

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Petra Chumová

Vliv stresu v rané ontogenezi na behaviorální charakteristiky hlodavců

The effect of stress in early ontogeny on behavioural characteristics of rodents

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Eva Landová, Ph.D.

Konzultanti: doc. RNDr. Daniel Frynta, Ph.D., Mgr. Barbora Žampachová

Praha, 2019

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, dne 8.5. 2019

Petra Chumová

Podpis:

Poděkování

Děkuji své školitelce RNDr. Evě Landové, Ph.D. za trpělivost, ochotu a věcné připomínky, které mi poskytla během psaní této práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině a všem přátelům, kteří mi byli po celou dobu mého dosavadního studia nedocenitelnou oporou.

Abstrakt

Stres a senzorická stimulace v rané postnatální ontogenezi představují proměnné, jejichž působení se může významně uplatňovat při vývoji neuroendokrinní soustavy hlodavců a prostřednictvím toho při formování behaviorálního fenotypu v dospělosti. Variabilita a podnětnost prostředí působí především skrze mateřskou péči. Její míra a kvalita ovlivňuje funkci HPA osy a hormonální nastavení mláďat v průběhu tzv. hyporesponzivní periody, během níž jsou potomci za standardních podmínek výrazně odolnější vůči působení stresorů. Tento mechanismus umožňuje optimální vývoj oblastí mozku – hipokampu, amygdaly a prefrontálního kortexu, které hrají klíčovou roli při utváření chování v dospělosti. Absence mateřské péče během prvních tří týdnů života a sociálního kontaktu v období odstavu představuje u hlodavců jeden z největších stresorů rané ontogeneze. Zatímco handling (krátkodobé odloučení od matky) působí na vývoj emocionality a kognitivních schopností převážně pozitivně, protražovaná a opakovaná maternální separace či předčasný odstav způsobují skrze absenci mateřské péče změny v reaktivitě na stres a dlouhodobé zhoršení v řadě behaviorálních znacích. Tato práce je zaměřena na shrnutí neuroendokrinních a behaviorálních důsledků stresu a senzorické stimulace v rané ontogenezi s důrazem na roli mateřské péče u altriciálních i prekociálních hlodavců.

Klíčová slova: stres, mateřská péče, raná ontogeneze, hlodavci, maternální separace, senzorická stimulace, behaviorální změny

Abstract

Postnatal stress and sensory stimulation are major factors causing the acute changes in development of neuroendocrine system that can influence the expression of behavioural phenotype in adult rodents. Variability of early life environment and stress affect the development of individual through the changes of maternal care. The amount and quality of maternal care influence the function of HPA axis and stress hormone levels in pups during the hyporesponsive period, which provides them lesser vulnerability against the potential impact of stressors. This mechanism is crucial for physiological development of hippocampus, amygdale and prefrontal cortex, the brain regions that are highly important for regulation of adult behaviour.

The absence of maternal care and social contact in postnatal and early weaning ontogeny are possibly the biggest stressors in rodents. While neonatal handling (brief maternal separation) has mainly positive effects on the development of emotional and cognitive abilities, prolonged and repeated maternal separation and early weaning result in stress-response alterations and long-lasting impairments in many behavioural traits mediated by the lack of maternal care. This thesis summarizes current knowledge of endocrinological and behavioural consequences of early postnatal stress and sensory stimulation, concentrating on the role of maternal care in altricial and precocial rodents.

Key words: stress, maternal care, early ontogeny, rodents, maternal separation, sensory stimulation, behavioural changes

Obsah

Úvod	1
1. Stres, působení HPA osy a základní rozdělení stresových hormonů	2
1.1. Obecný úvod do stresu	2
1.2. Funkce HPA a SAM osy při stresové odpovědi	2
1.3. Charakteristika nejdůležitějších stresových hormonů a jejich receptorů	4
2. Raná ontogeneze a senzitivní období pro formativní účinky stresu	5
2.1. Hyporesponzivní perioda	5
2.2. Odstav a období adolescence	6
3. Klíčové oblasti mozku zodpovědné za změny behaviorálního fenotypu	8
4. Rozdělení stresu s příklady stresových událostí rané ontogeneze u hlodavců a jejich okamžitého působení na vývoj neuroendokrinního systému	9
4.1. Eustress – environmentální enrichment a handling	9
4.2. Distress – maternální separace, předčasný odstav a sociální stres	11
5. Mateřská péče a její role v rané ontogenezi hlodavců	14
5.1. Mechanismus přenosu mateřského chování do dalších generací	15
5.2. Vliv sensorické stimulace a stresu v postnatální ontogenezi na kvalitu mateřské péče	16
6. Behaviorální důsledky působení sensorické stimulace a stresu v rané ontogenezi	17
6.1. Vliv na explorační chování a anxieta	18
6.2. Vliv na sociální chování	20
6.3. Vliv na kognitivní schopnosti	21
7. Rozdíly v působení stresu v rané ontogenezi altriciálních a prekociálních druhů hlodavců	22
Závěr	24
Použitá literatura	26

Úvod

Vývoj neuroendokrinního systému a chování (behaviorálních, kognitivních a emocionálních charakteristik) hlodavců je proces, který je ovlivňován nejen vrozenými předpoklady jedince, ale i významnějšími změnami vnějšího prostředí, v němž mláďata vyrůstají. Raná ontogeneze je v této práci chápána jako období od narození po periodu bezprostředně navazující na odstav. Stres a variabilita v mateřské péči představují právě v tomto období jedny z nejdůležitějších proměnných, jejichž působení může genetické predispozice jedince „přemazat“ a změnit tak jeho fyziologii i chování v dospělosti. Cílem této práce je proto shrnout, na jaké aspekty behaviorálního fenotypu stres a variabilita v maternální péči a vnějším prostředí během rané ontogeneze působí a popsat některé důležité proximální mechanismy.

V první kapitole této práce představuji obecný úvod do problematiky stresu, průběh stresové odpovědi organismu a nejdůležitější komponenty účastnící se stresové reakce, neboť právě tyto základní principy jsou stěžejním předpokladem pro orientaci ve zbylých částech textu.

Postnatální stres, který podstatně ovlivňuje vývoj neuroendokrinního systému a chování v dospělosti lze v zásadě rozdělit do dvou kategorií. Mírný stres, v daném kontextu známý pod pojmem senzorická stimulace, je všeobecně považován za pozitivně působící událost vedoucí k celkovému zlepšení individuálních schopností, zatímco intenzivnější a protrahovaný stres má na organismus prokazatelně negativní účinky (shrnuto v Lukavská, 2016, Nishi *et al.*, 2012).

Načasování působení stresové události v rámci rané ontogeneze je klíčové, neboť toto období není uniformní a zahrnuje nejméně dvě významné senzitivní periody. První z nich je tzv. hyporesponzivní perioda (viz kapitola 2.1. této práce), během níž je za standardních podmínek vlivem mateřské péče utlumena senzitivita mláďete vůči stresu. Druhou z nich je odstav od matky, výrazně podnětná událost, během níž dochází k postupnému osamostatnění mláďete a celkové změně jeho vztahu s matkou. Období následující bezprostředně po odstavu je v případě sociálních druhů kritické pro interagování s ostatními členy chovné skupiny a začlenění do hierarchie (viz kapitola 2.2. této práce).

Jedním z nejznámějších způsobů modulace postnatální ontogeneze hlodavců, který podstatně ovlivňuje chování v dospělosti, je vystavení separaci od matky, a tedy změně obdržené mateřské péče, která v tomto období hraje kritickou roli ve vývoji mláďat. Způsoby separování mláďete od matky mohou mít mnoho podob v závislosti na výše zmíněném načasování, délce trvání či počtu opakování, a právě kombinace těchto aspektů se významně podílí na tom, zdali bude fyziologický a behaviorální vývoj jedince ovlivněn negativně či pozitivně (Nishi *et al.*, 2012, viz kapitoly 4 a 6 této práce).

Veškeré faktory uplatňující se při vývoji určitého behaviorálního fenotypu hlodavců se navozují různými experimentálními designy a jejich výsledný efekt se může lišit v závislosti na druhu modelových organismů, načasování v rámci ontogeneze a proximálních mechanismech, které se mohou či nemusí u různých druhů shodovat. V této práci se tedy pokusím shrnout obecné poznatky

dosavadních studií prováděných u modelových druhů hlodavců, především potkanovi a myši, a najít souvislosti mezi různými typy rané postnatální zkušenosti a jejich rolí při vývoji chování v dospělosti.

Hlavní cíle této práce jsou:

- 1) charakterizovat jednotlivá období rané postnatální ontogeneze;
- 2) sumarizovat nejběžnější formy maternální separace u hlodavců a popsat proximální mechanismy vedoucí k okamžitým neuroendokrinním změnám;
- 3) popsat úlohu mateřské péče v ontogenezi mláďat;
- 4) charakterizovat důsledky rané sensorické stimulace a stresu na chování s konkrétními příklady u vybraných druhů hlodavců;
- 5) porovnat vliv stresu v rané ontogenezi u altriciálních a prekociálních druhů hlodavců.

1. Stres, působení HPA osy a základní rozdělení stresových hormonů

1.1. Obecný úvod do stresu

Stres je fyziologická nespecifická reakce organismu na vnější či vnitřní podněty, jejíž hlavní funkcí je návrat vnitřního prostředí organismu zpět do rovnováhy (tzv. homeostáze), která byla v důsledku působení těchto podnětů narušena.

Stresory tj. stimuly, jejichž působení vede právě k narušení homeostáze, lze klasifikovat podle jejich zdroje na vnější a vnitřní či podle způsobu jejich působení na fyzické a psychické

. Fyzický stres, mezi jehož typické příklady patří např. bolest, hlad, působení extrémních teplot a atmosférického tlaku, abnormálně silný zvuk, je často vnějšího charakteru a jeho testování poskytuje poměrně objektivní a snáze měřitelné výsledky, zatímco psychický stres je mnohem obtížněji uchopitelný z důvodu subjektivnosti vnímání a následné interpretace.

Základní tři proměnné, které je nutné při posuzování stresu a rozsahu (délky, síly) stresové odpovědi zohlednit, jsou míra kontroly, predikovatelnost a intenzita stresu. Nesmírně důležitým aspektem hrajícím roli v míře stresové odpovědi je i předchozí zkušenost jedince.

Fyziologické a behaviorální strategie, pomocí nichž se jedinci vyrovnávají se stresem, se nazývají *coping styles* a jsou charakteristické pro určitou skupinu jedinců či konkrétní osobní typy (Koolhaas *et al.*, 1999).

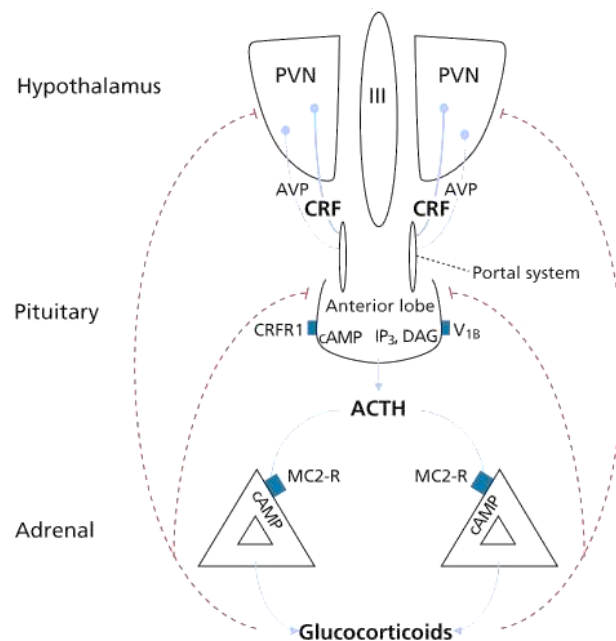
1.2. Funkce HPA a SAM osy při stresové odpovědi

To, jakou fyziologickou i behaviorální reakci konkrétní stresor v těle vyvolá, je závislé zejména na jeho percepci a následné exekuci v mozku jedince, vždy však dochází k aktivaci jednoho ze dvou základních fyziologických mechanismů, které jsou zodpovědné za spuštění stresové odpovědi – HPA osy či SAM osy.

HPA osa (hypothalamic-pituitary-adrenal axis) je neuroendokrinní komplex, který je založen na interakcích mezi třemi částmi – hypotalamem, hypofýzou a nadledvinami, a k jehož aktivaci dochází zejména při vystavení nekontrolovanému stresu. HPA osa je mimo jiné regulována hipokampem, amygdalou a prefrontálním kortexem, tedy částmi mozku, se kterými je v úzkém kontaktu a které jsou zodpovědné za řadu kognitivních úloh (Jacobson & Sapolsky, 1991). Výstup z těchto oblastí směřující do oblasti paraventriculárního jádra hypotalamu je klíčový pro její aktivaci. Naproti tomu SAM osa (sympathetic-adrenal-medullary axis) je systémem, v rámci něhož dochází ke komunikaci mezi autonomním nervovým systémem a dřením nadledvin a který je zodpovědný zejména za regulaci stresové odpovědi při stresu kontrolovaném (Mason, 1968).

