

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

**Psühhoosi laadse seisundi mudeldamine Bl6 ja 129Sv hiirelinides ning *ErbB1*
geeniekspressioon aju frontaalkoores**

Bakalaureusetöö

12 EAP

Magdalena Žoržoliani

Juhendajad

PhD Jane Varul

PhD Lilian Kadaja-Saarepuu

TARTU 2023

INFOLEHT

Psühhoosi laadse seisundi mudeldamine Bl6 ja 129Sv hiireliinides ning *ErbB1* geeniekspressioon aju frontaalkoores

ErbB1 on retseptor-türosiinkinaas, mis valdavalt paikneb aju GABA-neuronite ja astrotsüütide pinnal. ErbB1 juhib närvirakkude kasvu, arengut ja migratsiooni. Kõrvalekaldeid ErbB1 ekspressioonis on seostatud psühhiaatriliste haigustega, näiteks skisofreenia. Skisofreenial on lai haiguspilt ja võivad esineda psühhootilised episoodid, mille käigus inimene kaotab reaalsustaju ja kogeb hallutsinatsioone. Kuna hetkeseisuga pole skisofreenia väljaravitav, on eesmärgiks võimalikult varajane diagnoosimine ja sümptomite leevendus. Käesolevas uurimustöös kasutati kahte mudellooma, Bl6 ja 129Sv, kellele psühhoosi indutseerimiseks manustati amfetamiini. Võrreldi loomade liikumisaktiivsust, kehakaalum muutust ja *ErbB1* ekspressiooni frontaalkoores. Selgus, et 129Sv hiired on stressitundlikumad ja amfetamiin tingis neil suurema liikumisaktiivsuse variatsiooni. Arvestades geeniekspressiooni tulemusi ja käitumisuuringuid, võiks 129Sv hiireliin võrreldes Bl6 hiirtega pakkuda paremaid võimalusi kohanemisega seotud häirete uurimiseks.

Märksõnad: amfetamiin, psühhoos, skisofreenia, ErbB1, mudelorganism

CERCS: B470 Füsioloogia, biomeditsiin

Modelling psychosis-like symptoms in Bl6 and 129Sv mouse strains and evaluating the *ErbB1* gene expression levels in the frontal cortex

ErbB1 is a receptor tyrosine kinase that predominantly is located on GABA neurons and astrocytes in the brain. ErbB1 controls nerve cell growth, development and migration. Abnormalities in ErbB1 expression have been associated with psychiatric diseases such as schizophrenia. Schizophrenia has a broad variety of symptoms and psychotic episodes can occur, where a person loses the sense of reality and experiences hallucinations. Since schizophrenia is currently not curable, the goal is to diagnose it as early as possible and alleviate the symptoms. The present study used two animal models, Bl6 and 129Sv, which were administered amphetamine to induce psychosis. Animal locomotor activity, body weight change and *ErbB1* gene expression in the frontal cortex were compared. It turned out that 129Sv mice are more sensitive to stress and thus, amphetamine caused them to have a greater variation in locomotor activity. Considering the results of gene expression and behavioral studies, the 129Sv mouse line could offer better opportunities for studying adaptation-related disorders compared to Bl6.

Keywords: amphetamine, psychosis, schizophrenia, ErbB1, model organism

CERCS: B470 Physiology, biomedicine

SISUKORD

INFOLEHT	2
SISUKORD	3
KASUTATUD LÜHENDID	5
SISSEJUHATUS	7
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	8
1.1. Aju ehitus	8
1.2. Närvivõrgustikud	9
1.3. Frontaalkoore võrdlus inimesel ja hiirel	10
1.4. Kognitsioon	11
1.5. Frontaalkoor ja psühhiaatrilised haigused	12
1.6. Hiired prekliinilistes uuringutes	13
1.6.1. B16 hiireliin	13
1.6.2. 129Sv hiireliin	14
1.7. Psühhiaatriline haigus - skisofreenia	15
1.8. Skisofreenialaadse olukorra mudeldamine hiirtel	17
1.9. ErbB perekonna retseptor-türosiinkinaasid	18
1.9.1. ErbB-molekulid	19
1.9.2. ErbB1 retseptoriga seonduvad ligandid	21
2. EKSPERIMENTAALOSA	23
2.1. Töö eesmärgid	23
2.2. Materjalid ja meetodika	24
2.2.1. Katseloomad	24
2.2.2. Liikumisaktiivsuse test	26
2.2.3. Koeproovid	26
2.2.4. RNA eraldamine	27
2.2.5. Genoomse DNA eraldamine ja DNaaS I töötlus	28
2.2.6. cDNA süntees	28
2.2.7. Kvantitatiivne reaalaaja PCR (qPCR)	29
2.2.8. Andmete statistiline analüüs	29

2.3. Tulemused	30
2.3.1. 129Sv hiireliinis kehakaal langes	30
2.3.2. B16 hiireliinis püsis kehakaal muutumatuna	31
2.3.3. Korduv amfetamiini manustamine tekitas B16 ja 12Sv hiireliinides liikumisaktiivsuse tõusu	31
2.3.4. Erbb1 geeniekspressioon frontaalkoores oli kõrgem 129Sv hiireliinis	32
2.4. Arutelu	33
2.4.1. Farmakoloogilise katse mõju kehakaalule	34
2.4.2. Farmakoloogilise katse mõju liikumisele	34
2.4.3. Erbb1 geeniekspressioon	35
KOKKUVÕTE	36
RESÜMEE	37
TÄNUSÕNAD	38
KASUTATUD KIRJANDUS	39
LIHTLITSENTS	52

KASUTATUD LÜHENDID

α -AAA - α -aminoadipaathappe (ingl *α -aminoadipic acid*)

ACA - eesmine vööala (ingl *anterior cingulate area*)

ACC - eesmine vöökäär (ingl *anterior cingulate cortex*; lad *gyrus cinguli*)

AK - akuutse amfetamiini saajad

AKT - proteiinkinaas B (ingl *protein kinase B*)

AL - agranulaarne insulaarala

Amf - amfetamiin

AMPA - alfa-amino-3-hüdroksüül-5-metüül-4-isoksasoolpropioonhape (ingl *α -amino-3 hydroxyl-5-methyl-4-isoxanole-propionate*)

AR - ampireguliin (ingl *amphiregulin*)

Bl6 - C57BL/6Ntac (kasutatud hiireliin siinses töös)

BTC - beetatselluliin (ingl *btacellulin*)

cDNA - komplementaarne desoksüribonukleiinhape (ingl *complementary deoxyribonucleic acid*)

Dhikd1 - α -aminoadipaathappe regulaatorgeen (ingl *dehydrogenase E1 and transketolase domain containing 1*)

Disc1 - geen (ingl *disrupted-in-schizophrenia 1*)

DISC1 - valk

dIPFC - dorsolateraalne frontaalkoor

dmPFC - dorsomediaalne frontaalkoor

DNA - desoksüribonukleiinhape (ingl *deoxyribonucleic acid*)

EGF - epidermaalne kasvufaktor (ingl *epidermal growth factor*)

EPG - epigeen (ingl *epigen*)

EPR - epireguliin (ingl *epiregulin*)

ErbB1 - epidermaalse kasvufaktori retseptor 1 geen (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 1*)

ErbB1 - epidermaalse kasvufaktori retseptor 1 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 1*; ehk HER1, ingl *Human epidermal growth factor receptor 1*)

ErbB2 - epidermaalse kasvufaktori retseptor 2 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 2*; ehk HER2, *Human epidermal growth factor receptor 2*)

ErbB3 - epidermaalse kasvufaktori retseptor 3 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 3*; ehk HER3, *Human epidermal growth factor receptor 3*)

ErbB4 - epidermaalse kasvufaktori retseptor 4 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 4*; ehk HER4, *Human epidermal growth factor receptor 4*)

FÜS - füsioloogilise lahuse saajad
Füs.1 - füsioloogiline lahus
GABA - gamma-aminovõihape (ingl *gamma-aminobutyric acid*)
HB-EGF - hepariini siduv EGF-tüüpi kasvufaktor (ingl *heparin-binding EGF-like growth factor*)
Hprt - koduhoidjageen (ingl *hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1*)
IL - infralimbiline ala
Ivd - isovalerüül-CoA dehüdrogenaasi geen (ingl *isovaleryl-CoA dehydrogenase*)
KR - korduva amfetamiini saajad
MAOB - monoamiini oksüdaas B
MAPK - mitogeen-aktiveeritud proteiinkinaas (ingl *mitogen-activated protein kinase*)
MO - motoorne ala
MOs - sekundaarne motoorne ala
NaCl 0,9% - naatriumkloriid 0,9%
NMDA - N-metüül-D-asparagiinhape (ingl *N-methyl-D-aspartate*)
Nrg1-6 - neureguliinid 1-6
OFC - orbitaalne frontaalkoor
ORB - orbitaalne ala
ORBl - lateraalne orbitaalne ala
ORBm - mediaalne orbitaalne ala
ORBvl - ventrolateraalne orbitaalne ala
p - p-väärtus (ingl *probability value*)
PI3K - fosfatidüülinositol 3-kinaas (ingl *phosphoinositide 3-kinase*)
PKC - proteiinkinaas C (ingl *protein kinase C*)
PL - prelinbiline ala
PLC γ - fosfolipaas C gamma (ingl *phospholipase C gamma*)
qPCR - kvantitatiivne reaalaaja PCR ehk polümeraasi ahelreaktsioon (ingl *polymerase chain reaction*)
Ras - retikulaarne aktiveeriv süsteem (ingl *reticular activating system*)
RNA - ribonukleiidhape (ingl *ribonucleic acid*)
TGF- α - kasvufaktor alfa (ingl *transforming growth factor alpha*)
vlPFC - ventrolateraalne frontaalkoor
vmPFC - ventromediaalne frontaalkoor
129Sv - 129S6/SvEvTac (kasutatud hiireliin siinses töös)

SISSEJUHATUS

Inimese aju koosneb 100 miljardist neuronist, mille aktiivne ainevahetus kulutab ligikaudu 20% keha energia varust. Aju pindmine kiht kannab nime ajukoor ja sellest ligi kolmandik paikneb frontaalsagara piirkonnas. Frontaalkoore elav närvivõrgustik kogub teistelt aju struktuuridelt informatsiooni ja loob kognitsiooni. Kognitsioon on protsess ümbritseva tajumiseks ja tõlgendamiseks. Kognitsioon hõlmab endas erinevaid protsessinguid: tähelepanu, töömälu, otsustusvõime ja pidurdus, mis arenevad järk-järguliselt vastavalt neuronaalsele küpsemisele.

Frontaalkoore närvivõrgustiku ebakõla korral kujunevad psühhiaatrilised haigused, näiteks skisofreenia, millel on iseäralik haiguspilt ja kulg. Skisofreeniale on omased positiivsed, negatiivsed ja kognitiivsed sümptomid. Ajustruktuuride omavahelise töö ebakõla tõttu võib kujuneda psühhos, kus inimene kaotab reaalsustaju ja kogeb hallutsinatsioone. Kuna hetkel on skisofreenia välja ravimatu haigus, on äärmiselt oluline leida markerid, mis võimaldaks skisofreeniat varakult diagnoosida ja rakendada ravi.

Võimalike markeritena on uuritud ErbB perekonna retseptoreid, nende geeniekspressiooni ja ligande. ErbB-retseptorid on türosiinkinaasid, mis juhivad ajus närvirakkude arengut ja kasvu. Kõrvalekaldeid ErbB-süsteemis seostatakse aju talituslike häiretega, mis võivad luua aluse psühhiaatriliseks haiguseks. Lisaks võimalikele ligandidele on vaja ka leida sobivad mudelorganismid, kelle peal uuringuid läbi viia ja vastuseid tõlgendada.

Käesolevas töös keskenduti kahele hiireliinile - B16 ja 129Sv. Hiireliinid erinesid nii iseloomult kui ka geneetiliselt. Loomadel indutseeriti psühhos amfetamiiniga ja vaadeldi nende kehakaalu, liikumisaktiivsust ning *ErbB1* kontsentratsiooni muutust. Mõlema hiireliini loomad jaotati amfetamiini manustamise alusel kolme gruppi: füsioloogiline, akuutne amfetamiin ja korduv amfetamiin. Loomuuring kestis kokku 11 päeva. Katse lõpus loomad ohverdati, aju frontaalkoorest eraldati RNA, sünteesiti sellest cDNA ning qPCRga analüüsiti geeniekspressiooni.

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks oli võrrelda kahte hiireliini, kes on biomeditsiinilistes uuringutes laialdaselt kasutuses olevad mudelorganismid ning selgitada nende sobivus skisofreenia laadsete seisundite hindamiseks.

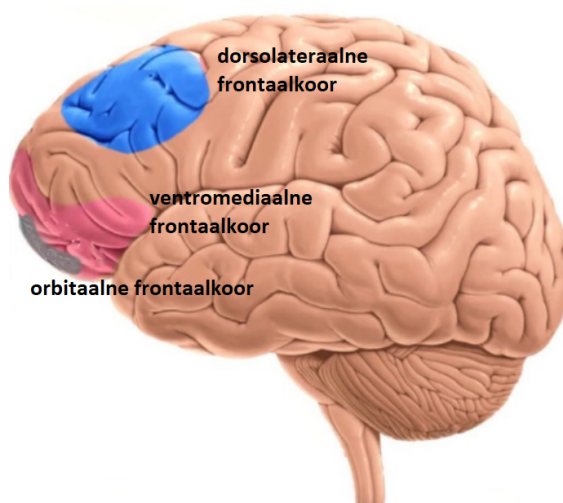
Bakalaureuse töö on loodud Tartu Ülikooli Meditsiiniteaduste valdkonna bio- ja siirdemeditsiini instituudi füsioloogia osakonnas.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

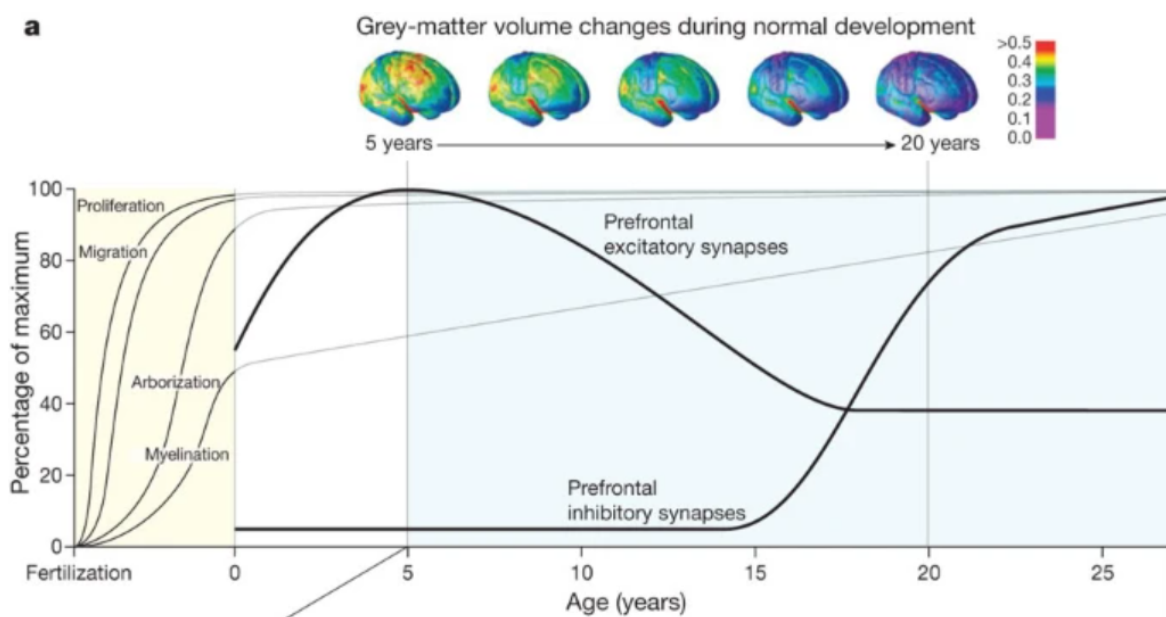
1.1. Aju ehitus

Inimese aju koosneb 100 miljardist neuronist ehk närvirakust ja 10-50 korda suuremast hulgast gliiarakust (Herculano-Houzel 2012). Kuigi aju moodustab vaid 2% inimkeha massist, kulutab neuronite aktiivne ainevahetus ligikaudu 20% kehas toodetavast energiast. Aju kõige suurema osa, kuni 84%, moodustab suuraju, mis jaguneb vasakuks ja paremaks poolkeraks (Herculano-Houzel 2012). Suuraju jaguneb omakorda sagarateks: otsmiku-, kiiru, oimu- ja kuklasagaraks. Aju pindmist närvirakukehasid sisaldavat kihti nimetatakse ajukooreks (lad *cortex cerebri*). Ajukoore paksus inimesel on 2-4 mm ja hiirel umbes 0,9 mm (Hutton jt., 2008; Lerch jt., 2008). Imetajate ajukoore kõige suurema osa hõlmab neokorteks ehk uusajukoor (Kaas 2013; Luzzati 2015). Uusajukoor jaguneb rakkude ehituse ja paigutuse alusel kuueks kihiks, mis väljast sissepoole liikudes moodustab molekulaarrakkude, välimiste granulaar- ja püramidaalrakkude, sisemiste granulaar- ja püramidaalrakkude ning multiformsete rakkude kihi (Lepp ja Kogerman-Lepp 1988; Luzzati 2015).

Ligikaudu kolmandik uusajukoorest paikneb otsmikusagara piirkonnas ja kannab nime frontaalkoor (ingl *prefrontal cortex*) (Fuster 2001; Leisman ja Melillo 2012). Asukoha ja funktsiooni alusel jaguneb frontaalkoor orbitaalseks, ventromediaalseks ja dorsolateraalseks alaks (joonis 1) (Leisman ja Melillo 2012; Salehinejad jt., 2021). Frontaalkoor on küll fülogeneetiliselt noorim, kuid see-eest kõige arenenum osa. Frontaalkoor täiustub järk-järguliselt ning lõplik sünapside arv ja müeliniseerumine kujuneb välja alles täiskasvanueaks (joonis 2) (Fuster 2001; Arnstem 2009; Insel 2010; Yan ja Rein 2022; Konstantoudaki jt., 2018).



Joonis 1. Frontaalkoor külje pealt vaadatuna. Halliga on märgitud orbitaalsed, roosaga kesmised ehk ventromediaalsed ja sinisega lateraalsed ehk dorsolateraalsed frontaalkoore osad (Salehinejad jt., 2021).



Joonis 2. Ajukoore järkjärguline täiustumine. Neuronite proliferatsioon ja migratsioon prenataalses eas ning jagunemine ja müelinisatsioon postnataalse esimese 20 aasta jooksul (Insel 2010).

