenní modely mohou k porozumění sporadické formy AD přispět jen omezeně, neznamená to, že by jejich výzkum nemohl přinést klinicky využitelné poznatky. Většina genetických zásahů se z technických důvodů provádí u myší, kterých existuje celá řada (viz přehled Drummond & Wisniewski, 2017). Příkladem mohou být modelové myši s jednou či vícečetnými mutacemi především genů pro APP a presenilin 1 (např. myši PDAPP, APP23, APP/PS1, 5xFAD a další), které vykazují kognitivní poškození a v mozku se jim objevují amyloidní plaky. Myš 3xTg navíc obsahuje

mutaci genu MAPT (*microtubule-associated protein tau*) a oproti ostatním ostatním myším modelům má v mozku také neurofibrilární klubka; díky tomu dnes patří k nejlepším myším modelům familiální formy AD (Drummond & Wisniewski, 2017).

Vyvinout transgenního potkana je výrazně technicky i časově náročnější (obtížnější penetrace injekční pipety s transgenem do pronukleí potkaních vajíček z důvodu jejich horší viditelnosti a pružnější cytoplasmatické a pronukleární membrány, a také menší přežití vajíček po mikroinjekci) (Charreau et al., 1996; Do Carmo & Cuello, 2013). Dobrý transgenní potkaní model, který odráží široké spektrum symptomů připomínajících lidskou AD, nám ale stále může pomoci rozšířit poznatky o mechanismu a přispět k hledání terapie, ať už na kognitivní poškození nebo alespoň na přidružené symptomy.

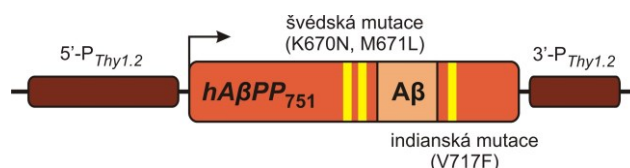
Laboratorní potkan z hlediska homologie je i není vhodným zvířetem pro modelování AD. U potkana, podobně jako u myši, je sekvenční homologie proteinu APP ve srovnání s lidským velmi vysoká, liší se v rámci A β sekvence pouze ve třech aminokyselinách. Ty však zřejmě hrají zásadní roli v agregaci A β a tvorbě plaků, které je vidno u lidí, avšak nikoli u myší či potkanů (Drummond & Wisniewski, 2017; Tambini et al., 2019). Potkan, podobně jako člověk, vytváří 6 izoform proteinu tau, ačkoliv se u nich liší poměr izoform 4R a 3R: potkan má 9krát více 4R izoformy než 3R (a poměr se zvyšuje od časného postnatálního života do dospělosti), u člověka je to jedna ku jedné (Hanes et al., 2009); myš však oproti tomu vůbec izoformu 3R neprodukuje (Drummond & Wisniewski, 2017). Rovněž potkaní protein APOE vykazuje vysokou sekvenční homologii s lidskými proteiny APOE3 a APOE4. Přestože sekvence aminokyselin APOE u potkana více připomíná lidský APOE4, jeho biofyzikální vlastnosti ale spíše odpovídají APOE3 (Do Carmo & Cuello, 2013; Tran et al., 2013). To je zřejmě i jeden z důvodů, který přispívá k nízké agregaci A β , které u člověka dopomáhá právě přítomnost zmíněné alely e4 pro APOE.

Transgenními potkany s mutacemi genů pro lidský APP nebo presenilin 1, a jejich kombinacemi, jsou například potkani TgF344-AD a PSAPP, kteří jsou popsáni v předhledovém článku autorů Drummond & Wisniewski (2017). Oba tyto modely mají v mozku amyloidní shluky a s nimi asociovanou mikrogliózu a astrogliózu, ale zatím pouze u potkanů TgF344-AD byla popsána i neurofibrilární klubka. U všech těchto modelů bylo rovněž pozorováno kognitivní poškození (viz přehled Drummond & Wisniewski, 2017). Vytvořeny byly i další transgenní potkani s patologií připomínající AD, zejména je u nich patrné ukládání A β v mozku (Agca et al., 2008; Flood et al., 2009; Kloskowska et al., 2010; Liu et al., 2008), avšak zdá se, že všechny jsou založeny na podobném principu (familiální mutace lidského proteinu APP, případně presenilinu 1, či jejich kombinaci), a chybí jejich detailnější popis z hlediska behaviorální symptomatologie.

Různorodých transgenních potkaních modelů AD existuje velmi málo. Nicméně v posledních letech dochází k rozvoji nových technik genetického inženýrství využívající inkorporaci endonukleáz (např. CRISPR) do embrya, které přímo modifikují cílové geny (Kaneko, 2017; Neff, 2019). Tyto postupy možná v budoucnu přinesou širší spektrum dostupných potkaních modelů.

Potkan McGill: transgenní model familiální formy AD

Transgenní potkan **McGill-R-Thy1-APP** (zkráceně **McGill**) s genetickým pozadím albínského kmene HsdBrl:WH Wistar nese ve svém genomu jeden transgen, resp. jednu kopii transgenů na haploidní genom, který pod transkripční kontrolou myšního promotoru *Thy1.2* způsobuje expresi lidského APP₇₅₁. Ten nese dvojitou švédskou (K670N a M671L) a indianskou (V717F) mutaci, o nichž je známo, že způsobují familiální formu AD. Tento transgenní produkt je exprimován výhradně v neuronech koncového mozku a není detekovatelný v mozečku ani periferních tkáních (Leon et al., 2010) (**Obr. 8**).



Obr. 8. Transgen vložený do genomu potkana McGill. Pod transkripční kontrolou myšního promotoru *Thy1.2* se exprimuje lidský amyloid prekurzorový protein (hβAPP₇₅₁), který nese dvojitou švédskou a indianskou mutaci. Upraveno podle Leon et al. (2010) a Wilson et al. (2016).

U **homozygotů** se lidský Aβ začíná akumulovat uvnitř pyramidálních neuronů v hipokampu a kortexu již týden po narození, progreduje s narůstajícím věkem a po několika měsících se v mozku objevují extracelulární amyloidní plaky. Leon s kolegy uvádí, že se plaky tvoří již v 6 měsících věku zvířat (Leon et al., 2010), ačkoli Iulita a kolegové našli plaky až ve 13, ale ne v 7, měsících věku (Iulita et al., 2014), a podobně Heggland a kol. viděli první plaky až u 9měsíčních zvířat (Heggland et al., 2015). Plaky se objevují nejdříve v subikulu, později se šíří do hipokampu a kortexu a některých subkortikálních regionů (např. amygdaly), v pozdějším věku jsou fibrilární povahy s denzními jádry, a ve 20 měsících věku jsou denzní amyloidní plaky přítomné ve většině oblastí mozku (Iulita et al., 2014; Leon et al., 2010), čímž se výrazně podobají lidským pacientům s AD. Homozygoti projevují také výrazné kognitivní poškození, které se navíc zhoršuje s narůstajícím věkem i závažností Aβ patologie. Je zajímavé, že učení a paměť změřené v Morrisově vodním bludišti a v operantní úloze vizuální diskriminace s dotykovou obrazovkou, kontextuální strachové podmiňování a prostorová a rekogniční paměť u nich byly narušeny již ve 3–4 měsících věku, tedy ještě ve stadiu před vytvořením amyloidních plaků (Iulita et al., 2014; Leon et al., 2010; Wilson et al., 2016). Kromě toho vykazují homozygoti přítomnost dystrofických cholinergních a glutamatergních axonů a známky zánětlivé reakce, např. přítomnost aktivovaných mikroglíí kolem denzních plaků (Leon et al., 2010), což odpovídá též nálezům u lidských pacientů s AD. Zánětlivé procesy (zvýšené hladiny cytokinů), astrocytóza a nárůst aktivovaných mikroglíí, zejména v blízkosti neuronů zatížených Aβ, byly popsány i u zvířat s ještě nevyvinutými extracelulárními amyloidními plaky (Hanzel et al., 2014). U 18-měsíčních zvířat byl zjištěn úbytek neuronů v subikulu (Heggland et al., 2015).

U **heterozygotů** (též hemizygotů) oproti tomu zůstává Aβ patologie celý život ve stadiu intracelulární akumulace, která má navíc pozvolnější nástup; množství solubilních trimerů Aβ (které jsou nejčastější formou oligomerů) je u nich celkově nižší a extracelulární plaky se u nich neobjevují (Galeano et al., 2014; Iulita et al., 2014; Leon et al., 2010), čímž velmi dobře modelují časné stadium

onemocnění. Heterozygoti v podstatě nemají narušené samotné prostorové učení v Morrisově vodním bludišti, ale vykazují deficit prostorové referenční paměti (vodní bludiště bez ostrůvku), prostorové pracovní paměti (bludiště tvaru Y) (Galeano et al., 2014; Iulita et al., 2014; Leon et al., 2010; Martino Adami et al., 2017) a rekogniční paměti (rozpoznání nového a přemístěného objektu) (Iulita et al., 2014), ačkoli narušení rekogniční paměti nebylo potvrzeno (Galeano et al., 2014; Martino Adami et al., 2017). Kognitivní poškození je u nich ve srovnání s homozygoty obecně mírnější.

U animálních modelů AD je nasnadě věnovat pozornost zejména testování paměti a kognice, nicméně ostatní symptomy by rovněž neměly být opomíjeny. McGill heterozygoti byli alespoň prozkoumáni v testech na anxieta a explorativní chování v testu otevřeného pole (Galeano et al., 2014), homozygoti však v době provádění našich experimentů nebyli otestováni v žádných nekognitivních testech. Tato dizertační práce se proto věnuje detailní charakterizaci chování u homozygotních potkanů McGill, kteří byli vystaveni celé baterii testů zaměřených jednak na různorodé paměťové a kognitivní domény (prostorová pracovní paměť, prostorová orientace, kognitivní koordinace, rekogniční paměť, sociální paměť, habituace), a jednak také na domény nekognitivní (anxieta, lokomoční a explorační aktivita, sociální chování a komunikace, motorická koordinace).

1.2.6. Modely Alzheimerovy choroby založené na negenetických faktorech

O negenetických vlivech na rozvoj AD se toho ví zatím extrémně málo. Přitom právě vlivy prostředí zřejmě hrají zcela zásadní roli v tom, zda se (sporadická forma) AD rozvine či nikoli. Byly vysloveny a studovány některé hypotézy zahrnující určité faktory prostředí, z nichž lze jmenovat například chronické vystavení pesticidům či nanoparticulím (Chin-Chan et al., 2015), traumatické poranění mozku (Johnson et al., 2010) či nezdravá životospráva a metabolické problémy (dieta s vysokým obsahem tuku a obezita, diabetes či hypercholesterolémie; Knight et al., 2014; Sims-Robinson et al., 2010). Je však nutné poznamenat, že AD je onemocnění multifaktoriální a různé hypotézy nejsou výhradní, naopak se mohou prolínat či doplňovat.

Hypotéza cerebrální glukodeprivace předpokládá, že snižující se spotřeba glukosy v mozku, která je dokonce výraznější než pokles spotřeby kyslíku v mozku, předchází tvorbu agregátů amyloidu a hyperfosforylovaného proteinu tau, které následně vedou k neurodegeneraci (Grieb, 2016). Glukosový hypometabolismus je časný a perzistující znak AD, mozky pacientů také vykazují známky zhoršené inzulinové signalizace. U pacientů s familiální formou AD se ukázalo, že snížená absorpce glukosy v mozku je detekovatelná velmi časně, ještě před nástupem klinických symptomů, a objevuje se i u pacientů se sporadickou formou (Grieb, 2016; Mosconi et al., 2006). U laboratorních hlodavců se snížený metabolismus glukosy v mozku modeluje pomocí intracerebroventrikulární (i.c.v., do laterálních mozkových komor) aplikace streptozotocinu, sloučeniny glukosaminu a močoviny s nitroso-skupinou (Grieb, 2016). Streptozotocin byl izolován

z půdní bakterie *Streptomyces achromogenes* a původně byl vyvinut jako antibiotické, později protinádorové agens, které je používáno při terapii některých vzácných neuroendokrinních tumorů (Grieb, 2016; Turner et al., 2010). Znamější je však v animálním výzkumu jako model diabetu. Systémová aplikace streptozotocinu způsobuje u experimentálních zvířat vzrůst hladiny glukosy v séru, a naopak pokles hladiny inzulínu (Junod et al., 1969). Streptozotocin je totiž selektivně toxický k beta-buňkám pankreatu, které po jeho působení nemohou dále produkovat inzulín, jenž je zásadní pro udržování glukosové rovnováhy v organismu. Streptozotocin se váže na membránový glukosový transportér GLUT2, díky němuž projde do buňky a skrze alkylaci DNA způsobí smrt buňky. GLUT2 transportér je ovšem exprimován i v jiných orgánech (játrech a ledvinách), které tudíž také poškozuje. Do mozku přímo neprojde přes hematoencefalickou bariéru, a při systémovém podání tak může působit pouze nepřímo. Pokud je však aplikován přímo do mozku, rovněž zabíjí buňky, které zde GLUT2 transportér a inzulín exprimují. Podobně jako působí periferní podání streptozotocinu na metabolismus glukosy v těle, i.c.v. aplikace desenzitizuje mozkové inzulínové receptory a vede ke snížené absorpci cerebrální glukosy s dalšími dopady, které se podobají metabolickým, molekulárním, neuropatologickým a behaviorálním projevům AD (někdy se také AD nazývá diabetes 3. typu; Steen et al., 2005), proto i.c.v. injekce streptozotocinu představuje netransgenní model sporadické formy AD (viz přehled Grieb, 2016). Studie na potkanech a myších odhalily, že i.c.v. aplikace tohoto agens zhoršuje inzulínovou signalizaci, pokles hlavních mozkových glukosových transportérů a také způsobuje kognitivní deficity pozorovatelné týdny po zásahu. Kromě toho dochází k poklesu hmotnosti mozku a nárůstu množství A β 1-42 a hyperfosforylovaného proteinu tau (a s tím související jeho snížené mikrotubuly-vázající aktivity) v hipokampu a kortexu (Ravelli et al., 2017; více také v přehledovém článku Grieb, 2016). V porovnání s myším transgenním modelem familiální formy AD způsobuje i.c.v.-streptozotocinový model podobný behaviorální fenotyp (Chen et al., 2013) a i.c.v. aplikace streptozotocinu transgennímu zvířeti dokonce AD fenotyp ještě zhoršuje (Chen et al., 2014). Chronická hyperglykémie navíc podporuje tvorbu volných radikálů a oxidativní stres (King & Loeken, 2004; Tiwari et al., 2009).

Hypotéza mitochondriální kaskády předpokládá, že spouštěčem patologických procesů spojených s AD je dysfunkce mitochondrií, jejich stárnutí a poškození oxidativního řetězce (Swerdlow et al., 2010). Mitochondrie jsou regulátory energetického metabolismu a řízené buněčné smrti (apoptózy), jejich nefunkčnost tak nepříznivě ovlivňuje tvorbu buněčné energie (adenosin trifosfátu, ATP) a může iniciovat proces akumulace proteinů, typicky pozorovaný u pacientů s AD (Cadonic et al., 2016). Abnormality v těchto organelách ovlivňují autofagii, jež je spojena s procesy zabraňujícími akumulaci proteinových agregátů a defektních organel (Moreira et al., 2010). Mitochondrie jsou rovněž největšími producenty volných kyslíkových radikálů, jejich poškození tedy mohou způsobovat chronický oxidativní stres, který přispívá k poškození synapsí a degeneraci neuronů (Eckert et al., 2003).

V poslední době vyvstává minoritní a opomíjená, avšak slibná, **infekční hypotéza** vzniku AD, která říká, že spouštěčem rozvoje AD je zánět způsobený přítomností patogenů v mozku (Itzhaki,

2018; Miklossy, 2011; Wu et al., 2019), nikoli samotnou akumulací A β , která tak představuje spíše mechanismus než příčinu rozvoje AD. Naopak se stále více ukazuje, že A β je ve skutečnosti pro mozek nepostradatelný pro své fyziologické role v různých procesech (Brothers et al., 2018), včetně antimikrobiální ochrany mozkové tkáně, kdy produkce, oligomerizace a fibrilizace A β reprezentuje vnitřní imunitní systém mozku zacílený proti patogenům (Moir et al., 2018). Zdá se proto, že akumulace A β a tvorba amyloidních plaků vedoucí k patologii AD je jen přemrštěná reakce organismu, kterou již nelze zastavit.

Další z významných hypotéz zdůrazňuje **hromadění iontů kovů v mozku**, a s tím související oxidativní poškození (D'Acunto et al., 2018). Jelikož A β je metaloprotein s vysokou afinitou k iontům mědi (Cu $^{2+}$), zinku (Zn $^{2+}$) a železa (Fe $^{3+}$), vážou se tyto kovy na A β a podporují jeho agregaci, čímž přispívají k neurotoxicitě. Navíc pozměněné hladiny biokovů (např. v metaloproteinázách) narušují správné fungování enzymů zodpovědných za štěpení APP, které vede k produkci A β (D'Acunto et al., 2018; Miller et al., 2010; Smith et al., 2007). Bylo také prokázáno, že komplexy A β s kovovým iontem generují tvorbu volných kyslíkových radikálů vedoucí k oxidativnímu poškození (Smith et al., 2007), jež spouští kaskádu apoptózy, a ve svém důsledku tak způsobuje smrt neuronů (Rohn, 2010). Zvýšené množství kationtů kovů tedy přispívá k degenerativnímu poškození, a nálezy narušené buněčné homeostázy těchto iontů nejsou u pacientů s neurodegenerativními onemocněními vzácné (Basun et al., 1991; D'Acunto et al., 2018).

Hypotéza vlivu kovových iontů se testuje u laboratorních myší i potkanů (viz přehled Chin-Chan et al., 2015). Například u transgenních myších modelů AD, vykazujících známky neurodegenerace, bylo v pokročilém věku nalezeno zvýšené množství mědi a zinku v amyloidních placích, přičemž nárůst mohl být asociován se závažností AD, a obecně zvýšené množství železa v kortexu, které ale nebylo vázáno specificky na plaky (Bourassa et al., 2013). Jedním z mála netransgenních potkaních modelů AD, zahrnujících působení železnatých iontů a další prooxidativní substance na rozvoj AD, je **Samaritan ratTM**, kterého představuje tato kapitola (viz dále) a který doplňuje tuto dizertační práci.

Z lehkých kovů je velká pozornost věnována iontům hliníku (Al $^{3+}$), který je všudypřítomný (v jídle, pitné vodě, kosmetice, antiperspirantech, ve vakcínách jako adjuvant k podpoře aktivace imunitního systému, v lécích, v hliníkovém nádobí), a organismus je mu proto vystaven ve velké míře (Bondy, 2016; Gupta et al., 2005). Chronická expozice hliníku je spojována s vyšším rizikem rozvoje AD (Wang et al., 2016), ačkoli lze nalézt i argumenty hovořící proti této hypotéze (Gupta et al., 2005). Do těla je vstřebáván zejména gastrointestinálním traktem, i když u zdravého jedince jen ve velmi malém množství (Bondy, 2016). Když už se však dostane do krevního oběhu, je schopen prostupovat přes hematoencefalickou bariéru do centrální nervové soustavy (Bondy, 2016; Walton, 2009; Wang et al., 2014). Na rozdíl od výše zmíněných endogenních biokovů nezastává v organismu žádné známé fyziologické funkce (Maya et al., 2016), ačkoliv je v centrální nervové soustavě schopen negativně ovlivnit řadu důležitých reakcí (Maya et al., 2016). Hliníkové nanopartikelky se ovšem mohou do mozku dostat i vdechováním přes nosní sliznici a olfaktorický bulbus a ovlivňovat genovou a

proteinovou expresi (Kwon et al., 2013). U citlivého jedince se ho může do mozku dostat mnohem větší množství a vést až k rozvoji encefalopatie (Bondy, 2016). Ionty hliníku bývají spojovány zejména se zprostředkovaným oxidativním poškozením (potencuje prooxidativní vlastnosti železnatých iontů) (Bondy, 2016; Gupta et al., 2005; Maya et al., 2016) a je také imunomodulátorem podporujícím zánětlivé procesy i bez přítomnosti infekčního agens (Bondy, 2016; Maya et al., 2016).

Hypotéza působení hliníku na rozvoj AD se víceméně zaměřuje na sporadickou formu. Avšak badatelé Mirza s kolegy našli vysoký obsah hliníku v mozkové kůře pacientů s familiální formou AD (Mirza et al., 2017), kde je příčina onemocnění genetického původu. To by mohlo znamenat, že přítomnost hliníku není primární příčinou AD, ale spíše důsledkem jiných zdravotních komplikací, jako je například větší propustnost pro hlinité ionty v gastrointestinálním traktu. Další studie také naznačuje, že hliník nemusí být nutně hlavní příčinou rozvoje AD, ale může přispívat k jeho urychlení spíše než prohloubení závažnosti. Transgenní myši exprimující mutovaný lidský APP, krmené potravou obohacenou hliníkem, totiž vykazovaly vyšší obsah A β v kortexu a hipokampu, rychlejší tvorbu amyloidních plaků a zvýšený oxidativní stres oproti transgenním myším bez potravy bohaté na hliník; vyšší příjem hliníku v potravě ovšem sám o sobě neměl vliv na rozvoj AD patologie u kontrolních myší (Praticò et al., 2002). Tomu však neodpovídá zjištění, že potkani, kterým byl hliník injikován systematicky (intraperitoneálně) po dobu dvou měsíců, měli zvýšený obsah A β 1-42 a APP v hipokampu i mozkové kůře, a zároveň projevovali kognitivní deficit v Morrisově vodním bludišti (Wang et al., 2014). Rovněž netransgenní zestárlí potkani, kteří chronicky požívali zvýšené množství hliníku a vykazovali zhoršenou pracovní paměť v bludišti tvaru T (Walton, 2009), měli ve srovnání s kognitivně intaktními jedinci vyšší genovou expresi APP v hipokampu a kortexu, také více denzní depozity APP v neuronech a zbytnělé a varikózní axony (Walton & Wang, 2009), a hliník u nich indukoval tvorbu hyperfosforylovaného proteinu tau a oxidativní poškození (Walton, 2007). Z literatury je patrné, že otázka role hliníku v rozvoji AD je stále nedořešená a vyžaduje další studium.

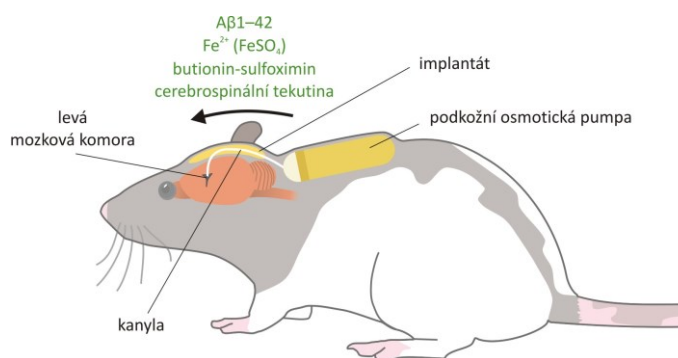
Diskutovány jsou také těžké kovy (olovo, rtuť, kadmium) a polokovy (arsen), jejichž souvislost s rozvojem AD je ještě méně jasná. Některá zjištění ovšem nasvědčují tomu, že jistou roli v rozvoji AD hrát mohou, a to i při působení v prenatální nebo postnatální vývojové periodě s latentním projevem ve vyšším věku (Chin-Chan et al., 2015). Například badatelé Basha a kolektiv ve své studii popisují, že podávání olovnatých iontů potkanům prvních dvacet dní po narození vedlo ke zvýšenému množství mRNA i proteinu APP a A β ve stáří (Basha et al., 2005). Jiná studie ukazuje zhoršené učení a paměť v Morrisově vodním bludišti a také zvýšenou expresi nejen A β , ale i fosforylovaného proteinu tau v kortexu a hipokampu a zánětlivých cytokinů u myší prenatálně a poté i postnatálně vystavených olovnatým iontům (Liu et al., 2014, Li et al., 2010; Li et al., 2014). Kognitivní deficit v Morrisově vodním bludišti, zvýšená produkce A β a větší počet i velikost amyloidních shluků v hipokampu a kortexu byly pozorovány u transgenních myší po podání iontů kadmia (Li et al., 2012). Podávání arsenidu sodného březím a kojícím samicím myší také u potomků způsobilo narušení prostorové paměti v testu rozpoznání přemístěného objektu, a navíc změněnou

expresi NMDA podjednotek v hipokampu (Ramos-Chávez et al., 2015). Požívání směsi iontů olova, kadmia a arzenu březími samicemi potkanů, a poté i potomky, vyústilo u mladých zvířat rovněž v poškození pracovní paměti měřené v bludišti tvaru Y, a také v nárůstu APP a A β v hipokampu a frontálním kortexu, který byl navíc závislý na požití dávce, přičemž jako nejvíce problémový se z uvedených kovů jeví olovo; zvýšené byly také zánětlivé cytokiny (Ashok et al., 2015). Z behaviorálního hlediska však u těchto animálních modelů chybí detailní prozkoumání nekognitivních domén chování, které bývají postižené u pacientů s AD, kromě toho byla většina studií prováděna pouze na velmi mladých zvířatech bez jejich bližšího prozkoumání ve starším věku.

Souvislost mezi působením kovů ve velmi časných fázích vývoje života na jedné straně a plíživým rozvojem AD ve velmi pokročilém věku na straně druhé je při zkoumání příčiny tohoto onemocnění velmi obtížně podchytitelná. Navíc existují i studie, které důležitost kovových iontů v rozvoji AD nepotvrzují (Bondy, 2016; Chin-Chan et al., 2015; Zatta et al., 2009), a jejich úloha je tedy kontroverzní, zanechávající mnoho nezodpovězených otázek. Je totiž také možné, že hromadění kovových iontů v mozku není ve skutečnosti *příčinou* rozvoje AD, ale buď *důsledkem* narušené hematoencefalické bariéry či jiných systémů (např. gastrointestinální systém nebo vylučovací systém), nebo jen *doprovodných jevů* jiných procesů, který k rozvoji AD „pouze“ přispívá. Není pochyb, že kovy si z hlediska tohoto tématu zaslouží další zkoumání.

Potkan Samaritan: netransgenetický model sporadické formy AD

Netransgenetický model AD představuje potkan s patentovaným komerčním názvem **Samaritan ratTM** (zkráceně **Samaritan**), který je chronicky vystaven působení toxické formy A β , připomínající AD patologii, a dvěma prooxidativními substancemi jakožto zástupcům vnějších faktorů (Lecanu et al., 2006). Potkan kmene Long-Evans má v podkoží na zádech implantovanou osmotickou pumpu, která je spojena s permanentní kanylou zavedenou do levé mozkové komory (**Obr. 9**). Intracerebroventrikulární infuze peptidu A β 1-42, železnatých iontů a butionin-sulfoximinu¹, rozpuštěných v umělé cerebrospinální tekutině, je zvířatům podávána z osmotické pumpy po dobu 28 dní. Kontrolním potkanům je rovněž voperována osmotická pampa s kanylou (*sham*), avšak aplikováno je pouze



Obr. 9. Potkan Samaritan. Na zádech má pod kůží voperovanou osmotickou pumpu, která je kanylou, ukotvenou v implantátu, propojena s mozkiem. Do levé mozkové komory proudí A β 1-42 a dvě prooxidativní substance – železnaté ionty a butionin-sulfoximin – rozpuštěné v umělé cerebrospinální tekutině.

¹ A β 1-42 = amyloidogenní peptid; železnaté ionty (FeSO₄, Fe²⁺) = pro-oxidativní kation, podporuje tvorbu neuritických plaků; butionin-sulfoximin = inhibitor syntézy antioxidantu glutathionu (Lecanu et al., 2006)

vehikulum (cerebrospinální tekutina) bez aktivních substancí (Lecanu et al., 2006).

Lecanu a kolegové ve své studii popisují, že pouze společné působení všech tří uvedených substancí vedlo u potkanů k rozvoji patologie připomínající AD. V mozku potkanů Samaritan se ve velkém množství ukládal A β , v některých oblastech (např. CA1 hipokampu) dokonce tyto akumulace vykazovaly charakter amyloidních plaků, v temporálním kortexu se vyskytly i vaskulární amyloidní depozity. To bylo doprovázeno narušením retence paměťové stopy měřené v Morrisově vodním bludišti. A β 1-42 podaný samostatně či v kombinaci pouze se železnatými ionty nezpůsobil amyloidní patologii ani signifikantní deficit kognice (Lecanu et al., 2006). Stejně tak pouze trojkombinace substancí vedla k oxidativnímu poškození (A β 1-42 tedy sám o sobě není schopen vyvolat oxidativní stres v jinak zdravém mozku), aktivaci astrocytů a mikroglíí (pozorovaných zejména v sousedství neuritických plaků), hyperfosforylaci proteinu tau, dokonce i tvorbě neurofibrilárních klubek (detekovány v CA1 oblasti hipokampu a pyramidálních neuronech kortexu), a ke smrti neuronů v hipokampu i temporálním kortexu (Lecanu et al., 2006). V našem experimentu jsme se věnovali detailnější charakterizaci kognitivních schopností a paměti u tohoto modelu, s cílem zjistit rozsah poškození v úlohách Morrisovo vodní bludiště a kolotočové bludiště (s fází přeučení).

1.3. Schizofrenie a poruchy autistického spektra a jejich modelování u potkana

1.3.1. Schizofrenie a poruchy autistického spektra: dříve a dnes

Schizofrenie i poruchy autistického spektra (*autistic spectrum disorders*, ASD) jsou neurovývojová onemocnění chronického charakteru (Lewis & Levitt, 2002; Pina-Camacho et al., 2016). Dnes jsou rozpoznávány jako odlišné mentální poruchy, ale až do 70. let 20. století tvořil autismus podskupinu schizofrenie. Během historie prošly klasifikace i diagnostická kritéria velkými změnami a na přelomu 70. a 80. let došlo k rozdělení těchto dvou onemocnění nejdříve v evropských (1978), a poté i amerických (1980) diagnostických klasifikačních systémech (Pina-Camacho et al., 2016). Termín „poruchy autistického spektra (*autism spectrum disorders*)“ vytvořila doktorka Doris A. Allen v roce 1988 (Allen, 1988) a dnes zahrnuje kategorie dříve nazvané autistická porucha (*autistic disorder*), Aspergerova porucha (též Aspergerův syndrom, *Asperger's disorder*) a jinak nespecifikovaná pervazivní vývojová porucha (*pervasive developmental disorder – not otherwise specified*) (McPartland et al., 2016). Diagnostická kritéria se pro ASD rozšířila a schizofrenie byla přidána do skupiny neurovývojových poruch. Ovšem později se ukázalo, že se některé znaky obou onemocnění překrývají a opět vzplanuly diskuze o hranicích mezi těmito dvěma onemocněními (Pina-Camacho et al., 2016).

1.3.2. Prevalence

McGrath s kolegy ve svém přehledu uvádí, že prevalence schizofrenie činí až 0,72 % (asi 7 jedinců z 1000 lidí) (McGrath et al., 2008), ale v literatuře se můžeme setkat i s vyšším odhadem kolem 1 % (Javitt, 2010).

ASD je komplexní a extrémně heterogenní multifaktoriální neurovývojová porucha zahrnující různé podtypy (Masi et al., 2017; McPartland et al., 2016). Z tohoto a z historického důvodu popsaného výše je obtížné určit přesnější prevalenci. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO, *World Health Organization*) je přibližná prevalence 0,62 % (asi 1 ze 160 dětí), ale jak sama přiznává, údaje se napříč studiemi velmi liší, a navíc tato informace z mnoha zemí s nízkým příjmem není vůbec známa (Elsabbagh et al., 2012; World Health Organization, 2019).

1.3.3. Poruchy kognice a další příznaky schizofrenie

Schizofrenie se projevuje svými typickými i méně specifickými symptomy, které můžeme podle charakteru rozdělit do tří kategorií (Javitt, 2010):

- a) *pozitivní* – projevy, které se u zdravého člověka nevyskytují: halucinace (sluchové, zrakové ad.) a bludy, paranoia, abnormální motorika, anxieta (úzkost) apod. (American Psychiatric Association, 2013; Andreasen, 1995; Javitt, 2010)

- b) *negativní* – normální reakce, pocity a vjemy jsou sníženy nebo chybějí: emoční oploštění či jinak narušené emocionální reakce, anhedonie (neschopnost prožívat radost), sociální stažení, narušená řeč, apatie, redukce spontánního chování apod. (American Psychiatric Association, 2013; Andreasen, 1995; Javitt, 2010)
- c) *kognitivní* – vyskytují se v podstatě u všech pacientů, někdy jsou přehlíženy: zhoršené kognitivní a exekutivní funkce (nelogické asociace, rozhodování, rozlišování kontextů atd.), narušená prostorová orientace, dezorganizované či neobvyklé myšlení a chování, poruchy učení a paměti, zhoršená pozornost a zpracování informací, intelektuální nedostatečnost apod. (Andreasen, 1995; Barch et al., 2001; Javitt, 2010; Lazar, 2011).

Kromě tohoto tradičního rozdělení se u pacientů se schizofrenní poruchou objevuje ještě jeden fenomén, a to narušené vnímání sebe sama a obecného uvědomování si svého „já“. S tím souvisí i poškozené přepínání mezi dvěma neuronálními sítěmi v mozku zajišťujícími jiné funkce: „sítí implicitního režimu“ (*default mode network*, zahrnuje zejména mediální prefrontální kortex a posteriorní cingulární kortex), jejíž aktivita bývá potlačena při řešení kognitivních úloh a naopak se aktivuje během odpočinku, nebo když se zabýváme svým vnitřním stavem, a „centrální výkonnou síť“ (*central executive network*, zahrnuje především dorsolaterální prefrontální kortex a posteriorní parietální kortex), jež se zapojuje při potřebě pozornosti k vnějším stimulům během řešení náročných kognitivních úloh. Za přepínání mezi těmito dvěma sítěmi je zodpovědná „sítí významnosti“ (*salience network*, zahrnuje hlavně anteriorní insulu a anteriorní cingulární kortex), která za normálních okolností deaktivuje síť implicitního režimu při působení významného vnějšího stimulu a potřebě funkční kognice a aktivuje centrální výkonnou síť, a zase naopak při působení interoceptivních signálů. U pacientů se schizofrenií zřejmě dochází k diskordinaci tohoto modelu trojitě mozkové sítě (*triple brain network model*) (Nekovarova et al., 2014).

Mimo viditelných behaviorálních symptomů bývají u pacientů trpících schizofrenií popisovány také morfologické a funkční změny v mozku. Dochází obecně k redukci mozkové tkáně a degeneraci, minimálně před vypuknutím choroby; zda dochází k další neurodegeneraci i v průběhu nemoci, není úplně vyjasněno (Rund, 2009). Typicky bývají u pacientů pozorovány zvětšené mozkové komory (Rimol et al., 2010) a redukce objemu hipokampu (Heckers, 2001; Rimol et al., 2010), včetně jeho funkčního propojení s jinými oblastmi mozku souvisejícími s epizodickou pamětí (Zhou et al., 2008). Také nalezené abnormality v excitačních glutamátových NMDA receptorech nebo asociovaných proteinech v různých částech mozku (Bubeníková-Valešová et al., 2008), nebo snížení či zvýšení exprese některých jejich podjednotek v hipokampu či okolních regiorech může přispívat k funkční nedostatečnosti těchto receptorů a celých mozkových regionů (Gao et al., 2000). Pacienti mívají též ztenčenou mozkovou kůru (Rimol et al., 2010), a podobně jako u hipokampu, také prefrontální kortex jeví známky úbytku šedé i bílé hmoty (Buchanan et al., 1998) a hypofrontalitu (funkční poškození prefrontálního kortexu), která úzce souvisí s již zmíněnými deficity kognitivních a exekutivních funkcí. Jednou z příčin by mohlo být například nižší množství některých synaptických proteinů (např. SNAP-25 nebo synaptofyzin), které ovlivňují vezikulární transport a výlev

neurotransmitterů (Karson et al., 1999). K nejpostiženějším neuropřenašečovým systémům zřejmě patří glutamátový a dopaminový (Javitt, 2010; Kessler et al., 2009), podporující glutamátergní a dopaminergní hypotézu schizofrenie. Funkční magnetická rezonance také ukázala nižší aktivaci a propojení některých oblastí mozku při audiovizuální percepci řeči (Szycik et al., 2013).

Současné studie také navrhují hypotézu, že jedním z možných mechanismů abnormálního myšlení, psychózy a kognitivního poškození by mohly být změny v rámci parvalbumin-pozitivních (PV+) interneuronů (Gonzalez-Burgos et al., 2015; Stedehouder & Kushner, 2017). PV+ interneurony jsou myelinizované rychle pálicí GABAergní buňky s inhibiční funkcí, které regulují synaptickou transmissi a aktivitu neuronálních sítí mezi různými oblastmi mozku. Hrají zásadní roli v komunikaci mezi pyramidálními buňkami a v synchronizaci neuronálních sítí prostřednictvím oscilací ve frekvenčním rozmezí gama (Fries, 2009; Murray et al., 2015; Packer & Yuste, 2011; Stedehouder et al., 2017), což se jeví jako narušené u pacientů se schizofrenií (Gonzalez-Burgos et al., 2010; Lewis et al., 2012). Změny v hustotě PV+ interneuronů nebo jejich zhoršené fungování může mít fatální dopad na správnou interneuronální signalizaci a rovnováhu excitace a inhibice, vedoucí k narušené koordinaci neuronálních sítí. U pacientů s diagnózou schizofrenie bylo prokázáno narušení transmise prostřednictvím GABA (Frankle et al., 2015), redukce glutamátové dekarboxylázy GAD67 (neuronální enzym katalyzující syntézu GABA) vyskytující se v interneuronech (Curley et al., 2011), zhoršené kortikální oscilace gama a změny v synchronizaci neuronálních sítí (Gonzalez-Burgos et al., 2010; Lewis et al., 2012) i snížené hladiny proteinu parvalbuminu v kortikálních PV+ interneuronech (Glausier et al., 2014). Kromě toho se předpokládá, že by mohla být narušena specificky i myelinizace PV+ interneuronů (Stedehouder & Kushner, 2017). Také genetické manipulace u myších modelů naznačují možné spojení mezi PV+ interneurony a fenotypem připomínajícím schizofrenii (Nakamura et al., 2015; Nguyen et al., 2014).

1.3.4. Typy schizofrenie

Někdy se schizofrenie rozděluje na několik typů podle převažujícího okruhu symptomů (např. paranoidní, hebefrenní, katatonní, simplexní aj.) (Rauchensteiner et al., 2011), ovšem otázkou zůstává, jestli je toto dělení přínosné ve smyslu diagnostiky a následné léčby a péče, a nejde tedy již o přežitek.

Podle věku, ve kterém se objevují první příznaky, se v současné době rozpoznávají kromě klasické schizofrenie s nástupem u mladých dospělých (Lewis & Levitt, 2002) také další typy schizofrenie: schizofrenie s časným nástupem (objevuje se u adolescentů poprvé mezi 13 a 18 lety života) a schizofrenie s velmi časným nástupem (těž dětská schizofrenie, začíná již před 13. věkem života jedince) (Kodish & McClellan, 2016).

1.3.5. Symptomatologie poruch autistického spektra

Hlavní příznaky ASD, tedy autismu v širším slova smyslu, lze rozdělit do dvou velkých okruhů:

- a) *sociální a komunikační deficit*, kam lze zahrnout např. perzistentní narušení sociálního chování a vztahů, problémy s pochopením různých společenských situací, omezené sdílení zájmů a emocí s ostatními, potíže s porozuměním řeči těla a výrazům obličeje, vyhýbání se očnímu kontaktu, chudá verbální a nonverbální komunikace, zhoršená schopnost se vyjadřovat apod.
- b) *repetitivní chování*, tedy omezující a repetitivně ritualizované vzorce chování a často extrémní prožívání stresu při jejich porušení, rigidní myšlenkové vzorce a kognitivní neflexibilita, a dále hypo- nebo hyperreaktivita na senzorní vstupy, často úzce zaměřené zájmy, kterým se dotyčný intenzivně věnuje apod.

To vše je navíc často doprovázené komorbiditami jako jsou intelektuální nedostatečnost, deficit pozornosti, anxieta, deprese, epilepsie a další zdravotní obtíže (American Psychiatric Association, 2013; Masi et al., 2017; McPartland et al., 2016).