Kaskáda HPA (hypotalamo-pituitárně-adrenální) osy:

V oblasti paraventriculárního jádra hypotalamu dochází k produkci a uvolnění arginin vasopresinu (AVP) a **kortikoliberinu** (CRH, corticotropin-releasing hormone), peptidického hormonu, který je následně krevním řečištěm transportován do anteriorního laloku hypofýzy, kde v kooperaci s vasopresinem stimuluje zvýšení sekrece **adrenokortikotropního hormonu** (ACTH, adrenocorticotropic hormone). ACTH je krví transportován do kůry nadledvin, kde významně stimuluje produkci glukokortikoidů (kortizol, kortikosteron). Glukokortikoidy jsou poté uvolněny do krve, putují do mozku a vážou se na glukokortikoidní receptory, čímž při vysokých koncentracích zpětnovazebně regulují aktivitu HPA osy prostřednictvím inhibice tvorby kortikoliberinu a vasopresinu v hypotalamu (Heuser & Lammers, 2003; Smith & Vale, 2006)



Obr. 1: Schéma fungování HPA osy (převzato ze Smith a Vale, 2006)

Kaskáda SAM (sympato-adreno-medulární) osy:

V hypotalamu dochází k aktivaci sympatiku, autonomního nervového systému, který následně nervově ovlivňuje produkci **katecholaminů** (adrenalin, noradrenalin) v dřením nadledvin. Katecholaminy poté působí systémovou odpověď v podobě zvýšení tepové frekvence, zvýšení

krevního tlaku či metabolických změn za účelem zvýšení dostupnosti energie (shrnutí v Mason, 1968).

Z popisu obou systémů je lze vyvodit, že obě osy se mimo zúčastněných anatomických částí a hormonů liší zejména rychlostí odezvy – stresová odpověď zprostředkovaná SAM osou je řízena především neurálním vedením, proto je její nástup a průběh výrazně rychlejší než při odpovědi zprostředkované HPA osou, jejíž odezva je pomalejší, zároveň má ale dlouhodobější efekt.

To, jakým ze systémů bude stresová odpověď realizována, závisí nejen na typu stresu, ale i konkrétním osobním typu a životní strategii jedince.

1.3. Charakteristika nejdůležitějších stresových hormonů a jejich receptorů

Jelikož se moje práce zabývá především důsledky stresové odpovědi řízené HPA osou, budu se v této kapitole věnovat krátkému rozdělení a charakteristice hormonů, které jsou součástí kaskády HPA systému a jejichž nestandardní působení během rané ontogeneze může způsobit abnormální vývoj mozku a ovlivnit chování jedince v dospělosti.

Mezi peptidické hormony produkované v paraventriculárním jádře hypotalamu patří **kortikoliberin (CRH)** a **arginin vazopresin (AVP)**.

CRH je neurotransmitter, který se vyskytuje v hojné koncentraci především v hypotalamu a limbickém systému a mezi jehož funkce patří kromě stimulace sekrece ACTH i stimulace sekrece katecholaminů prostřednictvím aktivace sympatiku. Díky vlivu na limbický systém, konkrétně na hipokampus a amygdalu, se jedná o významný mediátor úzkostlivého chování, paměti a učení.

Receptory kortikoliberinu (CRHR) jsou dvojího typu a jsou lokalizovány v hypofýze, amygdale, mediálním prefrontálním kortexu (pouze CRHR-1) a pyramidálních buňkách oblasti CA1 a CA3 hipokampu (Jaferi & Bhatnagar, 2007).

Syntéza AVP probíhá v paraventriculárním a suprachiasmatickém jádře hypotalamu a jeho hlavní funkcí je stimulace sekrece ACTH prostřednictvím aktivace fosfolipázy C a protein kinázy C. Bylo experimentálně ověřeno, že na spuštění sekrece ACTH se podílejí oba neuropeptidy současně (Livesey *et al.*, 2000).

Adrenokortikotropní hormon (ACTH) je polypeptidický mediátor produkovaný anteriorním lalokem hypofýzy, který stimuluje sekreci glukokortikoidů prostřednictvím navázáním na ACTH receptory v kůře nadledvin.

Adrenální steroidní hormony jsou produkované v kůře nadledvin a lze je dále rozdělit na mineralkortikoidy a glukokortikoidy. Mezi nejvýznamnější **glukokortikoidy** jakožto mediátory uvolňované v posledním kroku kaskády HPA osy patří kortizol a kortikosteron. Oba typy glukokortikoidů se obvykle vyskytují v organismu současně a interagují spolu navzájem i s různými oblastmi mozku, funkce hlavního stresového mediátoru je však druhově závislá. Je všeobecně známo,

že kortizol je hlavním stresovým hormonem u člověka a z hlodavců např. u morčat, zatímco kortikosteron je typický pro ptáky, plazy, obojživelníky i pro většinu hlodavců, zejména pak potkany a myši.

Glukokortikoidy v mozku interagují se systémem dvou typů receptorů – glukokortikoidní (GR) a mineralkortikoidní (MR). Rozmístění a poměr receptorů je též druhově specifické, proto je vždy potřeba tento fakt zohlednit. U potkanů jsou MR lokalizovány převážně v oblasti CA1a v oblasti *gyrus dentatus* hipokampu, laterálním septu a hypotalamu. Rozšíření GR je širší – kromě oblasti hipokampu se vyskytují v oblasti centrální amygdaly, *nucleus tractus solitarii*, paraventriculárního jádra hypotalamu a anteriorní hypofýzy (Reul & Kloet, 1985; McEwen, 2008).

Glukokortikoidní receptory (GR) mají výrazně nižší afinitu ke glukokortikoidům než receptory mineralkortikoidní, které bývají satureovány již při bazálních a mírně zvýšených hladinách. Tento fakt je velmi důležitý, neboť z něj vyplývá, že při signifikantním zvýšení koncentrace glukokortikoidů během významnější stresové události dochází k jejich interakci zejména s GR a je tedy zřejmé, že konkrétní účinky silného stresu jsou zprostředkovány pomocí GR (Sorrel & Sapolsky, 2006).

2. Raná ontogeneze a senzitivní období pro formativní účinky stresu

Jako senzitivní perioda je chápáno časově limitované období ontogeneze, během něhož má jakékoli působení na mozek výrazně silnější účinek než v období jiném. Speciální podmnožinou jsou potom tzv. kritické periody, během kterých je-li organismus vystaven působení stresu, dochází k permanentním vývojovým změnám (Knudsen, 2004). Přestože se načasování jednotlivých období napříč živočišnými druhy liší, je obecně srovnatelné, že nejkritičtější procesy neurogeneze (proliferace, diferenciacce, migrace, apoptóza, tvorba synapsí a myelinizace) probíhají v době od embryonálního vývoje po adolescenci (Rice & Barone, 2000). Následující rozdělení senzitivních období jsem vytvořila na základě poznatků ze studií prováděných u nejběžnějších modelových druhů hlodavců – potkanovi a myši (viz obr. 2). Je však potřeba mít na paměti, že tento vzor nelze kvůli různé pokročilosti vývoje mláďete po narození aplikovat na všechny druhy hlodavců. Možné rozdíly působení stresu u altriciálních a prekociálních druhů hlodavců se pokusím nastínit v kapitole 7 této práce.

2.1. Hyporesponzivní perioda

Prvním z významných období rané postnatální ontogeneze je tzv. hyporesponzivní perioda (stress hyporesponsive period, SHRP), která trvá v případě myši po dobu 2.-12. dne od narození a v případě potkanů po dobu 4.-14. dne od narození (Nishi *et al.*, 2012) a pro jejíž navození a následné optimální působení je rozhodující přítomnost matky.

Hyporesponzivní perioda je kritickou periodou v raném vývoji mláďat (Knudsen, 2004). Během prvních dnů po narození dochází k výraznému snížení a následnému udržování nízké hladiny stresových hormonů (zejména kortikosteronu), k utlumení aktivity HPA osy, snížení citlivosti adrenální kůry vůči ACTH a k urychlení návratu glukokortikoidů do bazálních hladin v případě jejich uvolnění (Levine, 1994; 2001). Veškeré tyto aspekty vedou ke zvýšení odolnosti mláďat vůči stresu v tomto období, což je klíčovým atributem pro zajištění optimálního vývoje CNS, které dosahuje v případě hipokampu vrcholu kolem šestého postnatálního dne (Huot *et al.*, 2002). Přímé působení vysokých hladin glukokortikoidů způsobuje snížení větvenosti dendritů, změny v terminálních strukturách synapsí, ztrátu neuronů či omezení jejich regenerativní schopnosti zejména v oblasti hipokampu (Smith & Vale, 2006).

Jak již bylo řečeno, přítomnost matky a její péče hraje klíčovou roli pro fyziologický průběh hyporesponzivní periody, přičemž se předpokládá, že různé složky mateřského chování působí samostatně na různých úrovních – kojení zodpovídá za snížení hladiny ACTH, taktilní stimulace (péče o srst, anogenitální olizování) reguluje aktivitu ACTH-releasing faktorů, zatímco pasivní přítomnost matky ovlivňuje míru stresové odpovědi vůči novým situacím (Levine, 2001; Fish *et al.*, 2004). Přestože lze do jisté míry vyčlenit oblasti působení jednotlivých komponent, je zřejmé, že na celkové regulaci aktivity HPA osy a hladiny glukokortikoidů se podílí společně. Tuto skutečnost potvrzuje např. experiment, během něhož byly samici potkana odstraněny mléčné bradavky, nebyla tedy schopná kojení, ale zůstala v kontaktu s mláďaty. V tomto případě došlo k potlačení aktivity HPA osy pouze částečně (Cirulli, 1992).

Působení dlouhotrvající maternální separace může naopak vyústit k narušení SHRP, navození hyperaktivity HPA osy a vystavení mozku vysokým hladinám stresových hormonů, v důsledku čehož dochází ke změnám v jeho vývoji, které se mohou v dospělosti manifestovat prostřednictvím behaviorálních změn (viz kapitola 6 této práce).

2.2. Odstav a období adolescence

Druhou z významných period rané ontogeneze je *odstav* (weaning), jehož přesná definice zůstává předmětem diskuzí. V užším slova smyslu pojem „odstav“ představuje období, během kterého u mláďate dochází k postupnému přechodu z výživy mateřským mlékem na pevnou stravu, zatímco v širším pojetí je možné odstav chápat jako soubor ireverzibilních nutričních, behaviorálních, morfologických i fyziologických změn, které postupně vedou k úplné nezávislosti mláďate na matce (Martin, 1984).

V přirozených podmínkách je nutné nahlížet na odstav jako na déletrvající proces, během něhož dochází ke strmému, avšak kontinuálnímu snížení míry rodičovských investic do výživy mláďate a péče o něj. Důkazem toho, že odstav nelze omezit pouze do jednoho konkrétního dne, je například to, že příjem solidní potravy a sání mateřského mléka se v určitém období překrývají – ve chvíli, kdy

se mláďata poprvé učí přijímat tuhou stravu, jsou stále závislá na mateřském mléce jakožto hlavním zdroji živin, zatímco ve chvíli, kdy je již mládě zcela nezávislé, může přetrvávat potřeba občasného sání mateřského mléka, obvykle za jiným účelem než nutričním (Martin, 1984; Pfister *et al.*, 1986).

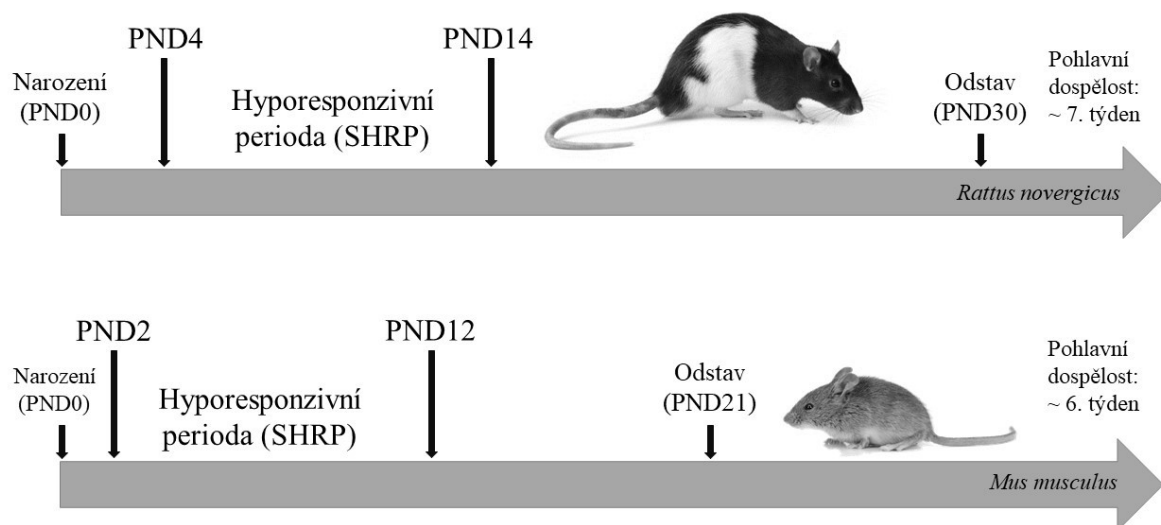
V případě potkanů je PND13 obvykle považován za den, od kterého je mládě schopno přijímat tuhou stravu, samovolně se pohybovat po ubikaci a udržovat si stálou tělesnou teplotu po opuštění hnízda (Plaut & Davis, 1972), zároveň také dochází k ukončení hyporesponzivní periody, díky čemuž dochází k obnově senzitivity mláděte vůči stresorům.

