

Metodika studia chování a paměti u zvířat

Vybrané metodické přístupy
ke studiu různých typů chování,
učení a paměťových fenoménů,
především u laboratorních
hlodavců



Chování zvířat

- Řízeno a regulováno řadou mechanismů, z nichž některé jsou vrozené (např. reflexní chování nebo instinkty) a některé získané různými formami učení
- Tyto formy učení zpravidla vyžadují vrozené predispozice k jejich osvojení (angl. *prewiring*, jakýsi substrát pro toto učení)
- Některé získané vzorce chování jsou osvojeny již v rané ontogenezi (např. *imprinting*), jiné mohou být naučeny kdykoliv v průběhu života jedince
 - Příklad: imprinting u hus (zpopularizoval K. Lorenz, ale pozorován již v 19. století amatérským biologem Spaldingem)

Mimiodbočka - Příklad imprintingu

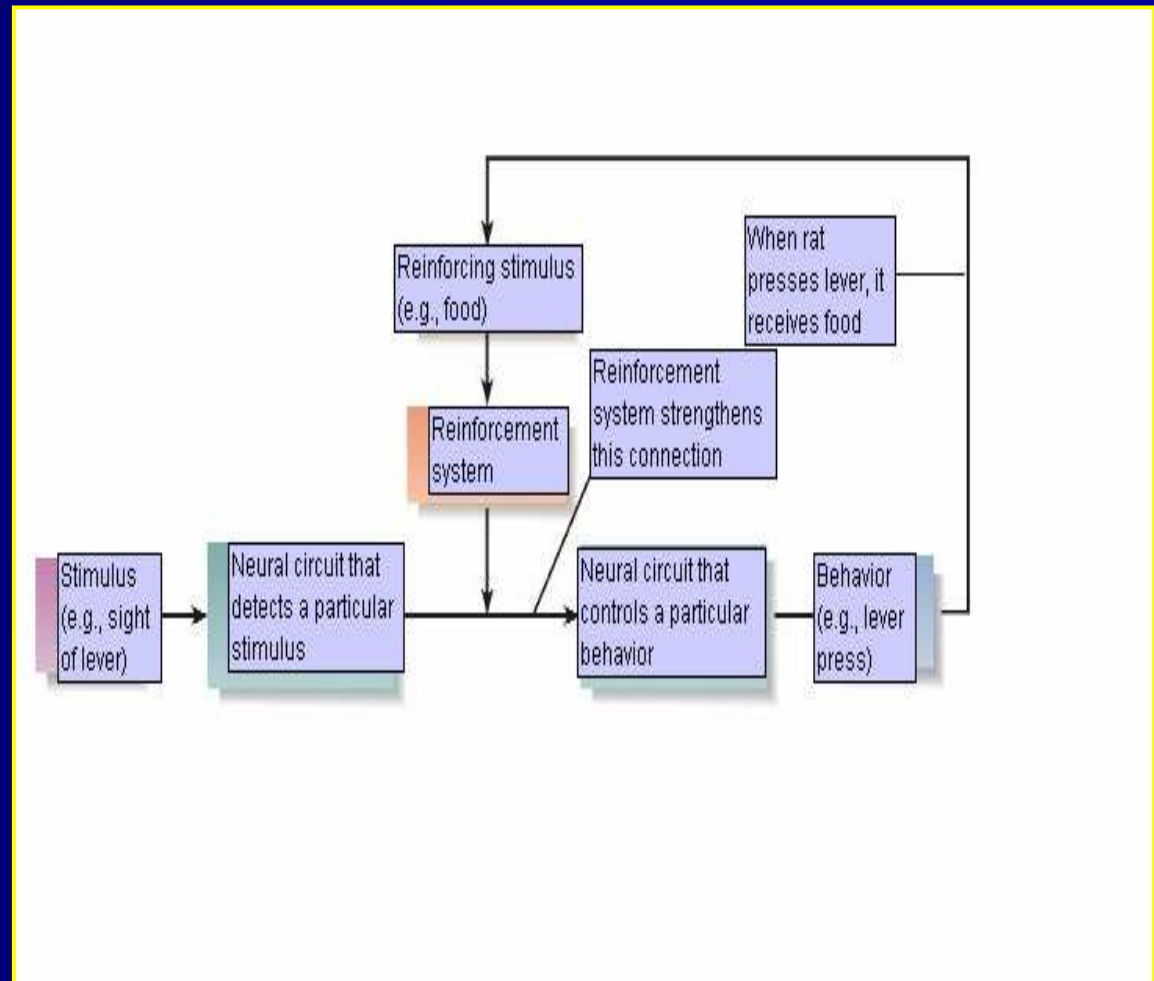


Kachňata se naučí následovat jakýkoliv pohyblivý objekt, který jim byl prezentován ve druhém dni po narození, jako by to byla jejich matka.

Tento fenomén poněkud připomíná tzv. **kritické periody** ve vývoji.

Učení a paměť jako změny chování

- Na systémové úrovni u zvířat jsou to právě změny v jejich chování, které jsou pozorovatelné jako doklad učení a paměti.
- Zvířata jsou schopna změnit svoje chování po opakované expozici podnětu nebo kontextu
- Podkladem těchto změn chování jsou změny funkce nervového systému, a ty zase mají svůj základ ve změnách účinnosti přenosu mezi nervovými buňkami – **synaptická plasticita jako základ učení a paměti**



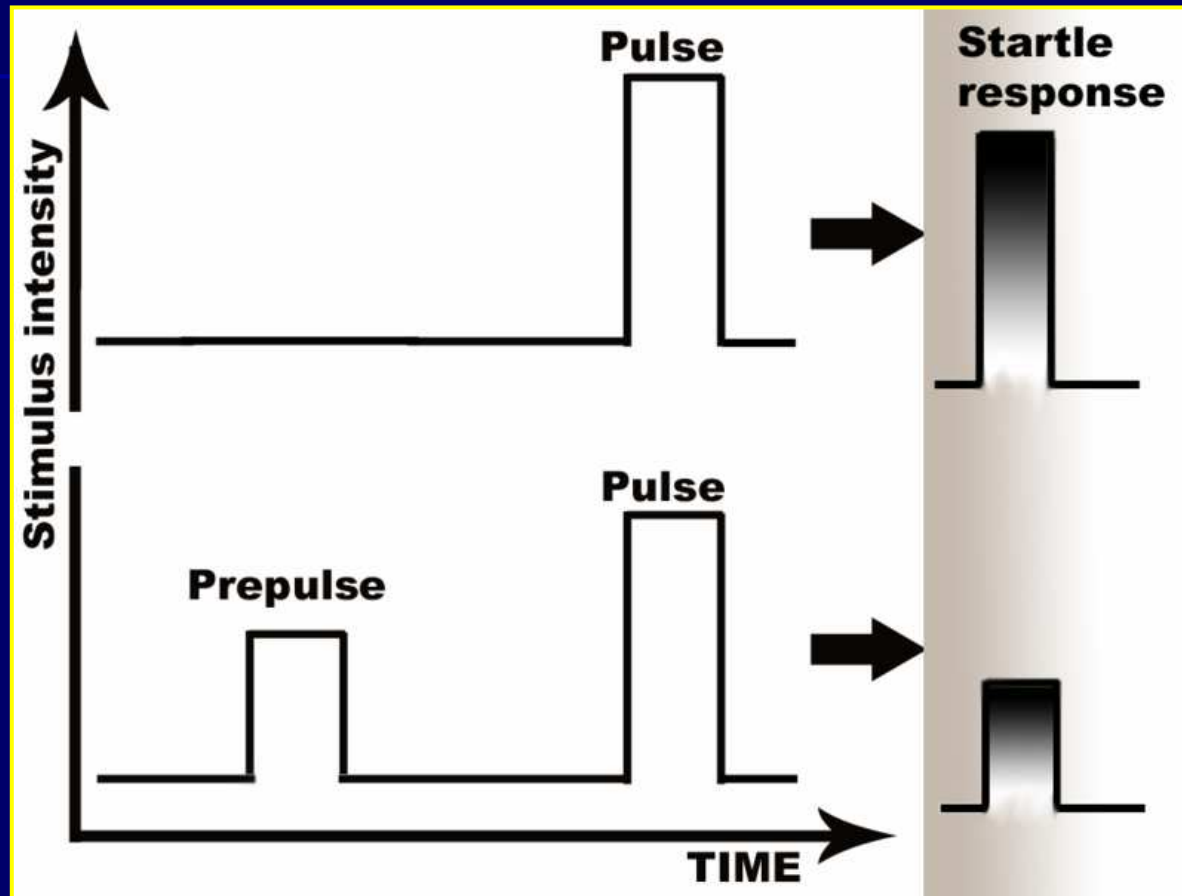
Základní okruhy chování studované v laboratorních podmínkách

- Senzorimotorické zpracování (sensorimotor gating)
– jedná se převážně o reflexy a jejich modifikace
- Spontánní aktivita, především lokomoce a explorace
- Emocionalita, především anxieta (úzkost)
- Učení a paměť – řada podtypů (viz 1. přednáška)
– Neprostorové paměťové úlohy, prostorové úlohy
- Sociální chování a interakce
http://www.ratbehavior.org/norway_rat_ethogram.htm . (tutorial)

Senzorimotorické zpracování

- Testováno především pomocí prepulzní inhibice úlekové reakce (PPI)
- Je to neurologický fenomén, kde slabší prestimul zeslabuje úlekovou odpověď na následný silný podnět.
- Zpravidla se používá zvukový podnět, ale funguje i s taktilním či světelným
- Vyjadřuje jistou schopnost adaptace na stimul v přítomnosti prestimulu, její deficit dá se interpretovat jako neschopnost filtrovat neinformativní, irelevantní podněty

Podstata prepulzní inhibice

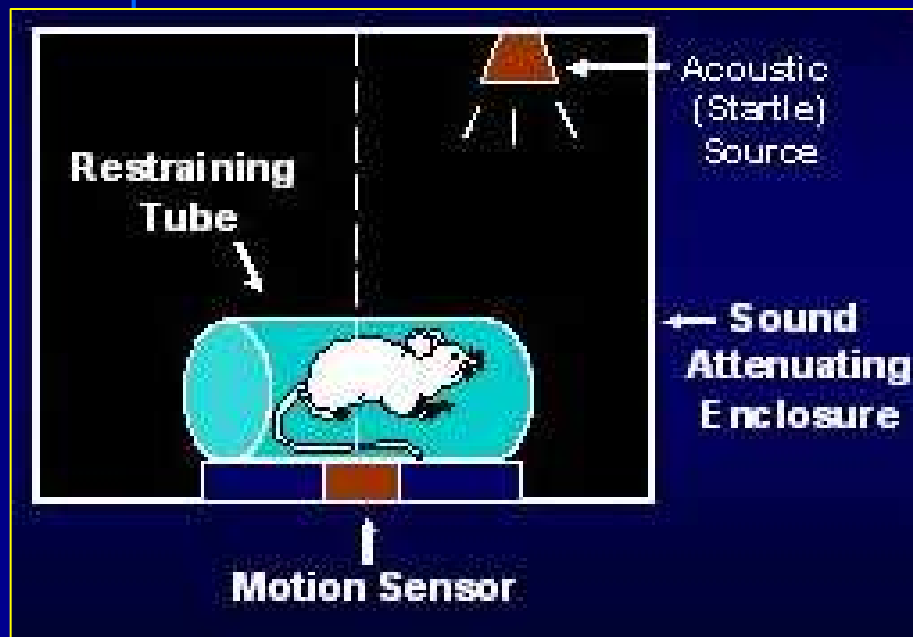


Samotná úleková odpověď na stimulus, bez přítomnosti prestimulu je reflexní, vyjadřuje celkovou aktivaci organismu – tato úleková reakce je zvýšena např. u PTSD

Prepulzní inhibice úlekové reakce jako měřítko informačního zpracování

- Lze ji zjistit u různých druhů (laboratorních hlodavců i člověka)
- Úleková reakce je zpravidla měřena motorickou odpovědí (- opět studujeme změnu chování jako měřitelnou veličinu)
- K jejímu poškození dochází při patologických stavech (AD, schizofrenie), při intoxikaci drogami či farmaky, popř. u zvířat s vyřazením některých mozkových struktur

PPI – ukázka aparatury



PPI – prepulzní inhibice

- Interval mezi prepulzem a pulzem je 30 - 480 m/s, při delším intervalu nad 500 m/s dochází někdy k tzv. prepulzní facilitaci (PPF); zvýšení odpovědi na stimul....
Ta patrně odráží zvýšení pozornosti
- Jako stimul a prestimul se často používá krátká salva bílého šumu (*white noise*)
- Inhibice úlekové reakce je dost velká - dosahuje skoro 70 % u zdravých lidí
- Existují rozdíly mezi pohlavími muži mají větší PPI, zatímco ženy vyšší PPF
- Díky velmi krátkému intervalu jde patrně o nevědomý fenomén, a objevuje se už při prvním testu, tzn. že zde nehraje roli učení či podmiňování

PPI – studie u zvířat

- Léze či inaktivace některých mozkových struktur narušují PPI.
- Aplikace dopaminových a serotoninových 5-HT₂ agonistů, NMDA antagonistů narušuje PPI
- Některé vývojové procedury, jako mateřská deprivace nebo izolovaný chov, vedou také k narušení
- Využívána ve studiu animálních modelů schizofrenie
- Látky, které obnovují narušenou PPI v animálních modelech, mohou být dále testovány na jejich antipsychotickou účinnost ...*screeningový test*
- Další jednodušší neurologické a kontrolní testy pro potkany. – rotorod, tilted platform test, simple reaction time test, beam walking – odpověď na podnět.

Rotorod

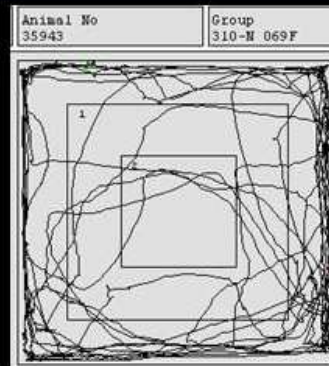
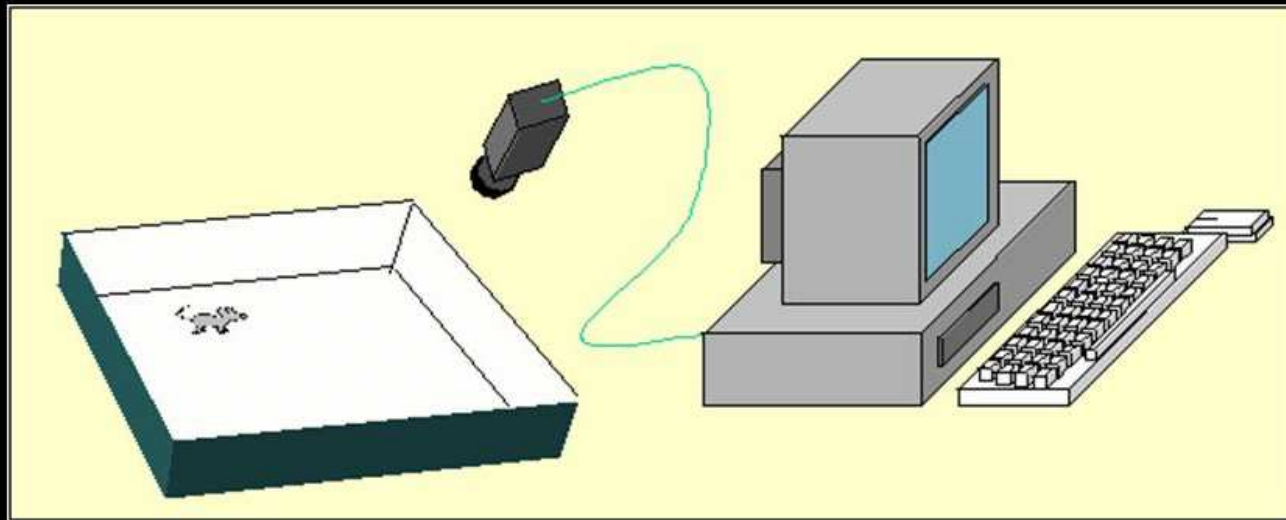


Spontánní aktivita zvířat

- Nejčastěji studována v tzv. testu otevřeného pole (*open-field test*)
- Test otevřeného pole je obecně přijímané paradigma pro měření explorační (prozkoumávání), spontánní lokomoce, ale také anxiety u zvířat.
- Zvíře je v tomto testu umístěno do nového prostředí (zpravidla ostře osvětlená čtvercová aréna (1m u potkana), které vyvolá explorační, orientační reakce (čichání, panáčkování apod.) a někdy anxiózní chování
- Procedura je velmi jednoduchá, zvíře se umístí do arény, a poté se monitoruje jeho chování, nejčastěji pomocí videokamery napojené na automatizovaný počítačový systém

