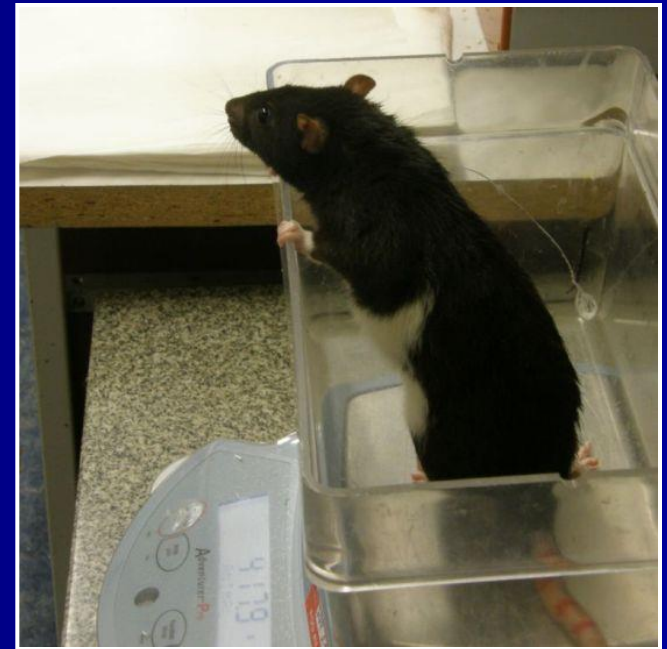


# Metodika studia chování a paměti u zvířat

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



# Metodika studia chování a paměti u zvířat

Základní charakteristika chování

Učení a paměť

Prostorová navigace a prostorová paměť

Úlohy navržené v naší laboratoři

# Základní charakteristika chování

Rotarod

Test otevřeného pole

Vyvýšené křížové bludiště

# Rotarod

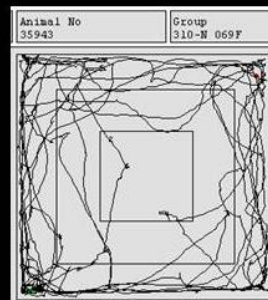
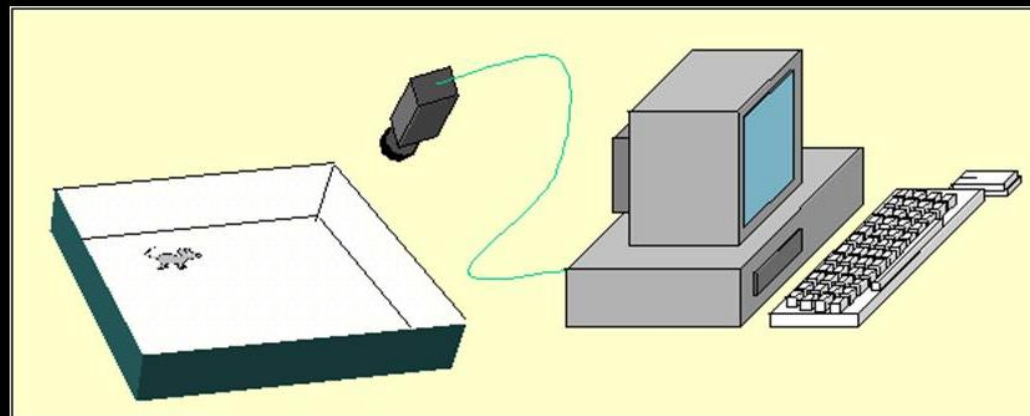
Testuje rovnováhu, sílu, výdrž, motorickou koordinaci.



# Test otevřeného pole

Testuje spontánní lokomoci, úzkost.

## Open Field Test



# Test otevřeného pole

- Test otevřeného pole je obecně přijímané paradigma pro měření explorace (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 exploraci, orientační reakce (čichání, panáčkování apod.) a někdy anxiózní chování
- Procedura je velmi jednoduchá, zvíře se umístí do arény, a posléze se monitoruje jeho chování, nejčastěji pomocí videokamery napojené na automatizovaný počítačový systém

# 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



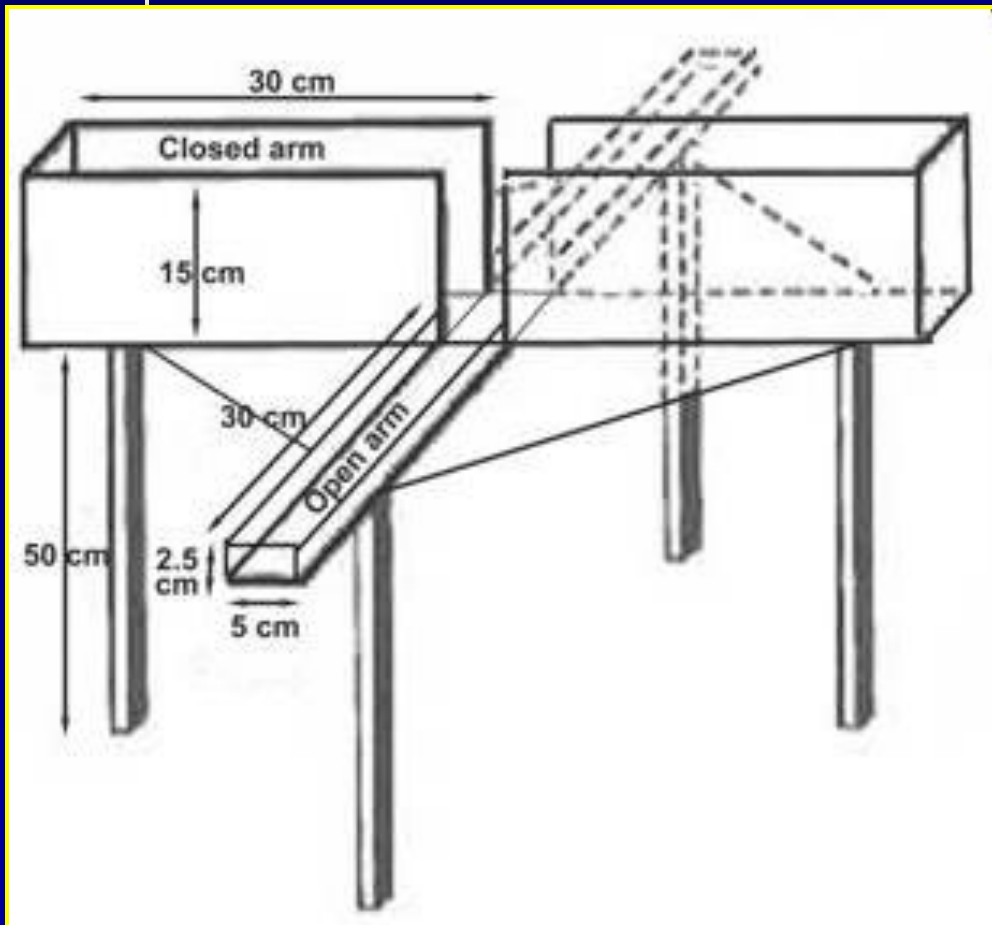
# Test otevřeného pole

- Pokud je zvíře umísťováno do otevřeného pole opakovaně, lze testovat *habituaaci* 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.



# Vyvýšené křížové bludiště (Elevated Plus Maze - EPM)

Testuje úzkost.