Odstav představuje velmi podnětné období, během něhož dochází k rozvoji explorativního chování a sociálních interakcí a získání pozice v hierarchii skupiny (v případě sociálních druhů) a ke změně vztahu mláděte s matkou. Bylo experimentálně potvrzeno, že během období odstavu dochází k výraznému snížení pečujícího chování a zároveň ke zvýšení ostatních prvků chování v kontaktu matky s mláďaty (Curley *et al.*, 1986).

V laboratorních podmínkách bývá odstav vymezen odebráním mláďat od matky v jeden určitý den, jehož optimum je závislé na konkrétním druhu hlodavců i kondici vrhu. Samotné načasování oddělení mláďat od matky je klíčové, neboť příliš brzký odstav (tzv. early weaning) představuje během této senzitivní periody poměrně významnou stresovou událost, která má za následek dlouhotrvající fyziologické i behaviorální změny (viz. kapitola 4 a 6 této práce).

Období následující po odstavu (post-weaning period) je další ze senzitivních period, během níž vykazují adolescentní mláďata zvýšenou citlivost vůči stresu. První dva týdny následující po odstavu od matky představují u sociálních hlodavců kritické období, během něhož dochází k četným interakcím, nácviu agresivního chování prostřednictvím hry mezi sourozenci a celkovému ustálení sociální organizace skupiny. Vystavení sociální izolaci v tomto období má proto na vývoj prokazatelně negativní vliv a významně mění budoucí motivaci mláděte k sociálním aktivitám (Eimon & Morgan, 1977, Hol *et al.*, 1999).

Vystavení stresovým událostem během těchto období vede u hlodavců k okamžitým i dlouhodobým vývojovým změnám, přičemž prioritou mláďat k jednotlivým typům kontaktu se během období rané ontogeneze mění. Zatímco v průběhu hyporesponzivní periody a odstavu je pro mládě klíčový kontakt s matkou, v období následujícím po odstavu je u sociálních druhů hlodavců rozhodující možnost interakce s ostatními členy chovné skupiny. Tato skutečnost je velmi důležitá pro pochopení vlivu jednotlivých forem maternální separace a izolace, kterými se budu podrobněji zabývat v kapitole 4 této práce.



Obr. 2: Jedno z možných pojetí časových os rané ontogeneze o u potkana (*Rattus norvegicus*) a myši (*Mus musculus*); vytvořeno na základě informací z Nishi *et al.*, 2012

3. Klíčové oblasti mozku zodpovědné za změny behaviorálního fenotypu

Stres patří k jedné z důležitých proměnných, jejíž působení může v rané ontogenezi dramaticky ovlivnit vývoj mozku, a tedy i chování, které je danými oblastmi regulováno. Je všeobecně známo, že u savců jsou za modulaci kognice a emocionality zodpovědné zejména vyšší centra korových oblastí a limbický systém.

Limbický systém je evolučně původní oblast oddělující bazální oblasti mozku od neokortexu. V kontextu problematiky stresu v rané ontogenezi hlodavců jsou nejcitlivějšími a nejformovatelnějšími oblastmi limbického systému zejména hipokampus a bazolaterální amygdala. Tyto oblasti jsou v těsném kontaktu s jednotlivými komponenty HPA osy (zejména hypotalamem, který je lokalizován v centru limbického systému) a podílejí se tak na její regulaci, a tedy i průběhu stresové odpovědi (Smith & Vale, 2006). Jejich nejvýznamnější funkcí na úrovni chování je regulace emocí, motivace a řady vegetativních funkcí. Bazolaterální část amygdaly je zodpovědná zejména za projevy strachu, úzkostlivého chování a agrese (LeDoux, 2003). Hipokampus reguluje učení, ukládání do dlouhodobé paměti a prostorově orientované chování (Eichenbaum, 1996; Olton *et al.*, 1979).

Prefrontální kortex je část koncového mozku, konkrétně neokortexu, která je u člověka zodpovědná za regulaci vyšších kognitivních funkcí jako je např. rozhodování, plánování, pracovní paměť, sebekontrola či abstraktní a kreativní myšlení. Prefrontální kortex představuje, na rozdíl od výše zmíněného limbického systému, evolučně novou strukturu, jeho anatomické i funkční vymezení může být proto napříč jednotlivými taxony poměrně obtížné (Brown & Bowman, 2002). Tyto

nesoulady v jeho definici pak často vedou k nekonzistenci výsledků a komplikují porovnání dat a jejich následnou interpretaci. Zatímco u člověka jsou kognitivní schopnosti asociovány s granulárními vrstvami laterálního prefrontálního kortexu, v případě hlodavců je většina studií spojuje s jeho mediální oblastí (Laubach *et al.*, 2018). I přes tyto rozdíly je pojem prefrontální kortex v kontextu nervového systému hlodavců hojně používán (Dalley *et al.*, 2004).

V následujících kapitolách, v nichž se podrobněji věnuji rozdělení postnatálního stresu a jeho neuroendokrinním a behaviorálním důsledkům, se zaměřuji především na ovlivnění výše zmíněných oblastí, je však potřeba brát v potaz, že pokud v případě prefrontálního kortexu jednotlivé studie nedefinují jeho přesnou anatomickou lokaci, může se jejich pojetí, a tedy i následné výsledky do jisté míry lišit.

4. Rozdělení stresu s příklady typických stresových událostí rané ontogeneze u hlodavců a jejich okamžitého působení na ontogenezi neuroendokrinního systému

Stres může být posuzován a následně rozdělen na základě mnoha různých atributů jako je např. délka trvání, intenzita, predikovatelnost, míra ohrožení života či vliv jeho působení na duševní i fyzický stav jedince.

Velmi často používané je rozdělení stresu podle délky jeho trvání na *akutní* a *chronický*, je ovšem nutné mít na paměti, že toto rozdělení není absolutní a chápání a vysvětlení těchto termínů napříč různými studiemi se může lišit. Bylo zjištěno, že akutní stres způsobuje tvorbu výběžků na synapsích v hipokampální oblasti CA1 a oblasti amygdaly. Chronický stres vyvolává zkrácení, zjednodušení a reorganizaci dendritů v hipokampální oblasti CA3 a prefrontálním kortexu, v amygdale však způsobuje jejich prodlužování. Chronický stres je také zodpovědný za zmenšení objemu hipokampálního neuropilu (McEwen, 2008).

Abych mohla charakterizovat jednotlivé separační modely a v následujících kapitolách pak popsat důsledky jejich vlivu na chování zvířete během adolescence a dospělosti, dovolila jsem si využít rozdělení stresu podle jeho vlivu, které poprvé použil Hans Selye r. 1976, na eustress (environmentální enrichment, handling) a distress (maternální separace, předčasný odstav, sociální izolace). Jednotlivé separační modely jsem přiřadila k příslušným typům stresu na základě korelace behaviorálních a neuroendokrinních důsledků jejich působení s obecně známými účinky eustressu a distressu.

4.1. Eustress – environmentalní enrichment a handling

Eustress je typ stresu, který na organismus působí pozitivně, zvyšuje jeho možnosti, stimuluje výkon jedince a vede k rozšíření schopností vyrovnávat se s nadcházejícími stresovými událostmi. Nejjednodušším příkladem eustressu, který je často pouze necílenou a nevyhnutelnou součástí

laboratorního chovu, je standardní údržba chovného zařízení (standard facility rearing), která zahrnuje výměnu podestýlky a manipulaci s jedinci či vybavením v rámci čištění ubikace.

Environmentální enrichment je dalším z typických příkladů pozitivní stimulace, která má především u juvenilních jedinců významný vliv na vývoj mozku a chování. Jedná se o vytvoření podnětného prostředí prostřednictvím rozšíření potravního repertoáru, zvětšení ubikace a jejího obohacení o nejrůznější předměty (tunely, úkryty, žebříky, běhací kolečka atd.), povrchy a materiály, díky němuž dochází k celkové (senzorické, motorické a kognitivní) stimulaci jedince (Nithianantharajah *et al.*, 2009). Cílem environmentálního enrichmentu je zvýšení množství podnětů a připodobnění laboratorních podmínek k podmínkám přirozeným s ohledem na různé nároky jednotlivých druhů (Hutchinson *et al.*, 2005).

Mezi pozitivní účinky environmentálního enrichmentu patří snížení úzkostlivého chování (Benaroya-Milshstein *et al.*, 2004), zvýšení exploračního chování při vystavení novým situacím (Larsson *et al.*, 2002), zlepšení prostorové paměti a učení (Fischer *et al.*, 2007) a zejména pak schopnost zvrátit důsledky indukované vystavením ranému postnatálnímu stresu např. maternální separaci (Francis *et al.*, 2002). Mezi okamžité důsledky patří například stimulace neurogeneze v oblasti *gyrus dentatus* (Kempermann *et al.*, 1997), zvýšení proliferace a odolnosti vůči programované buněčné smrti u progenitorových buněk amygdaly u myši (Okuna *et al.*, 2009) a remodelace tkáně pozměněné vlivem předchozí maternální separace (hypertrofie dendritů zpět a zvýšená hustota neuronálních výběžků basolaterální amygdaly) u potkanů (Koe *et al.*, 2016).

Handling (v literatuře často uváděn jako early handling či neonatal handling) je způsob manipulace, během níž dochází ke krátkodobému, obvykle do 30 minut trvajícím odloučení mláděte od matky, zatímco mládě po dobu separace může či nemusí setrvávat v kontaktu s experimentátorem. Experimenty bývají nejčastěji prováděny opakovaně během prvních 2-3 postnatálních týdnů, přičemž každý den zahrnuje jednu 15 minut trvajících událost. V některých studiích je handling uváděn jako jeden z modelů maternální separace, neboť dochází k dočasnému odloučení matky a mláděte (Tractenberg *et al.*, 2016), většinou je však považován za zcela samostatnou metodu, neboť jeho účinky na vývoj mláděte odpovídají na rozdíl od maternální separace typickému schématu výše zmíněného eustressu.

Nespornou výhodou této metody, zkoumající vliv senzorické stimulace prostřednictvím krátkodobé separace od matky, je uniformita způsobu provedení experimentu napříč jednotlivými studiemi, díky čemuž je všeobecný přehled okamžitých neuroendokrinních a behaviorálních změn poměrně konzistentní (viz kapitola 6 této práce).

Pozitivní účinky handlingu nejen u hlodavců již prokázalo velké množství studií zabývajících se touto problematikou. Mezi jeho nejvýznamnější neuroendokrinní důsledky patří například prodloužení dendritů a zvýšení hustoty jejich výběžků u pyramidálních buněk v mediálním

prefrontálním kortexu (Monroy *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2005), změna neurogeneze hipokampu a celkové zvýšení hustoty glukokortikoidních receptorů v těchto oblastech, což pravděpodobně úzce souvisí s nižší reaktivností HPA osy, zefektivnění její zpětnovazebné regulace, a tedy celkově vyšší odolností jedince vůči stresu, která byla, podobně jako u jiných příkladu eustressu, potvrzena pomocí škály behaviorálních testů a přímého měření koncentrace stresových mediátorů. (O'Donnell *et al.*, 1994; Núñez *et al.*, 1996). Vliv handlingu na morfologii hipokampu je signifikantní zejména po předchozím vystavení stresu v prenatalním období. Lemaire ve svém experimentu potvrzuje, že při opakovaném stresování samice od patnáctého dne gravidity dochází ke snížení počtu značených hipokampálních buněk u mláďat téměř na polovinu standardního množství, zatímco u mláďat, která během prvních tří týdnů života podstupovala opakovaný handling, došlo k úplnému zvrácení účinků prenatalního stresu a populace hipokampálních buněk byla shodná jako v případě kontrolních mláďat (Lemaire *et al.*, 2006).

4.2. Distress – maternální separace, předčasný odstav, sociální stres

Druhým typem stresu je *distress*, který na organismus působí negativně a může mít zejména v chronické, intenzivní a nepredikované formě během rané postnatální ontogeneze výrazný vliv na funkci HPA osy, vývoj mozku a chování v dospělosti. Typickými příklady stresových událostí, které jsou experimentálně prováděny na hlodavcích, jsou např. potravní či vodní deprivace, imobilizační test, stimulace pomocí elektrických šoků, nucené plavání, vystavení extrémním teplotám (Lukavská, 2016, Ishikawa *et al.*, 2015) a různé formy maternální a sociální deprivace, kterým se budu nadále podrobněji věnovat.

Přestože by pojem **maternální separace** (maternal separation) mohl být chápán jako jakákoli událost zahrnující dočasné odloučení mláďete od matky, ve většině studií na toto téma je za maternální separaci považována situace, při níž je mláďe separováno od matky na déle než 30 minut (myši – Millstein & Holmes, 2007; potkani – Aisa *et al.*, 2007).

Na rozdíl od handlingu, jehož způsoby realizace jsou u nezávislých experimentů poměrně uniformní a jehož testování proto poskytuje konzistentní přehled důsledků jeho vlivu na vývoj jedince, maternální separace zahrnuje nesmírně široké spektrum metodologických provedení, které poskytuje škálu různých a mnohdy i obtížně srovnatelných výsledků.

