

# **Egy krónikus szkizofrénia állatmodell (WISKET) jellemzése magatartási tesztekkel és a vegetatív működést vizsgáló módszerrel**

A Ph.D. értekezés tézisei

**Büki Alexandra**

Témavezetők: Prof. Dr. Horváth Gyöngyi

Dr. Kékesi Gabriella

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Élettani Intézet

Általános Orvostudományi Kar

Szegedi Tudományegyetem

**Szeged**

**2019**

## PUBLIKÁCIÓK

### Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

I. **Büki A**, Kalmár G, Kekesi G, Benedek G, Nyúl L. G, Horvath G, (2018) Impaired pupillary control in “schizophrenia-like” WISKET rats, *Auton. Neurosci.* 213:34–42. Q2

IF: 2,605

II. **Büki A**, Horvath G, Benedek G, Ducza E, Kekesi G, (2018) Impaired GAD1 expression in schizophrenia-related WISKET rat model with sex-dependent aggressive behavior and motivational deficit, *Genes Brain Behav.* e12507. Q1

IF: 3,496

**Az értekezés alapjául szolgáló közlemények kumulatív impakt faktora: 6,101**

### Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó közlemények:

1) Horvath G, Liszli P, Kekesi G, Büki A, Benedek G, (2019) Cognitive training improves the disturbed behavioral architecture of schizophrenia-like rats, "Wisket". *Physiol. Behav.* 201:70-82. Q1

IF: 2,517

2) Horvath G, Liszli P, Kekesi G, **Büki A**, Benedek G, (2017) Characterization of exploratory activity and learning ability of healthy and "schizophrenia-like" rats in a square corridor system (AMBITUS). *Physiol. Behav.* 169:155-164. Q1

IF: 2,517

3) Kalmár G, **Büki A**, Kekesi G, Horvath G, Nyúl L. G, (2017) Image processing-based automatic pupillometry on infrared videos. *Acta Cybern.* 23:599-613. Q4

IF: 0,87

4) Szűcs E, **Büki A**, Kékesi G, Horváth G, Benyhe S, (2016) Mu-Opioid (MOP) receptor mediated G-protein signaling is impaired in specific brain regions in a rat model of schizophrenia. *Neurosci Lett.* 619:29-33. Q2

IF: 2,159

5) Szűcs E, Dvorácskó S, Tömböly C, **Büki A**, Kékesi G, Horváth G, Benyhe S, (2016) Decreased CB receptor binding and cannabinoid signaling in three brain regions of a rat model of schizophrenia. *Neurosci Lett.* 633:87-93. Q2

IF: 2,159

6) Bohár Z, Nagy-Grócz G, Fejes-Szabó A, Tar L, László AM, **Büki A**, Szabadi N, Vraukó V, Vécsei L, Párdutz A, (2015) Diverse effects of Brilliant Blue G administration in models of trigeminal activation in the rat. *J. Neural. Transm. (Vienna).* 122:1621-1631. Q1

IF: 2,392

**Az összes közlemény kumulatív impakt faktora: 18,818**

## 1. BEVEZETÉS

A szkizofrénia egy komplex, multifaktoriális pszichiátriai betegség. Első tünetei általában fiatal felnőttkorban jelentkeznek, amelyek rendkívül változatos klinikai lefutást mutatnak, a betegek között és egy beteg kórtörténetében is. A tüneteket pozitív, negatív, kognitív és nem specifikus tüneti csoportokba osztják. A pozitív tünetek közé a hallucinációk, téveszmék, a negatívak közé a szociális interakció és emocionális kifejezés zavarai, illetve a motiváció csökkenése és/vagy hiánya sorolható. Kognitív zavarként a figyelmet, információfeldolgozást, problémamegoldást érintő elváltozásokat, valamint a vizuális tanulás és memória romlását figyelhetjük meg. Ezek mellett nem specifikus tünetként a csökkent fájdalomérzékenység és szenzoros kapuzás, és a vegetatív idegrendszeri szabályozás eltérései is előfordulhatnak (csökkent szívfrekvencia variabilitás, hőszabályozás és a pupillomotoros reflexív zavara).

