

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Helena Buchtová

Využití bludiště Kolotoč jako testu kognitivního poškození v animálním modelu schizofrenie

Using The Carousel Maze as a test of cognitive disruption in an animal model of schizophrenia

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Eva Landová, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Štěpán Kubík, Ph.D.

Praha, 2012

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, 26.08.2012

Helena Buchtová

Poděkování:

Tímto bych chtěla vyjádřit díky své školitelce Mgr. Evě Landové, Ph.D. a především svému konzultantovi RNDr. Štěpánu Kubíkovi, Ph.D. za jeho trpělivost, ochotu, vítanou pomoc a čas při psaní této práce. Dále bych chtěla poděkovat svým blízkým za jejich podporu a především velkou toleranci v době psaní.

Abstrakt

Prostorového chování zvířat se využívá k modelování lidských kognitivních schopností jako jsou například deklarativní paměť a učení. S narušením kognitivních schopností se setkáváme u řady neuropsychiatrických onemocnění a právě léčba kognitivních potíží patří k nejobtížnějším. Jedním takových onemocnění je schizofrenie. Behaviorální neurochemické i molekulární důkazy ukazují na zásadní roli glutamatergických NMDA receptorů v patogenezi schizofrenie. Narušení funkce těchto receptorů vyvolává řadu změn v chování jedince i fyziologii mozku, včetně dysregulace dopaminergní neurotransmise. Těchto jevů se využívá k modelování schizofrenii-podobných příznaků pomocí systémové aplikace antagonistů NMDA receptorů. Zvláště užitečné jsou animální modely, které kombinují podání těchto látek s behaviorálními testy zaměřenými na specifické kognitivní poškození. Tato práce na základě existujících zjištění ukazuje, že Bludiště Kolotoč je právě takovým behaviorálním testem, který na základě dynamického prostorového učení testuje schopnost koordinace protichůdných informací a upřednostnění těch relevantních.

Klíčová slova: schizofrenie, paměť a učení, prostorová orientace, kognitivní koordinace, animální model schizofrenie, Bludiště Kolotoč, vyhýbání se místu

Abstract

Spatial behaviour of animals is used to model cognitive human abilities such as declarative learning and memory. Cognitive deficits accompany a number of neuropsychiatric disorders and their treatment is most problematic. Schizophrenia is one of these disorders. Behavioral, neurochemical, and molecular evidence point to a critical role of the NMDA glutamatergic receptors in the pathogenesis of schizophrenia. Disruption of their function results in behavioral and physiological changes including dysregulation of the dopaminergic neurotransmission. This fact is used to model schizophrenia-related symptoms by systemic administration of NMDA receptor antagonists. Models combining administration of these drugs with behavioral tests aimed at specific cognitive deficits are of particular interest. This thesis uses existing evidence to show that the Carousel Maze is such a behavioral test, which uses dynamic spatial learning to test the ability to coordinate discordant information and specific use of the relevant cues.

Key words: schizophrenia, learning and memory, spatial orientation, cognitive coordination, animal model of schizophrenia, The Carousel Maze, place avoidance

Seznam zkratk

AAPA: Active Allothetic Place Avoidance

AMPA: kys. α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionová

AP5: kys. D-2-amino-5-fosfonopentanová

CNS: Centrální nervová soustava

EEG: elektroencefalogram

fMRI: funkční magnetická rezonance

GABA: kys. γ -aminomáselná

LTD: Dlouhodobá deprese

LTP: Dlouhodobá potenciace

MK-801: dizocilpin – antagonist NMDA receptoru

MWM: Morrisovo vodní bludiště

NMDA: N-methyl, D-aspartát

PCP: fencyklidin – antagonist NMDA receptoru

PET: pozitronová emisní tomografie

PKM ζ : proteinkináza M zeta – izoforma proteinkinázy C

Obsah

Úvod	8
1 Behaviorální modely jako funkční test mozku	9
1.1 Paměť a její poruchy	9
1.2 Kognitivní mapy a behaviorální úlohy.....	10
2 Synaptická plasticita a NMDA receptor	12
2.1 Synaptická plasticita	12
2.2 NMDA receptor	13
2.2.1 Vztah aktivity NMDA receptorů k synaptické plasticitě a učení.....	13
2.3 Vlastnosti a struktura NMDA receptoru	14
2.4 Antagonisté NMDA receptoru a jejich psychotomimetické účinky.....	16
3 Schizofrenie	16
3.1 Schizofrenie – rozšíření, závažnost, symptomy	16
3.2 Dopaminová vs. glutamatergní hypotéza vzniku schizofrenie	18
3.3 Kognitivní symptomy schizofrenie	19
4 Bludiště Kolotoč (Carousel)	20
4.1 Kognitivní koordinace na Kolotoči.....	20
4.2 Popis aparatury	21
4.3 Využití Bludiště Kolotoč k testování poruch kognitivní koordinace	23
4.4 Validace modelu schizofrenii-podobného chování v bludišti Kolotoč.....	25
Závěr	26
Literatura	27

Úvod

Chování zvířat se využívá ke studiu funkcí mozku pomocí nejrůznějších behaviorálních technik. Jedny z nejrozšířenějších metod pro studium vyšších nervových funkcí jsou prostorová bludiště, která testují kognitivní schopnosti jako je učení nebo paměť prostřednictvím prostorové navigace zvířat. Kromě prostorové paměti lze modelovat i další kognitivní funkce zvířat a sledovat tak vnější projevy funkcí mozku jako je např. schopnost koordinovat rozmanité informace z okolního prostředí. Takovou úlohou je Bludiště Kolotoč – dynamická prostorová úloha, ve které se zvíře vyhýbá neviditelnému místu na rotující aréně. Rotací dochází ke konfliktu informací ze stacionární místnosti a rotující arény, z nichž si zvíře musí vybrat pouze ty relevantní. Bludiště Kolotoč je unikátní právě tím, že na rozdíl od většiny zavedných behaviorálních technik testuje schopnost třídít a koordinovat informace z vnějšího prostředí. Postižení právě těchto schopností je považováno za stěžejní kognitivní deficit u onemocnění jako je schizofrenie. Navržení a používání prostorových úloh umožňuje sledovat také změny funkce mozku vyvolané zásahy jako jsou operativní odstranění nervové tkáně (léze) či podání látek vyvolávajících příznaky připomínající psychózu. Objasnování těchto analogů na behaviorální i neurobiologické bázi umožňuje získávat poznatky nejen o poškozeních, ale také o fungování zdravé nervové soustavy.

V této práci jsem si dala za cíl shrnout současné poznatky v oblasti poškození kognitivních funkcí na úrovních behaviorálních i neurobiologických v souvislosti s využitím prostorové úlohy Bludiště Kolotoč v animálním modelu schizofrenie.

1 Behaviorální modely jako funkční test mozku

Chování jedince je konečným projevem funkcí mozku. Behaviorální techniky zkoumají chování zvířat a umožňují studium mozku, jeho funkcí a poruch. Jednou z nejpřístupnějších vyšších nervových funkcí pro studium u lidí i zvířat je paměť. K modelování kognitivních schopností člověka jako jsou deklarativní paměť či učení je využíváno prostorové chování zvířat. Za tímto účelem bylo navrženo mnoho prostorových úloh, avšak řada aspektů lidského chování stále zůstává nepřístupná modelování pomocí animálních modelů. Navzdory těmto nedostatkům jsou behaviorální úlohy užitečným nástrojem v modelování lidských kognitivních schopností.

1.1 Paměť a její poruchy

Paměť umožňuje organismům včetně člověka využívat vlastní zkušenosti k získávání informací a dovedností, třídít je a ukládat pro budoucí použití. Poruchy paměti se vyskytují u řady onemocnění, ať už se jedná o neurodegenerativní (demence) nebo o neuropsychiatrická (psychózy) onemocnění. Existuje více paralelních rozdělení typů paměti podle délky jejího trvání, obsahu či modality. Podle délky trvání lze paměť klasifikovat jako pracovní, krátkodobou a dlouhodobou. Pracovní paměť umožňuje zaznamenání informací po dobu cca 30 sekund pro jejich další zpracování. Krátkodobá paměť naproti tomu trvá až 30 min, během kterých buď dojde k upevnění informace, kterou zprostředkovává, nebo k jejímu vymizení. Dlouhodobá paměť umožňuje vybavení informací starých v řádech hodin až let (Hynie a Klenerová, 2010). Z uvedeného vyplývá, že v rámci jednoho typu paměti se vyskytují značné rozdíly (např. rozdíl v dlouhodobé paměti v řádu hodin vs. v řádu let), stejně tak je rozdíl ve vybavení si informace po 48 hodinách a 3 týdnech. Podle obsahu jejího obsahu dělíme paměť na deklarativní (explicitní) a nedeklarativní (implicitní). Zatímco obsah deklarativní paměti je vědomě vybavován a lze jej slovně vyjádřit – např. popis zážitků z vlastního života, faktografické znalosti, v případě nedeklarativní paměti tomu tak není – zde se jedná o senzomotorické dovednosti jako např. jízda na kole, čtení převráceného písma apod., které si subjekt nemusí uvědomovat (Rusina, 2004).

Pro studium role jednotlivých mozkových struktur v různých typech paměti je využívána řada metod, jako jsou léze daných struktur, dočasné inaktivace či farmakologické zásahy. Tyto metody rovněž slouží pro modelování neurologických onemocnění. Jedním z nejznámějších případů, který poukázal na význam jednotlivých neurálních struktur pro formování rozdílných typů paměti, je klinická studie o pacientovi HM, který pro nezvladatelné epileptické záchvaty podstoupil zákrok, při kterém mu byly oboustranně odejmuty části mediálních temporálních laloků včetně obou hipokampů. Tento zásah sice odstranil epileptické ložisko, zároveň ale znemožnil utváření nových deklarativních paměťových stop. Nedeklarativní paměť přitom nebyla zasažena. Toto zjištění prokázalo, že oblast mediální temporální kůry a především hipokampus, je zodpovědná za vytváření deklarativních paměťových stop (Scoville a Milner 1957; Squire 2004).