Co se týče změn na úrovni mozku, situace u pacientů s ASD je méně jasná než u schizofrenie, i když některé rozdíly oproti zdravým jedincům jsou v literatuře popsány. U dětí s ASD se objevuje zvětšené cerebellum (mozeček), amygdala či hipokampus a celková makrocephalie (zvětšený objem mozku) (Amaral et al., 2008; Courchesne et al., 2001, 2003; Dementieva et al., 2005; Schumann et al., 2004), a to bílé i šedé hmoty (Courchesne et al., 2001), ačkoli jen v časně vývojové periodě (Amaral et al., 2008; Courchesne et al., 2001, 2003; Dawson et al., 2007). U ASD se objevují též změny v tloušťce kortexu, popsáno bylo ztenčení, ale i ztlustění (Hadjikhani et al., 2006; Hardan et al., 2006). Rovněž abnormality v rámci mozečku (např. nižší počet Purkyňových buněk a jejich menší velikost, snížená exprese enzymů GAD65 a GAD67 ad.) představují významnou patofyziologii ASD (DeLong, 2005). Z neurotransmitterových systémů bývá s ASD dáván nejvíce do souvislosti serotonergní systém, kde byly popsány změny v hladinách serotoninu periferně (hyperserotonémie) i centrálně (Cook & Leventhal, 1996; Muller et al., 2016). Je však na místě podotknout, že tyto histopatologické a neuroanatomické změny zdaleka nejsou univerzální, naopak se často liší mezi jednotlivými pacienty, nebo skupinami pacientů, a měli bychom na tyto změny pohlížet spíše z hlediska konkrétních symptomů než obecně ASD jako celku.

Jedna z předních hypotéz abnormálního rozvoje mozku u ASD tvrdí, že je u pacientů v dětském věku narušený synaptický *pruning*, tj. snížené prořezávání synapsí vedoucí k nadměrnému počtu synaptických trnů (Penzes et al., 2011). U pacientů trpících ASD byl rovněž pozorován pokles denzity PV+ interneuronů v prefrontálním kortexu (Hashemi et al., 2017) a naopak zvýšení jejich denzity v hipokampu (Lawrence et al., 2010), a podobně jako u schizofrenie, studie s geneticky upravenými myši (např. knockout, tedy vyřazení podjednotky R1 NMDA receptorů specificky

v PV+ interneuronech, nebo ablace parvalbuminu) ukázaly spojitost PV+ interneuronů s fenotypem podobným ASD (Saunders et al., 2013; Wöhr et al., 2015).

Z literatury se zdá, že u pacientů s ASD jsou pozorované abnormality v mozku dynamické a dramaticky se mění (často mizí) s věkem jedince. V některých uvedených změnách panují jisté rozpory mezi studii, což ovšem může být zapříčiněno již zmíněným věkem subjektů, nebo též velkou heterogenitou mezi různými typy ASD, na kterých byla ta která studie provedena.

1.3.6. Rozdělení poruch autistického spektra

Podle Americké psychiatrické asociace dnešní pojem ASD zahrnuje tyto formy autistické poruchy: infantilní autismus (*infantile autism*), dětský autismus (*childhood autism*), Kannerův syndrom (*Kanner's autism*), vysoce funkční autismus (*high-functioning autism*), atypický autismus (*atypical autism*), pervazivní vývojová porucha jinak nespecifikovaná (*pervasive developmental disorder not otherwise specified*), dětská disintegrační porucha (*childhood disintegrative disorder*), Aspergerův syndrom (*Asperger's disorder*) (American Psychiatric Association, 2013). Kromě tohoto rozdělení jsou však ASD chápány jako kontinuum s ohledem na míru poškození, od mírného až po velmi těžké (Ošlejšková, 2008).

Typicky se ASD diagnostikuje již u velmi malých dětí, tj. do 3 let života, kdy se projevují první příznaky (Ošlejšková, 2008; Zwaigenbaum et al., 2005). Především tím se odlišuje od schizofrenie, zejména dětské schizofrenie, která se objevuje vždy až po určité periodě normálního nebo téměř normálního vývoje (American Psychiatric Association, 2013); kromě toho má ASD víceméně stacionární průběh, zatímco schizofrenie je charakteristická svými ataky a dynamičností. Přesto toto rozlišení není stoprocentní, například atypický autismus bývá diagnostikován až po 3. roce života, diagnóza Aspergerova syndromu se vzhledem k jeho charakteru provádí až v 6 letech a dětská disintegrační porucha se může vzácně objevit dokonce až před 10. rokem života (Ošlejšková, 2008).

Maestro a kolegové rozdělili ASD podle časnosti prvních projevů do tří typů: ASD s velmi časným nástupem (atypické chování se objevuje během prvního půl roku života), ASD s časným nástupem (první symptomy vyvstávají v druhém půl roku života) a ASD s pozdním nástupem (děti jsou během prvního roku života asymptomatické a projevy ASD začínají až v druhém roce) (Maestro et al., 2005).

Kromě primárního autismu se často objevuje také autismus sekundární (syndromový), tedy přidružený k jiné chorobě s definovanou etiologií. Takovými chorobami mohou být například genetické poruchy jako je tuberózní skleróza, syndrom fragilního chromozomu X, Rettův syndrom, Downův syndrom, Angelmanův syndrom, Turnerův syndrom (Caglayan, 2010; García-Nonell et al., 2008; Jeste et al., 2008), či jiného typu, např. autoimunitní lymfoproliferativní syndrom (Shenoy et al., 2000). Pro účely této dizertační práce však není nutné se jednotlivými typy ASD zabývat detailněji. ASD představuje značně rozrůzněné spektrum nepříliš jasně definovaných podtypů, jejichž

klasifikace se navíc v čase mění, což nepomáhá přehlednosti a komplikuje diagnostiku a získání statisticky relevantních údajů.

1.3.7. Pohlavní rozdíly u schizofrenie a poruch autistického spektra

Literatura naznačuje, že obě onemocnění vykazují jisté rozdíly v závislosti na pohlaví, a to na různých úrovních jako je incidence, věk propuknutí, závažnost a typ symptomů ad., ačkoliv ne všechny práce tyto rozdíly dokazují, a téma tak stále zůstává do jisté míry kontroverzní (více viz v přehledových článcích Ochoa et al., 2012, pro schizofrenii, a McPartland et al., 2016, a Werling & Geschwind, 2013, pro ASD).

Incidence. Zdá se, že obě onemocnění se vyskytují častěji v mužské populaci. U **schizofrenie** se uvádí mírně vyšší incidence u mužů oproti ženám, asi 1,4 : 1 (McGrath et al., 2008; Ochoa et al., 2012), i když získání přesných statistických údajů komplikuje především nejasná či odlišná volba kritérií pro diagnózu schizofrenie v rámci různých studií. V případě **ASD** je komplikací velká variabilita v rámci spektra a mezi jednotlivými typy, nicméně poměr incidence chlapci vs. dívky se ustálil přibližně na poměru 4 : 1, i když některé práce uvádějí dokonce až 5 : 1 (McPartland et al., 2016; Ošlejšková, 2008; Werling & Geschwind, 2013). Muži také dominují ve vysoce funkčním autismu (Werling & Geschwind, 2013).

Věk. V případě klasické **schizofrenie** s prvními projevy příznaků v časně dospělosti se u mužů objevuje dříve (obvykle mezi 18–25 lety), zatímco u žen bývá nástup pozdější (mezi 25–35 lety), a navíc má druhý vrchol po 45. roce života (Castle et al., 1995; Ochoa et al., 2012). Vzhledem k nízkému věku diagnózy **ASD** se nepopisují rozdíly mezi pohlavími ve věku propuknutí choroby.

Symptomy a komorbidity. Rozdíly mezi pohlavími jsou u obou onemocnění patrné jak v závažnosti symptomů, tak v jejich konkrétních projevech, ačkoli často je těžké porovnat výsledky různých studií mezi sebou z důvodu nejednotné a neustálené nomenklatury. Nicméně Ochoa a kolektiv ve svém přehledovém článku shrnují, že v rámci **schizofrenie** trpí muži více negativními symptomy a dezorganizací myšlení, zatímco u žen se častěji objevují afektivní příznaky, deprese, anxieta, ale i neurčitě bizarní chování. Vyšší procento žen je diagnostikováno paranoidní schizofrenií. Muži mívají větší problémy fungovat ve společnosti. Rozdíly ve zhoršení kognitivních funkcí jsou nejasné a kontroverzní, přesto lze nějaké difference vysledovat: ženy trpící schizofrenií mají zřejmě závažnější kognitivní poškození než muži, nicméně převyšují nemocné muže specificky ve verbálním učení a paměti; muži se schizofrenií jsou oproti tomu zhoršení v pozornosti či exekutivních funkcích (Ochoa et al., 2012).

Ženy diagnostikované některým z typů **ASD** bývají obecně postiženy vážněji (emocionální problémy, větší projevy narušené sociální komunikace a jazykových schopností, více zhoršená kognice, horší adaptivní chování) a mají vyšší tendenci trpět intelektuální nedostatečností. Mají také více komorbidit jako jsou problémy se spánkem, s pozorností, narušené myšlení, sensorické obtíže nebo poruchy motoriky, a více tíhnout k sebepoškozování. Na druhou stranu se u nich tolik

neprojevuje repetitivní chování a mají méně mezilidských konfliktů (Mandy et al., 2012; Masi et al., 2017; McPartland et al., 2016). U mužů se symptomy více projevují navenek (agresivní chování, hyperaktivita, redukované prosociální chování, vyšší míra repetitivního chování, specifické zájmy), zatímco u žen jsou příznaky více orientované do vnitřního světa (emocionální symptomy, deprese, anxieta) (Mandy et al., 2012; Werling & Geschwind, 2013). Mandy et al. (2012) však prokázala stejnou míru narušení sociálního chování a komunikačních dovedností u obou pohlaví (Mandy et al., 2012).

Ostatní projevy. Ukazuje se, že ženy jsou odolnější ke stresovým situacím a **schizofrenie** se u nich projevuje až po vystavení většímu množství těchto událostí než u mužů. Ženy také mají oproti mužům rychlejší nástup remise s kratší hospitalizací, nižší pravděpodobnost relapsu a lépe odpovídají na léčbu typickými antipsychotiky. U mužů je diagnóza schizofrenie dávana častěji do souvislosti s vyšší konzumací návykových látek (např. alkohol, konopí, kokain, halucinogeny). Rovněž jsou mezi oběma pohlavími pozorovány odlišné vedlejší metabolické efekty antipsychotik (Ochoa et al., 2012). Překvapivé zjištění učinili Coffman a kolegové, kteří v rámci měření elektroencefalografie (EEG) u dětí s diagnózou **ASD** našli u dívek, nikoli však u chlapců, atypickou neurální odpověď mozku na sociální stimuly (obrázky obličejů), která navíc korelovala se závažností symptomů. Tento náález naznačuje, že u chlapců a dívek s ASD dochází k odlišnému zpracování sociální informace, a to i přes jinak stejné projevy společenských a komunikačních dovedností (Coffman et al., 2015). Zajímavým poznatkem je rovněž výskyt zvýšené hladiny cytokinů i jiných zánětlivých molekul v krevním séru především u mužů s Aspergerovým syndromem (Schwarz et al., 2011).

1.3.8. Komplikace při diagnostice

Rozlišit od sebe schizofrenii a poruchu autistického spektra je často velice náročné, obzvláště nejedná-li se o typickou formu jedné či druhé poruchy. Diagnózu komplikuje nejen fakt, že obě onemocnění mohou mít částečně podobný průběh, ale také jejich historie, časté aktualizace a změny v klasifikaci a uváděné symptomatologii, stále nedořešená přesná definice a obrovská rozmanitost příznaků mezi pacienty. S tím úzce souvisí i problém při získávání statistických dat v rámci populace a jejich porovnávání s minulými dekadami.

Ačkoliv deficit sociálního chování je typický pro ASD, zatímco psychóza a pozitivní symptomy jsou charakteristickými znaky schizofrenie, které chybí u pacientů s typickou ASD, symptomatologie obou těchto onemocnění se v praxi často překrývá a některé třídy symptomů sdílejí. Takovými symptomy jsou např. kognitivní deficity, zhoršená sociální interakce a komunikace, narušená sociální kognice, neobvyklé myšlení, narušené emocionální stavy, anxieta nebo abnormální behaviorální odpovědi na stresující situace či náročná adaptace na novou situaci (Abdi & Sharma, 2004; Pina-Camacho et al., 2016; Tordjman et al., 2007). Kromě toho se diagnostická kritéria během let měnila a revize klasifikace způsobily rozšíření definice a redukci specifity ASD (Masi et al., 2017). Dětská schizofrenie a schizofrenní autismus jsou vzácně diagnostikované poruchy dokládající jistý

překryv mezi ASD a schizofrenií. Jejich diagnóza a diferenciacie schizofrenie od ASD je extrémně náročná, někdy chybná, a také v nezanedbatelném množství případů se schizofrenie a ASD vyskytují současně (Parnas et al., 2002; Pina-Camacho et al., 2016). Navíc existují děti s diagnózou ASD, které prošly fází regrese, což znamená, že po periodě normálního vývoje řeči a komunikace následuje jisté období stagnace a zhoršení oproti zdravým dětem, a na rozdíl od pozvolného nástupu u většiny případů je regres poměrně náhlou záležitostí (Ošlejšková, 2008). To může být do určité míry zavádějící a zaměnitelné především s dětskou schizofrenií.

Je také nutné zmínit značnou variabilitu v závažnosti symptomů jak u pacientů s ASD, tak se schizofrenií, od lehkých zhoršení až po závažné deficity postihující všechny aspekty každodenního života (Masi et al., 2017; Reichenberg et al., 2014). Diagnózu dále komplikuje rozdílný projev onemocnění v závislosti na pohlaví. Muži a ženy se výrazně liší v prevalenci ASD i schizofrenie, a projevy určitých symptomů nebo jejich závažnost jsou také závislé na pohlaví, což musí být bráno v potaz jak v základním výzkumu, tak diagnostice a následné terapii (McPartland et al., 2016; Ochoa et al., 2012). Přesto většina studií zaměřených na mechanismy a nová terapeutika u animálních modelů používají pouze samčí subjekty a tyto pohlavní rozdíly ignorují. A v neposlední řadě komplikují diagnózu socio-kulturní rozdíly. Například mnoho asijských kultur chápe přímý oční kontakt s autoritami jako známku neúcty, a proto by snížený oční kontakt neměl být považován za dobré diagnostické kritérium u lidí s tímto kulturním pozadím (Bernier et al., 2010). V Indii se věří, že u chlapců se vyvíjejí jazykové dovednosti později než u dívek, což zase omezuje použití kritérií založených na řeči při diagnostice ASD (Daley & Sigman, 2002).

1.3.9. Léčba schizofrenie a poruch autistického spektra

Současná medikace, obvykle založená na agonismu/antagonismu neurotransmiterových systémů, je u pacientů se schizofrenií jen částečně nebo absolutně neefektivní, nebo v případě ASD vůbec neexistuje. Navíc pacienti často trpí závažnými vedlejšími účinky těchto léků, které neléčí podstatu onemocnění, pouze zmírňují symptomy a komorbidity (Jobski et al., 2017; Leucht et al., 2009, 2017).

U pacientů trpících **schizofrenií** jsou první volbou antipsychotika, která bývají efektivní proti pozitivním symptomům; bohužel negativní a depresivní symptomy obecně méně odpovídají na léčbu (Leucht et al., 2009, 2017). Dokonce se ukázalo, že v některých případech nejsou o nic efektivnější než placebo (Agid et al., 2013; Leucht et al., 2009, 2017). Kromě toho je zde často nutná individualizovaná terapie, která je ovšem velmi náročná na titraci množství podaného antipsychotika (příliš mnoho, ale i příliš málo nemá efekt) a jejich specifickou kombinaci, to vše je navíc zkomplikováno tím, že výsledky léčby se projevují až po delší době užívání.

Pro pacienty s **ASD** nebyla dosud objevena žádná efektivní farmakoterapie, která by léčila jádrové symptomy (Ji & Findling, 2015; Jobski et al., 2017). FDA povolila pouze dvě atypická antipsychotika (risperidon a aripiprazol) pro léčbu přidružených projevů u mladých jedinců, avšak

obě léčiva jsou spjata s častými vedlejšími efekty (Ji & Findling, 2015; Jobski et al., 2017; Masi et al., 2017; Wink et al., 2017). V mnoha případech je vyžadována kombinovaná terapie dvou či více léků, což však zvyšuje riziko nebo závažnost vedlejších účinků (Ji & Findling, 2015; Jobski et al., 2017). Wink a kolegové popisují ve své studii zlepšení symptomů u pacientů těžce postižených ASD bez závažných vedlejších efektů (Wink et al., 2017). Nicméně dlouhodobé užívání dvou nebo více antipsychotik, které bylo v jejich případě nutné, by mohlo významně zatěžovat organismus. Záznamy o případných změnách v kardiovaskulárním systému či metabolických změnách v laboratorních vyšetřeních v této studii chybí. Rozpoznání přínosu medikace je také obtížné z důvodu velké genotypické a fenotypické heterogenity ASD populace a nepřesnou diagnózou (Ji & Findling, 2015).

Hlavním problémem je v obou případech neznalost etiologie onemocnění, znemožňující léčbu příčiny. Tento fakt komplikuje nejen výzkum nových léků či terapeutických přístupů, ale i vývoj nových animálních modelů s lepší konstruktivní, fenomenologickou a prediktivní validitou.

1.3.10. Rizikové faktory rozvoje schizofrenie a poruch autistického spektra a jejich animální modely

Stále probíhá velká diskuze na téma role genetických a environmentálních faktorů v původu onemocnění schizofrenie i ASD. Studie na dvojčatech ukazují, že roli hrají oba typy faktorů, protože heritabilita (dědičnost) u dvojčat je sice vysoká, avšak není stoprocentní, ani u ASD (Hallmayer et al., 2011), ani u schizofrenie (Sullivan et al., 2003). Navíc většinu případů schizofrenie pravděpodobně tvoří sporadické formy (Yang et al., 2010).

Bylo testováno mnoho kandidátních genů a u některých z nich byla nalezena asociace s rozvojem těchto poruch. Asi nejznámějším příkladem genu, který predisponuje jedince k rozvoji **schizofrenie**, je *DISC1* (*Disrupted in Schizophrenia 1*), jehož exprimovaný protein tvoří složku komplexu dyneinového motoru asociovaného s mikrotubuly (Kamiya et al., 2005). Dále jsou to například mikrodelece lokusu 22q11.2 na chromozomu 22 (Costain & Bassett, 2012), gen *DRD2* (*Dopamine receptor D2*) a geny spjaté s glutamátovými receptory či vápníkovými kanály (Kavanagh et al., 2015), nebo geny *NRG1* a *ERBB4* kódující trofické faktory neureguliny a jejich postsynaptické receptory ErbB4, které souvisí s dendritickými trny (Penzes et al., 2011), a mnoho dalších. Naše experimenty s transgenními potkany disponujícími sníženou expresí proteinu Nogo-A, inhibitoru axonální regenerace, provedené v laboratoři Neurofyziologie paměti ve Fyziologickém ústavu Akademie věd ČR, ukázaly také možnou spojitost se schizofrenií (Petrasek et al., 2014a, 2014b).

S **ASD** bývají dávány do souvislosti zejména geny zapojené do vývoje dendritů a dendritických trnů, synapsí a obecně synaptické plasticity. Jedním z příkladů je gen *SHANK3* pro postsynaptický *scaffold*² protein Shank3 exprimovaný převážně v cerebrálním kortexu a mozečku, který je důležitý pro tvorbu, zrání a zvětšování dendritických trnů (Moessner et al., 2007). Shank3

² *Scaffold* proteiny (tzv. lešení) jsou důležité molekuly, které vážou různé členy signálních kaskád za tvorby funkčních celků a komplexů.

k sobě váže postsynaptické adhezivní proteiny neuroliginy, jejichž geny (*NLGN3* a *NLGN4*) lokalizované na chromozomu X jsou rovněž zapojeny v ASD patologii (Jamain et al., 2003), podobně jako gen *NRXN1* pro adhezivní protein neurexin 1, presynaptický ligand pro neuroliginy (Moessner et al., 2007; Penzes et al., 2011). Shank3, neuroliginy a neurexiny spolu vytváří funkční komplex, který je zásadní pro správné dozrávání glutamátergních synapsí (Moessner et al., 2007; Penzes et al., 2011). V posledních letech se v souvislosti s ASD skloňuje též gen *CRMP2* (*Collapsin response mediator protein 2*), jehož exprimovaný intracelulární protein reguluje navádění axonů během vývoje mozku, polarizaci buňky, dendritickou morfogenezi a remodelaci dendritických trnů (Makihara et al., 2016; Ziak et al., 2020).

Zdá se však, že některé genetické rizikové faktory (např. *NRXN1*, *CRMP2*, *DISC1*) nejsou specifické pro jednu nebo druhou poruchu a existuje zde vysoký překryv (Kilpinen et al., 2008; Rapoport et al., 2009; Ziak et al., 2020). Bylo rovněž zjištěno, že výskyt schizofrenie u rodičů nebo sourozenců by mohl být pro dítě rizikovým faktorem pro rozvoj ASD (Sullivan et al., 2012). U sekundárního autismu, který funguje spíše jako komorbidita či přidružený symptom jiné (často právě genetické) poruchy, hrají geny a jejich mutace zásadní roli. Takovými příklady mohou být geny *FMRP* u syndromu fragilního chromozomu X, *MeCP2* u Rettova syndromu nebo *TSC1* a *TSC2* u tuberózní sklerózy (Penzes et al., 2011). Naproti tomu u primárních poruch ASD, u kterých většinou není známá etiologie, jsou zřejmě environmentální faktory a jejich kombinace se susceptibilními geny zásadnější.

Z faktorů vnějšího prostředí jsou za možné rizikové faktory pro rozvoj ASD a schizofrenie považovány prenatální vlivy (např. medikace matky, chronický stres, výživová nedostatečnost, krvácení během těhotenství, diabetes, toxoplazmóza, virální nebo bakteriální infekce), perinatální komplikace (např. zranění nebo trauma při porodu, hypoxie, nízká porodní hmotnost, mnohočetný porod) nebo faktory zasahující v postnatální periodě života (např. neonatální anémie, změna v hladině neonatálního vitamínu D, vývojové trauma, vyrůstání v urbanizované oblasti, život v menšině, užívání drog) (Chaste & Leboyer, 2012; Davies et al., 2020; Lee et al., 2020; Lewis & Levitt, 2002; van Os et al., 2010).

Obě onemocnění, schizofrenie i ASD, jsou velice variabilní ve své manifestaci a multifaktoriální ve svém původu. Některým případům jsou přednostně přisuzovány genetické faktory, avšak většina je způsobena komplexní souhrou genetické predispozice s různými environmentálními vlivy. Existence rozmanitých etiologií částečně vysvětluje také výskyt různých odpovědí na terapii u individuálních pacientů. ASD mohou být těžko vnímány jako jedna nemoc; termín „spektrum“ samo o sobě implikuje široké kontinuum stavů. To samé se dá říci o schizofrenii, ve skutečnosti obě kontinua vykazují jistý překryv. Potřeba individualizované terapie je v klinické praxi evidentní a široce akceptovaná. Ovšem schizofrenie i ASD představují ze své podstaty fundamentální problém pro výzkum, jelikož studie založené na animálních modech i klinické testy závisí na předpokladu jediného, homogenního a dobře definovaného onemocnění, pro které se hledá příčina i léčba. Možná by bylo užitečnější zaměřit se spíše na definované etiologické mechanismy, což

by se sice na jedné straně nevztahovalo na všechny pacienty s konkrétní diagnózou, ale zato na druhé straně by bylo možná relevantní pro různé choroby.

U studií věnovaných animálním modelům se v drtivé většině setkáváme s konkretizací a připodobněním jedné či druhé poruše; modelování pouhých příznaků se v literatuře příliš nevyskytuje. Mezi modely ASD patří například aplikace valproátu laboratorním hlodavcům. Valproát je substance používaná k léčbě epilepsie nebo výkyvů nálad, a vystavení plodu jeho působení *in utero* může představovat riziko poškození jeho vývoje. Aplikace valproátu březím samicím laboratorních hlodavců tedy simuluje stav, kdy těhotná žena tento lék užívá. Potomci takto ovlivněných matek potkanů vykazují behaviorální fenotyp i další znaky podobné ASD a přehledový článek autorů Mabunga a kolektiv popisuje poměrně dobrou validitu tohoto modelu (Mabunga et al., 2015). Dalším příkladem neurovývojových modelů je aplikace metylazoxymetanol acetátu (MAM) – neurotoxinu, který vzniká metabolismem cykasinu vyskytujícího se v semenech cykasů – březím samicím potkanů (Potasiewicz et al., 2019). U jejich potomků se taktéž projevují změny na úrovni sociálního chování a ultrazvukové komunikace, které autoři připodobňují schizofrenii, ačkoliv velmi dobře naplňují též kritérium pro ASD, jež autoři studie překvapivě vůbec nediskutovali.

Jako poslední příklad neurovývojového modelu obou poruch zde představím infekci v těhotenství, jíž se věnuje také tato dizertační práce. Poprvé tuto novou hypotézu zformuloval Sarnoff A. Mednick v roce 1988 (Mednick et al., 1988), který si povšiml nárůstu rizika rozvoje schizofrenie u potomků matek, které byly těhotné v době velké chřipkové epidemie ve Finsku v roce 1957. Tato hypotéza, že prenatální vystavení infekci, nebo přesněji aktivaci imunitního systému matky, predisponuje potomky k rozvoji schizofrenie, byla podpořena dalšími studii (Boksa, 2008; Brown & Patterson, 2011; Davies et al., 2020). Prospektivní studie Lee a kolegů reportovala vyšší riziko rozvoje schizofrenie a příbuzných psychotických poruch v dospělosti u lidí, jejichž matky v těhotenství trpěly bakteriální infekcí (Lee et al., 2020). Pozorování u lidí vedla k vývoji animálních modelů založených na maternální imunitní aktivaci březích samic. Pro aktivaci maternálního imunitního systému u laboratorních hlodavců se používají aplikace buď přímo virových partikulí, nebo častěji jejich RNA analogů *polyinosinic:polycytidylic acid* (polyI:C), nebo bakteriálního endotoxinu lipopolysacharidu (LPS) během kritické periody časného vývoje (Baharnoori et al., 2012; Basta-Kaim et al., 2011a; Fatemi et al., 2008; Meyer, 2014; Nakamura et al., 2021; Patterson, 2011). V pozdějších fázích postnatálního života vykazují ovlivnění potomci změny ve vývoji mozku a chování podobající se patogenezi schizofrenie, ale i ASD (viz přehledový článek Boksa, 2010), což ukazuje na dobrou etiologickou/konstruktivní validitu těchto modelů. Výzkum na zvířecích modelech je však napříč studii zatížený obrovskými rozdíly v designech experimentů, včetně rodu a kmene modelového zvířete, serotypu aplikované substance, způsobu podání, dávkování, načasování injekce ad. Proto jsou k plnému objasnění role tohoto vnějšího faktoru potřeba další systematictější studie.

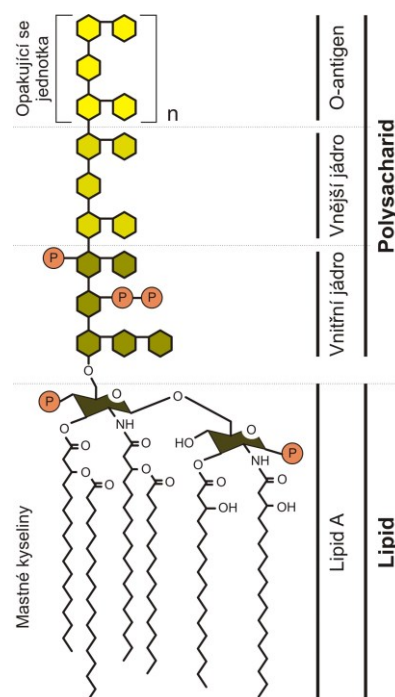
1.3.11. Časná imunitní aktivace u potkana pomocí lipopolysacharidu: modely schizofrenie a ASD

LPS (**Obr. 10**) tvoří hlavní komponentu buněčné stěny gram-negativních bakterií, jako je *Escherichia coli* nebo *Salmonella*, proto jeho periferní podání zvířeti simuluje bakteriální infekci. Tento endotoxin se uvolňuje z bakterií při buněčném dělení nebo lýzi a způsobuje silnou imunitní reakci v rámci organismu, doprovázenou tvorbou prozánětlivých cytokinů, např. interleukinu (IL)-6, IL-1 β nebo *tumor necrosis factor* (TNF)- α , a aktivací mikroglíí v mozku (Henry et al., 2009; Nakamura et al., 1999; Solati et al., 2015; Van Amersfoort et al., 2003). LPS podaný březím samicím potkanů zvýšil hladinu prozánětlivých cytokinů v mozku jejich plodů již po jedné injekci (Cai et al., 2000); vyšší hladiny cytokinů po chronickém prenatálním vystavení LPS mohou zřejmě přetrvávat až do dospělosti (Romero et al., 2010). LPS působí přes receptory

Toll-like receptor 4 (TLR4), narozdíl od polyI:C vázající se na TLR3, což vede ke spuštění různých signálních kaskád (Akira & Takeda, 2004), proto i projevy u zvířat se po jejich podání mohou lišit.

U modelů připravených aplikací LPS v prenatálním či neonatálním období byla popsána řada změn na úrovni mozku i chování. Studie popisují například nárůst aktivovaných mikroglíí v mozku (Pang et al., 2016), změny v hladinách neurotransmiterů (Basta-Kaim et al., 2011a; Lin et al., 2012; Romero et al., 2010) a aktivaci stresové osy hypotalamus-hypofýza-nadledvinky (Lin et al., 2012). Zvýšené hladiny glukokortikoidů mohou přispět k narušenému vývoji mozku (Basta-Kaim et al., 2011b) a přispět k poškození přímo kognitivních funkcí, jakožto důsledek interakcí s dopaminergním systémem. U lidských pacientů trpících schizofrenií byla souvislost glukokortikoidů a kognitivních deficitů již popsána (viz přehledový článek Van Craenenbroeck et al., 2005). U laboratorních zvířat vystavených během časného vývoje LPS se objevila rovněž snížená myelinizace nervových vláken (Wischhof et al., 2015), narušení inhibičního GABAergního systému mozku (Basta-Kaim et al., 2015; Wischhof et al., 2015), i strukturální změny, jako je redukováný objem hipokampu (Kubesova et al., 2015) či počet a větvení astrocytů v hipokampální CA1 oblasti (Tejkalová et al., 2007b), které by mohly naznačovat asociaci s možnými paměťovými a jinými kognitivními deficity.

Behaviorální změny u laboratorních hlodavců nastávající po prenatální expozici LPS byly v literatuře popsány opakovaně. Jedná se například o zvýšenou úlekovou reakci či deficit prepulsní inhibice (Basta-Kaim et al., 2011a, 2015; Foley et al., 2015; Fortier et al., 2007; Romero et al., 2010; Tejkalová et al., 2007b; Wischhof et al., 2015), hyperlokomoci (Basta-Kaim et al., 2011a; Tejkalová et



Obr. 10. Molekula bakteriálního lipopolysacharidu.

al., 2007b; Wischhof et al., 2015), snížené sociální chování, sociální hru a komunikaci (Baharoori et al., 2012; Kirsten et al., 2010), narušenou motorickou koordinaci (Rousset et al., 2013; Stigger et al., 2013), zvýšenou úzkost (Depino, 2015; Lin et al., 2012; Wischhof et al., 2015) nebo chování připomínající depresi (Depino, 2015). Kromě toho se objevilo i zhoršené učení a paměť u mladých nedospělých zvířat, konkrétně pracovní paměť v testu rozpoznání nového objektu (Wischhof et al., 2015) a učení a dlouhodobá prostorová paměť v Morrisově vodním bludišti (Batinić et al., 2016; Thangarajan et al., 2015). Detailnější charakterizace kognitivních schopností u těchto modelových zvířat však chybí. Behaviorální projevy jsou velice závislé na experimentálním uspořádání, věku testovaných zvířat, použité úloze a dalších faktorech, proto se v jiných případech výše zmíněné změny chování nemusí projevit, např. v lokomoci (Foley et al., 2014a, 2014b; někteří autoři dokonce popisují sníženou lokomoční aktivitu; Batinić et al., 2016; Stigger et al., 2013), socialitě (Batinić et al., 2016; Foley et al., 2014a), či anxiety (Foley et al., 2014b; Kirsten et al., 2010). Je zajímavé, že změny v chování mohou mít zřejmě dlouhotrvající transgenerační efekt, jak zjistili Penteado a kolektiv u F1 a F2 generací potkanů prenatalně vystavených pouze jedné injekci LPS, což poukazuje na možnou epigenetickou dědičnost (Penteado et al., 2014). Změny v chování v důsledku expozice LPS časně po narození našli výzkumníci Pang s kolegy, kteří popisují sníženou ultrazvukovou vokalizaci u potkaních mláďat a poškozenou paměť v úloze rozpoznání nového objektu u dospívajících potkanů (Pang et al., 2016). Důslednější charakterizaci chování tohoto modelu ale literatura překvapivě nenabízí.

Tato dizertační práce popisuje kognitivní koordinaci a prostorovou paměť u potkaních modelů s využitím LPS ve dvou různých přístupech: aplikace buď novorozeným potkanům (**neonatální/postnatální podání lipopolysacharidu**, model schizofrenie), nebo přímo březí samici (**prenatální podání lipopolysacharidu**, model schizofrenie a ASD). U potkanů se mláďata rodí relativně dříve než u lidí, slepá a hluchá, a přibližně dva týdny po narození (do otevření očí) stupeň vývoje jejich mozku odpovídá plodu ve třetím trimestru ženského těhotenství (Clancy et al., 2001). Aplikace LPS během prvních několika dnů po narození tedy odpovídá krátkodobé bakteriální infekci prodělané perinatálně v pozdní fázi těhotenství či u předčasně narozených dětí. U potkana se však nejedná o aktivaci imunitního systému matky, nýbrž přímo samotného mláďete. Oproti tomu podáním LPS ještě v průběhu březosti potkana můžeme docílit maternální imunitní aktivity, a tím simulovat krátkodobou, nebo chronickou bakteriální infekci v časnějším období z hlediska vývoje mozku.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Cíle dizertační práce

Tato dizertační práce je zaměřena na charakterizaci chování vybraných potkaních modelů lidských neuropsychiatrických poruch – Alzheimerovy choroby, schizofrenie a poruch autistického spektra – vzniklých působením různých faktorů. Důraz je kladen na prošetření kognitivních dovedností potkanů v několika prostorových a paměťových úlohách. Protože jsou však všechna tři zmíněná onemocnění multifaktoriální s širokým spektrem symptomů, byly u většiny z uvedených modelů sledovány také nekognitivní projevy. Na základě očekávaného poškození paměti, kognice i některých nekognitivních domén je předpokladem fenomenologická i konstruktivní validace uvedených modelů.

Konkrétní cíle zaměřené na kognitivní funkce v jednotlivých studiích jsou:

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 či 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 irrelevantními informacemi) nebo flexibilita (schopnost adaptovat své chování ke změně podmínek), 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. LPS zvířata měla mít podle našeho předpokladu změněné i jiné (nekognitivní) domény chování.

2.2. Přehled publikací přiložených k dizertační práci

PUBLIKACE č. 1

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

Můj příspěvek: Samostatné provedení, analýza a interpretace úloh rozpoznání nového a přemístěného objektu, sepsání příslušné části metodiky. Spoluúčast na provedení a analýze ostatních behaviorálních (kognitivních i nekognitivních) experimentů, s výjimkou měření cirkadiánní aktivity.

PUBLIKACE č. 2

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

Můj příspěvek: Participace na provedení behaviorálních testů.

PUBLIKACE č. 3

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

Můj příspěvek: Provedení, analýza a spoluúčast na interpretaci všech behaviorálních experimentů, sepsání manuskriptu, korespondující autorství. Studie byla částečně hrazena z mého studentského grantu GA UK 172515.

PUBLIKACE č. 4

Vojtechova, I., Maleninska, K., Kutna, V., Klovrza, 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

Můj příspěvek: Design studie, příprava modelu, zavedení metodiky určování estrálního cyklu u samic, provádění behaviorálních experimentů a analýza dat (za spoluúčasti některých spoluautorů), interpretace výsledků, statistická analýza, tvorba obrázků, sepsání manuskriptu, korespondující autorství. Behaviorální část studie byla částečně hrazena z mého studentského grantu GA UK 172515, histologická a imunohistochemická část byla hrazena z mého studentského grantu, který jsem získala v rámci Interní grantové soutěže NUDZ (IGS č. 304).

Následující čtyři kapitoly odráží pořadí těchto publikací. V podkapitolách **Materiál & metody** a **Výsledky** u každé z nich se věnuji pouze úlohám zaměřeným na prostorovou orientaci a paměť, přestože jsme u potkanů testovali i jiné domény chování, jelikož pouze kognitivní úlohy jsou svázány s cíli této dizertační práce. Ostatní zjištění jsou zmíněna v rámci jednotlivých diskuzí a popis jejich provedení je k nalezení v příložených publikacích. Zároveň principy zmiňovaných behaviorálních úloh jsou vysvětlené již v teoretickém úvodu (viz kapitoly 1.1.2. a 1.1.3.), stejně jako potkani McGill (kap. 1.2.5.) a Samaritan (kap. 1.2.6.). Jejich popis níže je tedy omezen především na technické údaje a specifika pro danou studii.

2.3. Publikace č. 1

2.3.1. Materiál & metody

Zvířata. Transgenní potkan McGill-R-Thy1-APP (zkráceně potkan McGill) s genetickým pozadím kmene Wistar má v genomu vložený transgen exprimující lidský APP₇₅₁ nesoucí dvojitou švédskou a indianskou mutaci. V naší studii jsme použili homozygoty v počtu 10 samců, pocházejících ze tří různých vrhů, a 10 stejně starých nepříbuzných netrasgenních (*wild type*, WT) kontrolních samců také ze tří vrhů. Potkani byli zakoupeni od firmy PsychoGenics Inc. (765 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York, NY 10591, USA). Po dovozu dostali 25-denní aklimatizační periodu ve zvěřinci. Zvířata byla chována ve standardních průhledných boxech (44 × 28 × 23 cm) s jedním či dvěma sourozenci, s dostupnou potravou a vodou *ad libitum* (s výjimkou testů vyžadujících potravní či sociální deprivaci), v 12-hodinovém režimu světlo/tma ve větrané místnosti určené k chovu potkanů ve Fyziologickém ústavu AV ČR. Experimenty proběhly během světelné části dne. Zvířata různých genotypů jsme testovali ve střídavém pořadí, abychom minimalizovali působení vnějších rušivých faktorů a přirozené cirkadiánní aktivity, vedoucí k falešně pozitivním výsledkům. Behaviorální aparatury byly po každém zvířeti očištěny vodou, aby se eliminovaly, nebo alespoň rozprostřely, pachové značky. Pořadí úloh uvedené níže odpovídá reálnému pořadí a věku testovaných zvířat (**Tab. 1**). Všechny experimenty byly schváleny místní komisí pro ochranu zvířat a vyhověly Zákonu na ochranu zvířat proti týrání České republiky a směrnici Evropské unie (2010/63/EU).

Morrisovo vodní bludiště. Vodní bludiště sestávalo z kruhové nádrže o průměru 180 cm a výšce 50 cm naplněné vodou o teplotě 21 ± 2 °C do hloubky 35 cm, zakalenou netoxickou černou barvou (SwingColor, Bauhaus, ČR). Ve vodě stál průhledný plastový ostrůvek ve tvaru válce o průměru 10 cm, který měl potkan nalézt. Pokud na něj zvíře nevylezlo během 60 s, bylo na něj experimentátorem navedeno. Pozice zvířete byla monitorována kamerou umístěnou nad středem nádrže a trekovacím systémem Tracker (Biosignal Group, USA). První dva dny jsme potkany otestovali ve **variantě s viditelným ostrůvkem**, abychom ověřili zrak, schopnost plavat a pochopení principu úlohy, a tedy obecnou schopnost zvířat úlohu řešit. Ostrůvek byl vynořen několik cm nad hladinu a byl obehnán bílým nástavcem, zároveň bylo 20 cm nad ostrůvkem pověšené další vodítko

Tab. 1. Pořadí úloh a věk testovaných zvířat.