Test otevřeného pole

Open Field Test



Test otevřeného pole

Horizontální aktivita –
lokomoce, thigmotaxe

Vertikální aktivita -
panáčkování

Další – čichání, popř i
stereotypické chování po
aplikace látek-např
amfetaminu, *wet dog shakes*
– automatismus přítomný u
animálních modelů epilepsie

Preference stěn (thigmotaxe)
a doba po kterou je zvýše
nehybné – ukazuje úroveň
anxiety



Test otevřeného pole

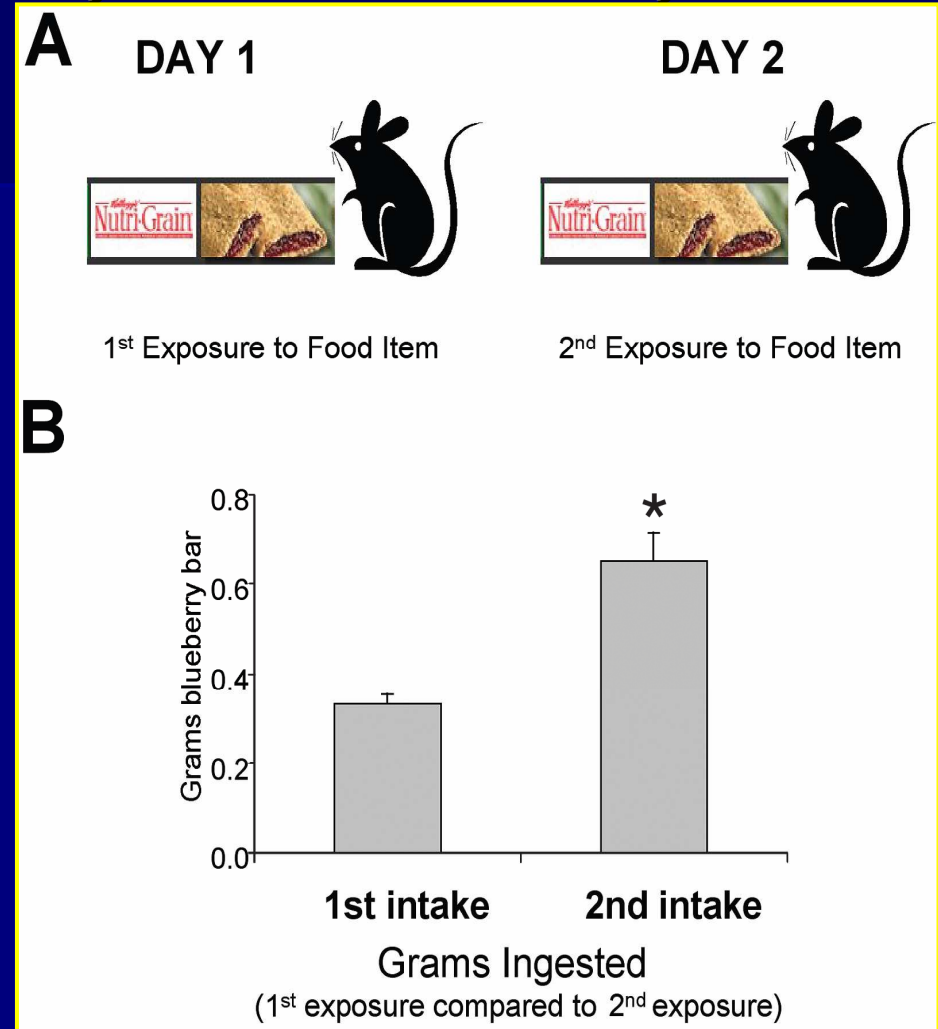
- Pokud je zvíře umísťováno do otevřeného pole opakovaně, lze testovat *habituaci* na nové prostředí.
- Někdy tento test spojen s úlohou rozpoznávání objektů (*object recognition task-viz později*), objekty jsou pak umístěny v aparatuře.
- Uplatňuje se v něm konflikt dvou motivací – strach z nového prostředí a motivace k exploraci, prozkoumání prostředí.
- Úroveň lokomoční a vertikální aktivity je měřítkem celkové behaviorální aktivity.

Test otevřeného pole – vliv experimentálních manipulací

- **Hyperaktivita** – často pozorována po aplikaci agonistů dopaminových receptorů – amfetamin, stimulační drogy
- **Hyperlokomoce navozená antagonisty NMDA receptorů (PCP, MK-801)** – význam při modelování schizofrenie – považována s jistými omezením za analogii pozitivních příznaků psychózy – souvisí s nadměrnou funkcí dopaminergního systému v mesolimbickém okruhu
- **Stereotypické chování**, např. po apomorfínu, či budivých aminech
- Senzitivace D2 receptorů ontogenetickou chronickou aplikací quinpirolu (D2 agonista) – potkání rituálně explorují některé objekty, rigidně se drží určitých tras – jistá fenomenologická analogie a animální model OCD
- Po aplikaci anxiolytik (BZD) se zvířata méně drží u stěn, snížená úzkost z nového prostředí
- Test otevřeného pole je velmi citlivý na látky snižující aktivitu – např. antagonisté dopaminových a adrenergních receptorů

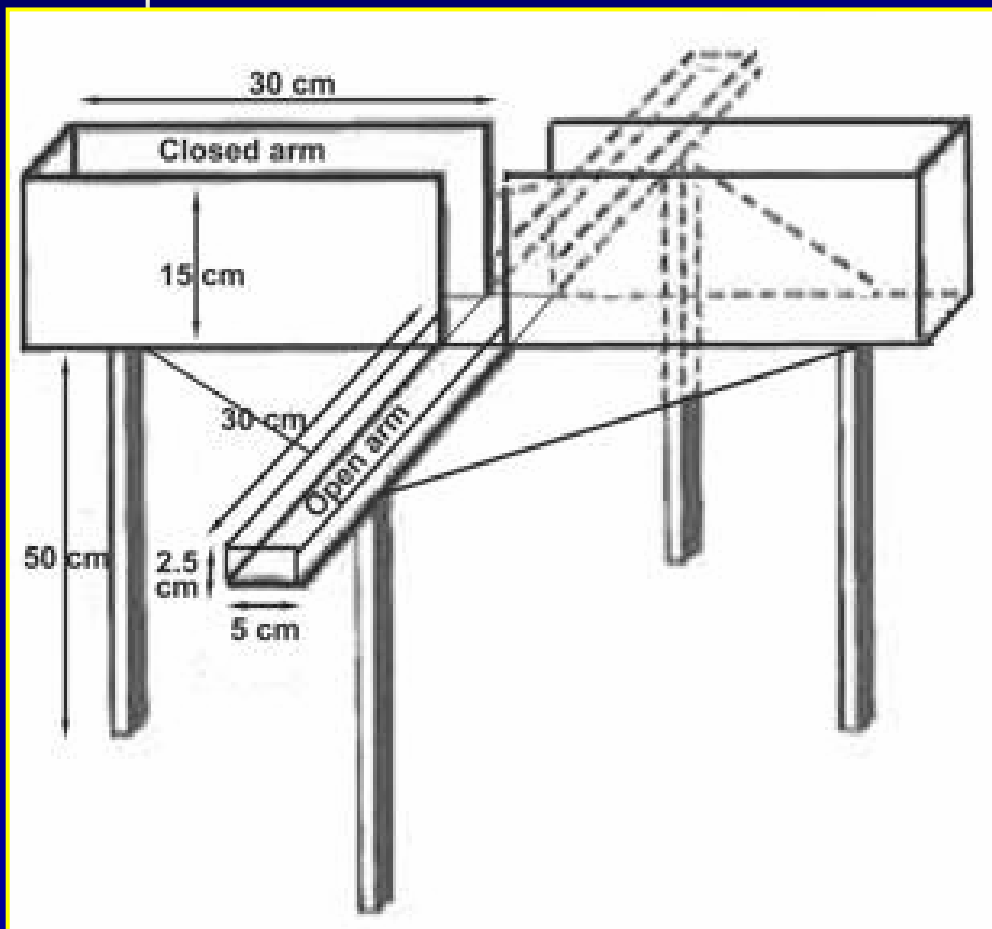
Testování anxiety a emocionality

- Úzkost (anxieta) je z emocionálních funkcí nejpřístupnější objektivnímu měření
- Někdy se testuje také neofobie, anhedonie (absence přirozené preference pro sladký roztok) – obzvláště u animálních modelů afektivních poruch (např. model deprese indukovaný chronickým mírným stresem)
- Nejpoužívanější metodou pro testování anxiety je kromě testu otevřeného pole především **vyvýšené křížové bludiště (elevated plus maze – EPM)**



Ukázka testu chuťové neofobie

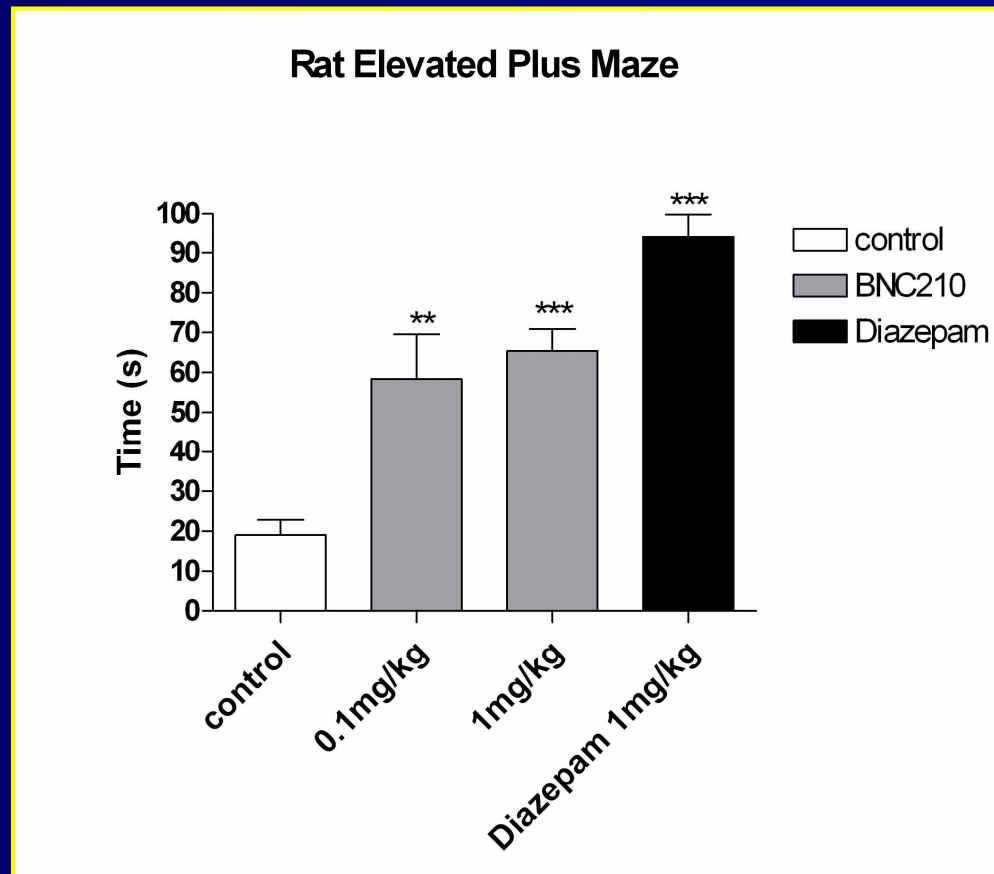
Vyvýšené křížové bludiště (Elevated Plus Maze - EPM)



Parametry měřené v EPM

- Počet vstupů do otevřených a uzavřených ramen
- Celkový čas strávený v otevřených a uzavřených ramenech – často se vytvářejí indexy
- BZD (pozitivní allost. modulátory GABA-A) konzistentně zvyšují dobu strávenou v otevřených ramenech
- Některé jiné léky, používané ke zmírnění úzkosti v klinice (např. SSRI) nevykazují v tomto testu příliš silné výsledky
- Testování v EPM u rekombinantních inbredních HXB/BXH kmenů potkanů (Conti et al.). RI kmeny vzniklé křížením SHR a BrownNorway. *Lux – genetické determinanty anxiety*

Příklad snížené anxiety v EPM po aplikace farmak



Jiné testy na anxietu zvířat

Zero maze

- cirkulární bludiště
- jistá analogie s EPM



Tail suspension test

- jednoduchý, často užíván u myší při sceeningu antidepressiv

Myš je 6 min pověšena za ocásek a monitoruje se imobilita x snaha o vyproštění – antidepressiva snižují imobilitu, ale také stimulancia, BZD naopak nehybnost zvyšují



Forced swim test



Učení a paměť

- Speciální typ chování, **vysoká adaptivní hodnota**
- Zpravidla pozorováno jako změna chování vyvolaná individuální zkušeností subjektu, někdy zahrnující asociace podnětů či opakovanou expozicí určité situaci nebo podnětu (*v nejjednodušším případě např. habituace*).
- Obtíže s vyčerpávající definicí, která by zahrnovala všechny aspekty těchto jevů.
- Jedná se však o velmi dobře přístupné fenomény z experimentálního hlediska

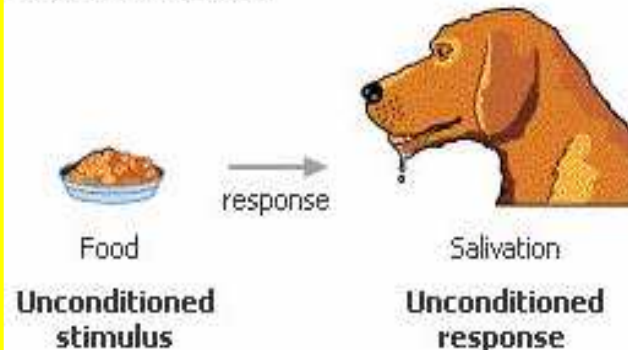
Selected learning and memory tasks

- Klasické a operantní podmiňování
 - Fear Conditioning - strachové podmiňování
 - Active Avoidance – aktivní vyhýbání
 - Passive Avoidance – pasivní vyhýbání
 - Testy procedurálního učení , např *mirror drawing task*
 - Taste Memory – především podmíněná chuťová averze
 - Object recognition task
-
- Komplexní bludiště
 - Y-bludiště (T-bludiště) Spontaneous Alternation – spontánní alternace
 - Water and Radial Maze – vodní a radiální bludiště
 - Barnesové bludiště

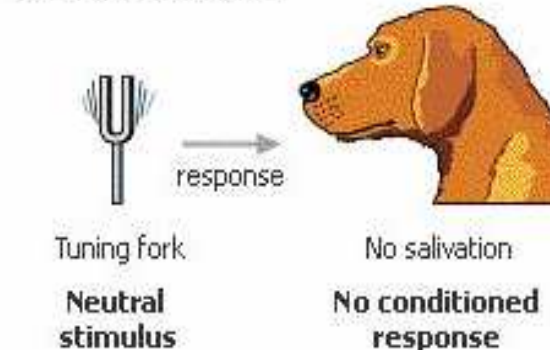
Klasické podmiňování



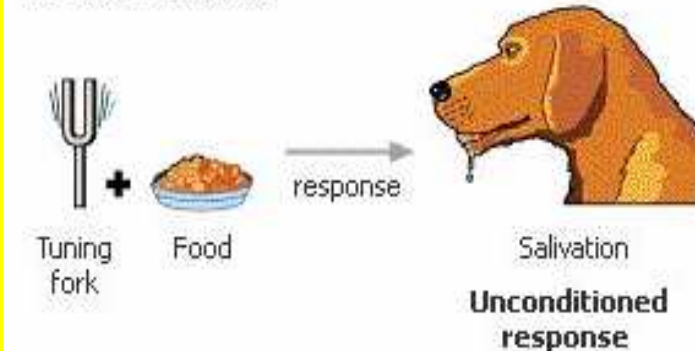
1. Before conditioning



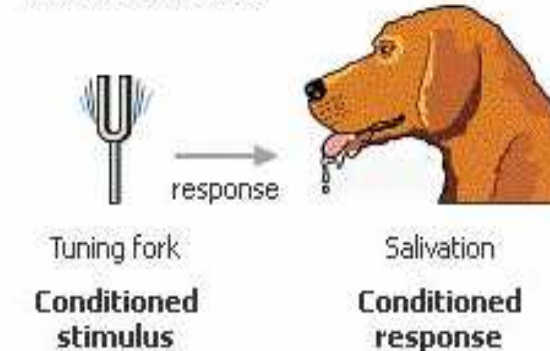
2. Before conditioning



3. During conditioning



4. After conditioning



Při klasickém podmiňování dochází ke spárování nepodmíněného podnětu s podmíněným, který pak je sám o sobě schopen vyvolat behaviorální odpověď