1.2 Kognitivní mapy a behaviorální úlohy

Od 40. let 20. stol. soupeřily dva hlavní směry, zabývající se učením, psychologií a nervovými funkcemi zvířat. První směr animálních psychologů (Behaviorismus) považoval učení zvířat především za soubor reflexních odpovědí podnět-odpověď („stimulus-response“) kladl důraz na motivační složku („reinforcement“) při učení (Skinner 1938; Hall a Gardner 1978). Naproti tomu druhý směr považoval tento pohled za příliš zjednodušující a navrhoval, že zvířata jsou schopna se učit i vztahům mezi jednotlivými stimuly v prostředí („stimulus-stimulus“) bez přítomnosti bezprostřední motivace a mohou tak vytvářet v mozku komplexní reprezentace svého okolí, tzv. kognitivní mapy (Tolman 1948). Na rozdíl od prvního směru jsou procesy mozku spojené s učením považovány za mnohem komplikovanější než pouhé odpovědi na podnět. Přicházející podnět není podle této představy spojen jen s jednou konkrétní odpovědí, nýbrž s celou kognitivní mapou prostředí, která zahrnuje prostorové vztahy v okolí a nakonec vede k reakci zvířete. Na základě této teorie byl proveden experiment, který existenci kognitivních map potvrdil. Když se zvířata se naučila nacházet potravu v určitém segmentu vyvýšeného bludiště, byl původní přístup k tomuto místu zablokován a zvířata musela nalézt jinou cestu. Většina zvířat vybrala správnou "zkratku" k původnímu místu, přestože těmito místy nikdy předtím neprošla a nemohla se tudíž řídit prostými reakcemi typu „podnět-odpověď“. Tento experiment ukázal, že zvířata se neučila pouze „mechanicky“ dojít k cíli naučenou trasou, ale že po jejím uzavření měla povědomí o poloze cíle a dokázala bez předchozí znalosti napoprvé určit správnou trasu. Tato zjištění ovlivnila pohled na neurální procesy a položila základ pozdější komplexní teorie hipokampu jako sídla kognitivní mapy prostředí (O'Keefe a Nadel 1978). Na myšlenku kognitivních map později navázaly další prostorové úlohy, které vyžadují pro své řešení kognitivní funkce

zvířat, jako je, mimo jiné, např. Radiální bludiště, Bludiště Barnesové či Morrisovo vodní bludiště.

Radiální bludiště bylo navrženo jako prostorová úloha pro testování referenční a pracovní paměti potkanů s využitím prostorových orientačních značek, jako jsou lokální pachové značky či vzdálené vizuální orientační body (Olton a Samuelson 1976). Tvoří jej centrální plošina s několika (zpravidla osmi) rameny umístěnými okolo středu. Zvířata mají za úkol nalézt potravu umístěnou na konci (některých) ramen. Princip spočívá v tom, že pro účelné řešení si zvíře musí pamatovat, která ramena už navštívila a která nikoli a v ideálním případě každé navštíví pouze jednou (pracovní paměť). V úlohách testujících dlouhodobou paměť je odměna pouze v některých z ramen a zvíře si musí zapamatovat jejich polohu a hledat pouze v nich. Speciálním případem je tříramenné bludiště (Y), které se používá v úlohách zaměřených na rozlišovací schopnosti zvířat (Stuchlík, 2003).

Bludiště Barnesové vychází z vrozené preference potkanů vyhledávat tmavá místa (Barnes, 1979) Aparaturu tvoří plochá, kruhová deska s otvory po jejím obvodu, z nichž jeden umožňuje zvířatům uniknout do boxu pod bludištěm. Zvířata si tedy musí zapamatovat polohu únikového otvoru s využitím prostorových orientačních bodů v místnosti i těch přímo na povrchu bludiště. Tato úloha bývá považována za suchou analogii Morrisova vodního bludiště (dále níže) vzhledem k jejímu zaměření na hledání jednoho únikového místa (Harrison a Reiserer 2006)

Morrisovo vodní bludiště („Morris Water Maze“ - MWM) je asi vůbec nejrozšířenějším prostorovým bludištěm využívaným ve zvířecích modelech (R. Morris, 1981). Jedná se o kruhovou nádrž s vodou, která může být zakalena mlékem, latexem nebo barvou, ve které je těsně pod hladinou umístěn relativně malý ostrůvek (průměr cca 10 cm), který zvířata nevidí a musí se tedy orientovat podle vzdálených orientačních bodů (tzv. „locale navigation“). Navigace ke skrytému cíli je významně a trvale narušena po celkové lézi hipokampu (Morris a kol. 1982). Je-li cíl viditelný (vyčnívá nad hladinu) jedná se o navigaci trasou („taxon navigation“) a na hipokampu nezávisí (Stuchlík, 2003). MWM je široce využívaná prostorová úloha používaná při zkoumání deficitů navozených lézemi konkrétních mozkových struktur, dočasných inaktivací (Kubík a Fenton 2005) nebo v modelech neuropsychiatrických onemocnění (Stuchlík a kol. 2004; Valeš a kol. 2006). Právě tato úloha vedla k vývoji celé řady dalších behaviorálních testů, koncipovaných jako "suché varianty" MWM, jednímž z nich je i Bludiště Kolotoč, o kterém bude pojednáno ve čtvrté kapitole této práce.

2 Synaptická plasticita a NMDA receptor

2.1 Synaptická plasticita

Jako mechanismus ukládání informace a vytváření paměťových stop v mozku bylo navrženo posilování účinnosti synaptického přenosu mezi současně aktivními neurony a naopak zeslabování spojení mezi neurony, které současně aktivní nejsou – tzv. Hebbovská synaptická plasticita (Hebb, 1949). Aktivitně závislé posilování neuronálních spojení bylo ukázáno v *gyrus dentatus* králíků v anestézii (Bliss a Lømo 1973) a následně také v dalších oblastech mozku jako je CA3 v hipokampu, kde ukázali Debanne a kol. (1998) existenci synaptické plasticity na řezech mozku *in vitro* a dále také ve studiích LTP u bdělých, volně se pohybujících potkanů v oblasti neokortexu a amygdaly (Trepel 1998; Doyère a kol. 2003).

Jako „synaptická plasticita“ je označována změna účinnosti synaptického přenosu mezi dvěma neurony. Pokusy na měkkýších ukázaly, že během dlouhotrvajícího dráždění konkrétní nervové dráhy se zesiluje synaptický přenos mezi neurony, které se těchto synapsí účastní (Hrabětová a Rokyta 1998). Obratlovci vykazují více diferencovaných typů synaptické plasticity. Typy synaptické plasticity jsou klasifikovány podle délky jejich trvání, druhu jejich presynaptických i postsynaptických mechanismů či jejich citlivosti vůči antagonistům specifických receptorů (Malenka a Bear 2004).

Nejdůležitějším typem synaptické plasticity z hlediska tématu této práce je dlouhodobá potenciace („Long-term potentiation“, LTP) závislá na aktivitě NMDA receptorů (Bliss a Collinridge 1993). Tato LTP je závislá na vstupu kationtů vápníku (Ca^{2+}) do buňky, který na většině synapsí v různých oblastech mozku včetně hipokampu umožňují právě NMDA receptory. Vedle aktivace NMDA receptorů může být LTP zprostředkována i aktivací napětově řízených vápníkových kanálů či podtypem AMPA receptorů propustných pro Ca^{2+} ionty (Tsien a kol. 1996). NMDA receptory jsou nezbytné také pro některé formy dlouhotrvající deprese (LTD; Malenka a Bear 2004). Moser a kol. (1998) zkoumali souvislost mezi LTP a učením pomocí saturace LTP. Potkanům implantovali multielektrodu do hipokampu a její opakovanou tetanizací působili kumulativní potenciací. Tato stimulace vedoucí k saturaci LTP způsobila ztrátu schopnosti učení potkanů a dokonce i vybavování si informací nabytých před stimulací. Později se ukázalo, že pokud jsou zvířata před saturací LTP prostřednictvím saturace předtrénována, jsou později navzdory zablokování LTP schopna nového učení, a to stejně rychle jako kontrolní zvířata (Otnaess a kol. 1999). Toto zjištění naznačuje, že hipokampální LTP sama o sobě není nezbytná pro prostorové učení, pokud není současně potřeba také proceduální nebo kontextuální učení. LTP lze analogicky k učení a uchovávání paměťových stop rozdělit na časnou a pozdní fázi LTP. Konstitutivně

aktivní izoforma proteinkinázy C, proteinkináza Mzeta (PKM ζ), byla odhalena jako klíčový faktor pro udržení LTP v pozdní fázi v tkáních hipokampu *in vitro*. Aplikace inhibitoru PKM ζ do hipokampu narušuje udržovací fázi LTP u potkanů *in vivo* a vyvolává tak trvalou ztrátu den i více staré prostorové informace. Tato zjištění ukazují na význam fenoménu dlouhodobé potenciace v učení a uchovávání paměťových stop, a to i v oblasti prostorového učení (Pašćálková a kol. 2006). Uvedená zjištění potvrzují, že synaptická plasticita hraje důležitou roli v procesech učení i paměti včetně prostorové navigace.