Aspekty, v nichž se mohou jednotlivé postupy lišit a které je vždy potřeba zohlednit v metodice experimentu, jsou (Tractenberg *et al.*, 2016):

- a) Periodicita vystavení stresu** – separace může být prováděna buď opakovaně v určitých časových intervalech nebo formou jednorázové, deletrující události.
- b) Vzájemný kontakt mláďat** – mláďata mohou být separována jednotlivě či hromadně v rámci celého vrhu.

c) Teplota během separační události – pokud je mládě separováno samostatně mimo hnízdo, není schopné zhruba do třináctého dne po narození samo regulovat svoji tělesnou teplotu, a je proto nutná vnější tepelná regulace.

d) Prostředí, v němž je mládě během separace umístěno – mládě může být separováno do zvláštní ubikace či ponecháno v ubikaci stávající za současné separace matky.

Velmi častým schématem je maternální separace prováděná s denním opakováním během prvních 2-3 postnatálních týdnů, kdy jsou mláďata hromadně umístěna na 3-6 h do zvláštní ubikace, jejíž teplota je udržována kolem 30 °C. (Arnold & Siviy, 2002; Colorado *et al.*, 2005).

Dalším schématem maternální separace je jednorázové protražované odloučení, které může trvat až 24 h. Negativní účinky této metody jsou způsobeny nejen absencí kontaktu s matkou a dočasným nedostatkem mateřské péče, ale i potravní deprivací a v případě nedostatečné vnější kontroly i teplotním diskomfortem. Při aplikaci tohoto schématu separace na myších byly zjištěny snížení neurogeneze a ztráta neuronů v oblasti *gyrus dentatus* přibližně o 20 %. (Fabricius *et al.*, 2008). Přestože tato metoda není prozkoumána zdaleka tolik jako opakovaná separace kratšího trvání a informace o jejich důsledcích jsou značně omezené, dá se na základě dosavadních studií předpokládat, že jednorázová dlouhotrvající separace představuje významný zásah do organismu mláďete a změny indukované během této epizody nelze plně kompenzovat následnou mateřskou péčí.

Jak jsem již nastínila v předchozích kapitolách, vystavení distressu během hyporesponzivní periody indukuje mnoho okamžitých neuroendokrinních změn, a prostřednictvím toho i změn behaviorálních, které se často projevují až v dospělosti (viz kapitola 6 této práce). Dochází k dlouhodobému zvýšení bazální hladiny kortikoliberinu, zvýšení citlivosti organismu na stresové podněty, a tedy i zvýšení sekrece ACTH a glukokortikoidů, jejichž přímé působení negativně ovlivňuje neurogenezi limbického systému (Biagini *et al.*, 1998). Bylo zjištěno, že opakovaná maternální separace u potkanů způsobuje snížení hustoty tzv. mechových vláken granulózních neuronů v hipokampu (Huot *et al.*, 2002), zkrácení dendritů a snížení hustoty jejich výběžků v pyramidálních buňkách prefrontálního kortexu a CA1 hipokampální oblasti (Monroy *et al.*, 2010) a změnu exprese hipokampálních glutamátových receptorů (Pickering *et al.*, 2006). Výrazné postižení oblasti limbického systému potvrzuje i experiment, v rámci něhož byla zjištěna ztráta neuronů v oblasti *gyrus dentatus* a celkové snížení jejího objemu o 25,5 % (Lajud *et al.*, 2012; Orelan *et al.*, 2010).

Předčasný odstav (early weaning) je příkladem separační události, při které dochází k přerušování kontaktu mláďat s matkou dříve, než je doba optima pro daný druh. Jak jsem již nastínila v kapitole 2.2. této práce, odstav je jednou z nejdůležitějších událostí v rané ontogenezi mláďete. V přirozených podmínkách se jedná o proces kontinuální, zatímco v laboratorních podmínkách či zájmových chovech bývá z praktických důvodů omezen na jeden určitý den, který je stanoven v závislosti na druhu, kondici vrhu a budoucím využití mláďat. Za optimum pro odstav nejběžnějších

laboratorních druhů hlodavců (*Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Mesocricetus auratus*, *Cavia aperea*) je považováno rozmezí od PND21 – PND30 s preferencí na odstav již v PND21, aby tak došlo k maximalizaci produkce mláďat a urychlení případných experimentů.

Nejvíce studií zabývajících se vlivem předčasného odstavu na chování v dospělosti a vývoj mozku je zaměřeno na důsledky u myši a potkanů. (Kikusui *et al.*, 2007) Předčasný odstav bývá u obou druhů prováděn nejčastěji mezi PND15 – PND17 tj. v době, kdy jsou již mláďata schopna si sama zajistit základní potřeby (pohybovat se, přijímat potravu, regulovat svoji tělesnou teplotu), plně reagují na působení stresorů, ale zároveň stále zůstávají do jisté míry závislá na péči matky. Mláďata podstupující předčasný odstav jsou následně testována obvykle v období adolescence až rané dospělosti, přičemž kontrolní skupina mláďat, jež podstupuje totožné série testů, bývá zpravidla odstavována v PND30, aby se docílilo patrnějšího kontrastu mezi výsledky obou skupin.

Přestože problematika vlivu předčasného odstavu na vývoj nervové a endokrinní soustavy není zdaleka tak podrobně prozkoumána jako výše zmíněná opakovaná maternální separace, bylo v rámci několika studií zjištěno, že předčasný odstav způsobuje u myších samců chronické zvýšení bazální hladiny kortikosteronu, změny v expresi glukokortikoidových receptorů v hipokampu (Kikusui *et al.*, 2006) a předčasnou myelinizaci axonů v basolaterální amygdale (Ono *et al.*, 2008; Kikusui *et al.*, 2007). Výsledky mnoha experimentů poukazují na závislost vlivu předčasného odstavu na pohlaví – neuroendokrinní systém samců se zdá být senzitivnější, neboť v případě samic nebyly změny v expresi GR a myelinizaci potvrzeny. Zdali se tento fenomén projevuje i na úrovni chování a samci jsou vůči předčasnému přerušení kontaktu s matkou celkově zranitelnější, se pokusím shrnout v kapitole 6 této práce.

Pojem **sociální deprivace** sdružuje různé typy stresových událostí, které jsou založené na uvedení jedinců téhož druhu do nestandardní sociální situace. Sociální deprivaci je možné na rozdíl od výše zmíněných metod (maternální separace, předčasný odstav) navodit v jakémkoli věku, přičemž její načasování se podílí na míře stresové odpovědi a může vést k různým behaviorálním, morfologickým a neuroendokrinním změnám (Martinez *et al.*, 1998).

Mezi typické příklady sociálního stresu praktikovaného u hlodavců v období dospělosti patří tzv. sociální převaha, tj. metoda, která zkoumá interakci mezi dvěma samci a je založena na potřebě teritoriálního samce bránit své území před nově příchozím samcem. Dalším z příkladů je např. opakované narušování hierarchie skupiny, neboť opakující se ustavování a následné udržování hierarchie představuje zdroj psychického i fyzického stresu pro dominantní i submisivní jedince (Tamashiro *et al.*, 2005).

Vystavení sociálnímu stresu v období adolescence je považováno za mimořádně významnou stresovou událost, neboť u adolescentních mláďat stále pokračuje vývoj a neurogeneze oblastí limbického systému a prefrontálního kortexu. Jak jsem již uvedla v předchozích kapitolách, dochází také

k intenzivní formaci sociálního chování a začlenění do hierarchie skupiny, proto je kritickým sociálním stresorem v tomto úseku života izolace.

Sociální izolace je metoda, která je v rámci studií praktikována u druhů, pro něž je přirozené soužití v několikačlenných, hierarchicky uspořádaných skupinách (*Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Cavia aperea*, *Octodon degus*). Mláďata bývají obvykle rozdělena do dvou skupin – mláďata z první skupiny jsou bezprostředně po odstavu podrobena izolaci, zatímco mláďata z druhé skupiny jsou chována standardně a slouží tak jako skupina kontrolní (Weiss *et al.*, 2004). I v případě sociální izolace existuje řada aspektů, v nichž se mohou jednotlivé experimenty lišit a které je vždy potřeba zohlednit do metodiky pokusu, aby nedošlo k chybné interpretaci výsledků. Patří mezi ně např.:

- a) Délka sociální izolace – izolace bývá prováděna nejčastěji v rozmezí od 2-12 týdnů po odstavu tj. po PND21-PND30.
- b) Míra omezení kontaktu – jedinci mohou být izolováni vizuálně, taktilně, akusticky či olfaktoricky.
- c) Načasování resocializace a behaviorálního testování.

Mnoho studií zabývajících se touto problematikou se zaměřilo na porovnání důsledků sociální izolace během adolescence a dospělosti, neboť právě toto období je nejdůležitější pro utváření sociálních vazeb s ostatními členy skupiny. Vystavení sociální izolaci v období adolescence indukuje perzistentní neuroendokrinní změny, které přetrvávají do dospělosti, prostřednictvím čehož dále ovlivňují chování jedince. Sociální izolace v raném adolescentním věku způsobuje u potkanů hyperaktivitu HPA osy, zvýšení bazálních hladin ACTH a glukokortikoidů a rychlejší nástup stresové reakce, což poukazuje na celkové snížení odolnosti vůči stresu (Weiss *et al.*, 2004). Dále způsobuje zkrácení dendritů v pyramidálních buňkách CA1 oblasti hipokampu, snížení hustoty jejich výběžků v hipokampu i prefrontálním kortexu (Silva-Gómez *et al.*, 2003) a redukcii exprese synaptických proteinů a podjednotek glutamátových receptorů (Hermes *et al.*, 2010). U myši byly navíc zjištěny změny v myelinizaci neuronů prefrontálního kortexu (Lander *et al.*, 2016). Sociální izolace spolu s opakovanou maternální separací byly testovány i u semi-prekociálních mláďat osmáků, u kterých došlo ke zvýšení bazální hladiny glukokortikoidů a signifikantnímu úbytku neuronů v přední cingulární oblasti a *nucleus accumbens*. Jelikož byly ale v rámci této studie použity dvě separační metody zároveň, nelze přesně říci, jakým dílem se na výsledných důsledcích podílely (Poeggel *et al.*, 1999).

5. Mateřská péče, její role v rané ontogenezi hlodavců

Mateřská péče je v období od narození až po odstav u hlodavců, podobně jako u většiny druhů placentálních savců, klíčovou úlohou samice. Mezi její nejdůležitější aspekty patří v případě

altriciálních druhů stavba hnízda, zajištění teplotního komfortu, olizování, péče o srst a kojení. Kvalita mateřské péče bývá posuzována zejména podle míry olizování (licking) a péče o srst (grooming) jakožto nejdůležitějšími zdroji taktilní stimulace. K tomuto typu chování bývá často přidružené kojení a péče v tzv. „arched-back“ pozici, při níž stojí samice nahrbená nad mládřaty ve strnulé poloze a umožňuje jim tak snazší a rovnoměrnější přístup k mléčným bradavkám (Pryce *et al.*, 2001).

Maternální péče představuje potenciální zdroj variability vnějšího prostředí, které má u savců zásadní vliv na vývoj neuroendokrinní soustavy a s tím asociované změny od reaktivity na stres až po sexuální a mateřské chování další generace (Cameron *et al.*, 2008). Mnoho studií předpokládá, že fyziologické a behaviorální změny, jež jsou pozorovatelné po vystavení mláděte senzoricke stimulaci či určitému typu separačního stresu, jsou formovány právě prostřednictvím změn v interakcích mezi matkou a mládřaty. Tato hypotéza byla potvrzena několika nezávislými studii, které využily pro její ověření srovnání fyziologie a chování mládřat narozených matkám s různou genetickou predispozicí pro kvalitu mateřské péče. Mládřata silně pečujících matek, které vykazují větší aktivitu v kojení v arched-back pozici a péči o srst a olizování mládřat, jsou méně úzkostlivá, aktivnější v exploračním chování a ochotněji navazují sociální kontakty s cizími jedinci (Starr-Phillips & Beery, 2014). Dále je u těchto mládřat pozorovatelná nižší hladina ACTH a kortikosteronu při stresové reakci, zvýšená exprese glukokortikoidových receptorů v hipokampu, efektivnější zpětnovazebná regulace stresové odpovědi a snížená exprese CRH (Liu *et al.*, 1997). Kvalita mateřské péče, konkrétně frekvence olizování a péče o srst, v postnatálním období tedy hraje kritickou roli při utváření fenotypu chování jedince a výrazně ovlivňuje jeho fyziologickou i behaviorální odpověď na stres v dospělosti.

5.1 Mechanismus přenosu mateřského chování do dalších generací

To, jakým způsobem je mateřské chování, a tedy i jím indukované behaviorální i fyziologické změny, přenáшено do dalších generací, je v poslední době hojně studovaným fenoménem. Bylo potvrzeno, že transmise těchto znaků do dalších generací samic neprobíhá geneticky, ale prostřednictvím epigenetických modifikací, které se v mozku mláděte formují právě v závislosti na kvalitě mateřské péče, kterou mládě obdrží během postnatální ontogeneze (Weaver *et al.*, 2004; Cameron *et al.*, 2008).

Epigenetické modifikace jsou takové změny, které způsobují změnu v expresi genů, aniž by zároveň došlo k pozměnění nukleotidové sekvence DNA, a jsou proto zodpovědné za vyšší fenotypovou plasticitu. Pro pochopení kauzality tohoto fenoménu vysvětlím proces formace epigenetických modifikací na příkladu nedostatečně pečujících matek myši, jejichž mateřská péče se vyznačuje výrazným snížením taktilní stimulace (olizování + péče o srst).