Klasické pavlovovské podmiňování u člověka

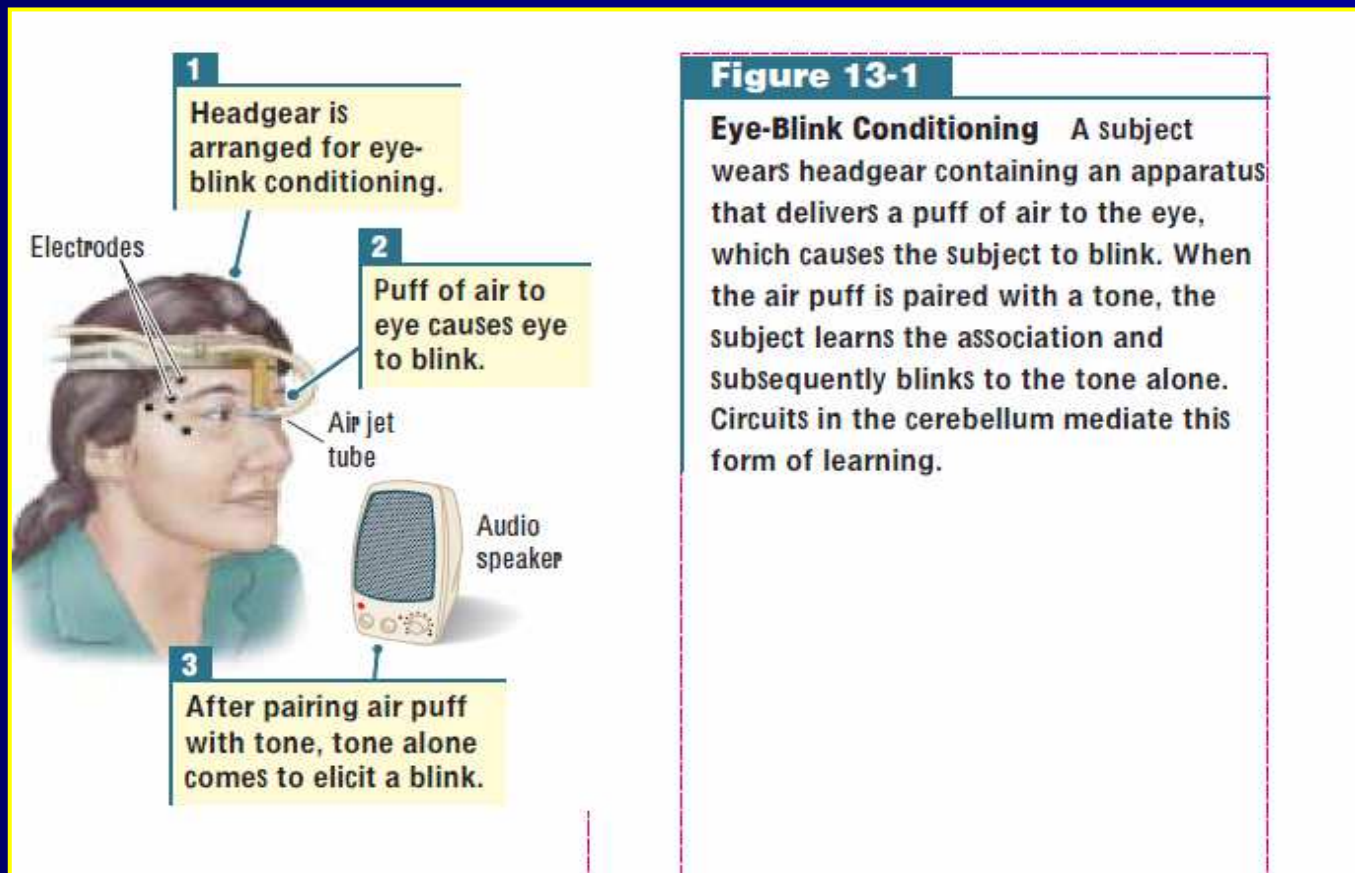
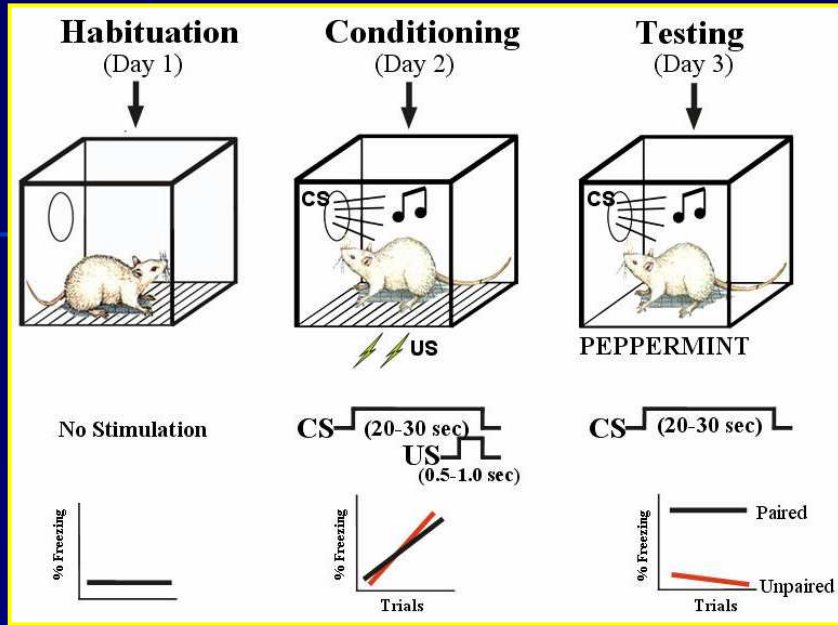


Figure 13-1

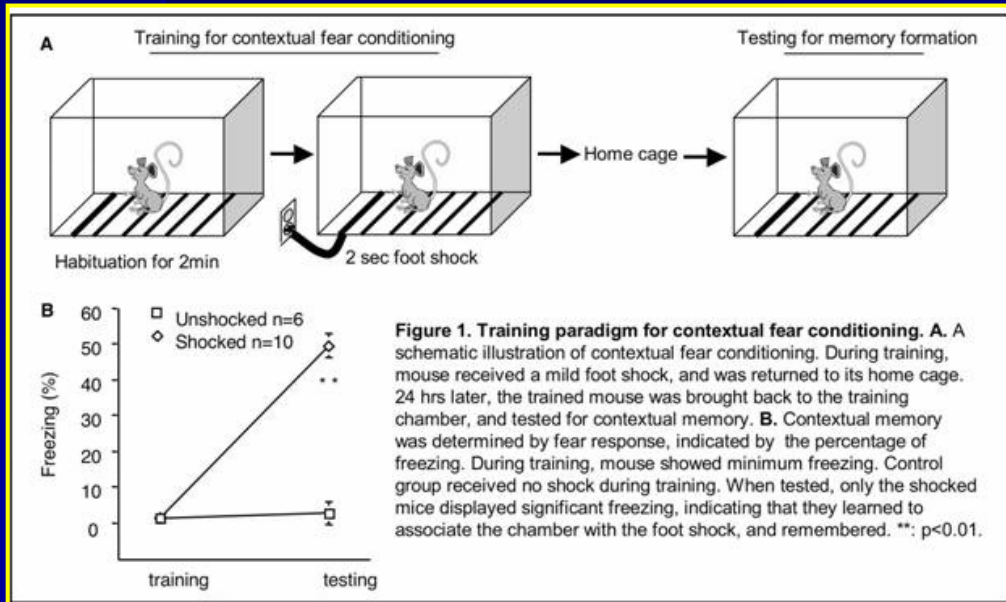
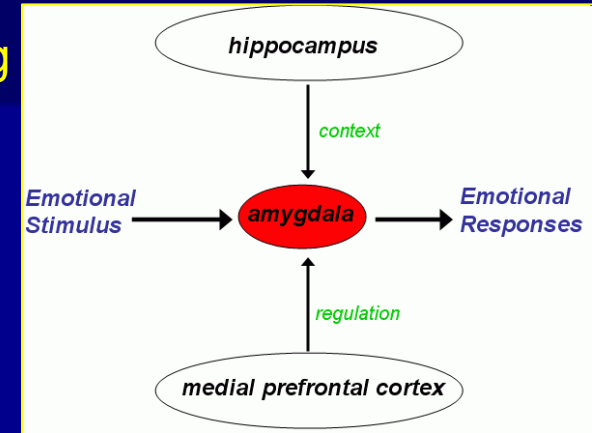
Eye-Blink Conditioning A subject wears headgear containing an apparatus that delivers a puff of air to the eye, which causes the subject to blink. When the air puff is paired with a tone, the subject learns the association and subsequently blinks to the tone alone. Circuits in the cerebellum mediate this form of learning.

Strachové podmiňování



Auditory fear conditioning - pavlovovské

Klíčová role amygdaly



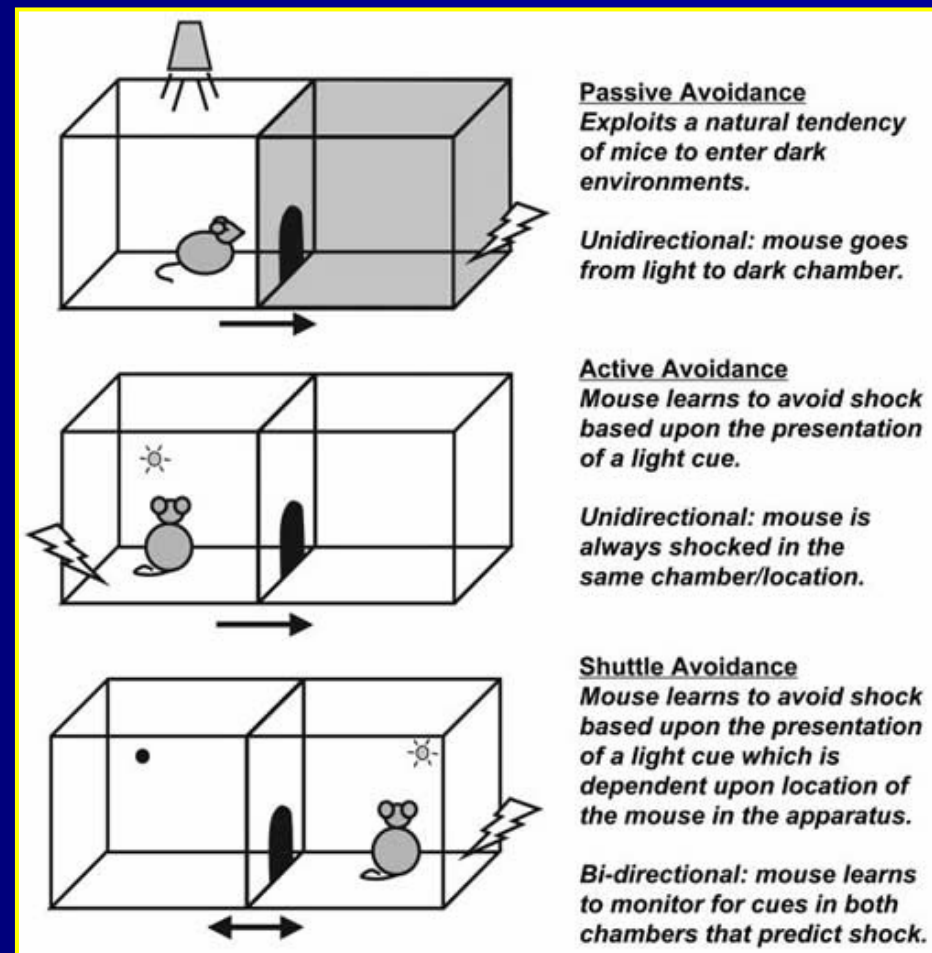
Kontextuální strachové podmiňování

U strachového podmiňování je měřenou veličinou zpravidla doba strachové ataxie – FREEZING

Lze i u lidí, např projekcí obrázků a měřením kožního odporu, či jiných odpovědí VNS

Aktivní vyhýbání x Pasivní vyhýbání

- **Aktivní** - subjekt musí aktivně vykonat nějakou činnost, aby se vyhnul trestu
 - One-way active avoidance
 - Two-way shuttle box
- **Pasivní (passive, inhibitory avoidance)**
 - subjekt musí potlačit nějakou svoji přirozenou aktivitu nebo tendenci, aby se vyhnul trestu
 - Step-through
 - Step-down



Passive Avoidance
Exploits a natural tendency of mice to enter dark environments.

Unidirectional: mouse goes from light to dark chamber.

Active Avoidance
Mouse learns to avoid shock based upon the presentation of a light cue.

Unidirectional: mouse is always shocked in the same chamber/location.

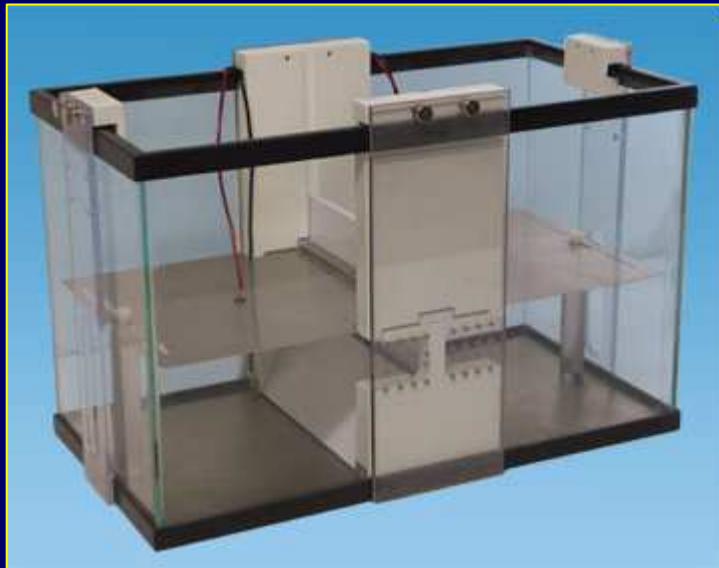
Shuttle Avoidance
Mouse learns to avoid shock based upon the presentation of a light cue which is dependent upon location of the mouse in the apparatus.

Bi-directional: mouse learns to monitor for cues in both chambers that predict shock.

