

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Natálie Khazaalová

Translační studie paměti a chování u Alzheimerovy nemoci

Translational studies of memory and behavior in Alzheimer's disease

Bakalářská práce

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

Praha, 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7.8.2024

Podpis:

Natálie Khazaalová

Poděkování

V první řadě bych chtěla poděkovat mému školiteli panu profesorovi Aleši Stuchlíkovi za velkou pomoc, trpělivost a ochotu při psaní této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině, která je mi oporou při celém studiu.

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zaměřuje na behaviorální testy kognitivních funkcí, které jsou aplikovatelné jak na lidské subjekty, tak na laboratorní zvířata v kontextu Alzheimerovy nemoci. Také analyzuje translační studie, které tyto testy využily. Alzheimerova nemoc je závažná neurodegenerativní porucha, která postihuje miliony lidí po celém světě a má zásadní dopad na kognitivní funkce. Práce se soustředí na testy klíčové pro porozumění kognitivním deficitům spojeným s Alzheimerovou nemocí a umožňující srovnání mezi animálními modely a lidskými subjekty. Práce diskutuje testy prostorové navigace, pracovní paměti, pozornosti a kognitivní flexibility. Důraz je kladen na prostorovou paměť a její neurální podtext, protože prostorová paměť je jednou z prvních oblastí, která je postižena. Je diskutován také význam virtuálních úloh a úloh využívajících dotykové obrazovky a možných problémů při translaci.

Klíčová slova: Alzheimerova nemoc, translační výzkum, behaviorální testy, prostorová paměť, pracovní paměť, Morrisovo vodní bludiště, radiální bludiště

Abstract

This bachelor thesis focuses on behavioral tests of cognitive function that apply to both human subjects and laboratory animals in the context of Alzheimer's disease. It also analyzes translational studies that have used these tests. Alzheimer's disease is a severe neurodegenerative disorder that affects millions of people worldwide and has a profound impact on cognitive function. The thesis focuses on tests that are key to understanding the cognitive deficits associated with Alzheimer's disease and allow comparisons between animal models and human subjects. The work discusses tests of spatial navigation, working memory, attention, and cognitive flexibility. The focus is on spatial memory, and its neural subtext, as spatial memory is one of the first areas to be affected. The importance of virtual and touch-screen tasks and possible translation problems are also discussed.

Key words: Alzheimer's disease, translational research, behavioral tests, spatial memory, working memory, Morris water maze, radial arm maze

Obsah

1. ÚVOD.....	1
2. ALZHEIMEROVA NEMOC.....	2
3. TESTY CHOVÁNÍ A KOGNICE	6
3.1. TESTY PROSTOROVÉ ORIENTACE.....	6
3.1.1. <i>Prostorová orientace a Alzheimerova nemoc</i>	6
3.1.2. <i>Morrisovo vodní bludiště a neurální podstata navigace</i>	6
3.1.3. <i>Translační ekvivalenty Morrisova vodního bludiště pro lidské subjekty</i>	8
3.1.4. <i>Využití translačních testů prostorové paměti</i>	10
3.2. TESTY PRACOVNÍ PAMĚTI A DALŠÍCH KOGNITIVNÍCH DOMÉN	11
3.2.1. <i>Radiální bludiště a jeho lidské ekvivalenty</i>	11
3.2.2. <i>Testy zpožděného přiřazování ke vzorku</i>	13
3.2.3. <i>Párový asociační test</i>	15
3.2.4. <i>Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery</i>	16
3.2.5. <i>Testy intradimenzionálního/extradimenzionálního posunu</i>	18
3.2.6. <i>Úkol pro studium reakčního času s 5 sériovými volbami</i>	19
3.2.7. <i>Testy s využitím dotykové obrazovky</i>	20
3.3. DISKUZE O PROBLÉMECH TRANSLACE	21
4. ZÁVĚR.....	24
5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	25

Seznam zkratk

5-CSRTT - 5 choice serial-reaction time task - úkol pro studium reakčního času s 5 sériovými volbami

A β – amyloid- β , β -amyloidní

AD – Alzheimerova choroba, Alzheimer's disease

APOE4 - alela ϵ 4 apolipoproteinu E

APP^{Swe} – Švédská mutace genu pro amyloidový prekurzorový protein

BVA – aréna Blue Velvet

CANTAB - Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery

DMTP - delayed matching to place – úkol zpožděného přiřazování k poloze

DMTS – delayed matching to sample – test

DNMTS - delayed non matching to sample - test

DRS – Dementia Rating Scale – Mattisova škála demence

DS – Downův syndrom

fMRI – funkční magnetická rezonance

HGT – hidden goal task - úloha se skrytým cílem

HRAM – human radial arm maze - lidské radiální bludiště

ID/ED shift test – test intradimenzionálního/extradimenzionálního posunu

MMSE – Mini Mental State Exam – krátký test kognitivních funkcí (test pro zjištění kognitivních funkcí a záchyt demence)

MWM - Morrisovo vodní bludiště

NFTs – neurofibrillary tangles - neurofibrilární klubíčka

PET – pozitronová emisní tomografie

PS1 Δ E9 - mutant Δ exonu 9 lidského presenilinu 1

RAM – radial arm maze - radiální bludiště

TD – topografická dezorientace

vMWM – virtuální Morrisovo vodní bludiště

1. Úvod

Alzheimerova nemoc představuje jednu z nejzávažnějších neurodegenerativních poruch, která postihuje miliony lidí po celém světě a vyznačuje se postupným úbytkem kognitivních funkcí, což má zásadní dopad nejen na pacienty, ale i na jejich rodiny a pečující osoby, neboť v pozdních fázích onemocnění se o sebe již pacienti nedokážou sami postarat. S rostoucí dobou dožití se toto onemocnění stává také velkým sociálním a ekonomickým problémem, a proto je v zájmu každého z nás se mu věnovat.

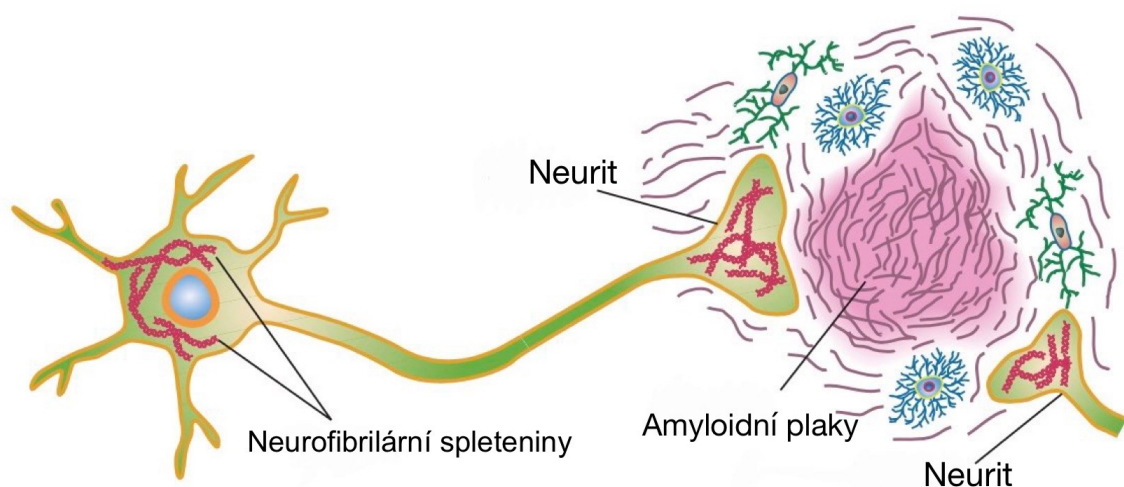
Tato bakalářská práce popisuje translační testy, které se využívají k testování animálních modelů i pacientů s Alzheimerovou nemocí. Popisuje testy na hlodavcích, protože potkan a myš jsou nejběžnější animální modely, které se v našich podmínkách využívají pro behaviorální testování. Práce se soustředí na testy, jejichž lidský a zvířecí ekvivalent jsou si ve způsobu provedení co nejbližší a ve kterých jsou zapojeny stejné neurální okruhy. Sleduje hlavně testy prostorové paměti, protože prostorová paměť je u pacientů s Alzheimerovou chorobou postižena ve velmi raném stádiu (Hort et al., 2007). Dále se zabývá testy pracovní paměti, pozornosti a kognitivní flexibility a často se zaměřuje na využití virtuální reality.

Cílem této bakalářské práce je přinést přehled behaviorálních testů kognitivních funkcí, které se dají využít u lidských subjektů a mají svůj ekvivalent i pro testování u animálních modelů.

2. Alzheimerova nemoc

Alzheimerova nemoc (AD) je progresivní neurodegenerativní onemocnění. Jedná se o nejčastější příčinu demence u starších osob. Alzheimerovu nemoc objevil v roce 1907 Alois Alzheimer a ve své práci již poukázal na její souvislost s plaky a NFTs (Alzheimer, 1907) a tak byla po něm pojmenována. Nebyl však jediný, kdo se výzkumem AD zabýval. Oskar Fischer v roce 1907 studoval mozkovou kůru 16 případů senilní demence pomocí různých barvicích technik a u 12 případů popsal přítomnost plaků a dokonce poprvé popsal strukturu, která je dnes známá jako amyloidní plak (Fischer, 1907). V roce 1910 pak studoval 275 mozků od pacientů trpících psychózou, neurosyfilidou a kontrol, z nichž 110 bylo starších 50 let. U 56 případů našel plaky a navrhl, že jsou amyloidní plaky charakteristickým znakem AD (v jeho době ještě presbyofrenní demence). Z 56 případů s plaky mělo 42 klinický obraz AD (Fischer, 1910).

Pro AD jsou charakteristické 2 typy lézí. První z nich jsou amyloidní plaky, tvořeny převážně A β peptidem. Druhým jsou neurofibrilární klubíčka (NFTs), která jsou tvořena vláknitými agregáty hyperfosforylovaného tau proteinu. Nemoc provází i výrazný úbytek korových neuronů (Selkoe, 2001).



(Wong et al., 2002)

Obrázek 1: Patologické rysy Alzheimerovy nemoci. Schéma neuronu zobrazující mimobuněčný amyloidní plak v cílovém poli s centrálním jádrem z A β fibril obklopeným dystrofickými neurity astrocyty a mikroglie. V buněčném těle, proximálních dendritech a distálních axonech se nacházejí intracelulární proteinové agregáty, tzv. neurofibrilární klubíčka, což jsou párová šroubovicová vlákna sestavená z hyperfosforylovaného tau proteinu. Upraveno z

Dalším rysem onemocnění je ztráta hustoty neuronálních synapsí a také snížení jejich počtu. Tento charakteristický prvek zřejmě předchází degeneraci neuronů. Mezi úbytkem synapsí ve frontální kůře a mírou kognitivního poškození u pacientů s AD byla zjištěna významná souvislost, pokles kognitivních funkcí při AD má tedy strukturální základ (DeKosky & Scheff,

1990). Hustota synapsí se výrazně liší mezi pacienty s AD a zdravými subjekty. Korelace mezi hustotou synapsí a výsledky kognitivních testů (např. MMSE) je velmi výrazná. Protože zhoršení paměti a kognitivních funkcí pozorované u pacientů s AD koreluje se synaptickou patologií lépe, než s výskytem NFTs a plaků, je synaptická dysfunkce pravděpodobně nejvýznamnějším faktorem přispívajícím k počátečním stádiím ztráty paměti (Terry et al., 1991).

Zvýšená koncentrace A β v mozku vede ke špatnému skládání a k agregaci monomerních peptidů A β . Zvýšená koncentrace A β může vzniknout v důsledku zvýšené produkce kvůli genetické mutaci, kvůli sníženému čištění mozku glymfatickým systémem v důsledku stárnutí, nebo v reakci na poranění nebo stresové podmínky (Linse et al., 2020). A β jsou k chybnému skládání a k agregaci náchylné, zejména pak delší A β -42 (Duran-Aniotz et al., 2021). Agregací A β dochází ke vzniku oligomerů, mohou vzniknout až protofibrily, o nichž se ale předpokládá, že jsou méně toxické než menší oligomery. Tyto oligomery a protofibrily inhibují dlouhodobou potenciaci, způsobují neuronální stres a synaptickou dystrofii a spouštějí tau patologii, která se šíří podél neuronálních sítí (Goedert et al., 2017), což nakonec vede ke smrti neuronů (Tolar et al., 2020a) a ztrátě kognitivních schopností.