A klinikai megfigyelések a nemek közti eltérésekre utalnak; a nők sokkal gyakrabban mutatnak neurotikus tüneteket, míg a férfiakban már a betegség premorbid szakaszától kezdve súlyosabb kognitív és szociális viselkedési zavarok léphetnek fel (pl. antiszociális személyiségjegyek, agresszió).

A genetikai hajlam és a különböző pre- és posztnatális környezeti faktorok interakciói fontos szerepet játszanak a betegség kialakulásában: az idegrendszer fejlődési rendellenességeit okozhatják, amik később megváltozott neuroplaszticitáshoz és a neurotranszmitter rendszerek kóros működéséhez vezethetnek. A pozitív tünetek hátterében a mezolimbikus dopaminerg rendszer túlműködése, míg a negatív és kognitív tünetek hátterében a mezokortikális pálya alulműködése állhat.

Új terápiás lehetőségek és gyógyszer-támadáspontok kijelöléséhez elengedhetetlen a különféle tünetek széleskörű tanulmányozása, s a betegség pathomechanizmusának minél részletesebb feltárása. Ehhez olyan preklinikai modellek szükségesek, melyek megfelelnek a transzlációs kutatás kritériumainak, azaz megfelelő tüneti hasonlóságot, konstruktív (hasonló vagy azonos kiváltó mechanizmusok) és prediktív (kezelésre adott adekvát válasz) validitást mutatnak az adott betegséggel. Bár a mentális rendellenességeknek mint a szkizofrénia, tökéletes rágcsáló modellje nem létezik, a betegség néhány jellegzetes tünete mint a csökkent szenzoros kapuzás, kognitív és szociális képességek zavara, jól modellezhető állatokban is.

A szkizofrénia állatmodelljeit a kezelés típusától függően az alábbi kategóriákba sorolhatjuk: az idegrendszer fejlődését befolyásoló kezelések, farmakológiai módszerek, illetve

genetikai beavatkozások. Ezek egy-egy beavatkozás által létrehozott tüneteket vizsgálnak. Figyelembe véve azonban, hogy a szkizofrénia humán etológiájában is a genetikai és a különböző környezeti faktorok interakcióját írják le, egyre elfogadottabb a kombinációs modellek alkalmazása, melyek a fent említett beavatkozások együttes alkalmazásával egy sokkal megbízhatóbb, a szkizofrénia tüneteit jobban mutató állatmodell hozható létre.

Kutatócsoportunk egy komplex, krónikus szkizofrénia patkánymodellt fejlesztett ki Wistar patkány fajtából kiindulva, amely a WISKET elnevezést kapta. Modellünkben kombináltuk a fiatalkori szociális izolációt, mint korai stressz tényezőt, a szubkrónikus NMDA receptor antagonistá kezelést, mint farmakológiai kezelést, és a szelektív szaporítást, mint genetikai tényezőt. A szelektív szaporításhoz az állatokat magatartási fenotípusok alapján kategorizáltuk és válogattuk ki. Állatainkban kimutattuk az akut fájdalomérzékenység, a szenzoros kapuzás, a lokomotoros aktivitás, a kognitív képességek és a hőszabályozás zavarát, az elektroencefalográfiai mintázat változásait, továbbá molekuláris-biológiai vizsgálatokkal igazoltuk az opioid és kannabinoid rendszer receptorális eltéréseit.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Kísérleteink fő célja az volt, hogy a WISKET modellt számos, új aspektusból jellemezzük.

- I. Wistar (kontroll) és WISKET csoport hím és nőstény állatainak szociális viselkedését tanulmányoztuk különböző életkorokban.
- II. Az egyszerűsített lyukas tábla tesztben Wistar és WISKET csoport hím és nőstény patkányainak felderítő aktivitását, kognitív funkcióit és szorongásos viselkedését vizsgáltuk.
- III. Egy nemrégiben kifejlesztett kognitív tesztben (AMBITUS) jellemeztük a hím Wistar és WISKET patkányok felderítő aktivitását és tanulási képességét.
- IV. Megfigyeltük a pupillomotoros működést szedált és altatott, hím Wistar és WISKET patkányokban.