1.2. Närvivõrgustikud

Frontaalkoore enamik neuronitest on aktiveeriva toimega glutamaatergilised püramidaalrakud ja umbes 10-15% neuronitest on inhibeeriva toimega gamma-aminovõihappe-ergilised (GABA; ingl *gamma-aminobutyric acid*) vaheneuronid (Zhou ja Danbolt 2014; Gao ja Penzes 2015; Sarawagi jt., 2021). Neuronid pinda katavad retseptorid, mille eesmärgiks on luua sünapse teiste neuronitega ning võtta vastu infot keemilistelt infokandjatelt ehk neurotransmitteritelt. Tänu sünapsi ja vastava neurotransmitteri koostööle levib signaal ühelt neuronilt teisele (Logue ja Gould 2014; Gao ja Penzes 2015). Aktiveerivad sünapsid paiknevad vaid neuroni dendriitidel, kuid inhibeerivaid sünapse leiab kogu neuroni ulatuses (Fritschy ja Brünig 2003). Inhibeeriva ja aktiveeriva sünapsi koostöös kujuneb võrgustik, mis võimaldab impulsside kiiremat ja tasakaalustatumat levikut (Gao ja Penzes 2015; Luo jt., 2021).

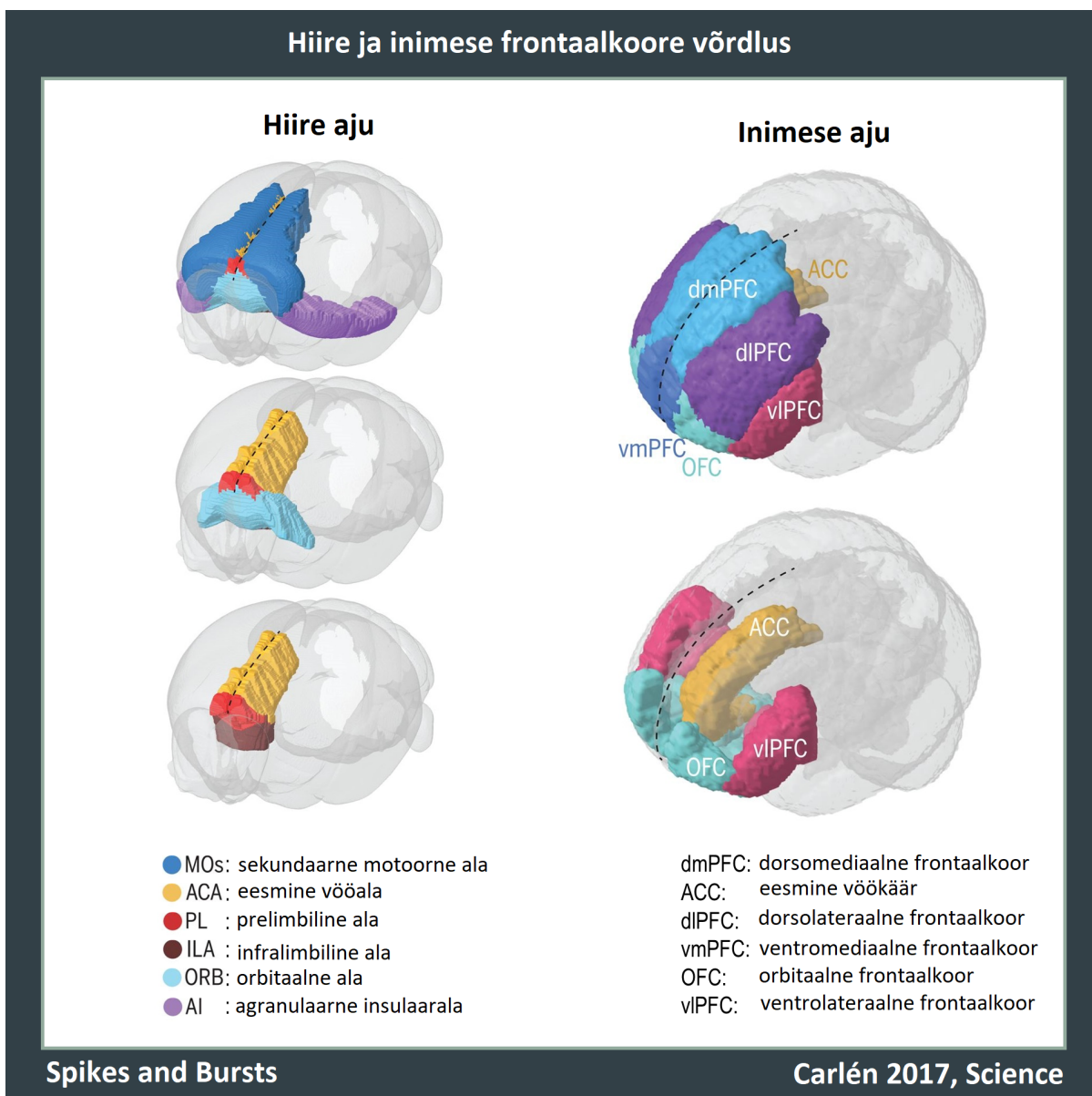
Püramidaalrakkude ülekaalu tõttu domineerib ajus glutamaatergiline signaal (Pankevich jt., 2011). Glutamaat koordineerib nii püramidaalrakkude omavahelist suhtlust ning ühtlasi aitab frontaalkoort ühendada piklikaju, juttkeha (lad *corpus striatum*), taalamuse ja naalduva tuumaga (lad *nucleus accumbens*) (Schwartz jt., 2012). Glutamaadi põhilisteks resteporiteks on kiiretoimelised ionikanalitel põhinevad ionotroopsed NMDA (ingl *N-methyl-D-aspartate*) ja AMPA (ingl *α-amino-3 hydroxyl-5-methyl-4-isoxanole-propionate*) retseptorid. Glutamaadi seostumine retseptoriga vabastab sekundaarse infokandja kaltsiumi, mis algatab rakusisese

signalisatsiooni kaskaadi (Purves jt., 2001). Kuna NMDA-retseptorid paiknevad nii püramidaalrakkudel kui ka vaheneuronitel, mõjutab glutamaat ka GABA-süsteemi (Schwartz jt., 2012). Vaheneuronilt vabanev GABA liigub püramidaalrakule, leiab seal oma retseptori ja ühinedes sellega blokeerib edasist glutamaadi eritumist. Ühtlasi aitab GABA ühendada frontaalkoort amügdala, hipokampuse ja hüpotaalamusega (Ochoa-de la Paz jt., 2020; Serrano-Regal jt., 2020). Vaheneuroni NMDA probleemide korral ei suuda glutamaat kinnituda ja seega ka GABA vabanemine väheneb. Langenud GABA kontsentratsioon ei suuda jällegi ohjeldada glutamaadi ja dopamiini vabanemist ning tekib ülemäärane erutus (Schwartz jt., 2012; Homayoun ja Moghaddam 2007). Dopamiini sünteesivad vaheaju dopaminergilised neuronid ja mesokortikaalse raja vahendusel jõuab dopamiin frontaalkoorde. Koostöös frontaalkoore juhtesüsteemiga aitab dopamiin genereerida otsustusvõimet ja motivatsiooni (Gorelova jt., 2012; Hauser jt., 2017; Lohani jt., 2019). Mesokortikaalse raja kvaliteet määrab frontaalkoore dopamiini kontsentratsiooni, kus dopamiini liiga suurt hulka seostatakse skisofreenia positiivse sümptomaatikaga ja puudujääki negatiivse sümptomaatikaga (Schwartz jt., 2012; Homayoun ja Moghaddam 2007).

1.3. Frontaalkoore võrdlus inimesel ja hiirel

Erinevate liikide välja arenemises on tähtsal kohal keskkond, mille muutlikud tingimused sunnivad ka liike adapteeruma (Arnegard jt., 2014). Kuigi erinevaid liike eristab nende geneetiline taust, leidub siiski nii geneetilisi kui ka fenotüübilisi kattuvusi, mille alusel saab liike grupeerida ja võrrelda (Kaas 2012; Bicks 2015; Preuss 2012; Loomba jt., 2022). Kuigi inimene ja hiir ei näe peale vaadates sarnased välja, leidub hulgaliselt kattuvusi valke kodeerivates geenides, mille tõttu saab hiiri kasutada mudelloomadena erinevates katsetes (Yue jt., 2014). Lisaks on leitud sarnasusi inimese ja hiire frontaalkoore vahel (Bicks 2015; Jones jt., 2011; Konstantoudaki jt., 2018). Hiire frontaalkoor on võrreldes inimesega küll lihtsama ehitusega, aga mõneti peegeldab samu funktsioone (joonis 3). Erinevalt inimesest, jaguneb hiire frontaalkoor alaregioonideks vastavalt rakulisele ehitusele. Nii koosneb dorsomediaalne frontaalkoor motoorses alast (MO) ja esimesest vööala (ACA, ingl *anterior cingulate area*), ventromediaalne piirkond prelimbilisest (PL), infralimbilisest (IL) ja mediaalsest orbitaalsest (ORBm) alast ning ventrolateraalne regioon ventrolateraalsest (ORBvl) ja lateraalsest (ORBl) orbitaalsest alast (LaMerre jt., 2021). Hiire frontaalkoore mediaalsed ehk kesksed osad juhivad sotsiaalsust ja tähelepanu. Antud piirkondade kahjustused võivad muuta looma kas teiste suhtes ükskõikseks või vastupidi agressiivseks (Bicks 2015). Orbitaalsed alad vastutavad ennekõike otsustamisvõime ja eesmärgipärase käitumise eest. Häireid orbitaalsetes alades on seostatud motoorse rahutuse ja agressiooniga

(Bicks 2015; Zimmermann jt., 2017). Funktsiooni mõttes erineb kõige rohkem hiire ja inimese võrdluses orbitaalala, mis inimesel vastutab emotsioonide ja sotsiaalsuse eest, kuid hiirel juhib ennekõike tähelepanu ja sihipärasust (Fuster 2001; Zimmermann jt., 2017; Rolls jt., 2020).



Joonis 3. Hiire ja inimese prefrontaalkoore võrdlus. Vasakul on hiire aju ja paremal on inimese aju. Värvidega on tähistatud erinevad regioonid (Carlén 2017; pilt veebiaadressilt Spikes and Bursts).

1.4. Kognitsioon

Frontaalkoore põhiülesandeks on luua kognitsiooni (ingl *cognition*). Kognitsioon ehk tunnetus on teadvuses asetleidev protsesside kogum, mis kujundab vaimse pildi või mudeli (ingl *mental model*) vastusena ümbritsevale keskkonnale. Vaimne pilt aitab indiviidil keskkonda mõista ja sellega sobituda, luua heaolu ning parandada elulemust (Johnson-Laird 2010;

Diamond 2012; Schurz 2014; Dajani ja Uddin 2015). Teabetöötuse paindlikkuse ja ulatuse tõttu võib pidada inimest kognitiivselt kõige arenenumaks (Laland ja Seed 2021). Igasugust märkimisväärset kõrvalekallet käitumises ja keskkonna tunnetuses peetakse vaimuhaiguseks (Heinrichs 2020; Koch jt., 2018; de Zwarte jt., 2022; Batinic 2019).

Frontaalkoore keerukas närvivõrgustik talitleb kui integratsioonikeskus, mis koondab teiste ajustruktuuride info ja manipuleerib seda vastavalt vajadusele, et luua vaimset mudelit (Fuster, 2001; Chan jt., 2008; Logue ja Gould 2013; Rubin jt., 2014). Info manipulatsiooni eest vastutav täidesaatev funktsioon (ing *executive function*) hõlmab endas tähelepanu, paindlikkust, töömälu ja oskust probleeme lahendada. Täidesaatev funktsioon areneb kogu lapsepõlve jooksul ja saavutab oma küpsuse täiskasvanueaks (Shepard jt., 2017). Täiustumine on järkjärguline protsess, mis toimub läbi neuronite sünaptilise plastilisuse (Goto jt., 2010; Hill 2004). Kognitsiooni väga tähtsa osa moodustab tähelepanuvõime (Chan jt., 2008; Logue ja Gould 2013; Rabinovici jt., 2015; Salehinejad jt., 2021). Esimesed viited tähelepanule ilmnevad juba varases imikueas, kus laps tuvastab stiimuli ja fikseerib sellele pilgu (Reinolds ja Romano 2016). Pilgu fikseerimine näole loob esmase eelduse sotsiaalse suhtluse arenguks (Hunnius 2007). Sellele järgneb sotsiaalne õppimine, kus laps tõlgendab erinevaid näoilmeid ja saab hinnangu oma tegevusele (Taylor-Colls ja Pasco Fearson 2015). Töömälu on lühimälu liik, mis oma varajases arenguetapis aitab objekte lihtsalt ära tunda ja üksteisest eristada (Reinolds ja Romano 2016). Aju küpsedes ka töömälu täiustub ja aitab inimesel ajas ja situatsioonis orienteeruda ning püstitatud eesmärke mõista ja meeles pidada (Chai jt., 2018; Rabinovici jt., 2015). Selleks et erinevaid eesmärke püstitada, tuleb appi kognitiivne pidurdus, mille eesmärgiks on aidata eristada olulist infot ebaolulisest (Rabinovici jt., 2015). Ja ajapikku hakkab inimene analüüsima erinevaid kasusid ja kahjusid, kujunevad väärtushinnagud, mis koordineerivad edasiste otsuste vastuvõtmist (Blakemore ja Robbins 2012; Hiser ja Koenigs 2017).

1.5. Frontaalkoor ja psühhiaatrilised haigused

Frontaalkoore põhiülesandeks on juhtida kognitiivset protsessingut. Selleks, et frontaalkoor saaks juhtida kognitsiooni, on vaja tervet närvivõrgustikku ja sünaptilist plastilisust (Goto jt., 2010; Hill 2004). Vigane sünaptiline regulatsioon häirib neuronite tööd ja see väljendub talitlusliku kõrvalekaldena (Yan ja Rein 2022). Kõrvalekalleteks on näiteks mõtlemise, meeleolu või käitumisega seotud häired, mis on iseloomulik mitmele neuro psühhiaatrilisele haigusele, nagu näiteks skisofreenia, autism, depressioon, aktiivsus- ja tähelepanuhäire (ATH, ingl ADHD) ning Alzheimeri tõbi (Yan ja Rein 2022; Hiser ja Koenigs 2017).

Tähelepanuhäirega inimene ei suuda taustamüra eristada olulist ebaolulisest, kaotab huvi ja keskendub muudele huvikõitvatele või pilkupüüdvatele stiimulitele (Mueller jt., 2017). Töömälu probleemide esinemisel väheneb nii järjepidevus kui reaktsiooni kiirus, mille tõttu inimene tundub uje ja püsimatu (Rabinovici jt., 2015; Guo jt., 2019). Puuduliku otsustusvõimega inimene ei analüüsi, vaid toimetab hetke ajendist lähtuvalt (Hiser ja Koenigs 2017). Kognitiivselt pidurdamatu inimene on impulsiivne, hajeval ja keskendub liigselt ebaolulisele stiimulile (Rabinovici jt., 2015). Neuropsühhiaatriliste tunnuste progresseerudes kujuneb välja intellektipuu. Intellektipuude tõttu tekivad valed arusaamad ja ebarealistlikud tunded, mis soosivad psühhoatilisi episoodide (Lewis ja Levitt 2002).

1.6. Hiired prekliinilistes uuringutes

Enne kui uus ravim või vaktsiin jõuab inimeste peal kliiniliste katseteni, on vaja tagada piisav ohutus ja efektiivsus. Selleks viiakse läbi prekliinilised uuringud loomadega. Prekliiniliste katsete levinud mudel organismiks on hiir. Hiire kasutamist soosib tema geneetiline, anatoomiline ja füsioloogiline sarnasus inimesega (Nguen ja Xu 2008; Looma jt., 2022; Mukherjee jt., 2022). Haiguste ja raviainete uuringutes kasutatakse nii metsiktüüpi kui ka geneetiliselt muundatud närilisi (Jones jt., 2011). Tihti eelistavad teadlased kasutada sama geneetilise taustaga ehk *inbred* hiiri, millega tagatakse võimalikult sarnane loomade genotüüp (Flurkey 2009). Identse genotüübi taustal on lihtsam teha järeldusi mõne uuritava raviaine, käitumiseärasuse või mutatsiooni kohta. Käesolevas bakalaureusetöös võrreldakse omavahel kahte laialdaselt kasutuses olevat metsiktüüpi *inbred* hiireliini B16 (C57BL/6Ntac) ja 129Sv (129S6/SvEvTac), kes on ühed enim biomeditsiinis kasutusel olevaid mudelorganisme (Heinla 2016; Varul jt., 2021). Antud hiireliinid erinevad mõneti geneetiliselt ja seetõttu erineb nende käitumine ja vastus erinevatele stressoritele (Abramov jt., 2008; Heinla jt., 2014; Varul jt., 2021).

1.6.1. B16 hiireliin



Musta karvastikuga B16 hiired on kõige enam kasutatud mudelorganismid (AnimaLab). Põhiliselt kasutataksegi B16 hiiri transgeensetes katsetes (Bryant 2016; Narvik jt., 2018). Loomad on üpris kasvaja resistentsed kuid kipuvad vananedes rasvuma, mille tõttu ohustab neid diabeet ja ateroskleroos (AnimaLab). B16 hiired on motoorselt aktiivsed. Kohati nad käituvad ka agressiivselt ja stressi tingimustes väldivad stressorit (Abramov jt., 2008; Heinla jt., 2014). Geneetilise eripärana on neil defektne α -aminoadipaathappe regulaatorgeen

(*Dhtkd1*), mis vastutab glutamaadi struktuurse analoogi α -aminoadipaathappe (α -AAA, ingl *α -aminoadipic acid*) sünteesi eest (Wu jt., 1995; Guidetti ja Schwarcz 2003; Leandro jt., 2019). *Dhtkd1* defekti tõttu hakkab α -AAA Bl6 hiirtes kuhjuma (Wu jt., 1995; Leandro jt., 2019). Lisaks α -AAA molekuli leidub veres rohkelt atsetüül-ornitiini ja karnosiini (Piirsalu jt., 2020). Bl6 on ainus hiireliin, kellel valgu monoamiini oksüdaas B (MAOB) aktiivsus on ajus kõrgem kui maksas (Przedborski jt., 2000). Bl6 hiireliini iseloomustus on leitav Tabel 1 kirjeldusest.