Postup	Věk (v měsících)
Příjezd do zvěřince	3,6
Vyvýšené křížové bludiště (1) a (2)	4,4
Test otevřeného pole (1) a (2)	4,5
Test chůze po lati	4,5
Vyvýšené křížové bludiště (3)	4,6
Test otevřeného pole (3)	4,7
Morrisovo vodní bludiště	4,7-5,1
Bludiště tvaru Y (1)	5,1
Test světlo-tma	5,1
Kolotočové bludiště	5,4-5,9
Bludiště tvaru Y (2)	6,0
Test sociálního rozpoznávání	6,1-6,3
Test rozpoznání přemístěného a nového objektu	6,7
Sociální interakce	6,8
Bludiště tvaru Y (3)	8,1
Chronobiologické experimenty	8,2-10,0
Ukončení studie	10,4

Tučně jsou zvýrazněné kognitivní úlohy popsané v této dizertační práci.

složené ze dvou CD disků. Každé zvíře mělo denně celkem 8 plaveb s 15-min intervaly a do vody bylo vypouštěno vždy ze stejného místa na okraji bazénu, zatímco polohu ostrůvku jsme mezi plavbami pseudonáhodně měnili. Dalších 8 dní byli potkani testováni v **úloze *delayed-matching-to-place*** zaměřené na uchování vzpomínek v prostorové pracovní paměti po určité prodlevě (*delay*) mezi první a druhou plavbou v tomtéž uspořádání. Prodleva byla v našem případě buď 15 s (krátká) nebo 90 min (dlouhá). Zvířata plavala každý den 4krát a interval mezi druhou, třetí a čtvrtou plavbou byl vždy 15 s. Místa startů byla různá každý den i v rámci dne, polohu ostrůvku, který byl skrytý 1,5 cm pod hladinou vody, jsme měnili pseudonáhodně mezi dny (v rámci dne zůstal stabilní). Při první plavbě zvířata hledala ostrůvek vždy náhodně, ale během dalších tří plaveb v témže dni mohla již využít znalosti o jeho pozici a nalézt jej rychleji. Pro analýzu jsme použili data pouze z 3.–8. dne testování, kdy byla zvířata již obeznámena s pravidly testu. Kognitivní výkon ve vodním bludišti byl hodnocen parametry latence nalezení ostrůvku a úspora času (*savings*) mezi prvními dvěma plavbami. Rychlost plavání jsme zaznamenávali z důvodu sledování lokomočních dovedností a tigmataxi (podíl času stráveného na periferii bazénu vůči celkovému času sezení) jako měřítko anxiety a pátrací strategie.

Bludiště tvaru Y. Zvíře jsme umístili do středu prázdného tříramenného bludiště (rovnocenná ramena o rozměrech 39 × 10 cm označená písmeny A, B a C, přisedající k sobě pod úhlem 120°) vyrobeného z hnědého plastu a ponechali 8 min volně explorovat. U každého potkana jsme provedli 3 sezení (**Tab. 1**) s cílem vypořádat individuální či skupinový vývoj či stabilitu zkoumaného chování s narůstajícím věkem. Návštěvu ramene jsme zaznamenali v případě, že do něj potkan vstoupil všema čtyřma nohama. Úloha testuje prostorovou pracovní paměť či krátkodobou habituaci s předpokladem, že potkan přirozeně preferuje střídání ramen, pokud si pamatuje předchozí volbu ramene. Spontánní alternaci mezi rameny (pracovní paměť/krátkodobá habituace) jsme počítali jako poměr mezi počtem správných triád (potkan vstoupil postupně do tří různých ramen: ABC, BCA, CAB, ACB, CBA, BAC) a celkovým počtem triád (zahrnuty i nesprávné triády: ABA, CBC, BAB apod.). Celkový počet návštěv ramen nám ukázal aktivitu zvířat.

Kolotočové bludiště. Aparatura se skládala z kovové kruhové arény o průměru 82 cm obklopené 30 cm vysokou průhlednou stěnou z plexiskla kónického tvaru. Aréna stála uprostřed místnosti obsahující různé vizuální orientační značky a mohla rotovat. V počítačovém trekovacím 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 trvajícím déle než 0,5 s byl potkan potrestán mírnou elektrickou rankou (šokem) o intenzitě 0,3–0,7 mA (střídavý proud, 50 Hz), individuálně nastavenou pro konkrétní zvíře tak, aby vyprovokovala únikovou reakci, ale nebyla příliš bolestivá a nevyvolala nehybnost (*freezing*). Šok trval 0,5 s a opakoval se po 1,5 s (**Obr. 13A**), dokud potkan sektor neopustil. Podávání elektrických šoků do nohou potkana (při kontaktu s kovovou podlahou arény) bylo umožněno propojením přes kabel vedoucí k potkanovi, který měl na hřbetě mezi lopatkami transdermálně umístěnou injekční jehlu se zahnutým koncem zabraňujícím jejímu

vypadnutí, a kníž byl kabel připojen krokosvorkou. Trajektorie potkana byla zaznamenávána v referenčním rámci arény i místnosti pomocí infračervené kamery a dvou diod umístěných na hřbětě potkana a po obvodu arény (vzorkovací frekvence 25 Hz). V této studii byli potkani potravně deprivováni na $90 \pm 5\%$ své normální hmotnosti a během experimentu sbírali malé cereální kuličky (Nesquik, Nestlé, ČR), které dopadaly náhodně na různá místa arény (asi 3 kuličky za minutu) z motorizovaného krmítka umístěného nad arénou. Celý experiment trval 14 dní a byl rozdělen do čtyř fází s různou obtížností: (1) **habituace na stabilní arénu** (spontánní sbírání potravních kuliček), (2) **pasivní vyhýbání se místu** se stabilní arénou, (3) **habituace na rotující arénu** a (4) **aktivní vyhýbání se místu** s rotující arénou a stabilním sektorem, při které musel potkan rozlišovat relevantní a irelevantní orientační značky podle příslušného referenčního rámce, což dělalo tuto fázi nejobtížnější. Rozvržení jednotlivých fází a popis podmínek je uveden v **Tab. 2**. Každé sezení trvalo 20 min s výjimkou habituace na rotující arénu (10 min). Aréna rotovala rychlostí 1 otáčka/min. Trajektorie potkanů byla analyzována offline pomocí *open source* software CM Manager 0.4.0 (Bahnik, 2014). Sledovanými kognitivními parametry byl počet vstupů do sektoru (počet chyb, schopnost zapamatovat si polohu sektoru a vyhýbat se mu) a počet šoků na počet vstupů (*skill learning index*, pochopení principu úlohy, tj. utéci ze sektoru po prvním obdržení elektrické ranky), počítaný jako $(\text{počet vstupů} + 1) / (\text{počet šoků} + 1)$. Dále jsme hodnotili nachozenou vzdálenost (lokomoční aktivita) a průměrnou vzdálenost od středu (tigmataxe, anxiety). Během každého sezení jsme nahrávali ultrasonickou vokalizaci potkanů pomocí mikrofону Ultramic 250K speciálně vyrobeného ke snímání vysokých frekvencí (Dodotronic, Italy) a volně dostupného software Audacity 2.1.0. Hodnotili jsme přítomnost či nepřítomnost vokalizací.

Tab. 2. Design testovací baterie v kolotočovém bludišti.

Den	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Úloha	Habituační (sbírání kuliček)			Pasivní vyhýbání				Habituační (rotace)	Aktivní vyhýbání					
Popis	stabilní aréna bez šoků			stabilní aréna stabilní sektor				rotující aréna bez šoků (pouze 10 min)	rotující aréna stabilní sektor					

Test sociálního rozpoznávání. Test je založen na předpokladu, že dospělý potkan exploruje neznámého jedince více než jedince, se kterým se již setkal, a narušená sociální paměť naznačuje, že tyto dva jedince od sebe nerozeznává. Protokol jsme převzali od Lemaire (2003). Jako figuranti pro experimentální zvířata sloužili potkani Wistar v juvenilním věku (23–29 dní), kteří již mohli být rozpoznáváni jinými potkany jako různí jednotlivci, ale zároveň ještě nepředstavovali teritoriální konkurenty vyvolávající agresi. Kontrolní a McGill potkani strávili 24 h před experimentem v sociální izolaci v experimentální místnosti ve standardních chovných nádobách, aby si v nich zajistili status rezidenta. Tři hodiny před prvním sezením jsme jim také odebrali potravu a vodu. Figuranty jsme izolovali ve stejné místnosti v čistých boxech bez potravy a vody 3 h před kontaktem s dospělci. Experiment vždy začal **akvizicí**, při které byl box s experimentálním dospělcem položen pod kameru

a figurant na 5 min vpuštěn k dospělci. Po 30-min pauze následovalo druhé sezení – **retrieval** – při němž byl k dospělci vpuštěn buď stejný juvenil (famiální) nebo neznámý juvenil (nefamiální). Každý dospělec prošel oběma sezeními také druhý den, avšak interagoval s nefamiálním jedincem, pokud předchozí den interagoval s famiálním a naopak (**Obr. 14A**). Chování dospělých potkanů bylo hodnoceno manuálně v programu EthoWatcher (Crispim Junior et al., 2012) s použitím videonahrávek. Analyzovali jsme neanogenitální exploraci (čichání či dotýkání se hlavy či zad figuranta), anogenitální exploraci (čichání či olizování anogenitální oblasti figuranta), pronásledování figuranta (*following*), záměrné přežení figuranta a držení pod sebou (*pinning*), vyhýbání se sociálnímu kontaktu (stažení se, únik či kopání do figuranta) a pasivní kontakt (kontakt iniciovaný figurantem; zahrnoval dotyk, přelézání či podlézání, pronásledování dospělce).

Test rozpoznání přemístěného a nového objektu. Třídenní experiment sestával ze tří částí: habituace, test rozpoznání přemístěného objektu (*novel object location*, NOL – trénink, test) a test rozpoznání nového objektu (*novel object recognition*, NOR – trénink, test) (**Obr. 15A**). První den jsme potkana vložili do černé čtvercové arény (70 × 70 cm), aby se 5 min **habituoval** na prostředí. Následující den jsme do opačných rohů (15 cm od stěn) arény umístili dva identické objekty (zavařovací skleničky naplněné štěrskem) a nechali potkana předměty zkoumat po dobu 5 min (**NOL trénink**). Po 1 h jsme jeden z objektů přemístili o 20 cm podél stěny a nechali potkana znovu volně explarovat 3 min (**NOL test**). Třetí den jsme opět nechali potkana 5 min volně explarovat oba identické objekty (**NOR trénink**). Po 1 h jsme jeden z objektů vyměnili za nový (skleněná nádobka na podložní sklíčka, podobné velikosti, ale hranatého tvaru), který potkan explarovat 3 min (**NOR test**). Přemístění či výměnu objektů jsme provedli vyváženě u obou skupin, abychom minimalizovali efekt eventuální inklinace k jednomu či druhému objektu nebo místu. Prostřednictvím programu EthoWatcher (Crispim Junior et al., 2012) jsme manuálně offline hodnotili chování potkanů, konkrétně exploraci objektů (čichání či prozkoumávání) a lezení na objekty. Výsledné parametry byly spočítány jako: $\text{Diskriminační index} = T_n - T_f$

$$\text{Diskriminační poměr} = (T_n - T_f) / (T_n + T_f),$$

kde T ukazuje čas strávený explorací famiálního objektu (T_f) a přemístěného/nového objektu (T_n).

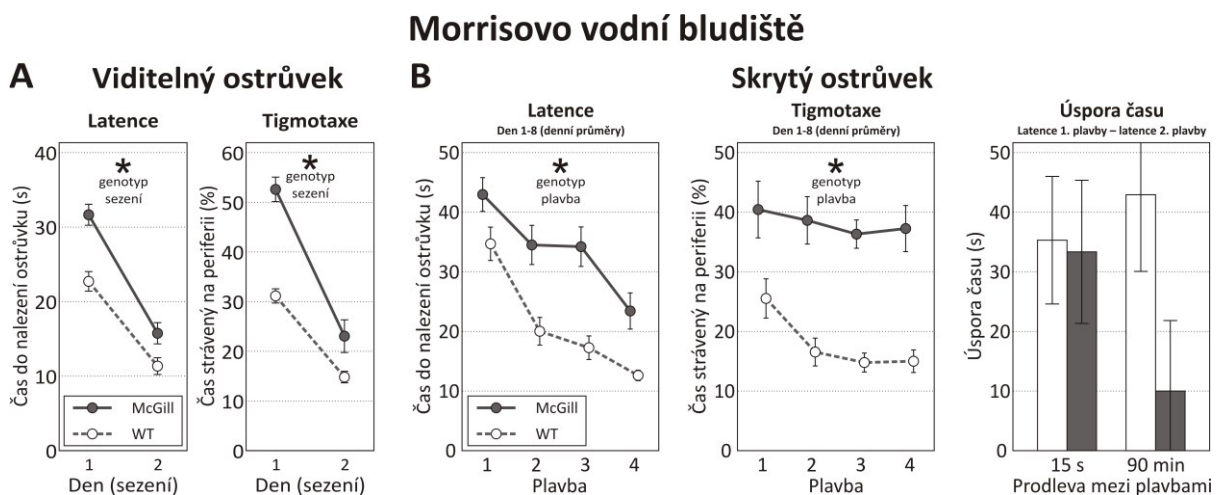
Statistická analýza. Statistické výpočty byly provedeny za pomoci software Prism 7 (GraphPad, USA). Behaviorální data jsme analyzovali pomocí *t*-testu nebo analýzy variance (ANOVA) s opakovanými měřeními, kde „genotyp“ představoval *between-subject* faktor a „sezení“ (den), „plavba“ nebo „věk“ *within-subject* faktor. Signifikanci jsme stanovili na hladině $p < 0,05$.

2.3.2. Výsledky

Morrisovo vodní bludiště. Ve **variantě s viditelným ostrůvkem** se obě skupiny druhý den signifikantně zlepšily oproti prvnímu dni, ale potkani McGill vykazovali signifikantně delší latence k nalezení ostrůvku než kontroly (**Obr. 11A vlevo**); analýza také prokázala interakci genotyp*sezení ve formě trendu. Potkani McGill také projevovali vyšší tigmataxi, zejména první den; interakce

genotyp*sezení vyšla signifikantně (**Obr. 11A vpravo**). Vizuálním pozorováním jsme nezaznamenali problémy s plaváním, avšak potkani McGill přijali vyhledávací strategii pomaleji. V **úloze se skrytým ostrůvkem** byla latence k nalezení ostrůvku, zprůměrovaná za všechny testovací dny, u potkanů McGill delší než u kontrol (**Obr. 11B vlevo**). Obě skupiny se s přibývajícimi plavbami zlepšovaly, i když potkani McGill pomaleji. Tigmotaxe byla opět vyšší u skupiny McGill, ale postupem času se snižovala (**Obr. 11B uprostřed**). Hodnota úspory času (*savings*) mezi první a druhou 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. 11B vpravo**). Rychlost plavání zprůměrovaná přes všechny dny byla stejná u obou skupin (neukázáno v grafu) a pozorované efekty tak nelze vysvětlit poškozením motoriky. Výsledky ze statistické analýzy viz v **Tab. 3 a 4**.

Bludiště tvaru Y. Potkani McGill se nelišili od kontrol v žádném ze sledovaných parametrů (**Obr. 12, Tab. 5**). Obě skupiny mírně preferovaly alternaci nad náhodným chováním, což ukazují hodnoty vyšší než 50 %.



Tab. 3. Morrisovo vodní bludiště: viditelný ostrůvek (analýza testem ANOVA s opakovanými měřeními).

Zdroj	df	Error df	F	p
Viditelný ostrůvek: latence				
genotyp	1	18	17,10	0,0006***
sezení	1	18	146,00	< 0,0001***
genotyp*sezení	1	18	4,03	0,0601
Viditelný ostrůvek: tigmotaxe				
genotyp	1	18	87,60	< 0,0001***
sezení	1	18	41,80	< 0,0001***
genotyp*sezení	1	18	8,28	0,01**

p < 0,01; *p < 0,001

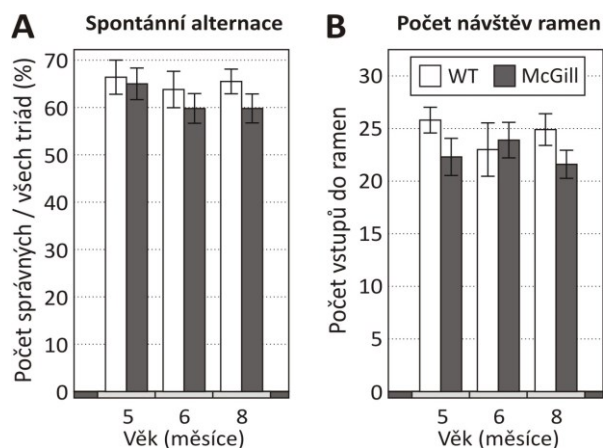
Tab. 4. Morrisovo vodní bludiště: skrytý ostrůvek (analýza testem ANOVA s opakovanými měřeními nebo t-testem).

Zdroj	df	Error df	F	p
Skrytý ostrůvek: latence				
genotyp	1	18	40,59	< 0,0001***
plavba	3	54	18,73	< 0,0001***
genotyp*plavba	3	54	0,97	0,41
Skrytý ostrůvek: tigmotaxe				
genotyp	1	18	24,29	0,0001***
plavba	3	54	5,92	0,0014**
genotyp*plavba	3	54	1,59	0,2018

p < 0,01; *p < 0,001

Zdroj	df	Error df	T	p
Skrytý ostrůvek: úspora času				
krátká prodleva	1	18	0,12	0,91
dlouhá prodleva	1	18	1,79	0,0907
Skrytý ostrůvek: rychlost plavání				
rychlost	1	18	1,46	0,1607

Bludiště tvaru Y



Obr. 12. Bludiště tvaru Y. Chování potkanů McGill nebylo v této úloze signifikantně odlišné od kontrolních zvířat (WT, *wild type*) ani (A) ve spontánní alternaci, ani (B) v celkovém počtu návštěv ramen (efekt genotypu, věku ani interakce nevyšly signifikantně). Sloupce ukazují průměry skupin ± SEM.

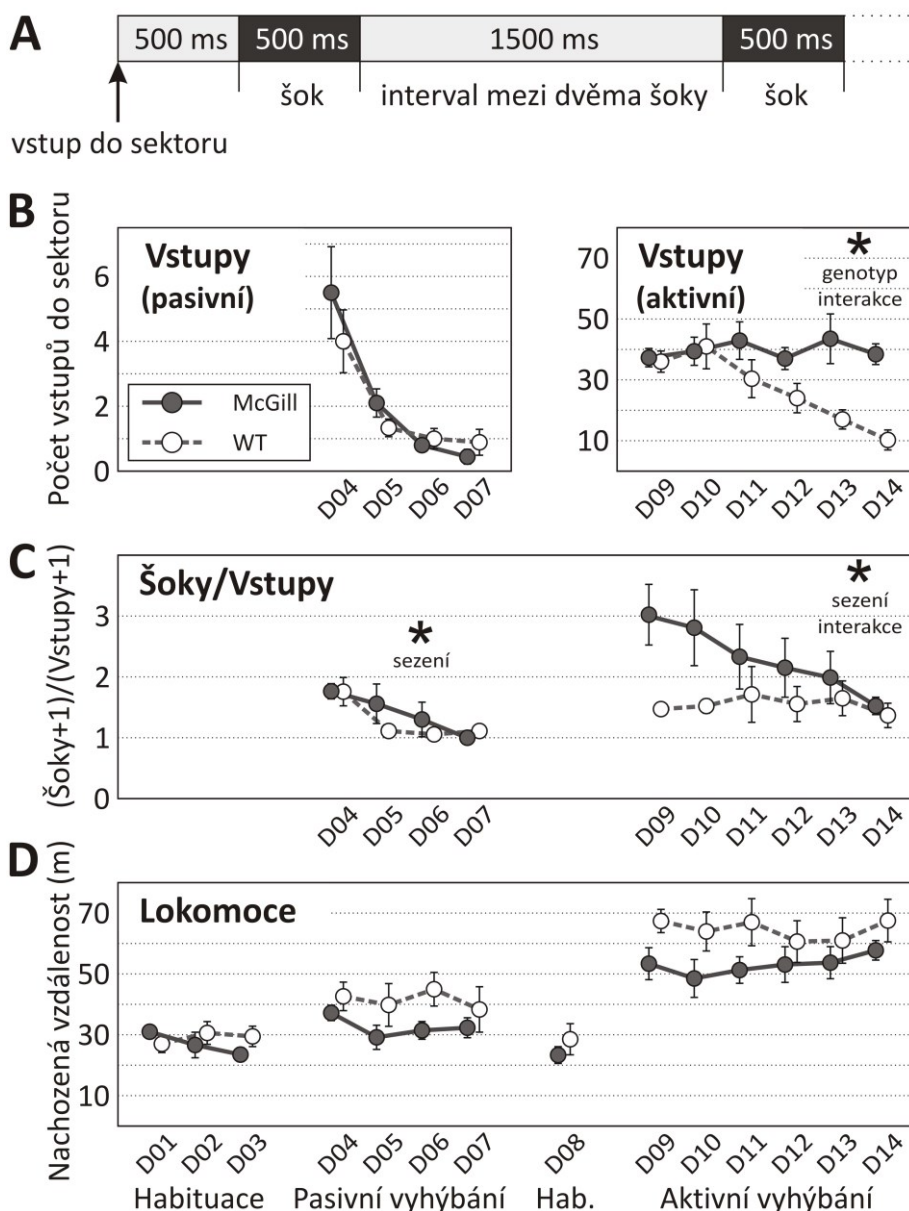
Tab. 5. Bludiště tvaru Y (analýza testem ANOVA s opakovanými měřeními).

Zdroj	df	Error df	F	p
Celkový počet návštěv ramen				
genotyp	1	36	1,06	0,32
sezení	2	36	0,15	0,86
genotyp*sezení	2	36	1,37	0,27
Spontánní alternace				
genotyp	1	36	2,21	0,15
sezení	2	36	0,63	0,54
genotyp*sezení	2	36	0,17	0,84

Kolotočové bludiště. Vypozorovali jsme, že všichni potkani byli motivovaní ke sbírání potravových kuliček a viditelně reagovali na elektrické šoky, z čehož usuzujeme na normální práh bolesti. Při **habituaci na stabilní arénu** měli potkani McGill normální lokomoční aktivitu, pouze zjištěný trend v interakci genotyp*sezení naznačuje postupné snižování lokomoce ve srovnání s kontrolními zvířaty, jejichž nachozená vzdálenost byla mezi dny srovnatelná nebo mírně vzrůstala (**Obr. 13D**). Ve fázi **pasivního vyhýbání se místu** (avšak ne v jiných fázích) sesbírali potkani McGill méně potravových kuliček než kontroly (vizuální pozorování). Mohlo se jednat o přechodný efekt vystavení elektrickým šokům. Po seznámení se s pravidly úlohy všechna zvířata obvykle vyběhla ze zakázaného sektoru již po prvním šoku, což značí dobrou motivaci a motorickou odpověď. Vstupování do sektoru, znamenající selhání schopnosti vyhýbat se, nebylo ovlivněno faktorem genotypu, a s každým sezením se snižovalo u obou skupin (**Obr. 13B vlevo**). Počet šoků na počet vstupů (*skill learning index*) se také nelišil mezi skupinami a zlepšoval se napříč sezeními (**Obr. 13C**). Ve fázi **aktivního vyhýbání se místu** byl počet vstupů do sektoru u potkanů McGill signifikantně vyšší a signifikantní interakce genotyp*sezení ukazuje, že pouze kontrolní potkani svůj výkon v úloze s časem zlepšovali (**Obr. 13B vpravo**). *Skill learning index* nevyšel významně rozdílný mezi skupinami, ale signifikantní interakce genotyp*sezení ukázala, že kontrolní zvířata vykazovala dobré unikové reakce již od počátku, zatímco potkani McGill si správnou strategii (tj. vyběhnout ze sektoru ihned po obdržení šoku) osvojovali pomaleji (**Obr. 13C**). Výsledky ze statistické analýzy viz v **Tab. 6**. Při aktivním vyhýbání se místu se u tří potkanů McGill vyskytla ultrazvuková vokalizace na frekvenci 22 kHz, zatímco u kontrol se neobjevila. Tento typ vokalizací je spojován s anxiózním chováním, které mohlo být vyvoláno neúspěchem při řešení úlohy. Počet vokalizací byl však příliš nízký pro statistické zpracování.

Test sociálního rozpoznávání. Naše data nepotvrdila paradigma, podle kterého potkan s nepoškozenou sociální pamětí preferenčně interaguje s jedincem, kterého nikdy nepotkal, oproti známému jedinci. Sociální explorační familiárního figuranta totiž nebyla ani u kontrolních zvířat nižší než explorační nefamiliárního, a anogenitální explorační dokonce vzrostla opakovanou expozicí stejného figuranta. Navíc experimentální zvířata se nechovala stabilně mezi prvním a druhým testovacím dnem. Proto jsme se zaměřili pouze na kvalitativní rozdíly v sociálním chování mezi skupinami, bez ohledu na (ne)familiárnost juvenilního figuranta. V neanogenitální (**Obr. 14B**) i anogenitální (**Obr. 14C**) exploraci statistická analýza odhalila signifikantní efekt genotypu (potkani McGill zkoumali neanogenitálně více, anogenitálně naopak méně); efekt sezení byl pouze u anogenitální explorační. Výsledky ze statistické analýzy viz v **Tab. 7**. U ostatních měřených parametrů sociálního chování jsme nenašli signifikantní rozdíly mezi skupinami.

Kolotočové bludiště



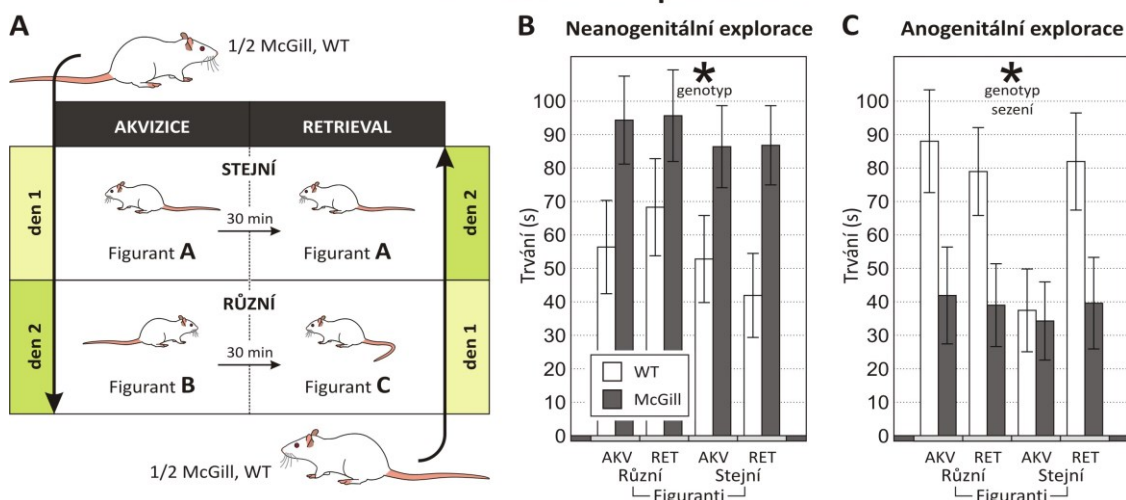
Obr. 13. Kolotočové bludiště. Úloha sestávala z třídní fáze habituace na stabilní arénu, čtyřdenním pasivním vyhýbání, jednodenní 10-min habituací na rotující arénu a šestidenním tréninkem aktivního vyhýbání. (A) Potkan po vstupu do sektoru trvajícím déle než 0,5 s obdržel elektrickou ranku (šok) o délce 0,5 s. Šoky byly podávány po intervalech 1,5 s opakovaně, dokud potkan sektor neopustil. (B) Počet vstupů do zakázaného sektoru byl během fáze pasivního vyhýbání od počátku nízký (panel vlevo) a s každým dalším sezením se dále snižoval podobně u obou skupin zvířat. Ve fázi aktivního vyhýbání (panel vpravo) počet vstupů do sektoru výrazně vzrostl a u potkanů McGill zůstal celou dobu na vysoké úrovni (potkani se úlohu nenaučili; efekt genotypu, $p < 0,05$) oproti kontrolním potkanům, kteří se postupně zlepšovali a úlohu se naučili řešit (interakce genotyp*sezení, $p < 0,005$). (C) 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 McGill potkani zpočátku horší než kontroly, ale s každým dalším sezením se zlepšovali a na konci experimentu dosahovali úrovně kontrol (interakce genotyp*sezení, $p < 0,05$). (D) Celková nachozená vzdálenost byla podobná u obou skupin. Kroužky ukazují průměry skupin \pm SEM. D = den (sezení); WT = *wild type*; * $p < 0,05$

Tab. 6. Kolotočové bludiště (analýza testem ANOVA s opakovanými měřeními).

Zdroj	df	Error df	F	p
Habituační na stabilní arénu: Lokomoce				
genotyp	1	18	0,29	0,60
sezení	2	36	0,82	0,45
genotyp*sezení	2	36	2,86	0,0704
Pasivní vyhýbání: Lokomoce				
genotyp	1	17	1,77	0,2
sezení	3	51	1,91	0,14
genotyp*sezení	3	51	1,35	0,27
Pasivní vyhýbání: Vstupy				
genotyp	1	17	0,57	0,46
sezení	3	51	14,40	< 0,0001***
genotyp*sezení	3	51	0,82	0,49
Pasivní vyhýbání: Šoky/vstupy				
genotyp	1	17	0,48	0,4966
sezení	3	51	7,45	0,0003***
genotyp*sezení	3	51	1,22	0,3114
Aktivní vyhýbání: Lokomoce				
genotyp	1	16	2,29	0,15
sezení	5	80	1,04	0,4
genotyp*sezení	5	80	0,79	0,56
Aktivní vyhýbání: Vstupy				
genotyp	1	16	6,73	0,0195*
sezení	5	80	3,38	0,0081**
genotyp*sezení	5	80	3,86	0,0035**
Aktivní vyhýbání: Šoky/vstupy				
genotyp	1	16	2,08	0,1685
sezení	5	80	2,62	0,0302*
genotyp*sezení	5	80	2,35	0,0486*

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

Test sociálního rozpoznávání



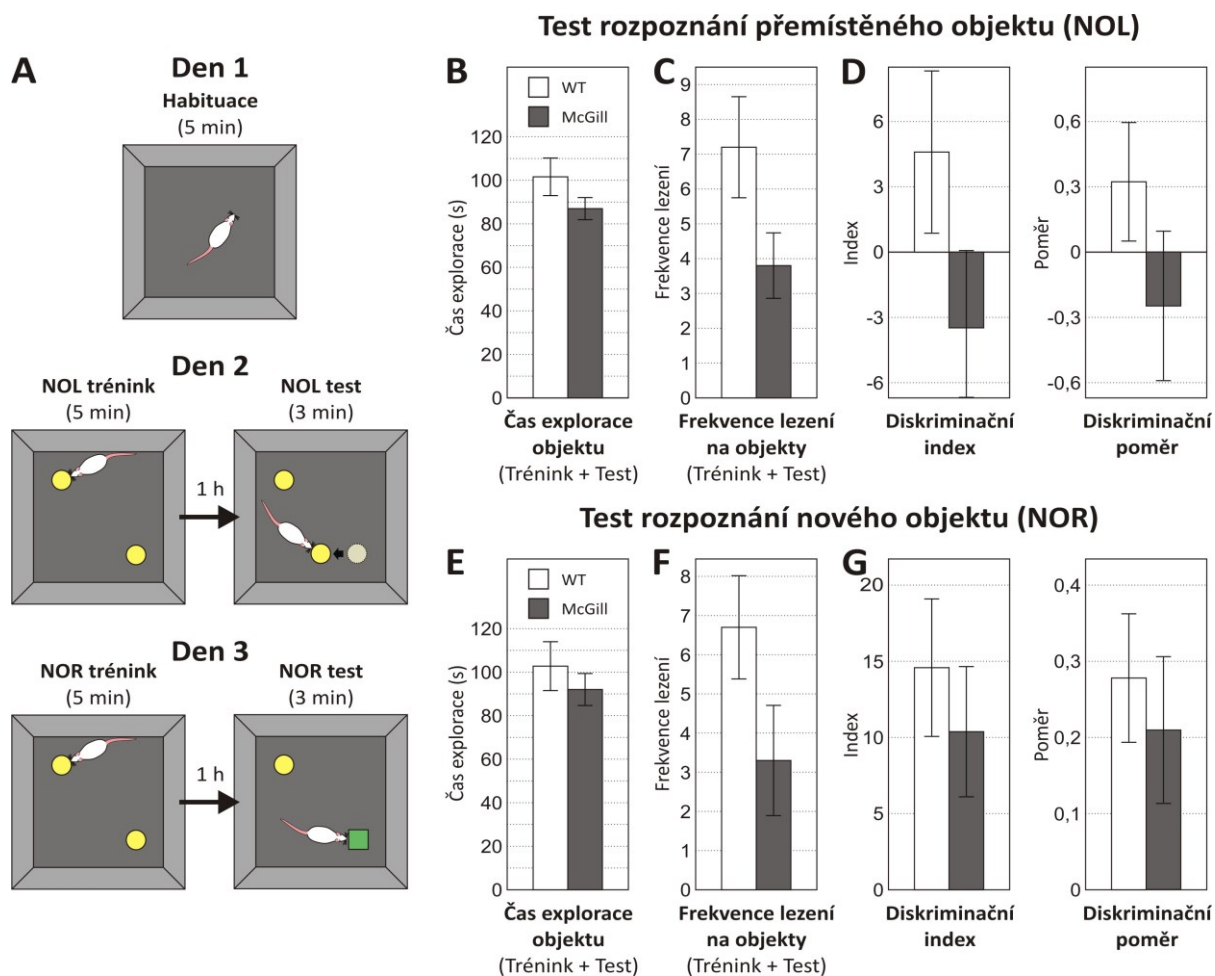
Obr. 14. Test sociálního rozpoznávání. (A) Design testu. Potkani prošli sezením akvizice, kdy explorovali neznámého juvenilního figuranta, a po 30 min sezením *retrieval* s jiným, nebo stejným figurantem. Každý potkan měl celkem čtyři sezení s oběma podmínkami a jejich pořadí jsme náhodně rozdělili mezi první a druhý testovací den vždy pro polovinu experimentálních zvířat s první podmínkou a druhou polovinu zvířat s druhou podmínkou, abychom předešli vlivům pořadí podmínek nebo fáze dne. (B) V neanogenitální exploraci jsme nepozorovali efekt sezení, což značí, že chování testovaných potkanů nebylo ovlivněno familiárností figuranta. Obecně však potkani McGill věnovali této neanogenitální exploraci signifikantně více času než kontroly (efekt genotypu, $p < 0,05$). (C) V anogenitální exploraci vyšel signifikantní efekt sezení ($p < 0,05$), který ovšem nebyl způsobený poklesem explorace familiárního figuranta, jak jsme předpokládali. Potkani McGill explorovali anogenitální oblast figurantů méně než kontroly (efekt genotypu, $p < 0,05$). Sloupce ukazují průměry skupin \pm SEM. AKV = akvizice; RET = *retrieval*; WT = *wild type*; * $p < 0,05$

Tab. 7. Test sociálního rozpoznávání (analýza testem ANOVA s opakovanými měřeními).

Zdroj	df	Error df	F	p
Neanogenitální explorace				
genotyp	1	15	11,54	0,004**
sezení	3	45	0,74	0,536
genotyp*sezení	3	45	0,174	0,913
Anogenitální explorace				
genotyp	1	15	4,75	0,046*
sezení	3	45	3,76	0,017*
genotyp*sezení	3	45	2,19	0,103

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Test rozpoznání přemístěného a nového objektu. V obou úlohách potkani z obou skupin zkoumali objekty podobně dlouhou dobu (**Obr. 15B, E**), pouze kontrolní potkani měli větší tendenci častěji lézt na objekty (**Obr. 15C, F**). V testu rozpoznání přemístěného objektu byla preference zkoumání přemístěného objektu velmi nízká u obou skupin zvířat (**Obr. 15D**), zatímco v testu rozpoznání nového objektu potkani jasně preferovali nový objekt nad známým a u potkanů McGill nebylo zjevné narušené rozpoznání těchto dvou objektů (**Obr. 15G**). Výsledky ze statistické analýzy viz v **Tab. 8**.



Obr. 15. Test rozpoznání přemístěného a nového objektu. Analýza neprokázala významný rozdíl mezi skupinou McGill a kontrolní skupinou (WT, *wild type*). **(A)** Design úloh. **(B, E)** Celkový čas explorace objektů byl v obou úlohách u obou skupin srovnatelný. **(C, F)** Potkani McGill se snažili vylézat na objekty méně často (na úrovni trendu v obou úlohách) než kontroly, což mohlo být dáno problémy s rovnováhou, které jsme u nich zaznamenali v jiných testech. **(D)** Preference pro exploraci přemístěného objektu, vyjádřená jako diskriminační index a poměr, byla nízká u obou skupin zvířat. **(G)** Zvířata z obou skupin preferovala nový objekt před známým v podobném rozsahu. Sloupce ukazují průměry skupin \pm SEM. NOL = *novel object location*; NOR = *novel object recognition*

Tab. 8. Test rozpoznání přemístěného a nového objektu (analýza *t*-testem).

Zdroj	df	Error df	<i>T</i>	<i>p</i>
Rozpoznání přemístěného objektu				
čas explorace objektu	1	18	1,46	0,1619
frekvence lezení na objekty	1	18	1,97	0,0649
diskriminační index	1	18	1,61	0,1255
diskriminační poměr	1	18	1,30	0,2087
Rozpoznání nového objektu				
čas explorace objektu	1	18	0,79	0,4348
frekvence lezení na objekty	1	18	1,76	0,0946
diskriminační index	1	18	0,68	0,5076
diskriminační poměr	1	18	0,54	0,5986

2.3.3. Diskuze

Studie prokázala, že transgenní potkani McGill vykazují výrazné kognitivní poškození. V necelých šesti měsících věku si v **kolotočovém bludišti** nebyli vůbec schopni osvojit úlohu aktivní vyhýbání se místu, zatímco kontrolní zvířata se oproti nim úlohu učila dobře a poslední den akvizice již měla v průměru jen 10 chyb. Potkani McGill měli zpočátku problém vůbec s pochopením principu této úlohy (tedy že mají po obdržení elektrické ranky utéci pryč), což ukazuje relativně vysoký počet šoků na počet vstupů. Na elektrickou ranku však viditelně reagovali, nelze tuto skutečnost tedy vysvětlit sníženým prahem bolesti. Postupem času se ale jejich výkon zlepšoval až na úroveň kontrol, které ovšem princip úlohy (únikovou reakci) ovládly již první den akvizice. U potkanů McGill se zřejmě jednalo o nekognitivní strategii řešení úlohy s použitím motorického učení. V jednodušší úloze pasivní vyhýbání se místu bez rotující arény se potkani McGill učili podobně jako kontrolní potkani; u obou skupin byl počet vstupů do zakázané oblasti po celou dobu velmi nízký. Tato úloha však nevyžaduje selektivní pozornost k jednomu vybranému referenčnímu rámci, protože orientační značky v místnosti lze aplikovat pro sektor i arénu současně, jelikož oba jsou stabilní. Tato varianta rovněž nevyžaduje aktivní pohyb zvířete a pouhé omezení lokomoční aktivity sníží pravděpodobnost vstupu do sektoru. Rozdíl v lokomoční aktivitě (u potkanů McGill se zdála být nižší) nedosáhl ani v jedné fázi statistické signifikance, ani trendu. Míra lokomoce tedy nemůže vysvětlit neschopnost potkanů McGill osvojit si úlohu s aktivním vyhýbáním. 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). Porovnání našich zjištění s ostatními studii není možné, neboť kolotočové bludiště bylo u modelu McGill použito vůbec poprvé.