### 3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### Kísérleti paradigma

Kísérleteinket az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács engedélyével végeztük (regisztrációs szám: XIV/03285/2011, XIV/1248/2018), melyekben hím és nőstény Wistar (kontroll), és szelektíven szaporított WISKET patkányokat hasonlítottunk össze. Testtömegüket az elválasztástól kezdve hetente rögzítettük. A szelektív szaporítás alapját a minden generáción elvégzett fájdalomérzékenységi és szenzoros kapuzási tesztek (alaptersztek) eredményei képezték (Petrovszki és mtsai., 2013). A születést követő 21. napon (elválasztás) farkelrántási teszttel mértük fel az állatok fájdalomérzékenységét. Ezt 4 hetes szociális izoláció követte, mely alatt a 2–4. hétig ketamin kezelést kaptak az állatok (30 mg/kg intraperitonálisan [i.p.], 4 ml/ttkg, naponta, 5 alkalom/hét, összesen 15 injekció, Calypsol). A kontroll állatokat végig csoportosan, kezelés nélkül tartottuk. Kilenc hetes korukban az állatokat reszocializáltuk és egyhetes kezelésmentes időszak után ismételten elvégeztük a fájdalom, valamint a prepulzus gátlási (*pre-pulse inhibition*, PPI) tesztet, mely a szenzoros kapuzás vizsgálatára alkalmas. A modell további jellemzéséhez az állatokat két kísérletsorozatban vizsgáltuk.

#### I. kísérletsorozat

Az első kísérletsorozatban Wistar és WISKET csoport hím (n=16-21/csoport) és nőstény (n=8-16/csoport) állatait hasonlítottuk össze a szociális viselkedés (3 és 11 hetes korban) és a kognitív funkció vonatkozásában (10 hetes korban).

#### II. kísérletsorozat.

A második kísérletsorozatban hím Wistar (n=31) és WISKET (n=42) állatok kognitív működését (10 hetes korban), és pupillomotoros funkcióit (11 hetes korban) hasonlítottuk össze szedáció és altatás alatt.

#### Alaptersztek

##### Fájdalomérzékenység

Az akut fájdalomérzékenység küszöbértékét a farkelrántási teszttel határozzuk meg. Az állatok farkát 5 cm hosszan forró vízbe mártjuk (48 °C) és a fark kihúzásáig eltelt időt rögzítjük, mint reakció időt („*cut-off*” latencia idő: 20 s [3. hét], 40 s [9. hét]).

### Szenzoros gátlás

Az akusztikus ingerekkel kiváltott *startle* reakciók (megrezenési reflex válasz) gátlásának mértékét a PPI teszttel határozzuk meg. A vizsgálatban két jeltípust alkalmazunk: 95 dB erősségű hangingeret önmagában (*Pulse Alone*, PA, 40 ms), és előinger–ingerpárt (*Prepulse-Pulse*, PP; előinger: 20 ms, 76 dB), ahol az előhangot 150 ms elteltével követte az erős hanginger. Mindkét jeltípus 20 alkalommal fordul elő, random sorrendben. A PPI százalékos értéket az alábbi képlet segítségével számoljuk ki:

$$\% \text{ PPI} = 1 - (\text{startle válasz nagysága a PP-re}) / (\text{startle válasz nagysága PA-ra}) \times 100.$$

## I. kísérletsorozat

### Lyukas tábla teszt

A lyukas tábla (más néven *holeboard*) teszt (80×80×40cm-es négyzet alapú aréna), egy jutalom-alapú kognitív teszt, amelyben kétnapos éheztetést követően puffasztott rizsszemeket (20 mg) használunk pozitív motivációként. Az állatoknak 10 percük van a tesztaréna felfedezésére és a jutalomfalatok (16 db) összegyűjtésére, melyet videofelvételen rögzítünk (WCM-21VF, CNB, China) és offline elemzünk. Az általános aktivitás jellemzésére a lokomotoros (horizontális) aktivitással és ágaskodással (vertikális) eltöltött időt, valamint az első lyuk megszaglásáig és az első jutalomfalat megevéséig eltelt időt használjuk. A mosakodással eltöltött idővel, illetve a hely preferenciával (azaz mennyi időt tölt a centrális zónában) jellemezzük a szorongásos viselkedés mértékét. A tanulási kapacitást a következő képlettel számítjuk ki:

$$\text{Tanulási kapacitás (\%)} = [\text{összegyűjtött jutalomfalatok száma} \times \text{teszt idő (600 s)}] / (\text{összes összegyűjthető jutalomfalat (16)} \times \text{a feladat teljesítéséhez szükséges idő (s)}) \times 100.$$