1.6.2. 129Sv hiireliin

129 hiireliini kasutatakse põhiliselt geneetiliselt muundatud hiirte loomiseks. Mitmed alaliinid on tekkinud kas geenitriivi (*genetic drift*) või juhusliku saastumise tulemusena (Radaelli jt., 2015). 129 liini hiir 129Sv on karvkattelt pruunikas ja malbe iseloomuga. Loomad on üpris stressi tundlikud ja ärevad (Koike jt., 2006; Abramov jt., 2008; Chubb jt., 2008; Heinla jt., 2014; Animal Resource Centre). 129Sv hiireliini *Disc1* (ingl *disrupted-in-schizophrenia 1*) geenis esineb raaminihke mutatsioon, mille tõttu on häiritud närvivõrgustiku signalisatsioon (Shao jt., 2017). Esmalt avastati selle geeni mutatsioon ühelt Šoti perekonnalt, kus esines rida mentaalseid haiguseid (Jaaro-Peled jt., 2009; Uzuneser jt., 2019). Geeni produktiks on 854-st aminohappest koosnev valk DISC1 (Mohammadi ja Amoeian 2018). Koostöös teiste valkudega suunab DISC1 kesknärvisüsteemi arengut ja funktsioone (Johnstone jt., 2011; Clapcote ja Roder 2006; Ohtaka-Maruyama ja Okado 2015). DISC1 osaleb ajus nii aktiveerivates kui ka pidurdavates mehhanismides (Wei jt., 2015; Uzuneser et al 2019). DISC1 reguleerib ka aju laktaadi metabolismi, mida kasutavad neuronid energia tarbeks (Jouroukhin jt., 2018; Clapcote ja Roder 2006). Lisaks *Disc1* mutatsioonile, on mutantne ka isovalerüül-CoA dehüdrogenaasi kodeeriv geen (*Ivd*). *Ivd* mutatsiooni tulemusena kuhjub verre suuremal hulgal C5-karnitiini molekule (Leandro jt., 2019). Lisaks reageerivad 129Sv hiired erinevatele infektsioonidele liiga ägedalt ning neil on võrreldes Bl6 hiirtega aktiivsem lipiididega seotud metabolism (Davidson jt., 2014; Narvuk jt., 2018; Piirsalu jt., 2020). Veel iseloomustab 129Sv hiiri nii langenud valuaisting kuumaplaadi katses (ingl *hot plate*), kui ka hirmu puudumine kassilõhna vastu (Raud jt., 2007; Abramov jt., 2008). Pikenenud kuumaplaadi latents ja vees liikumatuna hulpimine (*immobile floating*) viitavad apaatsusele või siis nõrgemale toimetulekule stressiga (Abramov jt., 2008). 129Sv hiireliini iseloomustus on leitav Tabel 1 kirjeldusest.

Tabel 1. Kahte hiireliini (B16 ja 129Sv) võrdlev ülevaatlilik tabel (Varul jt., 2021; AnimaLab; Animal Resource Centre; Janvier-Labs; Przedborski jt., 2000; Raud jt., 2007; Abramov jt., 2008; Leandro jt., 2019).

B16 hiireliin	129Sv hiireliin
Välimus	
 <p>Must karvkate</p>	 <p>Pruunikas karvkate</p>
Käitumine	
<ul style="list-style-type: none"> - Agressiivsed - Motoorselt aktiivsed - Põgenevad stressori eest 	<ul style="list-style-type: none"> - Malbed - Rahulikud - Ärevamad
Geneetiline iseärasus	
Defektne α -aminoadipaathappe regulaatorgeen (<i>Dhtkd1</i>)	<i>Disc1</i> geenis raaminihke mutatsioon Mutantne <i>Ivd</i> geen
Eripära metaboliitidega	
<u>Veres kõrgemal hulgal:</u> <ul style="list-style-type: none"> - alfa-aminoadipaate hape - atsetüül-ornitiini - karnosiini 	<u>Veres kõrgemal hulgal:</u> <ul style="list-style-type: none"> - C5-karnitiini molekule
Omapära	
Ainus hiireliin, kellel valgu MAOB aktiivsus on ajus > maksas.	Langenud valuaisting kuumaplaadi suhtes. Puudub hirm kassilõhna vastu.

1.7. Psühhiaatriline haigus - skisofreenia

Psühhiaatriline haigus (ingl *mental disorder*) on sündroom, mida iseloomustavad kliiniliselt omataolised kõrvalekalded indiviidi kognitsioonis, emosioonide tõlgendamises või käitumises. Haigusega käib kaasas nii ärevus kui ka võimetus ühiskonnas hakkama saada (Jeste jt., 2013).

Psühhiaatriline haigus skisofreenia on heterogeenne hilises noorukieas välja kujunev haigus, mille iseloomulikeks tunnusteks on taju- ja mõttehäired, impulsiivsus ja sotsialiseerumiskasvatus. Skisofreenia kujuneb välja geenide ja ebasoodsate keskkonnafaktorite, näiteks nagu loote hapnikupuudus või infektsioonid, koosinemisel (Lewis ja Lieberman 2000; Gao ja Penzes 2015; Jaaro-Peled jt., 2009; Leppik jt., 2018). Oletuslikult esmased viited patoloogiale ilmnevad juba looteas, kuid lapse arenedes muutused süvenevad ja seega haigus kujuneb välja alles noores täiskasvanueas. Loote kesknärvisüsteemi närvirakud on oma mõõtmetelt normist väiksemad ja dendriitide ehitus on puudulik (Jaaro-Peled jt., 2009; Duchatel jt., 2019). Kesknärvisüsteemi struktuursete

kõrvalkallete tõttu võivad häiruda ka hilisemad arengulised protsessid (GABA-vaheneuronite areng, glutamaadisünapsite kärpimine, mesokortikaalse dopamiiniringe areng, oligodendrotsüütide diferentseerumine ja müelinisatsioon), mille tõttu kahjustused järk-järgult kuhjuvad (Jaaro-Peled jt., 2009; Notaras jt., 2021). Skisofreenia sümptomid jagunevad positiivseteks (meelepetted ja hallutsinatsioonid), negatiivseteks (apaatsus ja sotsiaalne eraldatus) ja kognitiivseteks (puudulik otsustusvõime, vähenenud empaatia) (Jaaro-Peled jt., 2009; Lewis ja Lieberman 2000; Reus 2018; Batinic 2019). Positiivse sümptomaatika üheks põhjuseks on puudulik vaheneuronite areng või sünaptiline aktiivsus, mille tõttu pidurdusmehhanismid on puudulikud ja seega püramidaalrakud on pidevalt aktiivsed (Jaaro-Peled jt., 2009; Schwartz jt., 2012). Ülemäärase erutuse võib tekitada ka liigne dopamiin, mis mööda mesokortikaalset rada frontaalkoorde jõuab (Lewis ja Lieberman 2000; Gorelova jt., 2012). Dopamiini liigset sünteesi ja vabastamist saab kunstlikult amfetamiiniga esile kutsuda. Üldiselt amfetamiin põhjustab vaid meelepeteid, kuid mentaalselt haavatavamatel indiviididel, nagu näiteks skisofreenikud, võib see tekitada psühhoatilise episoodi (Ayano 2016; Wearne ja Cornish 2018; Kesby jt., 2018). Psühhoos on seisund, kus inimene kaotab reaalsustaju, käitub kummaliselt ja selle juures peab ennast täitsa terveks ega saa aru, et midagi valesti oleks. Sagedasti psühhootiline episood toob kaasa hallutsinatsioonid, eriti auditoorsed ja väärarusaamad (ingl *delusion*). Auditoorseid meelepeteid seostatakse hipokampuse ja taalamuse omavahelise ühenduse puudulikkusega (Jeste jt., 2013; Kesby jt., 2018). Hallutsinatsioonidega on märkimisväärselt üleaktiveeritud taalamus, striatum ja hipokampus kuid väärarusaamade korral aktiveerub frontaalkoor (Kesby jt., 2018). Negatiivsed sümptomid esinevad kuni kolmandikul skisofreenikutest ning nende ravisoostumus ja prognoos on pikemas perspektiivis halvem (Reus 2018). Ühe põhjusena võib olla mesokortikaalse raja projektsioonihäire, mille tõttu jõuab liiga väge dopamiini frontaalkoorde (Schwartz jt., 2012; Jaaro-Peled jt., 2009). Uuringute kohaselt on kognitiivsete sümptomite levimus umbes 75-85% ja tihti avalduvad need varem kui esmane psühhootiline episood (Kimoto jt., 2019).

Skisofreenia sümptomite leevendamisel on kasutusel esimese ja teise põlvkonna antipsühhootikumid, mis aitavad hästi positiivsete sümptomitega, kuid mitte negatiivsetega. Dopamiini retseptoreid siduv antipsühhootikum ei lase dopamiinil seonduda ja väheneb dopamiini hallutsinogeenne efekt (Reus 2018). Kuna antipsühhootikumid mõjuvad vaid positiivse sümptomaatikaga, tehakse katseid uute preparaatidega, mis toimivad läbi glutamaadi-, GABA-, serotoniini ja koliinergiliste radade (Yang ja Tsai 2017). Kognitiivset võimekust aitavad parandada erinevad teraapiad, mis õpetavad igapäevaelus hakkamasaamist (Kimoto jt., 2019). Kuna seni pole leitud spetsiifilist ravi negatiivsete ega kognitiivsete

sümptomitega, on äärmiselt oluline leida need geenid ja biomarkerid, mis võimaldaks haigust varakult diagnoosida ja tegeleda sümptomite supressiooniga (Lee jt., 2021).

1.8. Skisofreenialaadse olukorra mudeldamine hiirtel

Skisofreenia patofüsioloogia uuringutele andis edusamme geneetiliselt muundatud hiirte kaasamine katsetesse (Hyman 2021). Loomadel indutseeritakse psühhoosilaadne seisund, mida uuritakse seejärel enamasti käitumise katsetega (van den Buuse 2010). Loomudeliste käitumuslikud seisundid peavad olema piisaval hulgal ülekantavad inimpopulatsioonile, et oleks võimalik haigust uurida (Forrest jt., 2014). Hiirtega mudeldamisel on väga oluline mõista katselooma loomust, et osata eristada patoloogilist käitumismustrit tavapärasest (van den Buuse 2010). Psühhoosi esilekutsumiseks kasutatakse sageli psühhotroopset ravimit (Winship jt., 2018). Kõige klassikalisemaks ravimindutseeritud psühhootiliseks sümptomiks loomadel on motoorne rahutus (ingl *locomotor hyperactivity*). Motoorset rahutust tõlgendatakse kui psühhoosi positiivseid sümptome. Motoorsete andmete kogumisel kasutatakse jälgimistaktikat (van den Buuse 2010). Loomad asetatakse spetsiaalsetesse heli kindlatesse fotoelektrilistesse kastidesse, et mõõta nende motoorset aktiivsust (Varul jt., 2021).

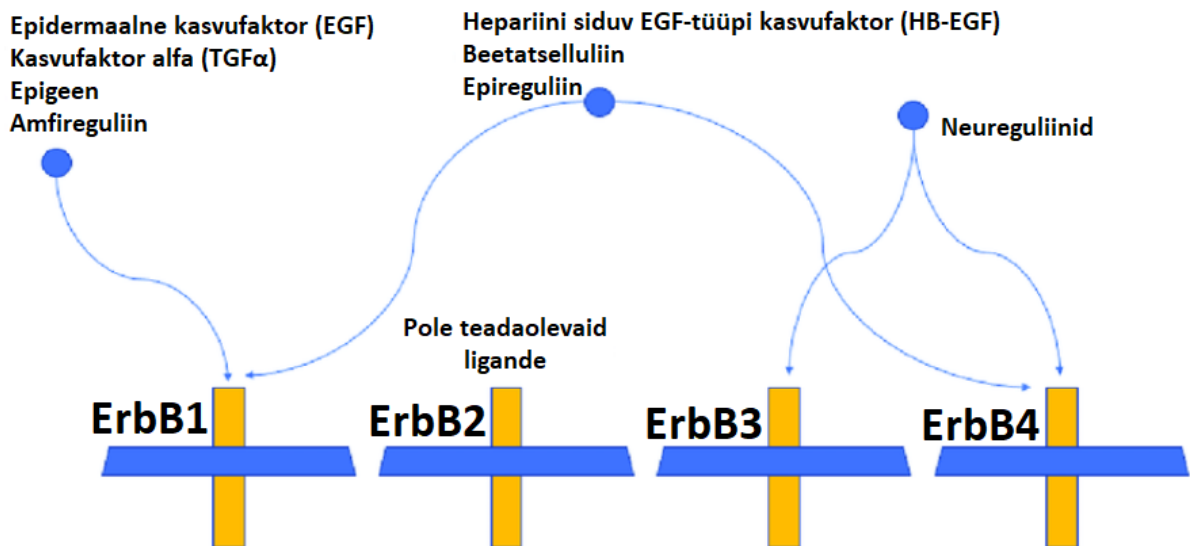
Nagu eelnevalt mainitud, kasutatakse loomuuringutes psühhoosilaadse seisundi esilekutsumiseks erinevaid medikamente. Motoorse rahutuse eksperimentides manustatakse loomadele kas stimulannte või hallutsinogeene. Stimulant amfetamiin mõjutab aju mesolimbilist süsteemi, mis vabastab suures koguses dopamiini (van den Buuse 2010). Lisaks dopamiinile, tõuseb ajus amfetamiini manustamise tagajärjel ka noradrenaliini ja serotoniini kontsentratsioon (Calipari ja Ferris 2013). Amfetamiini toimet hakkavad monoamiinid sünaptilisse pilusse kuhjuma ning lisaks on takistatud nende taas üleskorjamine (Vik 2021; Martin ja Le 2022).

Mesolimbiline süsteem koondab ventraal-tegmentaalalast pärinevaid dopamiin neuroneid (Kami jt., 2018). Dopamiinergiline sisend innerveerib frontaalkoort, amügdalat ja naalduvaid tuumasid (ingl *nucleus accumbens*), aidates juhtida täidesaatvat funktsiooni, emotsioone ja motivatsiooni (Serafini jt., 2020).

1.9. ErbB perekonna retseptor-türosiinkinaasid

Türosiinkinaasid on ensüümid, mis katalüüsivad fosfaatide ülekandmist rakusisestele valkudele. Kinaasid jagunevad 58-ks retseptor-türosiinkinaasiks ja 32-ks mitte retseptor-türosiinkinaasiks (Roskoski Jr. 2014; Huang jt., 2020). Retseptor-türosiinkinaas on transmembraanne valk. Retseptori välimine ligandi siduv osa jaguneb neljaks domeeniks, transmembraanne osa on struktuurilt hüdrofoobne segment ja rakusisene osa on kinasse aktiivsusega. Ligandi sidumine algatab kinaaside kaskaadi, mille käigus kantakse edasi fosforüül gruppi (Lemmon ja Schlessinger 2010; Roskoski Jr. 2014; Zilmer jt., 2015). Retseptorid koordineerivad rakkude omavahelist suhtlust, kasvu, spetsialiseerumist, liikumist, ainevahetust ja surma (Lemmon ja Schlessinger 2010; Du ja Lovly 2018). Retseptoriga ühinev ligand dimeriseerib kaks naaber retseptorit, signaal võimendub ja kandub edasi. Selleks, et ei toimuks kontrollimatut dimerisatsiooni, on retseptorite hulk reguleeritud (Nagy jt., 2010; Iwakura ja Nawa 2013). Ligand mõjutab retseptorit nii membraanile kinnitununa kui vabas olekus. Tavaliselt piisab vaid rakk-rakk ühendusest, et ligand saaks mõjutada naaberrakkude ainevahetust. Rakkude omavahelise ühenduse katkemine sunnib ligande vabanema, et need jõuaks eemalasetsevate retseptoriteni (Singh ja Harris 2005; Iwakura ja Nawa 2013; Alexi jt., 2011).

Kesknärvisüsteemi arengus ja talitluses olulisteks retseptor-türosiinkinaasideks on epidermaalse kasvufaktori perekonda kuuluvad retseptorid ehk ErbB (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue*) perekonna molekulid (Birchmeier 2009; Gerbin 2010). ErbB molekulid juhivad neuronite glutamaat-GABA signalisatsiooni ja seega reguleerivad mitmeid olulisi protsesse närvirakkudes (Ledonne ja Mercuri 2020; Sarawagi jt., 2021). ErbB molekulid jagunevad neljaks ja vastavalt piirkonnale ja funktsioonile nende hulk varieerub. Retseptoritele seondujateks on epidermaalsete kasvufaktorite (EGF, ingl *epidermal growth factor*) perekonda kuuluvad ligandid (Iwakura ja Nawa 2013) (joonis 4).



Joonis 4. Neli epidermaalse kasvufaktori retseptorit (ErbB1-4) koos oma vastavate ligandidega (Pan ja Magge 2020).

1.9.1. ErbB-molekulid

ErbB perekonda kuulub neli retseptorit: ErbB1 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 1*; ehk HER1, ingl *Human epidermal growth factor receptor 1*), ErbB2 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 2*; ehk HER2, ingl *Human epidermal growth factor receptor 1*), ErbB3 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 2*; ehk HER3, ingl *Human epidermal growth factor receptor 3*) ja ErbB4 (ingl *Erythroblastic leukemia viral oncogene homologue 4*; ehk HER4, ingl *Human epidermal growth factor receptor 4*). Nendest ErbB1 ja -4 paiknevad glutamaadi ja GABA-neuronitel (Iwakura ja Nawa 2013, Ledonne ja Mercuri 2020).

ErbB1 (EGFR, HER1) on epidermaalse kasvufaktori retseptor, mida leidub näiteks GABA-neuronite ja astrotsüütide pinnal (Iwakura ja Nawa 2013). ErbB1 on 170kDa massiga transmembraanne glükoproteiin, mida kodeeriv geen asub seitsmendas kromosoomis (Corzo jt., 2005). Üldiselt retseptori ülesandeks on juhtida rakkude kasvu, pooldumist, spetsialiseerumist, migratsiooni ja apoptoosi (tabel 2) (Iwakura ja Nawa 2013; Liu jt., 2021). Kuna ErbB1 vastutab ennekõike aju tüvirakkude elulemuse eest, on selle kontsentratsioon kõrgeim just looteas ja varajases sünnijärgses perioodis (Iwakura ja Nawa 2013; Abe jt., 2009). GABA-vaheneuronitel paiknev ErbB1 seondudes oma põhilise ligandi EGF-iga, väheneb GABA-neuronite pidurdav signaal püramidaal rakkudele (Namba jt., 2017). Kuigi ErbB1 hulk on reguleeritud, võivad erinevad neuronite kahjustused ja neurodegeneratiivsed haigused selle kontsentratsiooni mõjutada. Näiteks skisofreeniaga on täheldatud otsaju ErbB1 molekulide ülesregulatsiooni. ErbB1 liig takistab glutamaadi-GABA-signalisatsiooni, mille

tõttu vabaneb liigselt dopamiini ja tekib skisofreeniale omane käitumismuster (Iwakura ja Nawa 2013; Schwartz jt., 2012).