Aktivní a pasivní vyhýbání

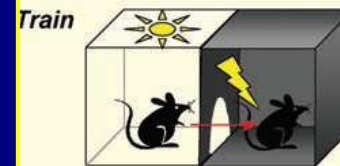
Aktivní vyhýbání ve vodní verzi

- Určeno pro studium chování akvariijních rybek

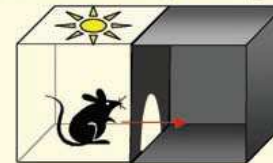


Passive Avoidance

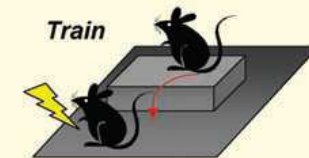
Step-Through Passive Avoidance



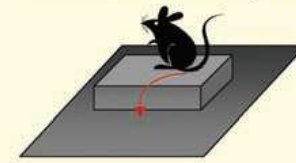
Test:
measure time to step through



Step-Down Passive Avoidance



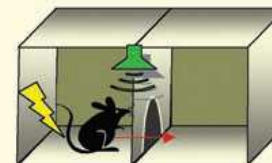
Test:
measure time to step down



Active Avoidance

Shuttle Box Active Avoidance

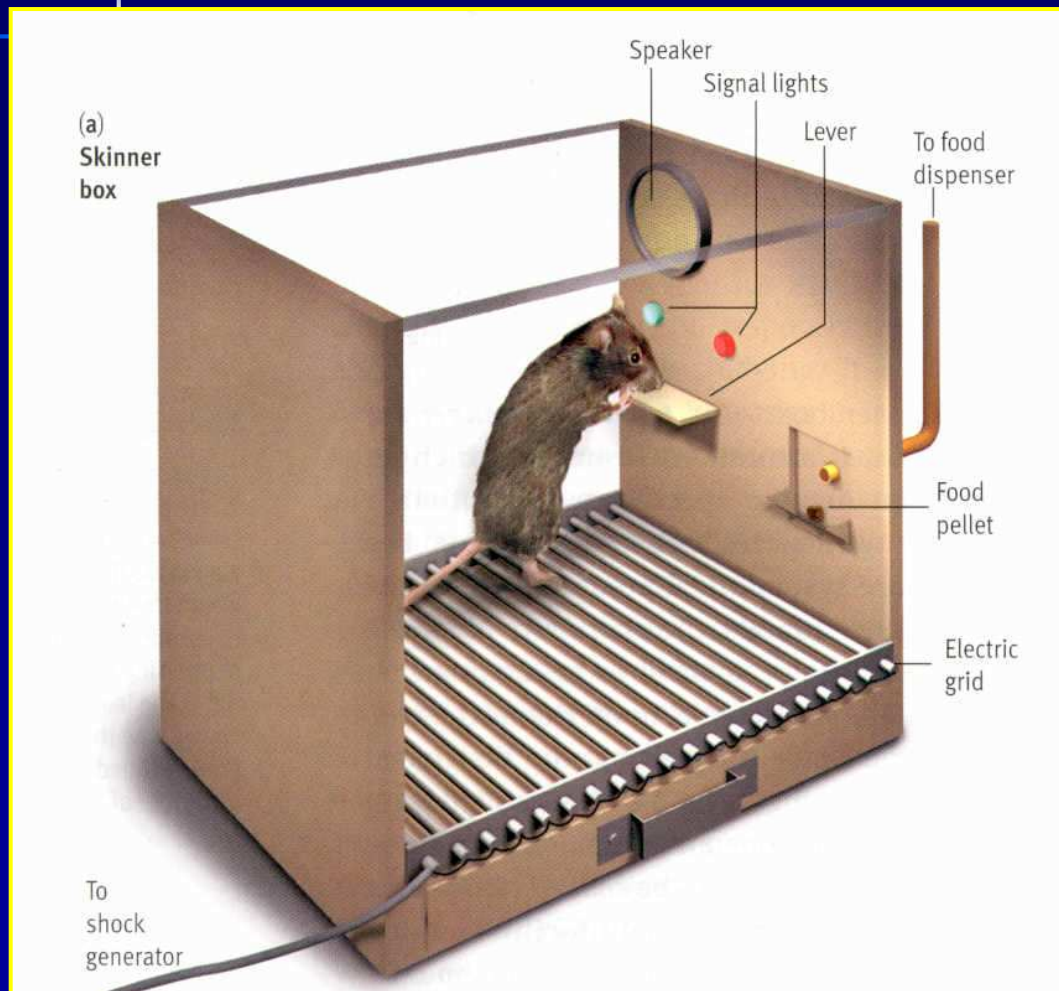
Train



Test:
Can the animal avoid the shock?



Operantní podmiňování



Zvíře se učí vykonávat nějakou činnost aby dosáhlo odměny nebo se vyhnulo trestu

Apetitivní motivace (odměna) – vede ke zvýšení četnosti odpovědí

Averzivní motivace (trest) – vede ke snížení výskytu odpovědí

Zvíře musí „předvídat“ důsledky svého jednání

V naší laboratoři byla v devadesátých letech minulého století rozpracována kombinace operantního podmiňování a rozpoznávání pozice v prostoru...viz dále

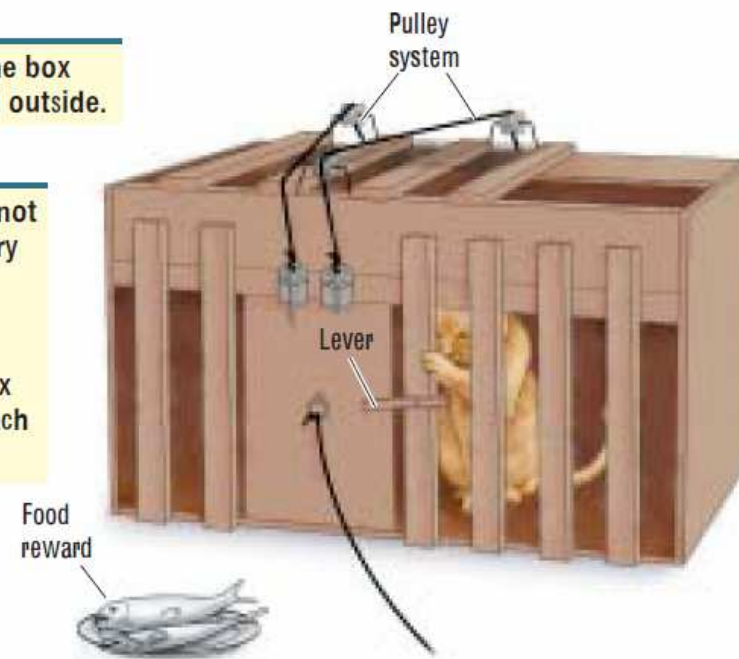
Thorndikeův klasický experiment

Figure 13-2

Thorndike's Puzzle Box

The cat is placed in the box with the food reward outside.

Although learning is not immediate, the hungry cat eventually learns that pressing on the lever will result in getting out of the box and being able to reach the food.



Chuťová paměť

Neofobie – evolučně velmi výhodné, strach z nových chutí.

- Testuje se opakovanou expozicí stejné potravě

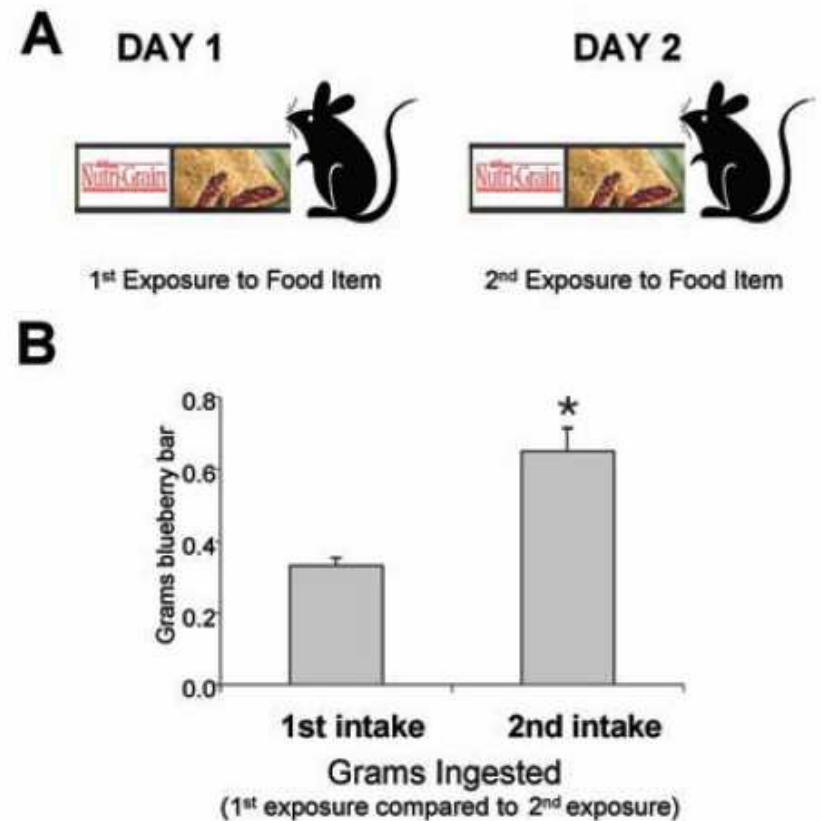
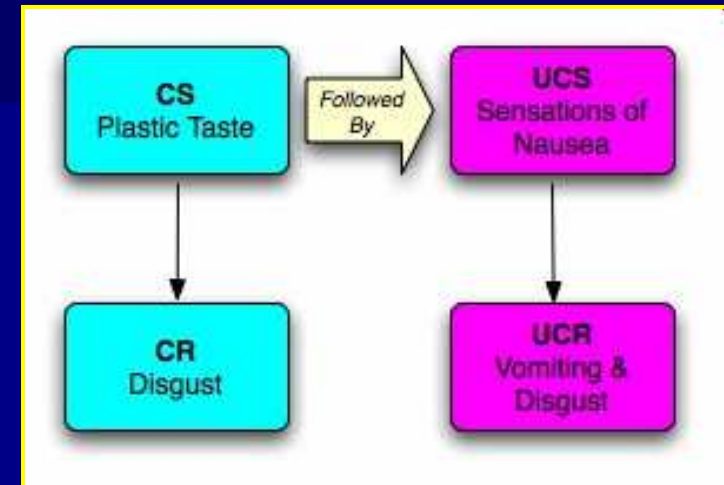


FIGURE 12 Neophobia. Neophobia during first access to a novel solid food is attenuated on second exposure. Mice were given ten-minute access to a novel taste, Nutri-Grain blueberry bar, and intakes were recorded. Ten-minute intakes on the second day are significantly higher, demonstrating attenuation of neophobia through familiarization. (* $p < .05$ by one-way ANOVA). Data and figure courtesy of Mike Swank (9).

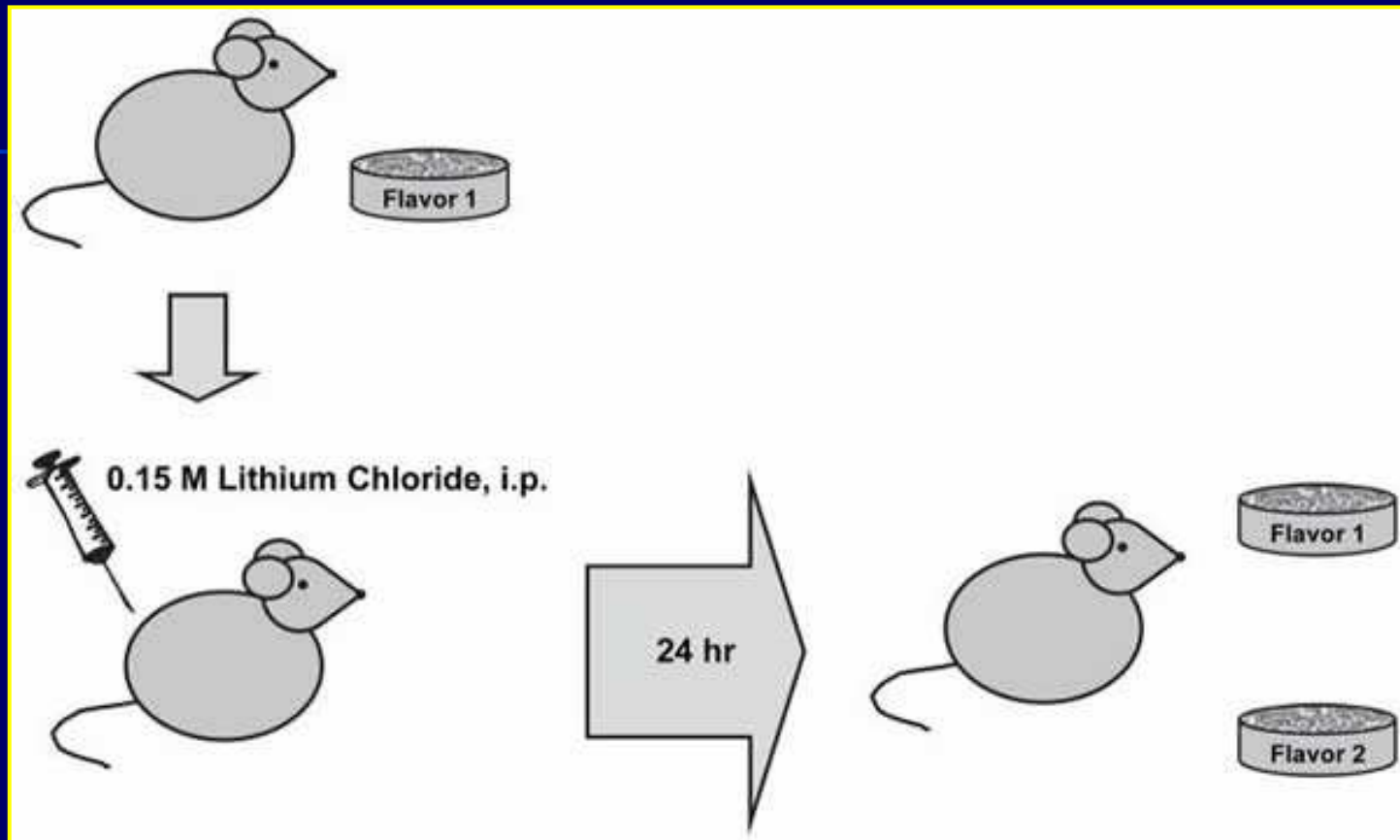
Podmíněná chuťová averze

*Conditioned taste aversion (CTA),
Garciaův efekt, Sauce-Bearnaise
syndrome*

- Jedná se o formu klasického (pavlovovského) podmiňování,
- Jedná se o asociaci podmíněného podnětu (určité chuti) s nepodmíněným („ježišmarjá, mě je zle“), která vede k vyhýbání se této chuti
- Tato paměťová stopa může perzistovat po VELMI dlouhou dobu
- Evolučně velmi výhodný typ učení
- V minulosti podrobně studován v naší laboratoři (Dr. Bureš, Dr. Bielavská)



Podmíněná chuťová averze



Generalizace stimulu – subjekt se vyhýbá i podobným chutím

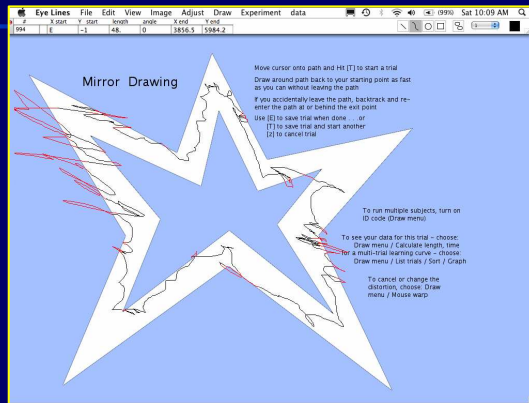
Objev – 50. léta 20.století – John Garcia – studium vlivu ozáření na chování

Podmíněná chuťová averze

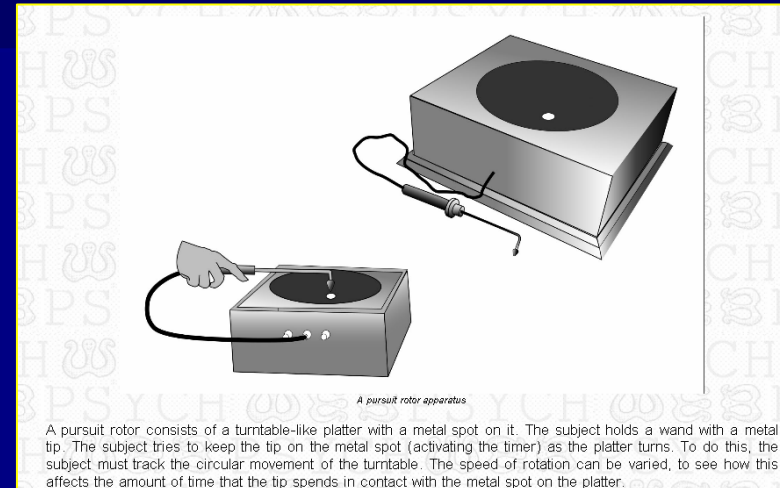
- Kriticky závislá na parabrachiálním jádře (hlubokém jádru spodního mozku) a insulárním kortexu (obsahuje korovou oblast pro zpracování chuťových vjemů), amygdale, supramammilárním jádře, nucleus accumbens
- Je rovněž zprostředkována proteinkinázou Mzeta, její blokáda v insulární kůře vede k vymazání této averze
 - Shema R, Sacktor TC, Dudai Y. Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. *Science*. 2007 Aug 17;317(5840):951-3.

