

Neurobiologie učení a paměti

kurz z cyklu

Pokroky v Neurovědách

Aleš Stuchlík & Štěpán Kubík

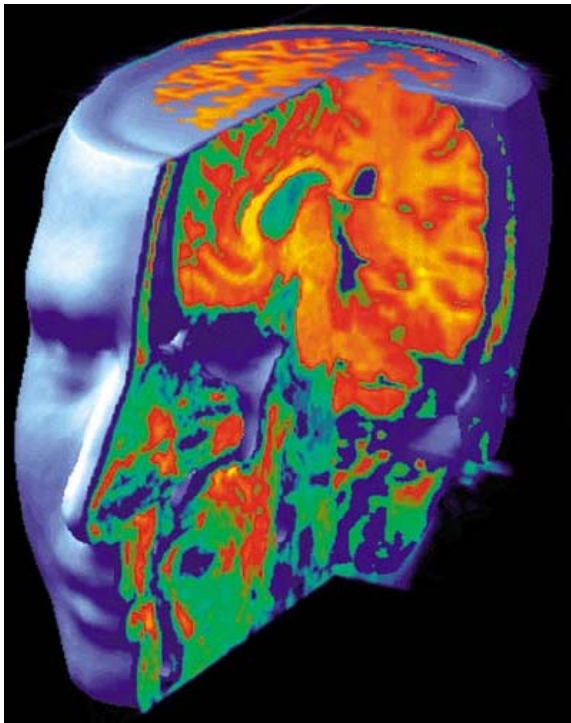
Učení a paměť - obecné koncepty, dělení paměti, mechanismy, terminologie
(A. Stuchlík)

Paměť, učení a orientace - experimentální přístupy
(A. Stuchlík)

Novinky z oblasti výzkumu chování (Š. Kubík)



Učení a paměť – obecné koncepty, mechanismy, terminologie



Existuje řada paměťových systémů (typů paměti) a paměťových procesů (mechanismů tvorby paměti)

Základní molekulární mechanismy změn synaptické plasticity, které jsou podkladem učení a paměti, jsou víceméně univerzální



Historie výzkumu chování

Chování vždy představovalo pro badatele výzvu

- Na počátku minulého století dominoval behaviorismus, který tvrdil, že veškeré (i lidské) chování se dá vysvětlit pomocí SR řetězce – stimulus-response – učení typu „podnět-odpověď“
- Edward Thorndike - „law of effect“ – to co je následováno příjemným prožitkem se bude v chování častěji opakovat; to co je následováno trestem, se bude opakovat méně.
- John B. Watson (1878 - 1958) – behaviorismus (Stimulus-Response koncept) - „...smysl má pouze studovat odpovědi organismů na fyzikální podněty...“ Veškeré chování lze vysvětlit pomocí řetězců SR – reakcí ???
- Burrhus Frederic Skinner (1904 - 1990)
 - Skinnerův box – velký průlom - (koncept operantní odpovědi) ...ta ve spojení s odměnou je podle Skinnera hlavní složkou řídicí chování
- Edward Chace Tolman (1886 - 1959) - metodologický behaviorismus, někdy neobehaviorismus – studium chování je jediná cesta, ale
 - odpověď organismu na stimul může být modifikována zkušeností (koncept Stimulus-Organism-Response)...
 - Tolman byl první, kdo navrhnul koncept kognitivních map



Definice paměti

- **Definice paměti**
 - Paměť je schopnost organismů ukládat, uchovávat a vybavovat informace (*existují mnohotné paměťové systémy a typy paměti*).
 - Učení je proces ukládání informací do paměti. (*opět existuje řada typů učení*)
 - Paměť budeme rozebírat jen u živých organismů, konkr. živočichů...*nikoliv počítačová či imunologická paměť*
- Z hlediska informačního zpracování lze v zásadě rozlišit 3 fáze paměti
 - **Učení** (*learning, encoding, acquisition*)
 - Získání zpracování a syntéza informace
 - **Uchování** (tvorba trvalého záznamu ukládané informace – engram)
 - **Vybavení** (*retrieval, recall or recollection*) vyvolání uložené informace a její použití, verbalizace nebo změna chování (u zvířat)



Učení

- Proces, který zahrnuje percepci informací z prostředí a její uložení do paměti
 - Může zahrnovat rovněž **osvojení určité formy chování**
 - Různé podtypy učení (**neasociativní, asociativní, operantní**) – *rozebereme později*
 - V zásadě jakýkoliv typ informace vnímaný subjektem může být ukládán do paměti (*různé smyslové modality, čichová, vizuální, akustická paměť...*)
 - Tento proces může rovněž zahrnovat kombinaci informací z více sensorických modalit – smyslů, tzv. multimodální typy paměti typickým příkladem je prostorová paměť *...viz později*
 - Experimentálně lze v úlohách u zvířat kontrolovat typy informace dostupné pro zvíře, např. „vypnutí“ vizuální složky prováděním pokusu ve tmě



Uchovávání informací v paměti (*memory storage*)