### Szociális interakció teszt

A 10 percig tartó szociális interakció tesztben (tesztaréna: 15×34×33 cm [4 hetes korban] és 60×34×33 cm [11 hetes korban]) az állatokat párosával vizsgáljuk; az egymás számára ismeretlen párokat csoporton belül, nem és testtömeg szerint alakítjuk ki.

Az állatok szociális viselkedését a tesztaréna fölé helyezett infravörös kamerával (WCM-21VF, CNB, China) rögzítjük az offline kiértékeléshez. Az általános motoros aktivitást az ágaskodással eltöltött idővel mérjük, a mosakodással eltöltött időt pedig szorongó magatartásjelekként értelmezzük. Az állatok szociális érdeklődését az egymás szaglásával eltöltött idő formájában adjuk meg. Agresszióként értékeltük a harc kezdeményezését, a harcokat, lökéseket, taposásokat; elkerülő magatartásként pedig a menekülés gyakoriságát adjuk meg.

## II. kísérletsorozat

### AMBITUS teszt

Az AMBITUS teszt (körkörös, önmagába visszatérő folyosó, a holeboars és a folyosó tesztek speciális kombinációja (külső átmérő 80 cm, folyosó szélessége 8 cm, magassága 50 cm), egy közelmúltban kifejlesztett, szintén jutalom alapú tanulási teszt (puffasztott rizsszem: 20 mg), amellyel rágcásalók, elsősorban patkányok felderítő magatartása és tanulási kapacitása vizsgálható. A folyosó oldalfalaiban 2-2 oldalkamra (5x5x5 cm) található (összesen 16) amelyekbe a jutalomfalatokat helyezzük. A teszt két 5 perces, 1 perc szünettel elválasztott fázisból állt. Az oldalkamrákba való beszaglások száma a felderítő aktivitást adja meg, a tanulási kapacitást az elfogyasztott jutalomfalatok száma alapján ugyanúgy számítjuk ki, mint a lyukas tábla tesztnél.

### Pupilla fényreflex teszt

A pupilla fényreflex teszt egy egyszerű, non-invazív eljárás az autonóm funkciók vizsgálatára. A tesztet két kondícióban vizsgáljuk: az egyik kondícióban az állatokat a vizsgálat előtt 15 perccel diazepam injekcióval enyhén szedáljuk (2.5 mg/kg i.p. Seduxen), míg a másik kondícióban klorál-hidrátal (200 mg/kg i.p. Richter Gedeon Nyrt.) altatjuk. A reflexválaszt egy módosított digitális fényképezőgéppel (Nikon D7000) rögzítjük, a fényreflexet sötétben, infravörös megvilágítás alatt intenzív fénystimulussal (600 ms hosszú, körülbelül 300 cd/m<sup>2</sup> erősségű) váltjuk ki. A válaszreakciót az offline felvételeken, a MATLAB szoftverben készített program segítségével elemezzük.

A program minden képkockán leméri a pupilla átmérőjét, amelyeket az idő függvényében ábrázol. A kapott görbéből összesen 13 paramétert nyerünk ki: alapparamétereket, úgymint a kezdeti, minimum és maximum redilatált átmérő, latencia, kontrakciós amplitúdó, kontrakció mértéke. A reflex dinamikáját leíró paramétereket, úm. kontrakciós idő, minimum régió (*flatness of the curve*), teljes kontrakciós idő, redilatációhoz kapcsolódó paraméterek (25%, 33%, 50%-os kezdeti átmérő eléréséhez szükséges idő a kontrakció után, maximális redilatációhoz szükséges idő).