2.2 NMDA receptor

2.2.1 Vztah aktivity NMDA receptorů k synaptické plasticitě a učení

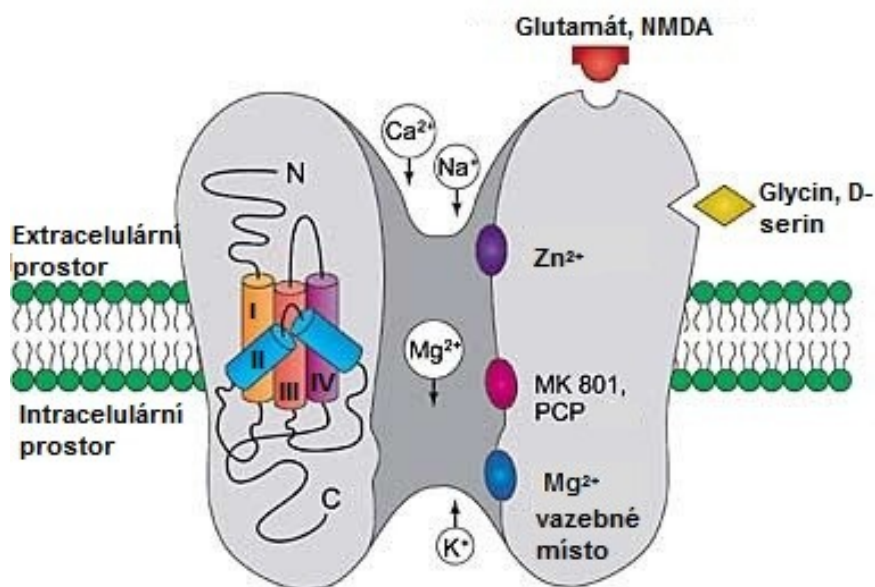
Jak bylo uvedeno výše, NMDA receptory jsou kriticky důležité pro některé formy synaptické plasticity a učení. Narušení funkce NMDA receptorů, např. zablokováním vazebných míst koagonistů nebo iontového kanálu, vede k poruchám paměti a také k narušení LTP. Morris a kol. (1986) zkoumali roli NMDA receptorů v různých typech učení u potkanů *in vivo*. Intraventrikulární injekce antagonisty D,L-2-amino-5-fosfonopentanové kyseliny (AP5) narušily prostorové učení ve vodním bludišti, avšak neovlivnily vizuální diskriminaci ani vybavování prostorových informací. Vedle narušeného učení byla v těchto studiích ukázána i blokáda LTP u zvířat *in vivo*. Použitá koncentrace AP5 postačovala pro zablokování LTP, avšak bez vlivu na normální synaptický přenos. Podobné byly výsledky pokusů užívajících chronické podávání AP5 do hipokampu v úloze „Matching-to-Place“ odvozené z MWM. V této úloze byla poloha ostrůvku měněna každý den a lišila se také délka intervalu mezi první a druhou plavbou. Výsledky ukázaly signifikantně významné, na délce intervalu mezi prvními dvěma plavbami závislé, poškození učení následkem narušení funkce NMDA receptorů. Na histologické úrovni byla navíc zaznamenána negativní korelace mezi množstvím aplikované látky a úrovní LTP (Steele a Morris 1999). Myši s vyřazeným genem pro NR1 podjednotku v hipokampální oblasti CA1 také vykazovaly narušení prostorové navigace ke skrytému cíli ve vodním bludišti, což naznačuje jednoznačný deficit prostorové paměti a učení v souvislosti s nedostatečnou aktivitou synapsí zprostředkovaných NMDA receptory a současně i sníženou LTP (Tsien a kol. 1996). Tyto výsledky podpořily představu, že NMDA receptory se podílejí na procesech synaptické plasticity a jsou nezbytné k vytváření přinejmenším některých typů paměti (prostorové učení). Tuto představu však narušují zjištění, že, podobně jako je tomu s LTP (viz výše), pretrénink bez podání NMDA antagonistů je schopen zcela potlačit škodlivý vliv NMDA antagonismu na prostorové učení ve vodním bludišti (Bannerman a kol. 1995; Saucier a Cain 1995). Vysvětlení tohoto rozporu nabízí teorie tzv. Schémat, podle kterých může i v kortexu probíhat konsolidace paměti velmi rychle

za předpokladu, že existuje již dříve vytvořené schéma – tj. jakási osnova celkové struktury paměťové stopy, do níž mohou být nové informace rychle začleněny. V experimentu ukazujícím existenci takových schémat se potkani učili vytvářet asociace mezi chutí konkrétní potravy a její polohou v aréně, přičemž používali orientační značky z arény i jejího okolí. Zvířata s lézemi hipokampu nejsou schopna se tuto úlohu naučit. Jiná zvířata byla trénována před provedením hipokampálních lézí a po osvojení úlohy byla jim byl prezentován nový typ potravy s umístěním odlišným od předchozího tréninku a následně jim byly provedeny hipokampální léze stejného rozsahu jako v předchozím experimentu v časovém intervalu 24 h od učení se novým podnětům. Nejen, že si lézovaná zvířata úspěšně vybavila původní párové asociace „místo-chuť“, ale pamatovala si i nové asociace, nabyté krátce před operací na základě jediné prezentace. Učení se novým asociacím „místo-chuť“ bylo však po hipokampových lézích stále narušeno, ukazujíc že ani tato rychlá konsolidace není nezávislá na hipokampu. Z těchto zjištění vyplývá, že tvorba paměťových stop pro tyto asociace závisí na hipokampu, že ke konsolidaci nových asociací v neokortexu může docházet ve velice krátkém intervalu – do 48 hodin od učení, nejspíše prostřednictvím neokortikálních schémat, ale že pro rychlé začlenění nové informace do těchto schémat je hipokampus stále potřebný (Tse a kol. 2007).

2.3 Vlastnosti a struktura NMDA receptoru

NMDA receptor (*Obr. 1*) je ligandem řízený ionotropní glutamatergní receptor podobně jako AMPA a kainátové receptory. Název receptoru je odvozen od jeho vysoce selektivního syntetického agonisty, N-metyl-D-aspartátu. Nejdůležitější vlastností NMDA receptoru je, vedle jeho propustnosti pro Ca^{2+} ionty (viz výše), jeho napěťová závislost.

Uvnitř iontového kanálu NMDA receptoru je navázán hořčičný iont (Mg^{2+}), který v klidové fázi kanál blokuje. Teprve po mírné depolarizaci membrány, umožněné zpravidla aktivací glutamátových AMPA receptorů, se Mg^{2+} ionty z kanálu uvolňují a umožňují tak tok sodných (Na^+), draselných (K^+) i vápenatých (Ca^{2+}) iontů kanálem přes membránu. Hlavním agonistou NMDA receptoru je glutamát, nejrozšířenější excitační neurotransmiter v CNS. Vazebné místo pro glutamát může obsadit také chemicky blízka aminokyselina aspartát (Javitt 2007; Chen a Lipton 2006). Vedle glutamátu vyžaduje NMDA receptor také vazbu glycinu, působícího zde jako koagonista (Hons, 2006). Na NMDA receptoru se nacházejí vazebná místa pro řadu dalších látek, včetně kationtů, polyaminů a neurosteroidů, což zvyšuje farmakologický potenciál tohoto typu receptoru (Dingledine a kol. 1999).



Obr. 1 – Struktura NMDA receptoru a jeho vybraná vazebná místa. V levé části obrázku je znázorněna stavba podjednotky receptoru – označení I, III a IV značí transmembránové domény, zatímco II intramembránovou smyčku vytvářející iontový kanál. Jsou zde znázorněna i vazebná místa agonistů, stejně jako nekompetitivních antagonistů MK-801 a PCP. Dále jsou zde vazebná místa pro kationty Zn^{2+} a Mg^{2+} , přičemž Mg^{2+} po obsazení svého vazebného místa uzavírá pór iontového kanálu. (upraveno podle <http://people.usd.edu/~cliff/Courses/Behavioral%20Neuroscience/Transmitters/transmitterfigs/transmitters.html>)

NMDA receptor je tvořen čtyřmi různými proteinovými podjednotkami, jedná se tedy o heterotetramer. NR1 podjednotka, vytvářející osm odlišných izoform, je vždy přítomná a pro činnost receptorů nezbytná. NR2 podjednotky jsou ve svém složení ještě variabilnější a jejich počet se pohybuje od jedné do tří v jednom receptoru. Nejméně zastoupené jsou NR3 podjednotky, které mohou zaujmout místo jedné NR2 podjednotky. Zatímco NR1 podjednotky se vyskytují v NMDA receptorech v celé CNS, zastoupení jednotlivých podtypů NR2 a NR3 podjednotek je v rozdílných mozkových strukturách odlišné, a to jak z hlediska prostorového uspořádání, tak z vývojového (Javitt 2007; Chen a Lipton 2006). Každá podjednotka obsahuje tři transmembránové domény (M1, M3 a M4) a také M2, což je intracelulární pohyblivá smyčka vytvářející pór iontového kanálu. Dvě extracelulární domény značené S1 a S2 na každé podjednotce slouží jako vazebná místa pro agonisty NMDA receptoru. V případně NR1 podjednotky se jedná o dvě molekuly glycinu, v případě podjednotek NR2 či NR3 o dvě molekuly glutamátu (Daniel C Javitt, 2007).

Depolarizace membrány postsynaptického neuronu navozená vysokofrekvenční stimulací během LTP umožňuje aktivaci NMDA receptoru a tím i vtok Ca^{2+} iontů do buňky,

který je nezbytný pro indukci synaptické plasticity (Lynch, 2004) Tyto vlastnosti NMDA receptoru – tedy jak ligandová, tak napěťová senzitivita, a zároveň propustnost pro Ca^{2+} , jej předznamenávají k roli v synaptické plasticitě (Kantrowitz a Javitt 2010).