ErbB2 (Neu, HER2) on väga aktiivse kinaase domeeniga retseptor, millel puuduvad spetsiifilised ligandid (tabel 2). ErbB2 juhhib ajukooses tüvirakkude ja gliiarakkude arengut ja spetsialiseerumist. Sünnijärgselt hakkab retseptori hulk vähenema (Iwakura ja Nawa 2013, Mei ja Nave 2014, Yarden ja Sliwkowski 2001).

ErbB3 (HER3) retseptor on võimeline siduma ligande, kuid signaali edastamiseks peab see dimeriseeruma teiste ErbB-perekonna retseptoritega. ErbB3 juhhib oligodendrotsüütide arengut ja neuronite müelinisatsiooni (tabel 2) (Iwakura ja Nawa 2013; Nawa jt., 2014).

ErbB4 (HER4) retseptorid paiknevad põhiliselt ajukoore GABA-neronitel ja gliiarakkudel (tabel 2) (Iwakura ja Nawa 2013; Skirzewski jt., 2020). ErbB4 aktiveerib GABA-neuronite glutamaatergilised NMDA-retseptorid ja sellega aitab juhtida pidurduslikke protsesse (Pizzarelli ja Cherubini 2011; Law jt., 2007; Pitcher jt., 2011). Kui looteas juhtis GABA-signalisatsiooni põhiliselt ErbB1, siis sünnijärgsel perioodil võtab ErbB4 tasapisi GABA-signalisatsiooni üle (Iwakura ja Nawa 2013).

Tabel 2. ErbB retseptorid oma ligandide ja signaalimolekulidega. Kirjeldatud on ka ErbB retseptorite põhilised funktsioonid (Iwakura ja Nawa 2013). PI3K ehk fosfatidüülinoositol 3-kinaas (ingl *phosphoinositide 3-kinase*), AKT ehk proteiinkinaas B (ingl *protein kinase B*), Ras ehk retikulaarne aktiveeriv süsteem (ingl *reticular activating system*), MAPK ehk mitogeen-aktiveeritud proteiinkinaas (ingl *mitogen-activated protein kinase*); PLC γ ehk fosfolipaas C gamma (ingl phospholipase C gamma) ja PKC ehk proteiinkinaas C (ingl protein kinase C).

ErbB retseptor	Dimeriseerub	Ligandid	Põhilised signaalimolekulid ja nende ülesanded
ErbB1 (EGFR, HER1)	ErbB1-4-ga	EGF, TGF α , HB-EGF, AR, BTC, EPG, EPR	PI3K-AKT \rightarrow rakkude kasv, Ras-MAPK \rightarrow rakkude prolifereerumine, diferentseerumine, PLC γ -PKC
ErbB2 (Neu, HER2)	ErbB1, 3, 4-ga	Teadmata	PI3K-AKT Ras-MAPK

			Neuronite proliferatsioon
ErbB3 (HER3)	ErbB1, 2, 4-ga	NRG1, 2, 6	PI3K-AKT, Ras-MAPK, PLC γ -PKC Oligodendrotsüütide küpsemine ja neuronite müelinisatsioon
ErbB4 (HER4)	ErbB1-4-ga	HB-EGF, BTC, EPG, NRG1-5	PI3K-AKT, Ras-MAPK → rakutsükli peatamine ja suunamine diferentseeruma

1.9.2. ErbB1 retseptoriga seonduvad ligandid

ErbB-retseptoritel on 13 erinevat ligandi, mis jagunevad kaheks perekonnaks (Iwakura ja Nawa 2013). Epidermaalsete kasvufaktorite perekonna moodustavad: epidermaalne kasvufaktor (EGF), kasvufaktor alfa (TGF α , ingl *transforming growth factor alpha*), hepariini siduv EGF-tüüpi kasvufaktor (HB-EGF, ingl *heparin-binding EGF-like growth factor*), amfireguliin (AR, ingl *amphiregulin*), epireguliin (EPR, ingl *epiregulin*), beetatselluliin (BTC, ingl *btacellulin*) ja epigeen (EPG, ingl *epigen*). Neureguliinide perekonna ligande on kokku kuus: Nrg1-6. Ligandide noorvormid painevad membraanidel ja vastavalt vajadusele need vabastatakse (Iwakura ja Nawa 2013; Pritchard 2013; Mei ja Nave 2014). Ligandid on valgud, millel on N- ja C-terminaalsed osad, membraani läbiv hüdrofoobne ja ligandi eriomadusi määrav domeen. Spetsiifiline domeen erineb nii struktuurilt kui funktsioonilt (Schneider ja Wolf 2008).

Kesk närvisüsteemi põhiliseks närvirakkude kasvu ja arengut soodustavaks ligandiks on EGF (Wong ja Guillaud 2004). EGF on 53 aminohapest ja kolmest disulfiidsillast koosnev polüpeptiid (Lu jt., 2001). EGF valku kodeeriv geen asub neljandas kromosoomis (Pache 2006). Kuigi EGF suudab seonduda kõigi ErbB-perekonna retseptoritega, eelistab see

seonduda ErbB1-ga (Nawa jt., 2014). EGF-ErbB1 koostöö sünteesib närvirakkude noorvormid, aitab neil küpseda ja paigutada ajus õigetele tasemetele (Iwakura ja Nawa 2013; Wong ja Guillaud 2004). Igale aju piirkonnale on oma kindel retseptor-ligand suhe ja hulk ning kontsentratsioonilised kõrvalekalded võivad väljenduda haigusena. Näiteks skisofreenikute frontaalkoores on ErbB1 normist kõrgemal kontsentratsioonil (Futamura jt., 2002). Lisaks on uuritud ErbB1 põhilist ligandi EGF-i, mille kontsentratsioon haiguse korral on normist madalam (Futamura jt., 2002, Nawa jt., 2014). EGF vähesuse korral häirub närvirakkude süntees, talitus ja kaitsevõime (Zhang jt., 2020). Hetkel pole teada, kas ErbB1 hulga tõusu tingib retseptori enda puudulikkus või tema ligandi EGF-i vähesus. Kindel on see, et ErbB1 ülesregulatsioon viitab aju puudulikule EGF signalisatsioonile, mis väljendub käitumusliku eripärana (Futamura jt., 2002). Psühhootilise episoodi ajal on EGF hulk jällegi normist kõrgem ja vastusena antipsühhootilisele ravile see väheneb (Koido jt., 2016). Katsete käigus on tõestatud, et liigne EGF vähendab GABA-neuronites GABA sünteesi (Namba jt., 2017). Langenud pidurdusmehhanismide tõttu püsivad püramidaalrakud ja dopamiinsüsteem pidevalt aktiivsed ja seega ilmnevad puudujäägid frontaalkoores täidesaatvas funktsioonis (kujuneb tähelepanu hajusus, langeb ohutunne, õpivõime ja sotsiaalsus) või tekivad skisofreeniale omased positiivsed sümptomid (Eda jt., 2013; Csomor jt., 2009; Powell jt., 2009; Schwartz jt., 2012; Nawa jt., 2014). EGF valgu liig muudab katseloomad ka vastuvõtlikumaks metamfetamiinile, mis veelgi enam soodustab positiivset sümptomaatikat (Nawa jt., 2014). Kuna senini pole teada kui suurel hulgal väline EGF jõuab ajju, ei saa luua otseseid seoseid vere EGF kontsentratsiooni ja haigustunnuste vahel (Zhang jt., 2020).

2. EKSPERIMENTAALOSA

2.1. Töö eesmärgid

1. Mudeldada dekstroamfetamiini (edaspidi amfetamiin) poolt põhjustatud psühhoosi laadset seisundit Bl6 ja 129Sv hiireliinides
2. Hinnata amfetamiini mõju hiirte liikumisaktiivsusele ja kehakaalule
3. Selgitada, kas amfetamiin mõjutab hiirte frontaalkoore ajukudede *Erbbl* geeniekspressiooni tasemeid

2.2. Materjalid ja meetodika

2.2.1. Katseloomad

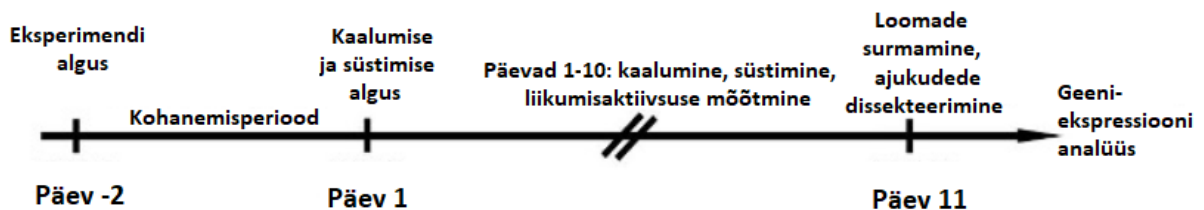
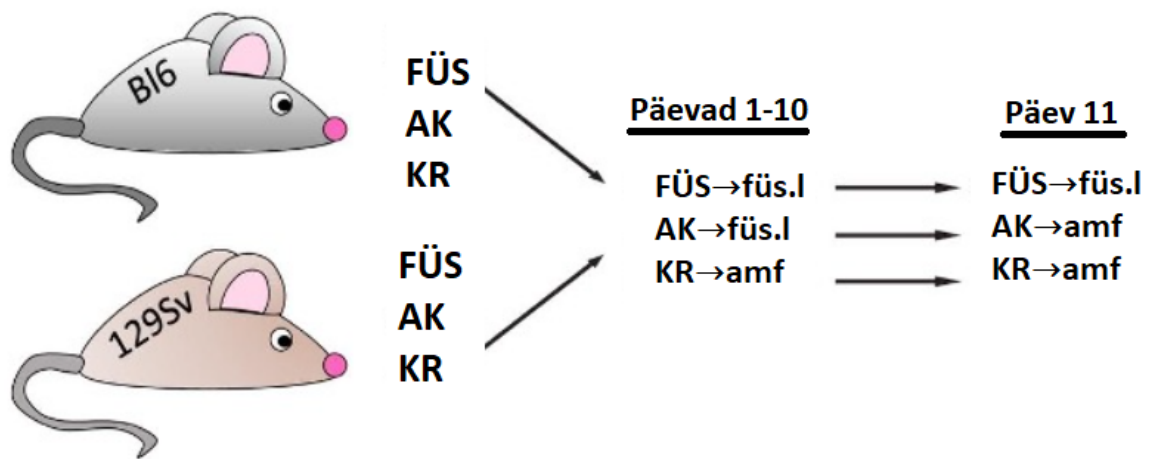
Valitud katse loomadeks olid Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditsiini instituudi katseloomakeskuse vivaariumis (Ravila 14b, Tartu) kasvatatud metsiktüüpi isased hiired (lad *Mus musculus*): C57BL/6Ntac (B16) ja 129S6/SvEvTac (129Sv), arvuliselt kokku oli 80 hiirt. Loomi hoiti 1290D Eurostandard tüüp III puurides, mõõtudega 425mm x 276mm x 153mm (Tecniplast, Itaalia). Ruumi temperatuuriks oli 22°C ± 1 °C, valgust ja pimedust võrdselt 12h (tuled läksid põlema kl 07:00). Puurides kasutati haavapuidust allapanu (2 cm kiht) ja haavapuidust pesamaterjali (0,5 l), mille vahetus toimus iganädalaselt. Toit ja joogivesi olid vabalt kättesaadavad, välja arvatud üks tund enne protseduure ja protseduuri ajal. Ühes puuris oli korraga 6-10 hiirt. Eksperimendi alguses olid loomad 6-9 nädalat vanad ja katse lõppedes 8-11 nädalat vanad. Katsed teostati kl 9:00 kuni 17:00 vahemikus.

Valitud 80 hiirt jaotati juhuse alusel kolme gruppi (tabel 3 ja joonis 5). Hiireliine ei pandud omavahel kokku, vaid hoiti eraldi. Kontrollgrupile ehk füsioloogilisele grupile süstiti vaid füsioloogilist lahust (NaCl 0,9%). Akuutne grupp sai katse käigus füsioloogilist lahust ja vaid viimasel päeval süstiti neile amfetamiini. Korduva manustamise grupi loomad sai kogu eksperimendi vältel üks kord päevas amfetamiini.

Tabel 3. Käitumiskatse eksperimentaalse ülesehitus.

Grupp	Katseloomade arv	Katsepäevad -2 ja -1	Katsepäevad 1-10	Viimane katsepäev (11.)
B16 füsioloogiline	13	Kohanemine	NaCl 0,9%	NaCl 0,9%
B16 akuutne amfetamiin	16	Kohanemine	NaCl 0,9%	amfetamiin + NaCl 0,9% lahus
B16 korduv amfetamiin	12	Kohanemine	amfetamiin + NaCl 0,9% lahus	amfetamiin + NaCl 0,9% lahus
129Sv füsioloogiline	11	Kohanemine	NaCl 0,9%	NaCl 0,9%

129Sv akuutne amfetamiin	14	Kohanemine	NaCl 0,9%	amfetamiin + NaCl 0,9% lahus
129Sv korduv amfetamiin	14	Kohanemine	amfetamiin + NaCl 0,9% lahus	amfetamiin + NaCl 0,9% lahus



Joonis 5. Kahe hiireliini (B16 ja 129Sv) illustratiivne katsepäevade skeem. Eksperimentaalosa, millel põhjal toimus andmete analüüs, kestis kokku 11 päeva (päev 1. kuni päev 11.) Sellele eelnes kohanemisperiood, mis kestis 2 päeva. Kohanemisperiood eksperimentaalosasse sisse arvestatud pole. FÜS tähistab füsioloogilise lahuse saajaid (füs.l), AK ehk akuutselt amfetamiini (amf) saajaid (viimasel katsepäeval) ning KR ehk korduvalt amfetamiini saajaid (1x päevas, iga päev) (Varul jt., 2021).

Selleks, et loomadele protsentuaalselt õige kogus lahust manustada (nii füsioloogiline, kui segatuna amfetamiiniga), oli vaja loomad enne igat protseduuri kaaluda ja kehakaalu alusel lahus välja arvutada. Punktatsioon tehti intraperitonaalselt ehk süstiti kõhuõõnde kontsentratsioonis 10 ml/kg kohta. Amfetamiini doos oli 3 mg/kg kohta.

Katsed toimusid selleks ettenähtud laboris (Tartu Ülikooli bio-ja siirdemeditsiini instituudi katseloomakeskuse laboris). Loomade süstimisl ja surmamisel tegelesid vastavat kvalifikatsiooni omavad spetsialistid. Käesoleva töö autor abistas hiirte ettevalmistamisega

uuringuteks, kaalumisel ning puuride puhastamisel (ja viibis juures vaid vaatlejana). Katsed on seadusega kooskõlastatud ja Eesti Vabariigi Maaeluministeriumi Loomkatseprojekti komisjoni poolt on olemas vastav luba (väljastatud kuupäevaga 4. mai 2016, numbriga 87). Uurimustöö on osa Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditsiini instituudis, füsioloogia laboris läbiviidavast suuremast eksperimentaaltööst, mille püstitaud eesmärgiks on tuvastada esmaseid psühhoosi markereid ning leida võimalik psühhoosi tekitatud molekulaarne mehhanism.

2.2.2. Liikumisaktiivsuse test

Käesolev katse on standardne meetod, mida rakendatakse motoorse käitumusliku fenotüübi hindamiseks (Paulus jt., 1999). Liikumisaktiivsuse hindamiseks kasutati spetsiaalset fotoelektrilist jälgimise süsteemi, mis oli ühendatud arvutiga (TSE, Technical & Scientific Equipment GmbH, Saksamaa). Hiirte asetamisel liikumisaktiivsuse hindamise puuri arvestati juhuslikkusega ehk kasutati ladina ruudu süsteemi (ingl *Latin square*). Liikumisaktiivsuse mõõtmise puurid olid läbipaistvad pleksiklaasist kastid (44 x 44 x 45 cm), milles infrapunakiired moodustasid kahetasapinnalise võrgustiku. Kiirte katkemise järgi toimus katselooma asukoha määramine ajas ja ruumis. Liikumisaktiivsuse parameetrid registreeriti automaatselt spetsiaalse arvutiprogrammi abil. Kastide sisemuses oli hiirte jaoks ere valgus, 400 luksit. Katse teostamisel kasutati iga hiire jaoks järgnevat ülesehitust: hiir kaaluti ning vastavalt kaalule manustati süstelahus, seejärel asetati hiir 30 minutiks üksinda puuri (nii füsioloogilist lahust saanud loomad kui ka amfetamiini). Pooletunnine aeg oli vajalik amfetamiini maksimaalse toime avaldamiseks (Innos jt., 2013). Seejärel läbisid hiired liikumisaktiivsuse hindamise testi, mis kestis 30 minutit. Pärast iga testi, kui katseloom võeti katse-kastist välja, puhastati kast hoolikalt 5% etanooli lahusega ning kuivatati. Katse jälgimis perioodi jooksul mõõdeti hiirte läbitud distantssi meetrites.

2.2.3. Koeproovid

Ajukoe proovide eemaldus teostati väljaõppe saanud spetsialisti poolt. Viimasel katsepäeval, koheselt peale liikumisaktiivsuse hindamise katset, loomad ohverdati (ükshaaval, intervalliga 8 min) ja eemaldati aju. Loomade surmamise meetodiks osutus tservikaalne dislokatsioon (ingl *cervical dislocation*). Dislokatsiooniga tekib kohene kaelalülid vaheliste ligamentide vigastus, mille tõttu lülid teineteisest eemalduvad ja põhjustavad ebastabiilsuse (Spoonamore). Aju asetati jääle ja eemaldati erinevad aju osad: frontaalkoor, hipokampus, amügdala, dorsaalne ja ventraalne striatum ehk juttkeha ja keskaju (lad *mesencephalon*).

Ajuosad paigutati vedelasse lämmastikku ja edasi -80 °C külmkappi. Koetükid paiknesid sügavkülmas kuni järgmise katse etapini. Käesolevas töös keskenduti frontaalkoorele.

2.2.4. RNA eraldamine

RNA (ribonukleiinhape, ingl *ribonucleic acid*) eemaldamine toimus jääl, et võimalikult palju pärssida lagundavate ensüümide tööd ja säilitada RNA-d. Et tagada korrektne protsess, kasutati RNA eraldamiseks modifitseeritud Molecular Research Center Inc protokoll. Külmutatud koeproovi töödeldi TRI reagentiga (Molecular Research Center Inc, USA), mis sisaldab endas fenooli ja guanidiin-tiotsüanaati. Reagenti komponent guanidiin-tiotsüanaat käitub kui RNAasi inhibiitor.