Testy procedurální paměti (*motor skills*)

Mirror drawing task



Pursuit rotor task



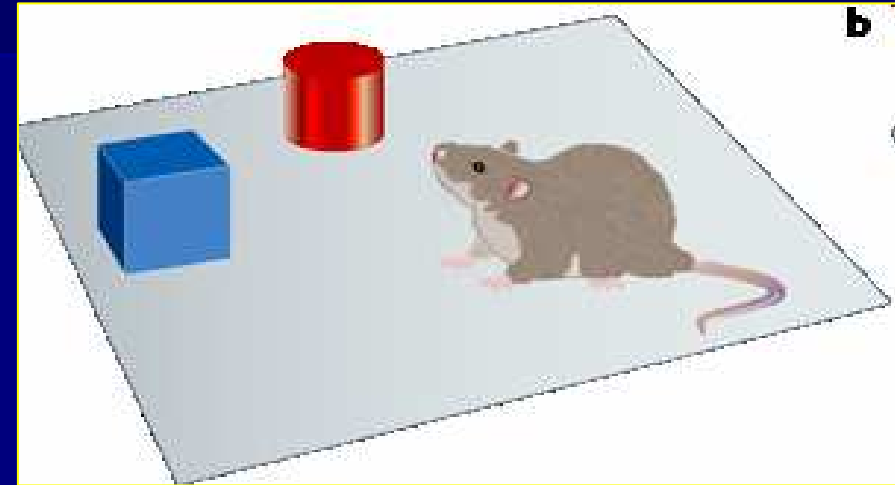
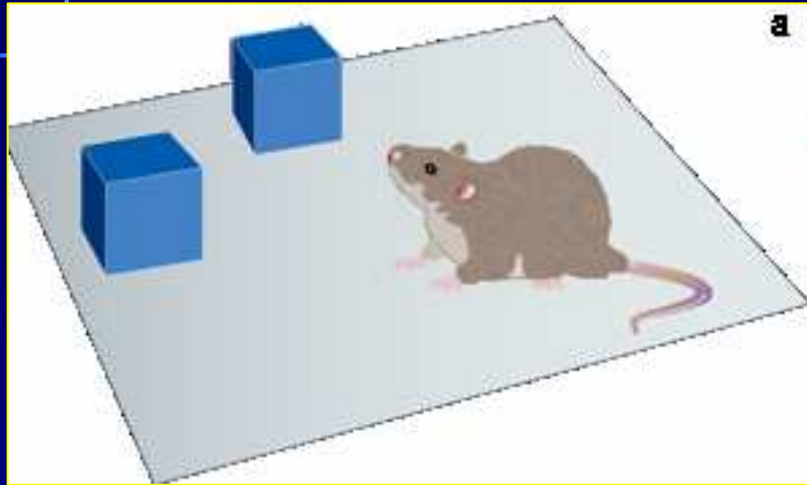
Rotorod



Nyní k paměti prostorové a paměti pro objekty

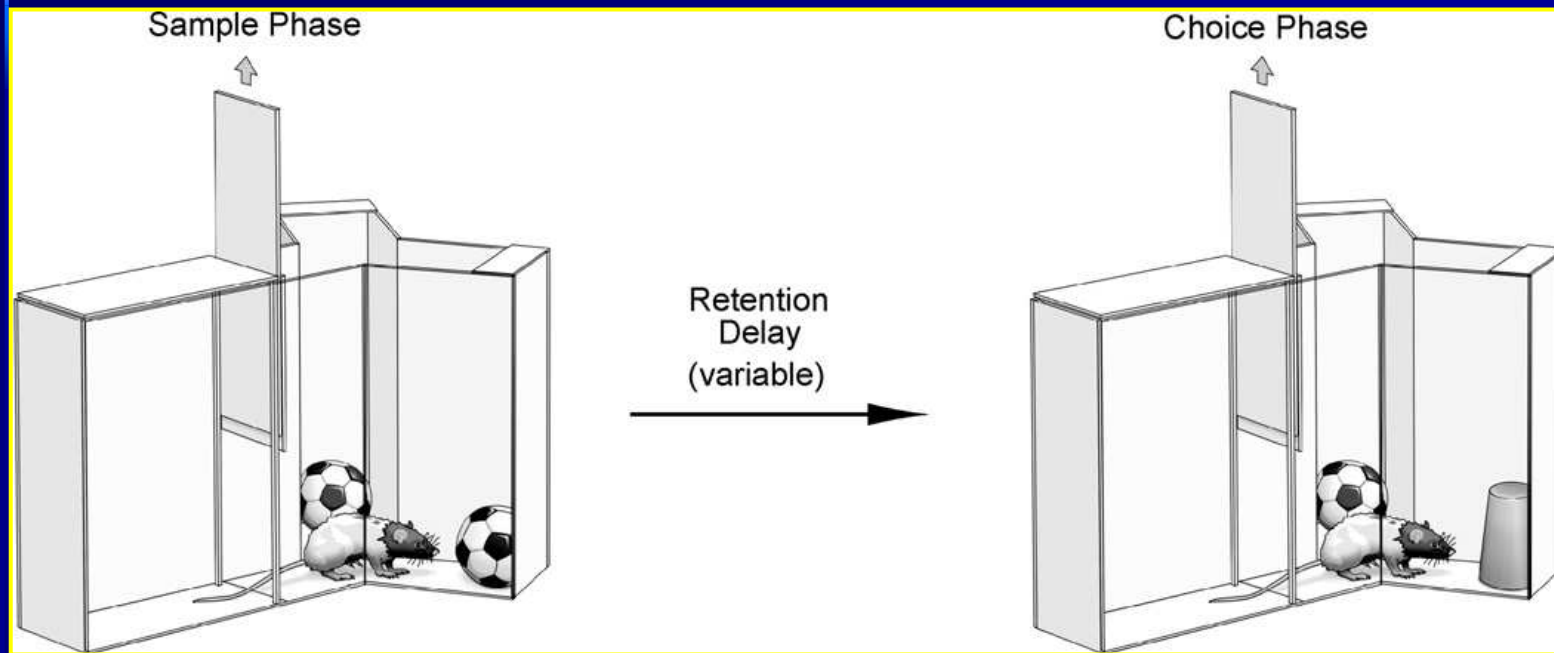
Někteří autoři považují za zvířecí model deklarativní paměti.
(syn. relational memory)

Úloha rozpoznávání objektu – object recognition task



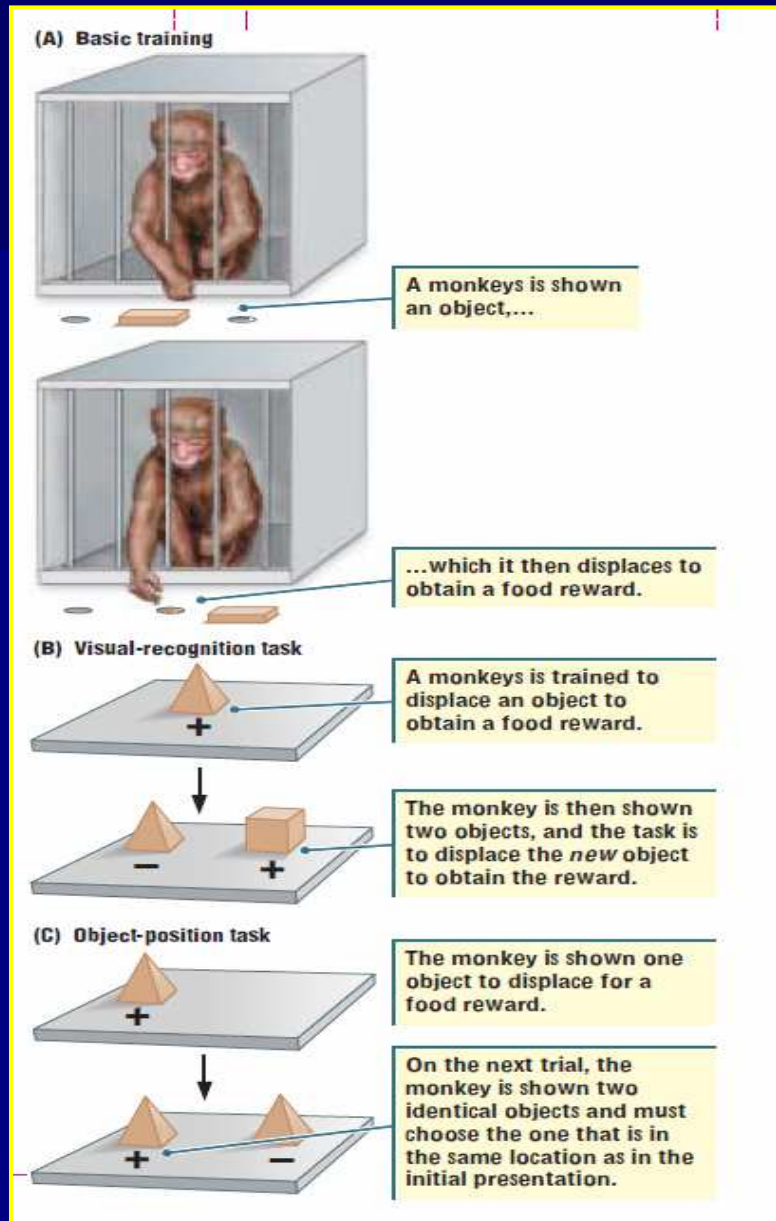
- Měřenou veličinou je doba prozkoumávání objektu, doba, kdy je zvíře v kontaktu s tímto objektem
- Zvíře objekt očichává, kontaktuje, prozkoumává
- Tato úloha je citlivá k vyčerpání (depleci) serotoninu, např. pomocí p-chlorofenylalaninu, jako jedna z mála.
- Odbočka – serotoninová deplece – významný studijní nástroj – buď dietou bez tryptofanu, nebo chemicky, má jistý vliv na kognitivní funkce u člověka, u zvířat je dopad podstatně menší

Úloha rozpoznávání objektu – object recognition task



**Signifikantní preference pro nový
objekt po 4, ale ne 24 hodinách.**

Object – recognition a object-place recognition



Exploration task

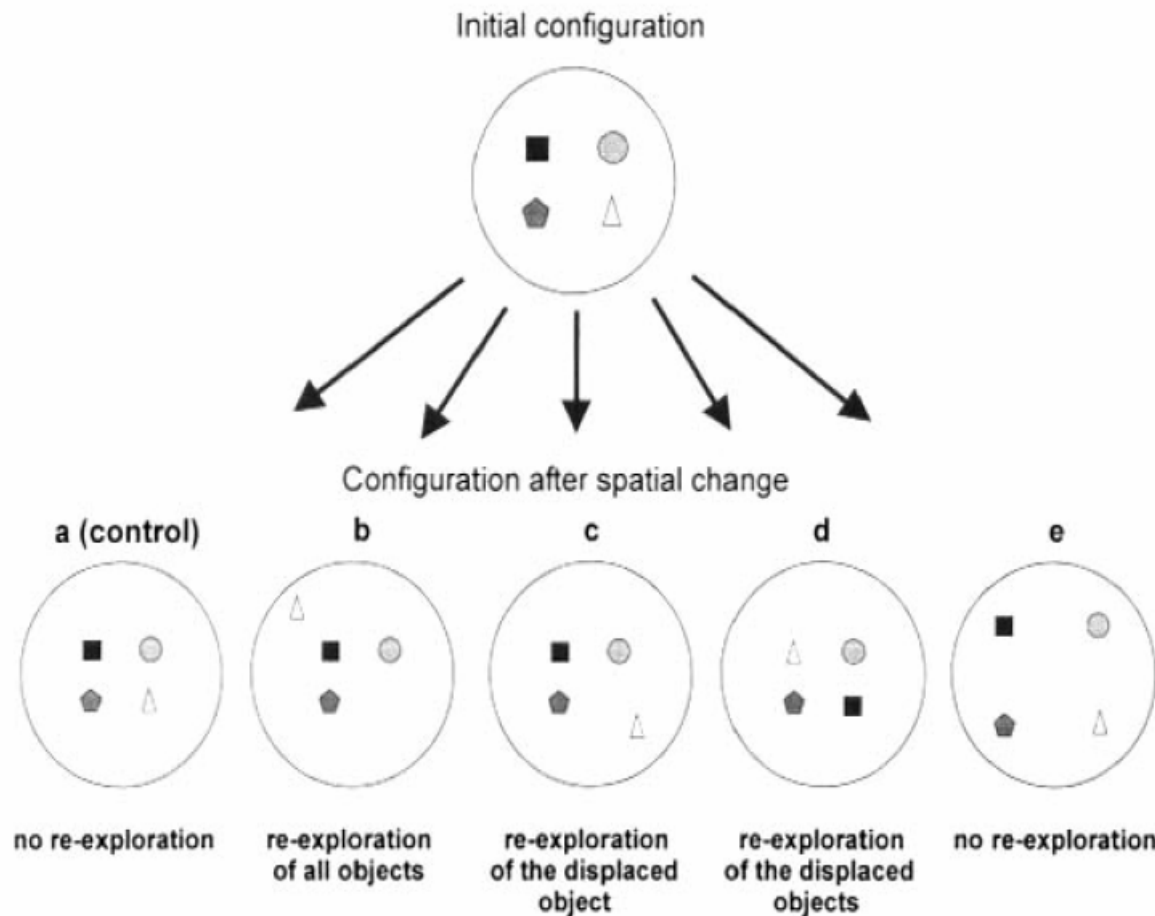


Figure 37-3. Effects of various modifications (from *a* to *e*) of a configuration of objects on exploratory activity. A renewal of exploration (*b*, *c*, and *d*) indicates that the animals are able to detect the spatial change, thus suggesting that they have encoded some spatial relationships. In contrast, an absence of reexploration is observed when the configuration is only expanded. (Redrawn from Poucet et al., 1986, and Thinus-Blanc et al., 1987.)

(Poucet et al., 1986; Thinus-Blanc et al., 1987)

Prostorové úlohy

Prostorová paměť (ve smyslu navigace k cílům, jež zpravidla nejsou přímo perceptibilní) – speciální druh paměti, ve kterém se subjekt učí určovat a rozeznávat vlastní polohu vzhledem k okolním orientačním bodům (alotetická orientace), popř. Vzhledem k vlastnímu pohybu a výchozímu bodu (idiotetická orientace)

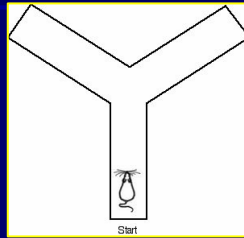
Zpravidla zahrnuje vytvoření **kognitivní mapy prostředí**

Někteří badatelé ji považují za zvířecí analogii lidské deklarativní paměti

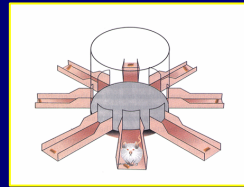
Je kriticky závislá na hipokampu, ale v její funkci hraje roli i entorinální kůra (hlavní aferentující struktura), a v některých uspořádáních také prefrontální (PFC) a posteriošní parietální kůra (PPC)

Vybrané behaviorální úlohy využívané ke studiu prostorového chování

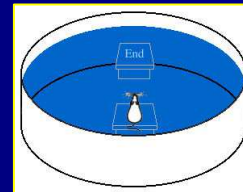
„Y“, „T“
a křížové bludiště



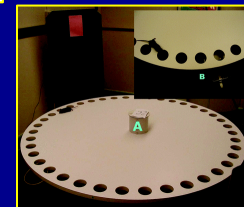
Radiální bludiště
(radial arm maze)



Morrisovo vodní bludiště



Barnesové bludiště

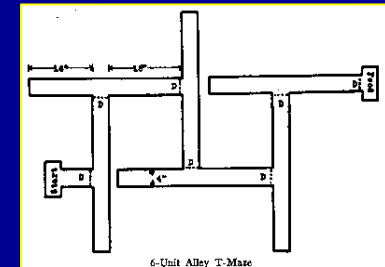


Úlohy vyhýbání se místu

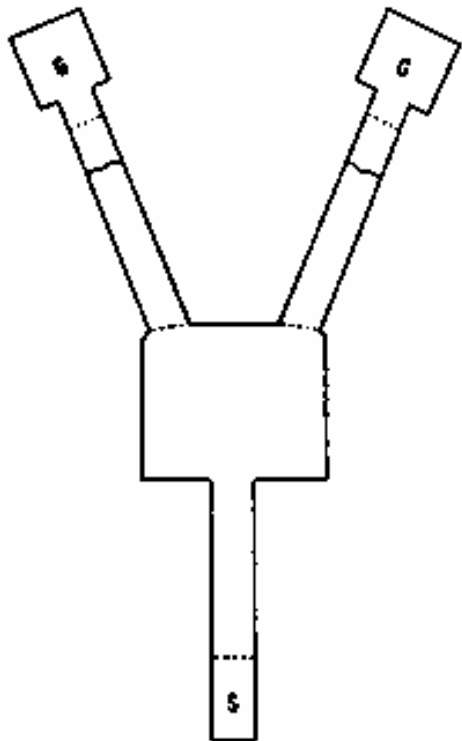


Komplexní bludiště

Dnes se využívá jen zřídka



Spenceho a Lippittův experiment



Ground plan of the apparatus

FIG. 7

(Taken from K. W. Spence and R. Lippitt, An experimental test of the sign-gestalt theory of trial and error learning. *J. exper. Psychol.*, 1946, 36, p. 494. In this article they were describing another experiment but used the same maze.)