2.4 **Antagonisté NMDA receptoru a jejich psychotomimetické účinky**

NMDA receptory se uplatňují nejen ve vztahu k synaptické plasticitě a učení, ale hrají roli též při vyvolání psychotomimetických příznaků. Tato skutečnost byla odhalena během 60. let 20. stol., kdy byly prováděny experimenty s fencyklidinem (PCP) a ketaminem. Obě tyto látky patří mezi nekompetitivní antagonisy NMDA receptorů a způsobují psychotické příznaky klinicky nerozlišitelné od těch nalézáných u pacientů trpících schizofrenií (Daniel C Javitt, 2007). Tato skutečnost byla podpořena i objevením dalších blokátorů NMDA receptorů. Wong et al. (1986) testovali uměle syntetizovanou látku dizocilpin (MK-801) na řezech mozkové kůry potkanů *in vitro*. Nejen, že odhalili nového antagonistu NMDA receptorů, ale také poukázali na významný výskyt těchto receptorů v hipokampu a kortexu, strukturách úzce souvisejících s pamětí a učení.

Psychotomimetické vlastnosti antagonistů NMDA receptorů jsou spojovány především s nekompetitivními antagonisy. Nekompetitivní antagonist se váže na vazebné místo receptoru s vysokou afinitou a navíc ireverzibilně, tudíž nemůže být vytlačen nadbytkem agonisty (Golan a kol. 2007). Mezi nejznámější nekompetitivní antagonisy NMDA receptorů patří PCP, ketamin či MK-801. Adler a kol. (1999) testovali myšlení, jazykové a komunikační schopnosti zdravých dobrovolníků, kterým aplikovali subanestické dávky ketaminu a schizofrenních pacientů, kterým ketamin aplikován nebyl. Výsledky nebyly signifikantně odlišné, navíc se u obou skupin shodně vyskytly tři ze čtyř poškození: řečová nedostatečnost, ztráta kontextu řeči a cíle. Tyto skutečnosti jsou základem využití těchto antagonistů k modelování příznaků schizofrenie na zdravých dobrovolnících i v animálních modelech (Bubeníková-Valešová a kol. 2008b).

3 **Schizofrenie**

3.1 **Schizofrenie – rozšíření, závažnost, symptomy**

Schizofrenie je velmi závažné neuropsychiatrické onemocnění postihující celosvětově asi 1 % populace (Daniel C Javitt, 2010). Nejčastěji propuká v rané dospělosti, tudíž významně zasahuje celý produktivní život člověka. Propuknutí choroby pravděpodobně souvisí s přirozenými procesy dozrávání nervové soustavy. Tyto procesy zahrnují zvýšený růst axonů a dendritů podmíněný jejich předchozí aktivitou („experience-dependent proliferation“), programovanou buněčnou smrt, myelinizaci axonů a prořezání („pruning“) synapsí. Vedle neurobiologických procesů se na vzniku onemocnění podílejí i faktory

vnějšího prostředí jako je prenatální poškození, trauma, chronický stres nebo drogová závislost (Lieberman a kol. 2001). Nejdůležitější roli však hrají genetické faktory. Bylo nalezeno mnoho genů s malým účinkem, které mohou přímo souviset se rozvojem onemocnění, což odpovídá skutečnosti, že dědivost schizofrenie dosahuje až 80 % (Tamminga a Holcomb 2005).

Schizofrenie je značně proměnlivé, komplexní onemocnění, které se vyznačuje velkou heterogenitou i zastoupením symptomů. Pojem „schizofrenie“ poprvé použil švýcarský psychiatr E. Bleuler s cílem vyjádřit zásadní rys tohoto onemocnění: rozvrat mezi kognitivní a emocionální složkou osobnosti (Bleuler, 1950). Symptomy schizofrenie se dělí do tří hlavních kategorií – pozitivní, negativní a kognitivní (Daniel C Javitt, 2010). Pozitivní symptomy spočívají ve vnímání zvukových i zrakových vjemů nad rámec běžných zkušeností člověka (halucinace, bludy) a v myšlenkách s neobvyklým obsahem. Negativní symptomy zahrnují „ochuzení“ v emocionálních odpovědích jako je nedostatek spontaneity v chování, emocionální oploštění, podezřavost, sociální stažení, nedůvěřivost až paranoia a dále také abnormální motorika. Poněkud opomíjené zůstaly kognitivní symptomy, které se vydělují v rámci obou výše uvedených kategorií, ačkoliv již rané práce poukázaly na výrazné deficity v kognitivních schopnostech postižených (Kraepelin, 1919) a podle současných poznatků předcházejí manifestaci ostatních symptomů (Barch, 2005). Mezi kognitivní symptomy patří především narušení pozornosti a rychlosti zpracovávání informací, dezorientace, poškození vizuálního a verbálního učení a také pracovní paměti (Javitt 2010; Lazar a kol. 2011). Pro onemocnění je charakteristický společný výskyt více symptomů, přičemž jeden může převládat nad ostatními a ne všechny symptomy musí být přítomny ve všech případech (Tamminga a Holcomb 2005).

Kromě klinických symptomů byla u schizofreniků nalezena řada anatomických, morfologických a také funkčních změn v mozku pomocí zobrazovacích metod jako je funkční magnetická rezonance (fMRI) či pozitronová emisní tomografie (PET). Tyto změny jsou nejčastěji spjaty s mediální temporální oblastí, prefrontální kůrou, ale i dalšími oblastmi mozku jako je např. mozeček. Jak je uvedeno v kapitole 1, oboustranným porušením mediálních temporálních laloků dochází k poruchám deklarativní paměti, popřípadě k jejímu úplnému vymizení. Podobný deficit byl nalezen také u pacientů se schizofrenií, což bylo potvrzeno neuroanatomickými studiemi (Příkryl, 2010). Neuroanatomické studie ukázaly, mimo jiné, i oboustrannou redukci hipokampu, která je patrná jak v raných fázích onemocnění, tak v pozdějších a v některých případech dokonce s progresivním vývojem (Tamminga a kol. 2010) Řada studií dokazuje výrazný úbytek bílé i šedé mozkové tkáně v oblastech mediálních temporálních laloků i prefrontální kůry v souvislosti s rozvojem

negativních symptomů onemocnění (Příkryl a Kučerová 2008). Shenton a kol. (1992) pomocí magnetické rezonance odhalili značný úbytek šedé mozkové hmoty v oblasti levého temporálního laloku u pacientů se schizofrenií. Výsledky zobrazovacích studií se shodují s nálezy získanými z mozků pacientů *post mortem* a navíc ukázaly na přímou úměru mezi úbytkem mozkové tkáně a stupněm závažnosti onemocnění. Dalším specifickým nálezem u pacientů trpících schizofrenií, je hypofrontalita, což je snížení metabolismu glukózy v oblasti mozkové kůry spojené také se sníženým průtokem krve, ať už v klidu nebo během kognitivní úlohy. Toto zjištění bylo replikováno také pomocí pozitronové emisní tomografie (Andreasen a kol. 1997).

3.2 Dopaminová vs. glutamatergní hypotéza vzniku schizofrenie

První teorií popisující neurochemickou podstatou schizofrenie byla dopaminová hypotéza založená na objevení blokujícího účinku antagonisty dopaminových (D2) receptorů haloperidolu (Carlsson a Lindquist 1963). Tato hypotéza předpokládá původ schizofrenních symptomů ve změnách dopaminergní neurotransmise v různých oblastech mozku. Zatímco ve striatu dochází k nadbytku dopaminu, v prefrontální kůře naopak hladina dopaminu klesá. První účinná léčba schizofrenie byla popsána koncem 50. let a zacílila se právě na D2 receptory. Většina prací se na základě těchto poznatků soustředila na dopaminový systém a jeho roli v tomto onemocnění (Carlsson 1988; cit. dle Javitt 2007). Dopaminová hypotéza dobře vysvětluje vznik pozitivních symptomů, avšak téměř vůbec nezahrnuje ostatní příznaky schizofrenie – negativní symptomy ani neuro-kognitivní poškození. Podobně farmakoterapie zacílená na D2 receptory působí především na pozitivní symptomy, zatímco na negativní či kognitivní příznaky účinkuje málo nebo vůbec (Příkryl a Kučerová 2008). Tyto nedostatky stimulovaly hledání alternativních modelů, schopných vysvětlit, popřípadě i přispět k redukcii negativních a kognitivních symptomů. Počátkem 90. let byl navržen nový model založený na psychotomimetických vlastnostech nekompetitivních antagonistů jako je fencyklidin (PCP) a jemu podobné látky, které vyvolávají schizofrenní příznaky prostřednictvím blokády NMDA receptorů (D C Javitt, 1987). Ukázalo se, že nejvýraznější psychotomimetické účinky navozuje nekompetitivní antagonist NMDA receptoru MK-801, který se navíc na dané vazebné místo váže s nejvyšší selektivitou (Wong a kol. 1986). Mechanismus účinku antagonistů NMDA receptorů je spjatý s narušením funkce glutamatergní transmise, což vedlo k formulování glutamatergní hypotézy vzniku schizofrenie. NMDA receptory jsou exprimovány nejen excitačními neurony, kde se účastní procesů vedoucích k LTP, ale i excitace inhibičních interneuronů. Poškozením glutamatergního přenosu na GABAergních inhibičních kortiko-limbických interneuronech dochází paradoxně k desinhibici (tedy

k hyperexcitaci) postsynaptických glutamatergních neuronů po podání NMDA antagonisty a tím i ke zvýšenému uvolňování glutamátu (Moghaddam a kol. 1997; Jackson a kol. 2004). Transgenní myši, u nichž byla postnatálně snížena exprese NR1 podjednotek NMDA receptoru specificky v kortiko-limbických GABAergních interneuronech v dospělosti vykazovaly schizofrenii podobné symptomy zahrnující hyperlokomoci, deficit v sociálních vazbách zvířat včetně péče o potomky a také narušení pracovní a sociální paměti Belforte a kol. (2010). Delece NR1 podjednotky u dospělých zvířat tyto změny nevyvolala. Studie poukázala na význam neurotransmise zprostředkované NMDA receptory na kortikolimbických interneuronech v etiopatogenezi schizofrenie.