Hlavním rizikovým faktorem AD je stárnutí. U sporadické AD je nejčastější příčinou patologického hromadění A β v mozku zhoršené čištění mozku glymfatickým systémem spojené se stárnutím v důsledku buď aterosklerózy malých mozkových cév, nebo postupné dysfunkce hematoencefalické bariéry, která ovlivňuje perivaskulární astrocyty a jejich aquaporiny (Simon et al., 2022). Dalším rizikovým faktorem AD je alela ϵ 4 apolipoproteinu E (APOE4). Heterozygoti APOE4 mají přibližně čtyřnásobně zvýšené riziko vzniku AD, zatímco homozygoti mají 10krát až 12krát vyšší riziko ve srovnání s osobami s neutrálním genotypem. Genotyp APOE4 je u AD spojen se zrychlenou agregací A β , zhoršenou clearance A β a dřívějším nástupem AD (Tachibana et al., 2019). U nositelů alely APOE4 se hromadí více patologického amyloidu, než u nenositelů a dochází k tomu rychleji (Jansen et al., 2015; Ossenkoppele et al., 2015).

Peptid A β vzniká sekvenčním enzymatickým štěpením APP (amyloidní prekurzorový protein) (Tanzi et al., 1987). Jsou za to zodpovědné enzymy BACE1, štěpicí na beta-místě a komplex γ -sekretáza (Strooper et al., 1998). A β v monomerní formě za fyziologických okolností hraje v mozku důležitou ochrannou roli, protože má neuroprotektivní (Giuffrida et al., 2009) a antioxidační (Kontush et al., 2000) účinky. Jako odpověď na poranění nebo stres

dochází k regulaci produkce APP a A β a k akutnímu zvýšení koncentrace A β , byla zjištěna upregulace APP v návaznosti na hypoxii, ischemii či traumatické poškození mozku (Van Den Heuvel et al., 1999; Pottier et al., 2012), pokud však tato reakce zůstane nekontrolovaná v prostředí nedostatečných mechanismů clearance A β , které se objevují se stárnutím, může vést k akumulaci a agregaci A β .

Familiální forma AD je způsobena zvýšenou produkcí A β v důsledku mutací v APP nebo presenilinu 1 nebo 2, což vede k velmi časnému nástupu mozkové patologie a klinických příznaků AD (Bateman et al., 2012). Další rizikový faktor AD je Downův syndrom (DS). Gen APP je na 21. chromozomu, který je v DS ztrojený. V důsledku toho je u DS zvýšená produkce A β . U většiny jedinců s DS se do 40 let objeví mozková patologie i kognitivní porucha (Fortea et al., 2020).

Nástupu demence předchází přechodné preklinické období, kdy paměťové obtíže převyšují obtíže běžné při normálním stárnutí, v této fázi jsou detekovatelné kognitivní deficity, ale nenarušují každodenní život pacienta, tato preklinická fáze může předcházet klinické diagnóze AD o mnoho let (Linn, 1995).

Klasický pohled na AD byl formován hypotézou amyloidové kaskády, která předpokládá, že mozkový amyloid uvádí do pohybu ostatní neurotoxické události jako fosforylaci tau a tvorbu NFTs a v konečném důsledku smrt neuronů (Hardy & Allsop, 1991). Opakovaný neúspěch klinických studií však hypotézu amyloidové kaskády zpochybnil a ačkoli plaky a klubička zůstávají nejdůvěryhodnějšími identifikátory a prediktory AD, v posledních letech se výzkumy přiklání spíše k roli neurotoxických rozpustných oligomerů A β jako předních patogenních faktorů AD. Studie také ukazují, že inhibice neurotoxicity A β vede k omezení patologie tau, což naznačuje, že toxicita amyloidu vede ke zvýšení tvorby a ukládání tau. Několik nedávných studií identifikovalo vysoce neurotoxické rozpustné agregáty amyloidu, tzv. oligomery A β , jako předstupně patogeneze AD, které vedou k hyperfosforylaci a agregaci tau v NFT, synaptickému poškození a ztrátě neuronů (Cline et al., 2018). Experimenty prokázaly toxicitu oligomerů in vivo (Walsh et al., 2002) i in vitro (Lambert et al., 1998). Studie myšího modelu AD zjistila, že A β -indukovaná neurotoxicita nevyžaduje ukládání A β v placích (Hsia et al., 1999) a kromě toho bylo zjištěno, že zvířecí modely AD, které neměly v mozku amyloidní plaky, ale měly přítomné oligomery, vykazovaly příznaky onemocnění (Meilandt et al., 2009).

Terapeutické látky, které blokují tvorbu amyloidních oligomerů - např. ALZ-801 (valitramiprosát), nebo usnadňují jejich odstraňování, např. antiamyloidní protilátky jako donanemab, aducanumab, nebo lecanemab, prokázaly v klinických studiích signifikantní pozitivní účinky na biomarkery AD (Abushakra et al., 2022; Tolar et al., 2020b). Tvorbu amyloidních oligomerů je ovšem nutné zastavit v rané fázi nemoci, dokud ještě nedojde k výrazné neurodegeneraci. Proto mohou být velmi užitečné translační testy chování a paměti, které mohou AD odhalit i v raných fázích. Translační testy jsou také důležité pro testování léčiv, kterých je aktuálně ve vývoji hned několik.

3. Testy chování a kognice

Vývoj translačních testů může probíhat dopřednou translací, kdy se vytváří lidské ekvivalenty zvířecích úloh, jako například v adaptaci Morrisova vodního bludiště (MWM) pro lidi (Kalová et al., 2005). Obvykle se tímto způsobem vytváří různá bludiště, hlavně virtuální. Výhodou virtuálních úloh je, že jsou kompatibilní s neurozobrazováním, které pro přesné snímání vyžaduje, aby účastníci drželi hlavu v klidu. Virtuální MWM je například kompatibilní se sledováním mozkové aktivity pomocí funkční magnetické rezonance (fMRI) během učení i vybavování, což u tradičního bludiště není možné. Virtuální prostředí nabízí větší kontrolu nad proměnnými, jako je osvětlení, vizuální podněty a obtížnost úloh, které lze ve fyzickém prostředí obtížněji standardizovat (Antonova et al., 2011). Taube a kol. ve své studii provedli přehled stávající literatury o navigaci ve virtuálním prostředí, přičemž se zaměřili zejména na studie s využitím fMRI a poukázali na to, že virtuální realita sice nabízí kontrolované prostředí pro studium navigace, ale absence vestibulárních, motorických a propioceptivních signálů v typických nastaveních fMRI může vést k mírně odlišným vzorcům nervové aktivity ve srovnání s navigací v reálném světě (Taube et al., 2013).

3.1. Testy prostorové orientace

3.1.1. Prostorová orientace a Alzheimerova nemoc

Mezi dobře zdokumentované problémy u AD patří oblast prostorové orientace a navigace. Pacienti s AD se kvůli potížím s prostorovou navigací často ztrácí. Přibližně 40 % pacientů s AD zažívá epizody, kdy se ztratí mimo svůj domov a riziko ztracení se je hlavním důvodem institucionalizace pacientů s AD (Mcshane et al., 1998).—_Zajímavé je, že prostorová dezorientace nesouvisí s poruchou paměti (Monacelli et al., 2003). Problém s topografickou dezorientací (TD) byl zdokumentován i v komunitě pacientů na Tchaj-wanu, kde bylo zjištěno, že jedinci s AD mohou mít problémy s orientací a navigací po svém okolí a tato studie identifikuje TD jako možný časný příznak AD. TD se v průběhu studie objevila u 61 ze 112 pacientů (Pai & Jacobs, 2004).

3.1.2. Morrisovo vodní bludiště a neurální podstata navigace

Morrisovo vodní bludiště je behaviorální test pro studium prostorového učení a paměti u hlodavců, který byl vynalezen Richardem G. Morrisem v 80. letech 20. století. Hodnotí se schopnost zvířat orientovat se a zapamatovat si polohu ostrůvku v bazénu s neprůhlednou vodou. Bazén je kulatý a je rozdělen do 4 kvadrantů (Morris, 1984). Neurální podstatu navigace u hlodavců zkoumal už Morris v roce 1982, kdy skupina potkanů s lézí hipokampu vykazovala

vysoce významné zhoršení v úkolu MWM se skrytou plošinou a toto zhoršení zmizelo, když byla použita viditelná plošina, což dokazuje, že hipokampální léze způsobují hlubokou a trvalou poruchu prostorové navigace u potkanů (Morris et al., 1982). Předchozí Morrisova studie dokázala, že potkani si rychle vytvářejí určitý typ „prostorové mapy“ vzhledem k distálním signálům v místnosti, což svědčí o jejich schopnosti prostorové lokalizace, která není závislá na přítomnosti místních signálů a zdraví potkani se mohou efektivně naučit lokalizovat objekt, který nevidí, neslyší ani necítí, pokud tento objekt zůstává v konzistentní prostorové poloze vzhledem ke vzdáleným prostorovým signálům (Morris, 1981).

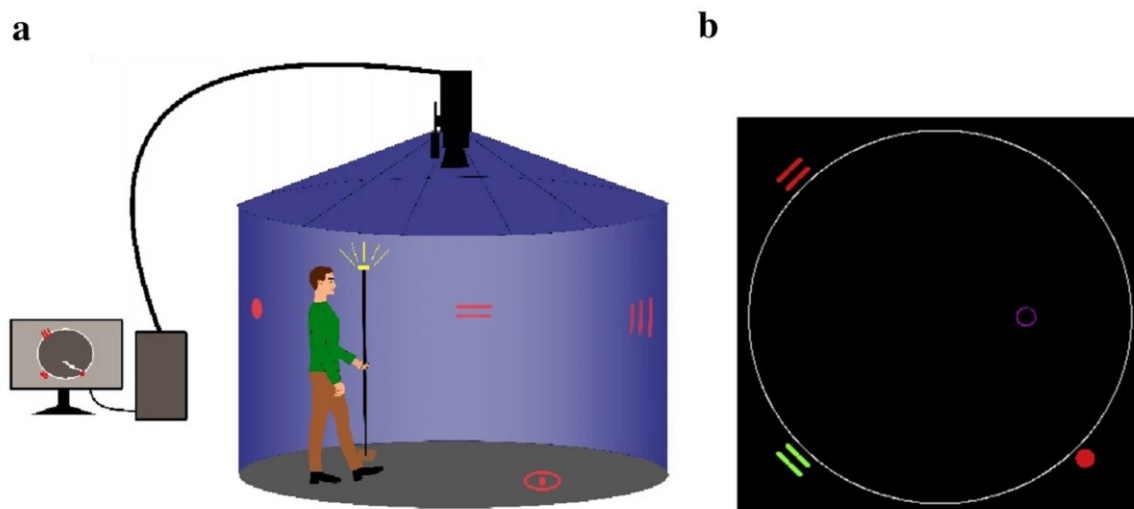
Neurální podstata navigace u lidí byla zkoumána pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) při navigaci ve známém komplexním městě ve virtuální realitě. Bylo zjištěno, že pravý hipokampus je spojen s přesným určováním polohy míst a s přesnou navigací mezi nimi a poskytuje alocentrickou (na prostředí založenou) reprezentaci prostoru, která umožňuje výpočet směru k cíli z jakéhokoliv výchozího místa. Čím přesnější byla navigace účastníků virtuálním prostředím k cíli, tím větší aktivita byla pozorována v pravém hipokampu. Pravé kaudální jádro bylo spojeno s rychlostí a efektivitou navigace. Pravá dolní temenní kůra je podle výsledků této studie zodpovědná za zpracování egocentrických (vzhledem k poloze těla) prostorových informací, integruje alocentrické reprezentace poskytované pravým hipokampem a přispívá tak k výpočtům nezbytným pro navigační chování, jako je správné natočení těla potřebné pro pohyb k cíli vzhledem k relativní egocentrické poloze překážek a aktuálnímu směru pohybu (Maguire et al., 1998).

Silný vztah mezi prostorovou navigací a lidským hipokampem naznačuje i známá studie z roku 2000, která zjistila, že licencovaní londýnští taxikáři, kteří ve své profesi do značné míry spoléhají na navigační dovednosti, vykazovali větší objem pravého zadního hipokampu než kontroly a čím déle subjekt pracoval jako taxikář, tím větší byl celkový objem jeho pravého zadního hipokampu. K analýze mozků subjektů i kontrol byla použita strukturální magnetická rezonance (Maguire et al., 2000). Roli hipokampu v prostorové navigaci u lidí zkoumala i další studie, jejíž výsledky naznačují, že zhoršení výkonu v úlohách prostorové orientace může sloužit jako časný marker AD. Polovina pacientů s AD a čtvrtina pacientů s mírnou kognitivní poruchou (MCI) se v této studii ztratila při úloze učení se cestě a ztráta na trase nesouvisela s celkovou kognitivní poruchou, což zdůrazňuje specifické postižení prostorové orientace u těchto pacientů. Výsledky vyšetření MRI ukázaly, že bez ohledu na to, zda účastníci trpěli AD nebo MCI, měli ti, kteří se během úkolu učení trasy ztratili, menší objem pravého zadního

hipokampu ve srovnání s těmi, kteří se neztratili, a také s kontrolní skupinou (Deipolyi et al., 2007).