Autoři využili upraveného Y- bludiště, do kterého umísťovali nejprve nasycené a napojené potkany (v jednom rameni byla potrava, v jednom voda)

Poté rozdělil zvířata do dvou skupin („hladových“ a „žízlivých“)

Obě skupiny si preferenčně vybíraly „svá“ krmítka

Naznačuje to, že během exploraace si zvířata vytvořila kognitivní mapu, jež obsahovala lokaci potravy a vody

Přesto se tato mapa nevytvořila na základě řetězce S - R reakcí

Spontánní alternace

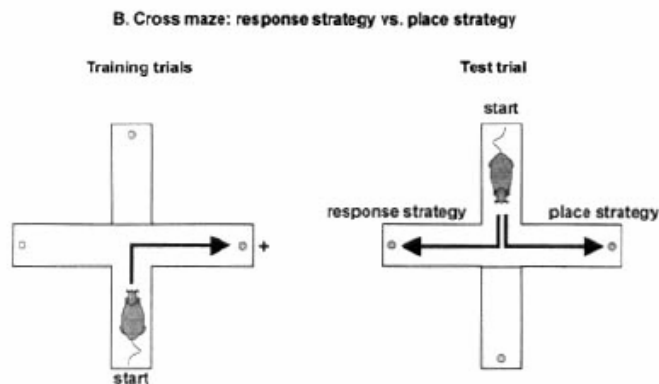
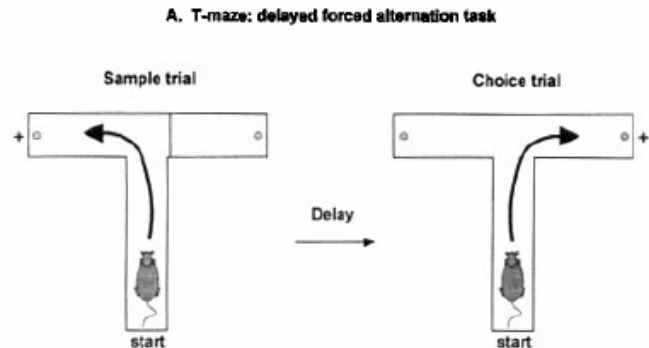
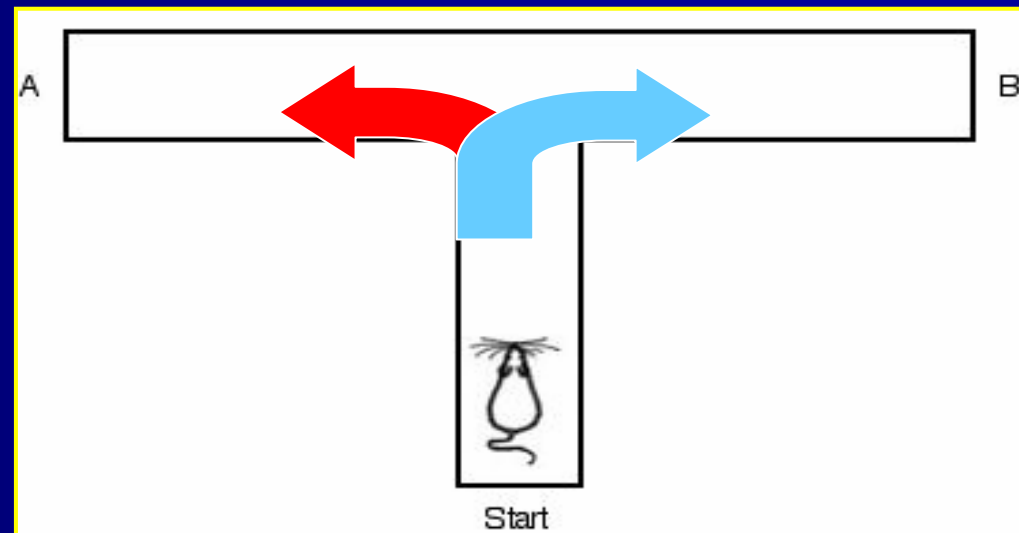


Figure 37-1. A, Delayed forced alternation task in the T-maze. During the sample trial, the rewarded arm (+) is specified by the experimenter (the other arm is blocked). After a delay, the animal is required to choose between the two arms (choice trial) and is rewarded if it chooses the other arm. B, Response-versus-place strategy in the cross maze. During training, the rat is trained to enter the right arm. During the test trial, the animal is released from the opposite arm and is required to choose between the right arm and the left arm. A right turn indicates that the rat uses a response strategy based on stimulus-response association (association between a body turn and a place). A left turn indicates that the rat uses a place strategy based on a cognitive map.

Spontánní alternace

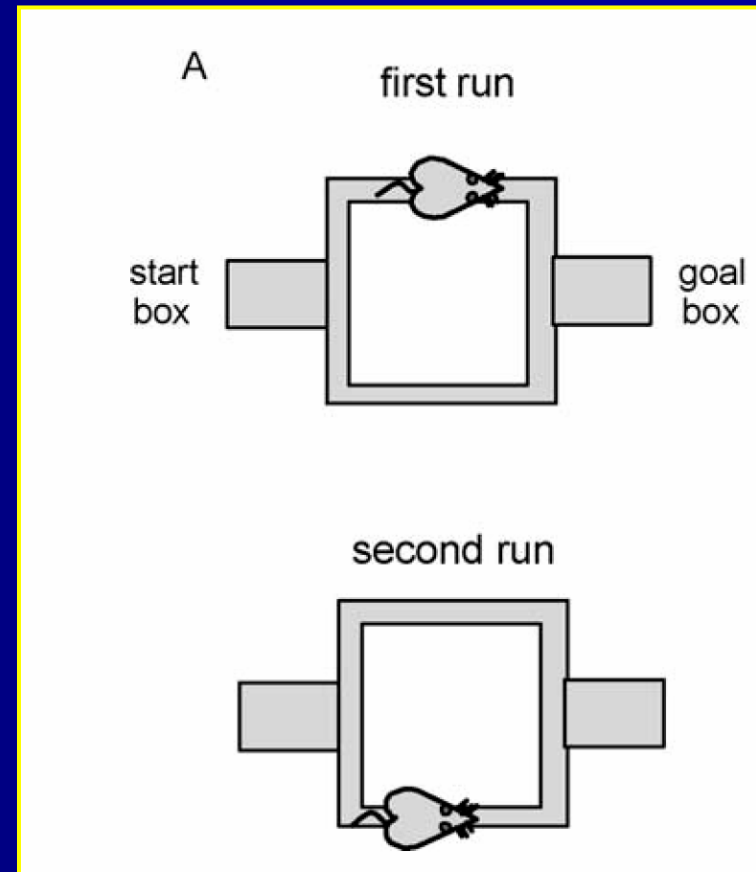
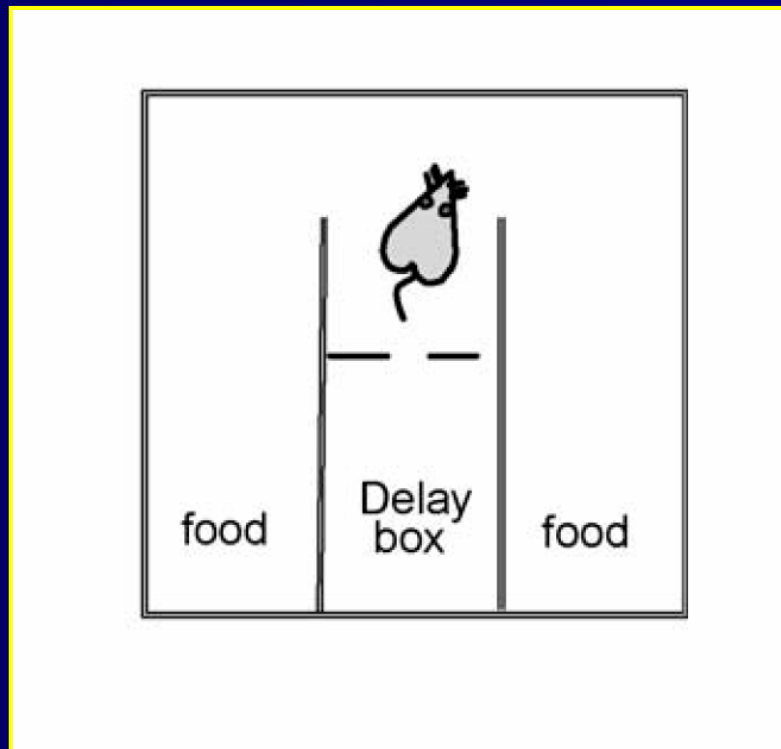
(SAB - Spontaneous Alternation Behavior)



Spontánní alternace

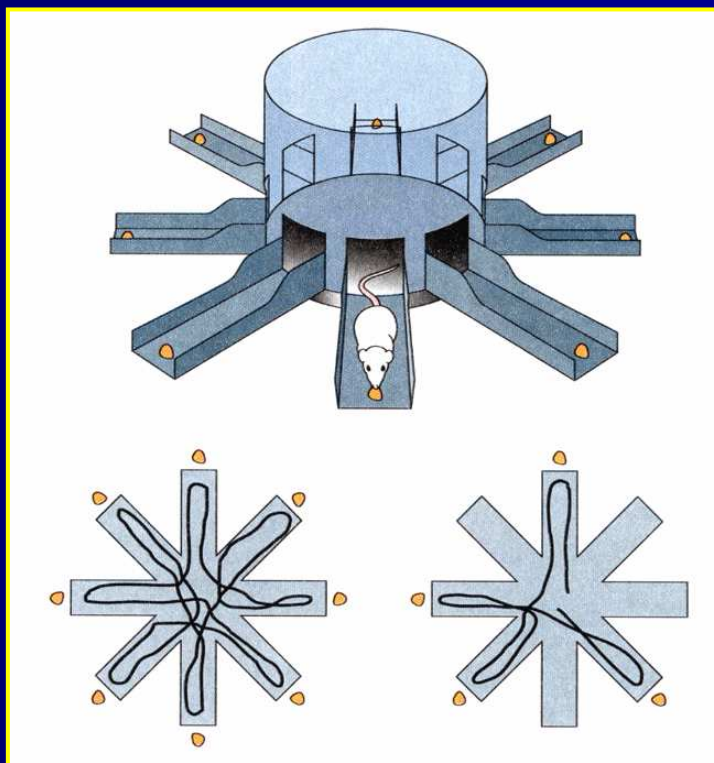
- Ve většině případů je toto chování vrozené, ale k jeho vyjádření může dojít i v průběhu ontogeneze
- Bylo popsáno i u dětí, kdy u 6-měsíčních nebylo již vyjádřeno plně (často se vracely do stejného ramene), zatímco u jednoročních ano Metodicky prováděno výběrem ze dvou hraček na dvou místech po stranách
- snad zvláštní forma exploračního chování, v přírodě zřejmě velmi univerzální (ukázáno u trepky *Paramecium* i lidských spermií v „mikrobludištích“)
- dosavadní vysvětlení tohoto „jednoduchého jevu“ jsou zatím nedostatečná
- Někdy je používána jako test pracovní paměti (zvíře si musí pamatovat které rameno navštívilo), vyžaduje také pozornost
- Citlivá k lézi mPFC, také bazolatelární amygdaly (BLA , intenzivně spojená s PFC), v některých případech může být poškozena i po rozsáhlejších lézích hipokampu

Jiné modifikace spontánní alternace



Radiální bludiště

Úkolem zvířat je navštívit ramena, kde je potrava, a vyhnout se opakování návštěvy v ramenu, kde již bylo, tedy které neobsahuje potravu.



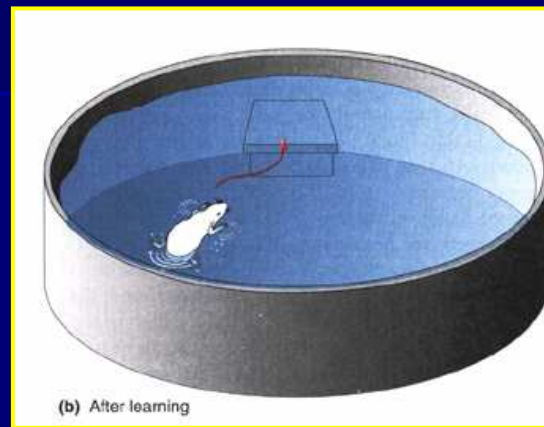
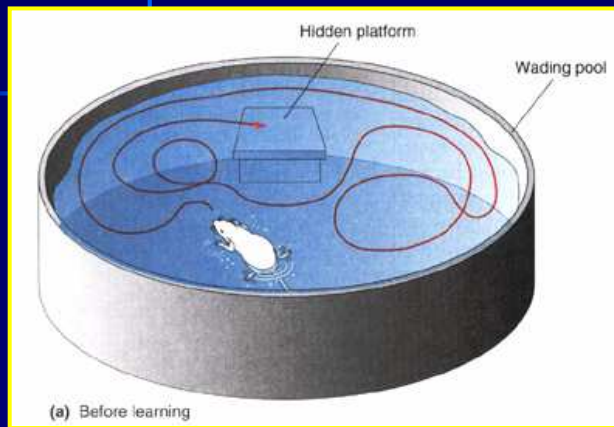
Úloha existuje v modifikaci pro pracovní i referenční paměť

Úloha je závislá na hipokampu – v případě, že poloha ramen je určována jejich prostorovými vztahy k okolním orientačním bodům

Radiální bludiště

- Navrženo Oltonem a Samuelsonem jako test prostorového učení a paměti. *Olton, D.S., & Samuelson, R.J. (1976). Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes, 2, 97-116.*
- Pokud je zvířatům ve verzi pro pracovní paměť nabídnuto 8 ramen, z 8 prvních návštěv zpravidla 7 je do ramen ještě nenavštívených, což je vysoko nad náhodnou hranicí...ukazuje to, že hlodavci mají funkční pracovní paměť.
- V průběhu let byla použita bludiště obsahující 3-48 ramen. (*Cole, M.R., & Chappell-Stephenson. (2003). Exploring the limits of spatial memory using very large mazes. Learning & Behavior, 31, 349-368.*)
- Olton et al. (1977) ukázali, že pokud byl počet ramen 17, výkonnost ve verzi pracovní paměti se snížila jen mírně.
- Cole a Chappell-Stephenson (2003) doložili, že limit pro úspěšné pamatování se navštívených ramen leží někde mezi 24 a 32 rameny (použili maximálně 48 ramen)

Morrisovo vodní bludiště



- Zvíře je vypouštěno z náhodných míst na periferii bazénku, skrytý ostrůvek je zpravidla umístěn ve středu jednoho z kvadrantů, pokud zvíře nedosáhne ostrůvku během 60 sekund, je na něj jemně dovedeno, na ostrůvku se rozhlíží; je na něm ponecháno cca 20 sekund.
- Na počátku zvířata plavou především po okrajích (thigmotaxe) a snaží se vyškrábat na stěnu, posléze opouštějí tuto strategii (zdravá) a hledají ostrůvek v ploše bazénku.