Vzájemné interakce mezi NMDA receptory a dopaminergním systémem ukazují na možné sjednocení obou těchto hypotéz a jejich společnou roli v etiopatogenezi schizofrenie (Duncan a kol. 1999). V souladu s touto představou systémové podání nekompetitivních antagonistů NMDA selektivně aktivuje výlev dopaminu v mediální prefrontální kůře potkanů (Moghaddam a kol. 1997).

3.3 Kognitivní symptomy schizofrenie

Kognitivní symptomy jsou považovány za stěžejní projev schizofrenie od počátku 20. století, kdy byly zaznamenány jako nejsnáze rozpoznatelné v řeči nemocného člověka (Bleuler, 1950; Kraepelin, 1919). Asarnow a MacCrimmon (1982) ukázali, že kognitivní deficity přetrvávají napříč různými etapami onemocnění a jsou přítomny u všech pacientů navzdory rozdílům v jejich klinickém stavu. Toto zjištění odpovídá odhalením kognitivních deficitů pozorovaných v různých etapách vývoje u dětí, u kterých později došlo k rozvoji onemocnění (Jones, 1997). Deficity se netýkaly jen motorických dovedností, ale především funkcí řečových. McCarley a kol. (1999) předkládali dospělým schizofrenním pacientům i zdravým kontrolám slova, která sloužila jako vodítka k cílovým výrazům. Tato vodítka byla rozdělena do čtyř tříd podle toho, jak velkou síť slov asociovala a s jakou mírou byla tato slova propojena. Výsledky ukázaly, že zatímco pacienti nevykazují snížení asociací mezi slovy oproti kontrolám, míra propojení slov u nich převažuje nad kontextem. Schizofrenní pacienti nejsou schopni využívat související informace (kontext) při hledání významů cílových slov. Tento deficit se navíc prohlubuje, pokud jsou kontext a cílové slovo vzdáleny v čase. Strandburg a kol. (1997) během jazykových testů měřili neurální aktivitu (EEG). V této studii byla pacientům i zdravým dobrovolníkům promítána vždy dvě slova, která mohla nebo nemusela společně tvořit smysluplné slovní spojení, z nichž řada byla ustálených (idiomy). EEG zdravých dobrovolníků zaznamenala vysokou aktivitu v případě nesmyslných slovních spojení, v případě literárních frází a idiomů aktivita poklesla („priming effect“ –

v kontextu prvního slova známého slovního spojení lze druhé snáze doplnit). Naproti tomu schizofrenici vykazovali zvýšenou aktivitu pro všechna slovní spojení, což naznačuje narušení ve vnímání kontextu. Behaviorální výsledky v souladu s elektrofyziologickým měřením ukázaly, že schizofrenní pacienti jsou pomalejší a méně přesní v rozhodování o významu slovních spojení a vliv kontextu prvního slova na vybavení si literárních frází a idiomů je u nich na rozdíl od zdravých jedinců redukován.

Kognitivní symptomy jsou nejméně přístupné současné farmakoterapii, přestože právě ony působí nejvíce potíží v každodenním životě postižených, znemožňují jim udržet si práci, rodinu a sociální vazby (Příkryl a Kučerová 2008). Až dosud se farmakoterapie zaměřovala především na pozitivní symptomy, léčené pomocí antipsychotik I. typu, popřípadě negativní symptomy léčené atypickými antipsychotiky, přičemž tento typ léčby pacientům neulevuje od kognitivních symptomů, které naopak často ještě prohlubuje (Barch, 2005). Phillips a Silverstein (2003) shrnuli projevy narušení kognitivní koordinace u pacientů trpících schizofrenií a navrhli, že právě toto narušení představuje klíčový deficit u schizofrenie. Ukázali, že poškození kognitivní koordinace souvisí se sníženým tokem iontů kanálem NMDA receptoru a s rozvojem schizofrenie. Navzdory pokroku v poznání molekulárních i klinických aspektů kognitivní koordinace dosud chyběl spolehlivý behaviorální model, který by úspěšně reprezentoval specifický deficit v kognitivní koordinaci a umožnil tak další výzkum v této oblasti.

4 **Bludiště Kolotoč (Carousel)**

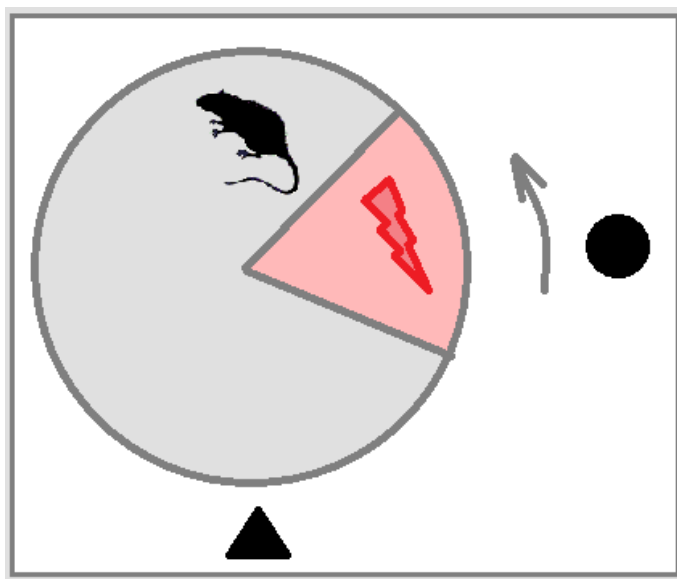
4.1 **Kognitivní koordinace na Kolotoči**

Bludiště Kolotoč (Carousel), nazývané též Vyhýbání se místu (Active Allothetic Place Avoidance - AAPA) bylo vyvinuto během 90. let v laboratoři Neurofyziologie paměti FgÚ AV ČR (Bureš a kol. 1997; Cimadevilla a kol. 2000; přehled Petrásek a kol. 2009). Zvířata pohybující se na plynule rotující aréně mají za úkol se vyhýbat neviditelnému místu definovanému v rámci stacionární místnosti. Pokud do něj vstoupí, dostanou malou elektrickou ranku, která je motivuje místo opustit. V této úloze tedy musí potkani jednak navigovat pomocí vzdálených orientačních bodů (alotetická navigace) a zároveň ignorovat informace vázané k povrchu arény, které jsou vůči řešení úlohy irrelevantní, jako je idiotetická navigace založená na informaci z proprioreceptorů a vestibulárního aparátu a počátku trasy a také navigace pomocí lokálních orientačních bodů na povrchu arény (Stuchlík 2003). Za "běžných" okolností, jaké panují ve většině laboratorních testů, jsou všechny tyto zdroje prostorové informace, pokud jsou k dispozici, ve vzájemné shodě. Na Kolotoči jsou však lokální a distální prostorové značky rozdělovány kontinuální rotací arény. Tím dochází

ke změně polohy orientačních značek na aréně vzhledem ke vzdáleným orientačním značkám místnosti. Zvířata se pro zdárné řešení úlohy musí naučit oddělovat informace z disociovaných prostorových rámců a využívat jen vzdálené orientační body k úspěšnému vyhýbání (Kubík a Fenton, 2005; Wesierska a kol. 2005).

4.2 Popis aparatury

Aparaturu Kolotočového bludiště tvoří uzemněná uniformní kruhová kovová aréna (Cimadevilla a kol. 2000). Aréna je vybavena 5 cm vysokým okrajem, který umožňuje ji zaplnit vodou a tím překrýt lokální orientační značky. Plexisklová stěna brání útěku zvířete z arény (Wesierska a kol. 2005, Petrásek a kol. 2009). Aréna je vybavena motorem, který umožňuje její kontinuální rotaci (1 otáčka/min). Nad aparaturou je zavěšena infračervená kamera snímající pohyb zvířete prostřednictvím zaměřování vzájemné polohy dvou infračervených diod (LED). Jedna je upevněna na kovovém rameni k vnějšímu okraji arény, druhá se nachází na postroji, který nosí zvíře na zádech a je napájena shora vedoucím kabelem. Tímto kabelem je rovněž přiváděn proud pro mírný elektrický šok v proudově-kontrolovaném obvodu, kterým jsou zvířata motivována k vyhýbání. K propojení šokového obvodu slouží injekční jehla, kterou je propíchnuta kožní řasa za krkem zvířete a na jejím ostrém konci je zahnutá špička a vytvořena spirála, která brání vyklouznutí jehly a současně slouží k přichycení krokosvorky kabelu přivádějícího šok (Stuchlík a kol. 2004; Kubík a Fenton 2005; Kubík a kol. 2006). Jeho intenzita je nastavena individuálně tak, aby působil únikovou reakcí zvířete, ale nevyvolával freezing na místě či naučenou bezmocnost. Místo, kde zvíře dostává šok může být definováno vůči místnosti, aréně nebo v obou těchto referenčních rámcích. Místo má tvar kruhové výseče o šíři 60° a není nijak označeno ani vizuálně ani prostřednictvím jiných (např. pachových) vodítek, takže jej zvíře nemůže přímo vnímat a jeho polohu může odvozovat jen podle orientačních bodů v okolním prostředí. Aparatura je umístěna v místnosti vybavené množstvím orientačních bodů. Ty mohou tvořit přímo předměty v místnosti – např. vstupní dveře, stůl apod. nebo výrazné grafické značky umístěné na stěny místnosti. (Stuchlík a kol. 2004; Bubeníková-Valešová a kol. 2008b). Bludiště Kolotoč je využíváno také v řadě modifikací, jejichž účelem jsou zpravidla selektivní manipulace jednotlivých druhů prostorové informace. Prostřednictvím těchto modifikací (Bureš a kol. 1997) zjistili, že během sezení na rotující aréně dochází ke kontinuálnímu rozdělování informací idiotetického a alotetického původu a stejně tak dochází k jejich oddělenému učení, pamatování i zapomínání.