# Parametry měřené ve vyvýšeném křížovém bludišti

- 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

# Učení a paměť

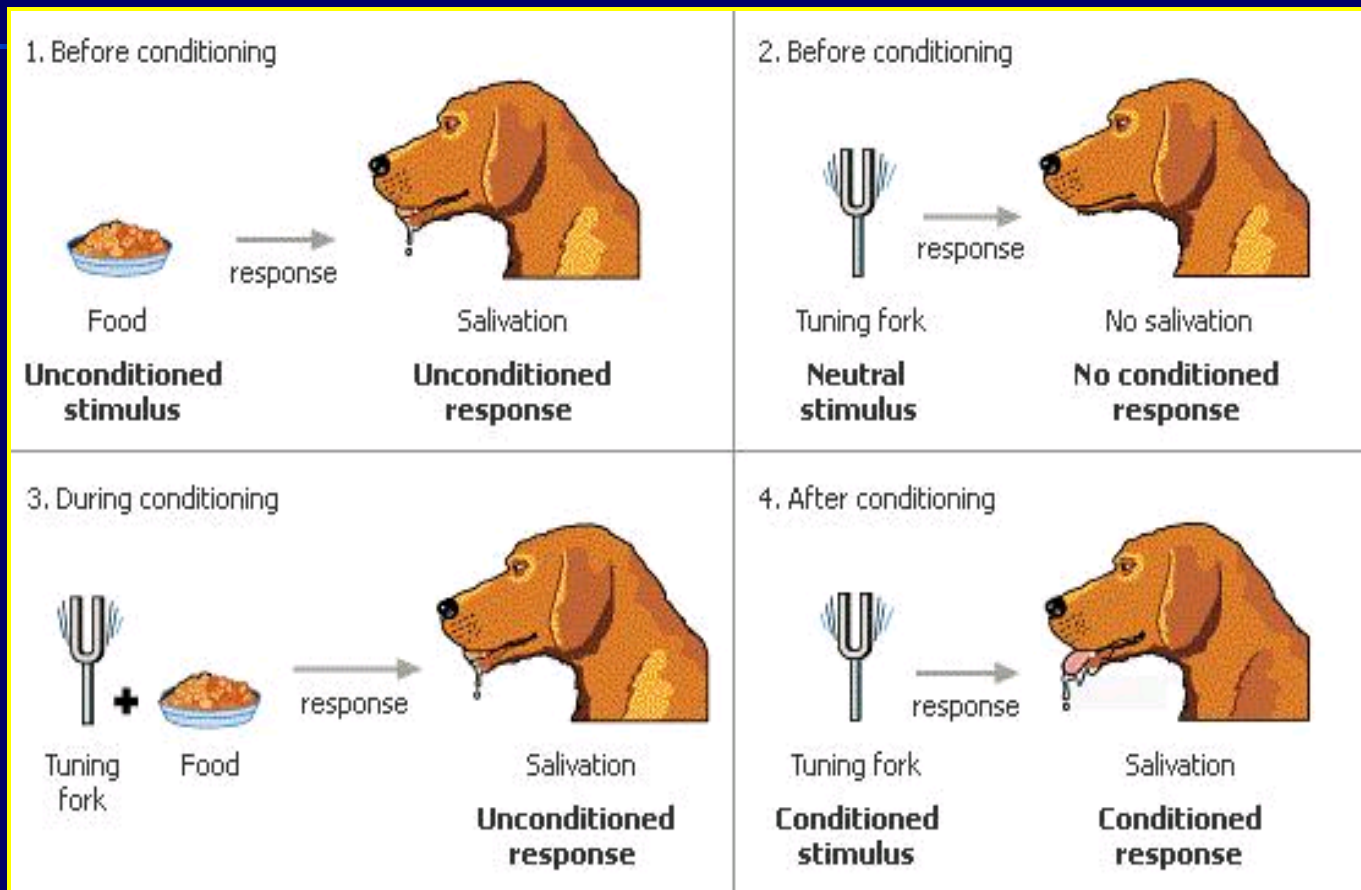
Klasické podmiňování

Strachové podmiňování

Aktivní a pasivní vyhýbání

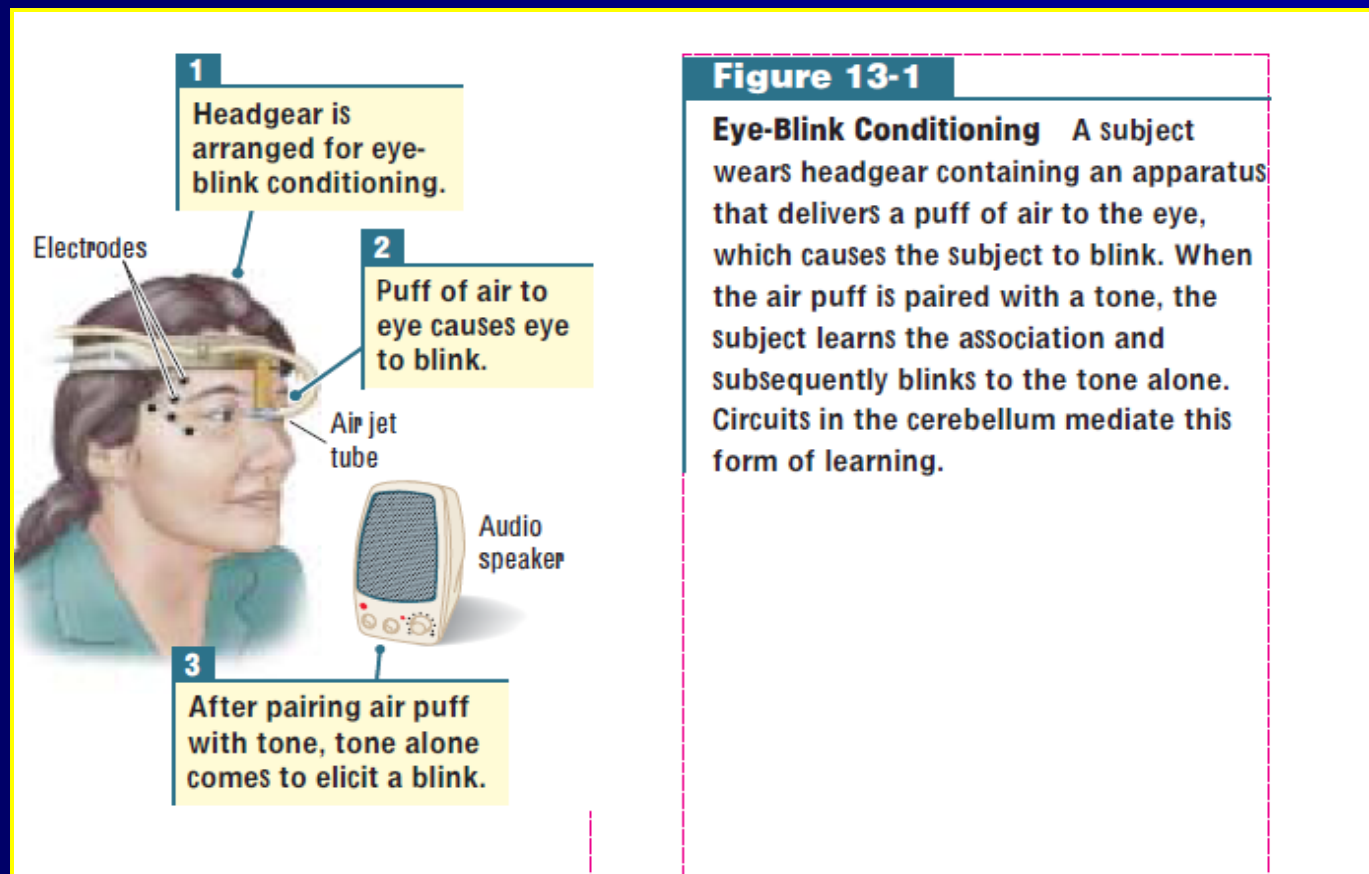
Operantní podmiňování

# Klasické podmiňování



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

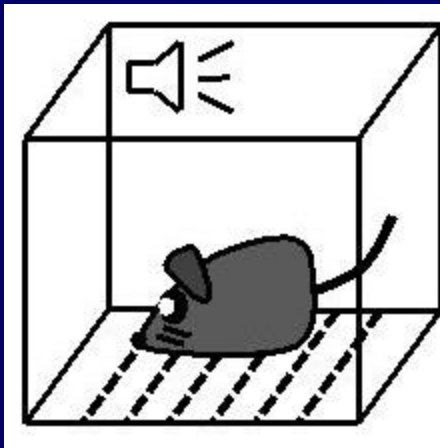


**Figure 13-1**

**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.

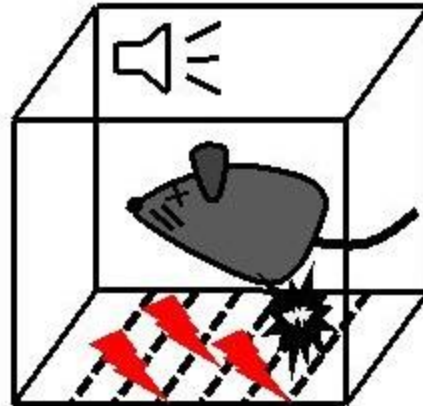
# Strachové podmiňování

pre-tréning



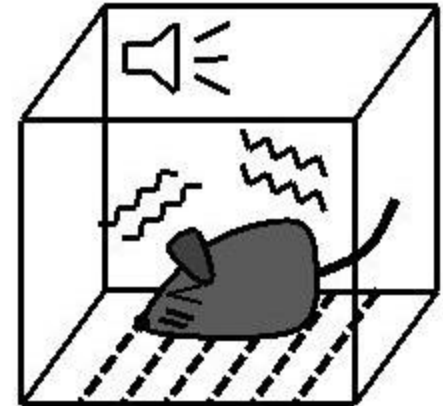
podmíněný stimul

tréning



podmíněný a nepodmíněný  
stimul

test



podmíněný stimul

**reakce strachu**

# Kontextové strachové podmiňování

## TRAINING



- Animal is placed in novel context
- Hears a tone
- Receives foot shock

## CONTEXTUAL TEST



- Animal is returned to same context
- Test for freezing behavior

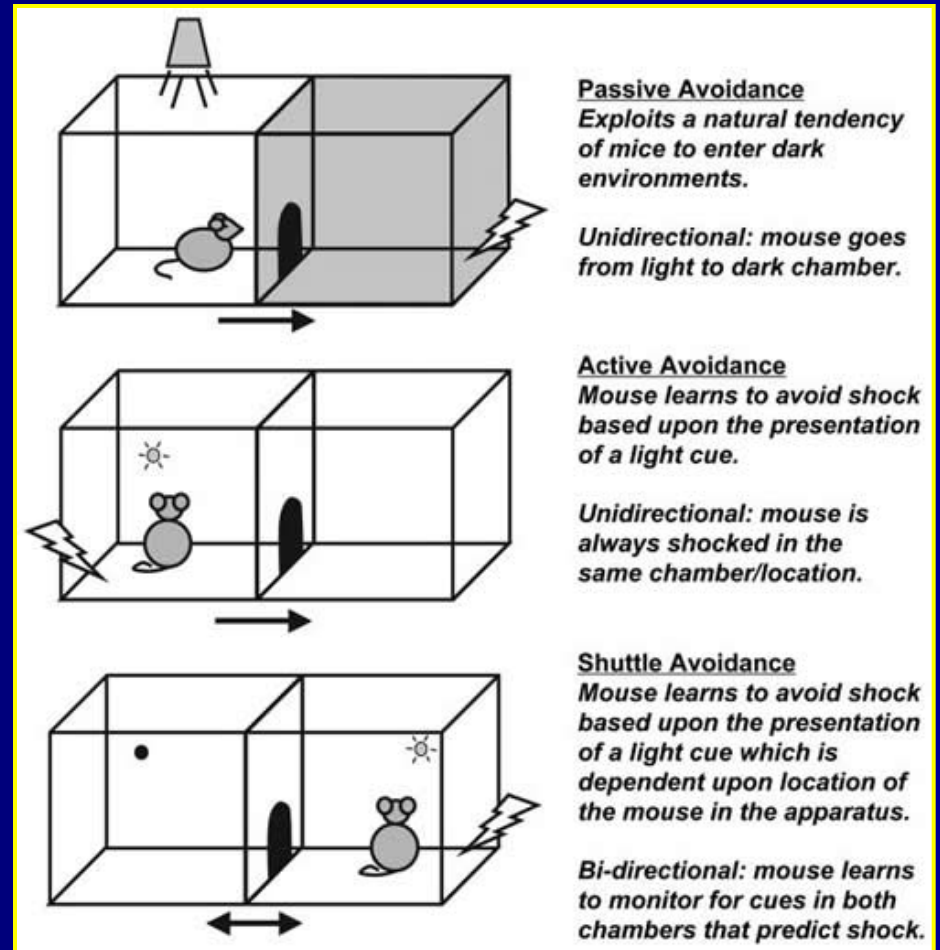
## CUED TEST



- Animal is placed in modified context
- Hears a tone
- Test for freezing behavior

# 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.

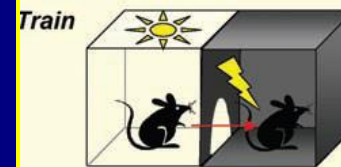
*Bi-directional: mouse learns to monitor for cues in both chambers that predict shock.*