3.1.3. Translační ekvivalenty Morrisova vodního bludiště pro lidské subjekty

MWM je důležitým translačním testem právě i díky tomu, jak dobře je prozkoumaná neurální podstata prostorové navigace. Úloha MWM byla adaptována pro lidi například ve studii zkoumající prostorovou paměť z roku 2002 ve virtuálním prostředí jako virtuální morrisovo bludiště (vMWM). Úloha vMWM vyžaduje, aby se účastníci pohybovali ve virtuálním prostředí a našli skrytou plošinu, což napodobuje klasickou hlodavčí úlohu MWM. Lidé s jednostrannou resekci hipokampu vykazovali závažné poruchy při jejím řešení. Tento translační přístup zdůrazňuje hodnotu používání analogických úloh u lidí a hlodavců pro porozumění AD (Astur et al., 2002).



Obrázek 2: HGT a) nákres BVA b) schéma virtuální verze HGT znázorňující vzdušný pohled na arénu (velký bílý kruh) se startem (červeně vyplněný kruh), orientačními vodítky (červené a zelené čáry) a cílem (fialový kruh). Upraveno z (Němá et al., 2021).

Studie Horta a spol. využívala k hodnocení prostorového učení a paměti úlohu se skrytým cílem (HGT), která má dvě verze: počítačovou a reálnou. Účastníci si museli zapamatovat polohu neviditelného cíle vzhledem k výchozím bodům a orientačním vodítkům, přičemž v počítačové verzi se pohybovali po velkém kruhu zobrazeném na monitoru. Test byl rozdělen do čtyř subtestů, které odděleně testovaly egocentrickou a alocentrickou navigaci, a zahrnoval osm pokusů s rotací arény. Reálná verze testu probíhala v aréně Blue Velvet (BVA), uzavřené válcové aréně s digitálními číselnými displeji, která napodobovala podmínky MWM. Studie odhalila významné poruchy prostorové navigace u jedinců s amnestickou MCI, zvláště v alocentrické navigaci, a obecnější deficity u vícedoménové MCI, podobné těm u AD. Výsledky

podtrhují hodnotu adaptace testů zvířecích modelů pro včasné odhalení a diagnostiku kognitivních poruch, jako jsou MCI a AD (Hort et al., 2007). Úloha HGT byla využita už v roce 2005 při výzkumu poruch prostorové navigace a paměti u osob s AD. Reálná kruhová aréna pro lidské subjekty (průměr 2,9 m, výška 3 m) byla vybavena počítačovým sledovacím systémem, podobným tomu, který se používá u MWM. Úloha se skrytým cílem (HGT) se skládala ze tří testů, přičemž každý z nich obsahoval počítačovou verzi následovanou verzí v reálném prostoru. První test umožňoval k nalezení cíle použít start i nápovědu, 2. test zobrazoval pouze start a vyžadoval idiotetickou strategii a test 3 byl čistě alotetický. V počítačovém testu se subjekty pohybovaly myší od startu k cíli. V reálné prostorové verzi si subjekt vybavil cílovou pozici počítačového testu, označil ji tyčí s LED diodou a získal zpětnou vazbu prostřednictvím laserové projekce. Hodnocení měřilo vzdálenost mezi označenou a skutečnou polohou cíle v počítačové i reálné verzi. Skupina AD byla v obou prezentovaných testech oslabena. Uvedené virtuální testy by mohly být využity pro opakované testování rizikových osob nebo pacientů v časných stádiích AD k indikaci postupu nemoci nebo k posouzení účinku aplikovaných léků. Další studie provedená Kalovou a kolegy poskytla důkazy podporující platnost počítačových testů jako přesných reprezentací navigačních výzev v reálném světě a validovala tak používání počítačových testů při diagnostice a hodnocení AD (Kalová et al., 2005).

Deficity prostorové navigace a orientace mají vyšší specifickou než deficity např. epizodické paměti při odlišování AD od jiných typů demence, zejména FTD (frontotemporální demence) (Tu et al., 2015; Yew et al., 2013). Studie z roku 2013 naznačuje, že dezorientace a problémy se zadním hipokampem se zdají být specifické pro AD a mohly by klinikům pomoci odlišit ji od jiných neurodegenerativních stavů s podobnými deficity paměti, protože pacienti s AD vykazovali poruchy orientace i paměti, zatímco pacienti s FTD měli pouze poruchy paměti a navíc studie pomocí MRI a voxel-based morfometrie zjistila, že zadní hipokampus souvisí s orientací u AD, zatímco přední hipokampus souvisí s výkonem paměti jak u AD, tak u FTD (Yew et al., 2013). Další studie poukazující na využití prostorové orientace k odlišení AD od jiných typů demence využívala úlohu ve virtuální realitě. Účastníci se pohybovali ve virtuálním prostředí supermarketu z pohledu první osoby prostřednictvím série videí. Byli instruováni, aby udržovali orientaci vzhledem k výchozímu místu. Cílem tohoto úkolu bylo posoudit egocentrickou orientaci a vyžadoval orientovat se podle topografických prvků v bezprostředním okolí (Tu et al., 2015). Úloha ve virtuálním supermarketu opět poukazuje na

potenciál virtuální reality při vytváření ekologicky platných hodnocení prostorové dezorientace, která je častým příznakem AD.

Problémy s prostorovou navigací nebo orientací jsou u zdravých starších osob hlášeny jen zřídka (Cerman et al., 2018) a proto je prostorová navigace vhodná pro rozlišení osob s AD, vhodnější než například epizodická paměť, navíc epizodická paměť dosahuje vrcholu v rané dospělosti a postupně se snižuje s normálním stárnutím (Hartshorne & Germine, 2015). Cerman a spol. použili dotazník ke shromáždění informací o subjektivních stížnostech na prostorovou navigaci. Rutinní hodnocení stížností na prostorovou navigaci by mělo být považováno za prioritu v paměťových klinikách. Identifikace počínající AD by mohla poskytnout dřívější příležitost k zahájení potenciálně chorobu modifikující léčby dříve, než dojde k podstatnějším až smrtelným změnám mozku (Cerman et al., 2018).

Studie z roku 2008 zjistila silnou korelaci mezi výkonem v reálném a virtuálním prostředí, což opět naznačuje, že testování ve virtuální realitě (VR) by opravdu mohlo sloužit jako cenný nástroj pro testování AD. V obou prostředích vykazovali jedinci s AD významné poruchy, zejména ve verbálně zprostředkovaných navigačních schopnostech. Testování navigace v reálném světě probíhalo ve vstupní hale nemocnice. Subjekty se účastnily 90minutového testu, který začínal prohlídkou haly po stanovené trase řízenou experimentátorem vsedě na invalidním vozíku. Tento přístup minimalizoval nepohodlí a potenciální rozptýlení starších subjektů a zajistil rovnoměrné seznámení s trasou. Na přenosném počítači byl zobrazen trojrozměrný pohled na halu z výšky invalidního vozíku. Test VR zrcadlil test v reálném světě, replikoval stejná místa a úkoly. Virtuální prostředí umožnilo standardizované podmínky testování a přesný sběr dat (Cushman et al., 2008).

Studie Nedělské a spol. z roku 2012 potvrdila, že výkonnost alocentrické navigace je úměrná objemu pravého hipokampu za použití navigační úlohy ve virtuálním i reálném prostoru. Vysoce korelované výsledky v úlohách navigace v reálném i virtuálním prostoru v této studii opět ukazují, že obě hodnocení jsou spolehlivým měřítkem prostorových navigačních schopností (Nedelska et al., 2012).

3.1.4. Využití translačních testů prostorové paměti

Hort a spol. studovali účinky donepezilu na kognitivní funkce u jedinců s mírnou formou AD pomocí počítačové obdoby MWM (hMWM). V hMWM se testovala alocentrická a egocentrická navigace ve virtuální aréně na dotykové obrazovce. Účastníci používali distální vodítka nebo svou výchozí pozici k nalezení skrytého cíle. Studie měla dvě skupiny: léčenou

skupinu, která dostávala donepezil a neléčenou skupinu. Po třech měsících vykazovala léčená skupina stabilní nebo zlepšený výkon v prostorové navigaci, zejména v úlohách se zpožděným vybavováním, zatímco neléčená skupina vykazovala stabilní nebo zhoršený výkon. Ukázalo se, že hMWM je citlivým nástrojem pro měření účinků donepezilu, což zdůrazňuje jeho potenciál pro klinické studie. Umožňuje výzkumníkům studovat prostorové učení a paměť u lidí podobně jako na modelech hlodavců, což je zásadní pro převedení poznatků ze zvířecích modelů na lidská onemocnění, jako je Alzheimerova nemoc. Tento neinvazivní a atraktivní test dokáže odhalit jemné kognitivní deficity a posoudit dopad léčby, čímž překlenuje propast mezi preklinickým a klinickým výzkumem (Hort et al., 2014).

Laczo a spol. provedli studii, v níž zkoumali účinky skopolaminu a donepezilu na prostorovou navigaci u lidí i potkanů pomocí HGT a MWM. Cílem studie bylo ověřit platnost HGT jako translačního testu, prozkoumat vliv skopolaminu na navigaci (využívá se jako model kognitivních deficitů AD) a vyhodnotit potenciál donepezilu negativní účinky skopolaminu potlačit. Randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná třícestná křížová studie zahrnovala obě skupiny, tedy lidi a potkany, které dostávaly skopolamin, skopolamin plus donepezil nebo placebo v různém pořadí. Účastníci plnili navigační úkoly v několika časových bodech po podání, přičemž byla zaznamenávána jejich přesnost a efektivita. Výsledky ukázaly, že skopolamin zhoršuje navigaci u lidí i potkanů, což potvrzuje jeho užitečnost při modelování deficitů souvisejících s AD. Donepezil úspěšně zvrátil negativní účinky skopolaminu u potkanů a vykázal částečné zlepšení u lidí, což naznačuje jeho potenciální terapeutický přínos. HGT se opět ukázal jako účinný translační úkol pro studium poruch prostorové navigace. Studie zdůrazňuje hodnotu takových translačních přístupů pro testování léků a pochopení mechanismů AD a poskytuje slibný model pro budoucí výzkum (Laczo et al., 2017).

3.2. Testy pracovní paměti a dalších kognitivních domén

3.2.1. Radiální bludiště a jeho lidské ekvivalenty

Klasická úloha radiálního bludiště (RAM) byla vyvinuta v roce 1976 Oltonem a Samuelsonem (Olton & Samuelson, 1976). Původní radiální bludiště sestává z 8 ramen a na konci ramen může být odměna. RAM může zkoumat pracovní paměť, pokud je úkolem hlodavců navštívit každé rameno a nenavštívit žádné rameno vícekrát, tedy si pamatovat, kde už byli. Opakovaný vstup do ramen by značil chybu pracovní paměti. Nebo lze zkoumat prostorovou paměť ve variantě, kdy si mají zapamatovat, ve kterých z 8 ramen je odměna a při každém pokusu navštěvovat pouze tato ramena. Konstrukce bludiště zajišťuje, že po každé

volbě (po vstupu do ramene a případném nalezení odměny na konci ramene) je potkan vždy nucen se vrátit na centrální plošinu, než provede další volbu. V důsledku toho má hlodavec vždy osm možných voleb, při každém pokusu je tedy předložen celý soubor alternativ volby včetně těch, které již byly zvoleny. Potkani jsou motivováni potravou a snaží se efektivně shromáždit všechny odměny. Je potřeba, aby si zapamatovali, která ramena již navštívili, aby neztráceli čas hledáním potravy v již vyčerpaných ramenech (Olton & Samuelson, 1976).