## 4. STATISZTIKAI ANALÍZIS

Valamennyi eredményünket átlag  $\pm$  SEM értékek formájában adtuk meg. Kísérleti adatainkat a STATISTICA programban (13.4.0.14 verzió, TIBCO Software Inc., Palo Alto, USA) dolgoztuk fel. A magatartási tesztek statisztikai elemzéshez egyutas, ismételt és faktoriális ANOVA tesztet alkalmaztunk. A faktoriális varianciánálisis során a faktorként a csoport (Wistar és a WISKET), a kor, a nem, illetve a pupilla reflex tesztben alkalmazott kondíciók szerepeltek. A korreláció analízishez lineáris regressziót használtunk és a Pearson féle korrelációs koefficienszt adtuk meg. A *post hoc* analízist Newman-Keuls féle tesztel végeztük. Szignifikáns eltérésnek a  $p < 0,05$ -nél állapítottuk meg.

## 5. EREDMÉNYEK

### Alapparaméterek

Korábbi eredményeinkkel összehangban a WISKET állatok a kontrollokhöz képest szignifikáns különbségeket mutattak az alapparaméterek tekintetében:

### Testtömeg

A WISKET állatok testtömege az 5. héttől kezdve a kísérletek végéig szignifikánsan kisebb volt a Wistar állatokéhoz képest mindkét kísérletsorozatban. Az 1. tesztsorozatban a nemek közti eltérés is megfigyelhető volt, a nőstény WISKET állatok testtömege volt a legkisebb a többi csoporthoz képest.

### Fájdalomérzékenység

A fájdalomérzékenység tesztben nem- és korfüggő különbséget mutattunk ki a WISKET csoportban, míg a Wistar patkányok fájdalomküszöbét csak a kor befolyásolta. A WISKET állatok fájdalomküszöbe mindkét tesztsorozatban szignifikánsan magasabb volt a Wistar patkányokéhoz képest. A többi csoporthoz képest a 9 hetes hím állatoknak volt a leghosszabb reakció ideje.

### Szenzoros gátlás

Mindkét kísérletsorozatban alacsonyabb volt a szenzoros gátlás a WISKET csoportban, szignifikáns különbséget a hím WISKET és Wistar állatok között találtunk.



## I. kísérletsorozat

### Lyukas tábla teszt

A hím WISKET állatok kevesebbet mozogtak a kontroll és a nőstény patkányokhoz képest, és rövidebb ideig ágaskodtak a Wistar csoporthoz képest, viszont szignifikánsan több időt fordítottak mosakodásra a többi csoporthoz képest. A centrális területen a hím és nőstény WISKET állatok is szignifikánsan kevesebb időt töltöttek a kontroll csoportokhoz képest.

A WISKET állatok tanulási kapacitása szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll csoporthoz képest, és közel szignifikáns a nem tekintetében ( $p=0.072$ ). A *post hoc* analízis szignifikánsan jobb tanulási kapacitást mutatott a nőstény WISKET állatokban a hím WISKET patkányokhoz képest. Az első lyuk szaglásáig és az első jutalomfalat megevéséig eltelt idő szignifikánsan megnyúlt a WISKET csoportban a Wistar csoporthoz képest.

### Szociális interakció teszt

Az ágaskodással töltött idő a korrallal emelkedett minden csoportban, de a WISKET csoport aktivitása mindkét vizsgált életkorban szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll állatokhoz viszonyítva. A nőstény Wistar patkányok szignifikánsan több időt töltöttek ágaskodással a hímekhez képest, viszont ez a különbség a WISKET állatokban nem volt megfigyelhető. A mosakodásra fordított idő csökkent a korrallal, különösen a nőstény (Wistar és WISKET) csoportokban, a *post hoc* analízis szignifikáns csökkenést mutatott a felnőtt Wistar nőstény állatokban a hímekhez képest.

A szociális érdeklődés minden csoportban csökkent a korrallal. A hím WISKET állatokban az agresszív és az elkerülő viselkedési események száma viszont emelkedett a korrallal: a felnőtt hím WISKET állatokban figyeltük meg a legtöbb agresszív eseményt és menekülési reakciót. Ez a viselkedés a többi csoport állataiban nem volt jellemző; a nőstény WISKET állatok szociális viselkedése nem mutatott eltérést a kontrollokhoz képest.