Esimese etapina võeti -80°C külmkapist pärit frontaalkoored ja asetati jääle (tegemist oli väikeste koetükkidega, 50 mg ja vähem), kuhu lisati kohe juurde 100µl jahutatud TRI reagenti. Parema efekti saavutamiseks oli kudet koos reagentiga vaja uhmerdada ja edasi lisada juurde TRI reagenti kuni mahuni 500 µl. Reagentil lasti toatemperatuuril toimida viis minutit. Seejärel lisati kude-TRI reagenti segule juurde 100µl kloroformi (Sigma-Eldrich, Saksamaa) ja kasutades *vortex*-aparaati (15 sekundit) segati proov. Ühtlaselt roosaks värvunud proov asetati taas jääle inkubeerima. Edasi proov tsentrifuugiti 15 minuti jooksul 12000p/min ja 4°C juures (Eppendorf 5810/R Bench Topp, Saksamaa). Peale tsentrifuugimist sai silmaga eristada katsuti põhja sadenenud orgaanikat pindmisest vedeliku faasist ehk supernatandist. Supernatant tõsteti ümber uude katsutisse ja põhja sadenenud orgaanika asetati jääle ning säilitati paralleelkatseks DNA (desoksüribonukleiinhape, ingl *deoxyribonucleic acid*) ja valkude eraldamiseks, mida käesolevas töös ei käsitleta. RNA sadestamiseks lisati eraldatud supernatandile juurde külma 250 µl isopropanooli (Sigma-Aldrich, Saksamaa), mis asetati inkubeerimiseks loksutile 4°C temperatuuriga ruumi 30 minutiks. Inkubeeritud proov asetati tsentrifuugi 15 minutiks 12000 p/min 4°C juures ja peale pöördeid oli katsuti põhjas RNA nähtav hallika pelletina. Liigne vedelik valati ära ja sadele lisati juurde 1 ml jääkülma 75% etanooli. Taaskord kasutati tsentrifuugi 10 min, 4 °C ja 7500 p/min. Vedeliku faas läks välja valamisele ja etanoolipesu korrati veel kaks korda sama skeemi alusel. Pärast etanooliga töötlemist asetati RNA-pelletid toatemperatuuril kümneks minutiks kuivama. Edasi lisati pelletile juurde 30 µl vett (MilliQ), segu segati korralikult *vortex*-aparaadiga ja kiire tsentrifuugiga (ingl *spin down*) saadi ühtlane lahus. RNA kontsentratsiooni mõõtmiseks kasutati NanoDrop ND-1000 spektrofotomeetrit (NanoDrop Technologies, USA). RNA lahus säilitati -80 °C külmkapis.

2.2.5. Genoomse DNA eraldamine ja DNAas I töötlus

Selleks, et saada kvaliteetne sünteesi cDNA (komplementaarne desoksüribonukleinhape, ingl *complementary deoxyribonucleic acid*), on vaja RNA lahusega sooritada DNAas I töötlus. DNAasiga eemaldatakse lahusesse alles jäänud genoomse DNA fragmendid.

Kasutatavateks reagentideks valiti RNAas-i vaba DNAas I (Life Technologies Corporation, USA) ja EDTA lahus (Life Technologies Corporation, USA).

Esmalt võeti sügavkülmast RNA lahused ja tõsteti jääle. Vastavalt ennist mõõdetud RNA kontsentratsioonidele, tõsteti pipetiga uude tuubi kindel kogus RNA lahust ja lisati juurde Milli-Q vett kuni mahuni 21 µl. Lahusele lisati juurde 3 µl 10x lahjendusega DNAas I puhvrit (Life Technologies Corporation, USA) ja 3 µl DNAas I ensüümi (Life Technologies Corporation, USA). Segu segati *vortex*-aparaadiga ja teostati kiirtsentrifuug. Edasi pandi proov 30 minutiks temperatuurile 37°C inkubeerima. Reaktsiooni peatamiseks lisati proovile juurde 3 µl 50mM EDTA lahust (Life Technologies Corporation, USA). Segu segati *vortex*-aparaadiga ja teostati kiirtsentrifuug ning edasi inkubeeriti 10 minutit 65 °C juures. Soojendatud proov tõsteti taas jahtuma ja säilitati -20 °C juures.

2.2.6. cDNA süntees

Komplementaarset DNA sünteesiks kasutati SuperScript III pöördtranskriptaasi ensüümi (200 U/µL, Invitrogen) ja heksameerseid oligonukleotiide vastavalt tootja juhendile.

DNAas I ensüümiga töödeldud RNA-lahusele lisati juurde vett kuni 11 µl ehk RNA lõplik hulk cDNA sünteesi lahuses oli vastavalt 3 µg. Seejärel lisati 2 µl (50 µg/ml) heksameerset praimerit (Applied Biosystems, USA) ja 1 µl 10 mM dNTP segu (Fermentas, USA). Selleks, et praimerid seonduda saaks, kuumutati lahust viis minutit 65 °C juures. Järgnevalt tõsteti tuubid reaktsiooni peatamiseks viieks minutiks jääle. Edasiseks cDNA sünteesiks lisati proovidele 4 µl 5X *First-Strand Buffer* [250 mM Tris-HCl (pH 8,3 toatemperatuuril), 375 mM KCl, 15 mM MgCl] (Invitrogen, USA), 1 µl 0,1 M DTT (Invitrogen, USA) ja 1 µl pöördtranskriptaasi ensüümi [SuperScript III ensüümi (200 U/µL)]. Lõpplahuse maht oli 20 µl. Segu segati *vortex*-aparaadiga ja tsentrifuugiti põhja (*spin-down*).

Edasi inkubeeriti proove 10 min toatemperatuuril ning seejärel asetati proovid sünteesi toimumiseks 50 °C kuumaalusele 75 minutiks. Peale kuuma alusel olemist tõsteti proovid 15 minutiks 70 °C juurde, et peatada reaktsioon. Saadud cDNA kontsentratsiooni mõõtmiseks kasutati NanoDrop ND-1000 spektrofotomeetrit ja edasi viidi proovid säilitamiseks -80°C ruumi.

2.2.7. Kvantitatiivne reaala PCR (qPCR)

QPCR (polümeraasi ahelreaktsioon, ingl *polymerase chain reaction*) analüüsiks oli kasutusel tootja 5x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR *Supermix* (Solis Biodyne, Eesti) reagentid ja vastav juhend. Katse läbiviimise seadmeks oli QuantStudio 12K Flex (Applied Biosystems, USA) ja katsesükliks teostati temperatuuridel 90 °C 15 min, millele järgnes 40 tsüklit temperatuuridel 95 °C 20 s, 61 °C 20 s ja 72 °C 20 s. Antud seadme programmiga Software 1.2.2 koguti ja töödeldi esmased andmed. Disainitud praimerid (disainitud Praimer3Plus tarkvaraga) telliti (Biosearch Technologies, Taani) ning sobilikkuse kontrolliks jooksutati geelelektroforeesi ja edasi toimus qPCR. *Erbbl* geeni *forward* praimerjärjestus oli 5'-ATGCTGTACAACCCACCAC-3' ja *reverse* praimerjärjestus oli 5'-TGAGCCATGATCTGTCACCAC-3'. Referentsiks valiti eelnevalt uuritud ja usaldusväärseks osutunud koduhoidja geen *Hprt* (ingl *hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1*) (Raud jt., 2009). QPCR reaktsiooniplaadile kanti üks geen ja kõik manustamise grupid (füsioloogiline, akuutne amfetamiin ja korduv amfetamiin) ning mõlemad hiireliinid (B16 ja 129Sv). Iga kindla hiire geeniekspressiooni mõõdeti nelja kordusena, et vältida varieeruvusi. Kõikide reaktsioonide lõpp maht oli 10 µL ja segus oleva cDNA kogus 5 ng. Kuna geeniekspressiooni läbiviimisel oli reaktsiooni plaadil korraga üks geen, kasutati igal reaktsiooni plaadil kolme kontroll-mõõtmis proovi (proovid kolmelt hiirelt, kes olid kõikidel plaatidel samad) *Hprt* praimeritega, et välistada võimalikud plaatide vahelised mõõtmise hälbed. Käesolevas töös kasutati seega kahte plaati kahe mõõdetava geeniga (*Erbbl* ja *Hprt*).

2.2.8. Andmete statistiline analüüs

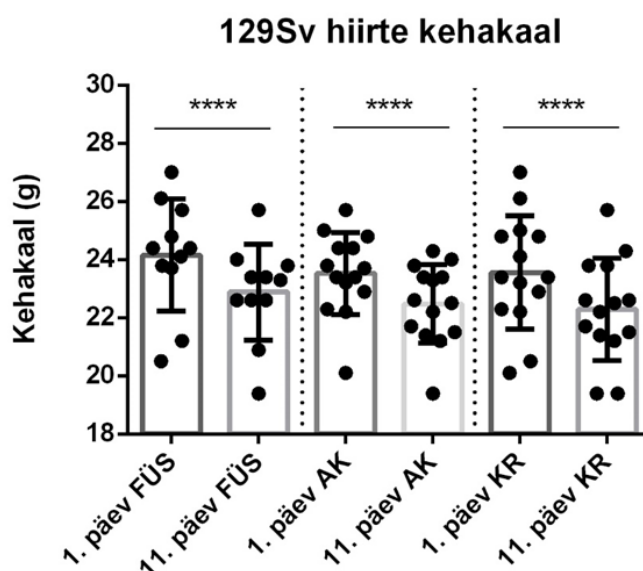
QuantStudio 12K Flex Software 1.2.2 programm võimaldas saadud qPCR andmed eksportida *Excel* failina. Vastavalt tarkvara soovitudele ja saadud andmetest saadud kõverate põhjal eemaldati kõrvale kaldunud ehk hälbinud tulemused (ühe proovi kohta jäi alles vähemalt kolm tulemust, et leida keskmine). *Excel* programmiga konverteeriti andmed *Hprt* suhtes $2^{-\Delta CT}$ formaati (ΔCT tähistab qPCR tsükli mõõdetud lävendi erinevust uuritava geeni ja koduhoidja geeni vahel) ja joonistel esitati \log_2 skaalal, et viia tulemused lähemale normaaljaotusele. Kaalu mõõtmised ja liikumisaktiivsus esitati tavaandmetena ning need vastasid normaaljaotusele. Geeniekspressiooni statistiline analüüs viidi läbi kahefaktorilise dispersioonanalüüsi abil [(*two-way* ANOVA) hiireliin (B16 ja 129Sv) x manustamise grupp (füsioloogiline, akuutne amfetamiin ja korduv amfetamiin)], millele järgnes Bonferroni *post hoc* test. Peale *post hoc* testi loeti oluliseks need väärtused, mille p-väärtus oli $\leq 0,05$. Kehakaalu mõõtmise katses rakendati korduvmõõtmistega (1. ja 11. päev) dispersioonanalüüsi (ingl *repeated measures ANOVA*), millele järgnes Bonferroni *post hoc*

test. Tulemused väljendati graafikutel keskmiste väärtustena koos standardhälbega (*ingl* standard deviation SD). Statistiliselt olulised tulemused on esile tõstetud horisontaalsete joontega ja statistilise olulisuse määr *post hoc* testis on märgitud tärniga (“*”), kus tärnide arv kajastab olulisuse määra suurust: “*” $\leq 0,05$; “**” $p \leq 0,01$; “***” $p \leq 0,001$; “****” $p \leq 0,0001$. Joonised, liikumisaktiivsuse ja geeniekspressiooni katsete statistilised tulemused, loodi GraphPad Prism 6 tarkvara vahendusel (GraphPad Software Inc, USA). Korduva mõõtmise ANOVA statistilised tulemused saadi Statistica 12 programmiga (Statsoft, USA).

2.3. Tulemused

2.3.1. 129Sv hiireliinis kehakaal langes

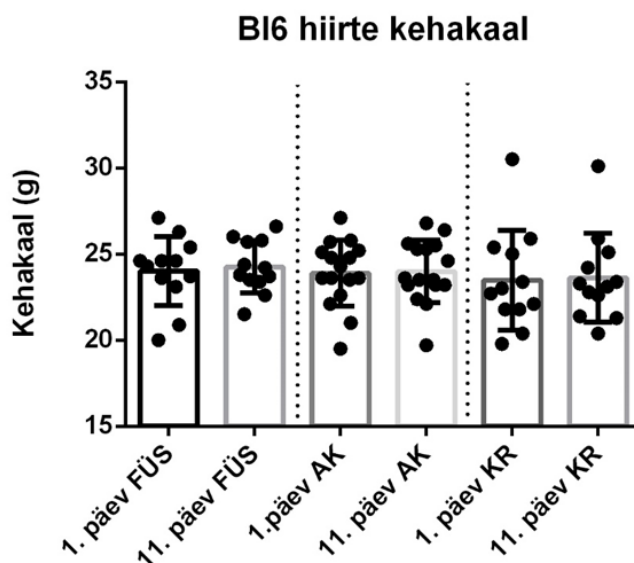
Võrreldes kehakaalu esimest ja viimast ehk 11ndat katsepäeva, siis korduva mõõtmise dispersioonanalüüs (*ingl* repeated measures ANOVA) meetodiga oli näha 129Sv hiirte kehakaalu langus (katsepäev $F_{(1,36)} = 177,7$; $p \leq 0,0001$). Samas olulist manustamisefekti ehk tulemust manustamisgruppide vahel ei märgatud ($F_{(2,36)} = 0,45$; $p = 0,64$). Lisaks selgus ka, et katsepäeva ning manustamise efekti vahel statistiliselt olulist tulemust ei leitud (katsepäev x manustamine $F_{(2,36)} = 0,74$; $p = 0,49$) (joonis 6).



Joonis 6. 129Sv hiireliini gruppides on kehakaalu tendents languse suunas 11 katsepäeva lõikes. FÜS ehk füsioloogiline grupp, AK ehk akuutne amfetamiini manustusgrupp, KR ehk korduv amfetamiini manustusgrupp ja g ehk kaaluühik gramm. 129Sv hiirte graafikul näidatud, et võrreldes 1. katsepäevaga, 11. päeval oli kehakaal madalam. Kehakaalu langus toimus kõigis manustusgruppides (FÜS, AK, KR). Samas manustusgruppide (FÜS, AK ja KR) vahel olulisi erinevusi polnud.

2.3.2. B16 hiireliinis püsis kehakaal muutumatuna

Võrreldes kehakaalu esimest ja viimast katsepäeva, siis korduva mõõtmise ANOVA (ingl *repeated measures ANOVA*) meetodiga ei tuvastatud erinevusi katse päevade vahel (katsepäev $F_{(1,37)} = 2,10$; $p = 0,16$), manustamise gruppide vahel ($F_{(2,37)}=0,24$; $p=0,79$) ega katsepäeva ning manustamise efekti vahel (katsepäev x manustamine $F_{(2,37)} = 0,15$; $p = 0,86$). B16 hiirte kehakaal püsis katse perioodi jooksul peaaegu muutumatuna (joonis 7).

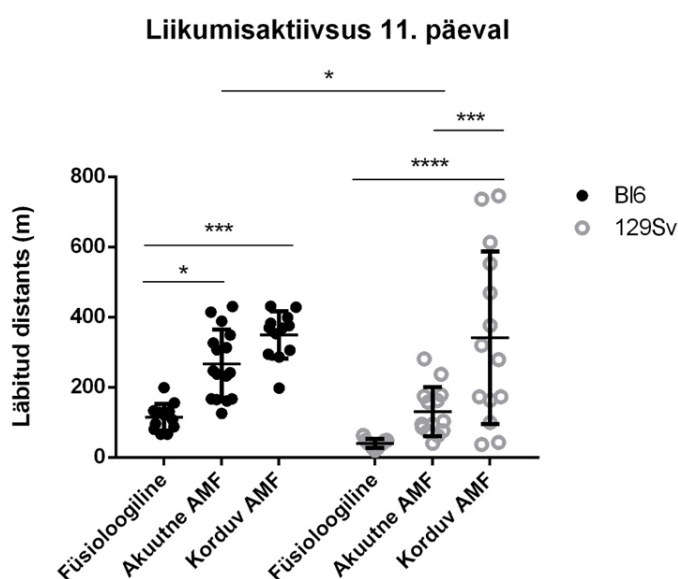


Joonis 7. B16 hiireliini gruppide kehakaal 11 katsepäeva lõikes. FÜS ehk füsioloogiline grupp, AK ehk akuutne amfetamiini manustamisgrupp, KR ehk korduv amfetamiini manustamisgrupp ja g ehk kaaluühik gramm. B16 hiirte graafikul on näidatud, et nii 1. kui ka viimasel ehk 11. katsepäeval loomade kehakaal oli praktiliselt sama kõigis manustamisgruppides (FÜS, AK, ja KR). Ka manustamisgruppide (FÜS, AK ja KR) vahel erinevusi polnud.

2.3.3. Korduv amfetamiini manustamine tekitas B16 ja 12Sv hiireliinides liikumisaktiivsuse tõusu

Viimasel katsepäeval (11. päev), liikumisaktiivsuse hindamise testiga, tuvastati oluline statistiline erinevus kahe hiireliini vahel (kahefaktoriline ANOVA: hiireliin – $F_{(1, 73)} = 7,12$; $p = 0,015$; manustamise efekt – $F_{(2,73)} = 30,3$; $p < 0,0001$; hiireliin x manustamise efekt – $F_{(2,73)} = 1,98$; $p = 0,15$; joonis 8). Akuutselt manustatav amfetamiin põhjustas läbitud vahemaa suurenemist B16 hiirtel ($p = 0,02$; Bonferroni *post hoc* test), kuid mitte 129Sv hiirtel ($p > 0,9$). Esines ka B16 hiirte ja 129Sv hiirte akuutsete gruppide omavaheline erinevus, kus B16 hiired liikusid märkimisväärselt rohkem ($p = 0,04$). Võrreldes füsioloogilise manustamise toimet korduva amfetamiini manustamise toimega, siis põhjustas korduv amfetamiin mõlemas

hiireliinis selge liikumisaktiivsuse tõusu (muutus B16 hiirtes: $p = 0,0001$ ja muutus 129Sv hiirtes: $p < 0,0001$). Korduva amfetamiini manustamise gruppides olid hiireliinide vahelised keskmised jõudnud sarnastele tasemetele (342 ± 246 m 129Sv hiirtel ja 349 ± 65 m B16 hiirtel). Siiski, 129Sv hiirte korduva amfetamiini manustamise grupisiseselt esines loomade vahel suur liikumisaktiivsuse varieeruvus (minimaalne tulemus oli 37 m ja maksimaalne 746 m). Võrreldes akuutse amfetamiini manustamise gruppi korduva amfetamiini manustamise grupiga, siis 129Sv hiirtel andis korduv amfetamiini manustamine statistiliselt olulise efekti ($p = 0,0002$) kuid B16 hiirtel liikumisaktiivsus peale akuutse amfetamiini manustamist enam oluliselt ei tõusnud ($p > 0,9$).