V úloze **Morrisovo vodní bludiště** s každodenní změnou polohy ostrůvku 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 mnohem delší latencí než kontrolní potkani, a to v případě všech čtyř plaveb (data zprůměrována pro každou plavbu za všech osm dní akvizice), což by mohlo svědčit o narušené prostorové navigaci a paměti. Průměrná rychlost plavání se mezi skupinami nelišila, proto ji můžeme jako vysvětlení vyšší latence vyloučit. Vyšší anxiety (tigmataxe) u potkanů McGill však jako alternativní vysvětlení posloužit může, neboť strávili signifikantně více času plaváním na periferii bazénu než kontrolní potkani. Úzkost a stres s ní spojený jim mohly bránit v zapamatování si orientačních bodů, a tudíž přesné polohy ostrůvku. Potkani McGill ovšem potřebovali delší čas k nalezení ostrůvku i v případě, že byl ostrůvek viditelně označen. To může naznačovat procedurální

deficit (pomalejší osvojení efektivní strategie hledání ostrůvku) či zhoršené zrakové vnímání; stejně tak projevovali vyšší tigmataxi. Nálezy tak naznačují obecnější poškození chování, které sahá až za hranici kognitivní domény. Tím se naše výsledky liší od studie Leon a kol., kteří žádný deficit ve variantě s viditelným ostrůvkem neviděli, a to dokonce ani u 13-měsíčních zvířat, a reportovali čistý kognitivní deficit (Leon et al., 2010). Nicméně dá-li se mluvit o narušení pracovní paměti v úloze Morrisovo vodní bludiště, není tolik výrazné jako kognitivní poškození v kolotočovém bludišti. Důvodem může být nižší věk testovaných zvířat (5 měsíců), kdy se deficit pracovní paměti ještě nemusel projevit. Badatelé Leon a kol. ve své studii popisují narušené učení v Morrisově vodním bludišti u homozygotních potkanů McGill již ve věku 3 měsíců, avšak v úloze zaměřené na dlouhodobou paměť, kdy ostrůvek zůstává na stabilním místě po celou dobu učení (Leon et al., 2010). Potkani se v jejich studii postupně zlepšovali, ale nedosáhli takové úrovně jako kontrolní zvířata, a rovněž byli méně přesvědčeni o poloze ostrůvku (měřeno vybavení polohy ostrůvku v *probe trial*). Toto zjištění podporuje i naše nálezy v kolotočovém bludišti s testem na dlouhodobou prostorovou paměť. Heterozygotní transgenní potkani McGill narušené učení ve vodním bludišti nevykazovali (Martino Adami et al., 2017), pouze byla poškozena prostorová referenční paměť v *probe trial* (Martino Adami et al., 2017), avšak méně než u homozygotů (Leon et al., 2010).

V bludišti tvaru Y – „suché“ úloze zaměřené na prostorovou pracovní paměť či krátkodobou habituaci – byli potkani testováni opakovaně (v 5, 6 a 8 měsících věku). Ani jedno sezení ale neodhalilo narušenou spontánní alternaci. Ačkoli vizuální pohled na graf naznačuje u potkanů McGill postupné snižování úspěšnosti alternace s narůstajícím věkem, rozdíl ve skutečnosti nedosahuje ani trendových hodnot. Transgenní potkani tedy nemají narušený tento typ paměti. Aktivita obou skupin měřená celkovým počtem návštěv všech ramen byla rovnocenná u obou skupin. Dosud nebyli homozygotní potkani McGill v této úloze otestováni. Nicméně byla prokázána nižší schopnost správné alternace mezi rameny u heterozygotních potkanů McGill v 6 a 12 měsících věku (Galeano et al., 2014; Martino Adami et al., 2017). Proč jsme podobné narušení nezaznamenali také v našem experimentu, není jasné, neboť experimentální design i věk testovaných zvířat byly podobné a homozygoti by měli vykazovat závažnější fenotyp.

V úlohách **rozpoznání přemístěného objektu** a **rozpoznání nového objektu** neprojevovali téměř 7-měsíční potkani McGill významné poškození rozpoznávací paměti v porovnání s kontrolami. Grafy naznačují, že rozpoznat prostorově přemístěný objekt dělalo modelovým potkanům větší problémy, v porovnání s kontrolami, než rozpoznat nový objekt. Nicméně rozdíly nebyly signifikantní, ani na úrovni trendu, což mohlo být dáno také velkou variabilitou v rámci skupiny a relativně malým počtem zvířat. Navíc přemístěný objekt příliš nepreferovala ani kontrolní zvířata, a je tedy možné, že prostorová změna objektu byla příliš malá na to, aby ji potkani zpozorovali nebo považovali za významnou. Iulita a kol. naopak odhalili deficit prostorové a rozpoznávací paměti v obou typech úloh u homozygotních i heterozygotních potkanů McGill ve 13 měsících věku (Iulita et al., 2014); ve 3 měsících věku dosáhlo u těchto potkanů signifikance pouze poškození v úloze rozpoznání nového objektu. Tato zjištění jsou v rozporu s naším pozorováním, avšak autoři použili

jiný design provedení úloh, např. použili 5 objektů namísto dvou, kratší (10 min) interval mezi fází tréninku a testu, testovali zvířata v jiném věku ad., takže výsledky nejsou plně srovnatelné s našimi. Heterozygotní potkani McGill v jiných studiích neprojevovali narušenou rozpoznávací paměť, a to ani v pokročilém věku (Galeano et al., 2014; Martino Adami et al., 2017). Je možné, že projevení deficitu je závislé na celkovém uspořádání, designu a provedení testů, které se může mezi laboratořemi velmi lišit. Čas strávený celkovou explorační úlohou byl v našem experimentu srovnatelný u obou skupin, pouze potkani McGill měli tendenci méně lézt na objekty; to lze však vysvětlit jejich zhoršenou motorickou koordinací a rovnováhou, které se objevily již ve věku 4,5 měsíce v **testu chůze po lati**, ve kterém více chybovali, po lati nebyli schopni normálně chodit, ale spíše se plazili, někteří padali a celkově potřebovali delší čas k jejímu přeběhnutí. Samotná lokomoce však poškozená nebyla, protože transgenní zvířata nachodila srovnatelnou vzdálenost jak v testu **otevřeného pole**, tak v **křížovém bludišti**. Normální lokomoční aktivitu v těchto úlohách reportují i jiné studie (Galeano et al., 2014; Martino Adami et al., 2017). V obou úlohách se však v našem případě lokomoční aktivita při opakovaném testování postupně snižovala, což ukazuje habituaci na aparaturu a nižší explorační aktivitu již známého prostředí. Protože se však habituace objevila u obou skupin, lze konstatovat, že si transgenní potkani zřejmě dané prostředí zapamatovali. Motorické poškození nebylo u potkanů McGill dosud testováno, s výjimkou schopnosti plavat, která se ale jevila normálně, jak jsme ukázali v naší studii, a stejně tak Leon et al. (2010). Zhoršená motorická koordinace bez ovlivnění lokomoce však byla reportována u analogického myšího modelu nesoucího lidský APP se švédskou a indianskou mutací (Lee et al., 2004). Problémy s chůzí a rovnováhou jsou často pozorované i u pacientů s AD (Suttanon et al., 2012; Visser, 1983).

V úloze testující **sociální paměť** se nepodařilo prokázat předpokládané paradigma úlohy, neboť ani kontrolní potkani nevěnovali při interakci vyšší pozornost neznámým figurantům oproti známým. Z chování potkanů McGill v této úloze tedy nelze usuzovat na deficit sociálního rozpoznávání a je na místě pouze konstatovat, že použitá metodika v tomto experimentu u potkanů kmene Wistar nefungovala. Analýza sociálního chování testovaných půlročních potkanů, bez ohledu na familiárnost figuranta, ovšem odhalila kvalitativní změny – potkani McGill věnovali ve srovnání s kontrolními potkany méně času explorační anogenitální oblasti juvenila a naopak více času věnovali očichávání ostatních částí těla. Stejně změny se podařilo prokázat i při jednoduché **sociální interakci** dvou potkanů McGill, což ukazuje na robustní fenotyp. Tito potkani také emitovali během interakce jednoduché ultrazvukové vokalizace kratší dobu než kontrolní potkani, což naznačuje narušenou vzájemnou sociální komunikaci. Anogenitální očichávání a olizování představuje pro potkany významný zdroj informací a umožňuje jim rozpoznávání na individuální úrovni (Moura et al., 2010). Ačkoli nelze tato pozorování interpretovat s jistotou, jedním z vysvětlení může být nižší motivace potkanů McGill zjišťovat identitu svých sociálních partnerů i přes ochotu s nimi interagovat. Alternativním vysvětlením může být zhoršená čichová percepce, znemožňující identifikaci jedince. Ke zhoršení čichu by mohlo dojít v důsledku změn probíhajících v mozku, jako je intracelulární akumulace A β (zatím však nikoli extracelulární plaky), která se objevuje

v olfaktorickém bulbu již v 6 měsících věku zvířat (Hegglund et al., 2015). Narušený čich se objevuje i u pacientů s Alzheimerovou chorobou nebo dokonce jen s mírnou kognitivní dysfunkcí (viz přehledový článek Murphy, 2019); deficit čichu byl pozorován i u myších modelů AD (Wesson et al., 2010).

Přehled kognitivních deficitů a typických neuropatologií, a zároveň věků, ve kterých byly pozorovány, zobrazují **Tab. 9** (mozkové patologie) a **Tab. 10** (kognitivní poškození). Tabulky zároveň srovnávají neuropatologické a kognitivní změny u modelu McGill s jiným genetickým modelem – transgenním potkanem Fischer 344 (TgF344-AD) nesoucím stejnou švédskou mutaci APP, ale místo indianské mutace v APP mají v genomu mutovaný presenilin 1 (Cohen et al., 2013). A β oligomery se tvoří u obou (resp. tří) těchto modelů, ačkoli McGill homozygoti je zřejmě tvoří dříve než heterozygoti a TgF344-AD. Amyloidní plaky však heterozygoti netvoří vůbec, zatímco u homozygotů, stejně jako u TgF344-AD, se začínají vytvářet přibližně v půl roce života či později (studie se mezi sebou v nástupu plaků plně neshodují). U potkanů TgF344-AD byla navíc opakovaně pozorována také neurofibrilární klubka s hyperfosforylovaným proteinem tau (viz **Tab. 9**), což je mezi transgenními hlodavci modelujícími AD poměrně vzácné; o jejich přítomnosti či nepřítomnosti u potkanů McGill doposud nebylo nic publikováno. Je důležité podotknout, že kognitivní zhoršení se objevuje u potkanů McGill ještě dříve, než se začnou formovat amyloidní plaky, tedy pouze za přítomnosti oligomerů. Potkani TgF344-AD také projevují celou řadu kognitivních deficitů, ovšem jejich porovnání s modelem McGill je obtížné, protože potkani byli často testováni v odlišném věku či jiné úloze. Nicméně snad lze obecně konstatovat, že oba modely vykazují narušené chování v prostorových a operantních úlohách, přičemž se zdá, že u McGill homozygotů se objevují dříve (pro detailnější přehled viz **Tab. 10**). Potkani McGill (homozygoti) by tak mohli sloužit pro výzkum pozdějších fází AD, zatímco pro sledování rané či prodromální fáze AD by mohli být vhodnější heterozygoti nebo potkani TgF344-AD.

Tab. 9. Přehled patologií spojených s A β a tau u homozygotních a heterozygotních potkanů McGill a u transgenních potkanů Fischer (TgF344-AD), včetně uvedených věků, ve kterých byla patologie zjištěna.

Model	Mutace	A β akumulace, oligomery	Amyloidní plaky	Hyperfosforylovaný tau, neurofibrilární klubka
McGill	APP (K670N, M671L)	<u>HOMO</u> : 1t, 3m, 6m a 13m - hipokampus, kortex (Leon et al., 2010; Hanzel et al., 2014)	<i>pouze HOMO (u HETERO nepřítomny)</i> 6m-9m - subiculum, entorhinální kortex, olfaktorický bulbus (Leon et al., 2010; Heggland et al., 2015)	<i>nepopsáno</i>
	APP (V717F)	<u>HETERO</u> : 6m-12m - hipokampus, kortex, amygdála; ale nižší množství a pozvolnější nástup než u HOMO (Leon et al., 2010; Galeano et al., 2014; Iulita et al., 2014)	12m-15m - hipokampus, kortex (Leon et al., 2010; Hanzel et al., 2014; Iulita et al., 2014; Heggland et al., 2015; Wilson et al., 2016) 18m-20m - celý mozek (Leon et al., 2010; Heggland et al., 2015)	
TgF344-AD	APP (K670N, M671L)	6m, 15m-16m a 26m - hipokampus, kortex (Cohen et al., 2013; Voorhees et al., 2018)	4m a 6m nepozorováni; 13m, 16m, 24m a 26m - hipokampus, kortex, striatum, cerebellum (Cohen et al., 2013; Voorhees et al., 2018; Morrone et al., 2019; Sare et al., 2020)	hyperfosforylovaný tau : 6m a 16m - locus coeruleus (Rorabaugh et al., 2017)
	PSEN1 ($\Delta E9$)		již 6m a 16m - hipokampus, mediální entorhinální kortex (Rorabaugh et al., 2017)	hyperfosforylovaný tau : 13m - hipokampus (GD), entorhinální kortex; větší asociovaná s plaky (Morrone et al., 2019)
				neurofibrilární klubka : 6m a 16m - cingulární kortex; nezávisle na přítomnosti pláků (<i>pouze z potkanů endogenního tau, nezávislé na mutacích lidského tau</i>) (Cohen et al., 2013)

APP = amyloid prekursorový protein; GD = gyrus dentatus; HETERO = heterozygoti; HOMO = homozygoti; MRI = magnetic resonance imaging; PSEN1 = presenilin 1; věk: m = měsíc, t = týden

Tab. 10. Přehled kognitivních deficitů v různých úlohách u homozygotních a heterozygotních potkanů McGill a u transgenních potkanů Fischer (TGF344-AD), včetně uvedených věků, ve kterých bylo poškození zjištěno. Tmavě šedé buňky ukazují výsledky z naší studie (Petrasek et al., 2018 – publikace č. 1).

Model	Mutace	Morrisovo vodní bludiště	Bludiště tvaru Y	Bludiště tvaru T	Test rozpoznání přemístěného (NOL) a nového (NOR) objektu	Kolotočové bludiště	Barnesové bludiště	Strahové podmiňování	Operantní úlohy	Test sociálního rozpoznávání
McGill	APP (K670N, M671L) APP (V717F)	HOMO: deficit učení a dlouhodobé paměti (3m a 13m); není deficit ve viditelném ostrůvku (13m) (Leon et al., 2010)	HOMO: neprokázaný deficit alternace (5m, 6m a 8m) (Petrasek et al., 2018)	HOMO: nepopsáno	HOMO: deficit prostorové a rozpoznávací paměti (3m pouze NOR, 13m NOL i NOR) (Iulita et al., 2014)	aktivní vyhýbání se místu: HOMO: deficit učení, prostorové dlouhodobé paměti a kognitivní koordinace (6m) (Petrasek et al., 2018)	HOMO: nepopsáno	HOMO: deficit (3m a 13m) (Iulita et al., 2014)	vizuální diskriminace s dotykovou obrázkou: HOMO: deficit (4m) (Wilson et al., 2016)	HOMO: neprokázaný deficit sociální paměti (6m) (Petrasek et al., 2018)
		HOMO: deficit pracovní paměti (trend), prostorové navigace, ve viditelném ostrůvku (5m) (Petrasek et al., 2018)	HETERO: učení nenarušeno; deficit v probe trial (3m, 6m a 12m) (Galleano et al., 2014; Martino Adami et al., 2017); ale nepotvrzeno (3m a 13m) (Leon et al., 2010)	HETERO: deficit alternace (6m a 12m; ne 3m) (Galleano et al., 2014; Martino Adami et al., 2017)	HETERO: nepopsáno	HETERO: deficit prostorové a rozpoznávací paměti (3m a 13m - NOL i NOR) (Iulita et al., 2014); ale nepotvrzeno (6m, 6m a 12m - NOR) (Galleano et al., 2014; Martino Adami et al., 2017)	pasivní vyhýbání se místu: HOMO: neprokázaný deficit (6m) (Petrasek et al., 2018)	HETERO: nepopsáno	HETERO: deficit (3m a 13m) (Iulita et al., 2014)	HETERO: nepopsáno
TGF344-AD	APP (K670N, M671L) PSEN1 (ΔE9)	akvizice: mírný deficit (6m, 7m-8m, 10m-11m a 16m) (Rorabaugh et al., 2017; Berkowitz et al., 2018); ale nepotvrzeno (4m-7m, 24m) (Berkowitz et al., 2018; Pentkowski et al., 2018; Voorhees et al., 2018)	neprokázaný deficit alternace (9m) (Tournier et al., 2021)	deficit referenční paměti (10m) (Tournier et al., 2021)	NOR: deficit rozpoznávací paměti (12m-13m a 24m) (Cohen et al., 2013; Morrone et al., 2019)	nepopsáno	akvizice: deficit (15m a 24m-trend) (Cohen et al., 2013; Morrone et al., 2019); ale nepotvrzeno (12m-13m a 15m) (Voorhees et al., 2018; Morrone et al., 2019)	nepopsáno	úloha delayed nonmatch-to-sample: pomalejší učení - pracovní paměť (5m) (Munoz-Moreno et al., 2018)	nepopsáno
		přeučení (reversal): deficit (6m a 16m) (Rorabaugh et al., 2017); ale nepotvrzeno (24m - deficit pouze v reversal probe trial) (Voorhees et al., 2018)	deficit pracovní paměti (6m, 12m a 18m) (Sare et al., 2020)	přeučení (reversal): deficit (6m-trend, 12m-13m a 24m) (Cohen et al., 2013; Morrone et al., 2019)						

APP = amyloid prekursorový protein; HETERO = heterozygoti; HOMO = homozygoti; NOL = novel object location; NOR = novel object recognition; PSEN1 = presenilin 1; věk: m = měsíc

2.4. Publikace č. 2

2.4.1. Materiál & metody

Zvířata. Mladé dospělé potkaní samce kmene Long-Evans s patentovaným komerčním názvem Samaritan rat™ (zkráceně potkan Samaritan) jsme pořídili od firmy Taconic Pharmaceuticals, USA. Potkani podstoupili ještě před dodáním do Laboratoře Neurofyziologie paměti následující proceduru (popsaná je též v práci Lecanu et al., 2006). Potkani dostávali intracerebroventrikulární infuzi roztoku, který byl aplikován chronicky po dobu 4 týdnů (rychlost aplikace 2,5 µl/h) pomocí osmotické pumpy voperované pod kůži na zádech, která byla spojena s permanentní kanylou zasunutou do levé mozkové komory. Infuze pro experimentální potkany obsahovala Aβ1-42 (15 µM) a dvě prooxidativní substance: heptahydrát sulfátu železnatého (1 mM) a L-butionin-(S, R)-sulfoximin (12 mM), rozpuštěné v umělé cerebrospinalní tekutině. Tyto substance měly indukovat patologii podobnou AD. Kontrolní zvířata (*sham*) dostávala infuzi pouze solventu bez aktivních substancí. Infuze byla zahájena sedmý týden po narození. Ve věku 8 týdnů byli potkani transportováni z firmy Taconic Pharmaceuticals do naší laboratoře ve Fyziologickém ústavu AV ČR, kde se nejprve dva týdny aklimatizovali v místním akreditovaném zvěřinci se stálou vlhkostí vzduchu, teplotou (22 ± 1 °C) a pravidelným světelným režimem 12 h/12 h světlo/tma. Zvířata byla chována ve standardních chovných nádobách (44 × 28 × 23 cm) s volným přístupem k vodě i potravě. Před experimentem byla zvířata přivykána na manipulaci experimentátory (*handling*) po dobu 5 dní (5–10 min/den). Potkani z obou skupin jsme testovali vždy ve střídavém pořadí, abychom vyloučili vliv cirkadiálních změn na jejich výkon. Z původního počtu 21 potkanů bohužel dva zemřeli a jeden musel být vyloučen z experimentu z důvodu nestandardního chování (anxieta, agrese, snaha uprchnout z aparatury). Nakonec jsme v naší studii použili 10 kontrol a 9 potkanů Samaritan ve věku 11–22 týdnů, kteří prošli nejprve testem Morrisovo vodní bludiště, a poté úlohou aktivní vyhýbání se místu s přeúčením v kolotočovém bludišti. Design celého experimentu viz v **Tab. 11**. Všechny experimenty byly schváleny místní komisí pro ochranu zvířat a vyhověly Zákonu na ochranu zvířat proti týrání České republiky a směrnícím Evropské unie (2010/63/EU).

Tab. 11. Design experimentu.

Týden 7	Týden 8–10	Týden 11–12			Týden 20–22			Týden 22
Operace (Taconic Pharmaceuticals, USA)	Příjezd potkanů do FGÚ AV ČR, aklimatizace, <i>handling</i>	Morrisovo vodní bludiště			Kolotočové bludiště (aktivní vyhýbání se místu)			Odběry mozkové tkáně
		Skrutý ostrůvek (4 dny)	<i>Probe</i> <i>trial</i> (1 den)	Viditelný ostrůvek (1 den)	Habituační (2 dny)	Akvizice (5 dní)	Přeúčení (5 dní)	

Morrisovo vodní bludiště. Použili jsme stejnou aparaturu, která je popsána výše v kap. 2.3.1., pouze s tím rozdílem, že voda byla zakalena netoxickou bílou barvou (Primalex, PPG Deco, ČR) a ostrůvek byl poslední den testování viditelně označen černým nástavcem. V této studii

jsme použili protokol pro testování dlouhodobé referenční paměti: **trénink se skrytým ostrůvkem** (den 1–4), **probe trial** bez ostrůvku (den 5), **úloha s viditelným ostrůvkem** (den 6). Ostrůvek byl v tréninkové fázi stabilně umístěn v jednom vybraném kvadrantu a každý potkan měl denně 6 plaveb oddělených 15-min intervaly, přičemž každou plavbu startoval potkan z jiného pseudonáhodně vybraného místa po obvodu bazénu. *Probe trial* sestával z jedné 60 s trvající plavby bez ostrůvku pro prokázání uchované paměťové stopy o pozici ostrůvku a míře přesvědčení potkanů o této pozici. Ve variantě s viditelným ostrůvkem byli potkani vypouštěni z různých míst a měli celkem 8 plaveb v 15-min intervalech; ostrůvek byl umístěn do jiného kvadrantu než při tréninku. Testování probíhalo v tmavé části dne (mezi 18. a 23. hodinou). Hodnocenými parametry byly uplavaná vzdálenost a latence k dosažení ostrůvku a v případě *probe trial* čas strávený v cílovém kvadrantu s původní polohou ostrůvku a průměrná vzdálenost od středu bazénu (tigmotaxe).

Kolotočové bludiště. Aparatura je popsána v kap. 2.3.1. Potkani byli nejprve 2 dny **habituování** na prostředí místnosti a arény (první den na stabilní aréně, druhý den na rotující aréně). Poté jsme potkany 5 dní testovali v úloze **aktivní vyhýbání se místu**, při kterém aréna rotovala rychlostí 1 otáčka/min a zakázaný sektor byl definován v rámci stabilního referenčního rámce místnosti. Zvířata absolvovala jedno 20-min sezení denně. V první fázi **akvizice** (den 3–7) si potkani museli zapamatovat polohu sektoru a vyhýbat se mu. Ve druhé fázi **přeučení** (*reversal*, den 8–12) byla poloha sektoru změněna o 180° a potkani se museli na tuto novou pozici přeučit. Testování probíhalo ve světlé části dne (mezi 10. a 18. hodinou). V této úloze jsme měřili v programu CM Manager (Bahnik, 2014) počet vstupů do sektoru, maximální čas mezi dvěma vstupy, čas do prvního vstupu a nachozenou vzdálenost (lokomoci).

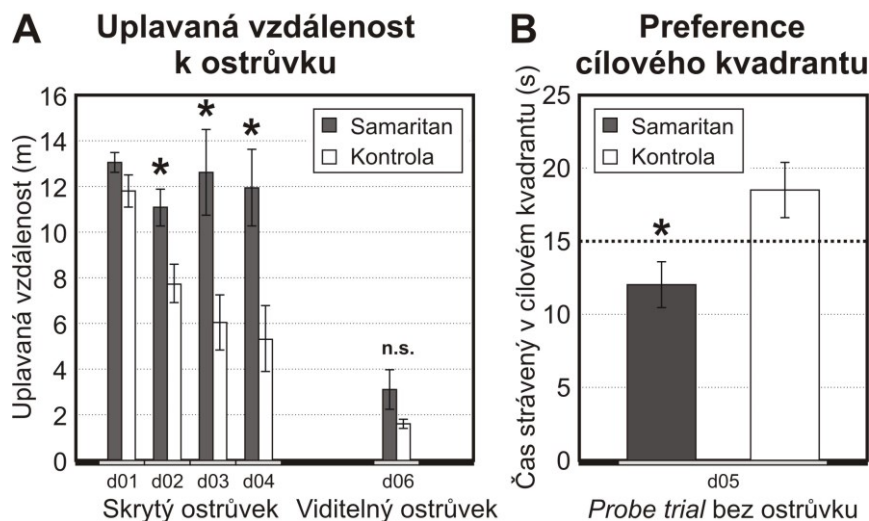
Statistická analýza. Data z vodního bludiště se skrytým ostrůvkem byla analyzována pomocí testu *mixed effect* ANOVA s opakovanými faktory „plavba“ a „den“, a *between-subject* faktorem „skupina“, v programu STATISTICA. Data z varianty s viditelným ostrůvkem byla analyzována pomocí testu dvojcestná ANOVA s opakovanými měřeními, kde „skupina“ byla *between-subject* a „plavba“ *within-subject* faktor. Na analýzu dat z *probe trial* byl použit *t*-test. Data z kolotočového bludiště byla vyhodnocena zvlášť pro akvizici a zvlášť pro přeučení testem dvoucestná ANOVA s opakovanými měřeními; „den“ jako *within-subject* faktor a „skupina“ jako *between-subject* faktor. V případě nenormálního rozdělení dat (počet vstupů, maximální čas vyhýbání a čas do prvního vstupu) byla data transformována přirozeným logaritmem (*ln*). *Post hoc* analýza byla provedena testem Newman-Keuls. Signifikance byla určena na hladině $p < 0,05$.

2.4.2. Výsledky

Morrisovo vodní bludiště. Ve fázi **tréninku se skrytým ostrůvkem** uplavali potkani Samaritan oproti kontrolním potkanům delší dráhu, než našli ostrůvek, což značí zhoršenou paměť. Analýza *mixed effects* ANOVA (skupina × den × plavba) odhalila signifikantní efekt skupiny ($F_{(1,13)} = 12,62$; $p < 0,05$), efekt dne ($F_{(3,39)} = 4,76$; $p < 0,05$), efekt plavby ($F_{(5,65)} = 10,57$; $p < 0,05$) a

interakci skupina*den ($F_{(3,39)} = 4,41$; $p < 0,05$). Jiné interakce nebyly významné. Celková uplavaná dráha za všechny plavby pro daný den je ukázána na **Obr. 16A**. Dráha pro individuální plavby není znázorněna, ale u obou skupin potkanů se v rámci dne snižovala. Analýza latence nalezení ostrůvku ukázala podobné efekty jako uplavaná dráha, a pro svou vzájemnou zastupitelnost zde nejsou výsledky latence prezentovány. V rámci **probe trial** *t*-test ukázal, že potkani Samaritan strávili méně času v cílovém kvadrantu než kontroly ($T_{(1,16)} = 10,13$; $p < 0,05$). Na grafu v **Obr. 16B** lze vidět, že kontrolní potkani trávili v cílovém kvadrantu více času než náhodně plavající potkan (> 15 s), zatímco u potkanů Samaritan byl čas pod touto hodnotou. Potkani Samaritan zřejmě zvolili špatnou vyhledávací strategii, a vizuální pozorování naznačovala mírnou preferenci opačného kvadrantu (zde se nacházela startovní pozice) a vyšší tigmotaxi. Tu jsme potvrdili i statistickou analýzou pomocí *t*-testu (měřeno jako průměrná vzdálenost potkana od středu nádrže) prokazující, že potkani Samaritan trávili více času na periferii ($T_{(1,16)} = 2,78$; $p < 0,05$). V **úloze s viditelným ostrůvkem** (**Obr. 16A**) dvoucestná ANOVA (skupina \times plavba) neodhalila signifikantní efekt skupiny v uplavané dráze k ostrůvku ($F_{(1,14)} = 3,44$; $p > 0,05$), ale ukázala signifikantní efekt plavby ($F_{(7,98)} = 3,21$; $p < 0,05$). Vizuálně jsme pozorovali u potkanů Samaritan horší výkon v počátečních plavbách, než se přizpůsobili novým pravidlům úlohy; interakce skupina*plavba však nevyšla signifikantně. Podobné výsledky jsme získali též analýzou latence nalezení ostrůvku (neukázáno).

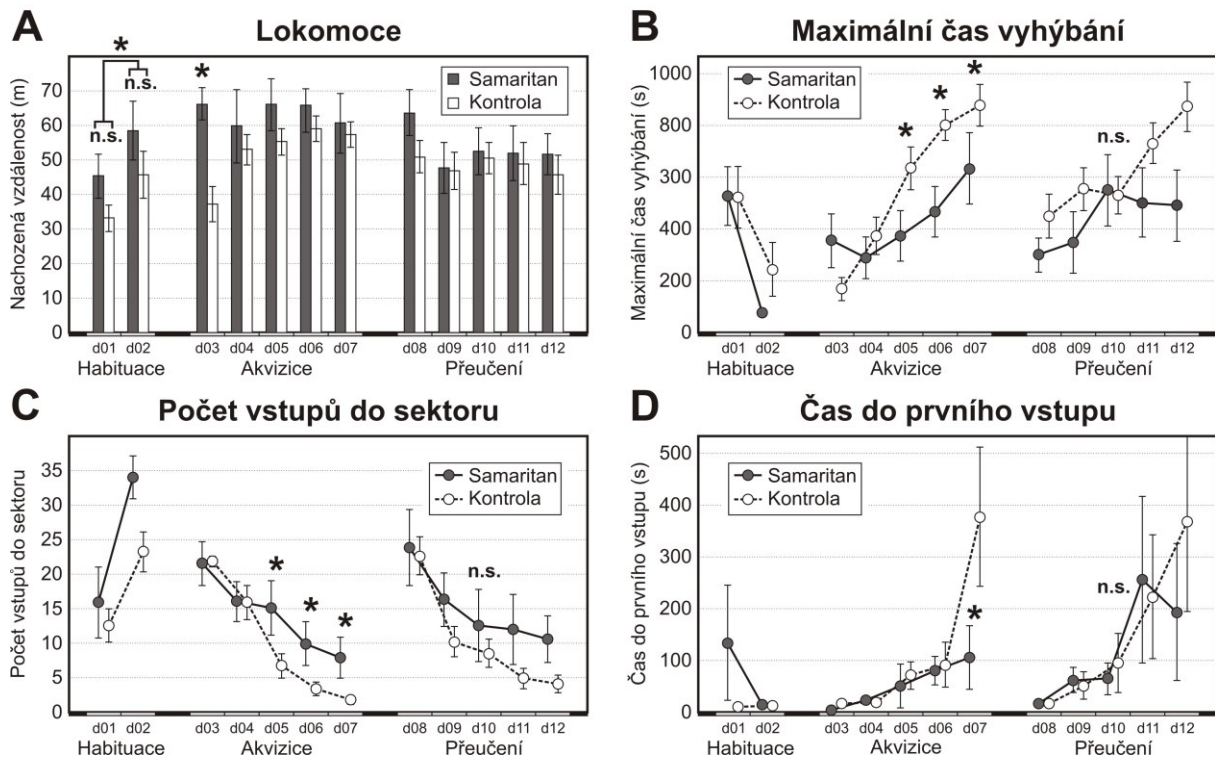
Morrisovo vodní bludiště



Obr. 16. Morrisovo vodní bludiště. **(A)** Uplavaná vzdálenost k ostrůvku. Během akvizice se skrytým ostrůvkem ve stabilní pozici (den 1–4) byli potkani Samaritan významně horší a jejich výkon se v průběhu tréninku nezlepšoval. Test s viditelným ostrůvkem (den 6) ukázal, že potkani z obou skupin měli motivaci a byli fyzicky schopni doplatit k ostrůvku. Graf naznačuje, že potkani Samaritan uplavali k ostrůvku delší dráhu, ale rozdíl není statisticky významný (n.s.). **(B)** *Probe trial* s odebraným ostrůvkem (1 plavba v den 5) byl proveden po 4-denním tréninku a před úlohou s viditelným ostrůvkem. Potkani Samaritan strávili v cílovém kvadrantu méně času než kontrolní potkani, 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; * $p < 0,05$ (*t*-test na zprůměrovaných datech)

Kolotočové bludiště. Ve fázi **habituače** (**Obr. 17**, na panelech vlevo) nebyl v nachozené vzdálenosti (**Obr. 17A**) detekován žádný efekt skupiny ($F_{(1,15)} = 2,35$; $p > 0,05$), ukázal se však signifikantní efekt dne ($F_{(1,15)} = 4,74$; $p < 0,05$), kdy zvířata nachodila více metrů druhý den na rotující aréně. Analýza neodhalila významnou interakci skupina*den. Parametry prostorové navigace jsme v habituaci nehodnotili, protože potkani nedostávali elektrické ranky, a neměli tedy důvod se vyhýbat. V **akvizici** (**Obr. 17**, na panelech uprostřed) se nachozená vzdálenost mezi skupinami nelišila ($F_{(1,16)} = 1,84$; $p > 0,05$), dvoucestná ANOVA však odhalila signifikantní efekt dne ($F_{(4,64)} = 3,09$; $p < 0,05$) a signifikantní interakci skupina*den ($F_{(4,64)} = 4,43$; $p < 0,05$). *Post hoc* test Newman-Keuls odhalil, že kontrolní potkani postupně zvyšovali nachozenou vzdálenost v čase, zatímco potkani Samaritan měli stabilní lokomoci ve všech testovacích dnech akvizice (**Obr. 17A**). Při prohlížení dat jsme si všimli, že některé kontroly vykazovali během prvního dne akvizice pasivní chování, ale s postupem času tuto strategii opouštěli a nakonec se všichni sektoru úspěšně vyhýbali. U potkanů Samaritan bylo pasivní chování na začátku vzácnější, přesto si několik potkanů úlohu neosvojilo, a úspěšně se vyhýbali jenom někteří z nich. Analýza maximálního času mezi dvěma vstupy (**Obr. 17B**) odhalila efekt dne ($F_{(4,64)} = 16,19$; $p < 0,05$), ale ne efekt skupiny ($F_{(1,16)} = 1,79$; $p > 0,05$); interakce skupina*den byla statisticky významná ($F_{(4,64)} = 5,70$; $p < 0,05$). *Post hoc* test ukázal signifikantní nárůst poslední tři dny akvizice ($p < 0,05$), který byl dán především výkonem kontrolních zvířat, neboť potkani Samaritan vykazovali kratší maximální čas vyhýbání ($p < 0,05$). Analýza počtu vstupů do sektoru (**Obr. 17C**) ukázala podobné výsledky: signifikantní efekt dne ($F_{(4,56)} = 30,90$; $p < 0,05$), ale ne skupiny ($F_{(1,14)} = 2,93$; $p > 0,05$), signifikantní interakce skupina*den ($F_{(4,56)} = 3,02$; $p < 0,05$). *Post hoc* analýza odhalila nižší počet vstupů poslední tři dny akvizice oproti prvním dvěma dnům ($p < 0,05$), což bylo opět dáno lepším výkonem kontrolních zvířat oproti potkanům Samaritan ($p < 0,05$). Dvoucestná ANOVA provedená na čase do prvního vstupu (**Obr. 17D**) odhalila signifikantní efekt dne ($F_{(4,64)} = 9,85$; $p < 0,05$) a interakci skupina*den ($F_{(4,64)} = 3,26$; $p < 0,05$); efekt skupiny byl ve formě trendu ($F_{(1,16)} = 3,98$; $p = 0,06$), což mohlo být dáno vysokou variancí v datech. *Post hoc* test na čase do prvního vstupu ukázal, že paměť se zlepšovala výrazněji kontrolním potkanům ve srovnání s potkany Samaritan; nicméně byla zde velká variabilita v rámci skupiny. Výsledky všech prostorových parametrů tedy ukazují, že modelová zvířata byla v akvizici horší než kontroly. Během **přeučení** (**Obr. 17**, na panelech vpravo) nebyl patrný signifikantní efekt skupiny v žádném ze sledovaných parametrů ($p > 0,05$). Potkani Samaritan tedy nachodili podobnou vzdálenost jako kontroly (**Obr. 17A**), což naznačuje, že se již přizpůsobili úloze a nevykazovali známky poškození lokomoce. Z hlediska kognitivních parametrů odhalila dvoucestná ANOVA signifikantní efekt sezení v maximálním čase mezi dvěma vstupy ($F_{(4,60)} = 6,17$; $p < 0,05$; **Obr. 17B**) a v počtu vstupů do sektoru ($F_{(4,44)} = 14,59$; $p < 0,05$; **Obr. 17C**), ale ne v čase do prvního vstupu (**Obr. 17D**). Neodhalila však signifikantní efekt skupiny, ani interakci v žádném z těchto parametrů, přestože grafy naznačují lepší hodnoty u kontrolních zvířat. *Post hoc* analýza počtu vstupů do sektoru ukázala, že v prvním sezení přeučení vykazovali potkani horší výsledky než v následujících dnech. Čas do prvního vstupu vykazoval velkou variabilitu a žádný faktor nevyšel signifikantně.

Kolotočové bludiště



Obr. 17. Kolotočové bludiště. Úloha byla rozdělena na dvě 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, ale lokomoce vzrostla druhý den habituace na rotující aréně oproti habituaci na stabilní aréně první den. V akvizici efekt skupiny také nebyl signifikantní, ale 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 konečný 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 signifikantní 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

2.4.3. Diskuze

Potkani Samaritan vykazovali narušené učení a poškozenou dlouhodobou paměť. V **Morrisově vodním bludišti** si nedokázali účinně zapamatovat polohu skrytého ostrůvku a efektivně jej nalézt. Oproti kontrolním potkanům se v průběhu nezlepšovali (k nalezení ostrůvku potřebovali více času a uplavali delší dráhu) a při plavbě *probe trial* bez ostrůvku nepreferovali cílový kvadrant, ve kterém byl původně ostrůvek umístěn. K neúspěchu mohla přispět i vyšší anxieta (tigmotaxe). Procedurální poškození jsme nepozorovali, potkani nacházeli viditelně označený ostrůvek rychle, podobně jako kontroly. Lecanu a kol. sledovali ve vodním bludišti pouze efekty experimentální manipulace na vybavení vzpomínek získaných ještě před chirurgickým zákrokem (Lecanu et al., 2006), zatímco naše experimenty zahrnovaly prošetření schopností učení, (přesnosti) vybavení si vzpomínky v *probe trial* a zvládání procedurálních aspektů úlohy již u připravených modelových zvířat.

Úloha aktivní vyhýbání se místu v **kolotočovém bludišti** rovněž ukázala narušené učení a kognitivní koordinaci, což je u tohoto modelu nové zjištění. Během akvizice se potkani Samaritan polohu zakázaného sektoru učili, ale pomaleji než kontroly, a třetí až pátý den akvizice měli vyšší počet vstupů do sektoru a kratší maximální čas mezi dvěma vstupy. Latence do prvního vstupu byla signifikantně rozdílná pouze pátý den akvizice, kdy kontrolní potkani výrazně zvýšili latenci oproti předchozím dnům, zatímco u potkanů Samaritan byla stále na nízké úrovni. Tento horší výkon nelze vysvětlit odlišnou lokomocí, která byla signifikantně rozdílná pouze první den akvizice, kdy ale nebyl rozdíl v kognici, a ostatní dny se mezi skupinami nelišila. U kontrolních potkanů nachozená vzdálenost s časem rostla, s tím, jak si postupně osvojovali úlohu a využívali aktivní strategii řešení úlohy. Potkani Samaritan oproti tomu vykazovali stabilní a poměrně vysokou lokomoci každý den, nicméně v osvojení úlohy nedosáhli úrovně kontrol. Lokomoční aktivita nebyla rozdílná ani během habituace, která akvizici předcházela. Během habituace se potkani pohybují nenuceně, což je analogické spontánní lokomoci v testu otevřeného pole, a v tomto případě nebylo odhaleno žádné velké motorické poškození. Deficit kognitivní koordinace pozorovaný u modelových potkanů Samaritan dobře odráží poškození i u lidských pacientů s AD. Meta-analýza autorů Ben-David a kolegů ukazuje narušené zpracování vícečetných proudů informací (selektivní pozornost) u pacientů s AD při Stroopově testu (Ben-David et al., 2014), který lze považovat za analog úlohy aktivní vyhýbání v kolotočovém bludišti u potkanů (viz kapitolu 1.1.2.). Naše pozorování u potkanů Samaritan lze vysvětlit i obecnějším poškozením prostorové navigace a paměti, které jsme pozorovali i ve vodním bludišti a které samo o sobě stačí ke snížení výkonu v kolotočovém bludišti. Kognitivní koordinace bohužel dosud nebyla u animálních modelů AD zkoumána, takže rozklíčovat odpověď není snadné a otázka zůstává otevřena pro další studie.

Následná fáze přeučení (*reversal*) se změnou polohou sektoru neprokázala u potkanů Samaritan významně narušenou kognitivní flexibilitu. Přestože grafy naznačují zhoršení oproti kontrolám (vyšší počet vstupů a nižší maximální čas mezi dvěma vstupy), rozdíly mezi skupinami

nevyšly signifikantně, což může být dáno poměrně velkou variabilitou v rámci skupiny. Zjištění je obtížné interpretovat. Je možné, že pro potkany Samaritan byla tato fáze ve skutečnosti jednodušší, pokud si nepamatovali původní polohu sektoru (neměli se co přeučovat), než pro kontrolní potkany, kteří měli předchozí polohu sektoru dobře zafixovanou. Lokomoce ve fázi přeučení byla opět srovnatelná u obou skupin.