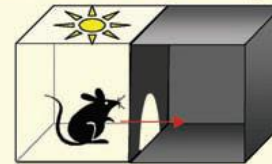
# Aktivní a pasivní vyhýbání

## Passive Avoidance

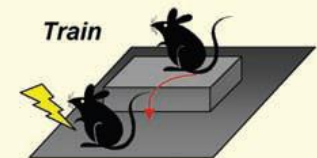
### Step-Through Passive Avoidance



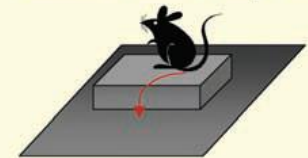
*Test:*  
measure time to step through



### Step-Down Passive Avoidance



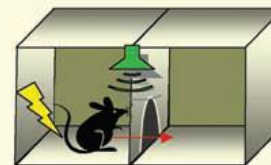
*Test:*  
measure time to step down



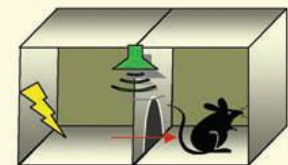
## Active Avoidance

### Shuttle Box Active Avoidance

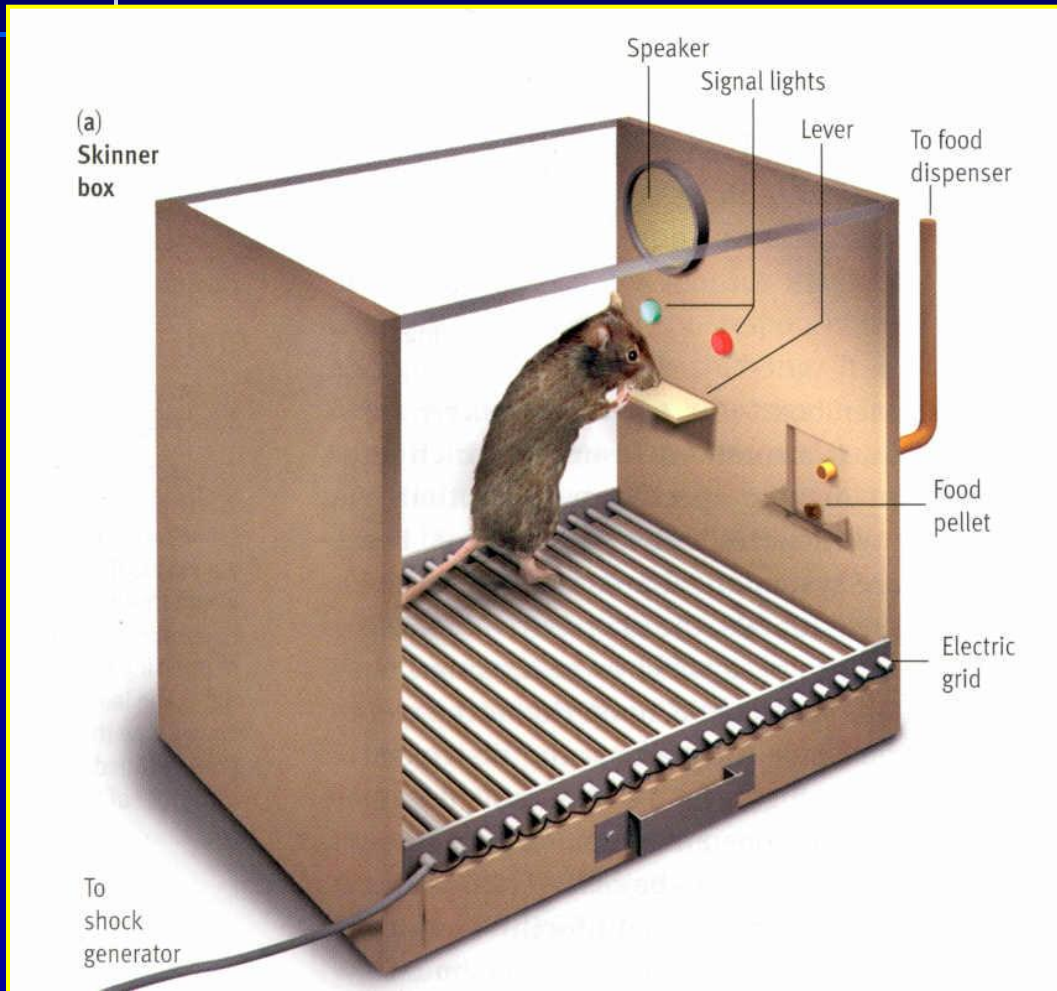
*Train*



*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

# Prostorová navigace a prostorová paměť

Radiální bludiště

Morrisovo vodní bludiště