Morrisovo vodní bludiště (MWM)

- MWM vyvinuto skotským badatelem Richardem G. Morrisem, publikováno poprvé v r. 1981, v r. 1984 pak vyšel metodický článek popisující vývoj této techniky
- Metoda má řadu výhod, např. **eliminace blízkých (čichových) orientačních bodů**, zvíře se orientuje téměř výhradně podle vzdálených orientačních bodů umístěných v místnosti
- Využívá také toho, že potkan je dobrý plavec, úloha **nezpůsobuje distres, ale zvířata jsou motivována ostrůvek najít**

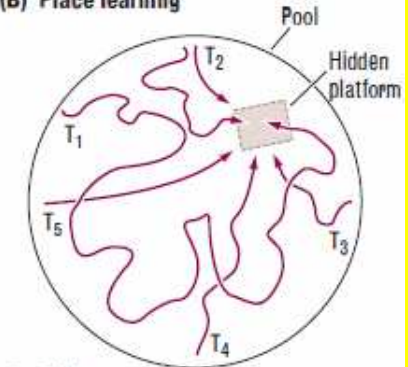
Morrisovo vodní bludiště

- Lze studovat osvojování (učení, acquisition) a také vybavení – *probe trial* – zvíře je na 60 sekund vypuštěno do bazénku bez ostrůvku a sleduje se preference pro místo, kde se dříve platforma nacházela během předchozího tréninku
- Měří se parametry – latence (s) k nalezení ostrůvku, thigmotaxe, celková uplavaná dráha před nalezením, rychlost plavání (poskytuje informaci o motorických funkcích) aj.
- Zpravidla se využívá také test hledání viditelného ostrůvku, slouží k vyloučení senzomotorického a motivačního poškození po určité experimentální manipulaci

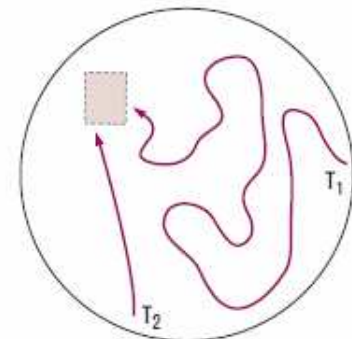
MWM

- Vliv experimentálních manipulací – po lézi hipokampu zvířata zpravidla nejsou schopna řešit MWM, také aplikace některých antagonistů receptorů (např. NMDA, AMPA či cholinergních) může výkon poškodit
- Ale: existuje tzv. technika předtrénování, kdy zvíře je naučeno, že se má hledat ostrůvek (procedurální aspekt) – NSP - nonspatial pretraining (skrytý ostrůvek náhodně mění polohu a bazén je obklopen neprůhlednou zástěnou) – **zvíře se seznámí s tím, jak ostrůvek hledat a že je třeba ho hledat, ale nikoliv s tím, kde jej hledat**

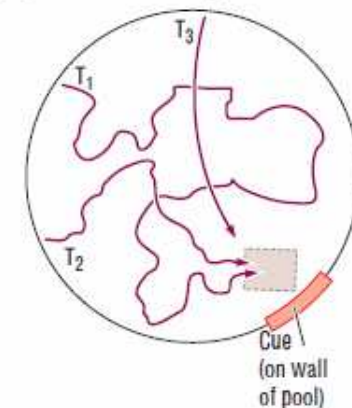
(B) Place learning



(C) Matching-to-place learning



(D) Landmark learning

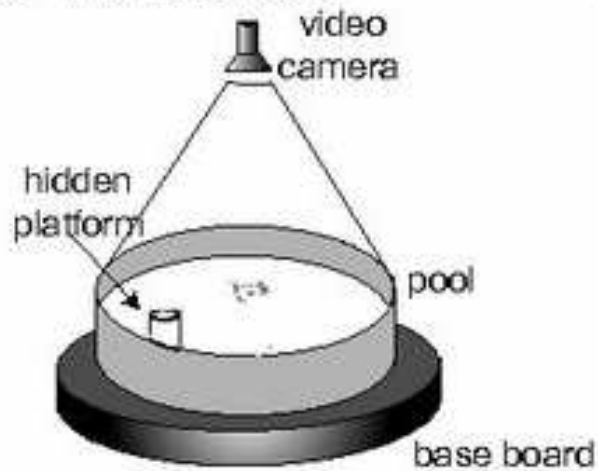


MWM

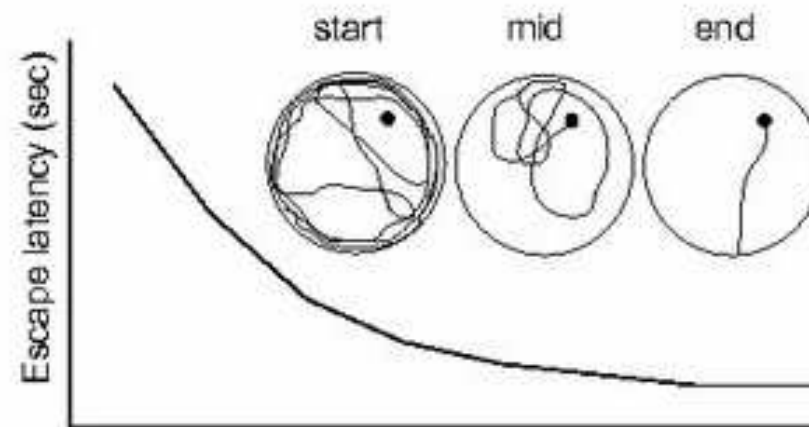
- NSP odstraní řadu poškození, např. skopolaminem (antagonista mAChR), či APV (NMDAR antagonist) – z toho lze vyvozovat, že část deficitů způsobených těmito látkami lze připsat na vrub procedurálnímu poškození, nebo také na naučení se „pravidel“ úlohy
- Existuje ve verzi pro dlouhodobou i krátkodobou paměť. Test pracovní paměti (*Delayed Matching to Place-DMP*) – 4 plavby denně, poloha ostrůvku se mezi dny mění – vysoce závislá na hipokampu i po předtrénování

MWM

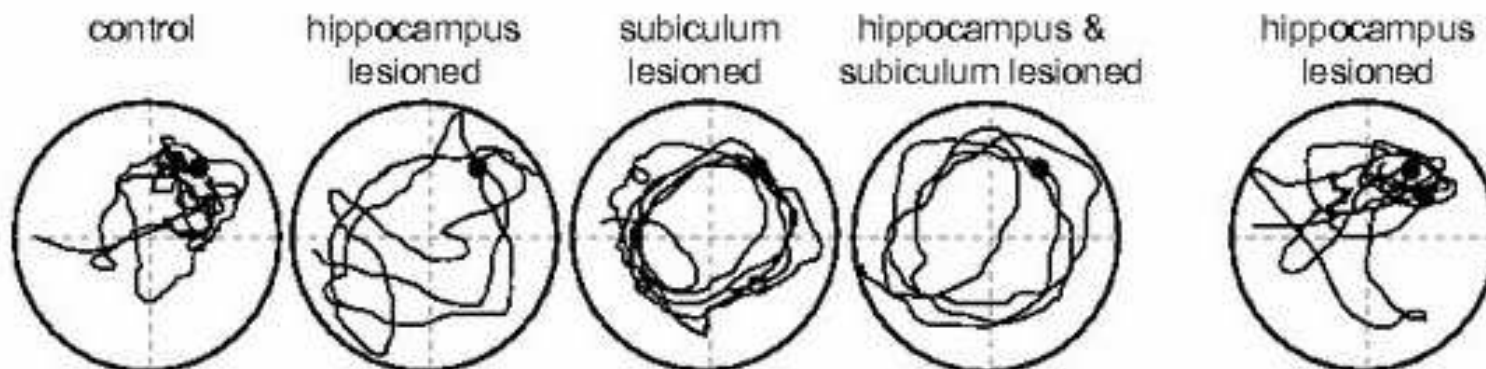
A The watermaze



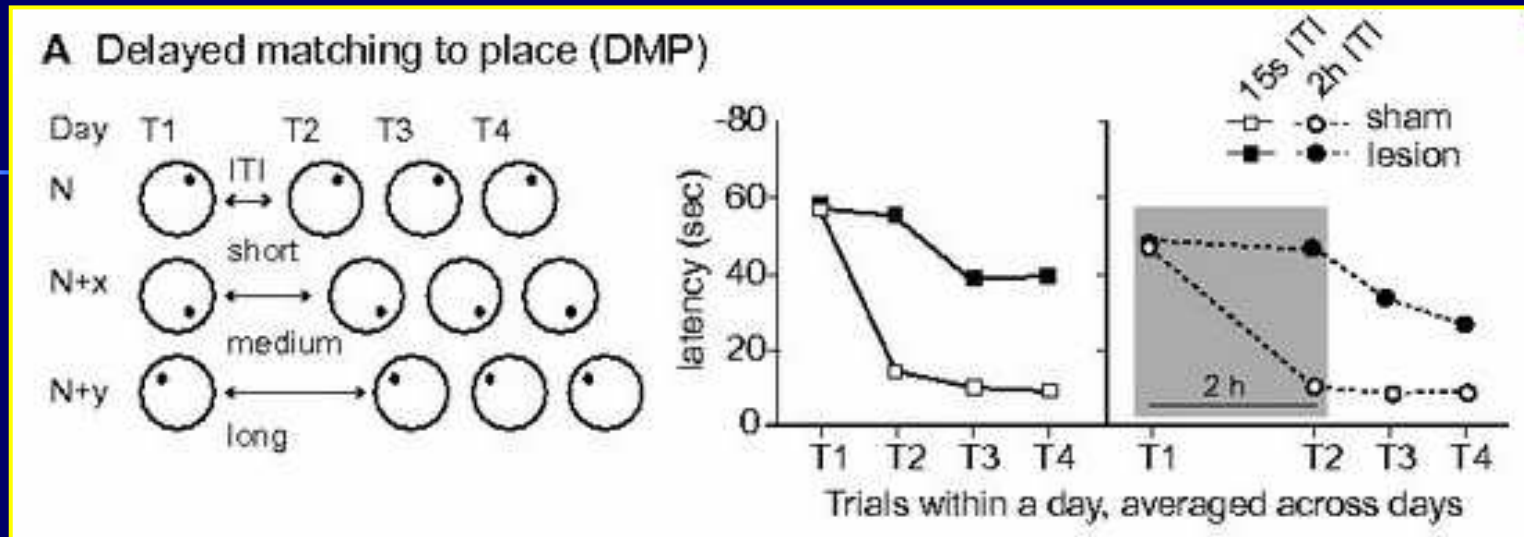
B Paths and latency during place navigation



C Post-training probe tests (no platform)



Delayed matching to place verze MWM



4 plavby denně, poloha ostrůvku se každý den mění – při první plavbě zvíře zpravidla najde ostrůvek náhodou nebo je na něj navedeno – klíčovou je druhá plavba (která následuje s různě dlouhým odstupem po první plavbě), kdy se měří čas potřebný k nalezení ostrůvku

Steele RJ, Morris RG. Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. Hippocampus. 1999;9(2):118-36

S pomocí této úlohy bylo rovněž zjištěno, že dopaminové D1 receptory kriticky modulují perzistenci paměťové stopy v této variantě vodního bludiště

Navigace na pohyblivý viditelný cíl v MWM

Úloha vyvinuta dr. K. Blahnou a D. Klementem
v naší laboratoři Neurofyziologie paměti

Viditelný ostrůvek rotuje po periférii bazénku
a úkolem potkana je plavat co nejpřímější trajektorií k němu
– potkan je vypouštěn z opačné strany bazénu



2 rychlosti pohybu platformy, při pomalé potkan plave přímo na cíl, pokud se však platforma pohybuje rychleji než potkan plave, musí zvíře kombinovat vizuální a časovou informaci a predikovat pohyb cíle

Predikce pohybu studována u různých druhů,
u hlodavců novinka



Barnesové bludiště

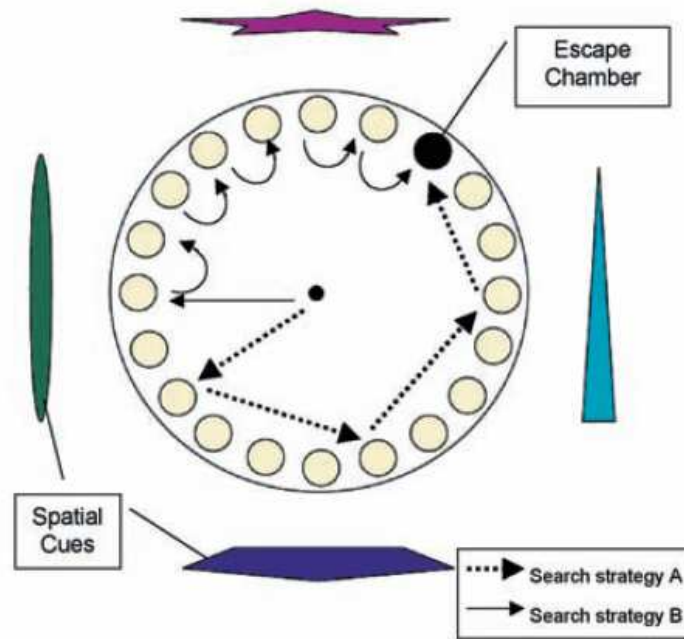


FIGURE 10 Diagram of the basic components of the Barnes maze. Animals learn to locate an escape chamber using visual cues placed on the walls of the room. Learning is assessed as a decrease in the number of errors an animal makes in locating the escape chamber.



Oasis maze

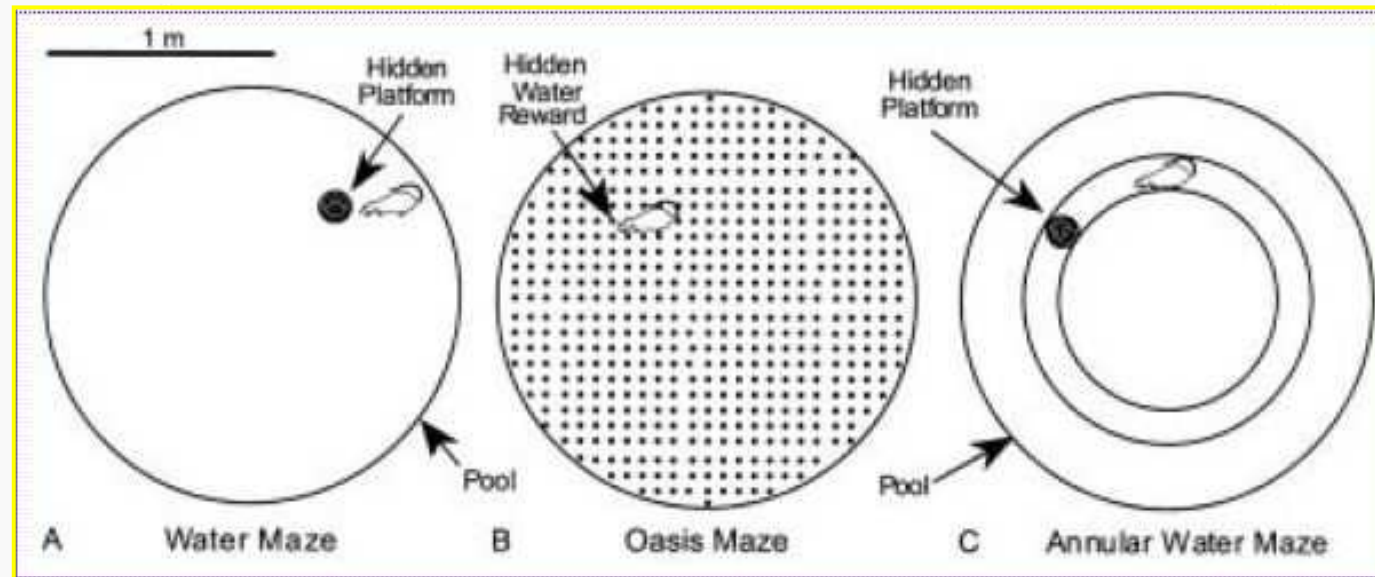


FIGURE 1

Top view of the three spatial tasks. All three tasks require the use of distal spatial cues (e.g., posters located on testing room walls). A: Water maze (Experiment 1). Rats were trained to find an escape platform hidden just below the surface of the water. B: Oasis maze (Experiment 2). Water-deprived rats were trained to find a single well containing a 0.3 ml drop of water among 426 wells. C: Annular water maze (Experiment 3). Rats were trained to find an escape platform hidden just below the surface of the water. The swim path was restricted by clear walls that formed an annulus, such that rats necessarily encountered the platform location in the course of swimming. Recognition of the platform location during probe trials was indicated by a slowing of swim speed in the vicinity of the platform. Scale bar = 1 m for all three mazes.