2.5. Publikace č. 3

2.5.1. Materiál & metody

Zvířata. Ve studii jsme použili celkem 47 samců potkanů kmene Wistar/Hann (Velaz Ltd., ČR). Potkani byli chováni ve skupinách po 2–3 jedincích ve standardních průhledných chovných nádobách (44 × 28 × 23 cm) s potravou a vodou *ad libitum*, ve větrané místnosti s teplotou 22 °C a 12/12-hodinovým cyklem světlo/tma. Potkani byli nejprve chováni ve zvěřinci Psychiatrického centra Praha, kde byl připraven model, a později byli převezeni do chovného zařízení Fyziologického ústavu AV ČR. Po aklimatizační periodě byli 5 dní (5–10 min denně) přivykáni na experimentátory (*handling*) a poté testováni v baterii behaviorálních úloh. Všechny experimenty byly schváleny místní komisí pro ochranu zvířat a vyhověly Zákonu na ochranu zvířat proti týrání České republiky a směrnicím Evropské unie (2010/63/EU).

Příprava modelu. Celkem 6 samic s vrhy bylo chováno individuálně ve standardních chovných nádobách. Mlád'atům samčího pohlaví (9 zvířat/vrh) byl denně aplikován LPS (pocházející z *Escherichia coli*, serotyp 026:B6, Sigma-Aldrich) v dávce 2 mg/kg (skupina „LPS“), nebo ekvivalentní množství fyziologického roztoku (skupina „kontroly“). LPS byl podáván intraperitoneálně (i.p.) 5.–9. den po narození. Sourozenci byli náhodně rozděleni do skupin tak, aby byl jejich poměr v rámci vrhu vyvážený. Mlád'ata byla odstavena od matek ve věku 28 dní.

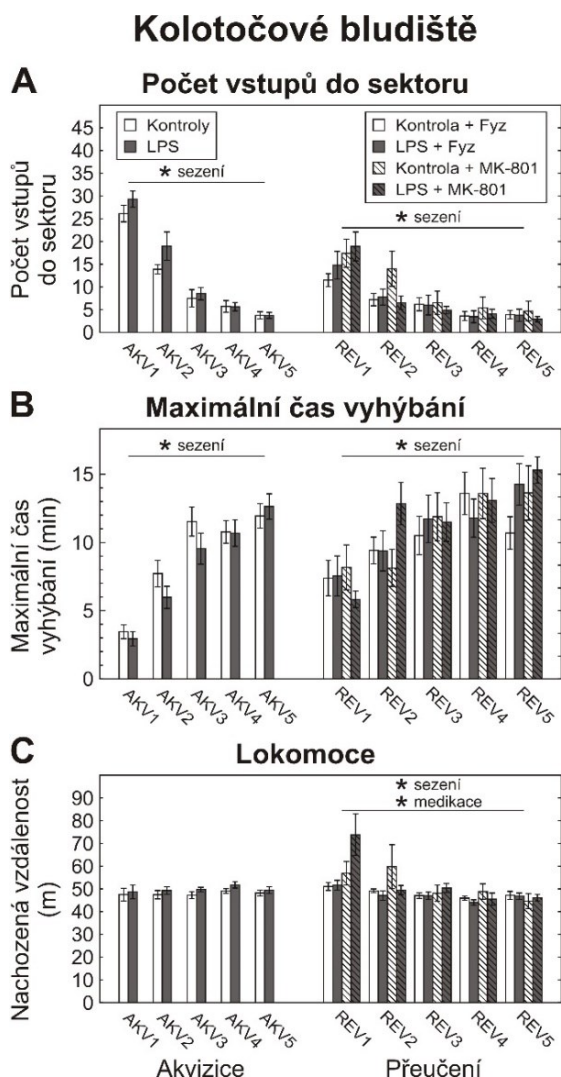
Kolotočové bludiště. V experimentu jsme použili stejnou aparaturu, jako je popsána v kap. 2.3.1. Otestovali jsme 23 LPS a 24 kontrolních potkanů ve věku 3 měsíce (hmotnost 350–450 g). Každý potkan měl denně jedno sezení na rotující aréně, které trvalo 20 min a proběhlo ve světlé části dne (mezi 10. a 18. hodinou). V úloze **aktivní vyhýbání se místu (akvizice)** trvajícím 5 dní (AKV1–5) se museli potkani vyhýbat zakázanému sektoru stabilnímu v rámci místnosti. V následné 5-denní (REV1–5) fázi **přeučení (reversal)** byla pozice sektoru otočena o 180° a potkani si museli zapamatovat tuto jeho novou polohu. Během přeučení navíc polovina zvířat z každé skupiny dostávala 30 min před sezením i.p. injekci MK-801 (dizocilpin; Sigma-Aldrich, ČR) v dávce 0,08 mg/kg jako dodatečnou zátěž vyvolávající akutní psychózu. Druhá polovina zvířat obdržela fyziologický roztok (Fyz) jako kontrolu, čímž vznikly celkem 4 skupiny: Kontrola + Fyz (n = 10), LPS + Fyz (n = 9), Kontrola + MK-801 (n = 10), LPS + MK-801 (n = 10). Nízkou dávkou MK-801 jsme zvolili z důvodu, aby látka nezpůsobila velký kognitivní a procedurální deficit u všech zvířat, ale abychom mohli detekovat potenciální poškození indukované MK-801 pouze u LPS zvířat. V kolotočovém bludišti jsme hodnotili počet vstupů do sektoru, maximální čas mezi dvěma vstupy a nachozenou vzdálenost (lokomoci) za použití software CM Manager (Bahnik, 2014). Během každého sezení jsme zároveň nahrávali ultrazvukovou vokalizaci (mikrofon Ultramic 250K, Dodotronic, Italy) jako měřítko emočního stavu zvířat. Audacity 2.1.2 software sloužil k nahrávání i následné offline analýze přítomnosti anxiózní vokalizace na frekvenci kolem 22 kHz (viz příklad na **Obr. 19C**). Ve fázi přeučení jsme analyzovali data pouze od 39 jedinců, u zbylých zvířat byla data znehodnocena technickou závadou.

Statistická analýza. S použitím software IBM SPSS Statistics jsme parametry měřené v kolotočovém bludišti počítali pomocí testu trojcestná ANOVA s opakovanými měřeními. „Skupina“ (LPS × kontroly), a v přeučení navíc „medikace“ (MK-801 × fyziologický roztok), představovaly *between-subject* faktor a „sezení“ (AKV1–AKV5, v přeučení REV1–REV5) jako *within-subject* faktor. Akvizice a přeučení byly hodnoceny dvěma nezávislými analýzami. Některá data musela být transformována (počet vstupů do sektoru logaritmicky, maximální čas vyhýbání druhou odmocninou), aby dosáhla parametrických předpokladů. Ultrazvuková vokalizace v kolotočovém bludišti byla hodnocena testem *generalized estimating equations* (GEE). Signifikanci jsme akceptovali při $p < 0,05$.

2.5.2. Výsledky

Kolotočové bludiště. V akvizici se počet vstupů do sektoru s každým dalším sezením významně snižoval ($F_{(4,172)} = 153,747$; $p < 0,001$; **Obr. 18A**). *Repeated planned contrasts* ukázaly signifikantní pokles mezi každými dvěma po sobě jdoucími dny (**Tab. 12**), což značí úspěšné osvojení si úlohy. Nebyl však patrný rozdíl mezi skupinami ($F_{(1,43)} = 1,305$; $p = 0,260$), LPS potkani se tedy úlohu naučili stejně dobře jako kontroly. V případě maximálního času mezi dvěma vstupy bylo také viditelné zlepšení napříč sezeními ($F_{(4,172)} = 85,477$; $p < 0,001$; **Obr. 18B**) a *repeated planned contrasts* odhalily nárůst téměř mezi všemi sezeními (**Tab. 13**), což podporuje předchozí tvrzení. Ani v tomto parametru však nebyl významný efekt LPS ($F_{(1,43)} = 1,070$; $p = 0,307$). Lokomoce byla po celou dobu akvizice na velmi stabilní úrovni ($F_{(4,172)} = 0,548$; $p = 0,700$; **Obr. 18C**), a to u obou skupin ($F_{(1,43)} = 0,387$; $p = 0,537$); interakce skupina*sezení rovněž nevyšla signifikantně ($F_{(1,172)} = 0,186$; $p = 0,945$). Změnu polohy sektoru se v další fázi úlohy potkani **přeučili** dobře. Mezi sezeními bylo vidět významné zlepšování v počtu vstupů do sektoru ($F_{(4,132)} = 55,686$; $p < 0,001$; **Obr. 18A**), které potvrdily *repeated planned contrasts* mezi prvními čtyřmi sezeními (**Tab. 14**). Efekt LPS ($F_{(1,33)} = 0,056$; $p = 0,815$), ani medikace MK-801 ($F_{(1,33)} = 0,198$; $p = 0,659$) však nevyšly signifikantně. Analýza prokázala také signifikantní nárůst maximálního času mezi dvěma vstupy ($F_{(4,132)} = 19,149$; $p < 0,001$; **Obr. 18B**) a přestože *repeated planned contrasts* odhalily signifikantní nárůst pouze mezi prvním a druhým sezením (**Tab. 15**), tento trend pokračuje i mezi dalšími sezeními, navíc hodnoty byly již od počátku vysoké. Rozdíl mezi LPS a kontrolními potkany ($F_{(1,33)} = 0,282$; $p = 0,599$), a stejně tak vliv MK-801 ($F_{(1,33)} = 0,731$; $p = 0,399$), však nebyly významné. Analýza odhalila signifikantní efekt sezení na nachozenou vzdálenost ($F_{(4,132)} = 7,391$; $p < 0,001$) a efekt medikace ($F_{(1,33)} = 11,444$; $p = 0,002$), kdy potkani po MK-801 nachodili delší vzdálenost než ti s fyziologickým roztokem (**Obr. 18C**). Efekt LPS však významný nebyl ($F_{(1,33)} = 0,425$; $p = 0,519$) a analýza neprokázala signifikanci ani v interakcích skupina*sezení ($F_{(4,132)} = 1,562$; $p = 0,188$), skupina*medikace ($F_{(1,33)} = 0,102$; $p = 0,751$) a skupina*medikace*sezení ($F_{(1,33)} = 0,611$; $p = 0,440$). Nicméně odhalila významnou interakci medikace*sezení ($F_{(4,132)} = 2,920$; $p = 0,024$), která zřejmě vysvětluje i významný efekt medikace jako takové. Pomocí *simple effects* analýzy jsme upřesnili, že

lokomoční aktivita byla u potkanů po MK-801 vyšší než u kontrol v prvním a třetím sezení, tj. REV1 ($F_{(1,36)} = 8,746$; $p = 0,006$) a REV3 ($F_{(1,36)} = 5,452$; $p = 0,025$), avšak ne v ostatních sezeních, REV2 ($F_{(1,36)} = 1,574$; $p = 0,218$), REV4 ($F_{(1,36)} = 1,166$; $p = 0,288$) a REV5 ($F_{(1,36)} = 0,017$; $p = 0,896$).



Obr. 18. Kolotočové bludiště. Postupné zlepšování bylo patrné v počtu vstupů do sektoru (A) i v maximálním čase mezi dvěma vstupy (B). 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. Lokomoční aktivita (C) také nebyla ovlivněna LPS, avšak akutní aplikace MK-801 ji zvýšila, a to zejména na začátku fáze přeučení. Efekt sezení byl také statisticky významný. Sloupce ukazují průměry skupin \pm SEM. AKV = akvizice; Fyz = fyziologický roztok (kontrolní aplikace); REV = reversal; * $p < 0,05$

Tab. 12. Repeated planned contrasts pro počet vstupů do zakázaného sektoru v akvizici (AKV).

Zdroj	df	Error df	F	p
AKV1-AKV2	1	43	51,424	< 0,001***
AKV2-AKV3	1	43	100,420	< 0,001***
AKV3-AKV4	1	43	6,822	0,012*
AKV4-AKV5	1	43	16,386	< 0,001***

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

Tab. 13. Repeated planned contrasts pro maximální čas mezi dvěma vstupy v akvizici (AKV).

Zdroj	df	Error df	F	p
AKV1-AKV2	1	43	53,08	< 0,001***
AKV2-AKV3	1	43	40,047	< 0,001***
AKV3-AKV4	1	43	0,331	0,580
AKV4-AKV5	1	43	7,508	0,009**

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Tab. 14. Repeated planned contrasts pro počet vstupů do zakázaného sektoru ve fázi přeučení (reversal; REV).

Zdroj	df	Error df	F	p
REV1-REV2	1	33	34,545	< 0,001***
REV2-REV3	1	33	14,194	< 0,001***
REV3-REV4	1	33	10,32	0,003**
REV4-REV5	1	33	0,059	0,809

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Tab. 15. Repeated planned contrasts pro maximální čas mezi dvěma vstupy ve fázi přeučení (reversal; REV).

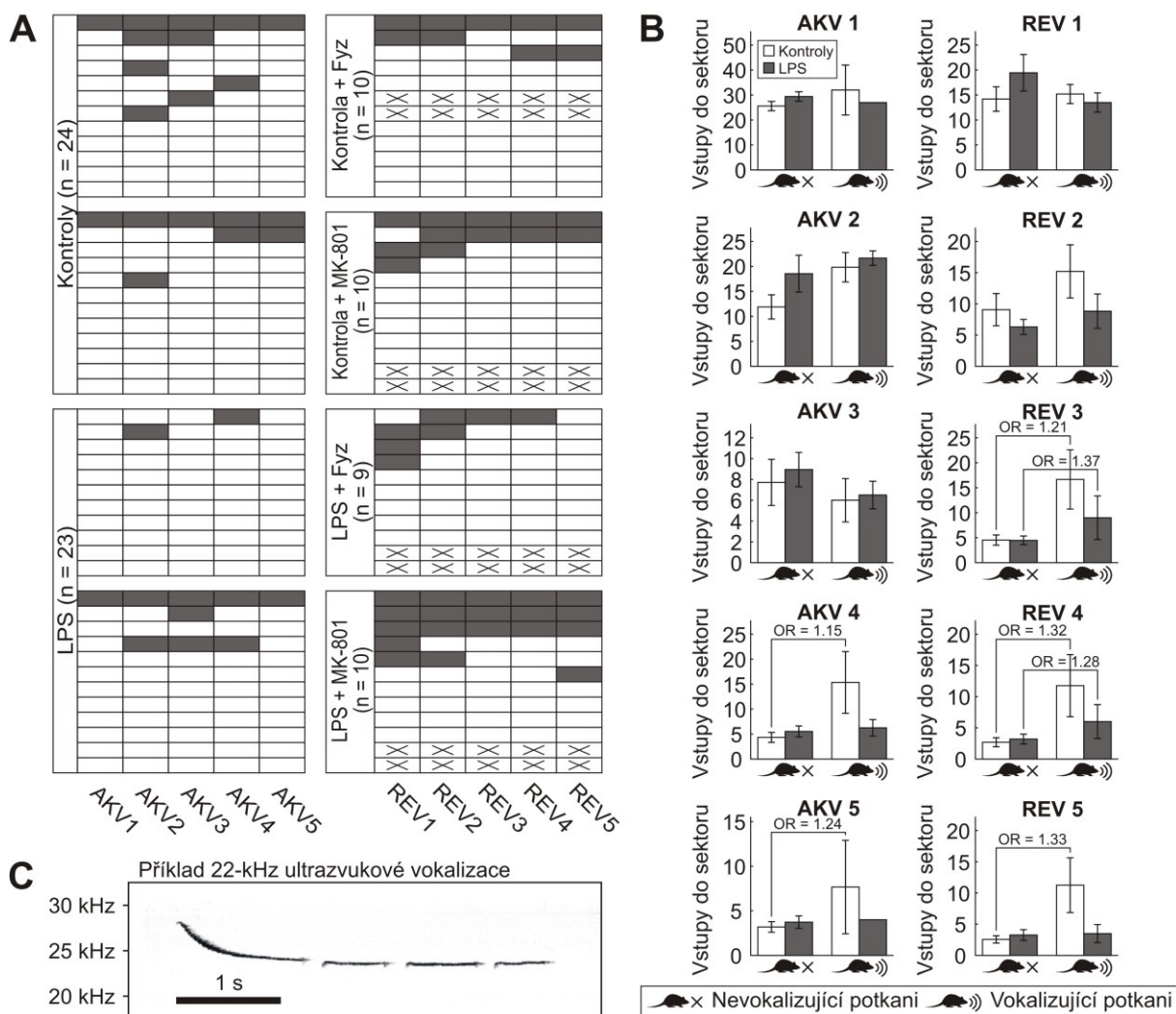
Zdroj	df	Error df	F	p
REV1-REV2	1	33	10,271	0,003**
REV2-REV3	1	33	3,472	0,071
REV3-REV4	1	33	3,567	0,068
REV4-REV5	1	33	0,307	0,583

** $p < 0,01$

Ultrazvuková vokalizace v kolotočovém bludišti. Vyhodnocovali jsme také anxiózní 22-kHz vokalizace, které potkani vydávali během sezení v kolotočovém bludišti. Protože byl výstup binární (vokalizace přítomná/nepřítomná; **Obr. 19A**), použili jsme pro analýzu *generalized estimating equations* (GEE). Příslušnost ke skupině (LPS nebo kontroly) spolu s počtem vstupů do sektoru byly použity jako indikátor výskytu vokalizací. Předpokládali jsme, že anxiózní vokalizace byly důsledkem chyb vedoucí k obdržení elektrických ranek, a ne naopak (pro zjednodušení jsme opomenuli případné zpětnovazebné efekty anxiety na výkon). Analyzovali jsme každý den akvizice a přeučení odděleně. Zjistili jsme, že ve třech sezeních v akvizici (AKV1, AKV2 a AKV3) a dvou sezeních v přeučení (REV1 a REV2) byla vokalizace nezávislá na počtu vstupů do sektoru i na skupině (LPS vs. kontroly), avšak v ostatních sezeních již závislost vyvstala. 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; **Obr. 19B**). Ani medikace MK-801, ani interakce zahrnující medikaci významně nepředpovídaly vokalizace, proto jsme je do finálního modelu nezahrnuli. Analýza odhalila v **akvizici** ve čtvrtém sezení AKV4 signifikantní interakci skupina*vstupy ($\chi^2(2) = 6,770$, $p = 0,034$), konkrétně kontrolní potkani vydávali více vokalizace, pokud byl počet vstupů vysoký (*odds ratio*, OR = 1,150, $p = 0,017$), což ale neplatilo pro LPS potkany. Wald statistika ukázala, že podobný trend nastal i pátý den akvizice AKV5 ($\chi^2(2) = 5,920$, $p = 0,052$), kdy kontrolní potkani opět více vokalizovali při vyšším počtu vstupů (OR = 1,241, $p = 0,021$), ale ne LPS potkani. Při **přeučení** byl nárůst vokalizace při větším počtu vstupů do sektoru patrný u obou skupin, ačkoli u kontrolních potkanů pravděpodobnost (*odds*) vokalizace stoupala s množstvím vstupů více než u LPS zvířat s více vstupy. Ve třetím sezení přeučení REV3 vyšla signifikantní interakce skupina*vstupy ($\chi^2(2) = 14,386$, $p = 0,001$). Potkani z kontrolní i LPS skupiny vokalizovali s větší pravděpodobností, když počet vstupů vzrostl (Kontroly: OR = 1,213, $p = 0,015$; LPS: OR = 1,37, $p = 0,001$). V REV4 byl trend podobný, tj. signifikantní interakce skupina*vstupy ($\chi^2(2) = 7,905$, $p = 0,019$). Kontrolní i LPS skupina vykazovaly vyšší pravděpodobnost vokalizace při vyšším počtu vstupů (Kontroly: OR = 1,324, $p = 0,038$; LPS: OR = 1,284, $p = 0,014$). Poslední den úlohy byla pravděpodobnost vyšší pouze u kontrol (OR = 1,331, $p = 0,042$).

Závěrem lze říci, že v kognitivním výkonu jsme mezi skupinami nenašli významný rozdíl. Zároveň jsme nenašli ani rozdíl v celkové vokalizaci, ovšem když jsme vzali v úvahu příslušnost ke skupině a vstupy do sektoru, signifikantní rozdíl vyvstal. Kontrolní potkani vokalizovali s větší pravděpodobností, když více chybovali, a to v pozdějších sezeních akvizice i přeučení. U LPS potkanů jsme tento vztah pozorovali pouze ve dvou sezeních v přeučení. 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.

Kolotočové bludiště: ultrazvuková vokalizace



Obr. 19. Ultrazvuková vokalizace v kolotočovém bludišti. **(A)** Přítomnost nebo absence anxiózní ultrazvukové vokalizace, měřené během sezení v kolotočovém bludišti. Sloupce reprezentují sezení v akvizici (AKV) a fázi přeučení (*reversal*, REV); řádky reprezentují individuální zvířata. Šedá buňka značí, že potkan během sezení vydával 22-kHz vokalizaci, zatímco bílá buňka znamená absenci úzkostné vokalizace. Křížek v buňce naznačuje, že data z toho sezení byla ztracena kvůli technické závadě. **(B)** U kontrolních zvířat bylo vydávání anxiózních zvuků závislé na počtu vstupů do sektoru, pravděpodobně jako reakce na obdržení mírného elektrického šoku. Naproti tomu LPS potkani vokalizovali anxiózně bez ohledu na úspěch nebo neúspěch při řešení úlohy, a tento vzorec byl patrný především v pozdějších sezeních akvizice i přeučení. Grafy ukazují *odds ratio* (OR), tj. poměr pravděpodobnosti vokalizace závislé na počtu vstupů. Data jsou ukázána jako průměry \pm SEM. **(C)** Příklad anxiózní vokalizace na frekvenci 22 kHz. AKV = akvizice; Fyz = fyziologický roztok (kontrolní aplikace); OR = *odds ratio*; REV = *reversal* (přeučení)

2.5.3. Diskuze

K ověření kognitivních dovedností potkanů, kterým byl časně postnatálně opakovaně aplikován LPS, jsme použili úlohu aktivní vyhýbání se místu v **kolotočovém bludišti**, která je na testování animálních modelů schizofrenie vhodná (Petrásek et al., 2009; Stuchlik et al., 2004a, 2013). Potkani však v časné dospělosti nevykazovali známky poškozené kognitivní koordinace a prostorové paměti. Měli srovnatelný počet vstupů do zakázaného sektoru i maximální čas mezi dvěma vstupy jako kontrolní zvířata, kterým byl časně po narození podán pouze fyziologický roztok. Obě skupiny se během akvizice úlohy zlepšovaly a poslední den se sektoru výborně vyhýbali: za celé sezení měli pouze kolem 5 vstupů do sektoru a maximální čas vyhýbání přibližně 12 min z celkového 20-min sezení. Lokomoce byla u obou skupin srovnatelná a stabilní napříč dny.

U modelových zvířat jsme také ověřili kognitivní flexibilitu ve fázi přeučení (*reversal*) se změněnou polohou sektoru. Tato fáze je náročnější, protože pro úspěšné řešení úlohy potřebuje zvíře kromě nepoškozené kognitivní koordinace a prostorové orientace také schopnost přeučit se původní prostorové vztahy mezi orientačními značkami a sektorem na nové a nelpět na předchozí vzpomínce (neperseverovat). U poloviny zvířat jsme navíc aplikovali před každým sezením 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. To bylo prokázáno například u modelových zvířat prenatálně exponovaných LPS, která prudčeji reagovala zvýšením lokomoce a větším deficitem PPI na podání dizocilpinu (Basta-Kaim et al., 2011a) nebo amfetaminu (Fortier et al., 2004), ve srovnání s modelovými zvířaty bez těchto látek nebo kontrolami. V naší studii ovšem potkani neměli problém s přeučením polohy sektoru ani vlivem samotné rané zkušenosti s LPS, ani vlivem samotné aplikace dizocilpinu v dospělosti, a dokonce ani při kombinaci těchto dvou faktorů. Již dříve bylo prokázáno, že dizocilpin spolehlivě vede k narušení kognice, ale námi použitá dávka (0,08 mg/kg) je hraniční a nezpůsobuje toto poškození vždy (Lobellova et al., 2013; Stuchlik et al., 2004a; Vojtechova et al., 2016). V našem případě měl dizocilpin malý (i když signifikantní) a přechodný efekt na lokomoci, kterou zvyšovala u obou skupin, kterým byl aplikován. Hyperlokomoce po podání dizocilpinu je v literatuře popisována u laboratorních hlodavců opakovaně po různých dávkách (Kubík et al., 2014; Lobellova et al., 2013; Stuchlik et al., 2004a; Stuchlík & Vales, 2005; Vales et al., 2006; Vojtechova et al., 2016; Zajaczkowski et al., 2003; Zuo et al., 2006). Zdá se, že kombinace časného LPS a dizocilpinu v rané dospělosti se nejvíce projevila první den přeučení, kdy způsobila nejvyšší hyperlokomoci, avšak analýza nepotvrdila statistickou významnost tohoto pozorování. Překvapivě LPS potkani vydávali při řešení úlohy v kolotočovém bludišti anxiózní ultrazvukové vokalizace na frekvenci 22 kHz nezávisle na tom, zda v úloze byli, nebo nebyli úspěšní. Oproti tomu kontrolní zvířata emitovala tytéž vokalizace 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 úlohách (**vyvýšené křížové bludiště, test otevřeného pole, sociální interakce, ultrazvuková vokalizace** měřená během interakce a **explorace samičích pilin**) se LPS potkani od kontrolních významně nelišili. Pang et al. prokázali narušenou sociální komunikaci měřenou ultrazvukovou vokalizací ve věku 10 dní a také narušenou kognici v úloze rozpoznávání nového objektu ve věku 40 dní vlivem zkušenosti s LPS (Pang et al., 2016). Ovšem endotoxin jim byl podán pouze jednou, a to třetí den po narození. 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 protokolu podávání LPS, a v kombinaci s psychotomimetikem nejsou popsány vůbec. Naše komplexní behaviorální studie tak představuje důležitý vhled do této problematiky.

2.6. Publikace č. 4

2.6.1. Materiál & metody

Zvířata. Celkem 13 samic potkanů kmene Wistar (230–330 g, věk 3–5 měsíců), ke kterým bylo připuštěno 6 samců (Velaz, Ltd., Praha, ČR), porodilo 92 mlád'at, z nichž 56 bylo použito k behaviorálnímu testování, ostatní byla použita pro mozkové analýzy, které jsou blíže popsány v příložené publikaci. Potomci obou pohlaví byli rozděleni do čtyř skupin: kontrolní samci, LPS samci, kontrolní samice a LPS samice. Z každého vrhu jsme použili maximálně tři jedince od každého pohlaví. Zvířata byla chována ve standardních chovných nádobách (44 × 28 × 23 cm) v akreditovaném zvěřinci v Národním ústavu duševního zdraví v Klecanech, ve větrané místnosti s 12 h/12 h cyklem světlo/tma, s volným přístupem k vodě a potravě. Zvířata byla držena po dvojicích či trojicích, výjimku tvořily březí samice, které jsme separovali několik dní před porodem. Všechny manipulace jsme prováděli ve světlé části denního cyklu. Všechny experimenty byly schváleny institucionální komisí pro ochranu zvířat a vyhověly Zákonu na ochranu zvířat proti týrání České republiky a směrnicím Evropské unie (2010/63/EU).

Určování estrálního cyklu. U chovných samic jsme po 5-denním přivykání na experimentátory (*handling*) určovali po dobu asi jednoho týdne fáze estrálního cyklu, podle protokolu autorů Marcondes et al. (2002). Experimentátor jemně nadzdvihl zadní část těla samice a provedl vaginální výplach pomocí tenké plastové pipety naplněné malým množstvím fyziologického roztoku. Poté výplach rozetřel na podložní sklíčko a ihned ještě mokřý prozkoumal pod mikroskopem (objektivy 10× a 40×). Pokud se potvrdila fáze estru, nebo mezifáze proestrus-estrus, byl k samici připuštěn samec za účelem páření. To probíhalo pouze 24 h, což bylo důležité z hlediska správného načasování aplikací LPS během březosti (viz dále). Samice jsme denně vážili pro potvrzení březosti.

Příprava modelu. Březí samice dostaly celkem 8 subkutánních (s.c.) injekcí LPS (pocházející z *Escherichia coli*, serotyp 026:B6, Sigma-Aldrich) v dávce 1 mg/kg (injekční objem 1 ml/kg). LPS byl podáván chronicky každý druhý den od 7. dne březosti do porodu, podle protokolu autorů Basta-Kaim et al. (2011a). LPS byl rozpuštěn v 0,9% fyziologickém roztoku, který podáván samotný sloužil jako kontrolní aplikace. Úspěšnost porodů ani přibývání na váze během březosti nebyly vlivem LPS sniženy oproti kontrolním březím samicím, a aplikace byly samicemi obecně dobře snášeny. U mlád'at jsme 6.–8. den po porodu určovali pohlaví, a poté zůstala nerušena až do odstavu ve věku 28 dní. Potomky jsme vážili před odběrem mozku v době odstavu (není součástí dizertační práce) a před testováním chování v adolescenci a v dospělosti. Třídenní *handling* adolescentů předcházelo první behaviorální test. Potomci prošli baterií testů zaměřených na různé domény chování, v dizertační práci se však věnují jen kolotočovému bludišti, jedinému testu zaměřenému na prostorovou kognici. Příprava modelu i ostatní behaviorální testování probíhalo v Národním ústavu duševního zdraví. Za účelem otestování v kolotočovém bludišti, které tak završilo behaviorální charakterizaci dospělců, byla zvířata převezena do Fyziologického ústavu AV ČR. Během

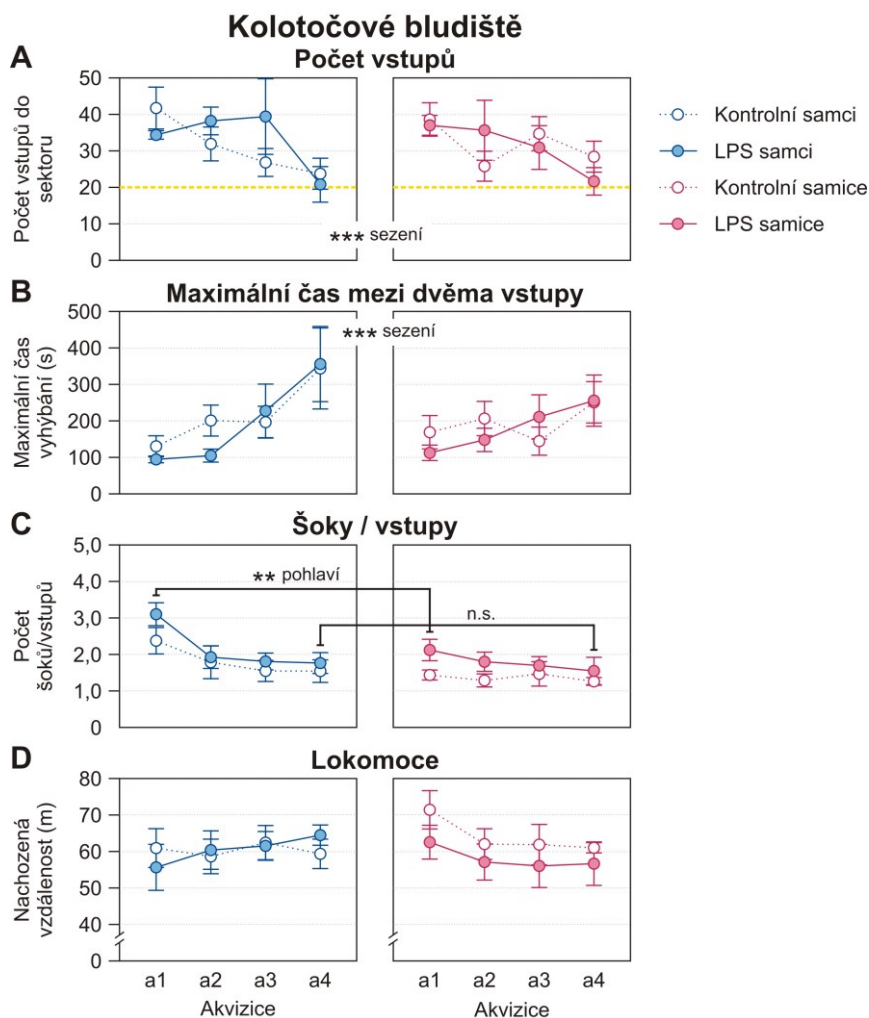
experimentálního dne byli nejdříve testováni všichni samci a až poté samice, přičemž u obou pohlaví byly skupiny randomizovány. Aparatury jsme vždy mezi sezeními umyli vodou a před změnou pohlaví také dezinfekcí, abychom odstranili samčí pach, který by mohl ovlivnit chování samic.

Kolotočové bludiště. Popis aparatury je k nalezení v kap. 2.3.1. V **úloze aktivního vyhýbání se sektoru** byli otestováni dospělí potkani ve věku 3,5–4 měsíce obou pohlaví: kontrolní samci (n = 11 z 5 vrhů), LPS samci (n = 11 ze 7 vrhů), kontrolní samice (n = 10 z 5 vrhů), LPS samice (n = 11 ze 7 vrhů). Testování probíhalo celkem 5 dní. První den byli potkani pouze přivykáni na aparaturu (fáze **habituace**), při které se zvířata 10 min pohybovala po nerotující aréně a nedostávala elektrické ranky (šoky). V dalších dnech (a1–a4) bylo úkolem potkanů naučit se během čtyř 20-min sezení (1 sezení/den) polohu zakázaného sektoru, který byl stabilní v rámci místnosti, zatímco aréna rotovala (fáze **akvizice**). Parametry, hodnocenými v CM Manager (Bahnik, 2014), byly počet vstupů do sektoru, maximální čas mezi dvěma vstupy, počet šoků na počet vstupů (*learning index*) a nachozená vzdálenost (lokomoce).

Statistická analýza. Statistická analýza byla provedena s použitím software IBM SPSS Statistics. V případě opakovaného měření (čtyři sezení) jsem použila test trojcestná ANOVA s opakovanými měřeními. „Skupina“ (kontrolní × LPS) a „pohlaví“ (samci × samice) byly měřeny jako *between-subject*, zatímco „sezení“ (akvizice a1–a4) bylo počítáno jako *within-subject* měření. Pokud data nedosahovala normálního rozdělení, byla logaritmičsky transformována (maximální čas mezi dvěma vstupy). Pokud ani po transformaci nebyla data znormalizována (počet šoků na počet vstupů), použila jsem test *Negative binomial model with log estimates values* pro sezení a1 a a4. Efekt byl považován za signifikantní při $p < 0.05$.

2.6.2. Výsledky

Kolotočové bludiště. Statistická analýza neprokázala signifikantní efekt LPS ani v jednom ze sledovaných parametrů (**Obr. 20, Tab. 16–19**). Signifikantní efekt pohlaví byl pozorován pouze v parametru počet šoků na počet vstupů první den akvizice (a1; **Obr. 20C; Tab. 18**), kdy samice měly tento poměr šoky/vstupy nižší než samci; poslední den akvizice (a4) se již pohlaví mezi sebou nelišila. Signifikantní efekt sezení v parametrech počet vstupů do sektoru (**Obr. 20A; Tab. 16**) a maximální čas mezi dvěma vstupy (**Obr. 20B; Tab. 17**) spolu s grafy ukazují, že se potkani (bez ohledu skupinu či pohlaví) během akvizice postupně zlepšovali, ačkoli ani poslední den akvizice (a4) nedosáhli uspokojivého výsledku. Lokomoce byla podobná u všech skupin a v průběhu akvizice stabilní bez výrazného vývoje v čase (**Obr. 20D; Tab. 19**).



Obr. 20. 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 (efekt sezení, $p < 0,001$), 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 sektoru; hodnoty nad touto hranicí znamenají neschopnost zapamatovat si polohu zakázaného sektoru a neefektivní vyhýbání. **(B)** Maximální čas vyhýbání se s časem zvyšoval (efekt sezení, $p < 0,001$), avšak bez rozdílu mezi skupinami. **(C)** Samci obdrželi zpočátku (a1) více šoků na počet vstupů do sektoru než samice (efekt pohlaví, $p = 0,002$), 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. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Tab. 16. Počet vstupů do sektoru (analýza testem trojcestná ANOVA s opakovanými měřeními).

Zdroj	df	Error df	F	p	η_p^2
Skupina	1	36	0,043	0,838	0,001
Pohlaví	1	36	0,008	0,928	0,000
skupina*pohlaví	1	36	0,122	0,729	0,003
Sezení	3	108	8,010	0,000***	0,182
sezení*skupina	3	108	2,144	0,099	0,056
sezení*pohlaví	3	108	0,508	0,678	0,014
sezení*skupina*pohlaví	3	108	1,350	0,262	0,036

$\eta_p^2 = \text{Partial eta squared}$

Tab. 17. Maximální čas mezi dvěma vstupy (analýza testem trojcestná ANOVA s opakovanými měřeními).

Zdroj	df	Error df	F	p	η_p^2
Skupina	1	35	0,444	0,510	0,013
Pohlaví	1	35	0,221	0,641	0,006
skupina*pohlaví	1	35	0,047	0,830	0,001
Sezení	1,976	69,143	13,295	0,000***	0,275
sezení*skupina	1,976	69,143	2,869	0,064	0,076
sezení*pohlaví	1,976	69,143	1,746	0,182	0,048
sezení*skupina*pohlaví	1,976	69,143	0,220	0,800	0,006

$\eta_p^2 = \text{Partial eta squared}$

Tab. 18. Počet šoků na počet vstupů pro první den (a1) a poslední den (a4) akvizice (analýza testem *Negative binomial model with log estimates values*).

Sezení	Omnibus test
a1	0,000***
a4	0,402

	B	Std. Error	Wald Chi-Square	df	p	Exp(B)	95% Wald Confidence Interval for Exp(B)	
							Lower	Upper
a1								
Skupina	0,267	0,1589	2,820	1	0,093	1,306	0,956	1,783
Pohlaví	-0,503	0,1639	9,400	1	0,002**	0,605	0,439	0,834
skupina*pohlaví	0,123	0,2284	0,290	1	0,590	1,131	0,723	1,769
a4								
Skupina	0,133	0,1870	0,507	1	0,476	1,142	0,792	1,648
Pohlaví	-0,202	0,1922	1,105	1	0,293	0,817	0,561	1,191
skupina*pohlaví	0,070	0,2682	0,068	1	0,794	1,073	0,634	1,814

Tab. 19. Lokomoce (analýza testem trojcestná ANOVA s opakovanými měřeními).

Zdroj	df	Error df	F	p	η_p^2
Skupina	1	36	1,483	0,231	0,040
Pohlaví	1	36	0,024	0,879	0,001
skupina*pohlaví	1	36	0,197	0,660	0,005
Sezení	1,992	71,716	0,406	0,667	0,011
sezení*skupina	1,992	71,716	2,021	0,140	0,053
sezení*pohlaví	1,992	71,716	2,120	0,128	0,056
sezení*skupina*pohlaví	1,992	71,716	0,242	0,785	0,007

$\eta_p^2 = \text{Partial eta squared}$

2.6.3. Diskuze

Dospělí potkani prenatalně 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). Maximální čas mezi dvěma vstupy se sice s časem zvyšoval, avšak ve srovnání s jinými experimenty byl i ke konci experimentu spíše nízký. Proč nebyli potkani schopni úlohu efektivně řešit, není příliš jasné, protože již dříve bylo prokázáno, že potkani kmene Wistar jsou schopni si tuto úlohu osvojit (Vales et al., 2006; viz také publikaci č. 3). Prostým vysvětlením může být ztráta zraku, kterou mohlo způsobit například nevhodné osvětlení ve zvěřinci; na vysokou intenzitu jsou albinotické kmeny potkanů velmi citliví (Burn, 2008). Úloha v kolotočovém bludišti je založena na zapamatování si vizuálních orientačních značek, proto má poškození zraku na schopnost ji řešit fatální důsledky. Kvůli přirozeně slabému zraku potkanů kmene Wistar (Burn, 2008; Prusky et al., 2002) mohla i rotace arény sama o sobě potkanům znesnadit vizuální rozpoznání orientačních značek i za předpokladu, že zrak poškozen nebyl. Je rovněž představitelné, že úloha představovala pro potkany příliš stresující zátěž a po všech předchozích zkušenostech – velké množství ostatních behaviorálních testů, které tomuto předcházely, převoz mezi pracovišti, možná nedostatečně dlouhá aklimatizace v novém zvěřinci – mohla ovlivnit výsledné chování zvířat v kolotočovém bludišti. Otázkou zůstává i samotné provedení testu, zda habituace na aparaturu byla dostatečná nebo zda by výkon zlepšilo sbírání potravinových kuliček, ačkoli pohyb po aréně byl u obou skupin srovnatelný a ve srovnání s jinými experimenty normální (potkani nevykazovali známky zvýšené úzkosti nehybným sezením u stěny aparatury).