Mennenga a spol. vyvinuli adaptaci klasického hlodavčího testu RAM v lidském měřítku. Vytvořili průchozí lidský RAM (HRAM), aby překlenuli propast mezi výzkumem prostorové pracovní paměti hlodavců a lidí. V tomto testu se účastníci pohybují ve fyzickém bludišti s osmi rameny vycházejícími z centrální plošiny a snaží se najít odměny na konci ramen. Tento translační nástroj umožňuje přímé srovnání prostorového učení a paměti u lidí a hlodavců a lze jej použít k hodnocení kognitivních funkcí jak u zdravých jedinců, tak u osob s AD. Účastníci museli procházet bludištěm a pamatovat si, která ramena již navštívili, aby našli odměny, podobně jako to dělají hlodavci v klasické RAM, při čemž se musí spoléhat hlavně na pracovní paměť (Mennenga et al., 2014). Lidé při navigaci v bludišti s radiálními rameny vykazují trvale nízkou chybovost, dokud počet ramen bludiště nepřekročí stanovenou hranici kapacity lidské pracovní paměti, která je přibližně 7 ± 2 položky, jak slavně navrhl Miller (Miller, 1956). Studie odhalila, že lidský výkon v testu HRAM silně koreluje s kapacitou pracovní paměti a že test hodnotí především pracovní paměť, podobně jako verze tohoto úkolu pro hlodavce. Studie navíc zdůrazňuje klíčovou podobnost mezi výkonem lidí a hlodavců v bludišti, protože oba druhy vykazují exponenciálně rostoucí počet chyb s rostoucí obtížností úlohy, ačkoli lidé vykazují větší kapacitu pracovní paměti (Mennenga et al., 2014).

Studie zkoumající neurální podstatu pracovní paměti naznačuje, že pro prostorovou pracovní paměť u potkanů je důležitá jak prefrontální kůra, tak hipokampus a funkční interakce mezi těmito dvěma strukturami (Yoon et al., 2008). K závěru, že narušená plasticita prefrontálního kortexu může přispívat k deficitům pracovní paměti pozorovaným u jedinců s AD došli i autoři další studie za použití úlohy N-zpět (N-back task) (Kumar et al., 2017). V nejtýpější variantě úlohy N-zpět je subjekt povinen sledovat sérii podnětů a reagovat vždy, když je prezentován podnět, který je stejný jako ten, který byl prezentován n pokusů předtím, kde n je předem specifikované celé číslo, obvykle 1, 2 nebo 3. Úkol vyžaduje sledování, aktualizaci a manipulaci se zapamatovanými informacemi, a proto se předpokládá, že klade velké nároky na řadu klíčových procesů v pracovní paměti (Owen et al., 2005).

Meta-analýza Owena a kol. odhalila, že několik subregionů v rámci prefrontální kůry bylo konzistentně aktivováno během úlohy N-zpět a že je tedy pracovní paměť opravdu zajišťována hlavně prefrontální kůrou (Owen et al., 2005). Prostorová pracovní paměť u lidí je tedy spjata s frontální kůrou (Courtney et al., 1998) stejně jako u hlodavců (Yoon et al., 2008).

Studie Lee a spol. zkoumala poruchy prostorové pracovní paměti u osob s aMCI a AD pomocí virtuální verze RAM (VRAM). Cílem studie bylo zjistit, zda VRAM dokáže rozlišit mezi jedinci s aMCI, AD a zdravými kontrolami. Úloha VRAM je adaptací klasického RAM používaného k hodnocení prostorové paměti u hlodavců ve virtuální realitě. V této virtuální verzi účastníci procházejí bludištěm se šesti rameny, která vycházejí z centrální plošiny. Úloha hodnotí dva typy prostorové paměti – pracovní a referenční. Pracovní paměť je hodnocena jako schopnost zapamatovat si, která ramena v bludišti subjekt nedávno navštívil. Vstup do ramene, které účastník již navštívil v rámci téhož pokusu, by se počítal jako chyba pracovní paměti. Referenční paměť odráží schopnost naučit se a zapamatovat si prostorové uspořádání a umístění odměny v průběhu času. Vstup do ramene, které nikdy neobsahovalo odměnu, a to ani po několika pokusech, by byl chybou referenční paměti. To ukazuje na neschopnost naučit se prostorové uspořádání a umístění odměny v průběhu času. Zjištění ukázala, že obě skupiny, aMCI i AD, si v úloze VRAM vedly hůře než zdravé kontroly, přičemž jedinci s aMCI vykazovali výrazné poruchy referenční paměti, ale srovnatelnou pracovní paměť jako kontroly. Tyto výsledky naznačují, že ke ztrátě prostorové referenční paměti dochází dříve ve fázi aMCI, než dojde k výraznému zhoršení pracovní paměti. Studie také ukázala, že pacienti s aMCI, u nichž došlo během pěti let k progresi do AD, měli závažnější poruchy referenční paměti. VRAM slouží jako slibný translační nástroj, který propojuje studie paměti na zvířatech a na lidech, a může pomoci při včasné odhalování a rozlišování kognitivních poruch souvisejících s AD (Lee et al., 2014). Zjištění odpovídá známému vývoji AD, kdy epizodická paměť, úzce spojená s referenční pamětí, je často postižena dříve než paměť pracovní (Almkvist & Backman, 1993). Funkce prostorové pracovní paměti jsou řízeny prefrontální korovou oblastí, která je při progresi AD poškozena (Deipolyi et al., 2007; Dickerson et al., 2009) a funkce prostorové referenční paměti jsou ovlivněny atrofií hipokampu, která se objevuje v časném prodromálním stadiu aMCI (Burgess et al., 2002).

3.2.2. Testy zpožděného přiřazování ke vzorku

Testování pracovní paměti se často provádí v operantních komorách pomocí páčkových úloh DMTS (delayed matching to sample) nebo DNMTS (delayed non matching to sample). Operantní komora je důležitá pro úlohy vytvořené reverzní translací, tedy lidské úlohy

přizpůsobené zvířatům. Operantní komory, vybavené buď páčkami, nebo otvory pro nos potkanů, v nichž lze detekovat přiblížení se pomocí infračervených paprsků, jsou automatizované a řízené počítačem, což umožňuje vyšší výkonnost a lepší kontrolu testovacího prostředí.

Dunnett a jeho kolegové zkoumali účinky cholinergních manipulací na úloze DMTP (zpožděné přiřazování k poloze) u potkanů. Úloha DMTP je klasický test prostorové pracovní paměti a studie přinesla cenné poznatky o úloze cholinergních systémů v různých aspektech paměti. Test byl proveden za využití proměnlivého intervalu a panelové odezvy, aby si byli výzkumníci jistí, že testují pracovní paměť. Nejdříve ve vzorové fázi došlo k vysunutí jedné páčky na levé nebo pravé straně a potkan ji stiskl. Poté se páčka zasune a nastává fáze prodlevy. Prodleva je proměnlivá – potkan nemůže po celou dobu zpoždění sedět před místem, kde byla páčka ve vzorové fázi. Musí se dotknout nosem panelu odezvy a až po proměnlivém intervalu se páčky znovu objeví, navíc dotek nosem slouží jako distraktor. Během této prodlevy si potkan tedy musí pamatovat polohu páčky, kterou stiskl. Po uplynutí prodlevy se obě páčky vysunou a potkan musí stisknout páčku ve stejné poloze (levou nebo pravou) jako při iniciální vzorové fázi, aby získal odměnu ve formě jídla. – Stisknutí nesprávné páčky má za následek „time out“. Tato úloha účinně hodnotí prostorovou pracovní paměť, protože potkan si musí po dobu prodlevy udržet v paměti polohu vzorové páčky, aby mohl provést správnou volbu (Dunnett, 1985). Existuje i druhá verze této úlohy DNMTTP při níž je správným a odměňovaným stisknutí páčky, která nebyla vysunuta ve vzorové fázi. Odpověď na novou páčku je správná, zatímco odpověď na familiární páčku by byla chybná. Pokud zvíře reagovalo chybně, nastal „time-out“, obě páčky se zatáhly a světlo na 5 sekund zhaslo (Dunnett et al., 1989).

Toto paradigma pro hlodavce s výběrem vzorku, zpožděním a volbou se přesně shoduje s formátem testů pracovní paměti u lidí. Sahakian a spol. použili počítačovou verzi DMTS úlohy s vizuálním podnětem na lidských subjektech. Účastníkům byl nejprve ukázán komplexní vizuální podnět („vzorek“), důležitá byla barva a tvar. Poté následovalo zpoždění v rozmezí 0 až 16 sekund. A po prodlevě byly prezentovány dva podněty, jeden identický se vzorkem a druhý odlišný. Účastníci museli vybrat podnět, který odpovídal původnímu vzorku. Porovnáním výkonů s různou prodlevou či bez prodlevy mohli výzkumníci posoudit, jak je schopnost si pamatovat vzorek ovlivněna časovým odstupem. Deficity v porovnávání se zpožděním, ale ne bez zpoždění, mohou naznačovat problémy s aktivním udržováním vizuálních informací v čase, což je klíčová složka pracovní paměti. V této studii zjistili deficit krátkodobé paměti u pacientů s AD. Jejich normální výkon v úloze bez prodlevy ukazuje, že

byli schopni reagovat podle postupu úlohy, vnímat a věnovat pozornost podnětům použitým jako vzorky. Jejich rychle klesající výkon v závislosti na zpoždění tedy naznačuje neschopnost udržet vzorek v krátkodobé paměti. Studie ukazuje, že použité úlohy byly dostatečně citlivé k odhalení rozdílů mezi pacienty s AD a zdravými kontrolami i mezi pacienty s AD a pacienty s Parkinsonovou chorobou (Sahakian et al., 1988).

Test DMTS byl poté použit i ve studii Robbinse, na začátku každého pokusu byla ukázková fáze, uprostřed obrazovky se objevil abstraktní vzorový podnět po dobu 4,5 s. Subjektům bylo řečeno, aby podnět prostudovali, protože později ho budou muset identifikovat ze tří distraktorů. Po úvodní 4,5 s prezentační době vzorový podnět z obrazovky zmizel. Poté následovala prodleva 0 s, 4 s nebo 12 s, než se objevily čtyři podněty a subjekt měl provést výběr dotykem na ten podnět, který přesně odpovídal (barvou i formou) vzorovému podnětu. Po nesprávné odpovědi musel subjekt pokračovat ve výběru, dokud se nedotkl správného podnětu (Owen et al., 1993; Robbins et al., 1997).

3.2.3. Párový asociační test

Dalším používaným translačním testem je párový asociační test, který slouží k měření vizuálního asociativního učení, které zahrnuje vytváření si spojení mezi dvojicemi podnětů. Účastníkům jsou ve fázi učení opakovaně předkládány dvojice podnětů a jsou instruováni, aby se naučili asociace mezi nimi. Poté je v testovací fázi z každé dvojice zobrazen jeden podnět a účastník si musí vybavit a identifikovat odpovídající přidružený podnět. V Robbinsově testu učení párových asociací si subjekty měly zapamatovat až osm asociací vzor—místo. Kolem obrazovky byly prezentovány bílé boxy, postupně se všechny otevřely a subjekt viděl, co je uvnitř. Úkolem bylo hledat v krabicích barevné vzory a zapamatovat si, který vzor patří do které krabice. Každá z krabic se otevřela na 3 s a poté se opět zavřela v náhodném pořadí. Ihned po otevření poslední krabice byl zobrazen vzorek uprostřed obrazovky a subjekt měl reagovat dotykem krabice, ve které se tento vzorek nacházel. Pokud byla volba správná, objevila se slova „VŠECHNO SPRÁVNĚ“ uprostřed obrazovky. Pokud byla volba nesprávná, krabice se postupně znovu otevřely (fáze připomínání) vždy na 2 s a subjekt měl druhý pokus o správné nalezení krabice patřící vzoru. Po počátečním pokusu se třemi vzory v šesti krabicích proběhl jeden pokus se šesti vzory (v každé krabici jeden), poté byly přidány dvě krabice a subjekt musel správně najít celkem osm vzorů (Robbins et al., 1997).

Sahakian a spol použili párový asociační test zaměřený na učení se prostorových vztahů. Účastníci se měli naučit umístění abstraktních vizuálních podnětů na obrazovce. Počet podnětů

se postupně zvyšoval, čímž se úloha stávala náročnější. Tato úloha je do značné míry založena na prostorovém učení a paměti. Účastníci si musí zakódovat prostorové vztahy mezi podněty a jejich umístěním a poté si tyto informace vybavit, aby mohli úlohu přesně provést. Zvyšující se počet podnětů zapojuje také pracovní paměť, protože účastníci musí mít v paměti více prostorových asociací současně (Sahakian et al., 1988). Paradigma této úlohy na lidech je stejné, jako na hlodavcích a ukázalo se, že je párový asociační test účinný při identifikaci pacientů s pravděpodobnou AD (Blackwell et al., 2004) a že je pro odhalení časně AD jedním z nejcitlivějších testů z baterie CANTAB (Fowler et al., 1997).