Úloha rozpoznávání objektu, úloha rozpoznávání místa

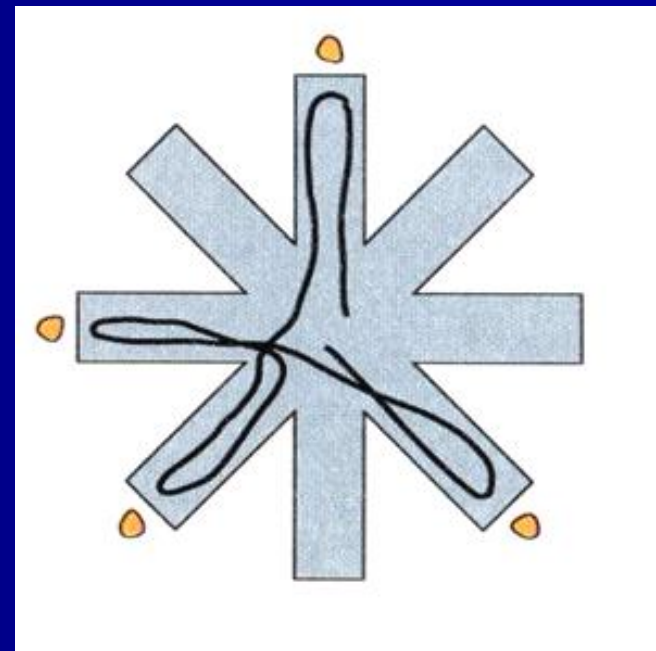
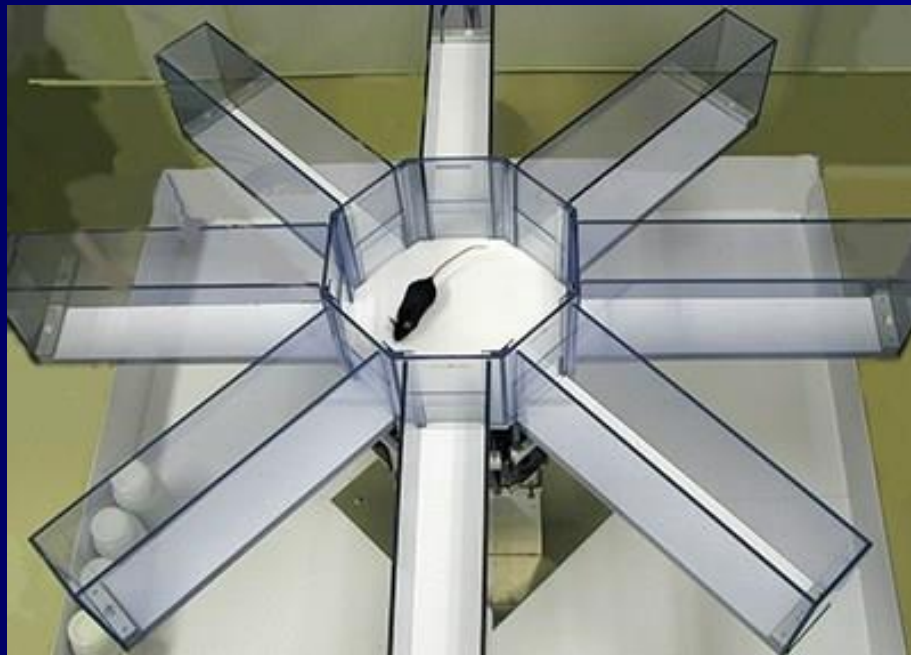
# Radiální bludiště

Testuje prostorovou paměť.



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

# Radiální bludiště



Úloha testuje pracovní paměť a referenční paměť

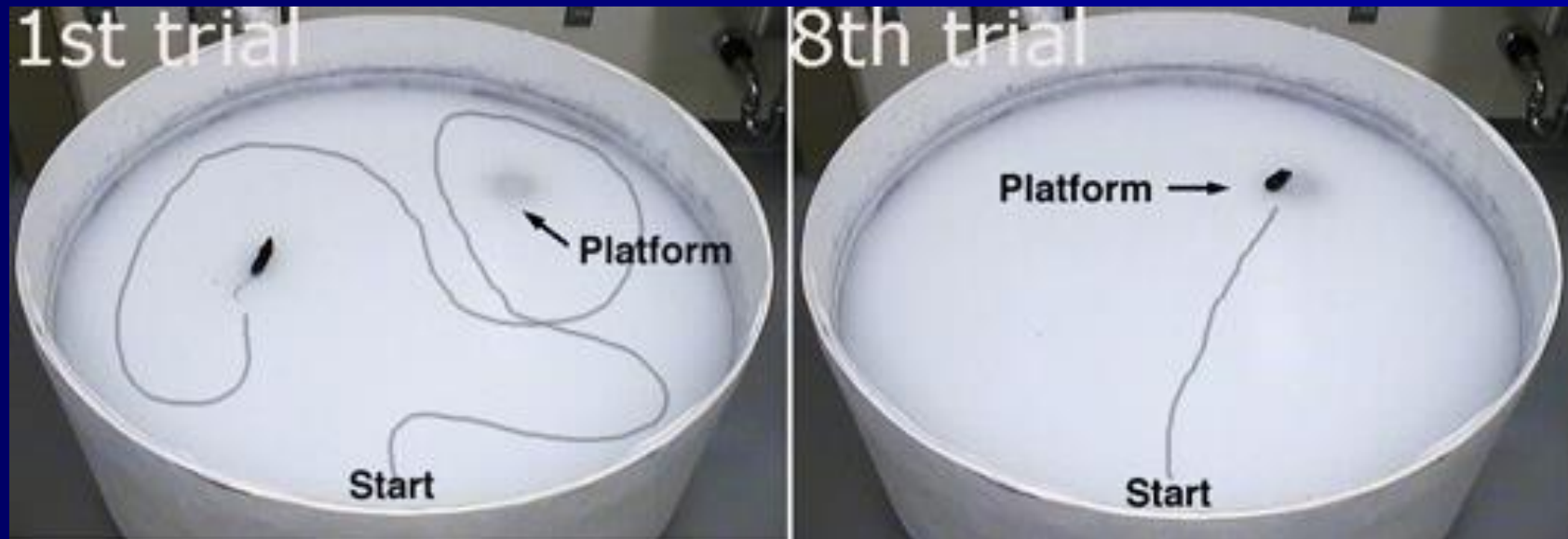
Úloha je závislá na hipokampu – v případě, že poloha ramen je určována jejich prostorovými vztahy k okolním orientačním bodům

# 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)

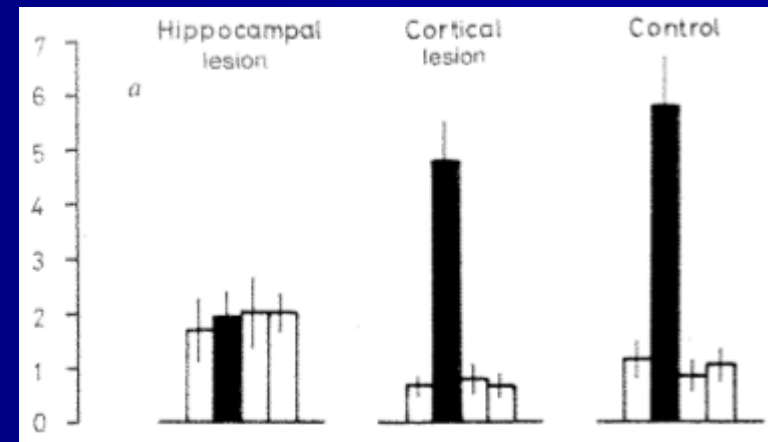
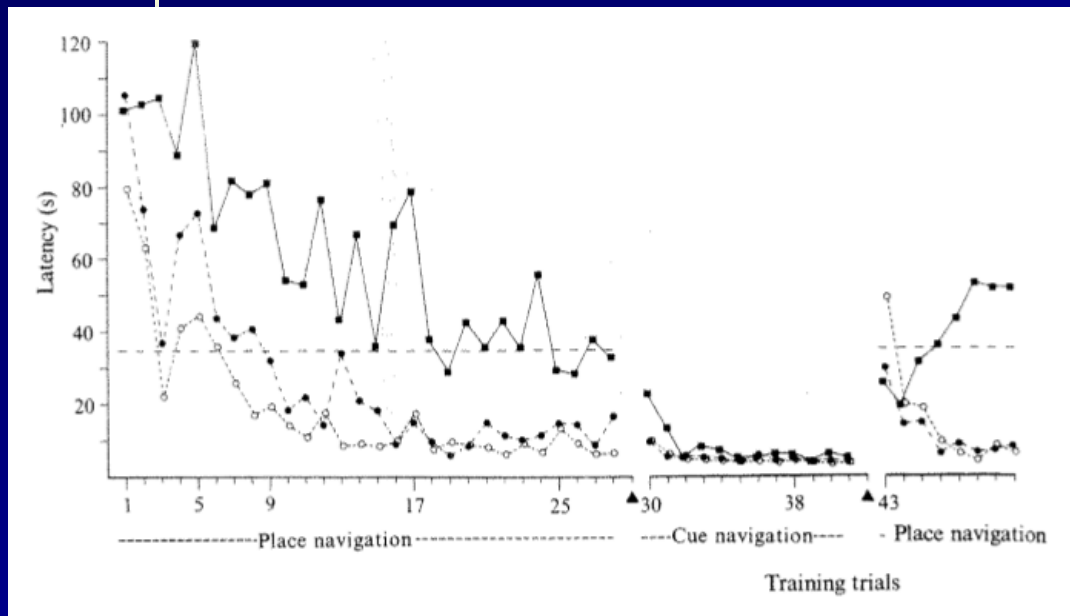
# Morrisovo vodní bludiště

Testuje prostorovou paměť.