## II. kísérletsorozat

### AMBITUS teszt

A Wistar patkányok felderítő aktivitása fokozódott, tanulási kapacitásuk javult a teszt második fázisában, ami nem volt jellemző a WISKET állatokra. A WISKET csoport állatai mindkét fázis során kevesebb oldalkamrába szagoltak be, és kevesebb jutalomfalatot gyűjtöttek össze, ami összességében alacsonyabb tanulási kapacitásban nyilvánult meg.

### Pupilla fényreflex teszt

Az intenzív fénystimulus minden csoportban és kondícióban egy gyors pupilla szűkületet és egy lassabb dilatációs választ váltott ki.

A szedált állatokban 5 paraméterben mutatott szignifikáns különbséget az ANOVA analízis. A WISKET patkányokban a kontroll állatokhoz képest a kezdeti és a minimum pupilla átmérő szignifikánsan nagyobb, a minimum régió és a teljes kontrakciós idő szignifikánsan rövidebb, illetve a kontrakció mértéke szignifikánsan nagyobb volt. A redilatáció folyamatában nem volt különbség a két csoport között, jóllehet a szedáció csak rövidebb rögzítési és elemzési időt tett lehetővé.

Az altatott állatokban csak egy paraméterben volt szignifikáns különbség a két csoport között, a WISKET állatok minimum pupilla átmérője szignifikánsan nagyobb volt, mint a Wistar patkányoké. A kontrakció mértéke közel szignifikáns különbséget mutatott a két csoport között ( $p=0,064$ ). A redilatációs idő tendenciájában rövidebb volt a WISKET állatokban.

A két kondíciót összehasonlítva, az altatás szignifikánsan megnyújtotta a kontrakció és redilatáció időtartamát, illetve szignifikánsan megnövelte a kontrakció mértékét. A korrelációs analízis során összefüggést találtunk mindkét csoportban és kondícióban a kezdeti és a minimum pupilla átmérő között, illetve a kezdeti pupilla átmérő és a kontrakció amplitúdója között. A WISKET csoportban a szignifikáns korrelációk száma magasabb volt, különösen a második kondícióban (korrelációk száma: szedáció: WISKET: 12, Wistar: 10; altatás: WISKET: 26, Wistar: 15).

## 6. MEGBESZÉLÉS

### Általános motoros aktivitás

A motoros aktivitás eltérései gyakoriak a szkizofrén betegekben, a csökkent aktivitás a negatív, míg az emelkedett motoros aktivitás a pozitív tünetek dominanciája esetén jellemző. A szkizofrénia állatmodellekben emelkedett/csökkent és változatlan motoros aktivitást is megfigyeltek. Tanulmányunkban kimutattuk, hogy az általános motoros aktivitás (ágaskodás, mozgással töltött idő) különösen a felnőtt hím WISKET állatokban csökkent.

A mosakodást az általános motoros aktivitás közé sorolhatjuk, de egyben a szorongás egyik jellemző megnyilvánulási formája is lehet. Ez a fiatal állatokra jellemző sztereotip viselkedésforma a szociális interakció tesztben is megfigyelhető volt. A fiatal állatok (tekintet nélkül nemre és csoportra) több időt töltöttek a mosakodással. A hím felnőtt WISKET patkányokban a fokozott mosakodás (szociális interakció és lyukas tábla teszt) megemelkedése, illetve a nyílt területen töltött idő lerövidülése (lyukas tábla teszt) együttesen a szorongást és a stressztűrő képesség csökkenését jelezheti.

### Kognitív funkciók

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy egyszerű magatartási tesztek (lyukas tábla és az AMBITUS teszt) is alkalmasak a kognitív zavarok detektálására. A WISKET csoport mind a két kognitív tesztben csökkent tanulási kapacitást mutatott, ami párhuzamba állítható korábbi eredményeinkkel.