Za regulaci mateřského chování je zodpovědná oblast mediálního preoptického jádra hypotalamu a jeho exprese je závislá na interakci oxytocinu, estrogeneru a jejich receptorů (estrogenový receptor ER α a oxytocinový receptor OTR). Nižší kvalita mateřské péče s nedostatečnou taktilní stimulací

indukuje proces metylace cytosinu v oblasti promotoru estrogenového receptoru ER α (Champagne, 2008), v důsledku čehož dochází k aktivaci represorových komplexů a zabránění acetylace histonů H3-K9 (Weaver *et al.*, 2004; Fish *et al.*, 2004). Acetylace histonů v této oblasti je přímo zodpovědná za transkripční aktivitu chromatinu, a pokud tedy k acetylaci nedojde, je zabráněno expresi ER α a jeho potenciální interakci s estrogenem. Estrogen spolu s podjednotkou ER α utváří komplex, který následně interaguje s promotory oxytocinových receptorů a ovlivňuje jejich expresi (Champagne 2006, 2008). Veškeré aspekty této kaskády, jejíž příčinou je míra kvality péče matky, společně kooperují a ovlivňují tak expresi daného mateřského chování u mláďat.

Metylace cytosinu v promotoru ER α je velmi stabilní, ovšem stále potenciálně reversibilní modifikací. Tento fenomén byl zkoumán pomocí „cross-fosteringu“ tj. metody, při níž jsou mláďata odebrána své biologické matce a následně svěřena do péče matce náhradní. Výsledky potvrdily úplné zvrácení původních epigenetických změn v oblasti promotoru ER α a vytvoření modifikací nových v závislosti na způsobu péče náhradní matky. Studie zabývající se vlivem kvality mateřské péče na chování v dospělosti prokázala, že mláďata narozená nedostatečně pečující matce vykazovala v dospělosti intenzivní mateřskou péči za předpokladu, že byla vychovávána intenzivně pečující náhradní matkou.

Veškeré tyto poznatky potvrzují nejen reversibilitu epigenetických změn, ale také to, že maternální chování a jím indukované dlouhodobé endokrinní a behaviorální změny jsou do dalších generací přenášeny negeneticky a je tedy důležité především to, v jakém prostředí mláďde vyrůstá, nikoli to, jaký je jeho biologický původ (Francis *et al.*, 1999; Weaver *et al.*, 2004).

5.2. Vliv senzorické stimulace a stresu v postnatální ontogenezi na kvalitu mateřské péče

Mateřské chování samic je z velké části ovlivňováno vrozenými predispozicemi, přesto se na jeho utváření významně podílí faktory vnějšího prenatálního i postnatálního prostředí skrze epigenetické změny, které jsou těmito faktory indukovány. V kontextu této práce je rozhodující zejména množství a kvalita mateřské péče, která byla samičím potomkům během rané ontogeneze věnována. Studie zabývající se touto problematikou u myši a potkanů potvrzují, že samice, jímž bylo během rané ontogeneze poskytnuto více mateřské péče, v dospělosti samy vykazují konzistentnější projevy mateřského chování. Na základě této skutečnosti lze usuzovat, že přenos mateřského chování z generace na generaci je výrazně ovlivněn vlastní zkušeností mláďete (Kikusui *et al.*, 2008, Francis *et al.*, 1999).

V případě mláďat, u nichž došlo k předčasnému odstavení kolem 15. postnatálního dne, došlo k výraznému ochuzení o péči matky, která v tomto období stále tráví aktivní, byť kontinuálně snižující se péči o mláďata zhruba 50 % svého času. Tento deficit způsobuje u předčasně odstavených samic v dospělosti snížení investic do stavby hnízda, snížení ochoty pečovat o cizí mláďata a výrazné deficity v kojení v pozici „arched-back“ a chování zajišťující taktilní stimulaci (Kikusui *et al.*, 2005).

Důležitost olizování a péče o srst jakožto hlavního zdroje taktilní stimulace při vývoji mateřské péče dokazuje experiment, v rámci něhož byl nedostatek obdržené mateřské péče způsobený protražovanou maternální deprivací v rané ontogenezi kompenzován simulací taktilní stimulace pomocí štětečku. V tomto případě byl jinak prokazatelně negativní efekt maternální deprivace výrazně redukován (Gonzalez *et al.*, 2001).

Vliv handlingu na budoucí mateřské chování samic byl testován za pomoci dvou kmenů potkanů s různými vrozenými předpoklady pro mateřskou péči. U handlovaných samic s genetickou predispozicí ke snížené míře olizování, péče o srst mláďat a kojení v pozici „arched-back“ došlo k signifikantnímu zvýšení kvality všech těchto aspektů mateřského chování. Kromě pozitivních změn v mateřském chování došlo u handlovaných samic méně pečujících matek k vývoji obdobného endokrinologického i behaviorálního fenotypu jako u potomků matek silně pečujících (Francis *et al.*, 1999, Liu *et al.*, 1997). Z této studie jasně vyplývá, že působení handlingu je schopné plně kompenzovat vliv genetické predispozice matky na své potomky prostřednictvím změny jejího chování k mláďatům po separační události.

Zatímco handling zvyšuje u samic míru mateřského chování celkově, v případě protražované maternální separace dochází k jejímu zvýšení pouze v omezeném časovém intervalu po návratu separovaných mláďat do hnízda (Pryce *et al.*, 2001). Výsledky studií, které se zabývají vlivem maternální separace na mateřské chování separovaných mláďat v dospělosti, jsou proto poměrně nekonzistentní a ne vždy poskytují shodné výsledky.

Z výše zmíněných poznatků je patrné, že množství a konkrétní způsob pečování je pro vývoj vlastního mateřského chování mláďat zcela rozhodující. Vývojové změny pozorovatelné po vystavení určitému typu separačního stresu jsou důsledkem změny chování matky vůči potomkům a tím indukovaných epigenetických modifikací v hypotalamu potomků. Tyto epigenetické změny jsou zodpovědné nejen za vývoj konkrétního behaviorálního fenotypu jedince, ale i přenos totožného mateřského chování, kterému bylo mládě v rané ontogenezi vystaveno, do další generace.

Stres a senzorická stimulace má potenciál chování matky vůči potomkům měnit, v důsledku čehož dochází k okamžitým fyziologickým změnám a změnám chování v dospělosti (viz kapitola 6).

6. Behaviorální důsledky působení senzorické stimulace a stresu v rané ontogenezi

V návaznosti na předchozí kapitoly lze říci, že kvalita interakce (zejména taktilní stimulace v podobě olizování a péče o srst) mezi matkou a mláďaty hraje kritickou roli při formování behaviorálního fenotypu potomků. Jeho konkrétní podoba v postadolescentním věku a dospělosti je pak výsledkem kombinace spolupůsobení genetických predispozic, epigenetických modifikací a variability a podnětnosti vnějšího prostředí.

Načasování stresové události v rámci postnatální ontogeneze a její konkrétní podoba hraje neopomenutelnou roli při formování chování v dospělosti. Jak jsem již uvedla v kapitole 2 této práce, nejvýznamnějšími obdobími pro formativní účinky stresu jsou hyporesponzivní perioda a období odstavu, a většina stresových událostí je v rámci experimentů proto aranžována do těchto časových úseků. Přesný věk, ve kterém hlodavci podstupují série behaviorálních testů, není stanovený a napříč metodikami nezávislých studií se různí, většina testů ze zde citovaných studií je však realizována během prvních 2-8 měsíců života

Jedním z cílů této práce je charakterizovat důsledky působení stresu a senzorické stimulace v rané ontogenezi na chování živočichů, zaměřím se proto na ty složky chování, které jsou v rámci studií zabývajících se touto problematikou testovány nejčastěji.

6.1. Vliv na explorační chování a anxietu

Drtivá většina studií zabývajících se působením stresu či senzorické stimulace na chování jedince v dospělosti se zdaleka nejpodrobněji věnuje zkoumání vlivu na anxietu neboli úzkostlivost a s ní související explorační chování tj. aktivní vyhledávání a zkoumání nových podnětů bez přímé nutnosti (Hughes, 1997).

Pro snazší orientaci v následujícím textu je nejprve důležité definovat rozdíl mezi strachem a úzkostí. Zatímco strach je přímá reakce na konkrétní podnět, který jedinec v daném okamžiku vyhodnotí jako potenciální hrozbu, anxieta neboli úzkost představuje obvykle přetrvávající iracionální stav, který se neobjevuje jako okamžitá reakce na konkrétní stimul. Úzkostlivější zvířata zažívají chronický pocit očekávání potenciální hrozby, jsou ostražitější a obvykle reagují nepřiměřeně dané situaci (Lang *et al.*, 2000). Za expresi úzkostlivého chování je zodpovědná zejména oblast bazolaterální amygdaly a hipokampu, přičemž vyšší úzkostlivost je u hlodavců spojena s hyperaktivitou a větším objemem těchto oblastí (Río-Álamos *et al.*, 2017).

Anxieta a explorační chování jsou u hlodavců posuzovány pomocí různých designů behaviorálních testů (shrnuto v Žampachová, 2015). Mezi nejčastěji používané modely patří:

- **Open-field test** představuje nejjednodušší variantu testování anxiety a exploračního chování u hlodavců. Přestože jeho designy se mohou v rámci experimentů lišit, podstatou open-field testu zůstává zkoumání chování v novém prostředí, obvykle volném uzavřeném prostoru, do něž je jedinec nuceně umístěn. Anxiální chování je následně posuzováno podle míry lokomotorické aktivity, celkové uražené dráhy a zejména času stráveném ve středové části vymezeného prostoru.
- **Elevated plus maze test** a **zero maze test** se liší tvarem konstrukce, oba designy jsou ovšem založené na podobném principu. Vyvýšený aparát je tvořen dvěma uzavřenými a dvěma otevřenými zónami, které jsou uspořádány do tvaru „+“ (elevated plus maze) či do tvaru „O“ (zero maze). Míra anxiety je posuzována na základě frekvence vstupů do otevřených ramen

a délky časového intervalu v nich strávených. Obecně platí, že čím úzkostlivější jedinec je, tím méně ochotněji bude vstupovat do otevřených ramen a bude v nich setrávat kratší dobu.

- **Hole board test** vychází z klasického open field testu a jeho aparatura je rozšířená o podlahu s dírami, do nichž má jedinec možnost nahlížet. Hlavním výstupem pro měření anxiety je počet tzv. „head-dippů“, tedy počet nahlédnutí do děr, a délka jejich trvání.

Většina studií zabývajících se vlivem handlingu na anxiety a explorační chování hlodavců využívá jako modelové organismy myši a potkany a jejich výsledky jsou velmi konzistentní. U mláďat obou pohlaví, která byla během prvních tří týdnů života vystavena sensorické stimulaci, dochází v dospělosti k celkovému snížení úzkostlivého chování a projevům podmíněného strachu, zvýšení explorační schopnosti vyrovnávat se se stresem a zmírnění projevů anxiálního chování vyvolaného působením stresových událostí. Celkové snížení úzkostlivého chování u handlovaných mláďat pozitivně koreluje s výskytem neuroendokrinních důsledků handlingu popsaných v kapitole 4 (Bouffleur *et al.*, 2013; Vallee *et al.*, 1997; Ferré *et al.*, 1995).

Potenciál handlingu formovat chování hlodavců v dospělosti byl zkoumán za pomoci potkanů s vrozenými sklony k úzkostlivému chování. V jejich případě došlo po vystavení handlingu během postnatální ontogeneze nejen k výraznému snížení anxiálního chování v dospělosti, ale i k dlouhodobé redukci objemu amygdaly a hipokampu, jejichž větší objem a s tím související hyperaktivita je za expresi tohoto chování zodpovědná. Tento výzkum jasně potvrzuje, že genetická predispozice pro určitý behaviorální fenotyp může být vnějším neonatálním prostředím výrazně modulována (Río-Álamos *et al.*, 2015, 2017).

V kontrastu s účinky handlingu působí protražovaná maternální separace, předčasný odstav od matky a rané sociální izolace na hlodavce prakticky opačně. U mláďat, která jsou v průběhu rané ontogeneze vystavena těmto typům stresových událostí, se projevuje signifikantně vyšší míra anxiety, redukce exploračního chování (Shin *et al.*, 2016; Kikusui *et al.*, 2006; Kanari *et al.*, 2005) a zvýšená frekvence defekace, která je považována za jeden z indikátorů vnímání stresové události (Daniels *et al.*, 2004). Podobně jako u handlingu i v tomto případě dochází k pozitivní korelaci anxiálního chování s neuroendokrinními důsledky těchto způsobů stresování. U předčasně odstavených mláďat byly navíc výše zmíněné prvky chování v rámci některých studií zaznamenány pouze u samců (Kikusui *et al.*, 2006; Kanari *et al.*, 2005), popřípadě u samců toto chování přetrvávalo déle než u samic (Kodama *et al.*, 2008). Tato skutečnost tedy podporuje hypotézu, (viz kapitola 4.2.), že samci jsou vůči předčasnému odstavu celkově zranitelnější.

Vliv sociální izolace v podstavovém období na úzkostlivé chování byl zkoumán mimo běžných laboratorních hlodavců i u hrabošů preriových (*Microtus ochrogaster*), kteří byli chováni izolovaně po dobu 6 týdnů bezprostředně po odstavu. I v jejich případě byl efekt na samečky obdobný jako u maternální separace či předčasného odstavu (Pan *et al.*, 2009).