Úkolem zvířat je naučit se polohu ostrůvku skrytého pod hladinou bazénku.

# Morrisovo vodní bludiště

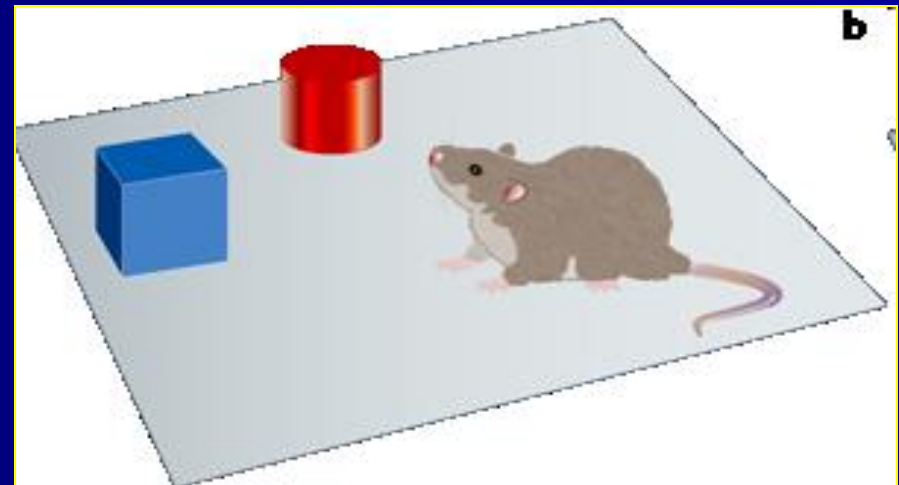
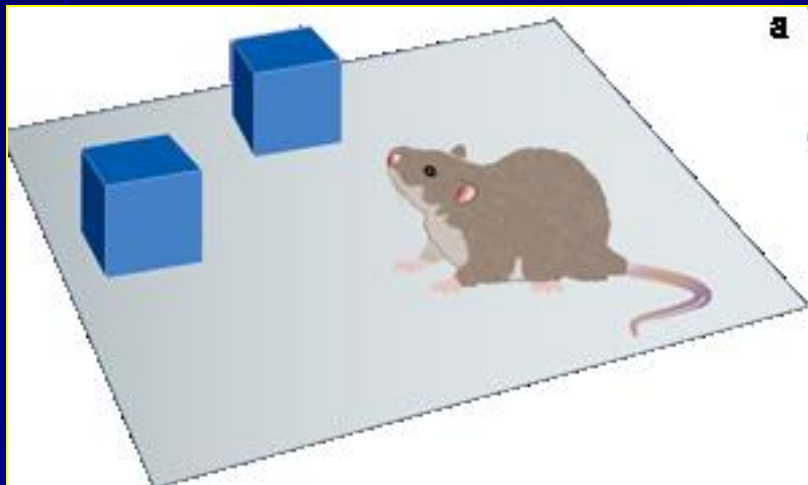


Hipokampální léze způsobují výrazné zhršení prostorové navigace ve vodním bludišti.

Deficit prostorové navigace lze oddělit od motorických a motivačních aspektů procedury.



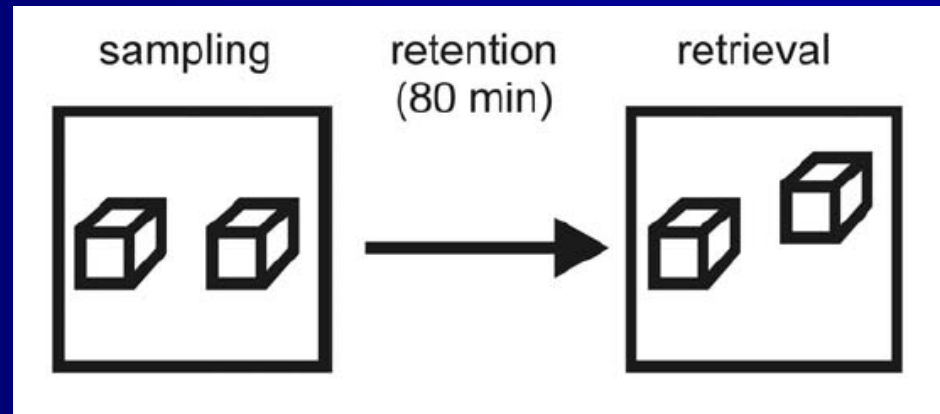
# Úloha rozpoznávání objektu – object recognition task



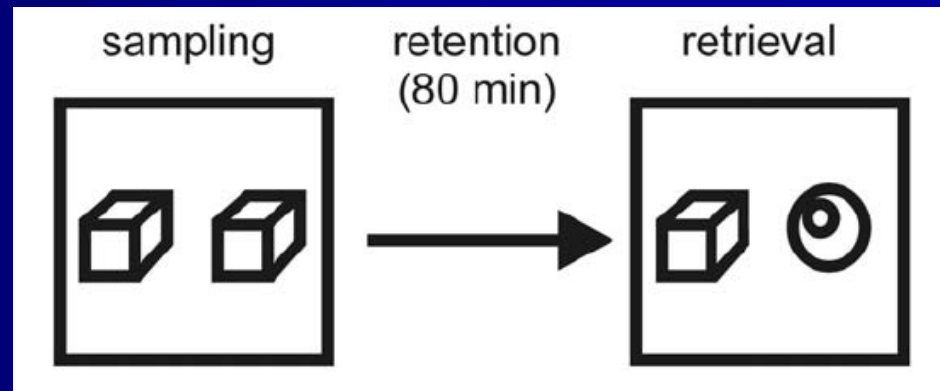
- Měřenou veličinou je doba prozkoumávání objektu, doba, kdy je zvíře v kontaktu s tímto objektem
- Zvíře objekt očichává, kontaktuje, prozkoumává