A kognitív funkciók nemek közti eltéréseit számos kutatócsoport kimutatta szkizofrén betegekben, de csak néhány „two-hit” kombinációs állatmodell foglalkozott ennek vizsgálatával. Az elválasztás utáni izolációt és posztnatális MK-801 (dizocilpin) vagy PCP (fenciklidin) adását kombinálva sokkal súlyosabb zavarokat figyeltek meg a felismerés és az emlékezés folyamatában a már felnőtt patkányokban, mint egyetlen beavatkozást követően. A nőstény állatok teljesítményét a komplex kezelés kevésbé befolyásolta, míg a hím állatok nagyfokú érzékenységet mutattak a kezelésekre. A hím állatok alacsony stressztűrő képességét a nemek közti agyi morfológiai és neurokémiai eltéréseknek tulajdonítják.

### **Szociális viselkedés**

A társas és az agresszív viselkedés nemek közötti eltéréseit elsőként igazoltuk egy „*multi-hit*” szkizofrénia patkánymodellben. A felnőtt hím WISKET patkányokban kimutattuk a szociális viselkedési eltéréseket, míg a nőstény WISKET csoportban nem találtunk szignifikáns különbséget sem elválasztást követően, sem felnőtt korban.

A szkizofrénia kutatásban a szociális viselkedést nagyrészt hím állatokon vizsgálták, csupán néhány tanulmány foglalkozott a nemek összehasonlításával, amelyekben a hím állatok csökkent szociális érdeklődését és az elkerülő magatartás fokozódását figyelték meg: nőstény állatokban is megfigyelték az agresszív események gyakoribb előfordulását fiatalkori izoláció után.

### **Vegetatív idegrendszeri funkciók**

A Wistar patkányok pupillometriás paraméterei összhangban vannak a korábbi rágcsáló tanulmányok eredményeivel, tehát az általunk alkalmazott módszer alkalmas a pupillafunkciók vizsgálatára.

A vegetatív idegrendszer egyensúlyának zavarára utalhat a WISKET alfajta pupilla reflex működésében és termoregulációjában (korábbi tanulmány) kimutatott elváltozások.

A szkizofrén betegekben végzett pupillometriai mérések eredményei ugyan ellentmondásosak egyes paramétereket illetően, de a közelmúltban végzett vizsgálatok szignifikánsan nagyobb nyugalmi pupillaátmérőről, a kontrakció mértékének csökkenéséről és változatlan latenciáról számolnak be. Egy másik klinikai tanulmányban a kontrakciós idő rövidülését és korai redilatációt írtak le a betegekben vizuális stimulációt követően. Mindezek a megfigyelések összhangban állnak eredményeinkkel, alátámasztva állatmodellünk validitását.

### **Kísérletet behatároló tényezők**

A WISKET elnevezésű komplex állatmodellt eredetileg a szkizofrénia modellezésére fejlesztettük ki. Az általunk vizsgált tünetek közül néhány átfedést mutat az autizmus spektrum zavarral.

Az első kísérletsorozatban alkalmazott szociális interakció teszt egy gyors és robusztus módszer a fajtársak iránti érdeklődés, az agresszió és elkerülő magatartás felmérésére, de a szociális viselkedés különböző aspektusainak tanulmányozására különféle egyéb tesztek is (pl. rezidens-betolakodó, három kamrás, cső teszt) használható.

A második kísérletsorozatban a pupilla fényreflex tesztben csak hím patkányokat vizsgáltunk, de nem találtunk irodalmi adatokat az autonóm idegrendszeri elváltozások nemek közti különbségéről szkizofrén betegekben.

## 7. Következtetés

A komplex kezelést követően WISKET állatok számos, szkizofréniára jellemző tüneti elváltozást mutattak. Mindkét tesztsorozatban kimutattuk a fájdalomérzékenység csökkenését, szenzoros kapuzási zavart, a csökkent tanulási kapacitást és felfedező aktivitást a WISKET csoportban. Az első tesztsorozat az elváltozások nemek közti eltéréseit tárta fel: a hím WISKET patkányok csökkent tanulási kapacitást, fokozott agresszivitást és szorongást mutattak, míg ezek az elváltozások a nőstény patkányokban kevésbé voltak kifejezettek. A második tesztsorozatban a pupillomotoros elváltozások a korábban már kimutatott termoregulációs zavarral összhangban a szimpatikus és paraszimpatikus idegrendszer egyensúlyának felborulását támasztják alá, bár a vizsgálat eredményeit jelentősen befolyásolta a szedációhoz / altatáshoz használt anyag.