3.2.4. Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery

Vztažením studií na zvířatech na testy vhodné pro hodnocení pacientů s demencí, byla vytvořena baterie testů CANTAB (Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery). Byla navržena a ověřena pro testování vizuální paměti a pozornosti u pacientů s pravděpodobnou AD, jinými formami demence a u pacientů s neurochirurgickými korovými lézemi včetně léze temporálního laloku (Owen et al., 1995; Robbins et al., 1994; Sahakian et al., 1988).

Ve studii z roku 1994 byla celá baterie testů CANTAB testována na 787 normálních zdravých starších dobrovolnících, na základě výsledků této studie lze posoudit výkonnost různých skupin pacientů. Baterie zahrnuje testy DMTS a DNMTS, a také testy prostorového rozpoznávání a vizuálně-prostorového učení párových asociací (Robbins et al., 1994). Pro odhalení a nezávislé studium jedinců, kteří by mohli být ohroženi demencí, byli všichni dobrovolníci také vyšetřeni v testu Mini Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1975). MMSE je vhodným doplňkem behaviorálních testů, i když nemá přímý ekvivalent u zvířat.

V baterii testů CANTAB je test, který do jisté míry vychází z výše zmíněného testu RAM pro hodnocení pracovní paměti u hlodavců. Jedná se o test prostorové pracovní paměti. Subjekty měly za úkol prohledat řadu krabic prezentovaných na obrazovce s cílem shromáždit modré žetony ukryté uvnitř těchto krabic. Vždy byl skryt žeton v jedné z krabic a subjekty ho měly postupně hledat dotykem a „otevíráním“ krabic, dokud ho nenašly. V tomto okamžiku byl ukryt další žeton. Jakmile byl modrý žeton nalezen v určité krabici, tato krabice již nikdy nebyla použita k ukrytí nového žetonu. Chyby byly hodnoceny podle počtu případů, kdy se subjekt vrátil otevřít krabici, ve které již při předchozím hledání našel žeton (Owen et al., 1992). Dalším testem, který je součástí baterie CANTAB je test pattern recognition, tedy test rozpoznávání

vzorů. V první fázi testu si subjekty postupně prohlížejí 12 barevných obrazců, z nichž každý se objevuje po dobu 3 sekund. Ve druhé fázi je jim předloženo 12 dvojic obrazců (vždy jeden známý a jeden nový) a musí identifikovat známý obrazec z první fáze. (Robbins et al., 1994). Test prostorového rozpoznávání, tedy spatial recognition test zahrnuje dvě fáze. V prezentační fázi se postupně objeví pět bílých čtverců na různých prostorových místech, každý po dobu 3 sekund. Ve fázi rozpoznávání se zobrazí dvojice čtverců a pokusné osoby musí identifikovat čtverec, který byl předtím prezentován, musí určit správnou pozici (Robbins et al., 1994). Ekvivalentem tohoto testu u zvířat by mohla být speciálně upravená úloha v MWM. Test s původním názvem Matching to Sample (Visual Search for Designated Targets) zahrnuje centrální červený rámeček a osm okolních bílých rámečků na obrazovce. Subjekt zahajuje každý pokus stisknutím klávesnice, čímž odhalí cílový podnět ve středu a podněty k výběru v okolních rámečcích. Subjekt musí rychle identifikovat shodu s centrálním rámečkem mezi různým počtem distraktorových vzorů, přičemž dostává zpětnou vazbu o svém výkonu (Robbins et al., 1994). Do baterie testů CANTAB řadíme i výše zmíněné testy DMTS (Robbins et al., 1997) (Owen et al., 1993) a párový asociační test (Owen et al., 1993; Robbins et al., 1997).

CANTAB baterie je často využívána k hodnocení kognitivního výkonu u pacientů s AD. Byla využita např. ve studii, která zjistila, že jak pacienti s AD, tak pacienti s Parkinsonovou chorobou vykazují poruchy vizuálně-prostorové paměti a učení. Specifický vzorec deficitů se však mezi oběma skupinami lišil, což naznačuje odlišné kognitivní poruchy (Sahakian et al., 1988). Nebo ve studii zabývající se kognitivními deficity u pacientů s demencí, ve které výzkumníci zjistili, že pacienti s demencí dosahovali horších výsledků než kontrolní skupina v různých úlohách, včetně úloh vizuální paměti, plánování a pozornosti (Sahgal et al., 1991). Další studie za využití CANTAB zjistila, že pacienti se středně těžkou formou AD vykazovali významné zhoršení jak v kognitivních testech, tak v počítačovém motorickém screeningovém úkolu ve srovnání s pacienty s mírnou formou AD a zdravými kontrolami. Skupina pacientů s mírnou formou AD si však v motorickém screeningu vedla podobně jako kontrolní skupina, což naznačuje, že motorické poruchy se mohou projevovat výrazněji s postupujícím onemocněním (Sahgal et al., 1992). Dále byla baterie CANTAB použita i ve studii, která naznačuje, že AD může ovlivňovat pozornost a paměť odlišně u různých podskupin pacientů. Konkrétně v rámci své skupiny pacientů s AD identifikovali dvě podskupiny, jednu s výraznějším deficitem pozornosti a druhou se závažnějším poškozením paměti (Sahakian et al., 1990).

Baterie CANTAB byla vyvinuta za účelem rozšíření paradigmat vyvinutých k testování zvířecích modelů neurobiologických a neurochemických změn, o nichž se předpokládá, že se vyskytují u lidí, kteří trpí AD a dalšími patologiemi, které jsou v pozdějším věku stále častější. Je například známo, že test prostorové pracovní paměti je obzvláště závislý na intaktních čelních lalocích, zatímco test paměti rozpoznávání vzorů není poškozením čelních laloků ovlivněn, ale je citlivý na léze spánkových laloků (Owen et al., 1990, 1995). Aby bylo možné validovat použití CANTAB u populace s demencí jako možného klinického nástroje, je důležité nejen standardizovat baterii na velkém vzorku starších dobrovolníků, ale také prokázat jeho užitečnost při odhalování a diagnostice demence ve srovnání s běžně používanými klinickými nástroji, jako je Folsteinův MMSE (Folstein et al., 1975).

3.2.5. Testy intradimenzionálního/extradimenzionálního posunu

Sahakian a spol. ve studii z roku 1990 využili test intradimenzionálního/extradimenzionálního posunu (ID/ED shift). Tento test, převzatý z (Downes et al., 1989), hodnotí učení zrakové diskriminace a schopnost posunu souboru pozornosti a tedy kognitivní flexibilitu subjektů a je obdobou staršího Wisconsinského testu třídění karet (Berg, 1948). Studie zjistila rozdíl mezi dvěma podskupinami pacientů s AD, první skupina vykazovala poruchy paměti a učení, ale v testu posunu ID/ED si vedla stejně dobře jako zdravé kontroly, takže jejich schopnost přesouvat pozornost mezi vjemovými dimenzemi (jako je tvar a barva) byla relativně zachována. Druhá skupina vykazovala významné poruchy jak v úlohách zaměřených na pozornost (včetně ID/ED shift), tak v úlohách zaměřených na paměť/učení. Jejich kognitivní deficity byly rozsáhlejší (Sahakian et al., 1990). V testu ED/ID shift se subjekty učí spojovat specifický rys (např. bílý kruh) s odměnou mezi dvojicí podnětů, které se liší ve dvou dimenzích (např. tvar a barva). Jakmile se toto pravidlo naučí (např. bílý kruh = správný), dojde k posunu. Posun může být buď intradimenzionální, takže se pravidlo změní v rámci téže dimenze (např. nyní černý kruh = správně). Nebo extradimenzionální, percepční dimenze se zcela změní (např. nyní bílý trojúhelník = správně, bez ohledu na tvar, nyní je relevantní dimenzí barva (bílá)). Obtíže při adaptaci na posun ED, zejména ve srovnání s posunem ID, naznačují obtíže při přesunu pozornosti na novou percepční dimenzi. ED posun vyžaduje větší kognitivní flexibilitu, aby se subjekt zcela odpoutal od dříve relevantní dimenze (tvar) a přepnul svou pozornost na novou (barva). Proto mohou potíže s posunem ED naznačovat problémy s kontrolou pozornosti a kognitivní flexibilitou (Downes et al., 1989).

Ve verzi tohoto testu pro hlodavce byli potkani nejprve testováni na jednoduchou diskriminaci s použitím pachu jako relevantní dimenze. Po dosažení šesti po sobě jdoucích správných odpovědí následovala fáze složené diskriminace a byla zavedena druhá dimenze (médiu, ve kterém je zahrabaná odměna), ale správná volba stále závisela na pachu. Při reverzním učení se potkani museli naučit, že dříve správný pach je nyní nesprávný a naopak, přičemž relevantní dimenze zůstala stejná. Při ED posunu se dříve irelevantní dimenze stala relevantní, což vyžadovalo, aby se potkani této změně přizpůsobili. Testování proběhlo 24 hodin po tréninku, aby se posoudila jejich kognitivní flexibilita při přizpůsobování se novým pravidlům (McLean et al., 2010). Schopnost přesunu pozornosti je zajišťována mediální frontální kůrou (Birrell & Brown, 2000).

3.2.6. Úkol pro studium reakčního času s 5 sériovými volbami

Dalším příkladem zpětného překladu pomocí operantních komor byl vývoj operantní krabice s 9 otvory (Carli et al., 1983). Carli a spol upravili úkol zaměřený na pozornost používaný u lidí (Leonard, 1959), aby vytvořili úkol pro studium reakčního času s 5 sériovými volbami (5-CSRTT) u hlodavců. Verze úkolu pro hlodavce se věrně shoduje s lidským protokolem, cílem je získat potravinovou odměnu.

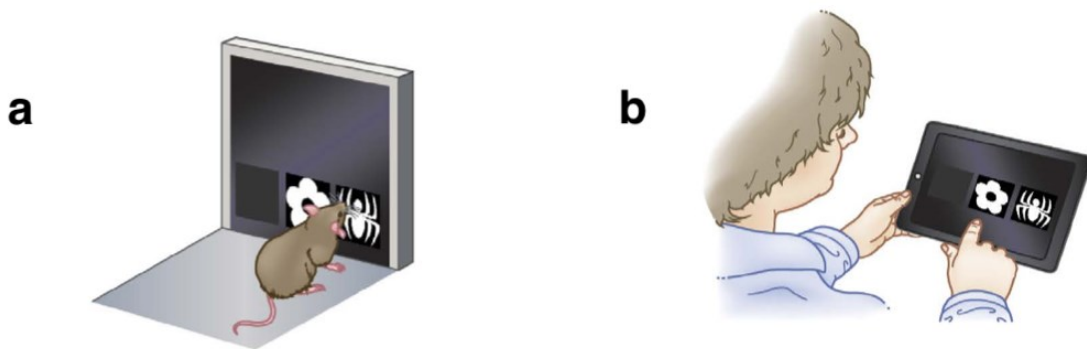
5-CSRTT byl vymyšlen pro lidi Leonardem v roce 1959 (Leonard, 1959). Subjekty musely nepřetržitě sledovat 5 žárovek. Každý subjekt měl k dispozici stylus a jeho úkolem bylo se dotknout kontaktu, jehož žárovka se zrovna rozsvítila, čímž byla testována jeho pozornost. Tím se žárovka zhasne a rozsvítí se další, na kterou opět reaguje, a tak cyklus pokračuje, přičemž subjekt pracuje svým tempem po dobu 30 minut. Pořadí, v jakém se žárovky rozsvěcují, se testovaným osobám jeví jako náhodné (Wilkinson, 1963).

V rané studii zkoumající procesy pozornosti u potkanů (Carli et al., 1983) byl tento úkol adaptován pro hlodavce a umístěn do krabice s devíti otvory, kde potkan sledoval krátký (0,5s) světelný záblesk v jednom z pěti otvorů. Infračervené paprsky fotobuněk sledovaly reakce čenichu v otvorech a správné odpovědi byly odměňovány granulemi s potravou. Úkol hodnotil schopnost potkana udržet prostorovou pozornost na více místech najednou v průběhu přibližně 100 pokusů. Toto uspořádání umožnilo podrobné sledování výkonu pozornosti a přesnosti reakcí u hlodavců (Carli et al., 1983). Muir a kolegové studovali neuronální podtext tohoto úkolu. Po lézích různých korových oblastí pomocí kyseliny chinolinové došlo k přechodným deficitům v přesnosti volby (Muir et al., 1992).