# Úloha rozpoznávání místa, úloha rozpoznávání objektu

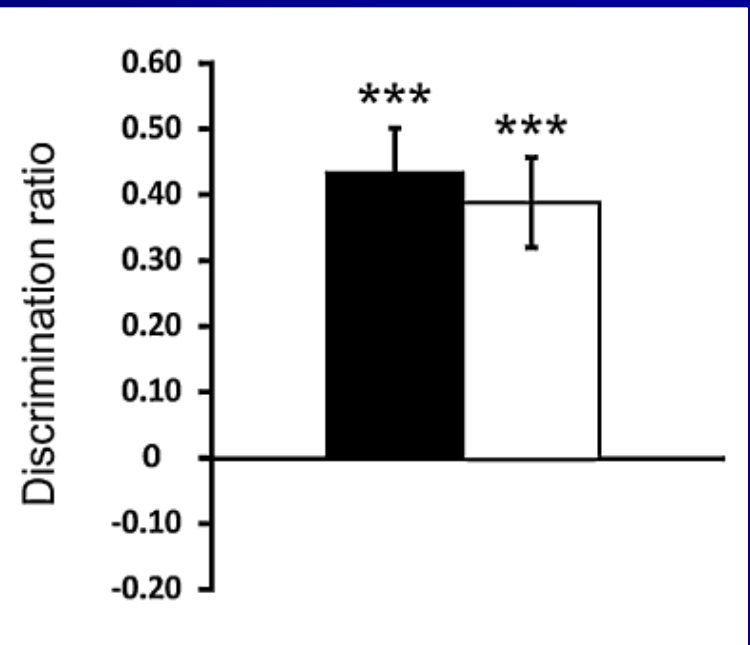
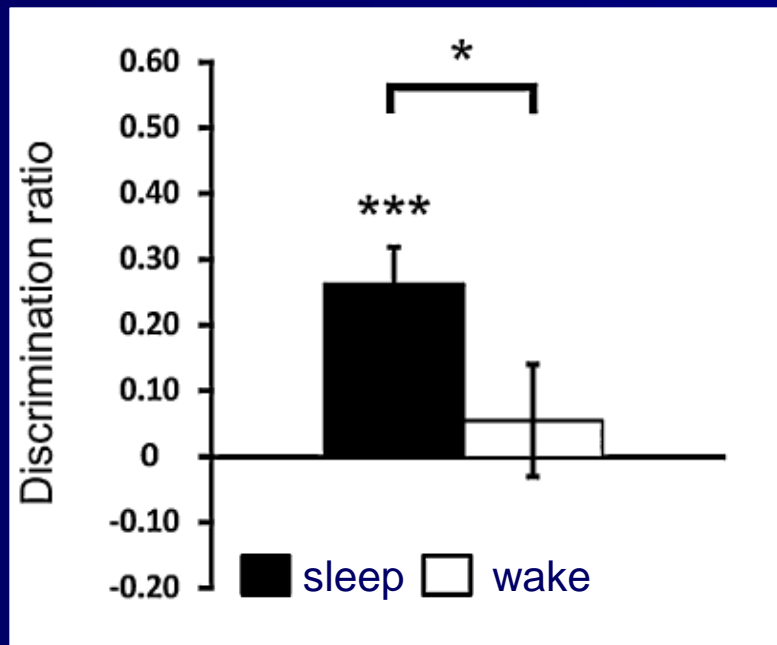
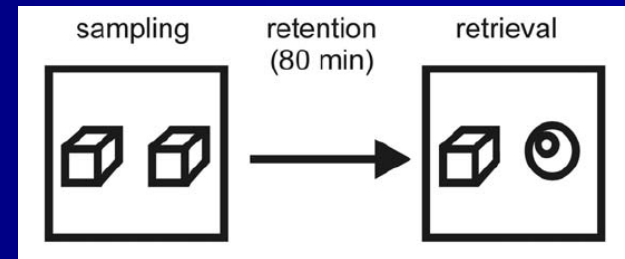
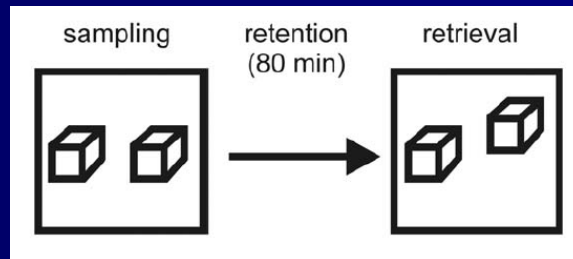
## Test rozpoznávání místa



## Test rozpoznávání objektu



# Test rozpoznávání místa, test rozpoznávání objektu



# Úlohy navržené v naší laboratoři

Úloha vyhýbání se místu

Úlohy rozpoznávání místa

Úloha vyhýbání se pohyblivému predátorovi

# Úloha vyhýbání se místu (*place avoidance*)

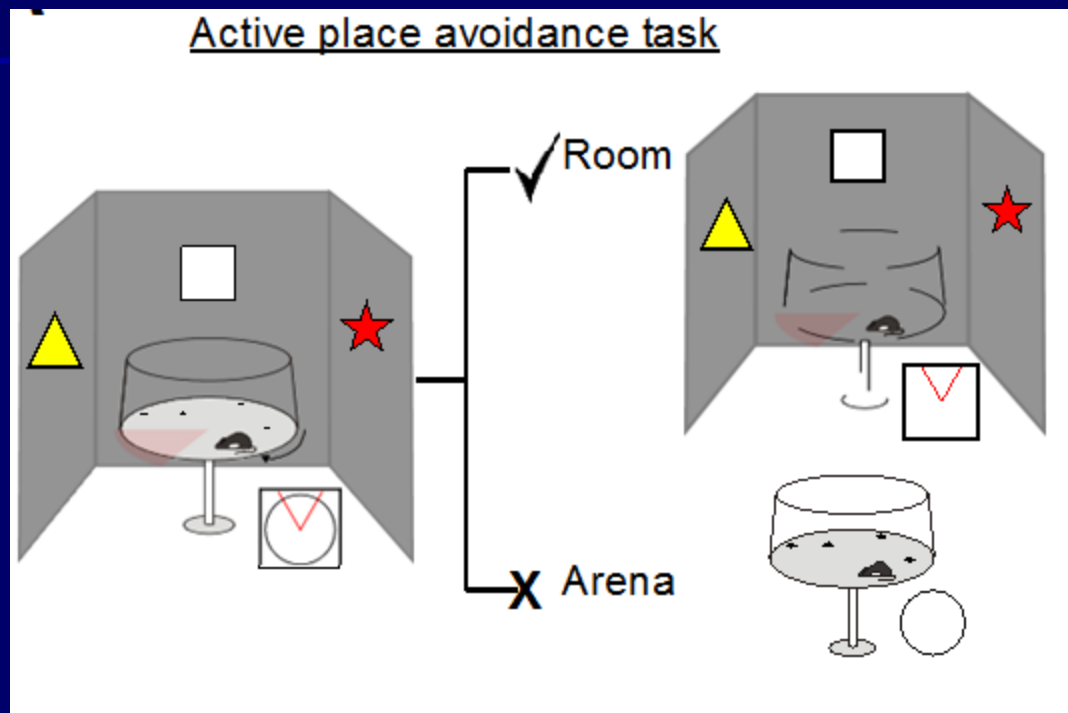
Testuje kognitivní koordinaci.



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*)



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 rámec 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)

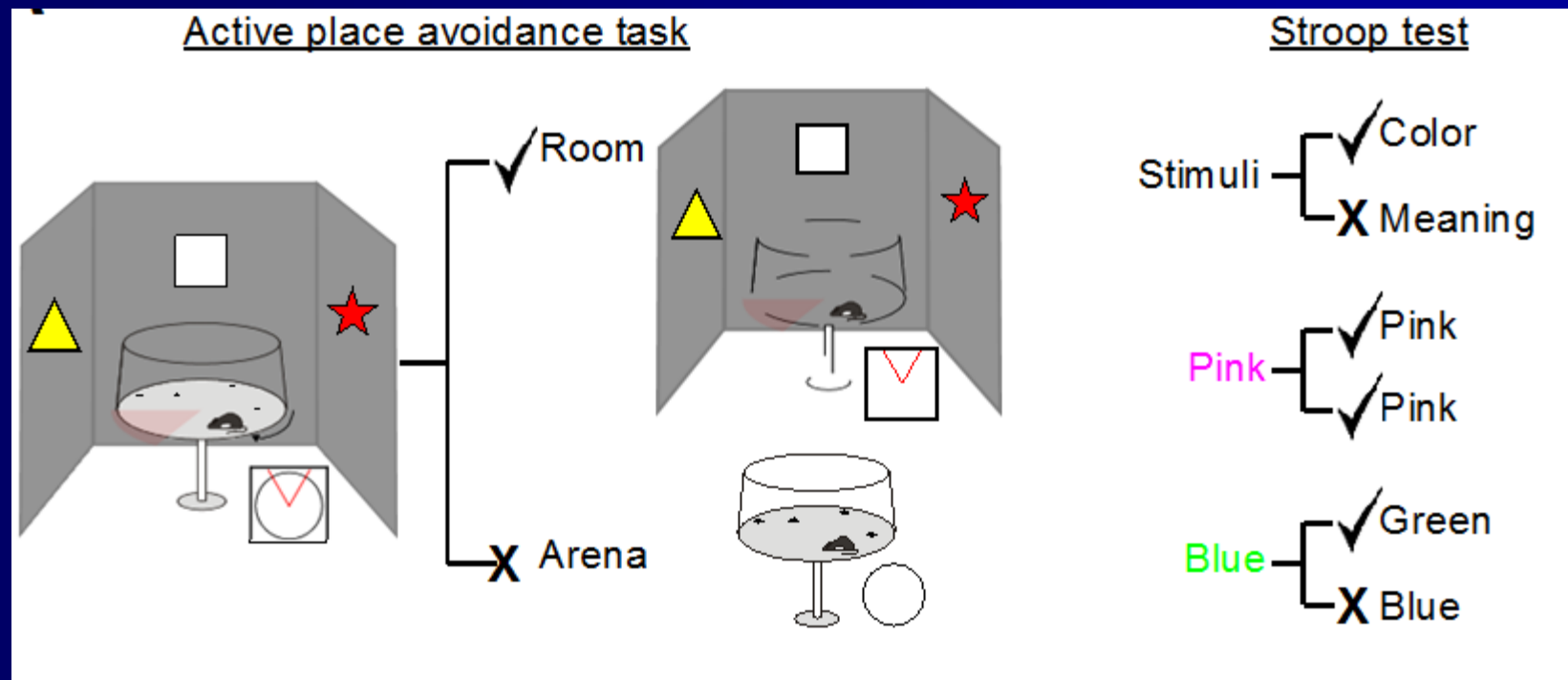
(*Cimadevilla et al., 2000*)