Zatímco handling a environmentální enrichment způsobují u jedinců celkové snížení úzkostlivosti a tento vliv by se dal považovat za pozitivní, protražované separační události způsobují vývoj behaviorálního fenotypu vyznačujícího se zvýšenou úzkostlivostí a snížením explorační aktivity. S ohledem na problematiku předchozích kapitol lze s jistotou říci, že úzkostlivé chování a zvýšená reaktivita na potenciální stresory jsou způsobeny nedostatky a případnou variabilitou v obdržené mateřské péči (viz kapitola 5) prostřednictvím neuroendokrinních změn.

6.2. Vliv na sociální chování

Sociální chování je chování založené na kontaktu mezi dvěma a více jedinci, které se vyznačuje nejen aktivním vyhledáváním přátelského kontaktu s ostatními příslušníky skupiny, ale i případnou vzájemnou agresivitou, která může vést v krajních případech až k usmrcení. Je všeobecně známo, že ekologie různých sociálních druhů hlodavců může být poměrně variabilní a uspořádání jejich skupin využívá různé vzory sociálních struktur. Zatímco některé druhy (*Microtus ochrogaster*, *Peromyscus californicus*) preferují soužití v monogamních párech (Ribble & Salvioni, 2003; Carter & Getz, 1993) či rodinách tvořených jím a několika generacemi mláďat (*Castor fiber*), v případě potkana (*Rattus norvegicus*) jakožto jednoho z nejdůležitějších modelových druhů hlodavců dochází k ustálení poměrně stabilní sociální hierarchie, jejíž funkcí je zajištění bezkonfliktního soužití jedinců s různou mírou dominance a submisivity. Tento systém je budován a nadále udržován prostřednictvím sociální komunikace za pomoci pachových, zvukových, optických či taktilních signálů (Timmer & Sandi, 2010) Různá míra dominance ve skupině je zejména u adolescentních jedinců vyjadřována formou tzv. „play-fightingu“, při němž dochází prostřednictvím hry k naznačování agresivního chování, a toto chování je nejčastěji studovaným aspektem v kontextu této problematiky.

Mezi nepoužívanější designy behaviorálních testů zaměřujících se na posouzení sociálního chování a dominance patří:

- **Tube dominance test** je založený na umístění dvou jedinců do opačných konců trubice, jejíž šířka umožňuje průchod pouze právě jednoho z nich. Dominance je následně posuzována podle toho, který z jedinců bych nucen ustoupit.
- **Resident – Intruder** test se využívá pro testování sociální agrese. Neznámý jedinec je uveden do teritoria obvykle většího, neznámého samce a následně je zkoumána reakce obou z nich.

Na rozdíl od vlivu stresu a senzorické stimulace na anxiální chování jsou jeho účinky na chování sociální stále poměrně nejasné a napříč jednotlivými studiemi často velmi nekonzistentní. Zatímco handling působí na úrovni anxiety a vyrovnávání se se stresem pozitivně, v kontextu sociálního chování byly u handlovaných mláďat potvrzeny převážně deficity. U samců potkana dochází k dlouhodobé redukci nácviku agrese formou hry, snížení dalších pozitivních sociálních

interakcí v podobě vzájemné péče o srst či očichávání a zvýšení agresivního chování (Todeschin *et al.*, 2009, Rainekei *et al.*, 2014).

Na neurčitost vlivu stimulace na sociální chování poukazují i výsledky behaviorálních testů u mláďat, která podstoupila maternální separaci. Její vliv na sociální chování a agresivitu nebyl jednoznačně prokázán (Shin *et al.*, 2016).

Změny v sociálním chování a agresivitě jsou sledovány především ve spojitosti s předčasným odstavením a sociální izolací v období následujícím bezprostředně po něm. Přestože důležitost tohoto období na vývoj sociálního chování v dospělosti je zřejmá a mládě je v jeho průběhu velmi citlivé na nedostatek sociálního kontaktu, nelze opět jednoznačně předpovědět, v jakém aspektu sociálního chování se působení těchto stresových událostí projeví. V rámci některých experimentů bylo potvrzeno, že u předčasně odstavených mláďat potkanů dochází k celkovému snížení touhy navazovat kontakty s ostatními členy skupiny, snížení hravého chování a nácviku agrese formou hry (Shimozuru *et al.*, 2007) a změnám v projevech agrese. Přestože vliv na agresivitu hlodavců nebyl v tomto případě vždy s jistotou prokázán, některé výsledky dokazují, že u předčasně odstavených mláďat se ovlivnění agresivního chování manifestuje prostřednictvím prodloužení latence útoku a zvýšení individuální variability ve frekvenci a způsobech útoku (Nakamura *et al.*, 2003).

Sociální izolace v raném adolescentním věku vedla u samců potkana ke zvýšení výskytu sociálního kontaktu (očichávání, hraní) v dospělosti (Ferdman *et al.*, 2007; Ikemoto & Panksepp, 1992), ovšem některé studie naopak potvrzují zvýšení agrese s nižším výskytem varovných signálů, které předcházejí útoku, a vyšší četností abnormálních vzorců útoku (Toth *et al.*, 2011).

Z výše uvedených poznatků je patrné, že stres a senzorická stimulace se na vývoji sociálního chování hlodavců podílí. Na rozdíl od vlivu na anxieta, jejíž podoba ve fenotypu hlodavců se dá podle konkrétní stresové události do jisté míry předvídat, v případě sociálního chování jsou výsledky napříč jednotlivými studii značně nekonzistentní a jeho exprese v dospělosti bude pravděpodobně o poznání komplikovanějším procesem ovlivněným mnoha dalšími faktory.

6.3. Vliv kognitivní schopnosti

Pro vysvětlení pojmu „kognitivní schopnosti“ je všeobecně uznávána definice, která označuje tyto schopnosti za poznávací procesy, pomocí nichž je možné přijímat, zpracovávat, uchovávat a následně využívat informace z okolního prostředí (Shettleworth, 2010).

Ve spojitosti se stresem a stimulací v rané postnatální ontogenezi patří mezi nejčastěji studované kognitivní schopnosti prostorová orientace, učení a paměť.

K testování těchto schopností jsou u hlodavců využívány různé typy bludišť, typicky ve tvaru „T“ či „Y“. V takto konstruovaných aparaturách má hlodavec, který je umístěn ve výchozí pozici, možnost volby, do jakého ramene se vydá. Další velmi často využívanou metodou testování je tzv. „Morris water maze test“, kruhové vodní bludiště, do něhož je jedinec umístěn a následně je posuzována jeho

schopnost vyhledat ostrůvek, který se nachází těsně pod hladinou a není tedy na první pohled viditelný. Tato metoda umožňuje testování orientačních schopností, prostorové paměti a učení a jejími výstupy, které mají v kontextu kognitivních schopností největší výpovědní hodnotu, jsou zejména délka uražené dráhy a uplynulá doba před dosažením platformy (Morris, 1981)

Nejvíce přehledné a jednotné výsledky byly pozorovány u metody neonatálního handlingu. U mláďat, která byla během prvních tří týdnů života opakovaně handlována, byly pozorovány změny v podobně zdokonalení prostorové orientace a paměti projevující se v případě testování v Morrisově vodním bludišti zkrácením uražené vzdálenosti i doby, kterou jedinec potřebuje k dosažení ostrůvku (Stamatakis *et al.*, 2008). Dalším pozitivním vlivem handlingu je, podobně jako u environmentálního enrichmentu, zmírnění a zpomalení přirozené degradace kognitivních schopností, ke které samovolně dochází s přibývajícím věkem hlodavců (Escorihuela *et al.*, 1995). Dále dochází ke zdokonalení rozpoznávání objektů, ale naopak ke zhoršení v některých úlohách podmiňování prostřednictvím averze (Kosten *et al.*, 2012).

Na rozdíl od metody handlingu jsou v případě sociální izolace bezprostředně po odstavu byly výsledky testování potkanů v Morrisově vodním bludišti neprůkazné a poukazovaly na zlepšení, zhoršení i neměnnost prostorového učení (Fone & Porkess, 2008). U těchto potkanů naopak došlo ke zhoršení rozpoznávací paměti, která se projevovala sníženou reakcí na nové objekty (Bianchi *et al.*, 2006)

Poznatky o působení různých typů maternální separace a sociální izolace v rané ontogenezi na kognitivní schopnosti hlodavců jsou podobně jako v případě sociálního chování poměrně omezené nejednoznačné – výsledky dosavadních studií pojednávají o pozitivních, negativních i žádných účincích stimulace v rané ontogenezi na učení a paměť hlodavců. Tato nekonzistentnost je pravděpodobně způsobena nejen variabilitou v možnostech provedení separačních a isolačních metod stresování, ale také různými způsoby testování a následného vyhodnocování výsledků.

7. Rozdíly v působení stresu v rané ontogenezi altriciálních a prekociálních druhů hlodavců

Proximální mechanismy i fyziologické a behaviorální důsledky působení senzorické stimulace či stresu v rané postnatální ontogenezi již byly podrobně prostudovány v případě myší a potkanů jakožto nejvýznamnějších altriciálních druhů hlodavců. Nezodpovězenou otázkou ovšem zůstává, jakým způsobem působí výše zmíněné stimuly u hlodavců prekociálních.

Na rozdíl od altriciálních druhů hlodavců, jejichž mláďata zůstávají po určitou dobu od narození plně závislá na péči matky, mláďata prekociálních hlodavců se rodí plně vyvinutá. Ihned po narození jsou schopná sama regulovat svoji tělesnou teplotu, následovat matku a velmi brzo začít přijímat tuhou stravu, díky čemuž jsou v extrémním případě schopná přežít odstavení v pouhých 5 dnech věku

(Künkele & Trillmich, 1997). Za nejznámější a nejhojněji studovaný druh prekociálního hlodavce může být s jistotou považováno morče domácí (*Cavia aperea porcellus*).

Zásadním rozdílem, který je možné pozorovat mezi prekociálními morčaty a altriciálními potkany či myšmi, je načasování vývoje neuroendokrinní soustavy. Zatímco u potkanů probíhají nejdůležitější procesy vývoje mozku v období prvních dvou týdnů života během tzv. hyporesponzivní periody (viz kapitola 2.1.), u morčat je tomu jinak. Přestože bylo potvrzeno, že neurogeneze hipokampu pokračuje v případě morčat i po narození, nejdůležitější oblasti zodpovědné za regulaci stresové odpovědi a expresi chování se vyvíjí již v době před narozením (Ikemoto & Panksepp, 1992), a proto je většina studií u morčat zaměřena především na důsledky působení stresu během prenatálního období.

Podobně jako u altriciálních druhů hlodavců, i u morčat je prostřednictvím kontaktu s matkou na začátku rané ontogeneze u potomků regulována aktivita HPA osy, a tedy i míra jejich reakce na potenciální stresory (Graves & Hennessy, 2000). V kontextu morčat ovšem není pojem „hyporesponzivní perioda“ vůbec používán, a je tedy možné, že se u nich tato senzitivní perioda vůbec nevyskytuje nebo je zahrnuta do prenatálního období, jehož délka trvání je oproti potkanům výrazně prodloužena.

Druhou důležitou odlišností u prekociálních morčat je samotná reakce na postnatální stresovou událost způsobenou separací od matky. Bylo potvrzeno, že u mláďat morčete vystavených maternální separaci dochází k akutnímu zvýšení hladiny kortisolu a zvýšení vokalizace a lokomoční aktivity. Tato reakce se ovšem objevuje pouze za předpokladu, že je mládě umístěno do zcela neznámého prostředí. Pokud mládě po dobu separace setrvává ve známém prostředí ve společnosti ostatních členů chovné skupiny, k manifestaci těchto projevů vůbec nedochází nebo se po ukončení separační události velmi rychle navrácí do původního stavu (Wewers *et al.*, 2003; Hennessy & Moorman, 1989).

Je zřejmé, že pro okamžitou reakci na stres v podobě separační události je u prekociálních hlodavců rozhodující, v jakém prostředí se nachází, a samotný kontakt s matkou má u nich výrazně nižší prioritu než u hlodavců altriciálních. Je však potřeba mít na paměti, že výše zmíněné experimenty poukazují pouze na krátkodobé fyziologické a behaviorální změny projevující se v reakci na danou situaci. Studie, jež by se zabývala přímou komparací krátkodobých i dlouhodobých důsledků působení postnatálního stresu u altriciálních a prekociálních druhů hlodavců s důrazem na nejdůležitější shody a rozdíly doposud nebyla realizována, a proto toto shrnutí zůstává pouhou hypotézou.

Závěr

Hlavním cílem této práce bylo shrnout dosavadní poznatky o vlivu stresu a senzoricke stimulace v rané ontogenezi na behaviorální fenotyp hlodavců v dospělosti. Na chování hlodavců v dospělosti se podílí nejen genetické predispozice, ale zejména variabilita vnějšího postnatálního prostředí. Jednou z nejvýznamnějších proměnných uplatňujících se při formaci behaviorálního fenotypu je stres, jehož působení v rané ontogenezi významně ovlivňuje vývoj klíčových oblastí mozku, které se podílejí na regulaci a dlouhodobém nastavení HPA osy a expresi chování v dospělosti. U hlodavců jsou za tyto funkce zodpovědné oblasti hipokampu, bazolaterální amygdaly a prefrontálního kortexu.