Jones et al (1995) zaznamenali rozdíly v přesnosti reakcí u starších potkanů, které se zhoršovaly při systémovém podávání skopolaminu (Jones & Higgins, 1995). Celkově se zdá, že skopolamin velmi narušuje výkonnost v 5-CSRTT (Mcgaughy et al., 2002). Další studie zjistila, že inhibitor acetylcholinesterázy takrin zlepšuje výkonnost pozornosti v období 5-CSRTT u pacientů s pravděpodobnou AD. Tento test zahrnoval pět vzestupných úrovní obtížnosti, které slouží k tréninku subjektů na závěrečnou úlohu. Zpočátku se subjekty dotýkají obrazovky, když se uprostřed objeví žlutá tečka, v další úrovni se tečka objeví na jednom z pěti míst. V dalších fázích test vyžaduje, aby subjekty zvedly ruku ze speciální podložky a dotkly se obrazovky co nejrychleji poté, co se objeví tečka. V poslední úrovni jsou spojeny předchozí úrovně dohromady, a tak musí subjekty zvednout ruku z podložky co nejrychleji poté, co se tečka objeví na jednom z pěti míst na obrazovce a dotknout se obrazovky v tom místě, kde se tečka objevila. Výkon se měří z hlediska přesnosti a rychlosti (Sahakian et al., 1993).

3.2.7. Testy s využitím dotykové obrazovky

Testovací komory s dotykovou obrazovkou pro hlodavce jsou v podstatě rozšířením tradičních operantních komor. Začlenění dotykové obrazovky namísto páček nebo otvorů pro detekci nosu potkana rozšiřuje škálu podnětů a typů kognitivních testů, které lze prezentovat. Další výhodou je, že testování pomocí dotykové obrazovky se stále častěji používá k hodnocení kognice u lidí a použití podobných přístrojů u lidí a zvířecích modelů usnadňuje zpětnou translaci. Pomocí dotykové technologie se mohou animální modely zapojit do počítačových kognitivních úloh, které mohou být identické s úlohami používanými ve studiích na lidech (Bussey et al., 2012), protože testy s použitím dotykové technologie byly přizpůsobeny různým druhům zvířat včetně hlodavců (Bussey et al., 2002). Jedním příkladem je studie z roku 2015, v níž byla vyvinuta verze párového asociačního testu, která byla identická pro testování na hlodavcích i na lidských subjektech. Použili párový asociační test založený na dotykové obrazovce u myši a lidí nesoucích genetické mutace v homologních genech souvisejících s onemocněním. Tato studie ilustruje slibné možnosti translačního testování pomocí dotykové obrazovky. Test vyžaduje naučit se a zapamatovat si, který ze tří objektů (květina, letadlo, pavouk) je spojen s jedním ze tří míst na dotykové obrazovce (vlevo, uprostřed, resp. vpravo) (viz. Obrázek 3), tedy naučit se párovou asociaci mezi tvarem a umístěním objektu (Nithianantharajah et al., 2015).



Obrázek 3: Identická podoba párového asociačního testu pro hlodavce (a) i lidské subjekty (b) za využití dotykové obrazovky. Upraveno z (Nithianantharajah et al., 2015).

Pro hlodavce je k dispozici více než 20 testů tohoto typu v oblastech kognitivní flexibility, učení, paměti, motivace, pozornosti a rozhodování (Sullivan et al., 2021).

Nedávno byla vyvinuta baterie založená na dotykové obrazovce tabletu, která testuje pozornost, vizuální paměť a zpracování informací. Bylo zjištěno, že tato nová baterie kognitivních testů využívajících dotykovou obrazovku rozlišuje mezi zdravými kontrolami, pacienty s mírnou kognitivní poruchou a pacienty s pravděpodobnou AD (Huang et al., 2019). Baterie testů s dotykovou obrazovkou byly zvláště užitečné pro charakterizaci profilů kognitivních poruch u genetických modelů AD (Beraldo et al., 2019; Romberg et al., 2011). Technologie dotykových obrazovek pro hlodavce se hodí ke standardizaci, protože stejné komory, podněty a programy úloh lze používat napříč studii v jakémkoli výzkumném zařízení na celém světě. Automatizované a standardizované přístroje usnadňují vytváření standardizovaných a osvědčených postupů pro testování hlodavců (Beraldo et al., 2019). Výhodou využití dotykové technologie je i to, že reagování přímo na podněty na obrazovce zvyšuje citlivost na rychlost odpovědi a redukuje vnější vlivy ovlivňující pozornost (Tsoy et al., 2020).

3.3. Diskuze o problémech translace

Hlavním problémem v translaci výsledků mezi testy na zvířatech a na lidských subjektech může být rozdíl v motivaci a v míře stresu. Výsledky studie Engelmana ukazují, že učení v MWM způsobuje silnou aktivaci HPA osy, zvyšuje hladinu stresu zvířete a zvyšuje uvolňování stresových hormonů (Engelmann et al., 2006). Testy na lidech se však opírají o spontánní chování a nejsou tedy tak stresující. Dalším z problémů týkajících se translace mezi preklinickým výzkumem na zvířatech a klinickým výzkumem na lidech je otázka, jak účinně modely hlodavců napodobují lidská onemocnění a jejich vývoj. Klasické laboratorní kmeny

myši s omezenou genetickou rozmanitostí mohou bránit úspěšné translaci výzkumu AD do klinického prostředí. Onos a spol. se tento problém snažili řešit zavedením transgenů APP^{swe} a PS1^{de9} relevantních pro AD do tří geneticky různorodých, divoce žijících kmenů. Genetická rozmanitost hlodavčích modelů může lépe replikovat patologii lidské AD, včetně neurozánětu vyvolaného amyloidem a cévních problémů. Studie zdůrazňuje význam začlenění genetické rozmanitosti pro zvýšení relevance a využitelnosti preklinického výzkumu AD (Onos et al., 2019). Analýza Buttona a dalších zase ukazuje, že velkým problémem v translaci preklinického výzkumu na výzkum na lidech je nedostatečná velikost vzorku. Konkrétně uvádí, že zatímco rozsah neurovědního výzkumu se zvětšil, velikost vzorku zůstává stejná, a tak neodpovídá větší složitosti a nenápadnosti hledaných účinků, což vede k nárůstu falešně statisticky významných zjištění. Tento problém, umocněný publikačním zkreslením a neadekvátními postupy při vykazování výsledků výzkumu, podkopává reprodukovatelnost a platnost neurovědeckých zjištění, ale lze jej zmírnit zlepšením transparentnosti a dodržováním přísných standardů vykazování výsledků (Button et al., 2013). Studie Beery a spol. zase zdůrazňuje, že v preklinických studiích na zvířatech je významným problémem pohlavní zkreslení. Samice savců jsou v biomedicinském výzkumu, zejména v neurovědách, zastoupeny značně podprůměrně. Toto nedostatečné zastoupení samic ve studiích na zvířatech může vést k obtížím při převádění výsledků výzkumu do klinické praxe u žen (Beery & Zucker, 2011).—Zpráva z roku 2010 dospěla k závěru, že jedním z vysvětlení neúspěšné translace základního výzkumu na zvířatech do klinické praxe může být publikační zkreslení (Song et al., 2010). Studie z roku 2012 došla k závěru, že pouze 50 % výzkumu na zvířatech je publikováno (ter Riet et al., 2012).

Bohužel se také ukázalo, že testování chování hlodavců v laboratorním prostředí je obtížné a výsledky testů se mohou lišit v závislosti na osobě provádějící experiment. Prakticky u všech behaviorálních testů existuje určitá míra interakce mezi experimentátorem a zvířetem, která potenciálně ovlivňuje získané výsledky. Důležitost této interakce byla zjištěna pozorováním, že identita experimentátora měla větší vliv na výsledek testu s horkou deskou, než genotyp (Chesler et al., 2002) Je pravděpodobné, že důležité jsou rozdíly mezi výzkumníky ve smyslu množství jejich zkušeností s prací se zvířaty a také v míře jejich úzkosti vůči hlodavcům (Chesler et al., 2002) ale rozdíly vznikají i podle toho, v jaké laboratoři jsou experimenty prováděny (Crabbe et al., 1999). Handling (ochočování) s laboratorními zvířaty před behaviorálním testováním může snížit důsledky interakce mezi zvířetem a experimentátorem a potenciálně snížit variabilitu (Hurst & West, 2010). Tento problém by mohl být vyřešen

použitím touchscreen testů, které jsou výhodné pro standardizaci a díky automatizaci zde není tak výrazná interakce experimentátora se subjektem (Beraldo et al., 2019).

Hanell a Marklund dochází k závěru, že zvýšení translační validity behaviorálních testů hlodavců vyžaduje pochopení přirozeného chování hlodavců, což vyžaduje zohlednění jejich smyslových schopností a zdrojů motivace, což zvýší etologickou validitu testů. Kromě toho, aby byly účinky preklinického výzkumu klinicky významné, měly by být hodnoceny napříč různými parametry, jako je druh, kmen, pohlaví a věk, ideálně s využitím párových designů, aby se zlepšila robustnost a translační potenciál výsledků (Hånell & Marklund, 2014).

Pro plné pochopení chování zvířat je zásadní si uvědomit, že jejich pohled na svět se může od našeho drasticky lišit. Hlodavci vnímají své prostředí především pomocí svého vynikajícího čichového systému a vomero-nasálního orgánu a na rozdíl od člověka se nespolehají ve velké míře na zrak. Znalost smyslových propastí a podobností mezi lidmi a hlodavci může zlepšit výsledky a zlepšit welfare potkanů. Měli bychom s tím tedy počítat při pokusech o provádění translačních testů a translaci závěrů (Burn, 2008).

Standardizace protokolů behaviorálních testů ve výzkumu AD, jako je používání jednotných velikostí přístrojů a tréninkových protokolů v MWM, může zlepšit reprodukovatelnost a usnadnit interpretaci různých studií. Egan a spol. zjistili, že rozdílnost těchto parametrů v různých studiích komplikuje interpretaci výsledků. Tato zvýšená standardizace zvyšuje replikovatelnost experimentů, a tím zvyšuje důvěru v závěry a jejich potenciál pro klinický přenos (Egan et al., 2016).

Jedním z hlavních problémů, které ztěžují výzkum na zvířecích modelech onemocnění, je nedostatečná metodická konzistence, která může mít dopad na reprodukovatelnost, několik studií identifikovalo metodické a další problémy, které mohou ovlivnit reprodukovatelnost ve studiích na zvířatech (Crabbe et al., 1999).

Studie (MacLeod & Mohan, 2019) zdůrazňuje význam reprodukovatelnosti a důslednosti (reproducibility and rigor) ve výzkumu na zvířatech. Pojednává o strategiích pro zvýšení kvality výzkumu, jako je využívání předem registrovaných protokolů studií, otevřené publikování a zpřístupňování dat.

4. Závěr

V této práci byly shrnuty behaviorální testy kognitivních funkcí, které se dají využít jak u hlodavců, tak u lidských subjektů, což je důležité pro translační výzkum Alzheimerovy nemoci.

V rámci analýzy byly nejprve podrobně popsány testy prostorové paměti se zaměřením na MWM a jeho lidské ekvivalenty a byla zdůrazněna neurální podstata prostorové navigace u hlodavců i u lidí, protože zapojení stejných neurálních okruhů při testování jak u lidí tak u hlodavců je pro úspěšnou translaci mezi těmito dvěma skupinami klíčové.

Dále byly analyzovány testy jako RAM, DNMTS a 5-CSRTT. Zatímco RAM a DNMTS se zaměřují na hodnocení pracovní paměti, 5-CSRTT je navržen pro hodnocení pozornosti a reakční doby. Testy ID/ED shift se pak zaměřují na schopnost subjektů přizpůsobit se novým pravidlům a podmínkám. V závěru pak bylo zmíněno, že testování je možné provádět pomocí dotykových obrazovek.

Nakonec byly krátce diskutovány možné faktory, které mohou bránit translaci výsledků, jako je rozdíl v motivaci při testu prováděném u hlodavce a u člověka, rozdíly smyslovém vnímání hlodavců a lidí, nebo nedostatečná metodická konzistence.

Závěrem lze říci, že translační behaviorální testy kognitivních funkcí představují cenný nástroj pro výzkum Alzheimerovy nemoci, a jejich správné využití může přispět k lepšímu porozumění této závažné neurodegenerativní poruše a k vývoji efektivnějších terapeutických přístupů.

5. Seznam použité literatury

Abushakra, S., Hey, J., Blennow, K., Scheltens, P., Reiman, E.M., Hort, J., Sheardova, K., Rutgers, S.M., Prins, N.D., Dautzenberg, P., Pazdera, L., Power, A., & Tolar, M. (2022). Effects of Oral ALZ-801, an Amyloid Oligomer Inhibitor, on Plasma Biomarkers in APOE4 Carriers with Early Alzheimer's Disease: Results of Six-month Interim Analysis from a Phase 2 Biomarker Study. *Alzheimer's & Dementia* **18**.