# Stroopiv test

red	blue
green	red
yellow	blue
red	yellow
green	red
blue	blue
yellow	green
red	red
green	yellow

red	blue
green	red
yellow	blue
red	yellow
green	red
blue	blue
green	yellow
red	red
green	yellow

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

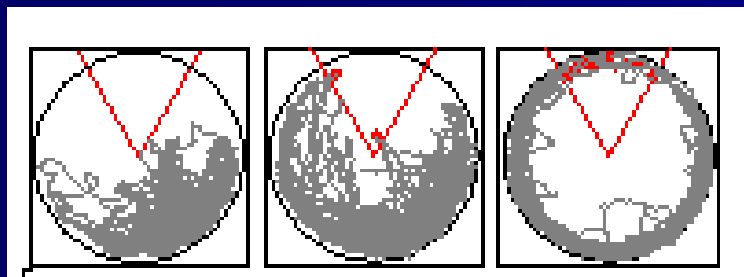




# Aktivní alotetické vyhýbání se místu *model psychózy*

video

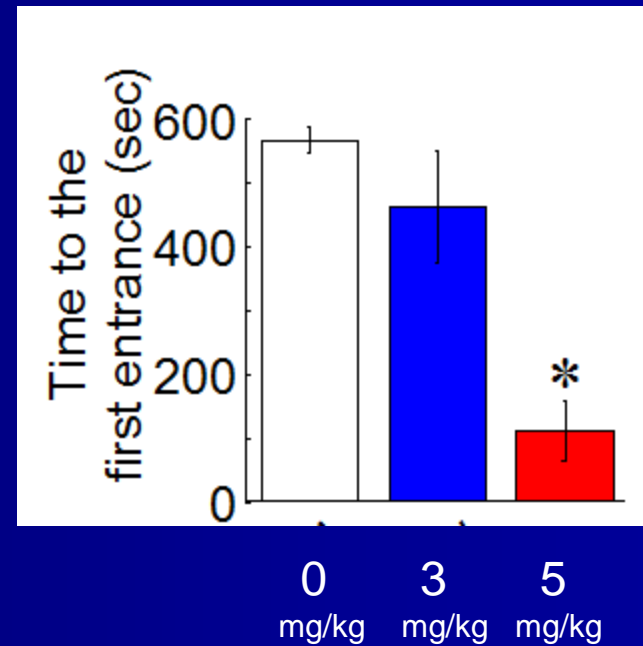
# Aktivní alotetické vyhýbání se místu *model psychózy*



0 mg/kg

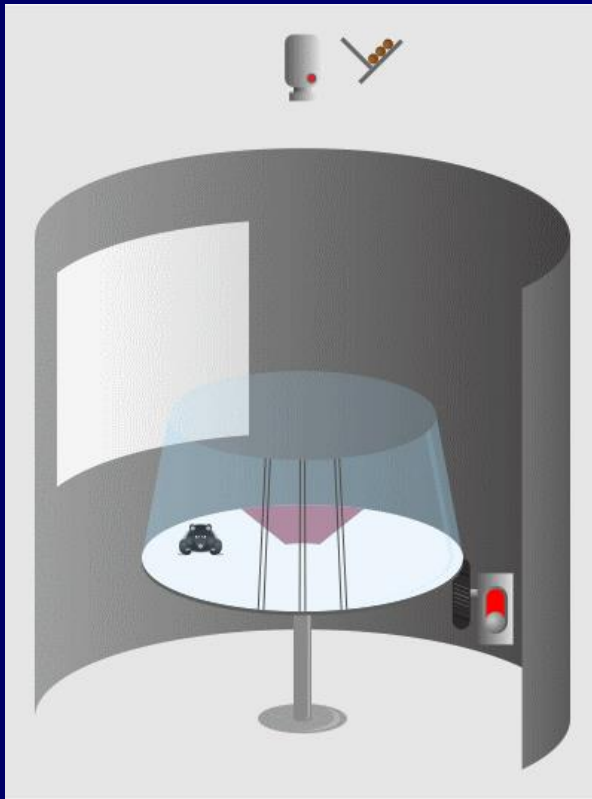
3 mg/kg  
PCP

5 mg/kg  
PCP



# Dvojité vyhýbání (double avoidance)

Testuje kognitivní koordinaci – multitasking.



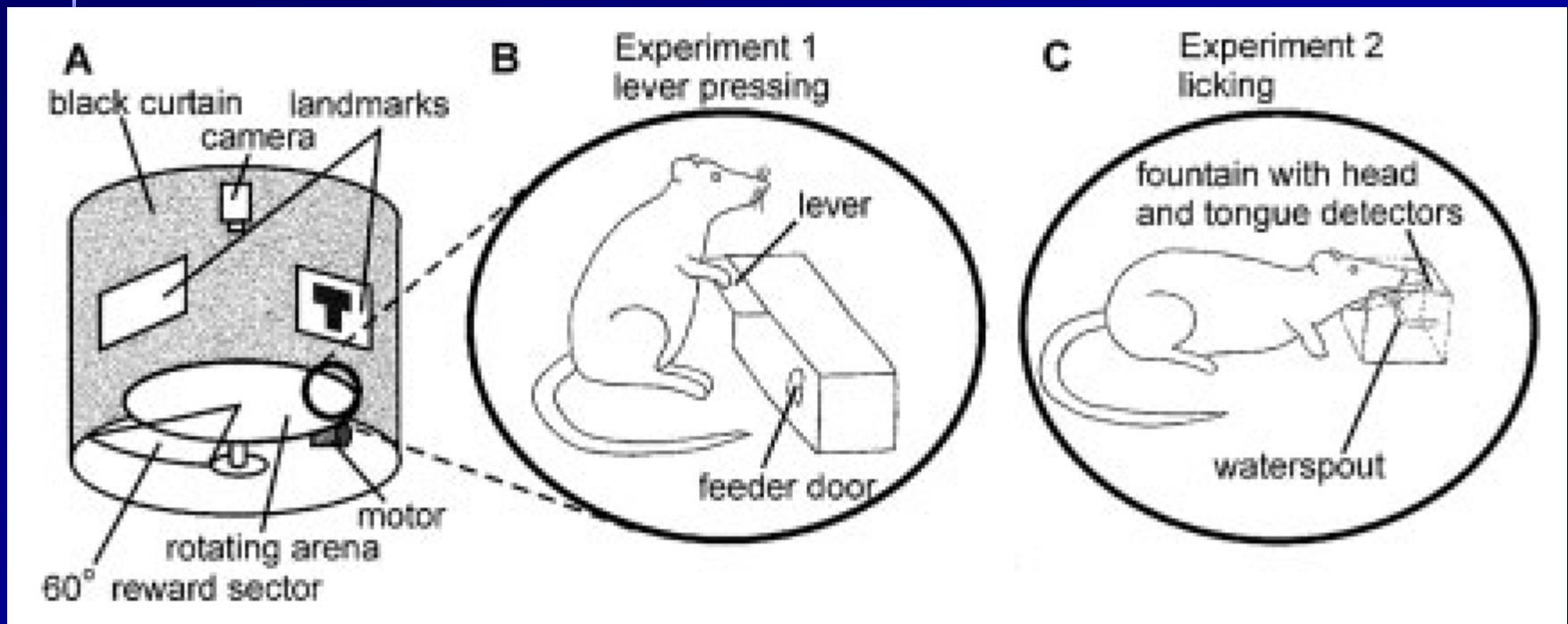
**Potkan je trénován vyhýbat se místu stabilnímu v místnosti a zároveň místu na rotující aréně**