Obr. 2 – Toto zjednodušené schéma znázorňuje bludiště Kolotoč. Potkan má za úkol vyhýbat se zóně s šokem (vyznačená červeně), která je definovaná vůči místnosti, kde aréna rotuje (šedá šipka). Černé geometrické obrazce znázorňují orientační značky umístěné po stěnách experimentální místnosti, Potkan ke zdárnému řešení úlohy musí oddělovat informace z arény a místnosti a orientovat se pouze pomocí referenčního rámce místnosti.

Room+Arena- (Bludiště Kolotoč, AAPA) je varianta úlohy, kde je šok definován vůči místnosti a aréna se kontinuálně otáčí. Informace z obou referenčních rámců – místnosti i arény – jsou tedy přítomny, ale zároveň jsou odděleny rotací arény, což klade vysoké požadavky na koordinaci informace z těchto referenčních rámců.

(Room&Arena)+ (Stabilní aréna) je varianta úlohy na stabilní aréně – bez rotace. Šok může být definován jak vůči místnosti, tak vůči aréně, protože tyto prostorové rámce nejsou odděleny rotací a nedochází tedy ke konfliktu mezi referenčními rámci ani oběma typy informací a koordinace není třeba.

Room+ (Wading) je varianta úlohy na rotující aréně, jejíž povrch pokrývá mělká voda, která smývá pachové značky z povrchu arény. Tím dochází k určitému zjednodušení úlohy, neboť irelevantní pachová informace, která je v rozporu s vzdálenými orientačními body, je zde znehodnocená.

Arena+ je variantou úlohy na rotující arény v neosvětlené místnosti. Orientační body místnosti jsou skryty a zvíře se může orientovat pouze pomocí idiotetické navigace a lokálních značek na aréně a konflikt této navigace s navigací podle vzdálených orientačních značek je oslaben.

Room+Arena+ (Double Avoidance, dvojí vyhýbání) je nejobtížnější varianta, kde je jedno "zakázané" místo definováno v souřadnicovém systému arény, a druhé

v souřadnicovém systému místnosti. Výseče v této variantě nezasahují až do středu arény, aby mezi nimi mohlo zvíře probíhat. Kontinuální rotací totiž dochází k neustálé změně jejich vzájemné polohy a pravidelně i k jejich překryvu. Zvíře tedy musí navigovat jak vůči distálním orientačním bodům v místnosti, tak vůči povrchu arény (Wesierska a kol. 2005).



Obr. 3 – Varianty bludiště Kolotoč (zleva): (Room&Arena)+ zobrazuje variantu vyhýbání se místu na stabilní aréně. Arena+ ilustruje variantu rotující arény v neosvětlené místnosti, přičemž zvíře využívá pouze informaci z povrchu arény a idiotickou navigaci. V Room+ variantě je povrch rotující arény skryt mělkou vodou, zvíře používá idiotickou a alotetickou navigaci. Ve variantě Room+Arena- suchá rotující aréna rotuje. Dochází ke konfliktu prostorových rámců. (upraveno podle Wesierska a kol., 2005)

4.3 Využití Bludiště Kolotoč k testování poruch kognitivní koordinace

(Wesierska a kol. 2005) testovali potkany s jednostrannými inaktivacemi hipokampu pomocí lokálních injekcí tetrodotoxinu (TTX) ve čtyřech variantách této úlohy ve snaze objasnit příčinu narušeného učení – zda se jedná o poškození paměti, navigačních schopností nebo kognitivní koordinace. Zatímco ve variantách (Room&Arena)+ a Arena+ inaktivace nenarušila učení ani pamatování si úlohy, v Room+Arena- došlo k významně horším výsledkům experimentální skupiny. Tento výsledek ukazuje, že schopnost úspěšně řešit úlohu Kolotoč vyžaduje kognitivní koordinaci. Další pokusy ukázaly, že v bludišti Kolotoč naplněném mělkou vodou se zvířata s jednostrannými inaktivacemi hipokampu dokáží vyhýbat místu naučenému před inaktivací, ale nejsou schopna se naučit vyhýbat novému místu. Oproti tomu ve vodním bludišti jsou tato zvířata schopna se naučit navigovat k novému místu, ale mají narušenu navigaci k místu naučenému před inaktivací. Vysvětlení tohoto rozporu spočívá v tom, že zatímco MWM klade největší nároky na schopnost přesné navigace k malému cíli ve velkém bludišti, bludiště Kolotoč vyžaduje především schopnost oddělení reprezentací stacionární místnosti a rotující arény a tyto dvě funkce hipokampu jsou odlišně postiženy inaktivací (Kubík a Fenton 2005). Na tyto experimenty navazují další práce využívající bludiště Kolotoč k testování kognitivních deficitů navozených podáním

antagonistů NMDA receptorů. Stuchlík a kol. (2004) testovali účinek nekompetitivního antagonisty NMDA receptor MK-801 ve dvou dávkách (0,1 a 0,2 mg / kg) na schopnost potkanů řešit úlohu Kolotoč. Účinek MK-801 byl dále testován v MWM. Zatímco v úloze (Room+Arena-) narušila učení pouze vyšší dávka MK-801, v MWM byla schopnost nalézt ostrůvek narušena již při podání nižší dávky. Výsledky ukázaly odlišnou závislost těchto úloh na funkcích NMDA receptorů. V další práci (Stuchlík a Valeš, 2005) testovali vliv pretréninku na účinky MK-801 dávkách (0,15 a 0,2 mg / kg) v Bludišti Kolotoč (Room+Arena-). Intaktní zvířata se učila vyhýbat 4 dny v jedné experimentální aparatuře a pátý den jim byla podána látka MK-801 v dávce buď 0,15 nebo 0,2 mg / kg. Dalších 5 dní byla zvířata trénována v jiné experimentální aréně v jiné místnosti s denním podáváním MK-801 před tréninkem. Vyšší dávka MK-801 zvýšila hyperlokomoci v obou prostředích a způsobila signifikantní deficit funkcí jak v původním, tak v novém prostředí, zatímco nižší dávka způsobila deficit pouze v novém prostředí. Tato práce ukázala, že na rozdíl od efektu narušení synaptické plasticity či funkce NMDA receptorů na prostorové učení ve vodním bludišti (viz výše) předtrénink v Bludišti Kolotoč neodstraňuje deficit způsobený podáním NMDA antagonisty (MK-801) a podporuje předpoklad, že tato úloha je založena na fundamentálně jiném kognitivním procesu (koordinace) než je prostorové učení (Kubík a Fenton 2005). Valeš a kol. (2006) porovnávali účinky MK-801 (0,1 a 0,2 mg / kg) na Kolotoči i v MWM u potkanů kmene Long-Evans a Wistar. Zatímco potkani kmene Wistar vykazovali narušenou schopnost řešit úlohu (Room+Arena-) na Kolotoči již při nižší dávce antagonisty, kdežto schopnost nalézt ostrůvek v MWM u nich narušena nebyla. Schopnosti potkanů kmene Long Evans tato dávka neovlivnila ani v úloze (Room+Arena-) ani v MWM. Po podání vyšší dávky vykazovaly shodně oba kmeny schizofrenii-podobné příznaky jako je hyperlokomoce či neschopnost používat relevantní informaci a nebyly schopny řešit ani jednu z těchto úloh. Tyto výsledky jsou důležité pro modelování kognitivních deficitů schizofrenie a využívání tohoto animálního modelu při hledání potenciálních protektivních látek. V jiné studii byl animální model schizofrenie vyvolaný podáním MK-801 využit k testování látek risperidonu (antagonista serotoninových receptorů), haloperidolu (antagonista dopaminových D2 receptorů) a ritaserinu (antagonista obou výše zmíněných typů receptorů, atypické antipsychotikum). Zatímco risperidon a ritaserin úspěšně redukovali kognitivní deficit v úloze (Room+Arena-) po podání MK-801, haloperidol tento účinek neměl. Navíc se ukázalo, že podání samotného haloperidolu i risperidonu intaktním zvířatům také narušuje schopnost zvířat vyhýbat se místu v úloze (Room+Arena-) na Kolotoči. Ritaserin žádné deficity nevyvolal. Tyto výsledky prokázaly účinnost atypického antipsychotika ritaserinu v působení

proti schizofrenii-podobným symptomům (Bubeníková-Valešová a kol. 2008a) . Podobně byly testovány látky sulpirid (antagonista D2 receptorů) a propranolol (beta-blokátor) na intaktních zvířatech ve snaze prokázat jejich vliv na učení při jejich společném systémovém podání. Obě látky ovlivňují chování zvířat a narušují učení v této úloze. Výsledek naznačuje současný vliv obou typů receptorů na zvládnutí úlohy (Prokopová a kol. 2012)