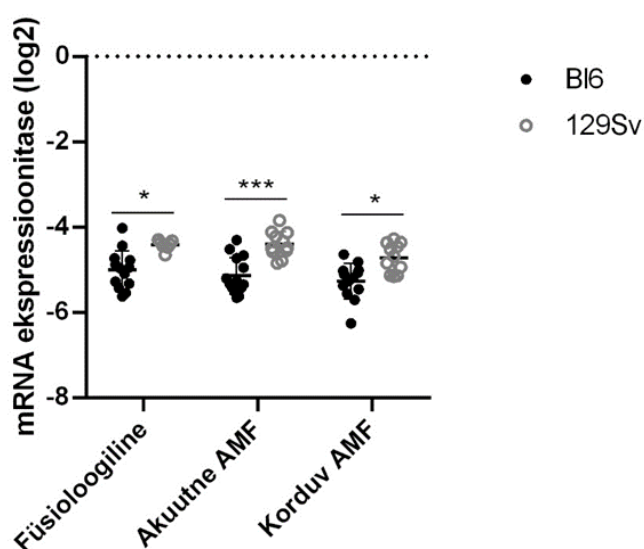
Joonis 8. B16 ja 129Sv hiireliinide liikumisaktiivsus läbitud distantsina katse jooksul. AMF tähistamas amfetamiini, m tähistamas mõõteühik meetrit. Graafikul musta täpiga tähistatud B16 hiired (vasakul) ja halli ringiga tähistatud 129Sv hiired (paremal). Graafik kajastab loomade liikumisaktiivsuse variatsiooni viimasel ehk 11. katsepäeval. Amfetamiini toimel tõusis liikumisaktiivsus mõlemas hiireliinis. Kõige rohkem suurendas hiirte liikumisaktiivsust korduva amfetamiini manustamine, eriti väljendus see 129Sv hiirtel. Lisaks esines 129Sv korduvam amfetamiini grupis suur grupisise varieeruvus. Akuutne AMF tekitas liikumisaktiivsuse tõusu ainult B16 hiirtel.

2.3.4. *ErbB1* geeniekspressioon frontaalkoores oli kõrgem 129Sv hiireliinis

Viimasel katsepäeval (11. päev) eraldatud frontaalkoortest mõõdeti *ErbB1* geeniekspressioon mõlema hiireliini kõigis manustusgruppides (joonis 9). Geeniekspressiooni mõõtmisel tuvastati oluline erinevus hiireliinide vahel ning ka manustamise gruppide vahel (kahefaktoriline ANOVA: hiireliin – $F_{(1,63)} = 44,1$; $p < 0,0001$; manustamise efekt – $F_{(2,63)} = 3,33$; $p = 0,04$; hiireliin x manustamise efekt – $F_{(2,63)} = 0,41$; $p = 0,67$). Siiski tõestas statistiline

analüüs, et hiireliinide vahelised erinevused on oluliselt suuremad, kui erinevused, mis on tingitud amfetamiini manustamisest. Hiire liinide vaheline erinevus ilmnes juba füsioloogilise lahuse manustamise grupis, kus geeniekspressiooni tase oli kõrgem 129Sv hiirtes ($p = 0,03$; Bonferroni post hoc test). Akuutne amfetamiini manustamine suurendas hiireliinide vahelisi erinevusi veelgi, geeniekspressiooni tase oli endiselt kõrgem 129Sv hiirtel ($p = 0,0001$). Korduva amfetamiini manustamine langetas *Erbbl* ekspresioonitasemeid mõlemas hiireliinisis, kuid hiireliinide vaheline erinevus jäi siiski püsima ($p = 0,01$). Bonferroni post hoc testiga ei tuvastatud kummaski hiireliinis ühtegi manustamis gruppide vahelist erinevust.

Erbbl geeniekspressioon frontaalkoores



Joonis 9. Geeni *Erbbl* ekspressioon hiireliinide B16 ja 129Sv frontaalkoortes. AMF tähistamas amfetamiini. Graafikul musta täpiga tähistatud B16 ja halli ringiga 129Sv hiired. Toodud loomade geeni *Erbbl* ekspresioonitase frontaalkoortes. Näha on, et igas manustusgrupis (füsioloogiline, akuutne ja korduv) on 129Sv hiirtel *Erbbl* ekspresioonitase kõrgem.

2.4. Arutelu

Käesoleva uurimistöö eesmärgiks oli hinnata kahe hiireliini B16 ja 129Sv käitumist ning *Erbbl* geeniekspressiooni vastusena amfetamiiniga indutseeritud psühhoosile. Hiiri koheldi võrdselt ja läbiviidud katsed olid identsed. Loomadega tegelesid inimesed, kes omasid selleks vastavat litsentsi. Mõlema hiireliini loomad olid jaotatud kolme gruppi: füsioloogiline, akuutne ja korduva amfetamiini manustamise grupp. Füsioloogilise grupi loomad said 11 päeva jooksul füsioloogilise lahuse süste. Akuutse grupi loomad said 10 päeva füsioloogilise lahuse süste ja viimasel, 11. päeval, ühekordse amfetamiini süsti. Korduva manustamise

grupi loomad said terve katseaja, ehk 11 päeva vältel, amfetamiini süste (1x päevas). Käitumise katse käigus jälgiti loomade liikuvust ja mõõdeti nende kehakaalu. Katse lõpus loomad surmati ja mõõdeti nende frontaalkoore *ErbB1*-retseptorite hulka.

2.4.1. Farmakoloogilise katse mõju kehakaalule

129Sv hiireliinile oli omane kehakaalu langus 11 päeva lõikes, mis osutus ka statistiliselt väga oluliseks ($p \leq 0,0001$). Statistilise analüüsi järeltulisel selgus ka, et amfetamiin ise 129Sv hiirte kehakaalu niivõrd ei mõjutanud ($p = 0,64$). B16 hiireliinil kehakaal katseperioodi jooksul praktiliselt üldse ei muutunud ($p = 0,16$), samuti ei olnud olulisi erinevusi manustus gruppide vahel ($p=0,79$). Kuigi varasemate uuringutega on näidatud seost amfetamiini ja kaalulanguse vahel, siis käesolevas katses nende kahe faktori vaheline seos ei ilmnenu (Jones jt., 1992; Morris 2020).

129Sv hiireliini kaalulanguse põhjuseks kõigis manustusgruppides võis olla stress, kuna kaalulangus esines ka füsioloogilist lahust saanud hiirte hulgas. Stressi indutseerijana võis olla loomade süstimine, aga ka mitmeid teised faktoreid nagu keskkonna vahetus, kokkupuude eksperimendi läbiviijaga, hiirtele võõrad lõhnad katseruumis, ere valgus ja kostuvad helid (Freiman jt., 2016; Preez jt., 2020). Kuigi stressi ja kehakaalu uuringud inimestega on viidanud üldiselt kaalutõusule, siis sõltuvalt organismi eripärast on leitud loomkatsetes ja inimuuringutes seoseid ka kaalulanguse ja stressi vahel (Harris jt., 2002; Kivimäki jt., 2006; Jeong jt., 2013; Jackson jt., 2017; Stalder jt., 2017). Kuna kindlasti võib väita, et käitumise katse periood oli stressirohke ka B16 hiirtele, siis võib olla võimalik, et B16 hiired on paremad muutuva keskkonnaga kohajenad kui 129Sv hiired ning ilmselt kasutavad need kaks hiireliini erinevaid organismisiseseid toimetulekumehhanisme (Bailey 2018; Lee jt., 2023).

2.4.2. Farmakoloogilise katse mõju liikumisele

Käitumise katsete tulemusel selgus, et amfetamiin omab mõju loomade liikumisaktiivsusele ehk loomad muutuvad liikuvamaks ja läbivad pikemaid vahemaid (Alttoa jt., 2007; Degoulet jt., 2009; Kusljik jt., 2022). Statistiliselt olulised tulemused saadi mõlemas hiireliinis ja ka manustus gruppide vahel. Ühekordselt manustatud amfetamiin pani B16 hiiri võrreldes 129Sv hiirtega mõnevõrra rohkem liikuma ($p = 0,04$). Ka korduvalt manustatud amfetamiin suurendas liikumist ja seda eriti pea pooltel 129Sv hiirtel ($p < 0,0001$ 129Sv hiirtel ja $p = 0,0001$ B16 hiirtel). Kahe hiireliini põhiliseks erinevuseks liikumisaktiivsuse katses osutus amfetamiini hulk, mis pani loomi liikuma. B16 hiirtele piisas vaid ühekordsest amfetamiini

manustamisest, et saavutada statistiliselt oluline liikumisaktiivsuse tõus ($p = 0,02$). Ja edasine korduv amfetamiini manustamine väga mõju ei avaldanud ($p > 0,9$). Seevastu 129Sv hiirte liikumisaktiivsus kasvas päevadega vastusena uuele amfetamiini doosile ($p = 0,0002$). See võib tähendada seda, et B16 hiired saavutasid tolerantsuse ja seetõttu edasine amfetamiini manustamine liikumise mootorikat läbitud distantsi näol ei tõstnud (Turner jt., 2018). 129Sv hiirte korduva amfetamiini manustamise grupis nähti kahte tendentsi: pooltel loomadel jäi läbitud distants samale tasemele nagu oli see akuutse manustamise grupis ja pooltel loomadel tõusis liikumisaktiivsus märkimisväärselt rohkem. Arvestades, et tegu oli geneetiliselt peaaegu identsete loomadega, siis suure tõenäosusega võis erinev liikumisaktiivsus 129Sv hiirtes olla põhjustatud epigeneetikast ja sellest tingitud organismi iseärasustest. Kuigi inimesed on geneetiliselt heterogeensed, on huvitav märkida, kuidas metamfetamiini manustamine jaotab ka inimesed kahte gruppi: osadel kujuneb välja sõltuvus, teistel tekib paranoidne skisofreenia (Ikeda jt., 2013).

2.4.3. *ErbB1* geeniekspressioon

Geeniekspressiooni mõõtmise tulemusel selgus, et kõikides manustamis gruppides oli *ErbB1* geenitranskriptide tase kõrgem 129Sv hiirte frontaalkoores võrreldes B16 hiirtega.

Nagu öeldud, ilmnes erinevus juba füsioloogilise manustamise grupi hiirte vahel ($p = 0,03$) ja akuutne amfetamiini manustamine suurendas 129Sv *ErbB1* transkriptide hulka võrreldes B16 hiirtega veelgi ($p=0,0001$). ErbB1 valk on transmembraanne türosiinkinaas retseptor mis paikneb kesknärvisüsteemis GABA-neuronite ja astrotsüütide pinnal. Valgu põhiliseks ülesandeks on juhtida rakkude elulisi protsesse, nagu näiteks pooldumine, arenemine ja kasvamine (Iwakura ja Nawa 2013; Liu jt., 2021). Seetõttu kasutatakse mitmeid ErbB1 inhibiitoreid ka kasvajate ravis (Shi jt., 2022). ErbB1 suurenenud geeni- ja valguekspressiooni on nähtud ka skisofreenikute hulgas frontaalkoores (Futamura jt., 2002; Mizuno jt., 2013; Mostaid jt., 2017; Sotoyama jt., 2023). Samas tuleb silmas pidada tõsiasja, et käesolevas töös on käsitletud geeniekspressiooni tasemete mõõtmist, mis võivad valguekspressiooni tasemetest olla erinevad.

Arvestades, et 129Sv hiirtel on mutatsioon skisofreenia markergeenis *Disc1* ning lisada antud uurimistöö tulemused, mille käigus selgus, et 129Sv hiirtel on kõrgem *ErbB1* geeniekspressioonitase aju frontaalkoores, esines suur liikumisaktiivsuse varieeruvus korduva amfetamiini manustamise suhtes ning teades, et 129Sv hiired on stressile vastuvõtlikumad, võib eeldada, et võrreldes B16 hiirtega, võib 129Sv hiirelin pakkuda paremaid võimalusi kohanemisega seotud häirete uurimiseks.

KOKKUVÕTE

Käesolevas bakalaureusetöös uuriti kahte hiireliini B16 ja 129Sv, kes on oma käitumise poolest küllaltki erinevad - B16 hiired on aktiivsemad ning agressiivsemad, kuid 129Sv hiired on pigem malbed ja ärevamad. Kõige suuremaks iseärasuseks käesoleva katses oli 129Sv hiirte kõrgem frontaalkoore *ErbB1* geeniekspressioon. ErbB1 suurenenud geeni- ja valgu ekspressiooni hulka on täheldatud ka skisofreenia patsientidel. Lisaks selgus katse käigus, et 129Sv hiired on stressile vastuvõtlikumad, mis võis väljenduda neil kaalulangusena kogu katse perioodi jooksul. Farmakoloogilise katse ja geeniekspressiooni mõõtmise tulemusel nähti, et hiireliini efekt on tugevam kui amfetamiini efekt, sest statistiliselt olulised erinevused olid nähtavad hiire liinide vahel, mitte manustamise gruppide vahel. Uuritud B16 ja 129Sv hiirte erinevad toimetulekumehhanismid võivad olla seotud ka *Disc1* geeniga.

Käesoleva töö tulemused võivad viidata sellele, et arvestades 129Sv hiirtele iseäralikke käitumismustreid (keskkonnavahetus mõjub rohkem stressi tekitavalt) ning geneetilisi erivusi (mutatsioon *Disc1* geenis ning erinev *ErbB1* geeniekspressioonitase frontaalkoores), siis 129Sv hiireliin võib anda paremaid võimalusi taoliste käitumishäirete uurimiseks ning mudeldamiseks, mis on seotud toimetuleku mehhanismidega (psühhootilised häired, ärevus, bipolaarne häire ja depressioon).

RESÜMEE

Modelling psychosis-like symptoms in B16 and 129Sv mouse strains and evaluating the *ErbB1* gene expression levels in the frontal cortex

Magdalena Žoržoliani

Summary

In this thesis, two mouse strains B16 and 129Sv were studied. The mice differ in terms of their behavior - B16 mice are more active and aggressive, but 129Sv mice tend to be more timid and anxious. The most important feature of the present experiment was the higher *ErbB1* gene expression in the frontal cortex of 129Sv mice. Increased gene and protein expression of ErbB1 has also been implicated in schizophrenia patients. In addition, during the experiment it was seen that 129Sv mice are more susceptible to stress, which could be expressed as weight loss during the experimental period.

Pharmacological testing and gene expression measurements showed that the mouse strain effect was stronger than the amphetamine effect, as statistically significant differences were seen between mouse lines and not between administration groups. The different coping mechanisms of the studied B16 and 129Sv mice may also be related to the *Disc1* gene.

The results may indicate that considering the peculiar behavior patterns of 129Sv mice (environmental change is more stressful) and genetic differences (mutation in the *Disc1* gene and different *ErbB1* gene expression level in the frontal cortex), the 129Sv mouse line may provide better opportunities for studying and modeling such behavioral disorders, which are related to coping mechanisms (psychotic disorders, anxiety, bipolar disorder and depression).

TÄNUSÕNAD

Tahan tänada juhendajat Jane Varulit abistamise, juhendamise ja nõuannete eest. Oli väga palju abi nii katsete läbiviimisel, kui ka töö kokkukirjutamisel. Väga hea koostöö. Lisaks tänan ka oma teist juhendajat Lilian Kadaja-Saarepuud abistamise ning sisukate ja vajalike nõuannete eest.

KASUTATUD KIRJANDUS

1) Ajakiri

Abe, Y., Nawa, H. ja Namba, H. (2009). Activation of epidermal growth factor receptor ErbB1 attenuates inhibitory synaptic development in mouse dentate gyrus. *Neuroscience Research* 63(2), 138-148.

Abramov, U., Puussaar, T., Raud, S., Kurrikoff, K. ja Vasar, E. (2008). Behavioural differences between C57BL/6 and 129S6/SvEv strains are reinforced by environmental enrichment. *Neuroscience Letters*, 443(3), 223-227.

Alexi, X., Berditchevski, F. ja Odintsova, E. (2011). The effect of cell–ECM adhesion on signalling via the ErbB family of growth factor receptors. *Biochemical Society Translations* 39(2).

Alttoa, A., Eller, M., Herm, L., Rincken, A. ja Harro, J. (2007). Amphetamine-induced locomotion, behavioral sensitization to amphetamine, and striatal D2 receptor function in rats with high or low spontaneous exploratory activity: Differences in the role of locus coeruleus. *Brain Research* 1131, 138-148

Arnegard, M. E., McGee, M. D., Matthews, B., Marchinko, K. B., Conte, G. L., Kabir, S., Bedford, N., Bergek, S., Frank Chan, Y., Jones, F. C., Kingsley, D. M., Peichel, C. L. ja Schluter, D. (2014). Genetics of ecological divergence during speciation. *Nature* 511, pages307–311.

Arnsten, A. F. T. (2009). Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nature Reviews Neuroscience* 10, 410-422.

Ayano, G. (2016). Dopamine Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders Review of Literatures. *Journal of Mental Disorders and Treatment* 2(2).

Bailey, J. (2018). Does the stress of laboratory life and experimentation on animals adversely affect research data? A critical review. *Alternatives to Laboratory Animals* 46(5).

Batinic B. (2019). Cognitive Models of Positive and Negative Symptoms of Schizophrenia and Implications for Treatment. *Psychiatria Danubina* 31, 181-184.

Bicks, L. K., Koike, H., Akbarian, S. ja Morishita, H. (2015). Prefrontal Cortex and Social Cognition in Mouse and Man. *Frontiers in Psychology* 6(1805).

Birchmeier, C. (2009). ErbB receptors and the development of the nervous system. *Experimental Cell Research* 315(4).

Blakemore, S.-J. ja Robbins T. W. (2012). Decision-making in the adolescent brain. *Nature Neuroscience* 15, 1184-1191.

Bryant, C. D. (2011). The blessings and curses of C57BL/6 substrains in mouse genetic studies. *The New York Academy of Sciences* 1245(1), 31–33.

van den Buuse, M. (2010). Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: pharmacology and methodology aspects. *Schizophrenia Bulletin* 36(2), 246-270.