Zajištění komplexní mateřské péče, která je naprosto esenciální pro přežití mláďat, je nejdůležitější rolí matky během prvních tří týdnů jejich života a její kvalita se odráží nejen od genetických predispozic, ale i podnětných událostí v rané postnatální ontogenezi. Podoba mateřské péče je do dalších generací přenášena prostřednictvím epigenetických změn, které jsou reversibilní a které jsou indukovány na základě míry její kvality a frekvence.

Kvalita mateřské péče ale i samotná přítomnost matky je klíčová pro nastolení a následné udržování tzv. hyporesponzivní periody. Tato senzitivní perioda zajišťuje dočasné zvýšení odolnosti mláďat vůči působení stresorů a umožňuje tak standardní vývoj výše zmíněných klíčových oblastí jejich mozku.

Zajímavým fenoménem, který se vyskytuje u některých druhů hlodavců ve volné přírodě a který by umožnil zkoumat různé podoby mateřské péče a jejího vlivu na budoucí chování mláďat je tzv. komunální hnízdění. Pro tento způsob hnízdění je charakteristické sdílení hnízda a rodičovských povinností několika různými samicemi, výhodou čehož je zlepšení termoregulace, obrana proti infanticidě či zajištění péče o mláďata v případě úmrtí biologické matky (Hayes, 2000). Jelikož jsem již v této práci shrnula mechanismus přenosu kvality maternální péče do dalších generací prostřednictvím epigenetických modifikací a její klíčovou roli při vývoji potomků, nabízí se tedy otázka, jakým způsobem ovlivňuje vývoj mláďat různá kvalita maternální péče od několika různých pečujících samic. Na základě veškerých poznatků o mateřské péči lze hypotetizovat, že další z možných výhod komunálního hnízdění může být případná kompenzace nedostatečné péče biologické matky péčí silně pečujících samic.

Právě kvůli nepostradatelné funkci mateřské péče ve vývoji mláďat se velké množství studií zabývajících se touto problematikou věnuje zkoumání důsledků handlingu, maternální separace, předčasného odstavu a sociální izolace jakožto výrazně podnětných a stresových událostí založených na změnách interakce mezi matkou a potomky.

Neonatální handling (maximálně do 30 minut) svými účinky dokonale kopíruje schéma pozitivně působícího eustressu – výrazně tlumí aktivitu HPA osy a zvyšuje efektivitu její zpětnovazebné regulace, snižuje úzkostlivé chování a pozitivně ovlivňuje kognitivní schopnosti jedince. Naproti tomu protražovaná a opakovaná maternální separace (obvykle 3-6 hodin), způsobuje dlouhodobou

hyperaktivitu HPA osy a zvýšení bazálních hladin stresových mediátorů, výrazné zvýšení úzkostlivého chování s nižší ochotou k exploraci a zhoršení kognitivních schopností.

Dynamika vztahu mezi matkou a mládětem se během rané ontogeneze mění a s postupem času vzhledem k odstavu začínají být potomci více závislí na kontaktu s okolním sociálním prostředím. Neuroendokrinné důsledky předčasného odstavu a sociální izolace v období bezprostředně po něm následujícím jsou obdobné jako v případě maternální separace, tento typ stresu ovšem ovlivňuje také motivaci k navazování sociálních kontaktů a podobu těchto interakcí.

Přestože výsledky těchto studií mohou být často interpretovány jako pozitivní/negativní, je potřeba mít na paměti, že aspekty chování, které se mohou ve stabilním prostředí jevit jako nevýhodné, mohou naopak v nestabilních a nepredikovatelných podmínkách poskytnout jedinci určitou výhodu.

Většina studií, které se zabývají vlivem stresu a senzorické stimulace na chování v dospělosti, je stále zaměřena především na testování anxiety a exploračního chování, a tyto výsledky jsou povětšinou jednoznačné a konzistentní. Vliv na ostatní složky behaviorálních charakteristik je nejen méně prozkoumaný, ale také zatížený širokou škálou možných způsobů provedení separačního a isolačního stresu. Tato problematika je komplikovaným fenoménem, pro jehož studium je zapotřebí znalostí fyziologie, neuroendokrinologie, genetiky či ekologie, a lze předpokládat, že chování hlodavců v dospělosti je ovlivněno nejen událostmi rané ontogeneze, ale i vnějším prostředím, ve kterém jedinec nadále setrvává, sociálními interakcemi a personalitou.

Použitá literatura:

* - označení sekundární citace

- Aisa, B., Tordera, R., Lasheras, B., Del Río, J., & Ramírez, M. J. (2007). Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology*, *32*(3), 256-266.
- Arnold, J. L., & Siviý, S. M. (2002). Effects of neonatal handling and maternal separation on rough and-tumble play in the rat. *Developmental Psychobiology*, *41*(3), 205-215.
- Benaroya-Milshtein, N., Hollander, N., Apter, A., Kukulansky, T., Raz, N., Wilf, A., ... & Pick, C. G. (2004). Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *European Journal of Neuroscience*, *20*(5), 1341-1347.
- Biagini, G., Pich, E. M., Carani, C., Marrama, P., & Agnati, L. F. (1998). Postnatal maternal separation during the stress hyporesponsive period enhances the adrenocortical response tonovelty in adult rats by affecting feedback regulation in the CA1 hippocampal field. *International journal of developmental neuroscience*, *16*(3-4), 187-197.
- Bianchi, M., Fone, K. F. C., Azmi, N., Heidbreder, C. A., Hagan, J. J., & Marsden, C. A. (2006). Isolation rearing induces recognition memory deficits accompanied by cytoskeletal alterations in rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience*, *24*(10), 2894-2902.
- Bouffleur, N., Antoniazzi, C. T., Pase, C. S., Benvegnú, D. M., Dias, V. T., Segat, H. J., ... & Rosa, J. G. (2013). Neonatal handling prevents anxiety-like symptoms in rats exposed to chronic mild stress: behavioral and oxidative parameters. *Stress*, *16*(3), 321-330.
- Briassoulis, G., Damjanovic, S., Xekouki, P., Lefebvre, H., & Stratakis, C. (2011). The glucocorticoid receptor and its expression in the anterior pituitary and the adrenal cortex: a source of variation in hypothalamic-pituitary-adrenal axis function; Implications for pituitary and adrenal tumors. *Endocrine Practice*, *17*(6), 941-948.
- Brown, V. J., & Bowman, E. M. (2002). Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends in neurosciences*, *25*(7), 340-343.
- Brown, S. M., Henning, S., & Wellman, C. L. (2005). Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, *15*(11), 1714-1722.
- Cameron, N. M., Shahrokh, D., Del Corpo, A., Dhir, S. K., Szyf, M., Champagne, F. A., & Meaney, M. J. (2008). Epigenetic programming of phenotypic variations in reproductive strategies in the rat through maternal care. *Journal of neuroendocrinology*, *20*(6), 795-801.
- Carter, C. S., & Getz, L. L. (1993). Monogamy and the prairie vole. *Scientific American*, *268*(6), 100-106.
- Cirulli, F., Gottlieb, S. L., Rosenfeld, P., & Levine, S. (1992). Maternal factors regulate stress responsiveness in the neonatal rat. *Psychobiology*, *20*(2), 143-152.
- Colorado, R. A., Shumake, J., Conejo, N. M., Gonzalez-Pardo, H., & Gonzalez-Lima, F. (2006). Effects of maternal separation, early handling, and standard facility rearing on orienting and impulsive behavior of adolescent rats. *Behavioural processes*, *71*(1), 51-58.

- Curley, J. P., Jordan, E. R., Swaney, W. T., Izraelit, A., Kammel, S., & Champagne, F. A. (2009). The meaning of weaning: influence of the weaning period on behavioral development in mice. *Developmental neuroscience*, *31*(4), 318-331.
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *28*(7), 771-784.
- Daniels, W. M. U., Pietersen, C. Y., Carstens, M. E., & Stein, D. J. (2004). Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metabolic brain disease*, *19*(1-2), 3-14.
- Dunn, A. J., & Berridge, C. W. (1990). Corticotropin-releasing factor as the mediator of stress responses. In *Psychobiology of Stress* (pp. 81-93). Springer, Dordrecht.
- Einon, D. F., & Morgan, M. J. (1977). A critical period for social isolation in the rat. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, *10*(2), 123-132.
- Eichenbaum, H. (1996). Is the rodent hippocampus just for 'place'?. *Current opinion in neurobiology*, *6*(2), 187-195.
- Escorihuela, R. M., Tobeña, A., & Fernández-Teruel, A. (1995). Environmental enrichment and postnatal handling prevent spatial learning deficits in aged hypoemotional (Roman high-avoidance) and hyperemotional (Roman low-avoidance) rats. *Learning & Memory*, *2*(1), 40-48.
- Fabricius, K., Wörtwein, G., & Pakkenberg, B. (2008). The impact of maternal separation on adult mouse behaviour and on the total neuron number in the mouse hippocampus. *Brain Structure and Function*, *212*(5), 403-416.
- Ferdman, N., Murmu, R. P., Bock, J., Braun, K., & Leshem, M. (2007). Weaning age, social isolation, and gender, interact to determine adult explorative and social behavior, and dendritic and spine morphology in prefrontal cortex of rats. *Behavioural brain research*, *180*(2), 174-182.
- Ferré, P., Núñez, J. F., García, E., Tobeña, A., Escorihuela, R. M., & Fernández-Teruel, A. (1995). Postnatal handling reduces anxiety as measured by emotionality rating and hyponeophagia tests in female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *51*(2-3), 199-203.
- Fish, E. W., Shahrokh, D., Bagot, R., Caldji, C., Bredy, T., Szyf, M., & Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming of stress responses through variations in maternal care. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1036*(1), 167-180.
- Fischer, A., Sananbenesi, F., Wang, X., Dobbin, M., & Tsai, L. H. (2007). Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature*, *447*(7141), 178.
- Fone, K. C., & Porkess, M. V. (2008). Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *32*(6), 1087-1102.
- Francis, D., Diorio, J., Liu, D., & Meaney, M. J. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science*, *286*(5442), 1155-1158.
- Francis, D. D., Champagne, F. A., Liu, D., & Meaney, M. J. (1999). Maternal care, gene expression, and the development of individual differences in stress reactivity. *Annals of the New York academy of sciences*, *896*(1), 66-84.

- Francis, D. D., Diorio, J., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (2002). Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. *Journal of Neuroscience*, *22*(18), 7840-7843.
- Gonzalez, A., Lovic, V., Ward, G. R., Wainwright, P. E., & Fleming, A. S. (2001). Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, *38*(1), 11-32.
- Graves, F. C., & Hennessy, M. B. (2000). Comparison of the effects of the mother and an unfamiliar adult female on cortisol and behavioral responses of pre- and postweaning guinea pigs. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, *36*(2), 91-100.
- *Hayes, L. D. (2000). To nest communally or not to nest communally: a review of rodent communal nesting and nursing. *Animal Behaviour*, *59*(4), 677-688.
- Hennessy, M. B., & Moorman, L. (1989). Factors influencing cortisol and behavioral responses to maternal separation in guinea pigs. *Behavioral Neuroscience*, *103*(2), 378.
- Heuser, I., & Lammers, C. H. (2003). Stress and the brain. *Neurobiology of aging*, *24*, S69-S76.
- Hol, T., Van den Berg, C. L., Van Ree, J. M., & Spruijt, B. M. (1999). Isolation during the playperiod in infancy decreases adult social interactions in rats. *Behavioural brain research*, *100*(1-2), 91-97.
- Hughes, R. N. (1997). Intrinsic exploration in animals: motives and measurement. *Behavioural Processes*, *41*(3), 213-226.
- Huot, R. L., Plotsky, P. M., Lenox, R. H., & McNamara, R. K. (2002). Neonatal maternal separation reduces hippocampal mossy fiber density in adult Long Evans rats. *Brain research*, *950*(1-2), 52-63.
- Hutchinson, E., Avery, A., & VandeWoude, S. (2005). Environmental enrichment for laboratory rodents. *ILAR journal*, *46*(2), 148-161.
- Champagne, F. A., Weaver, I. C., Diorio, J., Dymov, S., Szyf, M., & Meaney, M. J. (2006). Maternal care associated with methylation of the estrogen receptor- α 1b promoter and estrogen receptor- α expression in the medial preoptic area of female offspring. *Endocrinology*, *147*(6), 2909-2915.
- Champagne, F. A. (2008). Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. *Frontiers in neuroendocrinology*, *29*(3), 386-397.
- Ikemoto, S., & Panksepp, J. (1992). The effects of early social isolation on the motivation for social play in juvenile rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, *25*(4), 261-274.
- Ishikawa, J., Nishimura, R., & Ishikawa, A. (2015). Early-life stress induces anxiety-like behaviors and activity imbalances in the medial prefrontal cortex and amygdala in adult rats. *European Journal of Neuroscience*, *41*(4), 442-453.
- Jacobson, L., & Sapolsky, R. (1991). The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrine reviews*, *12*(2), 118-134.