### **Klinikai jelentősége**

A kezeletlen szkizofrén betegekben gyakran megfigyelt megemelkedett szimpatikus aktivitás nagymértékben csökkenti a várható élettartamot, illetve megemeli a különböző kardiovaszkuláris betegségek mortalitási rátáját. A gyors és egyszerűen kivitelezhető pupilla fényreflex teszt klinikai gyakorlatba történő bevezetésével könnyen detektálható és nyomon követhető lenne a betegek autonóm idegrendszeri aktivitása, ami megelőzési céllal hozzájárulhatna a kardiovaszkuláris események kockázatának csökkentéséhez.

Tanulmányunk alátámasztotta állatmodellünk tüneti és konstruktív validitását, ami megerősíti a modell transzlációs hasznosíthatóságát a negatív és kognitív tünetek kezelésére alkalmas gyógyszerjelöltek preklinikai vizsgálataira.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

Tanulmányunkban az új, komplex, krónikus szkizofrénia-szerű WISKET elnevezésű patkánymodellünk részletes jellemzésének eredményei a következő:

1. Összhangban a korábbi tanulmányainkkal a Wistar és WISKET állatok között mindkét testsorozatban szignifikáns különbség volt az alap magatartási paraméterekben.
2. A hím WISKET patkányok csökkent tanulási kapacitást, felderítő és lokomotoros aktivitást mutattak.
3. A WISKET csoport állataiban megemelkedett a szorongásos viselkedés mértéke.
4. A szociális érdeklődés minden állatban csökkent az életkorral, a hím WISKET patkányokban fokozott agresszivitás és elkerülő viselkedés volt jellemző.
5. Szedáció alatt a WISKET állatokban nagyobb kezdeti és minimum pupillaátmérőt, a kontrakció mértékének csökkenését és megnyúlt kontrakciós idő mutattunk ki.
6. Az altatószer lassította a reflexet, csak a minimum pupillaátmérő volt nagyobb a WISKET állatokban.

Összefoglalva: a kísérletünkből nyert eredményeink párhuzamba állítható korábbi humán és patkányokban elvégzett kísérletekkel. Alátámasztják, hogy a WISKET patkány modell megfelelően szimulálja a szkizofrén betegekben megfigyelhető magatartásbeli és autonóm zavarokat, és ezzel igazolják állatmodellünk fenotípusos validitását ezen elváltozások tekintetében.

## 9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Először is szeretném megköszönni témavezetőimnek, Horváth Gyöngyi Professor Asszonynak és Dr. Kékesi Gabriellának, nemcsak a szakmai útmutatásukat, de a mindennapokban tőlük kapott segítséget, támogatást.

Tisztelettel köszönöm Jancsó Gábor Professor Úrnak, hogy támogatta az Elméleti Doktori Iskola „Idegtudomány” programjában való részvételemet. Köszönettel tartozom az Intézet vezetőjének Sáry Gyula Professor Úrnak hogy lehetővé tette számomra, hogy kutatásaimat az Élettani Intézetben végezhessem. Köszönöm Benedek György Professor Úrnak is, hogy támogatta intézeti munkámat.

Hálás köszönettel tartozom Ábrahám-Tandari Ágnesnek a laboratóriumi munkák során nyújtott rengeteg segítségével és türelméért, Liszli Péternek a kísérleti berendezések és eszközök összeszerelésében, és beállításában nyújtott műszaki segítségével, és az Élettani Intézet minden volt és jelenlegi munkatársának.

Külön köszönet illeti Kalmár Györgyöt és Dr. Nyúl G. Lászlót, az SZTE TTIK Képfeldolgozás és Számítógépes Grafika Tanszékről a kooperáció biztosításáért.

Végül, de nem utolsó sorban hálásan köszönöm szüleimnek, családomnak és barátaimnak a tanulmányaim során nyújtott szüntelen támogatásukat és bátorításukat.

A dolgozat alapját képező tanulmányokat a GINOP pályázat (GINOP-2.3.3-15-2016-00031) és a jelölt által elnyert ÚNKP-17-3 ösztöndíj (UNKP-17-3-IV-SZTE-5) támogatta.