Přestože se kognitivní deficit u potkanů prenatalně vystavených LPS prokázat nepodařilo, studie odhalila celou řadu jiných deficitů a změn v jejich chování, které souvisely s věkem a pohlavím studovaných zvířat, což nasvědčuje, 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. Deficit **prepulsní inhibice**, který je typický pro animální modely schizofrenie, se v naší studii projevil pouze u LPS samic, zatímco zvýšený **úlekový reflex** na hlasitý zvukový stimul byl výraznější u LPS samců, ve srovnání s kontrolami. Nižší míru sociálního kontaktu v **sociální interakci** projevovali pouze LPS samci, a to již v adolescentním věku (45. den po narození), zatímco LPS samice měly oproti samcům výraznější změny v sociální komunikaci (**ultrazvukové vokalizaci**), avšak bez narušení sociální interakce jako takové. LPS samci i samice projevovali též vyšší míru anxiety v **testech otevřeného pole** a **chůze po lati**, a nižší aktivitu v **testech otevřeného pole** a **křížového bludiště** než kontrolní zvířata. Podobné, ale i protichůdné změny v chování popisují také autoři dalších studií na stejném

nebo podobném potkaním LPS modelu. Prenatální expozice LPS vyvolala redukcí sociálních interakcí a sociální hry u mladých LPS potkanů (Kirsten et al., 2010) a sníženou ultrazvukovou vokalizaci u 3- a 5-denních mláďat (Baharnoori et al., 2012), avšak v jiných studiích nevedla k žádnému nebo jen velmi mírnému poškození sociálního chování (Batinić et al., 2016; Foley et al., 2014a). Testy anxiety u těchto modelů přinesly rozporuplné výsledky. V některých případech se anxiety objevila (Depino, 2015; Lin et al., 2012; Wischhof et al., 2015), avšak v jiných nikoli (Foley et al., 2014b; Kirsten et al., 2010; Wischhof et al., 2015). Animální modely schizofrenie obvykle projevují hyperlokomoci, která bývá považována za projev podobný pozitivním symptomům, protože jde v případě zvířat i lidí zřejmě o důsledek hyperaktivity mesolimbického systému (Bubenikova-Valesova et al., 2008; de Oliveira et al., 2011; Shirai et al., 2012; Sun et al., 2009; Vojtechova et al., 2016). Ovšem situace u modelů připravených podáním LPS není úplně jasná. Navzdory našemu pozorování, Basta-Kaim a kolegové, pracující se stejným modelem jako my, popisují zvýšenou lokomoční aktivitu u dospělých samců i samic LPS potkanů (Basta-Kaim et al., 2011a). Jiné studie založené na podobném modelu reportují všechny tři možnosti: zvýšená lokomoce (Tejkalova et al., 2007a; Wischhof et al., 2015), žádný efekt na lokomoci (Foley et al., 2014b) i hypolokomoce (Batinić et al., 2016; Stigger et al., 2013). Je možné, že anxiózní chování vedoucí k potlačení explorační bylo v některých studiích výraznější než v jiných. Jiným vysvětlením může být nižší motivace explorační neznámé prostředí. V naší studii jsme neměřili schopnost sensorimotorického zpracování v adolescenci, nicméně jiné dvě studie ukazují zvýšenou úlekovou reakci s normální prepulsní inhibicí u potkanů s prenatální zkušeností s LPS (Foley et al., 2015; Tejkalova et al., 2007a). U dospělých LPS zvířat srovnatelných s našimi je popisována jak vyšší úleková reakce, tak deficit prepulsní inhibice, a to u obou pohlaví (Basta-Kaim et al., 2011a, 2015). Studie s podobným modelem také pozorovaly deficit prepulsní inhibice u dospělých LPS potkanů i adolescentů, ale ne mladších než 30 dní (Fortier et al., 2007; Romero et al., 2010; Wischhof et al., 2015). Výsledky z většiny těchto studií však nejsou plně srovnatelné s našimi z důvodu použití jiných protokolů pro aplikaci LPS (odlišné dávkování, načasování atd.), testování zvířat jiného kmene či v jiném věku apod. I s těmito rozdíly však některé studie potvrzují naše zjištění, že samci a samice reagují na maternální imunitní aktivaci vyvolanou aplikací LPS různým výsledným fenotypem chování (Basta-Kaim et al., 2015; Batinić et al., 2016; Foley et al., 2015; Lin et al., 2012; Romero et al., 2010; Wischhof et al., 2015).

2.7. Validita a limity zkoumaných modelů AD

2.7.1. Potkan McGill

Validita. Homozygotní potkani McGill představují validní zvířecí model AD. Detailní behaviorální charakterizace těchto potkanů v řadě úloh odhalila komplexní fenotyp, tj. změny v chování připomínající různé symptomy pozorované u lidských pacientů. Je zajímavé, že většina pozorovaných poškození se u našich potkanů vyskytla ještě před tvorbou amyloidních plaků, které se začínají objevovat v 6 měsících věku (Leon et al., 2010) či později (Hegglund et al., 2015; Iulita et al., 2014). V kognitivním i nekognitivním poškození tedy zřejmě hraje roli i samotná akumulace A β . Akumulace ani možnost plaků u našich potkanů McGill ověřeny nebyly, avšak byly opakovaně popsány v literatuře (Hegglund et al., 2015; Iulita et al., 2014; Leon et al., 2010). Homozygotní potkani McGill tedy představují velmi dobrý model časně i pozdní fáze Alzheimerovy choroby. Kognitivní poškození se u pacientů objevuje na počátku symptomatologie, u potkanů McGill jsme jej pozorovali také již v časně dospělosti. Naopak sociální deficit s projevy především v pokročilých fázích onemocnění jsme pozorovali u transgenních zvířat analogicky v pozdějším věku. Výhodou tohoto modelu je právě přítomnost nekognitivních změn chování a model by mohl být v budoucnu využitý k výzkumu léčiv cílených na tyto symptomy.

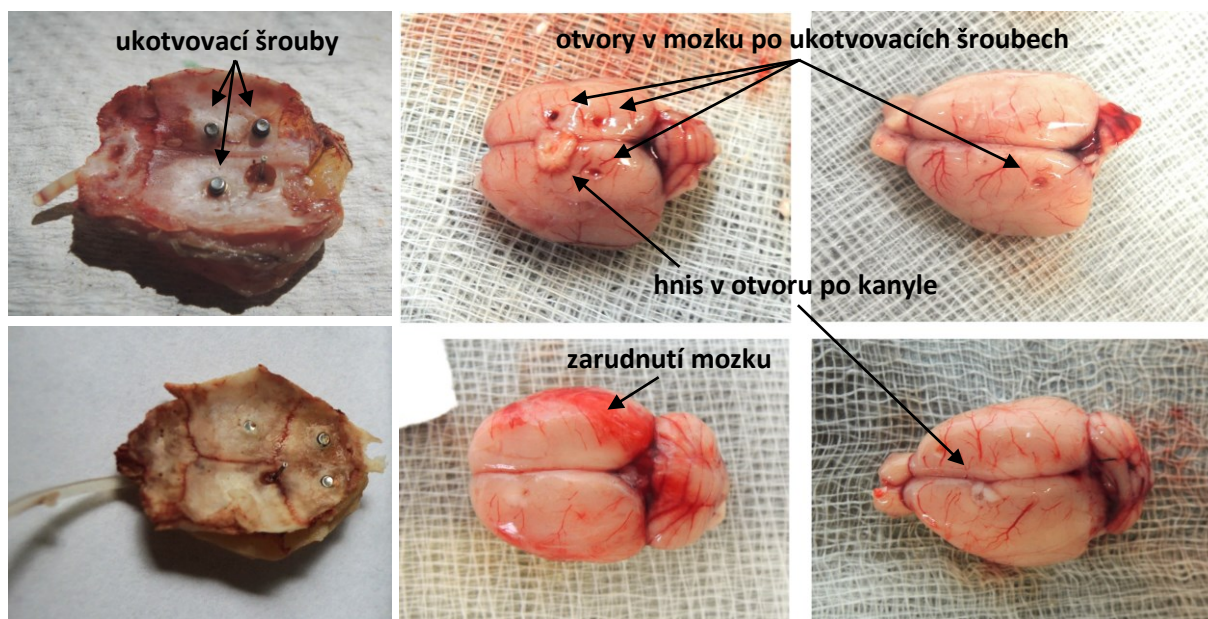
Limity. Potkan McGill představuje ze své podstaty model dědičné formy AD, protože jakožto transgenní zvíře má ve svém genomu obsažené genetické mutace vyskytující se u familiální formy AD. Nemodeluje tak sporadickou formu AD, protože nenapodobuje její příčiny ani rizikové faktory. Navíc se hromadění A β , amyloidní plaky a behaviorální deficity, objevují velmi brzy, a tak model nezahrnuje přirozené procesy stárnutí, které zřejmě hrají v patologii lidské AD významnou roli. Nebyla u nich popsána ani patologie proteinu tau, která AD doprovází. Další nevýhodou potkanů McGill je jejich obtížná dostupnost, vysoká pořizovací cena a nutnost speciální licence na odchov ve vlastním chovatelském zařízení, a tím kontrolovat podmínky při jejich vývoji a stárnutí či s faktory prostředí cíleně manipulovat. Vysoké náklady na jejich pořízení nám umožnily studovat jen velmi omezený počet zvířat a nedostatek finančních prostředků neumožnil pokračovat navazujícími studii.

2.7.2. Potkan Samaritan

Validita. Z hlediska kognitivního poškození představuje potkan Samaritan validní animální model AD, protože dobře napodobuje poškození prostorové navigace, paměti a kognitivní koordinace, které představují jádrovou symptomatologii i u lidských pacientů. Výhodou modelu je cílení na negenetické faktory, které bývají dávány do souvislosti se sporadickou formou AD.

Limity. Tito potkani bohužel neprošli širší baterií testů ověřujících i jiné aspekty chování, proto nelze rozhodnout, zda projevují i nekognitivní symptomy, které doprovází AD. V naší studii nebylo možné potkany dlouhodobě chovat z důvodu omezené životnosti osmotických pump a

implantátů. Poměrně vysoká pořizovací cena těchto zvířat ani neumožnila nákup dalších kohort a dnes již tento model není dostupný. Přímo u našich zvířat nebylo ověřeno množství akumulovaného A β ani případných plaků (ani patologie proteinu tau), nemůžeme tedy s jistotou říci, nakolik byly změřené kognitivní deficity vyvolané přítomností aplikovaných substancí, a zda byly do mozku skutečně dopraveny. Nesmíme ani zapomínat na fakt, že ačkoli byl původně model cílený na prošetření působení vnějších faktorů na rozvoj AD, ve skutečnosti nemůže objasnit její etiologii – nebylo cíleno na vyvolání akumulace již přítomného A β , ale A β byl do mozku přímo dopravován. Kromě toho vizuální kontrola mozků naoperovaných potkanů *post mortem* ukázala, že kolem některých implantátů probíhaly nespecifické zánětlivé reakce na samotný chirurgický zákrok bez ohledu na injikovaný roztok (zarudnutí mozkové tkáně, hnis; **Obr. 21**), takže není jisté, zda pozorovaný úpadek kognice nemohl být způsobený spíše těmito procesy než samotnými substancemi. Některé mozky bohužel vykazovaly též známky mechanického poškození (např. příliš utažené kotevní šrouby zasahující do mozkové kůry) dokazující, že chirurgický zákrok nebyl proveden s patřičnou pečlivostí.



Obr. 21. Příklady nesprávně provedených operací a připevnění implantátů. Nepečlivost při chirurgickém zákroku vedla u některých zvířat k poškození mozkové tkáně (přílišné utažení ukotvovacích šroubů) nebo zánětlivým procesům (zarudnutí mozku, hnis).

2.8. Validita a limity modelů prenatální a časně postnatální infekce pomocí LPS

2.8.1. LPS podané časně postnatálně

Validita. Potkani vystavení pátý až devátý den postnatálního života působení bakteriálního LPS měli v naší studii narušené emocionální projevy, bez poškození námi zkoumaných kognitivních funkcí či jiných domén chování. Validita tohoto modelu ve vztahu ke schizofrenii je sporná, neboť narušené emoce se objevují i u jiných psychických poruch.

Limity. U těchto potkanů nebyl proveden test prepulsní inhibice, jehož výsledek by mohl analogii ke schizofrenii více ozřejmit. Model také testuje hypotézu prenatální infekce jen částečně: odpovídá tomu sice stupněm vývoje mozku (5.–9. den života potkaního mláděte koresponduje přibližně s vývojem lidského plodu ve třetím trimestru; Clancy et al., 2001), avšak je přímo aktivován imunitní systém mláděte, a nedochází tedy k ovlivnění jeho vývoje aktivovaným imunitním systémem matky. Tento rozdíl může mít zásadní význam. Protože není imunitní systém mláděte v tomto věku ještě plně zralý (Holsapple et al., 2003), mohou být efekty jeho aktivace jen velmi malé. Emocionální vývoj mláďat mohla ovlivnit i odlišná míra mateřské péče, v případě že by matky pečovaly o mláďata po podání LPS více, nebo naopak méně, avšak sledování chování matek nebylo součástí této studie.

2.8.2. LPS podané prenatálně

Validita. Potomci potkaních matek, chronicky vystavených působení LPS v průběhu březosti, vykazovali řadu změn na úrovni chování. Maternální imunitní aktivace je spojována jak se schizofrenií, tak s ASD. Hlavní autorka několika zmiňovaných studií, Agnieszka Basta-Kaim, od které jsme převzali postup aplikace LPS, interpretuje svá zjištění ve vztahu ke schizofrenii. Naše výsledky ovšem takto jasný vztah nepodporují. Samci a samice vykazovali trochu jiný behaviorální fenotyp, který může – při značném zjednodušení – inklinovat více k jedné či druhé poruše (u samců model ASD, u samic model schizofrenie). Protože však studované prvky chování u zvířat jsou spíše obecnějšího charakteru, vysledovat podobnost s konkrétní poruchou, která má často specifické „lidské“ symptomy, je nesmírně obtížné. Obě poruchy jsou co do výskytu konkrétních symptomů velmi variabilní a existuje zde i značný vzájemný překryv (American Psychiatric Association, 2013). Například deficit senzomotorického zpracování je typický pro schizofrenii s dobrou translační validitou u animálních modelů (Braff et al., 2001; Geyer et al., 2001), avšak vzácněji se objevuje i u jiných neuropsychiatrických poruch (Kohl et al., 2013), včetně ASD (Madsen et al., 2014; Perry et al., 2007). Hyperreaktivita na zvukové stimuly i vyšší úlekový reflex se objevují u pacientů s ASD (Kohl et al., 2014; Masi et al., 2017). Neschopnost normálních sociálních interakcí ve společnosti a snížená schopnost komunikace patří k typickým symptomům ASD (American Psychiatric Association, 2013; Masi et al., 2017; McPartland et al., 2016), avšak sociální stažení a narušená (dezorganizovaná,

strohá nebo jinak abnormální) řeč se objevují i u pacientů se schizofrenií a bývají řazeny mezi její negativní symptomy (American Psychiatric Association, 2013; DeLisi, 2001; McKenna et al., 2005). Anxieta patří do symptomatologie obou poruch (American Psychiatric Association, 2013). Hypoaktivita LPS zvířat by mohla odrážet negativní symptomy, jako je nižší spontaneita, amotivace či apatie, vyskytující se u některých pacientů se schizofrenií (American Psychiatric Association, 2013; Andreasen, 1995; Foussias & Remington, 2010; Javitt, 2010). Pacienty s ASD lépe charakterizuje stereotypní a repetitivní chování (American Psychiatric Association, 2013; Masi et al., 2017), které jsme však u našich modelových zvířat přímo neměřili. Symptomy u našeho zvířecího modelu jsou kompatibilní jak se schizofrenií, tak s ASD, a s uvážením variability obou poruch a omezeními potkana jako modelu je nelze jasně diferencovat. Může se však jednat o obecný model neurovývojového poškození bez specifity ke konkrétnímu onemocnění. Poškození kognitivních funkcí, potažmo jeho podobnost s kognitivními symptomy mentálních poruch, se nám u tohoto modelu prokázat nepodařilo.

Limity. V naší studii jsme exponovali březí samice a jejich nenarozené potomky LPS *chronicky* (bylo podáváno obden od 7. dne gravidity do porodu) a je otázka, do jaké míry tento design odráží skutečný stav u lidí. Situace u potkanů a lidských subjektů je z různých důvodů obtížně porovnatelná. Stupeň vývoje plodu a později mláděte/dítěte lze porovnat jen velmi přibližně, a to z hlediska zrání jak mozku (Clancy et al., 2001), tak imunitního systému (Holsapple et al., 2003). Srovnatelnosti nenahrává ani fakt, že potkan a člověk se rodí v různém stupni vývoje (např. potkan zůstává slepý až do 14. dne po narození), a tedy vliv maternální imunitní aktivace na rozvoj určitých mozkových struktur může být různý. Kromě toho, prenatální vývoj pokaního mláděte probíhá nesrovnatelně rychleji (21 dní) než u lidského plodu (9 měsíců), proto i infekce o stejném trvání (např. 2 týdny) má dramaticky jiný dopad u potkana a člověka. Chronicky trvající lidskou infekci v řádu týdnů až měsíců pochopitelně nelze napodobit u potkana, ale na druhou stranu jednorázovou injekcí LPS, jejíž vliv na vývoj mozku může být srovnatelný s několikadenní infekcí u člověka, nepodchytíme právě tu chronicitu zánětlivých procesů, která může být pro pozdější rozvoj mentální poruchy zásadní. Meyer a kolegové ve své práci diskutují, že charakter infekce (akutní, chronická, latentní) může zásadně určovat projevy sdílených, nebo naopak specifických symptomů schizofrenie nebo ASD (Meyer et al., 2011), a že může způsobit jen mírné změny, které se projeví pouze u citlivějších jedinců teprve v pozdějším věku. „Citlivějšími“ mohou jedince udělat specifické genetické rizikové faktory, jejichž kombinace s vnějšími faktory může být pro konečný projev klíčová. Genetickou stránku jsme však v této studii cíleně neřešili. Stejně tak jsme naše potkany nezatěžovali v adolescenci či dospělosti podáním psychotomimetika, k nimž jsou pacienti se schizofrenií hypersenzitivní (Bramness et al., 2012; Malhotra et al., 1997), a jejichž požití může dokonce u predisponovaných jedinců první ataky schizofrenie vyvolat. V naší studii jsme detailněji nesledovali ani chování březích samic, které se mohlo vlivem expozice LPS lišit, ani následnou mateřskou péči, a ani vývoj mláďat v prvních týdnech života. Z hlediska prošetření kognitivních funkcí by studii jistě pomohlo provedení i jiných úloh zaměřených na prostorové učení a paměť.

2.9. Shrnutí & Závěr

Dizertační práce prezentuje výsledky z kognitivních a nekognitivních úloh provedených u vybraných potkaních modelů a diskutuje jejich validitu ve vztahu k neuropsychiatrickým poruchám. 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. Potkani McGill měli také pozměněný cirkadiánní systém (měření probíhalo v laboratoři Neurohumorálních regulací – dnes Biologických rytmů – ve Fyziologickém ústavu AV ČR a není součástí této dizertační práce, je však popsán v příložené publikaci). 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 k charakterizaci kognitivních funkcí. Kvůli omezené životnosti použitých osmotických pump však nebylo možné provést komplexnější prošetření jiných domén chování. Kromě toho jsme pozorovali známky zánětlivých procesů probíhajících kolem kanyl zavedených do mozku a poškození mozkové tkáně v důsledku přílišného utažení ukotvovacích šroubů, což otevírá otázku možných nespecifických poškození, které mohly ovlivnit výsledky naší práce.

Výkon potkanů, vystavených časné 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 zvířat. 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). Potkani v juvenilním věku měli také snížený počet PV+ interneuronů ve frontálním kortexu a větší mozek v důsledku prenatalní aplikace LPS (viz publikace č. 4).

2.10. Summary & Conclusions

The thesis presents the performance of selected rat models in cognitive and non-cognitive tasks. The thesis also discusses validity and limitations of these models in the context of neuropsychiatric disorders. We have shown that transgenic McGill rats carrying mutated human APP are a valid model of AD with a cognitive failure as a typical symptom. They exhibited not only severe impairment of cognitive functions (learning and long-term memory, spatial navigation, cognitive coordination), but also anxiety, postural problems, motor coordination deficit, changes in social behavior, and vocal communication. Our study is important because we explored also non-cognitive domains of behavior, which are often neglected in animal model research, in a comprehensive battery of tasks; some of them were examined for the first time in this model. In addition, McGill rats had alterations in circadian system (the measurement was carried out in the Laboratory of Neurohumoral Regulations – recently renamed Biological Rhythms – at the Institute of Physiology CAS and is not included in this thesis; see the attached publication). Besides, we have shown severe cognitive impairment (spatial learning and long-term memory, cognitive coordination) in non-transgenic Samaritan rats, exposed to amyloid A β 1-42 and two prooxidative substances for four weeks. The findings suggest face validity to AD. Our study substantially contributed to the characterization of cognitive impairment in these rats because the model had been described in the literature very rarely. Unfortunately, we were not able to investigate the other behavioral domains because of the limited lifetime of the osmotic pumps and implants. Importantly, we observed signs of inflammation surrounding the cannula, and damage of brain tissue caused by anchor screws. This observation opens the question of possible non-specific impairment which could influence our results.

The rats exposed to LPS early postnatally, or prenatally, were tested in the carousel maze task. However, we did not find any behavioral changes reflecting cognitive symptoms observed in human patients with schizophrenia or ASD. Rats with postnatal LPS administration did not exhibit any cognitive impairment. On the other hand, in rats with prenatal LPS administration we were not able to recognize cognitive deficit because even the control animals were not able to acquire the task. Nevertheless, both models showed disrupted emotionality. Behavior of postnatal LPS rats did not indicate any other changes in tested domains whereas prenatal application of LPS caused alterations in social behavior and inter-individual communication, decreased activity, increased startle reflex, and deficit of sensorimotor gating, and these changes were sex-specific. In case of postnatal LPS model, validity to schizophrenia is disputable since the observed emotional disruption is not a specific symptom of schizophrenia. Contrarily, rat model based on prenatal exposure to LPS presented a wider spectrum of schizophrenia-like behavior, especially of negative symptoms, with some overlap with ASD symptomatology in a sex-dependent manner. In addition, LPS caused decreased number of PV+ interneurons in the frontal cortex and bigger brains in juvenile rats (see the publication 4).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abdi, Z., & Sharma, T. (2004). Social cognition and its neural correlates in schizophrenia and autism. *CNS Spectrums*, 9(5), 335–343.
- Abushakra, S., Porsteinsson, A., Vellas, B., Cummings, J., Gauthier, S., Hey, J. A., Power, A., Hendrix, S., Wang, P., Shen, L., Sampalis, J., & Tolar, M. (2016). Clinical benefits of tramiprosate in Alzheimer's disease are associated with higher number of APOE4 alleles: The "APOE4 gene-dose effect." *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 3(4), 219–228.
- Abushakra, S., Porsteinsson, A., Scheltens, P., Sadowsky, C., Vellas, B., Cummings, J., Gauthier, S., Hey, J. A., Power, A., Wang, P., Shen, L., & Tolar, M. (2017). Clinical effects of tramiprosate in APOE4/4 homozygous patients with mild Alzheimer's disease suggest disease modification potential. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 4(3), 149–156.
- Agca, C., Fritz, J. J., Walker, L. C., Levey, A. I., Chan, A. W., Lah, J. J., & Agca, Y. (2008). Development of transgenic rats producing human β -amyloid precursor protein as a model for Alzheimer's disease: Transgene and endogenous APP genes are regulated tissue-specifically. *BMC Neuroscience*, 9(1), 28.
- Agid, O., Siu, C. O., Potkin, S. G., Kapur, S., Watsky, E., Vanderburg, D., Zipursky, R. B., & Remington, G. (2013). Meta-regression analysis of placebo response in antipsychotic trials, 1970–2010. *American Journal of Psychiatry*, 170(11), 1335–1344.
- Akira, S., & Takeda, K. (2004). Toll-like receptor signalling. *Nature Reviews Immunology*, 4(7), 499–511.
- Allen, D. A. (1988). Austistic spectrum disorders: Clinical presentation in preschool children. *Journal of Child Neurology*, 3(1_suppl), S48–S56.
- Alyan, S., & Jander, R. (1994). Short-range homing in the house mouse, *Mus musculus*: Stages in the learning of directions. *Animal Behaviour*, 48(2), 285–298.
- Alzheimer's Association. (2017). 2017 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 13(4), 325–373.
- Amaral, D. G., Schumann, C. M., & Nordahl, C. W. (2008). Neuroanatomy of autism. *Trends in Neurosciences*, 31(3), 137–145.
- American Psychiatric Association (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®)*. 5th Edition. Arlington, VA: American Psychiatric Association.
- Anderson, M. J., Jablonski, S. A., & Klimas, D. B. (2008). Spaced initial stimulus familiarization enhances novelty preference in Long-Evans rats. *Behavioural Processes*, 78(3), 481–486.
- Andreasen, N. C. (1995). Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia. *The Lancet*, 346(8973), 477–481.

- Ashok, A., Rai, N. K., Tripathi, S., & Bandyopadhyay, S. (2015). Exposure to As-, Cd-, and Pb-mixture induces A β , amyloidogenic APP processing and cognitive impairments via oxidative stress-dependent neuroinflammation in young rats. *Toxicological Sciences*, *143*(1), 64–80.
- Baharnoori, M., Bhardwaj, S. K., & Srivastava, L. K. (2012). Neonatal behavioral changes in rats with gestational exposure to lipopolysaccharide: A prenatal infection model for developmental neuropsychiatric disorders. *Schizophrenia Bulletin*, *38*(3), 444–456.
- Bahnik, S. (2014). Carousel Maze Manager. Version 0.4.0. Available online at <https://github.com/bahniks/CM Manager 0 4 0>
- Banik, A., Brown, R. E., Bamburg, J., Lahiri, D. K., Khurana, D., Friedland, R. P., Chen, W., Ding, Y., Mudher, A., Padjen, A. L., Mukaetova-Ladinska, E., Ihara, M., Srivastava, S., Padma Srivastava, M. V., Masters, C. L., Kalaria, R. N., & Anand, A. (2015). Translation of pre-clinical studies into successful clinical trials for Alzheimer's disease: What are the roadblocks and how can they be overcome? *Journal of Alzheimer's Disease*, *47*(4), 815–843.
- Bannerman, D. M., Rawlins, J. N. P., McHugh, S. B., Deacon, R. M. J., Yee, B. K., Bast, T., Zhang, W.-N., Pothuizen, H. H. J., & Feldon, J. (2004). Regional dissociations within the hippocampus—Memory and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *28*(3), 273–283.
- Barch, D. M., Carter, C. S., Braver, T. S., Sabb, F. W., MacDonald, A., Noll, D. C., & Cohen, J. D. (2001). Selective deficits in prefrontal cortex function in medication-naive patients with schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *58*(3), 280–288.
- Basha, M. R., Wei, W., Bakheet, S. A., Benitez, N., Siddiqi, H. K., Ge, Y.-W., Lahiri, D. K., & Zawia, N. H. (2005). The fetal basis of amyloidogenesis: Exposure to lead and latent overexpression of amyloid precursor protein and β -amyloid in the aging brain. *Journal of Neuroscience*, *25*(4), 823–829.
- Basta-Kaim, A., Fijał, K., Budziszewska, B., Regulska, M., Leśkiewicz, M., Kubera, M., Gołembiowska, K., Lasoń, W., & Wędzony, K. (2011a). Prenatal lipopolysaccharide treatment enhances MK-801-induced psychotomimetic effects in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *98*(2), 241–249.
- Basta-Kaim, A., Budziszewska, B., Leśkiewicz, M., Fijał, K., Regulska, M., Kubera, M., Wędzony, K., & Lasoń, W. (2011b). Hyperactivity of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis in lipopolysaccharide-induced neurodevelopmental model of schizophrenia in rats: Effects of antipsychotic drugs. *European Journal of Pharmacology*, *650*(2–3), 586–595.
- Basta-Kaim, A., Fijał, K., Ślusarczyk, J., Trojan, E., Głombik, K., Budziszewska, B., Leśkiewicz, M., Regulska, M., Kubera, M., Lasoń, W., & Wędzony, K. (2015). Prenatal administration of lipopolysaccharide induces sex-dependent changes in glutamic acid decarboxylase and parvalbumin in the adult rat brain. *Neuroscience*, *287*, 78–92.
- Basun, H., Forssell, L. G., Wetterberg, L., & Winblad, B. (1991). Metals and trace elements in plasma and cerebrospinal fluid in normal aging and Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission. Parkinson's Disease and Dementia Section*, *3*(4), 231–258.

- Batinić, B., Santrač, A., Divović, B., Timić, T., Stanković, T., Obradović, A. L., Joksimović, S., & Savić, M. (2016). Lipopolysaccharide exposure during late embryogenesis results in diminished locomotor activity and amphetamine response in females and spatial cognition impairment in males in adult, but not adolescent rat offspring. *Behavioural Brain Research*, *299*, 72–80.
- 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.
- Benes, F., & Berretta, S. (2001). GABAergic interneurons: Implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, *25*(1), 1–27.
- Benilova, I., Karran, E., & De Strooper, B. (2012). The toxic A β oligomer and Alzheimer's disease: An emperor in need of clothes. *Nature Neuroscience*, *15*(3), 349–357.
- Berkowitz, L. E., Harvey, R. E., Drake, E., Thompson, S. M., & Clark, B. J. (2018). Progressive impairment of directional and spatially precise trajectories by TgF344-Alzheimer's disease rats in the Morris water task. *Scientific Reports*, *8*(1), 16153.
- Bernier, R., Mao, A., & Yen, J. (2010). Psychopathology, families, and culture: Autism. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, *19*(4), 855–867.
- Blackshear, A. L., Xu, W., Anderson, M., Xu, F., Previti, M. L., Van Nostrand, W. E., & Robinson, J. K. (2011). A novel operant testing regimen for multi-construct cognitive characterization of a murine model of Alzheimer's amyloid-related behavioral impairment. *Neurobiology of Learning and Memory*, *96*(3), 443–451.
- Boksa, P. (2008). Maternal infection during pregnancy and schizophrenia. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, *33*(3), 183–185.
- 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.
- Bondi, M. W., Jak, A. J., Delano-Wood, L., Jacobson, M. W., Delis, D. C., & Salmon, D. P. (2008). Neuropsychological contributions to the early identification of Alzheimer's disease. *Neuropsychology Review*, *18*(1), 73–90.
- Bondy, S. C. (2016). Low levels of aluminum can lead to behavioral and morphological changes associated with Alzheimer's disease and age-related neurodegeneration. *NeuroToxicology*, *52*, 222–229.
- Bourassa, M. W., Leskovjan, A. C., Tappero, R. V., Farquhar, E. R., Colton, C. A., Van Nostrand, W. E., & Miller, L. M. (2013). Elevated copper in the amyloid plaques and iron in the cortex are observed in mouse models of Alzheimer's disease that exhibit neurodegeneration. *Biomedical Spectroscopy and Imaging*, *2*(2), 129–139.
- Braff, D. L., Geyer, M. A., Light, G. A., Sprock, J., Perry, W., Cadenhead, K. S., & Swerdlow, N. R. (2001). Impact of prepulse characteristics on the detection of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *49*(1–2), 171–178.

- Braff, D. L., Swerdlow, N. R., & Geyer, M. A. (1999). Symptom correlates of prepulse inhibition deficits in male schizophrenic patients. *The American Journal of Psychiatry*, *156*(4), 596–602.
- 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.
- Brier, M. R., Gordon, B., Friedrichsen, K., McCarthy, J., Stern, A., Christensen, J., Owen, C., Aldea, P., Su, Y., Hassenstab, J., Cairns, N. J., Holtzman, D. M., Fagan, A. M., Morris, J. C., Benzinger, T. L. S., & Ances, B. M. (2016). Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Science Translational Medicine*, *8*(338), 338ra366.
- Brothers, H. M., Gosztyla, M. L., & Robinson, S. R. (2018). The physiological roles of amyloid- β peptide hint at new ways to treat Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *10*, 118.
- Brown, A. S., & Patterson, P. H. (2011). Maternal infection and schizophrenia: Implications for prevention. *Schizophrenia Bulletin*, *37*(2), 284–290.
- 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.
- Bubenikova-Valesova, V., Horacek, J., Vrajova, M., & Hoschl, C. (2008). Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *32*(5), 1014–1023.
- Buchanan, R. W., Vladar, K., Barta, P. E., & Pearlson, G. D. (1998). Structural evaluation of the prefrontal cortex in schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, *155*(8), 1049–1055.
- Budson, A. E., & Solomon, P. R. (2012). New diagnostic criteria for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment for the practical neurologist. *Practical Neurology*, *12*(2), 88–96.
- Buitrago, M., Schulz, J., Dichgans, J., & Luft, A. (2004). Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm. *Neurobiology of Learning and Memory*, *81*(3), 211–216.
- 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.
- Cadonic, C., Sabbir, M. G., & Albeni, B. C. (2016). Mechanisms of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*, *53*(9), 6078–6090.
- Caglayan, A. O. (2010). Genetic causes of syndromic and non-syndromic autism. *Developmental Medicine & Child Neurology*, *52*(2), 130–138.
- Cai, Z., Pan, Z.-L., Pang, Y., Evans, O. B., & Rhodes, P. G. (2000). Cytokine induction in fetal rat brains and brain injury in neonatal rats after maternal lipopolysaccharide administration. *Pediatric Research*, *47*(1), 64–64.

- Carlton, P. L. (1968). Brain acetylcholine and habituation. In P. B. Bradley & M. Fink (Eds.), *Progress in Brain Research* (Vol. 28, pp. 48–60). Elsevier.
- Carreiras, M., Mendes, E., Perry, M., Francisco, A., & Marco-Contelles, J. (2013). The multifactorial nature of Alzheimer's disease for developing potential therapeutics. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *13*(15), 1745–1770.
- Castellano, J. M., Kim, J., Stewart, F. R., Jiang, H., DeMattos, R. B., Patterson, B. W., Fagan, A. M., Morris, J. C., Mawuenyega, K. G., Cruchaga, C., Goate, A. M., Bales, K. R., Paul, S. M., Bateman, R. J., & Holtzman, D. M. (2011). Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Science Translational Medicine*, *3*(89ra57), 13.
- Castle, D. J., Abel, K., Takei, N., & Murray, R. M. (1995). Gender differences in schizophrenia: Hormonal effect or subtypes? *Schizophrenia Bulletin*, *21*(1), 1–12.
- Cerf, E., Gustot, A., Goormaghtigh, E., Ruyschaert, J.-M., & Raussens, V. (2011). High ability of apolipoprotein E4 to stabilize amyloid- β peptide oligomers, the pathological entities responsible for Alzheimer's disease. *The FASEB Journal*, *25*(5), 1585–1595.
- Charreau, B., Tesson, L., Soullillou, J.-P., Pourcel, C., & Anegon, I. (1996). Transgenesis in rats: Technical aspects and models. *Transgenic Research*, *5*(4), 223–234.
- Chaste, P., & Leboyer, M. (2012). Autism risk factors: Genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *14*(3), 281–292.
- Chavarriga, R., Strösslin, T., Sheynikhovich, D., & Gerstner, W. (2005). Competition between cue response and place response: A model of rat navigation behaviour. *Connection Science*, *17*(1–2), 167–183.
- Chen, L. L., Lin, L.-H., Green, E. J., Barnes, C. A., & McNaughton, B. L. (1994). Head-direction cells in the rat posterior cortex. *Experimental Brain Research*, *101*(1), 8–23.
- Chen, Y., Liang, Z., Blanchard, J., Dai, C.-L., Sun, S., Lee, M. H., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Liu, F., & Gong, C.-X. (2013). A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease: Similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse). *Molecular Neurobiology*, *47*(2), 711–725.
- Chen, Y., Liang, Z., Tian, Z., Blanchard, J., Dai, C., Chalbot, S., Iqbal, K., Liu, F., & Gong, C.-X. (2014). Intracerebroventricular streptozotocin exacerbates Alzheimer-like changes of 3xTg-AD mice. *Molecular Neurobiology*, *49*(1), 547–562.
- Chin-Chan, M., Navarro-Yepes, J., & Quintanilla-Vega, B. (2015). Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *9*(124), 1–22.
- Cimadevilla, J. M., Wesierska, M., Fenton, A. A., & Bures, J. (2001). Inactivating one hippocampus impairs avoidance of a stable room-defined place during dissociation of arena cues from room cues by rotation of the arena. *PNAS*, *98*(6), 3531–3536.

- Citron, M., Oltersdorf, T., Haass, C., McConlogue, L., Hung, A. Y., Seubert, P., Vigo-Pelfrey, C., Lieberburg, I., & Selkoe, D. J. (1992). Mutation of the β -amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases β -protein production. *Nature*, *360*(6405), 672–674.
- Clancy, B., Darlington, R. B., & Finlay, B. L. (2001). Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*, *105*(1), 7–17.
- Clark, R. E., & Squire, L. R. (1998). Classical conditioning and brain systems: The role of awareness. *Science*, *280*(5360), 77–81.
- Coffman, M. C., Anderson, L. C., Naples, A. J., & McPartland, J. C. (2015). Sex differences in social perception in children with ASD. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, *45*(2), 589–599.
- Cohen, R. M., Rezai-Zadeh, K., Weitz, T. M., Rentsendorj, A., Gate, D., Spivak, I., Bholat, Y., Vasilevko, V., Glabe, C. G., Breunig, J. J., Rakic, P., Davtyan, H., Agadjanyan, M. G., Kepe, V., Barrio, J. R., Bannykh, S., Szekely, C. A., Pechnick, R. N., & Town, T. (2013). A transgenic Alzheimer rat with plaques, tau pathology, behavioral impairment, oligomeric A β , and frank neuronal loss. *Journal of Neuroscience*, *33*(15), 6245–6256.
- Cook, E., & Leventhal, B. (1996). The serotonin system in autism. *Current Opinion in Pediatrics*, *8*(4), 348–354.
- Corey, D. T. (1978). The determinants of exploration and neophobia. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *2*(4), 235–253.
- Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? *Nature Reviews Neuroscience*, *3*(2), 153–160.
- Costain, G., & Bassett, A. S. (2012). Clinical applications of schizophrenia genetics: Genetic diagnosis, risk, and counseling in the molecular era. *The Application of Clinical Genetics*, *5*, 1–18.
- Courchesne, E., Carper, R., & Akshoomoff, N. (2003). Evidence of brain overgrowth in the first year of life in autism. *JAMA*, *290*(3), 337–344.
- Courchesne, E., Karns, C. M., Davis, H. R., Ziccardi, R., Carper, R. A., Tigue, Z. D., Chisum, H. J., Moses, P., Pierce, K., Lord, C., Lincoln, A. J., Pizzo, S., Schreibman, L., Haas, R. H., Akshoomoff, N. A., & Courchesne, R. Y. (2001). Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: An MRI study. *Neurology*, *57*(2), 245–254.
- 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.
- Crusio, W., & Schwegler, H. (1987). Hippocampal mossy fiber distribution covaries with open-field habituation in the mouse. *Behavioural Brain Research*, *26*(2–3), 153–158.
- Cummings, J. L., Morstorf, T., & Zhong, K. (2014). Alzheimer's disease drug-development pipeline: Few candidates, frequent failures. *Alzheimer's Research & Therapy*, *6*(4), 37.
- Curley, A. A., Arion, D., Volk, D. W., Asafu-Adjei, J. K., Sampson, A. R., Fish, K. N., & Lewis, D. A. (2011). Cortical deficits of glutamic acid decarboxylase 67 expression in schizophrenia: Clinical, protein, and cell type-specific features. *American Journal of Psychiatry*, *168*(9), 921–929.