4.4 **Validace modelu schizofrenii-podobného chování v bludišti Kolotoč**

Navzdory mnoha důkazům o vzniku schizofrenii-podobného chování po podání MK-801 a jeho úspěšného využívání v animálním modelu schizofrenie dosud chyběl doklad o tom, že hlavním poškozením bránícím úspěšnému vyhýbání se na Kolotoči po podání MK-801 je poškození kognitivní koordinace. Možným vysvětlením mohly být narušená kognitivní koordinace, snížená citlivost k šoku, hyperlokomoce nebo celkové poškození učení. K odhalení skutečné příčiny deficitu byla provedena série tří experimentů v různých variantách úlohy na Kolotoči: v prvním experimentu byla zvířata trénována v úloze (Room+Arena-), v druhém (Room&Arena)+ a ve třetím ve variantě Room+. V úloze (Room+Arena-), která vyžaduje vysokou schopnost koordinovat informace z oddělených referenčních rámců, bylo vyhýbání se místu narušeno v souladu s předchozími studiemi. Naproti tomu úloha (Room&Arena)+, která schopnost koordinace nevyžaduje, narušená nebyla, zároveň nebyl sledován vliv na celkovou trasu u obou skupin. Ve variantě Room+ zvýšilo podání MK-801 celkový počet vstupů do zakázaného místa a také celkovou trasu. Zachované učení ve stabilní variantě úlohy, svědčí proti vysvětlení, že k deficitu na rotující suché aréně by mohlo docházet vlivem snížené citlivosti vůči šoku nebo nespecifickým narušením učení. Počet vstupů přepočtený na jednotkovou vzdálenost byl signifikantně zvýšen v Room+Arena-, ale nikoliv v Room+ variantě Kolotoče. Tato zjištění ukazují, že hyperlokomoce nestačí k vysvětlení deficitu v Bludišti Kolotoč, a že snížení potřeby koordinace prostorové informace je doprovázeno méně výrazným deficitem a podporují tezi, že narušení schopnosti vyhýbat se místu na rotující aréně (Kolotoči) v modelu schizofrenie podáním NMDA antagonisty MK-801 je způsobeno poškozením kognitivní koordinace. Toto zjištění přispívá k validaci bludiště Kolotoč jako vhodného animálního modelu, neboť po aplikaci MK-801 dochází k vyvolání schizofrenii-podobných kognitivních deficitů zahrnujících i narušení kognitivní koordinace. Tyto výsledky jsou v současnosti připravovány k publikaci v časopise *Neuropharmacology* (Kubik a kol. nepublikovaná data)

Závěr

Výzkum v oblasti schizofrenie zahrnuje nejen poznatky na úrovni behaviorální, ale i důkazy z oblasti neuroanatomie a morfologie mozku spolu se změnami na úrovni molekulárních mechanismů spojených se vznikem kognitivních deficitů. Současné poznatky shodně poukazují na souvislost mezi poškozením glutamatergní transmise a rozvinutím symptomů pro toto onemocnění typických. Navzdory množství důkazů zůstává stále neodhalena přesná příčina vzniku schizofrenie z velké části podmíněna přítomností kognitivních deficitů již v preklinických fázích onemocnění. Stejně tak není bohužel doposud nebyla nalezena účinná léčba kognitivních deficitů. Velkou nadějí v této oblasti jsou behaviorální úlohy testující kognitivní schopnosti zvířat. Jedním z nich je i Bludiště Kolotoč, vyžadující pro úspěšné řešení oddělování informací ze dvou referenčních rámců. Na základě výsledků řady experimentů bylo ukázáno, že tato úloha úspěšně testuje kognitivní koordinaci v animálním modelu schizofrenie. Tato úloha nachází široké využití nejen pro sledování kognitivních deficitů v modelech neuropsychiatrických onemocnění a testování potenciálně protektivních látek, ale i při objasňování přirozených funkcí zdravého mozku.

Literatura

- Adler, C. M., Malhotra, A. K., Elman, I., Goldberg, T., Egan, M., Pickar, D., & Breier, A. (1999). Comparison of ketamine-induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, *156*(10), 1646–1649. Retrieved from <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/10518181>
- Andreasen, N. C., O’Leary, D. S., Flaum, M., Nopoulos, P., Watkins, G. L., Ponto, L. L. B., & Hichwa, R. D. (1997). Hypofrontality in schizophrenia: distributed dysfunctional circuits in neuroleptic-naïve patients. *The Lancet*, *349*(9067), 1730–1734. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067369608258X>
- Asarnow, R. F., & MacCrimmon, D. J. (1982). Attention/information processing, neuropsychological functioning, and thought disorder during the acute and partial recovery phases of schizophrenia: a longitudinal study. *Psychiatry Research*, *7*(3), 309–319. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6962439>
- Bannerman, D. M., Good, M. A., Butcher, S. P., Ramsay, M., & Morris, R. G. M. (1995). Distinct components of spatial learning revealed by prior training and NMDA receptor blockade. *Nature*, *378*(6553), 182–186. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/378182a0>
- Barch, D. M. (2005). The cognitive neuroscience of schizophrenia. *Annual review of clinical psychology*, *1*, 321–353. Retrieved from <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/17716091>
- Barnes, C. A. (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of comparative and physiological psychology*, *93*(1), 74–104. Retrieved from <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/221551>
- Belforte, J. E., Zsiros, V., Sklar, E. R., Jiang, Z., Yu, G., Li, Y., Quinlan, E. M., et al. (2010). Postnatal NMDA receptor ablation in corticolimbic interneurons confers schizophrenia-like phenotypes. *Nature neuroscience*, *13*(1), 76–83. doi:10.1038/nn.2447. Postnatal
- Bleuler, E. (1950). *Dementia praecox; or, The group of schizophrenias* (p. 548). Oxford: International Universities Press. Retrieved from <http://books.google.cz/books?id=mXV9AAAAMAAJ>
- Bliss, T V P, & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, *232* (2), 331–356. Retrieved from <http://jp.physoc.org/content/232/2/331.abstract>

- Bliss, T. V. P., & Collinridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory : long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, *361*(6407), 31–39. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=4522022>
- Bubeníková-Valešová, V., Horáček, J., Vrajová, M., & Höschl, C. (n.d.). Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *32*(5), 1014–1023. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014976340800050X>
- Bureš, J., Fenton, a a, Kaminsky, Y., & Zinyuk, L. (1997). Place cells and place navigation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *94*(1), 343–50. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2967725&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
- Carlsson, A. (1988). The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *1*(3), 179–186. Retrieved from <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/3075131>
- Carlsson A., & Lindquist M. (1963). EFFECT OF CHLORPROMAZINE OR HALOPERIDOL ON FORMATION OF 3METHOXYTYRAMINE AND NORMETANEPHRINE IN MOUSE BRAIN. *Acta Pharmacologica et Toxicologica (Copenhagen)*, *20*(1), 40_44. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14060771?dopt=Abstract>
- Chen, H.-S. V., & Lipton, S. a. (2006). The chemical biology of clinically tolerated NMDA receptor antagonists. *Journal of neurochemistry*, *97*(6), 1611–26. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.03991.x
- Cimadevilla, J. M., Fenton, a a, & Bures, J. (2000). Functional inactivation of dorsal hippocampus impairs active place avoidance in rats. *Neuroscience letters*, *285*(1), 53–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10788706>
- Debanne, D., Gähwiler, B. H., & Thompson, S. M. (1998). Long-term synaptic plasticity between pairs of individual CA3 pyramidal cells in rat hippocampal slice cultures. *The Journal of physiology*, *507* (Pt 1, 237–47. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2230782&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
- Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., & Traynelis, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological reviews*, *51*(1), 7–61. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10049997>
- Doyère, V., Schafe, G. E., Sigurdsson, T., & LeDoux, J. E. (2003). Long-term potentiation in freely moving rats reveals asymmetries in thalamic and cortical inputs to the lateral amygdala. *European Journal of Neuroscience*, *17*(12), 2703–2715. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02707.x>

- Duncan, G. E., Sheitman, B. B., & Lieberman, J. a. (1999). An integrated view of pathophysiological models of schizophrenia. *Brain research. Brain research reviews*, 29(2-3), 250–64. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10209235>
- Golan, D. E., Tashjian, A. H., Armstrong, E. J., & Armstrong, A. W. (2007). *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy* (p. 985). Lippincott Williams & Wilkins. Retrieved from <http://www.google.cz/books?id=az8uSDkB0mgC>
- Hall, C. S., & Gardner, L. (1978). *Theories of personality* (p. 725). Wiley. Retrieved from <http://books.google.cz/books?id=4HjVJNjUnG4C>
- Harrison, F., & Reiserer, R. (2006). Spatial and nonspatial escape strategies in the Barnes maze. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 13(6), 809–819. doi:10.1101/lm.334306.tors
- Hebb, D. O. (1949). *The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory* (p. 335). New York: Wiley.
- Hons, J. (2006). Nové možnosti farmakologického ovlivnění glutamatergního systému u schizofrenie. *Česká a slovenská psychiatrie*, 102(2), 85–90. Retrieved from http://cspsychiatr.cz/dwnld/CSP_2006_2_85_90.pdf
- Hrabětová, S., & Rokyta, R. (1998). Kde se v mozku tvoří paměť. *Vesmír*, 77, 375–378. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Kde+se+v+mozku+tvorí+paměť+?#0>
- Hynie, S., & Klenerová, V. (2010). Neurobiologie paměti a učení; některé novější poznatky. *Česká a slovenská psychiatrie*, 106(2), 121–122. Retrieved from <http://www.medvik.cz/link/bmc10015819>
- Jackson, M. E., Homayoun, H., & Moghaddam, B. (2004). NMDA receptor hypofunction produces concomitant firing rate potentiation and burst activity reduction in the prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(22), 8467–72. doi:10.1073/pnas.0308455101
- Javitt, D C. (1987). Negative schizophrenic symptomatology and the PCP (phencyclidine) model of schizophrenia. *The Hillside journal of clinical psychiatry*, 9(1), 12–35. Retrieved from <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/2820854>
- Javitt, Daniel C. (2007). Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *International review of neurobiology*, 78(06), 69–108. doi:10.1016/S0074-7742(06)78003-5
- Javitt, Daniel C. (2010). Glutamatergic theories of schizophrenia. *The Israel journal of psychiatry and related sciences*, 47(1), 4–16. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20686195>
- Jones, P. (1997). The early origins of schizophrenia. *British Medical Bulletin*, 53(1), 135–155. Retrieved from <http://bmb.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/53/1/135>