- Jaferi, A., & Bhatnagar, S. (2007). Corticotropin-releasing hormone receptors in the medial prefrontal cortex regulate hypothalamic–pituitary–adrenal activity and anxiety-related behavior regardless of prior stress experience. *Brain research*, *1186*, 212-223.
- Kanari, K., Kikusui, T., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2005). Multidimensional structure of anxiety related behavior in early-weaned rats. *Behavioural brain research*, *156*(1), 45-52.
- Kempermann, G., Kuhn, H. G., & Gage, F. H. (1997). More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, *386*(6624), 493.
- Kikusui, T., Isaka, Y., & Mori, Y. (2005). Early weaning deprives mouse pups of maternal care and decreases their maternal behavior in adulthood. *Behavioural brain research*, *162*(2), 200-206.
- Kikusui, T., Nakamura, K., Kakuma, Y., & Mori, Y. (2006). Early weaning augments neuroendocrine stress responses in mice. *Behavioural brain research*, *175*(1), 96-103.
- Kikusui, T., Kiyokawa, Y., & Mori, Y. (2007). Deprivation of mother–pup interaction by early weaning alters myelin formation in male, but not female, ICR mice. *Brain research*, *1133*, 115-122.
- Kikusui, T., Nakamura, K., & Mori, Y. (2008). A review of the behavioral and neurochemical consequences of early weaning in rodents. *Applied animal behaviour science*, *110*(1-2), 73-83.
- Knudsen, E. I. (2004). Sensitive periods in the development of the brain and behavior. *Journal of cognitive neuroscience*, *16*(8), 1412-1425.
- Kodama, Y., Kikusui, T., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2008). Effects of early weaning on anxiety and prefrontal cortical and hippocampal myelination in male and female Wistar rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, *50*(4), 332-342.
- Koe, A. S., Ashokan, A., & Mitra, R. (2016). Short environmental enrichment in adulthood reverses anxiety and basolateral amygdala hypertrophy induced by maternal separation. *Translational psychiatry*, *6*(2), e729
- Koolhaas, J. M., Korte, S. M., De Boer, S. F., Van Der Vegt, B. J., Van Reenen, C. G., Hopster, H., ... & Blokhuis, H. J. (1999). Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *23*(7), 925-935.
- Kosten, T. A., Kim, J. J., & Lee, H. J. (2012). Early life manipulations alter learning and memory in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *36*(9), 1985-2006.
- Künkele, J., & Trillmich, F. (1997). Are precocial young cheaper? Lactation energetics in the guinea pig. *Physiological Zoology*, *70*(5), 589-596.
- Lajud, N., Roque, A., Cajero, M., Gutiérrez-Ospina, G., & Torner, L. (2012). Periodic maternal separation decreases hippocampal neurogenesis without affecting basal corticosterone during the stress hyporesponsive period, but alters HPA axis and coping behavior in adulthood. *Psychoneuroendocrinology*, *37*(3), 410-420.
- Lander, S. S., Linder-Shacham, D., & Gaisler-Salomon, I. (2017). Differential effects of social isolation in adolescent and adult mice on behavior and cortical gene expression. *Behavioural brain research*, *316*, 245-254.
- Lang, P. J., Davis, M., & Öhman, A. (2000). Fear and anxiety: animal models and human cognitive psychophysiology. *Journal of affective disorders*, *61*(3), 137-159.

- Larsson, F., Winblad, B., & Mohammed, A. H. (2002). Psychological stress and environmental adaptation in enriched vs. impoverished housed rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(1), 193-207.
- Laubach, M., Amarante, L. M., Swanson, K., & White, S. R. (2018). What, if anything, is rodent prefrontal cortex? *eNeuro*, 5(5).
- LeDoux, J. (2003). The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cellular and molecular neurobiology*, 23(4-5), 727-738.
- Lemaire, V., Lamarque, S., Le Moal, M., Piazza, P. V., & Abrous, D. N. (2006). Postnatal stimulation of the pups counteracts prenatal stress-induced deficits in hippocampal neurogenesis. *Biological psychiatry*, 59(9), 786-792.
- Levine, S. (1994). The Ontogeny of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. The Influence of Maternal Factors a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 746(1), 275-288.
- Levine, S. (2001). Primary social relationships influence the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Physiology & behavior*, 73(3), 255-260.
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., ... & Meaney, M. J. (1997). Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science*, 277(5332), 1659-1662.
- Livesey, J. H., Evans, M. J., Mulligan, R., & Donald, R. A. (2000). Interactions of CRH, AVP and cortisol in the secretion of ACTH from perfused equine anterior pituitary cells: "permissive" roles for cortisol and CRH. *Endocrine research*, 26(3), 445-463.
- *Lukavská M., (2016). Stres v rané ontogenezi a jeho vliv na rozvoj kognitivních schopností u zvířat. Bakalářská práce. Katedra Zoologie, PřFUK, Praha.
- Mason, J. W. (1968). A review of psychoendocrine research on the sympathetic-adrenal medullary system. *Psychosomatic medicine*, 30(5), 631-653.
- Martin, P. (1984). The meaning of weaning. *Animal behaviour*.
- Martinez, M., Calvo-Torrent, A., & Pico-Alfonso, M. A. (1998). Social defeat and subordination as models of social stress in laboratory rodents: a review. *Aggressive Behavior: Official Journal of the International Society for Research on Aggression*, 24(4), 241-256.
- McEwen, B. S. (2008). Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *European journal of pharmacology*, 583(2-3), 174-185.
- Millstein, R. A., & Holmes, A. (2007). Effects of repeated maternal separation on anxiety- and depression-related phenotypes in different mouse strains. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 31(1), 3-17.
- Monroy, E., Hernández-Torres, E., & Flores, G. (2010). Maternal separation disrupts dendritic morphology of neurons in prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in male rat offspring. *Journal of chemical neuroanatomy*, 40(2), 93-101.
- Morris, R. G. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and motivation*, 12(2), 239-260.
- Nakamura, K., Kikusui, T., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2003). The influence of early weaning on aggressive behavior in mice. *Journal of veterinary medical science*, 65(12), 1347-1349.

- *Nishi, M., Horii-Hayashi, N., Sasagawa, T., & Matsunaga, W. (2013). Effects of early life stress on brain activity: implications from maternal separation model in rodents. *General and comparative endocrinology*, *181*, 306-309.
- Nithianantharajah, J., & Hannan, A. J. (2009). The neurobiology of brain and cognitive reserve: mental and physical activity as modulators of brain disorders. *Progress in neurobiology*, *89*(4), 369-382.
- Núñez, J. F., Ferré, P., Escorihuela, R. M., Tobeña, A., & Fernández-Teruel, A. (1996). Effects of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis, and prolactin reactivity to novelty and conflict. *Physiology & Behavior*, *60*(5), 1355-1359.
- O'Donnell, D., Larocque, S., Seckl, J. R., & Meaney, M. J. (1994). Postnatal handling alters glucocorticoid, but not mineralocorticoid messenger RNA expression in the hippocampus of adult rats. *Molecular Brain Research*, *26*(1-2), 242-248.
- Okuda, H., Tatsumi, K., Makinodan, M., Yamauchi, T., Kishimoto, T., & Wanaka, A. (2009). Environmental enrichment stimulates progenitor cell proliferation in the amygdala. *Journal of Neuroscience Research*, *87*(16), 3546-3553.
- Olton, D. S., Becker, J. T., & Handelmann, G. E. (1979). Hippocampus, space, and memory. *Behavioral and Brain sciences*, *2*(3), 313-322.
- Ono, M., Kikusui, T., Sasaki, N., Ichikawa, M., Mori, Y., & Murakami-Murofushi, K. (2008). Early weaning induces anxiety and precocious myelination in the anterior part of the basolateral amygdala of male Balb/c mice. *Neuroscience*, *156*(4), 1103-1110.
- Oreland, S., Nylander, I., & Pickering, C. (2010). Prolonged maternal separation decreases granule cell number in the dentate gyrus of 3-week-old male rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *28*(2), 139-144.
- Pan, Y., Liu, Y., Young, K. A., Zhang, Z., & Wang, Z. (2009). Post-weaning social isolation alters anxiety-related behavior and neurochemical gene expression in the brain of male prairie voles. *Neuroscience letters*, *454*(1), 67-71.
- Pfister, J. F., Cramer, C. P., & Blass, E. M. (1986). Suckling in rats extended by continuous living with dams and their preweanling litters. *Animal Behaviour*, *34*(2), 415-420.
- Pickering, C., Gustafsson, L., Cebere, A., Nylander, I., & Liljequist, S. (2006). Repeated maternal separation of male Wistar rats alters glutamate receptor expression in the hippocampus but not the prefrontal cortex. *Brain research*, *1099*(1), 101-108.
- Plaut, S. M., & Davis, J. M. (1972). Effects of mother-litter separation on survival, growth, and brain amino acid levels. *Physiology & behavior*, *8*(1), 43-51.
- Poeggel, G., Lange, E., Hase, C., Metzger, M., Gulyaeva, N., & Braun, K. (1999). Maternal separation and early social deprivation in *Octodon degus*: quantitative changes of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase-reactive neurons in the prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Neuroscience*, *94*(2), 497-504.
- Pryce, C. R., Bettschen, D., & Feldon, J. (2001). Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, *38*(4), 239-251.

- *Rainecki, C., Lucion, A. B., & Weinberg, J. (2014). Neonatal handling: an overview of the positive and negative effects. *Developmental psychobiology*, *56*(8), 1613-1625.
- Reul, J. M. H. M., & Kloet, E. D. (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, *117*(6), 2505-2511.
- Ribble, D. O., & Salvioni, M. (1990). Social organization and nest co-occupancy in *Peromyscus californicus*, a monogamous rodent. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *26*(1), 9-15.
- Rice, D., & Barone Jr, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental health perspectives*, *108*(suppl 3), 511-533.
- Río-Álamos, C., Puigdemívol, I. O., Cañete, A., Blázquez, G., Martínez-Membrives, E., Tobeña, A., & Fernandez-Teruel, A. (2015). Neonatal handling decreases unconditioned anxiety, conditioned fear, and improves two-way avoidance acquisition: a study with the inbred Roman high (RHA-I)-and low-avoidance (RLA-I) rats of both sexes. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *9*, 174.
- Río-Álamos, C., Oliveras, I., Piludu, M. A., Gerbolés, C., Cañete, T., Blázquez, G., ... & Fernández-Teruel, A. (2017). Neonatal handling enduringly decreases anxiety and stress responses and reduces hippocampus and amygdala volume in a genetic model of differential anxiety: behavioral-volumetric associations in the Roman rat strains. *European Neuropsychopharmacology*, *27*(2), 146-158.
- Shettleworth, S. J. (2010). Cognition, evolution, and behavior. 2. vydání. Oxford: Oxford University Press, xiii, 700 s. ISBN 978-0-19-531984-2.
- Shimozuru, M., Kodama, Y., Iwasa, T., Kikusui, T., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2007). Early weaning decreases play-fighting behavior during the postweaning developmental period of wistar rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, *49*(4), 343-350.
- Shin, S. Y., Han, S. H., Woo, R. S., Jang, S. H., & Min, S. S. (2016). Adolescent mice show anxiety- and aggressive-like behavior and the reduction of long-term potentiation in mossy fiber-CA3 synapses after neonatal maternal separation. *Neuroscience*, *316*, 221-231.
- Silva-Gomez, A. B., Rojas, D., Juarez, I., & Flores, G. (2003). Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical and hippocampal pyramidal neurons in postweaning social isolation rats. *Brain research*, *983*(1-2), 128-136.
- Smith, S. M., & Vale, W. W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in clinical neuroscience*, *8*(4), 383.
- Stamatakis, A., Stamatakis, A., Pondiki, S., Stamatakis, A., Pondiki, S., Kitraki, E., ... & Stylianopoulou, F. (2008). Effect of neonatal handling on adult rat spatial learning and memory following acute stress. *Stress*, *11*(2), 148-159.
- Starr-Phillips, E. J., & Beery, A. K. (2014). Natural variation in maternal care shapes adult social behavior in rats. *Developmental psychobiology*, *56*(5), 1017-1026.
- Timmer, M., & Sandi, C. (2010). A role for glucocorticoids in the long-term establishment of a social hierarchy. *Psychoneuroendocrinology*, *35*(10), 1543-1552.

- Todeschin, A. S., Winkelmann-Duarte, E. C., Jacob, M. H. V., Aranda, B. C. C., Jacobs, S., Fernandes, M. C., ... & Lucion, A. B. (2009). Effects of neonatal handling on social memory, social interaction, and number of oxytocin and vasopressin neurons in rats. *Hormones and behavior*, *56*(1), 93-100.
- Toth, M., Mikics, E., Tulogdi, A., Aliczki, M., & Haller, J. (2011). Post-weaning social isolation induces abnormal forms of aggression in conjunction with increased glucocorticoid and autonomic stress responses. *Hormones and behavior*, *60*(1), 28-36.
- Tractenberg, S. G., Levandowski, M. L., de Azeredo, L. A., Orso, R., Roithmann, L. G., Hoffmann, E. S., ... & Grassi-Oliveira, R. (2016). An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: evidence from a four-stage methodological systematic review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *68*, 489-503.
- Vallee, M., Mayo, W., Dellu, F., Le Moal, M., Simon, H., & Maccari, S. (1997). Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *Journal of neuroscience*, *17*(7), 2626-2636.
- Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., ... & Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature neuroscience*, *7*(8), 847.
- Weiss, I. C., Pryce, C. R., Jongen-Rêlo, A. L., Nanz-Bahr, N. I., & Feldon, J. (2004). Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural brain research*, *152*(2), 279-295.
- Wewers, D., Kaiser, S., & Sachser, N. (2003). Maternal Separation in Guinea-Pigs: A Study in Behavioural Endocrinology. *Ethology*, *109*(5), 443-453.
- *Žampachová B., (2015). Opakovatelnost a personalita v testech exploračního chování. Diplomová práce. Katedra Zoologie, PřFUK, Praha.