Almkvist, O., & Backman, L. (1993). Progression in Alzheimer's disease: sequencing of neuropsychological decline. *International Journal of Geriatric Psychiatry* **8**.

Alzheimer, A. (1907). Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Zeitschr f Psychiatr. u Psych. Gerichtl Med* **64**.

Antonova, E., Parslow, D., Brammer, M., Simmons, A., Williams, S., Dawson, G.R., & Morris, R. (2011). Scopolamine disrupts hippocampal activity during allocentric spatial memory in humans: An fMRI study using a virtual reality analogue of the Morris Water Maze. *Journal of Psychopharmacology* **25**.

Astur, R.S., Taylor, L.B., Mamelak, A.N., Philpott, L., & Sutherland, R.J. (2002). Humans with hippocampus damage display severe spatial memory impairments in a virtual Morris water task. *Behavioural Brain Research*

Bateman, R.J., Xiong, C., Benzinger, T.L.S., et al. (2012). Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine* **367**.

*Beery, A.K., & Zucker, I. (2011). Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev* **35**.

*Beraldo, F.H., Palmer, D., Memar, S., et al. (2019). Mousebytes, an open-access high-throughput pipeline and database for rodent touchscreen-based cognitive assessment. *Elife* **8**.

Berg, E.A. (1948). A simple objective technique for measuring flexibility in thinking. *Journal of General Psychology* **39**.

Birrell, J.M., & Brown, V.J. (2000). Medial Frontal Cortex Mediates Perceptual Attentional Set Shifting in the Rat. *The Journal of Neuroscience*

Blackwell, A.D., Sahakian, B.J., Vesey, R., Semple, J.M., Robbins, T.W., & Hodges, J.R. (2004). Detecting dementia: Novel neuropsychological markers of preclinical Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* **17**.

*Burgess, N., Maguire, E.A., & O'keefe, J. (2002). The Human Hippocampus and Spatial and Episodic Memory. *Neuron*

*Burn, C.C. (2008). What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare. *Appl Anim Behav Sci* **112**.

Bussey, T.J., Saksida, L.M., & Murray, E.A. (2002). Perirhinal cortex resolves feature ambiguity in complex visual discriminations. *European Journal of Neuroscience*

Bussey, T.J., Holmes, A., Lyon, L., Mar, A.C., McAllister, K.A.L., Nithianantharajah, J., Oomen, C.A., & Saksida, L.M. (2012). New translational assays for preclinical modelling of cognition in schizophrenia: The touchscreen testing method for mice and rats. *Neuropharmacology* **62**.

Button, K.S., Ioannidis, J.P.A., Mokrysz, C., Nosek, B.A., Flint, J., Robinson, E.S.J., & Munafò, M.R. (2013). Power failure: Why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nat Rev Neurosci* **14**.

- Carli, M., Robbins, T.W., Evenden, J.L., & Everitt, B.J. (1983). Effect of Lesions to Ascending Noradrenergic Neurones on Performance of a 5-Choice Serial Reaction Task in Rats; Implications for Theories of Dorsal Noradrenergic Bundle Function Based on Selective Attention and Arousal. *Behavioural Brain Research*
- Cerman, J., Andel, R., Laczó, J., Vyhnalek, M., Nedelska, Z., Mokrisova, I., Sheardova, K., & Hort, J. (2018). Subjective Spatial Navigation Complaints – A Frequent Symptom Reported by Patients with Subjective Cognitive Decline, Mild Cognitive Impairment and Alzheimer’s Disease. *Curr Alzheimer Res* **15**.
- *Chesler, E.J., Wilson, S.G., Lariviere, W.R., Rodriguez-Zas, S.L., & Mogil, J.S. (2002). Influences of laboratory environment on behavior. *Nat Neurosci* **5**.
- *Cline, E.N., Bicca, M.A., Viola, K.L., & Klein, W.L. (2018). The Amyloid- β Oligomer Hypothesis: Beginning of the Third Decade. *Journal of Alzheimer’s Disease* **64**.
- Courtney, S.M., Petit, L., Maisog, J.M., Ungerleider, L.G., & Haxby, J. V. (1998). An area specialized for spatial working memory in human frontal cortex. *Science* **279**.
- *Crabbe, J.C., Wahlsten, D., & Dudek, B.C. (1999). Genetics of Mouse Behavior: Interactions with Laboratory Environment. *Science* **284**.
- Cushman, L.A., Stein, K., & Duffy, C.J. (2008). Detecting navigational deficits in cognitive aging and Alzheimer disease using virtual reality. *Neurology*
- Deipolyi, A.R., Rankin, K.P., Mucke, L., Miller, B.L., & Gorno-Tempini, M.L. (2007). Spatial cognition and the human navigation network in AD and MCI. *Neurology*
- Dekosky, S.T., & Scheff, S.W. (1990). Synapse Loss in Frontal Cortex Biopsies in Alzheimer’s Disease: Correlation with Cognitive Severity. *Ann Neurol*.
- Dickerson, B.C., Bakkour, A., Salat, D.H., et al. (2009). The cortical signature of Alzheimer’s disease: Regionally specific cortical thinning relates to symptom severity in very mild to mild AD dementia and is detectable in asymptomatic amyloid-positive individuals. *Cerebral Cortex* **19**.
- Downes, J.J., Roberts, A.C., Sahakian, B.J., Evenden, J.L., Morris, R.G., & Robbins, T.W. (1989). Impaired Extra-Dimensional Shift Performance in Medicated and Unmedicated Parkinson’s Disease: Evidence for a Specific Attentional Dysfunction. *Neuropsychologia*
- Dunnett, S.B. (1985). Comparative effects of cholinergic drugs and lesions of nucleus basalis or fimbria-fornix on delayed matching in rats. *Psychopharmacology*
- Dunnett, S.B., Rogers, D.C., & Jones, G.H. (1989). Effects of Nucleus Basalis Magnocellularis Lesions in Rats on Delayed Matching and Non-Matching to Position Tasks Disruption of Conditional Discrimination Learning But Not of Short-Term Memory. *European Journal Of Neuroscience* **1**.
- Duran-Aniotz, C., Moreno-Gonzalez, I., Gamez, N., Perez-Urrutia, N., Vegas-Gomez, L., Soto, C., & Morales, R. (2021). Amyloid pathology arrangements in Alzheimer’s disease brains modulate in vivo seeding capability. *Acta Neuropathol Commun* **9**.
- *Egan, K.J., Vesterinen, H.M., Beglopoulos, V., Sena, E.S., & Macleod, M.R. (2016). From a mouse: systematic analysis reveals limitations of experiments testing interventions in Alzheimer’s disease mouse models. *Evid Based Preclin Med* **3**.
- Engelmann, M., Ebner, K., Landgraf, R., & Wotjak, C.T. (2006). Effects of Morris water maze testing on the neuroendocrine stress response and intrahypothalamic release of vasopressin and oxytocin in the rat. *Horm Behav* **50**.
- Fischer, O. (1907). Miliare Nekrosen mit drüsigen Wucherungen der Neurofibrillen, eine regelmässige Veränderung der Hirnrinde bei seniler Demenz. *European Neurology* **22**.

- Fischer, O. (1910). Die presbyophrene Demenz, deren anatomische Grundlage und klinische Abgrenzung. *Neurologie Und Psychiatrie*
- Folstein, M.F., Folstein, S.E., & Mchugh, P.R. (1975). "Mini-Mental State" A Practical Method For Grading The Cognitive State of Patients for the Clinician. *J. Psychiat. Res*
- Fortea, J., Vilaplana, E., Carmona-Iragui, M., et al. (2020). Clinical and biomarker changes of Alzheimer's disease in adults with Down syndrome: a cross-sectional study. *The Lancet* **395**.
- Fowler, K.S., Saling, M.M., Conway, E.L., Semple, J.M., & Louis, W.J. (1997). Computerized neuropsychological tests in the early detection of dementia: Prospective findings. *Journal of the International Neuropsychological Society* **3**..
- Giuffrida, M.L., Caraci, F., Pignataro, B., Cataldo, S., De Bona, P., Bruno, V., Molinaro, G., Pappalardo, G., Messina, A., Palmigiano, A., Garozzo, D., Nicoletti, F., Rizzarelli, E., & Copani, A. (2009). β -Amyloid Monomers Are Neuroprotective. *The Journal of Neuroscience* **29**.
- *Goedert, M., Masuda-Suzukake, M., & Falcon, B. (2017). Like prions: The propagation of aggregated tau and α -synuclein in neurodegeneration. *Brain* **140**.
- *Hånell, A., & Marklund, N. (2014). Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research. *Front Behav Neurosci* **8**.
- *Hardy, J., & Allsop, D. (1991). Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* **12**.
- Hartshorne, J.K., & Germine, L.T. (2015). When Does Cognitive Functioning Peak? The Asynchronous Rise and Fall of Different Cognitive Abilities Across the Life Span. *Psychol Sci* **26**.
- Van Den Heuvel, C., Blumbergs, P.C., Finnie, J.W., Manavis, J., Jones, N.R., Reilly, P.L., & Pereira, R.A. (1999). Upregulation of Amyloid Precursor Protein Messenger RNA in Response to Traumatic Brain Injury: An Ovine Head Impact Model. *Experimental Neurology*
- Hort, J., Laczó, J., Vyhnálek, M., Bojar, M., Bureš, J., & Vlček, K. (2007). Spatial navigation deficit in amnesic mild cognitive impairment. *PNAS* **6**.
- Hort, J., Andel, R., Mokrisova, I., Gazova, I., Amlerova, J., Valis, M., Coulson, E.J., Harrison, J., Windisch, M., & Laczó, J. (2014). Effect of donepezil in alzheimer disease can be measured by a computerized human analog of the morris water maze. *Neurodegener Dis* **13**.
- Hsia, A.Y., Masliah, E., Mcconlogue, L., Tatsuno, G., Kholodenko, D., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., & Mucke, L. (1999). Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *PNAS*
- Huang, Y.P., Singh, A., Chen, S., Sun, F.J., Huang, C.R., & Liu, S.I. (2019). Validity of a Novel Touch Screen Tablet-Based Assessment for Mild Cognitive Impairment and Probable AD in Older Adults. *SAGE*
- Hurst, J.L., & West, R.S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nat Methods*
- Jansen, W.J., Ossenkoppele, R., Knol, D.L., et al. (2015). Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: A meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*
- Jones, D.N.C., & Higgins, G.A. (1995). Effect of scopolamine on visual attention in rats. *Psychopharmacology*
- Kalová, E., Vlček, K., Jarolímová, E., & Bureš, J. (2005). Allothetic orientation and sequential ordering of places is impaired in early stages of Alzheimer's disease: Corresponding results in real space tests and computer tests. *Behavioural Brain Research*
- Kontush, A., Berndt, C., Weber, W., Akopyan, V., Arlt, S., Schippling, S., & Beisiegel, U. (2000). Amyloid- β is an Antioxidant for Lipoproteins in Cerebrospinal Fluid and Plasma. *Free Radical Biology and Medicine*