- Curzon, P., Rustay, N. R., & Browman, K. E. (2009). Cued and contextual fear conditioning for rodents. In: Buccafusco, J. J. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience* (2nd ed.). CRC Press/Taylor & Francis.
- D'Acunto, C. W., Kaplánek, R., Gbelcová, H., Kejřk, Z., Bříza, T., Vasina, L., Havlík, M., Ruml, T., & Král, V. (2018). Metallomics for Alzheimer's disease treatment: Use of new generation of chelators combining metal-cation binding and transport properties. *European Journal of Medicinal Chemistry, 150*, 140–155.
- Daley, T. C., & Sigman, M. D. (2002). Diagnostic conceptualization of autism among Indian psychiatrists, psychologists, and pediatricians. *Journal of Autism and Developmental Disorders, 32*(1), 13–23.
- Darwin, C. (1873). Origin of certain instincts. *Nature, 7*, 417–418.
- Davies, C., Segre, G., Estradé, A., Radua, J., De Micheli, A., Provenzani, U., Oliver, D., Salazar de Pablo, G., Ramella-Cravaro, V., Besozzi, M., Dazzan, P., Miele, M., Caputo, G., Spallarossa, C., Crossland, G., Ilyas, A., Spada, G., Politi, P., Murray, R. M., ... Fusar-Poli, P. (2020). Prenatal and perinatal risk and protective factors for psychosis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry, 7*(5), 399–410.
- Davis, M. (1970). Effects of interstimulus interval length and variability on startle-response habituation in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 72*(2), 177–192.
- Dawson, G., Munson, J., Webb, S. J., Nalty, T., Abbott, R., & Toth, K. (2007). Rate of head growth decelerates and symptoms worsen in the second year of life in autism. *Biological Psychiatry, 61*(4), 458–464.
- de Oliveira, L., Fraga, D. B., De Luca, R. D., Canever, L., Ghedim, F. V., Matos, M. P. P., Streck, E. L., Quevedo, J., & Zugno, A. I. (2011). Behavioral changes and mitochondrial dysfunction in a rat model of schizophrenia induced by ketamine. *Metabolic Brain Disease, 26*(1), 69–77.
- De Strooper, B., Saftig, P., Craessaerts, K., Vanderstichele, H., Guhde, G., Annaert, W., Von Figura, K., & Van Leuven, F. (1998). Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature, 391*(6665), 387–390.
- Deacon, R. M. J., & Rawlins, J. N. P. (2006). T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols, 1*(1), 7–12.
- DeLisi, L. E. (2001). Speech disorder in schizophrenia: Review of the literature and exploration of its relation to the uniquely human capacity for language. *Schizophrenia Bulletin, 27*(3), 481–496.
- DeLong, G. R. (2005). The cerebellum in autism. In: Coleman, M. *The neurology of autism*. New York: Oxford University Press.
- Dementieva, Y. A., Vance, D. D., Donnelly, S. L., Elston, L. A., Wolpert, C. M., Ravan, S. A., DeLong, G. R., Abramson, R. K., Wright, H. H., & Cuccaro, M. L. (2005). Accelerated head growth in early development of individuals with autism. *Pediatric Neurology, 32*(2), 102–108.
- Depino, A. M. (2015). Early prenatal exposure to LPS results in anxiety- and depression-related behaviors in adulthood. *Neuroscience, 299*, 56–65.

- Devan, B. D., & White, N. M. (1999). Parallel information processing in the dorsal striatum: Relation to hippocampal function. *The Journal of Neuroscience*, *19*(7), 2789–2798.
- Do Carmo, S., & Cuello, A. C. (2013). Modeling Alzheimer's disease in transgenic rats. *Molecular Neurodegeneration*, *8*(1), 37.
- Doody, R. S., Thomas, R. G., Farlow, M., Iwatsubo, T., Vellas, B., Joffe, S., Kieburtz, K., Raman, R., Sun, X., Aisen, P. S., Siemers, E., Liu-Seifert, H., Mohs, R., Alzheimer's Disease Cooperative Study Steering Committee, & Solanezumab Study Group. (2014). Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine*, *370*(4), 311–321.
- Drummond, E., & Wisniewski, T. (2017). Alzheimer's disease: Experimental models and reality. *Acta Neuropathologica*, *133*(2), 155–175.
- Eckert, A., Keil, U., Marques, C. A., Bonert, A., Frey, C., Schüssel, K., & Müller, W. E. (2003). Mitochondrial dysfunction, apoptotic cell death, and Alzheimer's disease. *Biochemical Pharmacology*, *66*(8), 1627–1634.
- Egerton, A., Reid, L., McGregor, S., Cochran, S. M., Morris, B. J., & Pratt, J. A. (2008). Subchronic and chronic PCP treatment produces temporally distinct deficits in attentional set shifting and prepulse inhibition in rats. *Psychopharmacology*, *198*(1), 37–49.
- Elsabbagh, M., Divan, G., Koh, Y.-J., Kim, Y. S., Kauchali, S., Marcín, C., Montiel-Nava, C., Patel, V., Paula, C. S., Wang, C., Yasamy, M. T., & Fombonne, E. (2012). Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders. *Autism Research*, *5*(3), 160–179.
- Farrer, L. A. (1997). Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: A meta-analysis. *The Journal of the American Medical Association*, *278*(16), 1349–1356.
- Fatemi, S. H., Reutiman, T. J., Folsom, T. D., Huang, H., Oishi, K., Mori, S., Smee, D. F., Pearce, D. A., Winter, C., Sohr, R., & Juckel, G. (2008). Maternal infection leads to abnormal gene regulation and brain atrophy in mouse offspring: Implications for genesis of neurodevelopmental disorders. *Schizophrenia Research*, *99*(1–3), 56–70.
- Fenton, A A, Wesierska, M., Kaminsky, Y., & Bures, J. (1998). Both here and there: Simultaneous expression of autonomous spatial memories in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(19), 11493–11498.
- Fenton, Andre A., & Bures, J. (1993). Place navigation in rats with unilateral tetrodotoxin inactivation of the dorsal hippocampus: Place but not procedural learning can be lateralized to one hippocampus. *Behavioral Neuroscience*, *107*(4), 552–564.
- File, S. E., Lippa, A. S., Beer, B., & Lippa, M. T. (2004). Animal tests of anxiety. *Current Protocols in Neuroscience*, *26*(1), 8.3.1-8.3.22.
- Flood, D. G., Lin, Y.-G., Lang, D. M., Trusko, S. P., Hirsch, J. D., Savage, M. J., Scott, R. W., & Howland, D. S. (2009). A transgenic rat model of Alzheimer's disease with extracellular A β deposition. *Neurobiology of Aging*, *30*(7), 1078–1090.

- Foley, K. A., MacFabe, D. F., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K.-P. (2015). Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to lipopolysaccharide, and prenatal and postnatal exposure to propionic acid, on acoustic startle response and prepulse inhibition in adolescent rats: Relevance to autism spectrum disorders. *Behavioural Brain Research*, *278*, 244–256.
- Foley, K. A., MacFabe, D. F., Vaz, A., Ossenkopp, K., & Kavaliers, M. (2014a). Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to propionic acid and lipopolysaccharide on social behavior in neonatal, adolescent, and adult rats: Implications for autism spectrum disorders. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *39*(1), 68–78.
- Foley, K. A., Ossenkopp, K.-P., Kavaliers, M., & MacFabe, D. F. (2014b). Pre- and neonatal exposure to lipopolysaccharide or the enteric metabolite, propionic acid, alters development and behavior in adolescent rats in a sexually dimorphic manner. *PLoS ONE*, *9*(1), e87072.
- Fortier, M.-È., Joobar, R., Luheshi, G. N., & Boksa, P. (2004). Maternal exposure to bacterial endotoxin during pregnancy enhances amphetamine-induced locomotion and startle responses in adult rat offspring. *Journal of Psychiatric Research*, *38*(3), 335–345.
- Fortier, M.-E., Luheshi, G. N., & Boksa, P. (2007). Effects of prenatal infection on prepulse inhibition in the rat depend on the nature of the infectious agent and the stage of pregnancy. *Behavioural Brain Research*, *181*(2), 270–277.
- Fortin, N. (2008). 1.21—Navigation and episodic-like memory in mammals. In: J. H. Byrne. *Learning and Memory: A Comprehensive Reference* (pp. 385–417). Academic Press.
- Foussias, G., & Remington, G. (2010). Negative symptoms in schizophrenia: Avolition and occam's razor. *Schizophrenia Bulletin*, *36*(2), 359–369.
- Frankland, P. W., Cestari, V., Filipkowski, R. K., & McDonald, R. J. (1998). The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning. *Behavioral Neuroscience*, *112*(4), 863–874.
- Frankle, W. G., Cho, R. Y., Prasad, K. M., Mason, N. S., Paris, J., Himes, M. L., Walker, C., Lewis, D. A., & Narendran, R. (2015). In vivo measurement of GABA transmission in healthy subjects and schizophrenia patients. *American Journal of Psychiatry*, *172*(11), 1148–1159.
- Fries, P. (2009). Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation. *Annual Review of Neuroscience*, *32*(1), 209–224.
- Fyhn, M., Molden, S., Witter, M. P., Moser, E. I., & Moser, M.-B. (2004). Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science*, *305*(5688), 1258–1264.
- Galeano, P., Martino Adami, P. V., Do Carmo, S., Blanco, E., Rotondaro, C., Capani, F., Castano, E. M., Cuello, A. C., & Morelli, L. (2014). Longitudinal analysis of the behavioral phenotype in a novel transgenic rat model of early stages of Alzheimer's disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*(321), 1–15.
- Gao, X.-M., Sakai, K., Roberts, R. C., Conley, R. R., Dean, B., & Tamminga, C. A. (2000). Ionotropic glutamate receptors and expression of N-methyl-d-aspartate receptor subunits in subregions of

- human hippocampus: Effects of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 157(7), 1141–1149.
- García-Nonell, C., Ratera, E. R., Harris, S., Hessel, D., Ono, M. Y., Tartaglia, N., Marvin, E., Tassone, F., & Hagerman, R. J. (2008). Secondary medical diagnosis in fragile X syndrome with and without autism spectrum disorder. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 146A(15), 1911–1916.
- Gawel, K., Gibula, E., Marszałek-Grabska, M., Filarowska, J., & Kotlinska, J. H. (2019). Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents—Methodological consideration. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 392(1), 1–18.
- 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.
- Goldenhuys, W. J., & Darvesh, A. S. (2015). Pharmacotherapy of Alzheimer's disease: Current and future trends. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 15(1), 3–5.
- Geyer, M. A., Krebs-Thomson, K., Braff, D. L., & Swerdlow, N. R. (2001). Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: A decade in review. *Psychopharmacology*, 156(2–3), 117–154.
- Gibbs, R. A., et al. (Rat Genome Sequencing Project Consortium). (2004). Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, 428(6982), 493–521.
- Giovannini, M. G., Rakovska, A., Benton, R. S., Pazzagli, M., Bianchi, L., & Pepeu, G. (2001). Effects of novelty and habituation on acetylcholine, GABA, and glutamate release from the frontal cortex and hippocampus of freely moving rats. *Neuroscience*, 106(1), 43–53.
- Glanzman, D. L. (2009). Habituation in *Aplysia*: The Cheshire Cat of neurobiology. *Neurobiology of Learning and Memory*, 92(2), 147–154.
- Glausier, J. R., Fish, K. N., & Lewis, D. A. (2014). Altered parvalbumin basket cell inputs in the dorsolateral prefrontal cortex of schizophrenia subjects. *Molecular Psychiatry*, 19(1), 30–36.
- Goedert, M. (2008). Oskar Fischer and the study of dementia. *Brain*, 132(4), 1102–1111.
- Goedert, M., & Spillantini, M. G. (2006). A century of Alzheimer's disease. *Science*, 314(5800), 777–781.
- Goldstein, L. B., & Davis, J. N. (1990). Post-lesion practice and amphetamine-facilitated recovery of beam-walking in the rat. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 1(5), 311–314.
- Gonzalez-Burgos, G., Cho, R. Y., & Lewis, D. A. (2015). Alterations in cortical network oscillations and parvalbumin neurons in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 77(12), 1031–1040.
- Gonzalez-Burgos, G., Hashimoto, T., & Lewis, D. A. (2010). Alterations of cortical GABA neurons and network oscillations in schizophrenia. *Current Psychiatry Reports*, 12(4), 335–344.
- Grande, G., Cucumo, V., Cova, I., Ghiretti, R., Maggiore, L., Lacorte, E., Galimberti, D., Scarpini, E., Clerici, F., Pomati, S., Vanacore, N., & Mariani, C. (2016). Reversible mild cognitive impairment: The role of comorbidities at baseline evaluation. *Journal of Alzheimer's Disease*, 51(1), 57–67.

- Green, S. E., Joyce, D., & Summerfield, A. (1975). Effects of scopolamine on habituation of exploratory activity in rats. *Physiological Psychology*, 3(4), 400–404.
- 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.
- Grieb, P. (2016). Intracerebroventricular streptozotocin injections as a model of Alzheimer's disease: In Search of a relevant mechanism. *Molecular Neurobiology*, 53(3), 1741–1752.
- Gupta, V. B., Anitha, S., Hegde, M. L., Zecca, L., Garruto, R. M., Ravid, R., Shankar, S. K., Stein, R., Shanmugavelu, P., & Jagannatha Rao, K. S. (2005). Aluminium in Alzheimer's disease: Are we still at a crossroad? *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(2), 143–158.
- Haass, C., & De Strooper, B. (1999). The presenilins in Alzheimer's disease—Proteolysis holds the key. *Science*, 286(5441), 916–919.
- Haass, C. (1994). Mutations associated with a locus for familial Alzheimer's disease result in alternative processing of amyloid β -protein precursor. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(26), 17741–17748.
- Haass, C., Lemere, C. A., Capell, A., Citron, M., Seubert, P., Schenk, D., Lannfelt, L., & Selkoe, D. J. (1995). The Swedish mutation causes early-onset Alzheimer's disease by β -secretase cleavage within the secretory pathway. *Nature Medicine*, 1(12), 1291–1296.
- Haass, C., & Steiner, H. (2002). Alzheimer disease γ -secretase: A complex story of GxGD-type presenilin proteases. *Trends in Cell Biology*, 12(12), 556–562.
- Hadjikhani, N., Joseph, R. M., Snyder, J., & Tager-Flusberg, H. (2006). Anatomical differences in the mirror neuron system and social cognition network in autism. *Cerebral Cortex*, 16(9), 1276–1282.
- Hall, J., Romaniuk, L., McIntosh, A. M., Steele, J. D., Johnstone, E. C., & Lawrie, S. M. (2009). Associative learning and the genetics of schizophrenia. *Trends in Neurosciences*, 32(6), 359–365.
- Hallmayer, J., Cleveland, S., Torres, A., Phillips, J., Cohen, B., Torigoe, T., Miller, J., Fedele, A., Collins, J., Smith, K., Lotspeich, L., Croen, L. A., Ozonoff, S., Lajonchere, C., Grether, J. K., & Risch, N. (2011). Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Archives of General Psychiatry*, 68(11), 1095–1102.
- Hammond, R., Tull, L. E., & Stackman, R. W. (2004). On the delay-dependent involvement of the hippocampus in object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(1), 26–34.
- Hempel, H., Mesulam, M.-M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavedo, E., Snyder, P. J., & Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, 141(7), 1917–1933.
- Hanes, J., Zilka, N., Bartkova, M., Caletkova, M., Dobrota, D., & Novak, M. (2009). Rat tau proteome consists of six tau isoforms: Implication for animal models of human tauopathies. *Journal of Neurochemistry*, 108(5), 1167–1176.

- Hanzel, C. E., Pichet-Binette, A., Pimentel, L. S. B., Iulita, M. F., Allard, S., Ducatzenzeiler, A., Do Carmo, S., & Cuello, A. C. (2014). Neuronal driven pre-plaque inflammation in a transgenic rat model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, *35*(10), 2249–2262.
- Hardan, A. Y., Muddasani, S., Vemulapalli, M., Keshavan, M. S., & Minshew, N. J. (2006). An MRI study of increased cortical thickness in autism. *American Journal of Psychiatry*, *163*(7), 1290–1292.
- Hardy, J. (1997). Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends in Neurosciences*, *20*(4), 154–159.
- Hashemi, E., Ariza, J., Rogers, H., Noctor, S. C., & Martínez-Cerdeño, V. (2017). The number of parvalbumin-expressing interneurons is decreased in the prefrontal cortex in autism. *Cerebral Cortex*, *27*(3), 1931–1943.
- Hawkins, R. D. (1984). A cellular mechanism of classical conditioning in *Aplysia*. *The Journal of Experimental Biology*, *112*(1), 113–128.
- Heckers, S. (2001). Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia. *Hippocampus*, *11*(5), 520–528.
- Hegglund, I., Storkaas, I. S., Soligard, H. T., Kibro-Flatmoen, A., & Witter, M. P. (2015). Stereological estimation of neuron number and plaque load in the hippocampal region of a transgenic rat model of Alzheimer's disease. *European Journal of Neuroscience*, *41*(9), 1245–1262.
- Henry, C. J., Huang, Y., Wynne, A. M., & Godbout, J. P. (2009). Peripheral lipopolysaccharide (LPS) challenge promotes microglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatory IL-1 β and anti-inflammatory IL-10 cytokines. *Brain, Behavior, and Immunity*, *23*(3), 309–317.
- Hey, J. A., Yu, J. Y., Versavel, M., Abushakra, S., Kocis, P., Power, A., Kaplan, P. L., Amedio, J., & Tolar, M. (2018). Clinical pharmacokinetics and safety of ALZ-801, a novel prodrug of tramiprosate in development for the treatment of Alzheimer's disease. *Clinical Pharmacokinetics*, *57*(3), 315–333.
- Heyser, C. J., Fienberg, A. A., Greengard, P., & Gold, L. H. (2000). DARPP-32 knockout mice exhibit impaired reversal learning in a discriminated operant task. *Brain Research*, *867*(1–2), 122–130.
- Hitti, F. L., & Siegelbaum, S. A. (2014). The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*, *508*(7494), 88–92.
- Holsapple, M. P., West, L. J., & Landreth, K. S. (2003). Species comparison of anatomical and functional immune system development. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, *68*(4), 321–334.
- Hosp, J. A., & Luft, A. R. (2013). Dopaminergic meso-cortical projections to M1: Role in motor learning and motor cortex plasticity. *Frontiers in Neurology*, *4*(145), 1–7.
- Hughes, T. F., Snitz, B. E., & Ganguli, M. (2011). Should mild cognitive impairment be subtyped? *Current Opinion in Psychiatry*, *24*(3), 237–242.
- 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.

- Imbimbo, B. P., & Watling, M. (2019). Investigational BACE inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 28(11), 967–975.
- Iqbal, K., del C. Alonso, A., Chen, S., Chohan, M. O., El-Akkad, E., Gong, C.-X., Khatoon, S., Li, B., Liu, F., Rahman, A., Tanimukai, H., & Grundke-Iqbal, I. (2005). Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1739(2–3), 198–210.
- Itzhaki, R. F. (2018). Corroboration of a major role for Herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 324.
- Itzhaki, R. F., Lathe, R., Balin, B. J., Ball, M. J., Bearer, E. L., Braak, H., Bullido, M. J., Carter, C., Clerici, M., Cosby, S. L., Del Tredici, K., Field, H., Fulop, T., Grassi, C., Griffin, W. S. T., Haas, J., Hudson, A. P., Kamer, A. R., Kell, D. B., ... Whittum-Hudson, J. A. (2016). Microbes and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 51(4), 979–984.
- Iulita, M. F., Allard, S., Richter, L., Munter, L.-M., Ducatenzeiler, A., Weise, C., Do Carmo, S., Klein, W. L., Multhaupt, G., & Cuello, A. C. (2014). Intracellular A β pathology and early cognitive impairments in a transgenic rat overexpressing human amyloid precursor protein: A multidimensional study. *Acta Neuropathologica Communications*, 2(1), 61.
- Jamain, S., Quach, H., Betancur, C., Råstam, M., Colineaux, C., Gillberg, I. C., Soderstrom, H., Giros, B., Leboyer, M., Gillberg, C., & Bourgeron, T. (2003). Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nature Genetics*, 34(1), 27–29.
- James, O. G., Doraiswamy, P. M., & Borges-Neto, S. (2015). PET imaging of tau pathology in Alzheimer's disease and tauopathies. *Frontiers in Neurology*, 6(38).
- Javitt, D. C. (2010). Glutamatergic theories of schizophrenia. *Israel Journal of Psychiatry and Related Sciences*, 47(1), 4–16.
- Jeste, S. S., Sahin, M., Bolton, P., Ploubidis, G. B., & Humphrey, A. (2008). Characterization of autism in young children with tuberous sclerosis complex. *Journal of Child Neurology*, 23(5), 520–525.
- Ji, N. Y., & Findling, R. L. (2015). An update on pharmacotherapy for autism spectrum disorder in children and adolescents: *Current Opinion in Psychiatry*, 28(2), 91–101.
- Jobski, K., Höfer, J., Hoffmann, F., & Bachmann, C. (2017). Use of psychotropic drugs in patients with autism spectrum disorders: A systematic review. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 135(1), 8–28.
- Johnson, V. E., Stewart, W., & Smith, D. H. (2010). Traumatic brain injury and amyloid- β pathology: A link to Alzheimer's disease? *Nature Reviews Neuroscience*, 11(5), 361–370.
- Junod, A., Lambert, A. E., Stauffacher, W., & Renold, A. E. (1969). Diabetogenic action of streptozotocin: Relationship of dose to metabolic response. *Journal of Clinical Investigation*, 48(11), 2129–2139.
- Kamiya, A., Kubo, K., Tomoda, T., Takaki, M., Youn, R., Ozeki, Y., Sawamura, N., Park, U., Kudo, C., Okawa, M., Ross, C. A., Hatten, M. E., Nakajima, K., & Sawa, A. (2005). A schizophrenia-associated mutation of DISC1 perturbs cerebral cortex development. *Nature Cell Biology*, 7(12), 1167–1178.

- Kaneko, T. (2017). Genome editing of rat. In: Hatada, I. *Genome Editing in Animals* (Vol. 1630, pp. 101–108). Springer New York.
- Kantarci, K., Lowe, V. J., Boeve, B. F., Senjem, M. L., Tosakulwong, N., Lesnick, T. G., Spychalla, A. J., Gunter, J. L., Fields, J. A., Graff-Radford, J., Ferman, T. J., Jones, D. T., Murray, M. E., Knopman, D. S., Jack, C. R., & Petersen, R. C. (2017). AV-1451 tau and β -amyloid positron emission tomography imaging in dementia with Lewy bodies. *Annals of Neurology*, *81*(1), 58–67.
- Kao, H.-Y., Dvořák, D., Park, E., Kenney, J., Kelemen, E., & Fenton, A. A. (2017). Phencyclidine discoordinates hippocampal network activity but not place fields. *The Journal of Neuroscience*, *37*(49), 12031–12049.
- Karakaya, T., Fußer, F., Schröder, J., & Pantel, J. (2013). Pharmacological treatment of mild cognitive impairment as a prodromal syndrome of Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology*, *11*(1), 102–108.
- Karran, E., Mercken, M., & Strooper, B. D. (2011). The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: An appraisal for the development of therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, *10*(9), 698–712.
- Karson, C. N., Mraz, R. E., Schluterman, K. O., Sturmer, W. Q., Sheng, J. G., & Griffin, W. S. T. (1999). Alterations in synaptic proteins and their encoding mRNAs in prefrontal cortex in schizophrenia: A possible neurochemical basis for 'hypofrontality.' *Molecular Psychiatry*, *4*(1), 39–45.
- Kavanagh, D. H., Tansey, K. E., O'Donovan, M. C., & Owen, M. J. (2015). Schizophrenia genetics: Emerging themes for a complex disorder. *Molecular Psychiatry*, *20*(1), 72–76.
- Kawai, R., Markman, T., Poddar, R., Ko, R., Fantana, A., Dhawale, A., Kampff, A. R., & Ölveczky, B. P. (2015). Motor cortex is required for learning but not for executing a motor skill. *Neuron*, *86*(3), 800–812.
- Kessler, R. M., Woodward, N. D., Riccardi, P., Li, R., Ansari, M. S., Anderson, S., Dawant, B., Zald, D., & Meltzer, H. Y. (2009). Dopamine D2 receptor levels in striatum, thalamus, substantia nigra, limbic regions, and cortex in schizophrenic subjects. *Biological Psychiatry*, *65*(12), 1024–1031.
- Kilpinen, H., Ylisaukko-oja, T., Hennah, W., Palo, O. M., Varilo, T., Vanhala, R., Nieminen-von Wendt, T., von Wendt, L., Paunio, T., & Peltonen, L. (2008). Association of DISC1 with autism and Asperger syndrome. *Molecular Psychiatry*, *13*(2), 187–196.
- King, G. L., & Loeken, M. R. (2004). Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochemistry and Cell Biology*, *122*(4), 333–338.
- Kirsten, T. B., Taricano, M., Maiorka, P. C., Palermo-Neto, J., & Bernardi, M. M. (2010). Prenatal lipopolysaccharide reduces social behavior in male offspring. *Neuroimmunomodulation*, *17*(4), 240–251.
- Klatzky, R. L. (1998). Allocentric and egocentric spatial representations: Definitions, distinctions, and interconnections. In: Freksa, C., Habel, C., & Wender, K. F. *Spatial Cognition* (Vol. 1404, pp. 1–17). Springer Berlin Heidelberg.

- Kloskowska, E., Pham, T. M., Nilsson, T., Zhu, S., Öberg, J., Codita, A., Pedersen, L. Ø., Pedersen, J. T., Malkiewicz, K., Winblad, B., Folkesson, R., & Benedikz, E. (2010). Cognitive impairment in the Tg6590 transgenic rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *14*(6B), 1816–1823.
- Knight, E. M., Martins, I. V. A., Gümüşgöz, S., Allan, S. M., & Lawrence, C. B. (2014). High-fat diet-induced memory impairment in triple-transgenic Alzheimer's disease (3xTgAD) mice is independent of changes in amyloid and tau pathology. *Neurobiology of Aging*, *35*(8), 1821–1832.
- Kocis, P., Tolar, M., Yu, J., Sinko, W., Ray, S., Blennow, K., Fillit, H., & Hey, J. A. (2017). Elucidating the Aβ42 anti-aggregation mechanism of action of tramiprosate in Alzheimer's disease: Integrating molecular analytical methods, pharmacokinetic and clinical data. *CNS Drugs*, *31*(6), 495–509.
- Kodish, I., & McClellan, J. M. (2016). Early onset schizophrenia. In: Dulcan, M. K. *Dulcan's textbook of child and adolescent psychiatry* (pp. 389-408). 2nd ed. Arlington: American Psychiatric Association Publishing, Inc.
- Kohl, S., Heekeren, K., Klosterkötter, J., & Kuhn, J. (2013). Prepulse inhibition in psychiatric disorders – Apart from schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, *47*(4), 445–452.
- Kohl, S., Wolters, C., Gruendler, T. O. J., Vogeley, K., Klosterkötter, J., & Kuhn, J. (2014). Prepulse inhibition of the acoustic startle reflex in high functioning autism. *PLoS ONE*, *9*(3), e92372.
- Kraeuter, A.-K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Y-Maze for assessment of spatial working and reference memory in mice. In: Guest, P. C. *Pre-Clinical Models* (Vol. 1916, pp. 105–111). Springer New York.
- Kubesova, A., Tejkalova, H., Syslova, K., Kacer, P., Vondrousova, J., Tyls, F., Fujakova, M., Palenicek, T., & Horacek, J. (2015). Biochemical, histopathological and morphological profiling of a rat model of early immune stimulation: Relation to psychopathology. *PLOS ONE*, *10*(1), e0115439.
- 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.
- Kubik, S., & Fenton, A. A. (2005). Behavioral evidence that segregation and representation are dissociable hippocampal functions. *Journal of Neuroscience*, *25*(40), 9205–9212.
- Kumari, V., Antonova, E., Zachariah, E., Galea, A., Aasen, I., Ettinger, U., Mitterschiffthaler, M. T., & Sharma, T. (2005). Structural brain correlates of prepulse inhibition of the acoustic startle response in healthy humans. *NeuroImage*, *26*(4), 1052–1058.
- Kwon, J.-T., Seo, G.-B., Jo, E., Lee, M., Kim, H.-M., Shim, I., Lee, B.-W., Yoon, B.-I., Kim, P., & Choi, K. (2013). Aluminum nanoparticles induce ERK and p38MAPK activation in rat brain. *Toxicological Research*, *29*(3), 181–185.
- LaBar, K. S., & Cabeza, R. (2006). Cognitive neuroscience of emotional memory. *Nature Reviews Neuroscience*, *7*(1), 54–64.
- Lannfelt, L., Relkin, N. R., & Siemers, E. R. (2014). Amyloid-β-directed immunotherapy for Alzheimer's disease. *Journal of Internal Medicine*, *275*(3), 284–295.

- Laruelle, M. (2000). The role of endogenous sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: Implications from recent brain imaging studies. *Brain Research Reviews*, *31*(2–3), 371–384.
- Lawrence, Y. A., Kemper, T. L., Bauman, M. L., & Blatt, G. J. (2010). Parvalbumin-, calbindin-, and calretinin-immunoreactive hippocampal interneuron density in autism. *Acta Neurologica Scandinavica*, *121*(2), 99–108.
- Lazar, N. (2011). Contribution of nonprimate animal models in understanding the etiology of schizophrenia. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, *36*(4), E5–E29.
- 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., Jung, J., Arii, T., Imoto, K., & Rhyu, I. (2007). Morphological changes in dendritic spines of Purkinje cells associated with motor learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, *88*(4), 445–450.
- 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.
- Lee, Y. H., Cherkerzian, S., Seidman, L. J., Papandonatos, G. D., Savitz, D. A., Tsuang, M. T., Goldstein, J. M., & Buka, S. L. (2020). Maternal bacterial infection during pregnancy and offspring risk of psychotic disorders: Variation by severity of infection and offspring sex. *American Journal of Psychiatry*, *177*(1), 66–75.
- Lemaire, M. (2003). Social recognition task in the rat. *Current Protocols in Pharmacology*, *20*(1), 5.30.1-5.30.11.
- 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.
- Leucht, S., Arbter, D., Engel, R. R., Kissling, W., & Davis, J. M. (2009). How effective are second-generation antipsychotic drugs? A meta-analysis of placebo-controlled trials. *Molecular Psychiatry*, *14*(4), 429–447.
- Leucht, S., Leucht, C., Huhn, M., Chaimani, A., Mavridis, D., Helfer, B., Samara, M., Rabaioli, M., Bächer, S., Cipriani, A., Geddes, J. R., Salanti, G., & Davis, J. M. (2017). Sixty years of placebo-controlled antipsychotic drug trials in acute schizophrenia: Systematic review, Bayesian meta-analysis, and meta-regression of efficacy predictors. *American Journal of Psychiatry*, *174*(10), 927–942.
- Lewis, D. A., & Levitt, P. (2002). Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annual Review of Neuroscience*, *25*(1), 409–432.
- Lewis, D. A., Curley, A. A., Glausier, J. R., & Volk, D. W. (2012). Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends in Neurosciences*, *35*(1), 57–67.

- Li, N., Liu, F., Song, L., Zhang, P., Qiao, M., Zhao, Q., & Li, W. (2014). The effects of early life Pb exposure on the expression of IL1- β , TNF- α and A β in cerebral cortex of mouse pups. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(1), 100–104.
- Li, N., Yu, Z., Wang, L., Zheng, Y., Jia, J., Wang, Q., Zhu, M., Liu, X., Xia, X., & Li, W. (2010). Increased tau phosphorylation and beta amyloid in the hippocampus of mouse pups by early life lead exposure. *Acta Biologica Hungarica*, 61(2), 123–134.
- Li, X., Lv, Y., Yu, S., Zhao, H., & Yao, L. (2012). The effect of cadmium on A β levels in APP/PS1 transgenic mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 4(1), 125–130.
- Lieberman, J. A., Kane, J. M., & Alvir, J. (1987). Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology*, 91(4), 415–433.
- Lin, Y.-L., Lin, S.-Y., & Wang, S. (2012). Prenatal lipopolysaccharide exposure increases anxiety-like behaviors and enhances stress-induced corticosterone responses in adult rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 26(3), 459–468.
- Liu, F., Xue, Z., Li, N., Huang, H., Ying, Y., Li, J., Wang, L., & Li, W. (2014). Effects of lead exposure on the expression of amyloid β and phosphorylated tau proteins in the C57BL/6 mouse hippocampus at different life stages. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(2), 227–232.
- Liu, L., Orozco, I. J., Planel, E., Wen, Y., Bretteville, A., Krishnamurthy, P., Wang, L., Herman, M., Figueroa, H., Yu, W. H., Arancio, O., & Duff, K. (2008). A transgenic rat that develops Alzheimer's disease-like amyloid pathology, deficits in synaptic plasticity and cognitive impairment. *Neurobiology of Disease*, 31(1), 46–57.
- 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.
- Mabunga, D. F. N., Gonzales, E. L. T., Kim, J., Kim, K. C., & Shin, C. Y. (2015). Exploring the validity of valproic acid animal model of autism. *Experimental Neurobiology*, 24(4), 285–300.
- Madari, A., Farbakova, J., Katina, S., Smolek, T., Novak, P., Weissova, T., Novak, M., & Zilka, N. (2015). Assessment of severity and progression of canine cognitive dysfunction syndrome using the CAanine DEmentia Scale (CADES). *Applied Animal Behaviour Science*, 171, 138–145.
- Madsen, G. F., Bilenberg, N., Cantio, C., & Oranje, B. (2014). Increased prepulse inhibition and sensitization of the startle reflex in autistic children: Sensorimotor gating in autistic children. *Autism Research*, 7(1), 94–103.
- Maes, J. H. R., Eling, P. A. T. M., Wezenberg, E., Vissers, C. Th. W. M., & Kan, C. C. (2011). Attentional set shifting in autism spectrum disorder: Differentiating between the role of perseveration, learned irrelevance, and novelty processing. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 33(2), 210–217.
- Maestro, S., Muratori, F., Cesari, A., Cavallaro, M. C., Paziente, A., Pecini, C., Grassi, C., Manfredi, A., & Sommaro, C. (2005). Course of autism signs in the first year of life. *Psychopathology*, 38(1), 26–31.

- Makihara, H., Nakai, S., Ohkubo, W., Yamashita, N., Nakamura, F., Kiyonari, H., Shioi, G., Jitsuki-Takahashi, A., Nakamura, H., Tanaka, F., Akase, T., Kotattukudy, P., & Goshima, Y. (2016). CRMP1 and CRMP2 have synergistic but distinct roles in dendritic development. *Genes to Cells*, *21*(9), 994–1005.
- 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.
- Mandy, W., Chilvers, R., Chowdhury, U., Salter, G., Seigal, A., & Skuse, D. (2012). Sex differences in autism spectrum disorder: Evidence from a large sample of children and adolescents. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, *42*(7), 1304–1313.
- Manns, J. R., & Eichenbaum, H. (2006). Evolution of declarative memory. *Hippocampus*, *16*(9), 795–808.
- Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., & Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: Some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*, *62*(4a), 609–614.
- Maren, S., Phan, K. L., & Liberzon, I. (2013). The contextual brain: Implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nature Reviews Neuroscience*, *14*(6), 417–428.
- Marr, D. (1971). Simple memory: A theory for archicortex. In *From the Retina to the Neocortex: Selected Papers of David Marr* (pp. 59–128). Birkhäuser.
- Martino Adami, P. V., Quijano, C., Magnani, N., Galeano, P., Evelson, P., Cassina, A., Do Carmo, S., Leal, M. C., Castaño, E. M., Cuello, A. C., & Morelli, L. (2017). Synaptosomal bioenergetic defects are associated with cognitive impairment in a transgenic rat model of early Alzheimer's disease. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *37*(1), 69–84.
- Masi, A., DeMayo, M. M., Glozier, N., & Guastella, A. J. (2017). An overview of autism spectrum disorder, heterogeneity and treatment options. *Neuroscience Bulletin*, *33*(2), 183–193.
- Maya, S., Prakash, T., Madhu, K. D., & Goli, D. (2016). Multifaceted effects of aluminium in neurodegenerative diseases: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *83*, 746–754.
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D., & Welham, J. (2008). Schizophrenia: A concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiologic Reviews*, *30*(1), 67–76.
- McKenna, P. J., Oh, T. M., & Oh, T. (2005). *Schizophrenic speech: Making sense of bathroosts and ponds that fall in doorways*. Cambridge University Press.
- McPartland, J. C., Law, K., Dawson, G. (2016). Autism spectrum disorder. *Encyclopedia of mental health*, *1*, 124-130.
- Mednick, S. A., Machon, R. A., Huttunen, M. O., & Bonett, D. (1988). Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic. *Archives of General Psychiatry*, *45*(2), 189–192.
- Metz, G. A., & Whishaw, I. Q. (2002). Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: A new task to evaluate fore- and hindlimb stepping, placing, and coordination. *Journal of Neuroscience Methods*, *115*(2), 169–179.

- Meyer, U. (2014). Prenatal poly(I:C) exposure and other developmental immune activation models in rodent systems. *Biological Psychiatry*, 75(4), 307–315.
- Meyer, U., Feldon, J., & Dammann, O. (2011). Schizophrenia and autism: Both shared and disorder-specific pathogenesis via perinatal inflammation?: *Pediatric Research*, 69(5 Part 2), 26R-33R.
- Michaud, T. L., Su, D., Siahpush, M., & Murman, D. L. (2017). The risk of incident mild cognitive impairment and progression to dementia considering mild cognitive impairment subtypes. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra*, 7(1), 15–29.
- Miklossy, J. (2011). Alzheimer's disease—A neurospirochetosis. Analysis of the evidence following Koch's and Hill's criteria. *Journal of Neuroinflammation*, 8(1), 90.
- Miller, Y., Ma, B., & Nussinov, R. (2010). Zinc ions promote Alzheimer A aggregation via population shift of polymorphic states. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(21), 9490–9495.
- Mirza, A., King, A., Troakes, C., & Exley, C. (2017). Aluminium in brain tissue in familial Alzheimer's disease. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 40, 30–36.
- Mittelstaed, M.-L. (1991). Idiopathic navigation in gerbils and humans. *Zool. Jb. Physiol.*, 95, 427–435.
- Mittelstaedt, H., & Mittelstaedt, M.-L. (1982). Homing by path integration. In: Papi, F. & Wallraff, H. G., *Avian Navigation* (pp. 290–297). Springer Berlin Heidelberg.
- Mizumori, S. J. Y., & Williams, J. D. (1993). Directionally selective mnemonic properties of neurons in the lateral dorsal nucleus of the thalamus of rats. *Journal of Neuroscience*, 13(9), 4015–4028.
- Moessner, R., Marshall, C. R., Sutcliffe, J. S., Skaug, J., Pinto, D., Vincent, J., Zwaigenbaum, L., Fernandez, B., Roberts, W., Szatmari, P., & Scherer, S. W. (2007). Contribution of SHANK3 mutations to autism spectrum disorder. *The American Journal of Human Genetics*, 81(6), 1289–1297.
- Moghaddam, M., & Bures, J. (1996). Contribution of egocentric spatial memory to place navigation of rats in the Morris water maze. *Behavioural Brain Research*, 78(2), 121–129.
- Moir, R. D., Lathe, R., & Tanzi, R. E. (2018). The antimicrobial protection hypothesis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 14(12), 1602–1614.
- Monsell, S. E., Kukull, W. A., Roher, A. E., Maarouf, C. L., Serrano, G., Beach, T. G., Caselli, R. J., Montine, T. J., & Reiman, E. M. (2015). Characterizing apolipoprotein E ϵ 4 carriers and noncarriers with the clinical diagnosis of mild to moderate Alzheimer dementia and minimal β -amyloid peptide plaques. *JAMA Neurology*, 72(10), 1124–1131.
- Moreira, P. I., Carvalho, C., Zhu, X., Smith, M. A., & Perry, G. (2010). Mitochondrial dysfunction is a trigger of Alzheimer's disease pathophysiology. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1802(1), 2–10.
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 11(1), 47–60.
- Morris, R. G. M., Garrud, P., Rawlins, J. N. P., & O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297(5868), 681–683.
- Morris, R. G. M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, 12(2), 239–260.