- Kantrowitz, J. T., & Javitt, D. C. (2010). N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia? *Brain research bulletin*, 83(3-4), 108–21. doi:10.1016/j.brainresbull.2010.04.006
- Kraepelin, E. (1919). *Dementia praecox and paraphrenia*. (G. M. Robertson, Ed.) (p. 331). Chicago: Chicago Medical Book Co. Retrieved from <http://books.google.cz/books?id=mJMYQ9HW-FYC>
- Kubík, S., & Fenton, A. a. (2005). Behavioral evidence that segregation and representation are dissociable hippocampal functions. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(40), 9205–12. doi:10.1523/JNEUROSCI.1707-05.2005
- Kubík, Š., Buchtová, H., Valeš, K., & Stuchlík, A. (n.d.). Selective deficit in coordination of dissociated spatial information after systemic dizolcipine (MK-801), 801.
- Kubík, Š., Stuchlík, A., & Fenton, A. A. (2006). Evidence for hippocampal role in place avoidance other than merely memory storage. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 55(4), 445–52. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16238464>
- Lazar, N. L., Neufeld, R. W. J., & Cain, D. P. (2011). Contribution of nonprimate animal models in understanding the etiology of schizophrenia. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN*, 36(4), E5–29. doi:10.1503/jpn.100054
- Lieberman, J. A., Perkins, D., Belger, A., Chakos, M., Jarskog, F., Boteva, K., & Gilmore, J. (2001). The early stages of schizophrenia: speculations on pathogenesis, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Biological psychiatry*, 50(11), 884–897. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322301013038?showall=true>
- Lynch, M. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiological reviews*, 84(1), 87–136. Retrieved from <http://physrev.physiology.org/content/84/1/87.short>
- Malenka, R. C., & Bear, M. F. (2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, 44(1), 5–21. doi:10.1016/j.neuron.2004.09.012
- McCarley, R. W., Niznikiewicz, M. a, Salisbury, D. F., Nestor, P. G., O'Donnell, B. F., Hirayasu, Y., Grunze, H., et al. (1999). Cognitive dysfunction in schizophrenia: unifying basic research and clinical aspects. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 249 Suppl , 69–82. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2855690&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, a, & Daly, D. (1997). Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(8), 2921–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9092613>

- Morris, R. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues*1. *Learning and Motivation*, 12(2), 239–260. doi:doi: 10.1016/0023-9690(81)90020-5
- Morris, R. G., Garrud, P., Rawlins, J. N., & O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. (Arjun Sahgal, Ed.) *Nature*, 297(5868), 681–683. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7088155>
- Moser, E. I., Krobert, K. A., Moser, M. B., & Morris, R. G. (1998). Impaired spatial learning after saturation of long-term potentiation. *Science (New York, N.Y.)*, 281(5385), 2038–2042. Retrieved from <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/9748165>
- Olton, D. S., & Samuelson, R. J. (1976). Journal of Experimental Psychology : Animal Behavior Processes Remembrance of Places Passed : Spatial Memory in Rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 2(2), 97–116.
- Otnaess, M. K., Brun, V. H., Moser, M. B., & Moser, E. I. (1999). Pretraining prevents spatial learning impairment after saturation of hippocampal long-term potentiation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(24), RC49. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10594093>
- O'Keefe, J., & Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map* (p. 570). Clarendon Press. Retrieved from http://books.google.cz/books?id=A_VqAAAAMAAJ
- Pašťálková, E., Serrano, P., Pinkhasova, D., Wallace, E., Fenton, A. A., & Sacktor, T. C. (2006). Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science (New York, N.Y.)*, 313(5790), 1141–4. doi:10.1126/science.1128657
- Petrásek, T., Benkovičová, K., Valeš, K., & Stuchlík, A. A. (2009). Navigační úloha aktivního alotetického vyhýbání se místu (AAPA): užitečná metoda pro hodnocení prostorové kognice a chování laboratorních zvířat. *Psychiatrie*, 13(4), 195–200.
- Phillips, W. a, & Silverstein, S. M. (2003). Convergence of biological and psychological perspectives on cognitive coordination in schizophrenia. *The Behavioral and brain sciences*, 26(1), 65–82; discussion 82–137. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14598440>
- Prokopová, I., Bahník, Š., Doulames, V., Valeš, K., Petrásek, T., Svoboda, J., & Stuchlík, A. (2012). Synergistic effects of dopamine D2-like receptor antagonist sulpiride and beta-blocker propranolol on learning in the Carousel maze, a dry-land spatial navigation task. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 102(1), 151–6. doi:10.1016/j.pbb.2012.04.003
- Příkryl, R. (2010). Narušená epizodická paměť u schizofrenie z pohledu funkčních zobrazovacích metod mozku. *Česká a slovenská psychiatrie*, 106(5), 296–299.
- Příkryl, R., & Kučerová, H. (2008). Negativní příznaky schizofrenie. *Česká a slovenská psychiatrie*, 104(7), 350–357.
- Rusina, R. (2004). Paměť a její poruchy. *Neurologie pro praxi*, (4), 205–207. Retrieved from <http://www.solen.cz/pdfs/neu/2004/04/04.pdf>

- Saucier, D., & Cain, D. P. (1995). Spatial learning without NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *Nature*, 378(6553), 186–189. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/378186a0>
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 12(1), 103–13. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10678523>
- Shenton, M. E., Kikinis, R., Jolesz, F. A., Pollak, S. D., Lemay, M., Wible, C. G., Hokama, H., et al. (1992). Abnormalities of the left temporal lobe and thought disorder in schizophrenia : a quantitative magnetic resonance imaging study. *The New England journal of medicine*, 327(9), 604–612. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=5490199>
- Skinner, B. F. (1938). *The behavior of organisms: an experimental analysis* (p. 457). D. Appleton-Century Company, incorporated. Retrieved from <http://books.google.cz/books?id=13glAAAAMAAJ>
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of learning and memory*, 82(3), 171–7. doi:10.1016/j.nlm.2004.06.005
- Steele, R. J., & Morris, R. G. M. (1999). Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. *Hippocampus*, 9(2), 118–136. Retrieved from [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1999\)9:2<118::AID-HIPO4>3.0.CO](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:2<118::AID-HIPO4>3.0.CO)
- Strandburg, R. J., Marsh, J. T., Brown, W. S., Asarnow, R. F., Guthrie, D., Harper, R., Yee, C. M., et al. (1997). Event-related potential correlates of linguistic information processing in schizophrenics. *Biological psychiatry*, 42(7), 596–608. doi:10.1016/S0006-3223(96)00410-6
- Stuchlík, A. (2003). Prostor a prostorová orientace. *Československá fyziologie*, 52(1), 22–33.
- Stuchlík, A., & Valeš, K. (2005). Systemic administration of MK-801, a non-competitive NMDA-receptor antagonist, elicits a behavioural deficit of rats in the Active Allothetic Place Avoidance (AAPA) task irrespectively of their intact spatial pretraining. *Behavioural brain research*, 159(1), 163–171. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=16684590>
- Stuchlík, A., Řezáčová, L., Valeš, K., Bubeníková, V., & Kubík, Š. (2004). Application of a novel Active Allothetic Place Avoidance task (AAPA) in testing a pharmacological model of psychosis in rats: comparison with the Morris Water Maze. *Neuroscience letters*, 366(2), 162–6. doi:10.1016/j.neulet.2004.05.037
- Stuchlík Aleš. (2003). Space and spatial orientation. *Československá Fyziologie*, 52(1), 22–33. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12693187>
- Tamminga, C. A., & Holcomb, H. H. (2005). Phenotype of schizophrenia: a review and formulation. *Molecular psychiatry*, 10(1), 27–39. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=16411531>

- Tamminga, C., Stan, A. D., & Wagner, A. D. (2010). The hippocampal formation in schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, *167*(October), 1178–1193. Retrieved from <http://psychiatryonline.org/article.aspx?articleid=102464>
- Trepel, C. (1998). Long-term potentiation in the neocortex of the adult, freely moving rat. *Cerebral Cortex*, *8*(8), 719–729. doi:10.1093/cercor/8.8.719
- Tse, D., Langston, R. F., Kakeyama, M., Bethus, I., Spooner, P. A., Wood, E. R., Witter, M. P., et al. (2007). Schemas and Memory Consolidation. *Science*, *316*(5821), 76–82. doi:10.1126/science.1135935
- Tsien, J. Z., Huerta, P. T., & Tonegawa, S. (1996). The Essential Role of Hippocampal CA1 NMDA Receptor-dependent Synaptic Plasticity in Spatial Memory. *Cell*, *87*(7), 1327–1338. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867400818279>
- Valeš, K., Bubeníková-Valešová, V., Klement, D., & Stuchlík, A. (2006). Analysis of sensitivity to MK-801 treatment in a novel active allothetic place avoidance task and in the working memory version of the Morris water maze reveals differences between Long-Evans and Wistar rats. *Neuroscience research*, *55*(4), 383–388. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=17886359>
- Wesierska, M., Dockery, C., & Fenton, A. a. (2005). Beyond memory, navigation, and inhibition: behavioral evidence for hippocampus-dependent cognitive coordination in the rat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *25*(9), 2413–9. doi:10.1523/JNEUROSCI.3962-04.2005
- Wong, E. H., Kemp, J. a, Priestley, T., Knight, a R., Woodruff, G. N., & Iversen, L. L. (1986). The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *83*(18), 7104–8. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=386661&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