- Kumar, S., Zomorodi, R., Ghazala, Z., Goodman, M.S., Blumberger, D.M., Cheam, A., Fischer, C., Daskalakis, Z.J., Mulsant, B.H., Pollock, B.G., & Rajji, T.K. (2017). Extent of dorsolateral prefrontal cortex plasticity and its association with working memory in patients with Alzheimer disease. *JAMA Psychiatry*
- Laczó, J., Markova, H., Lobellova, V., et al. (2017). Scopolamine disrupts place navigation in rats and humans: a translational validation of the Hidden Goal Task in the Morris water maze and a real maze for humans. *Psychopharmacology*
- Lambert, M.P., Barlow, A.K., Chromy, B.A., et al. (1998). Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A β 1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
- Lee, J.Y., Kho, S., Yoo, H. Bin, Park, S., Choi, J.S., Kwon, J.S., Cha, K.R., & Jung, H.Y. (2014). Spatial memory impairments in amnesic mild cognitive impairment in a virtual radial arm maze. *Neuropsychiatr Dis Treat*
- Leonard, J.A. (1959). Five choice serial reaction apparatus. *Med. Res. Coun. Appl. Psychol. Res.*
- Linn, R.T. (1995). The “Preclinical Phase” of Probable Alzheimer’s Disease. *Arch Neurol*
- Linse, S., Scheidt, T., Bernfur, K., et al. (2020). Kinetic fingerprints differentiate the mechanisms of action of anti-A β antibodies. *Nat Struct Mol Biol*
- *MacLeod, M., & Mohan, S. (2019). Reproducibility and Rigor in Animal-Based Research. *ILAR Journal*
- Maguire, E.A., Burgess, N., Donnett, J.G., Frackowiak, R.S.J., Frith, C.D., & O’Keefe, J. (1998). Knowing Where and Getting There: A Human Navigation Network. *Science*
- Maguire, E.A., Gadian, D.G., Johnsrude, I.S., Good, C.D., Ashburner, J., Frackowiak, R.S.J., & Frith, C.D. (2000). Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*
- Mcgaughy, J., Dalley, J.W., Morrison, C.H., Everitt, B.J., & Robbins, T.W. (2002). Selective Behavioral and Neurochemical Effects of Cholinergic Lesions Produced by Intrabasalis Infusions of 192 IgG-Saporin on Attentional Performance in a Five-Choice Serial Reaction Time Task. *The Journal of Neuroscience*
- McLean, S.L., Grayson, B., Harris, M., Protheroe, C., Bate, S., Woolley, M.L., & Neill, J.C. (2010). Isolation rearing impairs novel object recognition and attentional set shifting performance in female rats. *Journal of Psychopharmacology*
- Mcshane, R., Gedling, K., Keene, J., Fairburn, C., Jacoby, R., & Hope, T. (1998). Getting Lost in Dementia: A Longitudinal Study of a Behavioral Symptom. *International Psychogeriatrics*
- Meilandt, W.J., Cisse, M., Ho, K., Wu, T., Esposito, L.A., Scarce-Levie, K., Cheng, I.H., Yu, G.Q., & Mucke, L. (2009). Neprilysin overexpression inhibits plaque formation but fails to reduce pathogenic A β oligomers and associated cognitive deficits in human amyloid precursor protein transgenic mice. *Journal of Neuroscience*
- Mennenga, S.E., Baxter, L.C., Grunfeld, I.S., et al. (2014). Navigating to new frontiers in behavioral neuroscience: Traditional neuropsychological tests predict human performance on a rodent-inspired radial-arm maze. *Front Behav Neurosci*
- *Miller, G.A. (1956). The Magical Number Seven, Plus or Minus Two: Some Limits on our Capacity for Processing Information. *The Psychological Review*
- Monacelli, A.M., Cushman, L.A., Kavcic, V., & Duffy, C.J. (2003). Spatial disorientation in Alzheimer’s disease. *Neurology*
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*

- Morris, R.G.M. (1981). Spatial Localization Does Not Require the Presence of Local Cues. *Learning and Motivation*
- Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlins, J.N.P., & O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*
- Muir, J.L., Everitt, B.J., & Robbins, T.W. (1992). The Cerebral Cortex of the Rat and Visual Attentional Function: Dissociable Effects of Medial Frontal, Cingulate, Anterior Dorsolateral, and Parietal Cortex Lesions on a Five-Choice Serial Reaction Time Task. *Cerebral Cortex*
- Nedelska, Z., Andel, R., Laczó, J., Vlcek, K., Horinek, D., Lisy, J., Sheardova, K., Bureš, J., & Hort, J. (2012). Spatial navigation impairment is proportional to right hippocampal volume. *Proc Natl Acad Sci*
- Nithianantharajah, J., McKechnie, A.G., Stewart, T.J., Johnstone, M., Blackwood, D.H., St Clair, D., Grant, S.G.N., Bussey, T.J., & Saksida, L.M. (2015). Bridging the translational divide: Identical cognitive touchscreen testing in mice and humans carrying mutations in a disease-relevant homologous gene. *Sci Rep*
- Olton, D.S., & Samuelson, R.J. (1976). Remembrance of Places Passed: Spatial Memory in Rats. *Journal of Experimental Psychology*
- Onos, K.D., Uyar, A., Keezer, K.J., Jackson, H.M., Preuss, C., Acklin, C.J., O'Rourke, R., Buchanan, R., Cossette, T.L., Sukoff Rizzo, S.J., Soto, I., Carter, G.W., & Howell, G.R. (2019). Enhancing face validity of mouse models of Alzheimer's disease with natural genetic variation. *PLOS Genet*
- Ossenkoppele, R., Jansen, W.J., Rabinovici, G.D., et al. (2015). Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: a meta-analysis. *JAMA*
- Owen, A.M., Downes, J.J., Sahakian, B.J., Polkey, C.E., & Robbins, T.W. (1990). Planning and Spatial Working Memory Following Frontal Lobe Lesion In Man. *Neuropsychologia*
- Owen, A.M., James, M., Leigh, P.N., Summers, B.A., Marsden, C.D., Quinn, N.P., Lange, K.W., & Robbins, T.W. (1992). Frontal-Striatal Cognitive Deficits at Different stages of Parkinson's Disease. *Brain*
- Owen, A.M., Beksinska, M., James, M., Leigh, P.N., Summers, B.A., Marsden, C.D., Quinn, N.P., Sahakian, B.J., & Robbins, T.W. (1993). Visuospatial Memory Deficits At Different Stages of Parkinson's disease. *Neuropsychologia*
- Owen, A.M., Sahakian, B.J., Semple, J., Polkey, C.E., & Robbins, T.W. (1995). Visuo-Spatial Short-Term Recognition Memory and Learning after Temporal Lobe Excisions, Frontal Lobe Excisions or Amygdalo-Hippocampotomy in Man. *Neuropsychologia*
- *Owen, A.M., McMillan, K.M., Laird, A.R., & Bullmore, E. (2005). N-back working memory paradigm: A meta-analysis of normative functional neuroimaging studies. *Human Brain Mapping*
- Pai, M.C., & Jacobs, W.J. (2004). Topographical disorientation in community-residing patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*
- Pottier, C., Wallon, D., Lecrux, A.R., Maltete, D., Bombois, S., Jurici, S., Frebourg, T., Hannequin, D., & Campion, D. (2012). Amyloid- β Protein Precursor Gene Expression in Alzheimer's Disease and Other Conditions. *Journal of Alzheimer's Disease*
- ter Riet, G., Korevaar, D.A., Leenaars, M., Sterk, P.J., van Noorden, C.J.F., Bouter, L.M., Lutter, R., Elferink, R.P.O., & Hoof, L. (2012). Publication Bias in Laboratory Animal Research: A Survey on Magnitude, Drivers, Consequences and Potential Solutions. *PLoS One*
- Robbins, T.W., James, M., Owen, A.M., Sahakian, B.J., McInnes, L., & Rabbitt, P. (1994). Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB): A Factor Analytic Study of a Large Sample of Normal Elderly Volunteers. *Dementia*

- Robbins, T.W., Semple, J., Kumar, R., Truman, M.I., Shorter, J., Ferraro, A., Fox, B., McKay, G., & Matthews, K. (1997). Effects of scopolamine on delayed-matching-to-sample and paired associates tests of visual memory and learning in human subjects: comparison with diazepam and implications for dementia. *Psychopharmacology*
- Romberg, C., Mattson, M.P., Mughal, M.R., Bussey, T.J., & Saksida, L.M. (2011). Impaired attention in the 3xTgAD mouse model of Alzheimer's disease: Rescue by donepezil (Aricept). *Journal of Neuroscience*
- Sahakian, B.J., Morris, R.G., Evenden, J.L., Heald, A., Levy, R., Philpot, M., & Robbins, T.W. (1988). A Comparative Study of Visuospatial Memory and Learning in Alzheimer-Type Dementia and Parkinson's disease. *Brain*
- Sahakian, B.J., Downes, J.J., Eagger, S., Evenden, J.L., Levy, R., Philpot, M.P., Roberts, A.C., & Robbins, T.W. (1990). Sparing of Attentional Relative to Mnemonic Function in a Subgroup of Patients with Dementia of the Alzheimer Type. *Neuropsychologia*
- Sahakian, B.J., Owen, A.M., Morant, N.J., Eagger, S.A., Boddington, S., Crayton, L., Crockford, H.A., Crooks, M., Hill, K., & Levy, R. (1993). Further analysis of the cognitive effects of tetrahydroaminoacridine (THA) in Alzheimer's disease: assessment of attentional and mnemonic function using CANTAB. *Psychopharmacology*
- Sahgal, A., Sahakian, B.J., Robbins, T.W., Wray, C.J., Lloyd, S., Cook, J.H., McKeith, I.G., Disley, J.C., Eagger, S., Boddington, S., & Edwardson, J.A. (1991). Detection of Visual Memory and Learning Deficits in Alzheimer's Disease Using the Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery. *Dementia*
- Sahgal, A., Lloyd, S., Wray, C.J., Galloways, P.H., Robbins Barbara J Sahakian, T.W., McKeith, I.G., Disley, J.A., Edwardson, J.A., & Cook, J.H. (1992). Does Visuospatial Memory in Senile Dementia of the Alzheimer type Depend on the Severity of the Disorder? *International Journal of Geriatric Psychiatry*
- *Selkoe, D.J. (2001). Alzheimer's Disease: Genes, Proteins, and Therapy. *Physiol Rev*
- Simon, M., Wang, M.X., Ismail, O., et al. (2022). Loss of perivascular aquaporin-4 localization impairs lymphatic exchange and promotes amyloid β plaque formation in mice. *Alzheimers Res Ther*
- *Song, F., Parekh, S., Hooper, L., Loke, Y.K., Ryder, J., Sutton, A.J., Hing, C., Kwok, C.S., Pang, C., & Harvey, I. (2010). Dissemination and publication of research findings: An updated review of related biases. *Health Technol Assess*
- De Strooper, B., Saftig, P., Craessaerts, K., Vanderstichele, H., Guhde, G., Annaert, W., Figura, K. Von, & Leuven, F. Van (1998). Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature*
- *Sullivan, J.A., Dumont, J.R., Memar, S., Skirzewski, M., Wan, J., Mofrad, M.H., Ansari, H.Z., Li, Y., Muller, L., Prado, V.F., Prado, M.A.M., Saksida, L.M., & Bussey, T.J. (2021). New frontiers in translational research: Touchscreens, open science, and the mouse translational research accelerator platform. *Genes Brain Behav*
- Tachibana, M., Holm, M.L., Liu, C.C., et al. (2019). APOE4-mediated amyloid- β pathology depends on its neuronal receptor LRP1. *Journal of Clinical Investigation*
- Tanzi, R.E., Gusella, J.F., Watkins, P.C., Bruns, G.A.P., St George-Hyslop, P., Van Keuren, M.L., Patterson, D., Pagan, S., Kurnit, D.M., & Neve, R.L. (1987). Amyloid β Protein Gene: cDNA, mRNA Distribution, and Genetic Linkage Near the Alzheimer Locus. *Science*
- *Taube, J.S., Valerio, S., & Yoder, R.M. (2013). Is navigation in virtual reality with fMRI really navigation? *J Cogn Neurosci*
- Terry, R.D., Masliah, E., Salmon, D.P., Butters, N., DeTeresa, R., Hill, R., Hansen, L.A., & Katzman, R. (1991). Physical basis of cognitive alterations in alzheimer's disease: Synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol*

- *Tolar, M., Abushakra, S., & Sabbagh, M. (2020a). The path forward in Alzheimer's disease therapeutics: Reevaluating the amyloid cascade hypothesis. *Alzheimer's and Dementia*
- *Tolar, M., Abushakra, S., Hey, J.A., Porsteinsson, A., & Sabbagh, M. (2020b). Aducanumab, gantenerumab, BAN2401, and ALZ-801 - The first wave of amyloid-targeting drugs for Alzheimer's disease with potential for near term approval. *Alzheimers Res Ther*
- Tsoy, E., Possin, K.L., Thompson, N., Patel, K., Garrigues, S.K., Maravilla, I., Erhoff, S.J., & Ritchie, C.S. (2020). Self-Administered Cognitive Testing by Older Adults At-Risk for Cognitive Decline. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*
- Tu, S., Wong, S., Hodges, J.R., Irish, M., Piguet, O., & Hornberger, M. (2015). Lost in spatial translation - A novel tool to objectively assess spatial disorientation in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Cortex*
- Walsh, D.M., Klyubin, I., Fadeeva, J. V, Cullen, W.K., Anwyl, R., Wolfe, M.S., Rowan, M.J., & Selkoe, D.J. (2002). Naturally secreted oligomers of amyloid b protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*
- Wilkinson, R.T. (1963). Interaction of Noise with Knowledge of Results and Sleep Deprivation. *Journal of Experimental Psychology*
- *Wong, P.C., Cai, H., Borchelt, D.R., & Price, D.L. (2002). Genetically engineered mouse models of neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci*
- Yew, B., Alladi, S., Shailaja, M., Hodges, J.R., & Hornberger, M. (2013). Lost and forgotten? Orientation versus memory in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Journal of Alzheimer's Disease*
- Yoon, T., Okada, J., Jung, M.W., & Kim, J.J. (2008). Prefrontal cortex and hippocampus subserve different components of working memory in rats. *Learning and Memory*