- Morrone, C. D., Bazzigaluppi, P., Beckett, T. L., Hill, M. E., Koletar, M. M., Stefanovic, B., & McLaurin, J. (2020). Regional differences in Alzheimer's disease pathology confound behavioural rescue after amyloid- β attenuation. *Brain*, *143*(1), 359–373.
- Mosconi, L., Sorbi, S., de Leon, M. J., Li, Y., Nacmias, B., Myoung, P. S., Tsui, W., Ginestroni, A., Bessi, V., Fayyazz, M., Caffarra, P., & Pupi, A. (2006). Hypometabolism exceeds atrophy in presymptomatic early-onset familial Alzheimer's disease. *The Journal of Nuclear Medicine*, *47*(11), 1778–1786.
- Moscovitch, M., Rosenbaum, R. S., Gilboa, A., Addis, D. R., Westmacott, R., Grady, C., McAndrews, M. P., Levine, B., Black, S., Winocur, G., & Nadel, L. (2005). Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: A unified account based on multiple trace theory. *Journal of Anatomy*, *207*(1), 35–66.
- Moser, E. I. (2011). The multi-laned hippocampus. *Nature Neuroscience*, *14*(4), 407–408.
- Moser, E., Moser, M. B., & Andersen, P. (1993). Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *The Journal of Neuroscience*, *13*(9), 3916–3925.
- Moser, M.-B., & Moser, E. I. (1998). Distributed encoding and retrieval of spatial memory in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, *18*(18), 7535–7542.
- Moura, P. J., Meirelles, S. T., & Xavier, G. F. (2010). Long-term social recognition memory in adult male rats: Factor analysis of the social and non-social behaviors. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *43*(7), 663–676.
- Muller, C. L., Anacker, A. M. J., & Veenstra-VanderWeele, J. (2016). The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models. *Neuroscience*, *321*, 24–41.
- Muñoz-Moreno, E., Tudela, R., López-Gil, X., & Soria, G. (2018). Early brain connectivity alterations and cognitive impairment in a rat model of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, *10*(1), 16.
- Murphy, C. (2019). Olfactory and other sensory impairments in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, *15*(1), 11–24.
- Murray, A. J., Woloszynowska-Fraser, M. U., Ansel-Bollepalli, L., Cole, K. L. H., Foggetti, A., Crouch, B., Riedel, G., & Wulff, P. (2015). Parvalbumin-positive interneurons of the prefrontal cortex support working memory and cognitive flexibility. *Scientific Reports*, *5*(1), 16778.
- Naidich, T. P., Daniels, D. L., Haughton, V. M., Williams, A., Pojunas, K., & Palacios, E. (1987). Hippocampal formation and related structures of the limbic lobe: Anatomic-MR correlation. Part I. Surface features and coronal sections. *Radiology*, *162*(3), 747–754.
- Nakamura, J. P., Gillespie, B., Gibbons, A., Jaehne, E. J., Du, X., Chan, A., Schroeder, A., van den Buuse, M., Sundram, S., & Hill, R. A. (2021). Maternal immune activation targeted to a window of parvalbumin interneuron development improves spatial working memory: Implications for autism. *Brain, Behavior, and Immunity*, *91*, 339–349.
- Nakamura, T., Matsumoto, J., Takamura, Y., Ishii, Y., Sasahara, M., Ono, T., & Nishijo, H. (2015). Relationships among parvalbumin-immunoreactive neuron density, phase-locked gamma

- oscillations, and autistic/schizophrenic symptoms in PDGFR- β knock-out and control mice. *PLOS ONE*, *10*(3), e0119258.
- Nakamura, Y., Si, Q. S., & Kataoka, K. (1999). Lipopolysaccharide-induced microglial activation in culture: Temporal profiles of morphological change and release of cytokines and nitric oxide. *Neuroscience Research*, *35*(2), 95–100.
- Neff, E. P. (2019). Environmental enrichment increases neuroplasticity and recovery after SCI. *Lab Animal*, *48*(6), 163–168.
- Nekovarova, T., Fajnerova, I., Horacek, J., & Spaniel, F. (2014). Bridging disparate symptoms of schizophrenia: A triple network dysfunction theory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*(171), 1–10.
- Nguyen, R., Morrissey, M. D., Mahadevan, V., Cajanding, J. D., Woodin, M. A., Yeomans, J. S., Takehara-Nishiuchi, K., & Kim, J. C. (2014). Parvalbumin and GAD65 interneuron inhibition in the ventral hippocampus induces distinct behavioral deficits relevant to schizophrenia. *Journal of Neuroscience*, *34*(45), 14948–14960.
- Ochoa, S., Usall, J., Cobo, J., Labad, X., & Kulkarni, J. (2012). Gender differences in schizophrenia and first-episode psychosis: A comprehensive literature review. *Schizophrenia Research and Treatment*, *2012*, 1–9.
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, *34*, 171–175.
- O'Keefe, John, & Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Clarendon Press; Oxford University Press.
- Okuyama, T., Kitamura, T., Roy, D. S., Itohara, S., & Tonegawa, S. (2016). Ventral CA1 neurons store social memory. *Science*, *353*(6307), 1536–1541.
- Ošlejšková, H. (2008). Poruchy autistického spektra: Poruchy vyvíjejícího se mozku. *Pediatric pro praxi*, *9*(2), 80–84.
- Packard, M. G., & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, *25*, 563–593.
- Packer, A. M., & Yuste, R. (2011). Dense, unspecific connectivity of neocortical parvalbumin-positive interneurons: A canonical microcircuit for inhibition? *Journal of Neuroscience*, *31*(37), 13260–13271.
- Pagnussat, A. de S., Michaelsen, S. M., Achaval, M., & Netto, C. A. (2009). Skilled forelimb reaching in Wistar rats: Evaluation by means of Montoya staircase test. *Journal of Neuroscience Methods*, *177*(1), 115–121.
- Pang, Y., Dai, X., Roller, A., Carter, K., Paul, I., Bhatt, A. J., Lin, R. C. S., & Fan, L.-W. (2016). Early postnatal lipopolysaccharide exposure leads to enhanced neurogenesis and impaired communicative functions in rats. *PLOS ONE*, *11*(10), 1–18.
- Parnas, J., Bovet, P., & Zahavi, D. (2002). Schizophrenic autism: Clinical phenomenology and pathogenetic implications. *World Psychiatry*, *1*(3), 131–136.

- Patterson, P. H. (2011). Maternal infection and immune involvement in autism. *Trends in Molecular Medicine*, 17(7), 389–394.
- Penteado, S. H. W., Teodorov, E., Kirsten, T. B., Eluf, B. P., Reis-Silva, T. M., Acenjo, M. K., de Melo, R. C., Suffredini, I. B., & Bernardi, M. M. (2014). Prenatal lipopolysaccharide disrupts maternal behavior, reduces nest odor preference in pups, and induces anxiety: Studies of F1 and F2 generations. *European Journal of Pharmacology*, 738, 342–351.
- 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.
- Penzes, P., Cahill, M. E., Jones, K. A., VanLeeuwen, J.-E., & Woolfrey, K. M. (2011). Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders. *Nature Neuroscience*, 14(3), 285–293.
- Perez-Nievas, B. G., Stein, T. D., Tai, H.-C., Dols-Icardo, O., Scotton, T. C., Barroeta-Espar, I., Fernandez-Carballo, L., de Munain, E. L., Perez, J., Marquie, M., Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Lowe, V., Parisi, J. E., Petersen, R. C., Ikonovic, M. D., López, O. L., Klunk, W., Hyman, B. T., & Gómez-Isla, T. (2013). Dissecting phenotypic traits linked to human resilience to Alzheimer's pathology. *Brain*, 136(8), 2510–2526.
- Perrin, R. J., Fagan, A. M., & Holtzman, D. M. (2009). Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature*, 461(7266), 916–922.
- Perry, W., Minassian, A., Lopez, B., Maron, L., & Lincoln, A. (2007). Sensorimotor gating deficits in adults with autism. *Biological Psychiatry*, 61(4), 482–486.
- Petersen, R. C., Caracciolo, B., Brayne, C., Gauthier, S., Jelic, V., & Fratiglioni, L. (2014). Mild cognitive impairment: A concept in evolution. *Journal of Internal Medicine*, 275(3), 214–228.
- 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.
- Petrásek, T., Prokopova, I., Bahník, S., Schonig, K., Berger, S., Vales, K., Tews, B., Schwab, M. E., Bartsch, D., & Stuchlik, A. (2014a). Nogo-A downregulation impairs place avoidance in the Carousel maze but not spatial memory in the Morris water maze. *Neurobiology of Learning and Memory*, 107, 42–49.
- Petrásek, T., Prokopova, I., Sladek, M., Weisssova, K., Vojtechova, I., Bahník, S., Zemanova, A., Schönig, K., Berger, S., Tews, B., Bartsch, D., Schwab, M. E., Sumova, A., & Stuchlik, A. (2014b). Nogo-A-deficient transgenic rats show deficits in higher cognitive functions, decreased anxiety, and altered circadian activity patterns. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(90), 1–15.
- 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.
- Pina-Camacho, L., Parellada, M., & Kyriakopoulos, M. (2016). Autism spectrum disorder and schizophrenia: Boundaries and uncertainties. *BJPsych Advances*, 22(5), 316–324.

- 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.
- Potasiewicz, A., Holuj, M., Piotrowska, D., Zajda, K., Wojcik, M., Popik, P., & Nikiforuk, A. (2019). Evaluation of ultrasonic vocalizations in a neurodevelopmental model of schizophrenia during the early life stages of rats. *Neuropharmacology*, 146, 28–38.
- Praticò, D., Uryu, K., Sung, S., Tang, S., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. -Y. (2002). Aluminum modulates brain amyloidosis through oxidative stress in APP transgenic mice. *The FASEB Journal*, 16(9), 1138–1140.
- Prusky, G. T., Harker, K. T., Douglas, R. M., & Whishaw, I. Q. (2002). Variation in visual acuity within pigmented, and between pigmented and albino rat strains. *Behavioural Brain Research*, 136(2), 339–348.
- Ramos, A. (2008). Animal models of anxiety: Do I need multiple tests? *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(10), 493–498.
- Ramos, A., Berton, O., Mormède, P., & Chaouloff, F. (1997). A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Behavioural Brain Research*, 85(1), 57–69.
- Ramos-Chávez, L. A., Rendón-López, C. R. R., Zepeda, A., Silva-Adaya, D., Del Razo, L. M., & Gonsebatt, M. E. (2015). Neurological effects of inorganic arsenic exposure: Altered cysteine/glutamate transport, NMDA expression and spatial memory impairment. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(21), 1–12.
- Rankin, C. H., Abrams, T., Barry, R. J., Bhatnagar, S., Clayton, D. F., Colombo, J., Coppola, G., Geyer, M. A., Glanzman, D. L., Marsland, S., McSweeney, F. K., Wilson, D. A., Wu, C.-F., & Thompson, R. F. (2009). Habituation revisited: An updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 92(2), 135–138.
- Rapoport, J., Chavez, A., Greenstein, D., Addington, A., & Gogtay, N. (2009). Autism spectrum disorders and childhood-onset schizophrenia: Clinical and biological contributions to a relation revisited. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 48(1), 10–18.
- Rauchensteiner, S., Kawohl, W., Ozgurdal, S., Littmann, E., Gudlowski, Y., Witthaus, H., Heinz, A., & Juckel, G. (2011). Test-performance after cognitive training in persons at risk mental state of schizophrenia and patients with schizophrenia. *Psychiatry Research*, 185(3), 334–339.
- Ravelli, K. G., Rosário, B. dos A., Camarini, R., Hernandez, M. S., & Britto, L. R. (2017). Intracerebroventricular streptozotocin as a model of Alzheimer's disease: Neurochemical and behavioral characterization in mice. *Neurotoxicity Research*, 31(3), 327–333.
- Reichenberg, A., Feo, C., Prestia, D., Bowie, C. R., Patterson, T. L., & Harvey, P. D. (2014). The course and correlates of everyday functioning in schizophrenia. *Schizophrenia Research: Cognition*, 1(1), e47–e52.
- Reiman, E. M., Chen, K., Liu, X., Bandy, D., Yu, M., Lee, W., Ayutyanont, N., Keppler, J., Reeder, S. A., Langbaum, J. B. S., Alexander, G. E., Klunk, W. E., Mathis, C. A., Price, J. C., Aizenstein, H. J., DeKosky, S. T., & Caselli, R. J. (2009). Fibrillar amyloid- β burden in cognitively normal people at 3 levels of

- genetic risk for Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(16), 6820–6825.
- Reitz, C., Brayne, C., & Mayeux, R. (2011). Epidemiology of Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 7(3), 137–152.
- Rice, J. P., Wallace, D. G., & Hamilton, D. A. (2015). Lesions of the hippocampus or dorsolateral striatum disrupt distinct aspects of spatial navigation strategies based on proximal and distal information in a cued variant of the Morris water task. *Behavioural Brain Research*, 289, 105–117.
- Ridley, R. M. (1994). The psychology of perseverative and stereotyped behaviour. *Progress in Neurobiology*, 44(2), 221–231.
- Rimol, L. M., Hartberg, C. B., Nesvåg, R., Fennema-Notestine, C., Hagler, D. J., Pung, C. J., Jennings, R. G., Haukvik, U. K., Lange, E., Nakstad, P. H., Melle, I., Andreassen, O. A., Dale, A. M., & Agartz, I. (2010). Cortical thickness and subcortical volumes in schizophrenia and bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, 68(1), 41–50.
- Robinson, T. E., & Becker, J. B. (1986). Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: A review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Research Reviews*, 11(2), 157–198.
- Rohn, T. T. (2010). The role of caspases in Alzheimer's disease; potential novel therapeutic opportunities. *Apoptosis*, 15(11), 1403–1409.
- Romero, E., Guaza, C., Castellano, B., & Borrell, J. (2010). Ontogeny of sensorimotor gating and immune impairment induced by prenatal immune challenge in rats: Implications for the etiopathology of schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 15(4), 372–383.
- Rorabaugh, J. M., Chalermphanupap, T., Botz-Zapp, C. A., Fu, V. M., Lembeck, N. A., Cohen, R. M., & Weinshenker, D. (2017). Chemogenetic locus coeruleus activation restores reversal learning in a rat model of Alzheimer's disease. *Brain*, 140(11), 3023–3038.
- Rousset, C. I., Kassem, J., Aubert, A., Planchenault, D., Gressens, P., Chalon, S., Belzung, C., & Saliba, E. (2013). Maternal exposure to lipopolysaccharide leads to transient motor dysfunction in neonatal rats. *Developmental Neuroscience*, 35(2–3), 172–181.
- Rund, B. R. (2009). Is schizophrenia a neurodegenerative disorder? *Nordic Journal of Psychiatry*, 63(3), 196–201.
- Sabbagh, M. N., Boada, M., Borson, S., Chilukuri, M., Doraiswamy, P. M., Dubois, B., Ingram, J., Iwata, A., Porsteinsson, A. P., Possin, K. L., Rabinovici, G. D., Vellas, B., Chao, S., Vergallo, A., & Hampel, H. (2020). Rationale for early diagnosis of mild cognitive impairment (MCI) supported by emerging digital technologies. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 7(3), 158–164.
- Sallim, A. B., Sayampanathan, A. A., Cuttilan, A., & Chun-Man Ho, R. (2015). Prevalence of mental health disorders among caregivers of patients with Alzheimer disease. *Journal of the American Medical Directors Association*, 16(12), 1034–1041.
- Salloway, S., Sperling, R., Fox, N. C., Blennow, K., Klunk, W., Raskind, M., Sabbagh, M., Honig, L. S., Porsteinsson, A. P., Ferris, S., Reichert, M., Ketter, N., Nejadnik, B., Guenzler, V., Miloslavsky, M.,

- Wang, D., Lu, Y., Lull, J., Tudor, I. C., ... Brashear, H. R. (2014). Two phase 3 trials of bapineuzumab in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine*, *370*(4), 322–333.
- Samaey, C., Schreurs, A., Stroobants, S., & Balschun, D. (2019). Early cognitive and behavioral deficits in mouse models for tauopathy and Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *11*, 335.
- Sanderson, D. J., Good, M. A., Skelton, K., Sprengel, R., Seeburg, P. H., Rawlins, J. N. P., & Bannerman, D. M. (2009). Enhanced long-term and impaired short-term spatial memory in GluA1 AMPA receptor subunit knockout mice: Evidence for a dual-process memory model. *Learning & Memory*, *16*(6), 379–386.
- Sanderson, D. J., & Bannerman, D. M. (2011). Competitive short-term and long-term memory processes in spatial habituation. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, *37*(2), 189–199.
- Sanderson, D. J., & Bannerman, D. M. (2012). The role of habituation in hippocampus-dependent spatial working memory tasks: Evidence from GluA1 AMPA receptor subunit knockout mice. *Hippocampus*, *22*(5), 981–994.
- Saré, R. M., Cooke, S. K., Krych, L., Zerfas, P. M., Cohen, R. M., & Smith, C. B. (2020). Behavioral phenotype in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, *14*, 601.
- Saunders, J. A., Tatard-Leitman, V. M., Suh, J., Billingslea, E. N., Roberts, T. P., & Siegel, S. J. (2013). Knockout of NMDA receptors in parvalbumin interneurons recreates autism-like phenotypes. *Autism Research*, *6*(2), 69–77.
- Schmidt, W. J., & Beninger, R. J. (2006). Behavioural sensitization in addiction, schizophrenia, Parkinson's disease and dyskinesia. *Neurotoxicity Research*, *10*(2), 161–166.
- Schumann, C. M., Hamstra, J., Goodlin-Jones, B. L., Lotspeich, L. J., Kwon, H., Buonocore, M. H., Lammers, C. R., Reiss, A. L., & Amaral, D. G. (2004). The amygdala is enlarged in children but not adolescents with autism; the hippocampus is enlarged at all ages. *Journal of Neuroscience*, *24*(28), 6392–6401.
- Schwarz, E., Guest, P. C., Rahmoune, H., Wang, L., Levin, Y., Ingudomnukul, E., Ruta, L., Kent, L., Spain, M., Baron-Cohen, S., & Bahn, S. (2011). Sex-specific serum biomarker patterns in adults with Asperger's syndrome. *Molecular Psychiatry*, *16*(12), 1213–1220.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *20*(1), 11–21.
- Selkoe, D. J. (2002). Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*, *298*(5594), 789–791.
- Selkoe, D. J., & Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, *8*(6), 595–608.
- Sevigny, J., Chiao, P., Bussière, T., Weinreb, P. H., Williams, L., Maier, M., Dunstan, R., Salloway, S., Chen, T., Ling, Y., O'Gorman, J., Qian, F., Arastu, M., Li, M., Chollate, S., Brennan, M. S., Quintero-Monzon, O., Scannevin, R. H., Arnold, H. M., ... Sandrock, A. (2016). The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature*, *537*(7618), 50–56.

- Shenoy, S., Arnold, S., & Chatila, T. (2000). Response to steroid therapy in autism secondary to autoimmune lymphoproliferative syndrome. *The Journal of Pediatrics*, *136*(5), 682–687.
- Shimada, H., Doi, T., Lee, S., & Makizako, H. (2019). Reversible predictors of reversion from mild cognitive impairment to normal cognition: A 4-year longitudinal study. *Alzheimer's Research & Therapy*, *11*(1), 24.
- Shirai, Y., Fujita, Y., & Hashimoto, K. (2012). Effects of the antioxidant sulforaphane on hyperlocomotion and prepulse inhibition deficits in mice after phencyclidine administration. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, *10*(2), 94–98.
- Sims-Robinson, C., Kim, B., Rosko, A., & Feldman, E. L. (2010). How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology? *Nature Reviews Neurology*, *6*(10), 551–559.
- Sinha, S., Anderson, J. P., Barbour, R., Basi, G. S., Caccavello, R., Davis, D., Doan, M., Dovey, H. F., Frigon, N., Hong, J., Jacobson-Croak, K., Jewett, N., Keim, P., Knops, J., Lieberburg, I., Power, M., Tan, H., Tatsuno, G., Tung, J., ... John, V. (1999). Purification and cloning of amyloid precursor protein β -secretase from human brain. *Nature*, *402*(6761), 537–540. <https://doi.org/10.1038/990114>
- Smith, D. G., Cappai, R., & Barnham, K. J. (2007). The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid β peptide. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1768*(8), 1976–1990.
- Smolek, T., Madari, A., Farbakova, J., Kandrak, O., Jadhav, S., Cente, M., Brezovakova, V., Novak, M., & Zilka, N. (2016). Tau hyperphosphorylation in synaptosomes and neuroinflammation are associated with canine cognitive impairment. *Journal of Comparative Neurology*, *524*(4), 874–895.
- Snyder, S. H. (1972). Catecholamines in the brain as mediators of amphetamine psychosis. *Archives of General Psychiatry*, *27*(2), 169–179.
- Solati, J., Kleehaupt, E., Kratz, O., Moll, G. H., & Golub, Y. (2015). Inverse effects of lipopolysaccharides on anxiety in pregnant mice and their offspring. *Physiology & Behavior*, *139*, 369–374.
- Solomon, P. R., Brett, M., Groccia-Ellison, M. E., Oyler, C., Tomasi, M., & Pendlebury, W. W. (1995). Classical conditioning in patients with Alzheimer's disease: A multiday study. *Psychology and Aging*, *10*(2), 248–254.
- Spina, S., Schonhaut, D. R., Boeve, B. F., Seeley, W. W., Ossenkoppele, R., O'Neil, J. P., Lazaris, A., Rosen, H. J., Boxer, A. L., Perry, D. C., Miller, B. L., Dickson, D. W., Parisi, J. E., Jagust, W. J., Murray, M. E., & Rabinovici, G. D. (2017). Frontotemporal dementia with the V337M MAPT mutation: Tau-PET and pathology correlations. *Neurology*, *88*(8), 758–766.
- Spires-Jones, T. L., & Hyman, B. T. (2014). The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron*, *82*(4), 756–771.
- Squire, L., & Zola-Morgan, S. (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science*, *253*(5026), 1380–1386.
- Staddon, J. E. R., & Cerutti, D. T. (2003). Operant conditioning. *Annual Review of Psychology*, *54*(1), 115–144.

- Stedehouder, J., Couey, J. J., Brizee, D., Hosseini, B., Slotman, J. A., Dirven, C. M. F., Shpak, G., Houtsmuller, A. B., & Kushner, S. A. (2017). Fast-spiking Parvalbumin Interneurons are Frequently Myelinated in the Cerebral Cortex of Mice and Humans. *Cerebral Cortex*, *27*(10), 5001–5013.
- Stedehouder, J., & Kushner, S. A. (2017). Myelination of parvalbumin interneurons: A parsimonious locus of pathophysiological convergence in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *22*(1), 4–12.
- Steen, E., Terry, B. M., Rivera, E. J., Cannon, J. L., Neely, T. R., Tavares, R., Xu, X. J., Wands, J. R., & de la Monte, S. M. (2005). Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease – is this type 3 diabetes? *Journal of Alzheimer's Disease*, *7*(1), 63–80.
- Stigger, F., Lovatel, G., Marques, M., Bertoldi, K., Moysés, F., Elsner, V., Siqueira, I. R., Achaval, M., & Marcuzzo, S. (2013). Inflammatory response and oxidative stress in developing rat brain and its consequences on motor behavior following maternal administration of LPS and perinatal anoxia. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *31*(8), 820–827.
- Strickland, B. B. (Ed.). (2001). *The Gale encyclopedia of psychology* (2nd ed). Gale Group.
- Stroop, J. R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*, *28*(6), 643–662.
- 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. (2004a). 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, A. (2004b). Úlohy aktivního a pasivního vyhýbání se místu: Slibné nástroje v kognitivních neurověděch. *Psychiatrie*, *8*(1), 15–18.
- Stuchlík, A. (2003). Prostor a prostorová orientace. *Československá fyziologie*, *52*(1), 22–33.
- Stuchlík, A., & 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.
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S., & Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a complex trait: Evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of General Psychiatry*, *60*(12), 1187–1192.
- Sullivan, P. F., Magnusson, C., Reichenberg, A., Boman, M., Dalman, C., Davidson, M., Fruchter, E., Hultman, C. M., Lundberg, M., Långström, N., Weiser, M., Svensson, A. C., & Lichtenstein, P. (2012). Family history of schizophrenia and bipolar disorder as risk factors for autism. *Archives of General Psychiatry*, *69*(11), 1099–1103.
- Sun, T., Hu, G., & Li, M. (2009). Repeated antipsychotic treatment progressively potentiates inhibition on phencyclidine-induced hyperlocomotion, but attenuates inhibition on amphetamine-induced

- hyperlocomotion: Relevance to animal models of antipsychotic drugs. *European Journal of Pharmacology*, 602(2–3), 334–342.
- Suttanon, P., Hill, K. D., Said, C. M., LoGiudice, D., Lautenschlager, N. T., & Dodd, K. J. (2012). Balance and mobility dysfunction and falls risk in older people with mild to moderate Alzheimer disease. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 91(1), 12–23.
- Swerdlow, R. H., Burns, J. M., & Khan, S. M. (2010). The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(s2), S265–S279.
- Szyckik, G. R., Ye, Z., Mohammadi, B., Dillo, W., te Wildt, B. T., Samii, A., Frieling, H., Bleich, S., & Münte, T. F. (2013). Maladaptive connectivity of Broca's area in schizophrenia during audiovisual speech perception: An fMRI study. *Neuroscience*, 253, 274–282.
- Tabaton, M., Cammarata, S., Mancardi, G., Manetto, V., Autilio-Gambetti, L., Perry, G., & Gambetti, P. (1991). Ultrastructural localization of beta-amyloid, tau, and ubiquitin epitopes in extracellular neurofibrillary tangles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(6), 2098–2102.
- Tambini, M. D., Yao, W., & D'Adamio, L. (2019). Facilitation of glutamate, but not GABA, release in Familial Alzheimer's APP mutant Knock-in rats with increased β -cleavage of APP. *Aging Cell*, 18(6), e13033.
- Tan, C.-C., Yu, J.-T., Wang, H.-F., Tan, M.-S., Meng, X.-F., Wang, C., Jiang, T., Zhu, X.-C., & Tan, L. (2014). Efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 41(2), 615–631.
- Tanaka, H., Homma, H., Fujita, K., Kondo, K., Yamada, S., Jin, X., Waragai, M., Ohtomo, G., Iwata, A., Tagawa, K., Atsuta, N., Katsuno, M., Tomita, N., Furukawa, K., Saito, Y., Saito, T., Ichise, A., Shibata, S., Arai, H., ... Okazawa, H. (2020). YAP-dependent necrosis occurs in early stages of Alzheimer's disease and regulates mouse model pathology. *Nature Communications*, 11(1), 507.
- Taube, J. S., Muller, R. U., & Ranck, J. B. (1990). Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *The Journal of Neuroscience*, 10(2), 420–435.
- Tejkalova, H., Jelinek, F., Klaschka, J., & Stastny, F. (2007a). Effect of perinatal inflammatory reaction on the induction of psychotic-like behaviour: Experimental study. *Psychiatrie*, 11, 12–15.
- Tejkalová, H., Jelínek, F., Klaschka, J., & Šťastný, F. (2007b). Effects of perinatal inflammatory reaction of the induction of psychotic-like behaviour: Experimental study. *Psychiatrie*, 11(Supplementum 3), 12–15.
- Tesson, L., Cozzi, J., Ménoret, S., Rémy, S., Usal, C., Fraichard, A., & Anegon, I. (2005). Transgenic modifications of the rat genome. *Transgenic Research*, 14(5), 531–546.
- Thangarajan, R., Tantradi, R. R., Rai, K. S., Gopalakrishnan, S., & Perumal, V. (2015). Inflammation during gestation induced spatial memory and learning deficits: Attenuated by physical exercise in juvenile rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(6), CF01–CF04.

- Thiel, C. M., Huston, J. P., & Schwarting, R. K. W. (1998). Hippocampal acetylcholine and habituation learning. *Neuroscience*, *85*(4), 1253–1262.
- Thompson, P. M., Hayashi, K. M., Dutton, R. A., Chiang, M.-C., Leow, A. D., Sowell, E. R., De Zubicaray, G., Becker, J. T., Lopez, O. L., Aizenstein, H. J., & Toga, A. W. (2007). Tracking Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1097*, 183–214.
- Thor, D. H., & Holloway, W. R. (1982). Social memory of the male laboratory rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *96*(6), 1000–1006.
- Tiwari, V., Kuhad, A., Bishnoi, M., & Chopra, K. (2009). Chronic treatment with tocotrienol, an isoform of vitamin E, prevents intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment and oxidative–nitrosative stress in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *93*(2), 183–189.
- Tolar, M., Hey, J., Power, A., & Abushakra, S. (2021). Neurotoxic soluble amyloid oligomers drive Alzheimer's pathogenesis and represent a clinically validated target for slowing disease progression. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(12), 6355.
- Tolman, E. C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, *55*(4), 189–208.
- 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.
- Torres-Berrío, A., Vargas-Lopéz, V., & Lopéz-Canul, M. (2019). The ventral hippocampus is required for behavioral flexibility but not for allocentric/egocentric learning. *Brain Research Bulletin*, *146*, 40–50.
- Tournier, B. B., Barca, C., Fall, A. B., Gloria, Y., Meyer, L., Ceyzériat, K., & Millet, P. (2021). Spatial reference learning deficits in absence of dysfunctional working memory in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Genes, Brain and Behavior*, *20*(5), e12712.
- Tran, T. N., Kim, S. H., Gallo, C., Amaya, M., Kyees, J., & Narayanaswami, V. (2013). Biochemical and biophysical characterization of recombinant rat apolipoprotein E: Similarities to human apolipoprotein E3. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *529*(1), 18–25.
- Turner, N. C., Strauss, S. J., Sarker, D., Gillmore, R., Kirkwood, A., Hackshaw, A., Papadopoulou, A., Bell, J., Kayani, I., Toumpanakis, C., Grillo, F., Mayer, A., Hochhauser, D., Begent, R. H., Caplin, M. E., & Meyer, T. (2010). Chemotherapy with 5-fluorouracil, cisplatin and streptozocin for neuroendocrine tumours. *British Journal of Cancer*, *102*(7), 1106–1112.
- U.S. Food & Drug Administration (2021a, 7 June). *FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Drug*. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-drug>
- U.S. Food & Drug Administration (2021b, 8 July). *Aducanumab (marketed as Aduhelm) Information*. <https://www.fda.gov/drugs/postmarket-drug-safety-information-patients-and-providers/aducanumab-marketed-aduhelm-information>

- Ukai, M., Kobayashi, T., & Kameyama, T. (1994). Characterization of the effects of scopolamine on the habituation of exploratory activity: Differential effects of oxotremorine and physostigmine. *General Pharmacology*, 25(3), 433–438.
- 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.
- Van Amersfoort, E. S., Van Berkel, T. J. C., & Kuiper, J. (2003). Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 379–414.
- Van Craenenbroeck, K., De Bosscher, K., Berghe, W. V., Vanhoenacker, P., & Haegeman, G. (2005). Role of glucocorticoids in dopamine-related neuropsychiatric disorders. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 245(1–2), 10–22.
- van Os, J., Kenis, G., & Rutten, B. P. F. (2010). The environment and schizophrenia. *Nature*, 468(7321), 203–212.
- Vassar, R., Bennett, B. D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E. A., Denis, P., Teplow, D. B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., Luo, Y., Fisher, S., Fuller, J., Edenson, S., Lile, J., Jarosinski, M. A., Biere, A. L., Curran, E., Burgess, T., ... Citron, M. (1999). β -Secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*, 286(5440), 735–741.
- Visser, H. (1983). Gait and balance in senile dementia of Alzheimer's type. *Age and Ageing*, 12(4), 296–301.
- Vogel-Ciernia, A., & Wood, M. A. (2015). Examining object location and object recognition memory in mice. *Current Protocols in Neuroscience*, 69(1), 8.31.1–8.31.17.
- Vojtěchová, Iveta. *Separace hipokampálních funkcí v Morrisově vodním bludišti a v aktivním vyhýbání se místu pomocí alternačního protokolu*. Praha, 2014. Diplomová práce. Univerzita Karlova. Přírodovědecká fakulta.
- 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.
- Voorhees, J. R., Remy, M. T., Cintrón-Pérez, C. J., El Rassi, E., Khan, M. Z., Dutca, L. M., Yin, T. C., McDaniel, L. N., Williams, N. S., Brat, D. J., & Pieper, A. A. (2018). (-)-P7C3-S243 protects a rat model of Alzheimer's disease from neuropsychiatric deficits and neurodegeneration without altering amyloid deposition or reactive glia. *Biological Psychiatry*, 84(7), 488–498.
- Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2006). Morris water maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), 848–858.
- Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*, 83(3), 482–504.
- Walsh, S., Merrick, R., Milne, R., & Brayne, C. (2021). Aducanumab for Alzheimer's disease? *British Medical Journal*, 374, n1682.

- Walton, J. R. (2007). An aluminum-based rat model for Alzheimer's disease exhibits oxidative damage, inhibition of PP2A activity, hyperphosphorylated tau, and granulovacuolar degeneration. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *101*(9), 1275–1284.
- Walton, J. R. (2009). Functional impairment in aged rats chronically exposed to human range dietary aluminum equivalents. *NeuroToxicology*, *30*(2), 182–193.
- Walton, J. R., & Wang, M.-X. (2009). APP expression, distribution and accumulation are altered by aluminum in a rodent model for Alzheimer's disease. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *103*(11), 1548–1554.
- Wang, C., Chen, X., Lee, H., Deshmukh, S. S., Yoganarasimha, D., Savelli, F., & Knierim, J. J. (2018). Egocentric coding of external items in the lateral entorhinal cortex. *Science*, *362*(6417), 945–949.
- Wang, C., Chen, X., & Knierim, J. J. (2020). Egocentric and allocentric representations of space in the rodent brain. *Current Opinion in Neurobiology*, *60*, 12–20.
- Wang, L., Hu, J., Zhao, Y., Lu, X., Zhang, Q., & Niu, Q. (2014). Effects of aluminium on β -amyloid (1–42) and secretases (APP-cleaving enzymes) in rat brain. *Neurochemical Research*, *39*(7), 1338–1345.
- Wang, Z., Wei, X., Yang, J., Suo, J., Chen, J., Liu, X., & Zhao, X. (2016). Chronic exposure to aluminum and risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Neuroscience Letters*, *610*, 200–206.
- Weidenauer, A., Bauer, M., Sauerzopf, U., Bartova, L., Prashak-Rieder, N., Sitte, H. H., Kasper, S., & Willeit, M. (2017). Making sense of: Sensitization in schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *20*(1), 1–10.
- Wenk, G. L. (2004). Assessment of spatial memory using the radial arm maze and Morris water maze. *Current Protocols in Neuroscience*, *26*(1), 8.5A.1–8.5A.12.
- Werling, D. M., & Geschwind, D. H. (2013). Sex differences in autism spectrum disorders: *Current Opinion in Neurology*, *26*(2), 146–153.
- 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.
- Wesson, D. W., Levy, E., Nixon, R. A., & Wilson, D. A. (2010). Olfactory dysfunction correlates with amyloid- β burden in an Alzheimer's disease mouse model. *Journal of Neuroscience*, *30*(2), 505–514.
- Whishaw, I. Q., Metz, G. A. S., Kolb, B., & Pellis, S. M. (2001). Accelerated nervous system development contributes to behavioral efficiency in the laboratory mouse: A behavioral review and theoretical proposal. *Developmental Psychobiology*, *39*(3), 151–170.
- Wilkinson, L., & Jahanshahi, M. (2007). The striatum and probabilistic implicit sequence learning. *Brain Research*, *1137*, 117–130.
- Wilson, D. I. G., Watanabe, S., Milner, H., & Ainge, J. A. (2013). Lateral entorhinal cortex is necessary for associative but not nonassociative recognition memory. *Hippocampus*, *23*(12), 1280–1290.
- 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 CRT1-dependent gene expression and cognitive function in a rat model of Alzheimer disease. *Cerebral Cortex*, *27*(2), 1–11.
- Wink, L. K., Pedapati, E. V., Horn, P. S., McDougle, C. J., & Erickson, C. A. (2017). Multiple antipsychotic medication use in autism spectrum disorder. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, *27*(1), 91–94.
- Wirhth, O., Multhaup, G., & Bayer, T. A. (2004). A modified β -amyloid hypothesis: Intraneuronal accumulation of the β -amyloid peptide—the first step of a fatal cascade. *Journal of Neurochemistry*, *91*(3), 513–520.
- Wischhof, L., Irrsack, E., Osorio, C., & Koch, M. (2015). Prenatal LPS-exposure – a neurodevelopmental rat model of schizophrenia – differentially affects cognitive functions, myelination and parvalbumin expression in male and female offspring. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *57*, 17–30.
- Wöhr, M., Orduz, D., Gregory, P., Moreno, H., Khan, U., Vörckel, K. J., Wolfer, D. P., Welzl, H., Gall, D., Schiffmann, S. N., & Schwaller, B. (2015). Lack of parvalbumin in mice leads to behavioral deficits relevant to all human autism core symptoms and related neural morphofunctional abnormalities. *Translational Psychiatry*, *5*(3), e525.
- Wolfe, M. S., Xia, W., Ostaszewski, B. L., Diehl, T. S., Kimberly, W. T., & Selkoe, D. J. (1999). Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and γ -secretase activity. *Nature*, *398*(6727), 513–517.
- Woodruff-Pak, D. S., & Papka, M. (1996). Alzheimer's disease and eyeblink conditioning: 750 ms trace vs. 400 ms delay paradigm. *Neurobiology of Aging*, *17*(3), 397–404.
- World Health Organization (2019, 7 November). *Autism spectrum disorders*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/autism-spectrum-disorders>
- Wright, J. M., Gourdon, J. C., & Clarke, P. B. S. (2010). Identification of multiple call categories within the rich repertoire of adult rat 50-kHz ultrasonic vocalizations: Effects of amphetamine and social context. *Psychopharmacology*, *211*(1), 1–13.
- Wu, Y., Du, S., Johnson, J. L., Tung, H.-Y., Landers, C. T., Liu, Y., Seman, B. G., Wheeler, R. T., Costa-Mattioli, M., Kheradmand, F., Zheng, H., & Corry, D. B. (2019). Microglia and amyloid precursor protein coordinate control of transient Candida cerebritis with memory deficits. *Nature Communications*, *10*(1), 58.
- Yamamuro, Y., Hori, K., Tanaka, J., Iwano, H., & Nomura, M. (1995). Septo-hippocampal cholinergic system under the discrimination learning task in the rat: A microdialysis study with the dual-probe approach. *Brain Research*, *684*(1), 1–7.
- Yang, J., Visscher, P. M., & Wray, N. R. (2010). Sporadic cases are the norm for complex disease. *European Journal of Human Genetics*, *18*(9), 1039–1044.
- Yassa, M. A., & Stark, C. E. L. (2011). Pattern separation in the hippocampus. *Trends in Neurosciences*, *34*(10), 515–525.

- 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.
- Zaman, T., De Oliveira, C., Smoka, M., Narla, C., Poulter, M. O., & Schmid, S. (2017). BK channels mediate synaptic plasticity underlying habituation in rats. *The Journal of Neuroscience*, *37*(17), 4540–4551.
- Zatta, P., Drago, D., Bolognin, S., & Sensi, S. L. (2009). Alzheimer's disease, metal ions and metal homeostatic therapy. *Trends in Pharmacological Sciences*, *30*(7), 346–355.
- Zhou, Y., Shu, N., Liu, Y., Song, M., Hao, Y., Liu, H., Yu, C., Liu, Z., & Jiang, T. (2008). Altered resting-state functional connectivity and anatomical connectivity of hippocampus in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *100*(1–3), 120–132.
- Ziak, J., Weissova, R., Jeřábková, K., Janikova, M., Maimon, R., Petrasek, T., Pukajova, B., Kleisnerova, M., Wang, M., Brill, M. S., Kasperek, P., Zhou, X., Alvarez-Bolado, G., Sedlacek, R., Misgeld, T., Stuchlik, A., Perlson, E., & Balastik, M. (2020). CRMP2 mediates Sema3F-dependent axon pruning and dendritic spine remodeling. *EMBO Reports*, *21*(3), e48512.
- 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.
- Zwaigenbaum, L., Bryson, S., Rogers, T., Roberts, W., Brian, J., & Szatmari, P. (2005). Behavioral manifestations of autism in the first year of life. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *23*(2–3), 143–152.

Další publikace autorky

Petrasek, T., Prokopova, I., Sladek, M., Weissova, K., Vojtechova, L., 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**

*korespondující autorství

Petrasek, T., Vojtechova, L., Klovřza, O., Tuckova, K., Vejmla, 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 = 4.025**

Janikova, M., Mainerova, K., Vojtechova, L., 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, L., 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**

Příloha 1

PUBLIKACE č. 1

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

DOI: [10.3389/fnagi.2018.00250](https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00250)

Příloha 2

PUBLIKACE č. 2

Petrásek, 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

DOI: [10.3389/fnagi.2016.00083](https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00083)

Příloha 3

PUBLIKACE č. 3

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

DOI: [10.1016/j.bbr.2018.05.001](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.05.001)

Příloha 4

PUBLIKACE č. 4

Vojtechova, I., Maleninska, K., Kutna, V., Klovrza, 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

DOI: [10.3390/ijms22063274](https://doi.org/10.3390/ijms22063274)