- Calipari, E. S. ja Ferris, M. J. (2013). Amphetamine Mechanisms and Actions at the Dopamine Terminal Revisited. *The Journal of Neuroscience* 33(21), 8923–8925.
- Carlén, M. (2017). What constitutes the prefrontal cortex? *Science* 358(6362), 478-482.
- Chai, W. J., Hamid, A. I. A. ja Abdullah, J. M. (2018). Working Memory From the Psychological and Neurosciences Perspectives A Review. *Frontiers in Psychology*.
- Chan, R. C. K., Shum, D., Touloupoulou, T. ja Chen, E. Y. H. (2008). Assessment of executive functions review of instruments and identification of critical issues. *Archives of Clinical Neuropsychology* 23(2), 201-216.
- Chubb, J. E., Bradshaw, N. J., Soares, D. C., Porteous, D. J. ja Miller, J. K. (2007). The DISC locus in psychiatric illness. *Molecular Psychiatry* 13, 36-64.
- Clapcote, S. J. ja Roder, J. C. (2006). Deletion Polymorphism of Disc1 Is Common to All 129 Mouse Substrains Implications for Gene-Targeting Studies of Brain Function. *Genetics* 173(4), 2407-2410.
- Corzo, C., Tasquets, I., Salido, M., Corominas, J. M., Bellet, M., Suarez, M., Baró, T., Fabregat, X., Serrano, S. ja Solé, F. (2005). Characterization of HER1 (c-erbB1) Status in Locally Advanced Breast Cancer Using Fluorescence in situ Hybridization and Immunohistochemistry. *Tumor Biology* 26(1), 25-30.
- Csomor, P. A., Yee, B. K., Feldon, J., Theodoridou, A., Studerus, E. ja Vollenweider, F. X. (2009). Impaired Prepulse Inhibition and Prepulse-Elicited Reactivity but Intact Reflex Circuit Excitability in Unmedicated Schizophrenia Patients a Comparison With Healthy Subjects and Medicated Schizophrenia Patients. *Schizophrenia Bulletin* 35(1), 244-255.
- Dajani, D. R. ja Uddin, L. Q. (2015). Demystifying cognitive flexibility: Implications for clinical and developmental neuroscience. *Trends in Neurosciences* 38(9).
- Davidson, S., Crotta, S., McCabe, T. M. ja Wack, A. (2014). Pathogenic potential of interferon $\alpha\beta$ in acute influenza infection. *Nature Communications* 5(3864).
- Degoulet, M. F., Rostain, J.-C., David, H. N. ja Abirami, J. H. (2009). Repeated administration of amphetamine induces a shift of the prefrontal cortex and basolateral amygdala motor function. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 12(7), 965–974.
- Diamond, A. (2012). Executive Functions. *Annual Review of Psychology* 64, 135-168.
- Du, Z. ja Lovly, C. M. (2018). Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *BMC. Molecular Cancer* 17(58).
- Duchatel, R. J., Weickert, C. S. ja Tooney, P. A. (2019). White matter neuron biology and neuropathology in schizophrenia. *Schizophrenia* 5(10).
- Eda, T., Mizuno, M., Araki, K., Iwakura, Y., Namba, H., Sotoyama, H., Kakita, A., Takahashi, H., Satoh, H., Chan, S.-Y. ja Nawa, H. (2013). Neurobehavioral deficits of epidermal growth factor-overexpressing transgenic mice Impact on dopamine metabolism. *Neuroscience Letters* 547(21-25).

- Forrest, A. D., Coto, C. A. ja Siegel, S. J. (2014). Animal Models of Psychosis: Current State and Future Directions. *Current Behavioral Neuroscience Reports* 1(2), 100–116.
- Freiman, S. V., Onufriev, M. V., Stepanichev, M. Y., Moiseeva, Y. V., Lazareva, N. A. ja Gulyaeva, N. V. (2016). The stress effects of a single injection of isotonic saline solution: systemic (blood) and central (frontal cortex and dorsal and ventral hippocampus). *Neurochemical Journal* 10, 115–119.
- Fritschy, J.-M. ja Brünig. I. (2003). Formation and plasticity of GABAergic synapses: physiological mechanisms and pathophysiological implications. *Pharmacology & Therapeutics* 98(3):299-323.
- Fuster, J. M. (2001). The Prefrontal Cortex—An Update. *Neuron* 30(2), 319-333.
- Futamura, T., Toyooka, K., Iritani, S., Niizato, S., Nakamura, R., Tsuchiya, K., Someya, T., Kakita, T. Takahashi, H. ja Nawa, H. (2002) Abnormal expression of epidermal growth factor and its receptor in the forebrain and serum of schizophrenic patients. *Molecular Psychiatry* 7, 673-682.
- Gao, R. ja Penzes, P. (2015). Common Mechanisms of Excitatory and Inhibitory Imbalance in Schizophrenia and Autism Spectrum Disorders. *Curr Mol Med* 15(2), 146-167.
- Gerbin, C. S. (2010). Activation of ERBB Receptors. *Nature Education* 3(9), 35.
- Gorelova, N., Mulholland, P. J., Chandler, L. J. ja Seamans, J. K. (2012). The Glutamatergic Component of the Mesocortical Pathway Emanating from Different Subregions of the Ventral Midbrain. *Cerebral Cortex* 22(2), 327-336.
- Goto, Y., Yang, C. R. ja Otani, S. (2010). Functional and Dysfunctional Synaptic Plasticity in Prefrontal Cortex Roles in Psychiatric Disorders. *Biological Psychiatry* 67(3), 199-207.
- Guidetti, P. ja Schwarcz, R. (2003). Determination of alpha-aminoadipic acid in brain, peripheral tissues, and body fluids using GC/MS with negative chemical ionization. *Molecular Brain Research* 118(1–2), 132-139.
- Guo, J. Y., Ragland, J. D. ja Carter, C. S. (2019). Memory and Cognition in Schizophrenia. *Mol Psychiatry* 24(5), 633-642.
- Harris, R. B. S., Mitchell, T. D., Simpson, J., Redmann Jr., S. M., Youngbood, B. D. ja Ryan, D. H. (2002). Weight loss in rats exposed to repeated acute restraint stress is independent of energy or leptin status. *American Journal of Physiology* 282(1), 77-88.
- Hauser, T. U., Eldar, E. ja Dolan, R. J. (2017). Separate mesocortical and mesolimbic pathways encode effort and reward learning signals. *PNAS The Proceedings of the National Academy of Sciences* 114(35), 7395-7404.
- Heinla, I., Leidmaa, E., Visnapuu, T., Philips, M.-A. ja Vasar, E. (2014). Enrichment and individual housing reinforce the differences in aggressiveness and amphetamine response in 129S6/SvEv and C57BL/6 strains. *Behavioural Brain Research* 267, 66-73.
- Heinla, I. (2016). Behavioural and genetic comparison of B6 and 129Sv mouse lines focusing on the anxiety profile and the expression of *Lsamp* gene. *DSpace*.

- Heinrichs, R. W. (2020). The duality of human cognition: operations and intentionality in mental life and illness. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 108, 139-148.
- Herculano-Houzel, S. (2012). The remarkable, yet not extraordinary, human brain as a scaled-up primate brain and its associated cost. *Biological Sciences* 109, 10661-10668.
- Hill, E. J. (2004). Executive dysfunction in autism. *CellPress. Trends in Cognitive sciences* 8(1), 26-32.
- Hiser, J. ja Koenigs, M. (2017). The multifaceted role of ventromedial prefrontal cortex in emotion, decision-making, social cognition, and psychopathology. *Biol Psychiatry* 83(8), 638-647.
- Homayoun, H. ja Moghaddam, B. (2007). NMDA Receptor Hypofunction Produces Opposite Effects on Prefrontal Cortex Interneurons and Pyramidal Neurons. *The Journal of Neuroscience* 27(43), 11496-11500.
- Huang, L., Jiang, S. ja Shi, Y. (2020). Tyrosine kinase inhibitors for solid tumors in the past 20 years (2001–2020). *Journal of Hematology & Oncology* 13(143).
- Hunnus, S. (2007). The early development of visual attention and its implications for social and cognitive development. *Progress in Brain Research* 164, 187-209.
- Hutton, C., De Vita, E., Ashburner, J., Dichmann, R. ja Turner, R. (2008). Voxel-based cortical thickness measurements in MRI. *Neuroimage* 40(4), 1701–1710.
- Hyman, S. E. (2021). Use of mouse models to investigate the contributions of CNVs associated with schizophrenia and autism to disease mechanisms. *Current Opinion in Genetics & Development* 68, 99-105.
- Ikeda, M., Okahisa, Y., Aleksic, B., ... Iwata, N. (2013). Evidence for Shared Genetic Risk Between Methamphetamine-Induced Psychosis and Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 38(10), 1864–1870.
- Innos, J., Leidmaa, E., Philips, M.-A., Sütt, S., Altoa, A., Harro, J., Kõks, S. ja Vasar, E. (2013). *lsamp*^{-/-} mice display lower sensitivity to amphetamine and have elevated 5-HT turnover. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 430(1), 413-418.
- Insel, T. R. (2010). Rethinking schizophrenia. *Nature* 468, 187-193.
- Iwakura, Y. ja Nawa, H. (2013). ErbB1-4-dependent EGFneuregulin signals and their cross talk in the central nervous system pathological implications in schizophrenia and Parkinson's disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*.
- Jaaro-Peled, H., Hayashi-Takagi, A., Seshadri, S., Kamiya, A., Brandon, N. J. ja Sawa, A. (2009). Neurodevelopmental mechanisms of schizophrenia understanding disturbed postnatal brain maturation through Neuregulin-1–ErbB4 and DISC1. *CellPress. Trends in Neurosciences* 32(9), 485-495.
- Jackson, S. E., Kirschbaum, C. ja Steptoe, A. (2017). Hair cortisol and adiposity in a population-based sample of 2,527 men and women aged 54 to 87 years. *Obesity* 25(3), 539-544.

- Jeong, J. Y., Lee, D. H. ja Kang, S. S. (2013). Effects of Chronic Restraint Stress on Body Weight, Food Intake, and Hypothalamic Gene Expressions in Mice. *Endocrinology and Metabolism* 28(4), 288–296.
- Johnson-Laird, P. N. (2010). Mental models and human reasoning. *PNAS* 107(43), 18243-18250.
- Johnstone, M., Thomson, P. A., Hall, J., McIntosh, A. M., Lawrie, S. M. ja Porteous, D. J. (2011). DISC1 in Schizophrenia Genetic Mouse Models and Human Genomic Imaging. *Schizophrenia Bulletin* 37(1), 14-20.
- Jones, C. A., Watson, D. J. G. ja Fone, K. C. F. (2011). Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology* 164(4), 1162-1194.
- Jones, J. R., Caul, W. F. ja Hill, J. O. (1992). The effects of amphetamine on body weight and energy expenditure. *Physiology & Behavior* 51(3), 607-611.
- Jouroukhin, Y., Kageyama, Y., Misheneva, V., Shevelkin, A., Andrabi, S., Prandovszky, E., Yolken, R. H., Dawson, V. L., Dawson, T. M., Aja, S., Sesaki, H. ja Pletnikov, M. V. (2018). DISC1 regulates lactate metabolism in astrocytes implications for psychiatric disorders. *Translational Psychiatry* 8(76).
- Kaas, J. H. (2011). Neocortex in early mammals and its subsequent variations. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1225(1), 28-36.
- Kaas, J. H. (2012). The evolution of brains from early mammals to humans. *WIREs Cognitive Science* 4(1), 33-45.
- Kami, K., Tajima, F. ja Senba, E. (2018). Activation of mesolimbic reward system via laterodorsal tegmental nucleus and hypothalamus in exercise-induced hypoalgesia. *Scientific reports* 8(11540).
- Kesby, J. P., Eyles, D. W., McGrath, J. J. ja Scott, J. G. (2018). Dopamine, psychosis and schizophrenia the widening gap between basic and clinical neuroscience. *Traditional Psychiatry* 8(30).
- Kimoto, S., Makinodan, M. ja Kishimoto, T. (2019). Neurobiology and treatment of social cognition in schizophrenia Bridging the bed-bench gap. *Neurobiology of Disease* 131.
- Kivimäki, M., Head, J., Ferrie, J. E., Shipley, M. J., Brunner, E., Vahtera, J. ja Marmot, M. G. (2006). Work stress, weight gain and weight loss: evidence for bidirectional effects of job strain on body mass index in the Whitehall II study. *International Journal of Obesity* 30, 982–987.
- Koch, I., Poljac, E., Müller, H. ja Kiesel A. (2018). Cognitive structure, flexibility, and plasticity in human multitasking-An integrative review of dual-task and task-switching research. *APA PsycArticles* 144(6), 557-583.
- Koido, K., Innos, J., Haring, L., Zilmer, M., Ottas, A. ja Vasar, E. (2016). Taurine and Epidermal Growth Factor Belong to the Signature of First-Episode Psychosis. *Frontiers in Neuroscience* 10.

- Koike, H., Arguello, P. A., Kvajo, M., Karayiorgou, M. ja Gogos, J. A. (2006). *Disc1* is mutated in the 129S6/SvEv strain and modulates working memory in mice. *Biological Sciences* 103(10), 3693-3697.
- Konstantoudaki, X., Chalkiadaki, K., Vasileiou, E., Kalemaki, K., Karakogeos, D. ja Sidiropoulou, K. (2018). Prefrontal cortical-specific differences in behavior and synaptic plasticity between adolescent and adult mice. *Journal of Neurophysiology* 119(3), 822-833.
- Kusljic, S., van den Buuse, M. ja Gogos, A. (2022). Reassessment of amphetamine- and phencyclidine-induced locomotor hyperactivity as a model of psychosis-like behavior in rats. *Journal of Integrative Neuroscience* 21(1), 17.
- Laland, K. ja Seed, A. (2021). Understanding Human Cognitive Uniqueness. *Annual Review of Psychology* 71, 689-716.
- Law, A. J., Kleinman, J. E., Weinberg, D. R. ja Weickert, C. S. (2007). Disease-associated intronic variants in the *ErbB4* gene are related to altered *ErbB4* splice-variant expression in the brain in schizophrenia. *Human Molecular Genetics* 16(2), 129-141.
- Leandro, J., Violante, S., Argmann, C. A., ... Houten, S. M. (2019). Mild inborn errors of metabolism in commonly used inbred mouse strains. *Molecular Genetics and Metabolism* 126(4), 388-396.
- Ledonne, A. ja Mercuri, N. B. (2020). Insights on the Functional Interaction between Group 1 Metabotropic Glutamate Receptors (mGluRI) and ErbB Receptors. *International Journal of Molecular Sciences* 21(21).
- Lee, D., Seo, J., Joeng, H. C., Lee, H. ja Lee, S. B. (2021). The Perspectives of Early Diagnosis of Schizophrenia Through the Detection of Epigenomics-Based Biomarkers in iPSC-Derived Neurons. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 14.
- Lee, G.-H., Kim, K. ja Jo, W. (2023). Stress Evaluation of Mouse Husbandry Environments for Improving Laboratory Animal Welfare. *Animals* 13(2), 249.
- Lemmon, M. A. ja Schlessinger, J. (2010). Cell Signaling by Receptor Tyrosine Kinases. *CellPress. Cell* 141(7), 1117-1134.
- Leppik, L., Parksepp, M., Janno, S., Koido, K., Haring, L., Vasar, E. ja Zilmer, M. (2020). Profiling of lipidomics before and after antipsychotic treatment in first-episode psychosis. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 270, 59–70.
- Lerch, J. P., Carroll, J. B., Dorr, A., Spring, S., Evans, A. C., Sled, J. G. ja Hekelman, R. M. (2008). Cortical thickness measured from MRI in the YAC128 mouse model of Huntington's disease. *Neuroimage* 41(2), 243-251.
- Leung, C. ja Jia, Z. (2016). Mouse Genetic Models of Human Brain Disorders. *Frontiers in Genetics*
- Lewis, D. A. ja Levitt, P. (2002). Schizophrenia as a Disorder of Neurodevelopment. *Annual Review of Neuroscience* 25, 409-432.
- Lewis, D. A. ja Lieberman, J. A. (2000). Catching Up on Schizophrenia Natural History and

Neurobiology. CellPress. Neuron 28(2), 325-334.

Liu, S., Geng, R., Lin, E., Zhao, P. ja Chen, Y. (2021). ERBB1/2/3 Expression, Prognosis, and Immune Infiltration in Cutaneous Melanoma. *Frontiers in Genetics* 12

Logue, S. ja Gould, T. J. (2014). The neural and genetic basis of executive function: Attention, cognitive flexibility, and response inhibition. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 123, 45-54.

Loomba S., Straehle, J., Gangadharan, V., Heike, N., Khalifa, A., Motta, A., Ju, N., Sievers, M., Gempt, J., Meyers, H. S. ja Helmstaedter, M. (2022). Connectomic comparison of mouse and human cortex. *Science* 377(6602).

Lu, H.-S., Chai, J.-J., Li, M., Huang, B.-R., He, C.-H. ja Bi, R.-C. (2001). Crystal Structure of Human Epidermal Growth Factor and Its Dimerization*. *Journal of Biological Chemistry* 276(37), 34913-34917.

Luo, B., Liu, Z., Chen, W., Ren, D., Yu, Z., Xiong, M., Zhao, C., Fei, E. ja Li, B. (2021). ErbB4 promotes inhibitory synapse formation by cell adhesion, independent of its kinase activity. *Traditional Psychiatry* 11, 361.

Luzzati, F. (2015). A hypothesis for the evolution of the upper layers of the neocortex through co-option of the olfactory cortex developmental program. *Frontiers in Neuroscience. Social and Evolutionary Neuroscience* 9.

Mei, L. ja Nave, K.-A. (2014). Neuregulin-ERBB Signaling in the Nervous System and Neuropsychiatric Diseases. *CellPress. Neuron* 83(1), 27-49.

Merre, P. L., Ährlund-Richter, S. ja Carlén, M. (2021). The mouse prefrontal cortex Unity in diversity. *Neuron* 109(12), 1925-1944.

Mizuno, M., Sotoyama, H., Namba, H., Shibuya, M., Eda, T., Wang, R., Okubo, T., Nagata, K., Iwakura, Y. ja Nawa, H. (2013). ErbB inhibitors ameliorate behavioral impairments of an animal model for schizophrenia: implication of their dopamine-modulatory actions. *Traditional Psychiatry* 3(4), 252.

Mohammadi, A. ja Amooeian, V. G. (2018). Brain, blood, cerebrospinal fluid, and serum biomarkers in schizophrenia. *Psychiatry Research* 265, 25-38.

Morris, A. (2020). Unravelling novel weight loss mechanisms. *Nature Reviews Endocrinology* 16, 343.

Mostaid, M. S., Lee, T. T., Chan, G., Sundram, S., Weickert, C. S., Pantelis, C., Everall, I. ja Bousman, C. (2017). Peripheral Transcription of NRG-ErbB Pathway Genes Are Upregulated in Treatment-Resistant Schizophrenia. *Frontiers in Psychiatry* 8, 225.