# Dvojité vyhýbání (double avoidance)

video

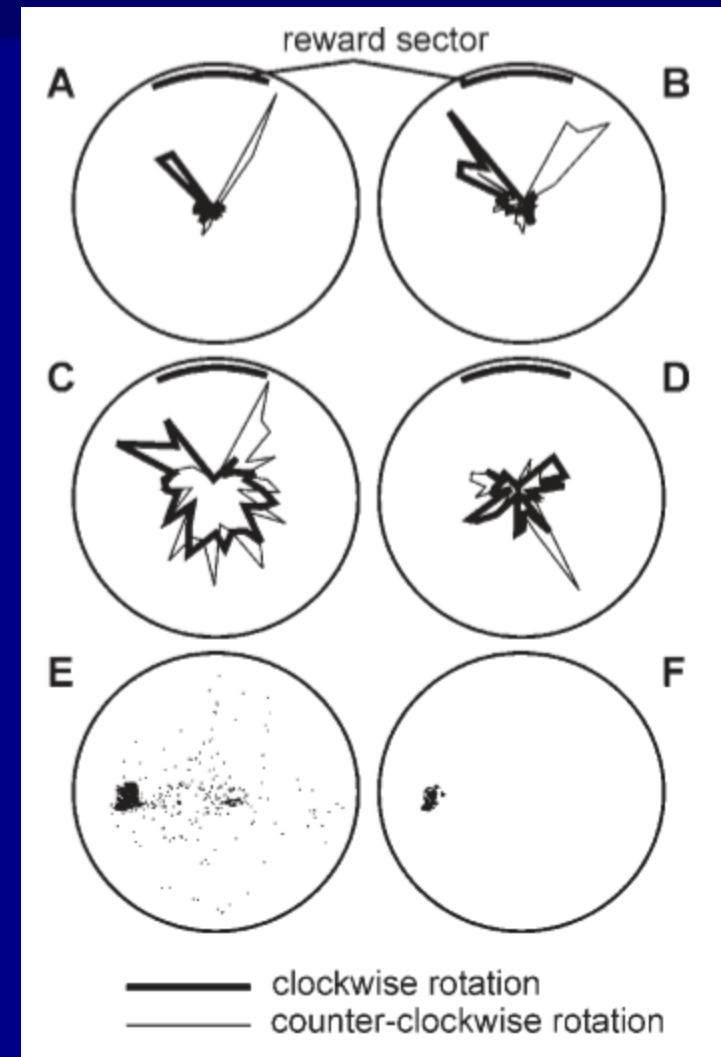
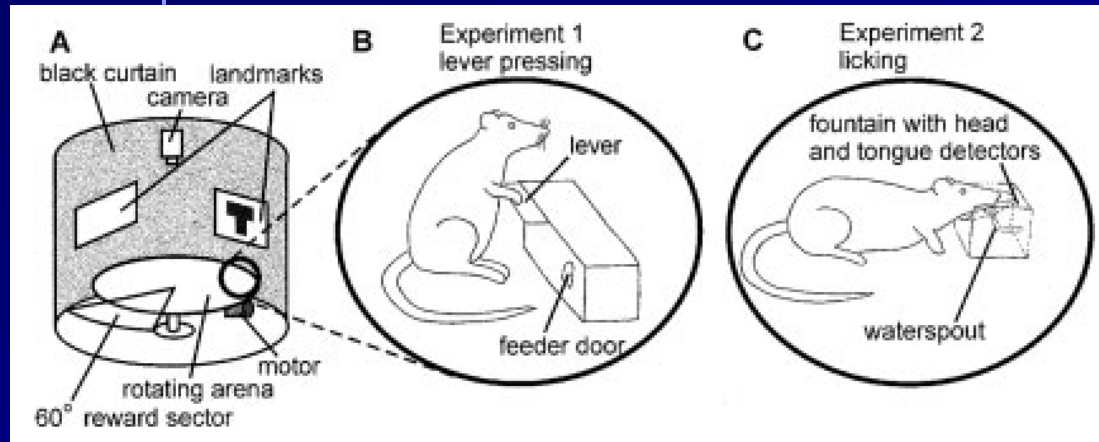
**Potkan je trénován vyhýbat se místu stabilnímu v místnosti  
a zároveň místu na rotující aréně**

# Úloha rozpoznávání místa u pasivně se pohybujícího potkana



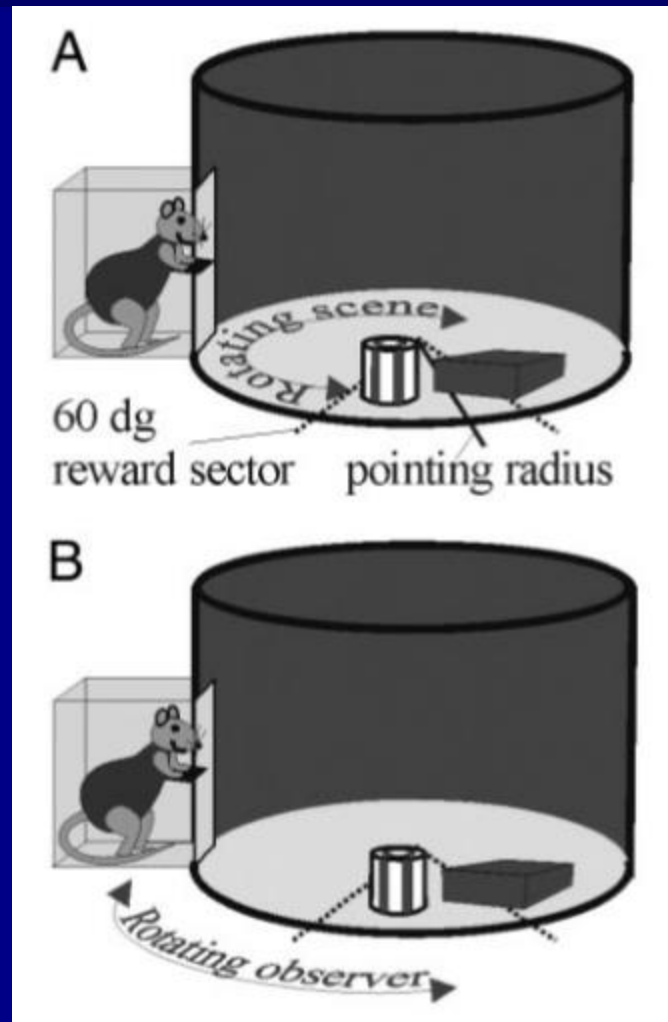
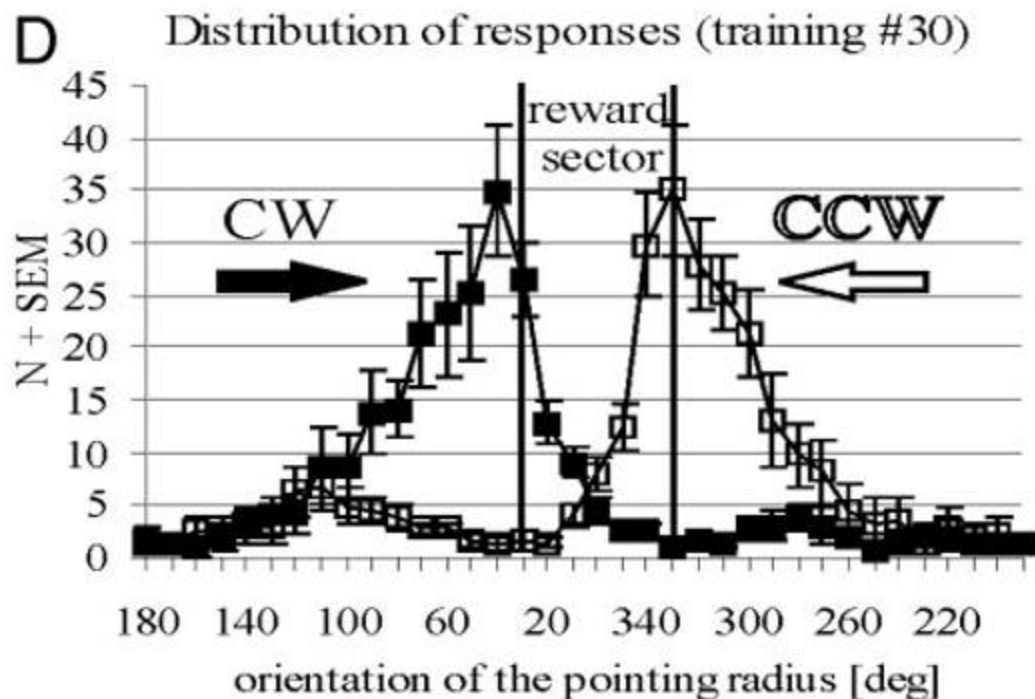
Potkan je trénován aby označil, kdy projíždí odměňovanou oblastí.

# Úloha rozpoznávání místa u pasivně se pohybujícího potkana



# Úloha rozpoznávání polohy rotující scény

Potkan pozoruje scénu, která před ním rotuje a je trénován aby označil, kdy je rotující scéna v odměňované pozici.



# Úloha vyhýbání se pohyblivému predátorovi

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





Děkuji