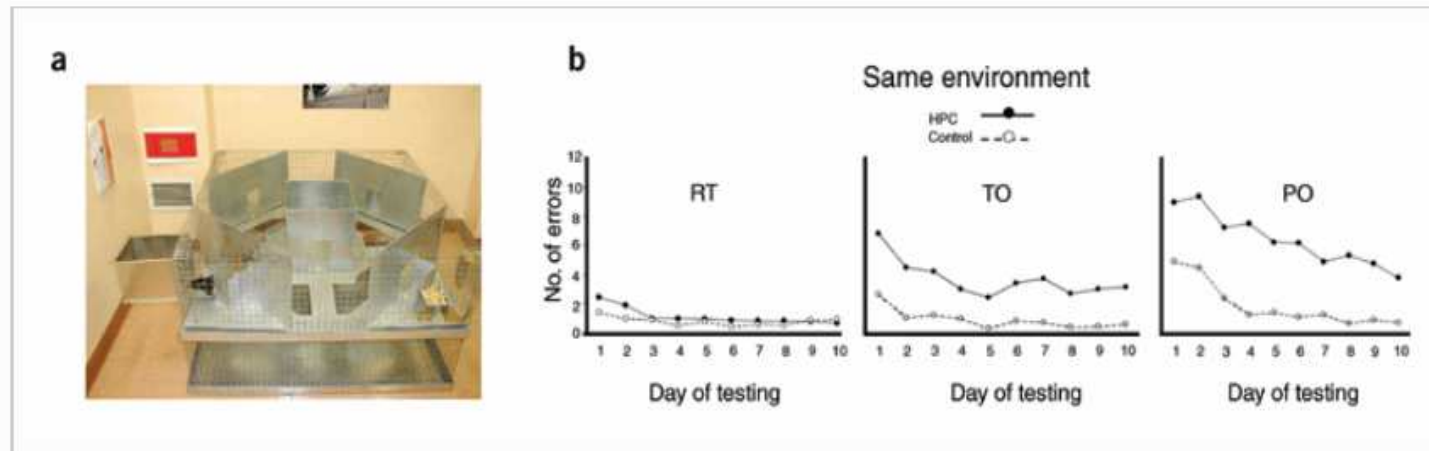
Suchá alternativa MWM – několik stovek jamek (wells), jedna z nich obsahuje malé množství vody

Village apparatus

Preserved spatial memory after hippocampal lesions: effects of extensive experience in a complex environment

Gordon Winocur, Morris Moscovitch, Stuart Fogel, R Shayna Rosenbaum & Melanie Sekeres
Nature Neuroscience **8**, 273 - 275 (2005) Published online: 20 February 2005
doi: 10.1038/nn1401

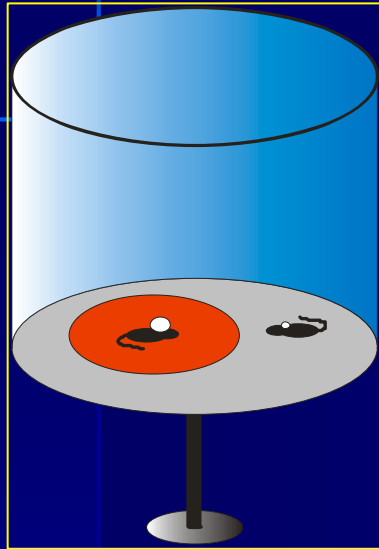
[back to article](#)



(a) The village apparatus. (b) Performance of hippocampal (HPC) and control groups in the three rearing conditions, tested in the familiar environment. Error bars indicate s.e.m. RT: Rearing + Training (HPC, $n = 8$; control, $n = 6$). TO, Training-Only (HPC, $n = 10$; control, $n = 9$). PO, Postoperative testing-Only (HPC, $n = 9$; Control, $n = 9$). This study was approved by the Trent University Animal Care Committee, and the rats were cared for in accordance with the ethical standards of that committee.

Jedná se v podstatě o komplexní bludiště, ve kterém je potkany možno odchovat. Zmínění autoři ukázali, že pokud jsou zvířata v tomto prostředí odchovávána i trénována, nepoškodí jejich výkon léze hipokampu.

Úlohy navržené v naší laboratoři



Vyhýbání se pohyblivému objektu

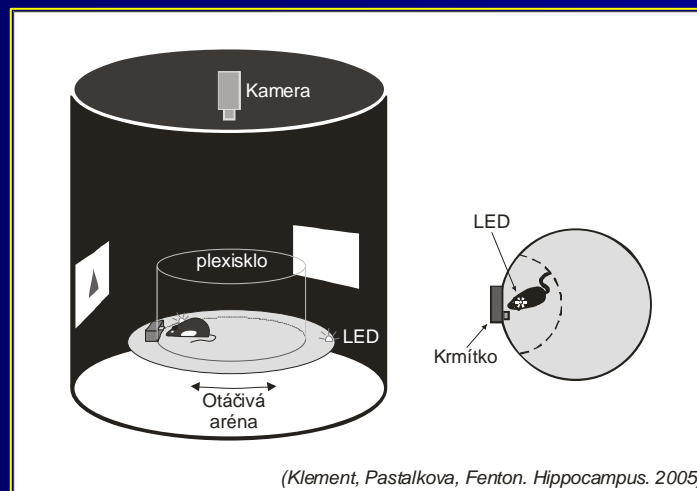
Potkan se během zhruba 15 sezení naučí vyhýbat pohybuujícímu se robotu, okolo něj je definována kruhová oblast o průměru 30cm, jejíž navštívení je potrestáno mírnou el.rankou



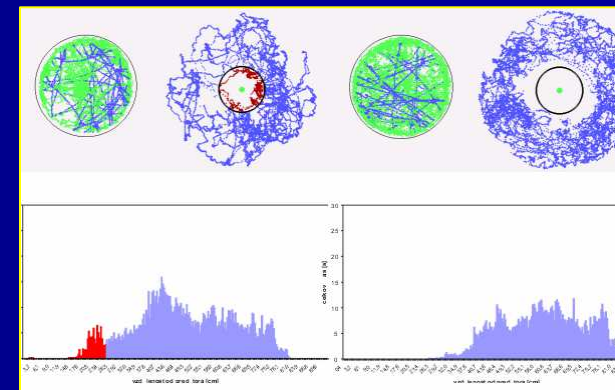
Rozpoznání místa

Prostorově řízené operantní chování, pouze v určité oblasti prostoru je zmáčknutí „honorováno“ odměnou

Klement et al., 2002

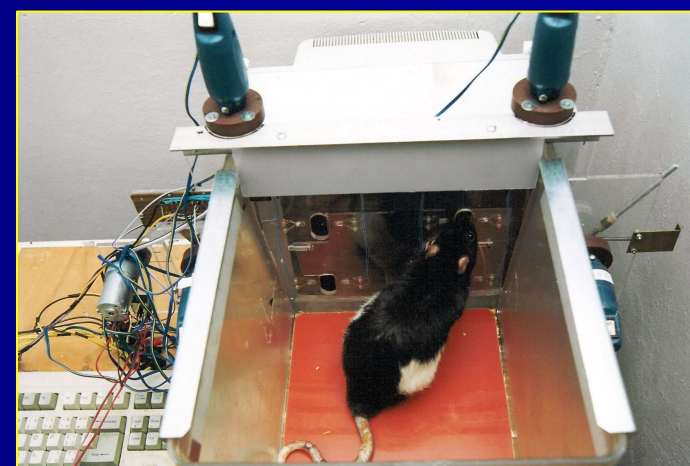
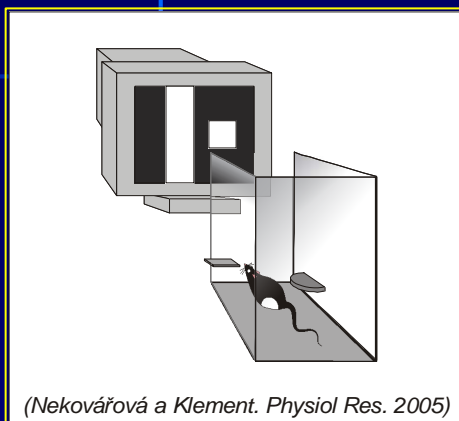


(Klement, Pastalkova, Fenton. Hippocampus. 2005)



Úlohy navržené v naší laboratoři

Konfigurace objektů na monitoru



Potkan se učí rozpoznávat konfiguraci objektů na monitoru
Operantní odpověď na základě prostorového rozpoznání ?
Configuration (geometry) vs. pattern recognition

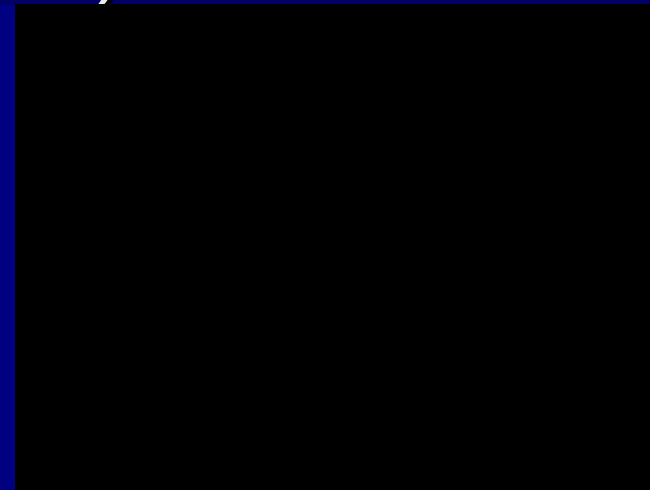
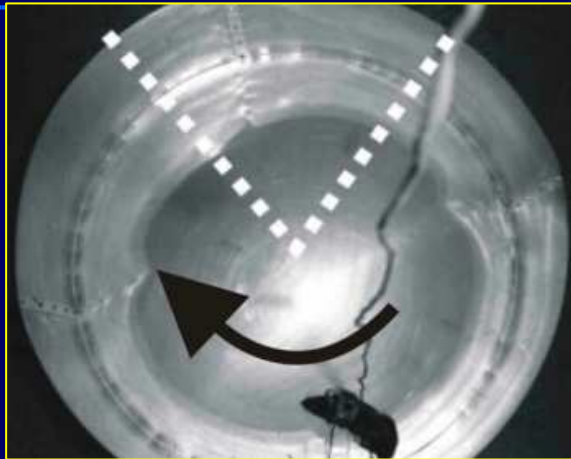
Úloha vyhýbání se místu (*place avoidance*)



Zvíře se pohybuje po aréně s uniformním povrchem a má za úkol vyhýbat se zakázané oblasti, pokud do ní vstoupí, je potrestáno mírnou elektrickou rankou

Oblast může být **definována v souřadnicovém systému místnosti (*room frame*) nebo arény (*arena frame*)**. Aréna pak může být stabilní nebo se pomalu otáčet. Tím je možné disociovat oba koordinátové systémy

Aktivní alotetické vyhýbání se místu (*active allothetic place avoidance* - AAPA)



Potkan má za úkol se vyhýbat na rotující aréně stabilnímu sektoru definovanému v souřadnicích místnosti

(Stuchlík et al., 2004)

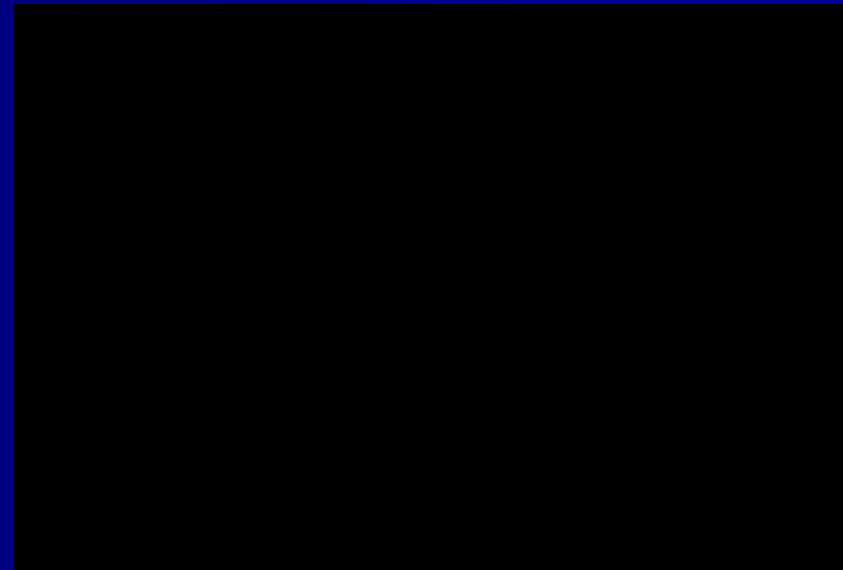
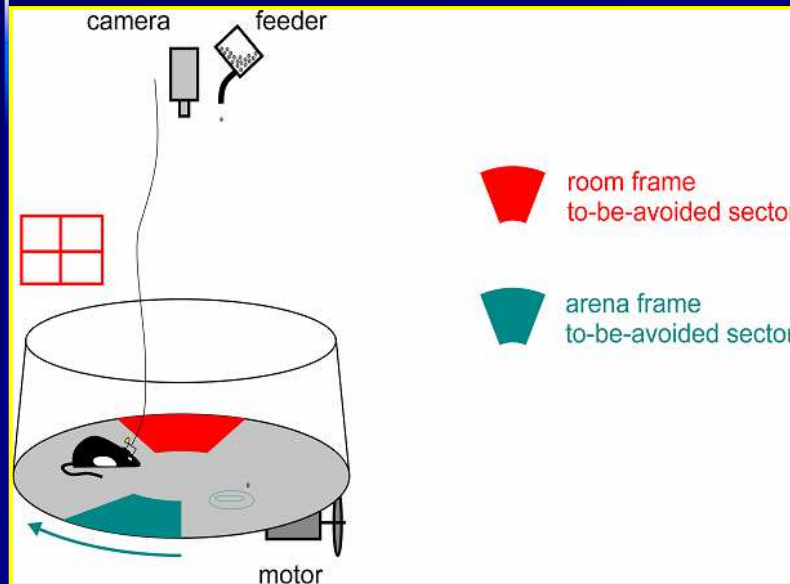
Zvířata musejí **rozlišit mezi orientačními body na aréně a v místnosti a vybrat souřadnicový rámeček místnosti jako relevantní pro navigaci**. Kromě alotetické navigace vyžaduje AAPA tzv. **kognitivní koordinaci**

(Wesierska et al., 2005)

Úloha je citlivá i k jednostranné inaktivaci hipokampu (větší nárok na integritu hipokampu)

(Cimadevilla et al., 2000)

Dvojité vyhýbání (double avoidance)

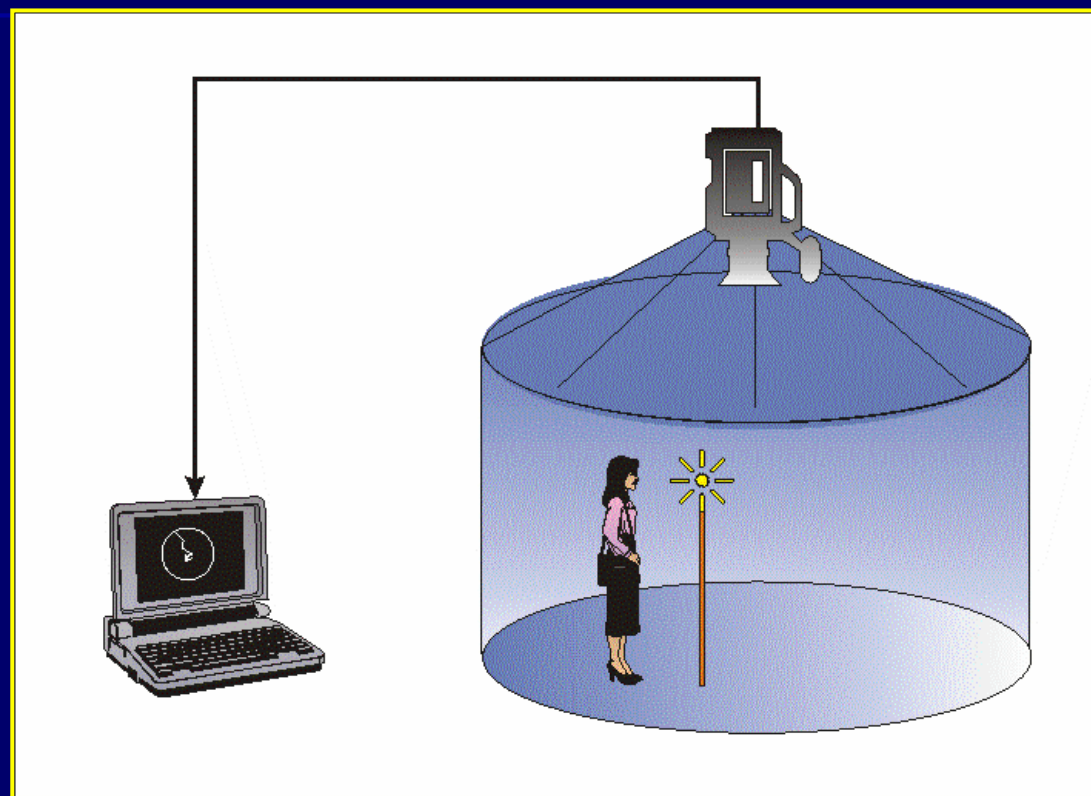


**Potkan je trénován vyhýbat se místu stabilnímu v místnosti
a zároveň místu na rotující aréně**

Klement, 2005

video laskavě zapůjčeno A.A. Fentonem,
SUNY - N.Y.

Blue Velvet Arena



Zařízení pro testování prostorové paměti i lidských subjektů, vyhýbání se místu, dvojité vyhýbání, preference místa, rotující aréna
kontakt: Mgr. Kamil Vlček, PhD. (kamil@biomed.cas.cz)