Mueller, A., Hong, D. S., Shepars, S. ja Moore, T. (2017). Linking ADHD to the Neural Circuitry of Attention. *Trends in Cognitive Sciences* 21(6), 474-488.

Mukherjee, P., Roy, S., Ghosh, D. ja Nandi, S. K. (2022). Role of animal models in biomedical research: a review. *Laboratory Animal Research* 38(18).

- Nagy, P., Claus, J., Jovin, T. M., Arndt-Jovin, D. J. (2010). Distribution of resting and ligand-bound ErbB1 and ErbB2 receptor tyrosine kinases in living cells using number and brightness analysis. *Biophysics and Computational Biology* 107(38), 16524-16529
- Namba, H., Nagano, T., Jodo, E., Eifuku, S., Horie, M., Takebayashi, H., Iwakura, Y., Sotoyama, H., Takei, N. ja Nawa, H. (2017). Epidermal growth factor signals attenuate phenotypic and functional development of neocortical GABA neurons. *Journal of Neurochemistry* 142(6), 886-900.
- Narvik, J., Vanaveski, T., Innos, J., Philips, M.-A., Ottas, A., Haring, L., Zilmer, M. ja Vasar, E. (2018). Metabolic profile associated with distinct behavioral coping strategies of 129Sv and Bl6 mice in repeated motility test. *Nature Scientific Reports* 8(3405).
- Nawa, H., Sotoyama, H., Iwakura, Y., Takei, N. ja Namba, H. (2014). Neuropathologic Implication of Peripheral Neuregulin-1 and EGF Signals in Dopaminergic Dysfunction and Behavioral Deficits Relevant to Schizophrenia Their Target Cells and Time Window. *BioMed Research International* 2014.
- Nguyen, D. ja Xu, T. (2008). The expanding role of mouse genetics for understanding human biology and disease. *The Company of Biologists. Disease Models & Mechanisms* 1(1), 56-66.
- Niwa, M., Cash-Padgett, T., Kudo, K.-I., Saito, A., Ishii, K., Sumitomo, A. jt. (2016). DISC1 a key molecular lead in psychiatry and neurodevelopment: No-More Disrupted-in-Schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 21(11), 1488–1489.
- Notaras, M., Lodhi, A., Dündar, F., Collier, P., Sayles, N. M., Tilgnet, H., Greening, D. ja Colak, D. (2021). Schizophrenia is defined by cell-specific neuropathology and multiple neurodevelopmental mechanisms in patient-derived cerebral organoids. *Molecular Psychiatry* 27, 1416–1434.
- Ochoa-de la Paz, L., Gullias-Cañizo, R., D’Abril uiz-Leyja, E., Sánchez-Castillo, H. ja Pordi, J. (2020). The role of GABA neurotransmitter in the human central nervous system, physiology, and pathophysiology. *Revista Mexicana de Neurocientífica* 22(2), 67-76.
- Ohtaka-Matuyama, C. ja Okado, H. (2015). Molecular Pathways Underlying Projection Neuron Production and Migration during Cerebral Cortical Development. *Frontiers in Neuroscience* 17.
- Pache, J. C. (2006). Epidermal growth factors. *Encyclopedia of Respiratory Medicine*, 129-133.
- Pan, P. C. ja Magge, R. S. (2020). Mechanisms of EGFR Resistance in Glioblastoma. *International Journal of Molecular Sciences* 21(22).
- Paulus, M. P., Dulawa, S. C., Ralph, R. J. ja Geyer, M. A. (1999). Behavioral organization is independent of locomotor activity in 129 and C57 mouse strains. *Brain Research* 835(1), 27-36.
- Piirsalu, M., Taalberg, E., Lilleväli, K., Tian, L., Zilmer, M. ja Vasar, E. (2020). Treatment With Lipopolysaccharide Induces Distinct Changes in Metabolite Profile and Body Weight in 129Sv and Bl6 Mouse Strains. *Frontiers in Pharmacology* 11(371).

- Pizzarelli, R. ja Cherubini, E. (2011). Alterations of GABAergic Signaling in Autism Spectrum Disorders. Hindawi. Neural Plasticity, 2011.
- Pitcher, G. M., Kalia, L. V., Goodfellow, N. M., Yee, K. T., Lambe, E. K. ja Salter, M. W. (2011). Schizophrenia susceptibility pathway neuregulin 1–ErbB4 suppresses Src upregulation of NMDA receptors. *Nature Medicine* 17, 470-478.
- Powell, S. B., Zhou, X. ja Geyer, M. A. (2009). Prepulse Inhibition and Genetic Mouse Models of Schizophrenia. *Behavioural Brain Research* 204(2), 282-294.
- Preez, A. D., Law, T., Onorato, D., ... Fernandes, C. (2020). The type of stress matters: repeated injection and permanent social isolation stress in male mice have a differential effect on anxiety- and depressive-like behaviours, and associated biological alterations. *Transl Psychiatry* 10(325).
- Preuss, T. M. (2012). Human brain evolution: From gene discovery to phenotype discovery. *PNAS Anthropology* 109 (1), 10709-10716.
- Przedborski, S., Jackson-Lewis, V., Djaldetti, R., Liberatore, G., Vila, M., Vukosavic, S. ja Almer, G. (2000). The parkinsonian toxin MPTP: action and mechanism. *Restorative Neurology and Neuroscience* 16(2), 135-142.
- Rabinovici, G. D., Stephens, M. L. ja Possin, K. L. (2015). Executive Dysfunction. *Continuum* 21(3), 646-659.
- Radaelli, E., Castiglioni, V., Recordati, C., Gobbi, A., Capillo, M., Invernizzi, A., Scanziani, E. ja Marchesi, F. (2015). The Pathology of Aging 129S6/SvEvTac Mice. *Veterinary Pathology* 53(2).
- Raud, S., Sütt, S., Luuk, H., Plaas, M., Innos, J., Kõks, S. ja Vasar, E. (2009). Relation between increased anxiety and reduced expression of alpha1 and alpha2 subunits of GABA(A) receptors in Wfs1-deficient mice. *Neuroscience Letters* 460(2), 138-142.
- Raud, S., Sütt, S., Plaas, M., Luuk, H., Innos, J., Philips, M.-A., Kõks, S. ja Vasar, E. (2007). Cat odor exposure induces distinct changes in the exploratory behavior and Wfs1 gene expression in C57Bl/6 and 129Sv mice. *Neuroscience Letters* 426(2), 87-90.
- Reynolds, G. D. ja Romano, A. C. (2016). *Frontiers in Systems Neuroscience* 10.
- Roskoski Jr, R. (2014). ErbB/HER protein-tyrosine kinases: Structures and small molecule inhibitors. *Pharmacological Research* 87, 42-59.
- Rolls, E. T., Cheng, W. ja Feng, J. (2020). The orbitofrontal cortex reward, emotion and depression. *Brain Communications* 2(2).
- Rubin, R. D., Watson, P. D., Duff, M. C. ja Cohen, N. J. (2014). The role of the hippocampus in flexible cognition and social behavior. *Frontiers in Human Neuroscience*.
- Salehinejad, M. A., Ghanavati, E., Rashid, M. H. A. ja Nitsche, M. A. (2021). Hot and cold executive functions in the brain A prefrontal-cingular network. *Sage Journals. Brain and Neuroscience Advances*.
- Salomon, L., Lanteri, C., Glowinski, J. ja Tassin, J.-P. (2006). Behavioral sensitization to

amphetamine results from an uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons. *Biological Sciences* 103(19), 7476-7481.

Sarawagi, A., Soni, N. D. ja Patel, A. B. (2021). Glutamate and GABA Homeostasis and Neurometabolism in Major Depressive Disorder. *Frontiers in Psychiatry*.

Schneider, M. R. ja Wolf, E. (2008). The epidermal growth factor receptor ligands at a glance. *Journal of Cellular Physiology* 218(3), 460-466.

Schurz, G. (2014). Cognitive success instrumental justifications of normative systems of reasoning. *Frontiers in Psychology*.

Schwartz, T. L., Sachdeva, S. ja Stahl, S. M. (2012). Glutamate neurocircuitry theoretical underpinnings in schizophrenia. *Frontiers in Pharmacology*.

Shao, L., Lu, B., Wen, Z., Teng, S., Wang, L., Zhao, Y. jt. (2017). Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1) protein disturbs neural function in multiple disease-risk pathways. *Human Molecular Genetics* 26(14), 2634–2648.

Shi, K., Wang, G., Pei, J., Zhang, J., Wang, J., Ouyang, L., Wang, X. ja Li, W. (2022). Emerging strategies to overcome resistance to third-generation EGFR inhibitors. *Journal of Hematology & Oncology* 15(94).

Serafini, R. A., Pryce, K. D. ja Zachariou, V. (2020). The Mesolimbic Dopamine System in Chronic Pain and Associated Affective Comorbidities. *Biological Psychiatry* 87(1), 64-73.

Serrano-Regal, M. P., Bayón-Cordero, L., Ordaz, R. P., Garay, E., Limon, A., Arellano, R. M., Mutate, C. ja Sánchez-Gómez, M. V. (2020). Expression and Function of GABA Receptors in Myelinating Cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience*.

Shepard, R., Beckett, E. ja Coutellier, L. (2017). Assessment of the acquisition of executive function during the transition from adolescence to adulthood in male and female mice. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 28, 29-40.

Singh, A. B. ja Harris, R. C. (2005). Autocrine, paracrine and juxtacrine signaling by EGFR ligands. *Cellular Signalling* 17(10), 1183-1193.

Skirzewski, M., Cronin, M. E., Murphy, R., Fobbs, W., Kravitz, A. V. ja Buonanno, A. (2020). ErbB4 Null Mice Display Altered Mesocorticolimbic and Nigrostriatal Dopamine Levels as well as Deficits in Cognitive and Motivational Behaviors. *eNeuro* 7(3).

Sotoyama, H., Namba, H., Tohami, M. ja Nawa, H. (2023). Schizophrenia Animal Modeling with Epidermal Growth Factor and Its Homologs: Their Connections to the Inflammatory Pathway and the Dopamine System. *Biomolecules*, 13(2), 372.

Stalder, T., Steudte-Schmiedgen, S., Alexander, N., Klucken, T., Vater, A., Wichmann, S., Kirschbaum, C. ja Miller, R. (2017). Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 77, 261-274.

Zhang, X., Xiao, W., Chen, K., Zhao, Y., Ye, F., Tang, X. ja Du, X. (2020). Serum Epidermal Growth Factor is Low in Schizophrenia and Not Affected by Antipsychotics Alone or Combined With Electroconvulsive Therapy. *Frontiers in Psychiatry* 11(104).

Zhou, Y. ja Danbolt, N. C. (2014). Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. Springer. *Journal of Neural Transmission* 121(8), 799-817.

Zimmermann, K. S., Yamin, K. A., Rainnie, D. G., Ressler, K. J. ja Gourley, S. L. (2017). Connections of the Mouse Orbitofrontal Cortex and Regulation of Goal-Directed Action Selection by Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Biological Psychiatry* 81, 366-377.

de Zwarte S. M. C., Brouwer, R. M., Agartz, I., ... van Haren N. E. M. (2022). Intelligence, educational attainment, and brain structure in those at familial high-risk for schizophrenia or bipolar disorder. *Human Brain Mapping*, 43(1), 414-430.

Taylor-Colls, S. ja Pasco Fearson, R. M. (2015). The Effects of Parental Behavior on Infants' Neural Processing of Emotion Expressions. *Child Development* 86(3), 877-888.

Turner, A. C., Stramek, A., Kraev, I., Stewart, M. G., Overton, P. G. ja Dommett, E. J. (2018). Repeated intermittent oral amphetamine administration results in locomotor tolerance not sensitization. *Journal of Psychopharmacology* 32(8).

Uzuneser, T. C., Speidel, J., Kogias, G., Wang, A.-L., de Souza Silva, M. A., Huston, J. P., Zoicas, I., von Hörsten, S., Kornhuber, J., Korth, C. ja Müller, C. P. (2019). Disrupted-in-Schizophrenia 1 (DISC1) Overexpression and Juvenile Immune Activation Cause Sex-Specific Schizophrenia-Related Psychopathology in Rats. *Frontiers in Psychiatry*.

Varul, J., Eskla, K.-L., Piirsalu, M., Innos, J., Philips, M.-A., Visnapuu, T., Plaas, M. ja Vasar, E. (2021). Dopamine System, NMDA Receptor and EGF Family Expressions in Brain Structures of B16 and 129Sv Strains Displaying Different Behavioral Adaptation. *Brain Sciences* 11(6).

Vik, E. (2021). Treatment and Management of Amphetamine Toxicity. *Journal of Pharmacological Reviews and Reports* 4(2:005).

Wearne, T. A. ja Cornish, J. L. (2018). A Comparison of Methamphetamine-Induced Psychosis and Schizophrenia A Review of Positive, Negative, and Cognitive Symptomatology. *Frontiers in Psychiatry* 9(491).

Wei, J., Graziane, N. M., Gu, Z. ja Yan, Z. (2015). DISC1 Protein Regulates γ -Aminobutyric Acid, Type A (GABAA) Receptor Trafficking and Inhibitory Synaptic Transmission in Cortical Neurons. *Journal of Biological Chemistry* 290(46), 27680-27687.

Winship, I. R., Dursun, S. M., Baker, G. B., Balista, P. A., Kandratavicius, L., Maia-De-Oliviera, J. P. jt., (2018). An Overview of Animal Models Related to Schizophrenia. *The Canadian Journal of Psychiatry* 64(1).

Wong, R. W. C. ja Guillaud, L. (2004). The role of epidermal growth factor and its receptors in mammalian CNS. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 15(2-3), 147-156.

Wu, H.-Q., Ungerstedt, U. ja Schwarcz, R. (1995). l - α -Aminoadipic acid as a regulator of kynurenic acid production in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats. *European Journal of Pharmacology* 281(1), 55-61.

Yan, Z. ja Rein, B. (2022). Mechanisms of Synaptic Transmission Dysregulation in the Prefrontal Cortex Pathophysiological Implications. *Molecular Psychiatry* 27(1), 445-465.

Yang, A. C. ja Tsai, S.-J. (2017). New Targets for Schizophrenia Treatment beyond the Dopamine Hypothesis. *International Journal of Molecular Sciences* 18(8).

Yarden, Y. ja Sliwkowski, M. X. (2001). Untangling the ErbB signalling network. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2, 127-137.

Yue, F., Cheng, Y., Breschi, A., ... Ren, B.. (2014). A comparative encyclopedia of DNA elements in the mouse genome. *Nature* 515 (7527), 355-364.

2) Raamat

Flurkey, K., Curren, J. M., Leiter, E. H., Witham, B. jt. 2009. Chapter 2.C. - The basic inbred strain experiment—strain differences capture genetic differences, p. 14-15. *The Jackson Laboratory Handbook on Genetically Standardized Mice Sixth Edition*. The Jackson Laboratory, The United States.

Jeste, D. V., Lieberman, J. A., Fassler, D., Peele, R., Benson, R. S., Young, M. L. jt. 2013. Use of the manual: Definition of a Mental Disorder, p. 20. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders fifth edition, DSM-5*. American Psychiatric Association 1844, American Psychiatric Publishing, Washington, DC and London, England.

Leisman, G. ja Melillo, R. 2012. Chapter: The Development of the Frontal Lobes in Infancy and Childhood Asymmetry and the Nature of Temperament and Affect, p. 23-56. *Frontal lobe: Anatomy, functions and injuries*. Nova Scientific.

Lepp, A. ja Kogerman-Lepp, E. 1988. Ots- e. suuraju, telencephalon s. cerebrum, p 38-43. *Tsentraalnärvisüsteem I*. Teine trükk. Tartu Riiklik Ülikool.

Martin, D. ja Le, J. K. 2022. Amphetamine. *StatPearls (Internet)*. National Library of Medicine, Bookshelf.

Pankevich, D. E., Davis, M. ja Altevogt, B. M. 2011. Chapter 2: Overview of the Glutamatergic System. *Glutamate-Related Biomarkers in Drug Development for Disorders of the Nervous System: Workshop Summary*. National Academies Press (US). National Library of Medicine, Bookshelf.

Pritchard, C. 2013. Chapter: Epidermal Growth Factor, p. 497-499. *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*. ScienceDirect Elsevier.

Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., et al. 2001. Chapter: Glutamate Receptors. *Neuroscience*. 2nd edition. Oxford University Press. National Library of Medicine, Bookshelf.

Reus, V. J. 2018. Chapter 444.8: Schizophrenia. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 20e. Access Medicine, Books.

Zilmer, M., Rehema, A., Soomets, U. ja Zilmer, K. 2015. Chapter 12: Signaalmolekulid inimkehas. signaali ülekande molekulaarmehhanisme. Kinaaside kaskaad ja autofosforüümine, p. 176-177. *Inimkeha põhilised biomolekulid (meditsiiniliselt tähtsamad*

ülesanded), Inimorganismi metabolismism (biokemism ja kliinilised aspektid). Bio- ja siirdemeditsiini instituut, Biokeemia osakond, Arstiteaduskond, Tartu Ülikool.

3) Veebiaadressid

129SV. Animal Resources Centre.

https://www.arc.wa.gov.au/?page_id=4982 (25.04.23, kell 14.40)

129/Sv Mouse. Janvier Labs.

https://janvier-labs.com/en/fiche_produit/4_129-sv-mouse/ (10.05.23, kell 02.22)

C57BL/6J mouse (JAX™). AnimaLab.

<https://animalab.eu/c57bl-6j-mouse-jax> (25.04.23, kell 14.12)

ErbB2, Mouse Genome Informatics.

<https://www.informatics.jax.org/quicksearch/summary?queryType=exactPhrase&query=erbb2&submit=Quick+Search> (25.05.23, kell 12.36)

Of mice and human prefrontal cortex. (2019, viimati muudetud 2023). Spikes and Bursts.

<https://spikesandbursts.wordpress.com/2019/11/09/of-mice-and-human-prefrontal-cortex/> (25.04.23, kell 13.00)

Spoonamore, M. J. Cervical Spine Fractures & Dislocations. USC Spine Center - Los Angeles.

<https://www.uscspine.com/conditions-treated/neck-disorders/cervical-spine-fractures-dislocations/> (26.04.23, kell 3.00)

LIHTLITSENTS

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Magdalena Žoržoliani,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

Psühhoosi laadse seisundi mudeldamine B16 ja 129Sv hiirelinides ning Erbb1 geeniekspressioon aju frontaalkoores,

mille juhendajad on Jane Varul ja Lilian Kadaja-Saarepuu,

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Magdalena Žoržoliani

29.05.2023