- Představuje mechanismus, jímž jsou informace v uskladňovány a to v různých typech paměti (*multiple memory systems*)
- Mechanismus uskladnění paměťové stopy souvisí se synaptickou plasticitou v nervové tkáni.
- Paměť nebo vzpomínka nemusí pouze staticky „sedět“ v mozku, ale může být transformována, zobecňována, zeslabována apod .
- Lze sem zahrnout i fenomén konsolidace a rekonsolidace

Vybavení informace z paměti

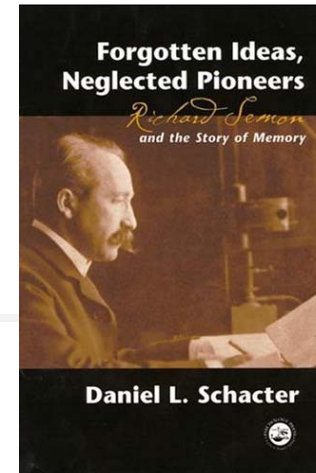
Vybavení (*retrieval, recall*) je znovuoživení paměti, dochází při něm často k nějakému typu chování nebo k jeho změně, nebo jeho změně, to je to, co můžeme měřit u zvířat.

Minimálně u člověka však nemusí být patrná tato změna v chování, lze je zpravidla verbalizovat.

Podnětem k vybavení informace z paměti? Může to být určitý smyslový podnět, kontext ve kterém se subjekt ocitne, motivace (hlad).

Podnět však nemusí být patrný, zvláště u lidí, spontánní vybavení vzpomínky.

Paměťová stopa – engram (*memory trace*)



- Termín navržen Richardem Semonem (1921)
 - *Semon, R. (1921). The Mneme. London: George Allen & Unwin.*

Značí vzpomínku, „kousek“ informace v paměti

- Alt. hypotetické „místo“, kde je uložena konkrétní vzpomínka, nicméně, současné i nedávné nálezy naznačují, že řada typů paměti je v mozku prostorově distribuována (*distributed encoding and storage*), že není lokalizována v jediné konkrétní struktuře.
- U zvířat je často jedinou manifestací existence paměťové stopy změna chování.
- Její podstata coby kousku informace v paměti spočívá ve změně synaptické plasticity mezi neurony
- Synaptická plasticita = specifická změna v účinnosti přenosu informace -> ta vede ke změně signalizace v neuronálních okruzích a následně ke změně chování celého zvířete



Klasifikace učení a paměti

„A now widely held view in neuroscience is that there are multiple ‘types’ of memory and these differ with respect to their psychological characteristics, the anatomical circuits involved and the underlying neural mechanisms of encoding, storage, consolidation and retrieval.“

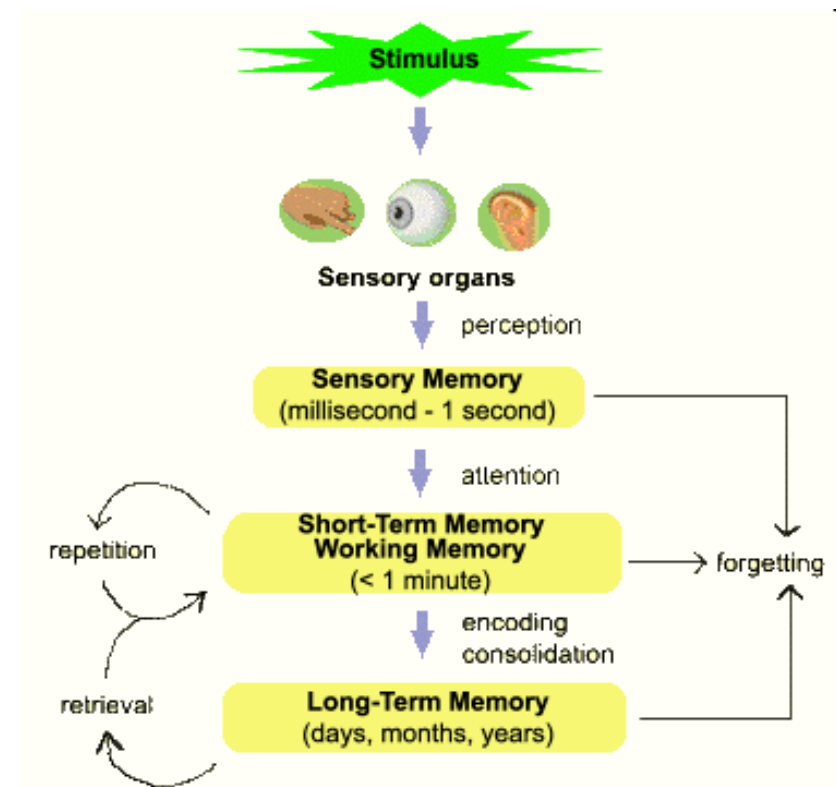
R.G.M. Morris, 2004

Paměť lze dělit podle řady kritérií...

- **Podle doby trvání**
 - **Percepční (senzorická)**
 - **Krátkodobá**
 - **Dlouhodobá (referenční)**
 - **Existují i alternativní dělení - nejasnost ohledně pracovní paměti**
- **Podle typu informace**
 - **Deklarativní (explicitní) – lze deklarovat, např. verbálně – sémantická vs. epizodická**
 - **Nedeklarativní (implicitní) – neasociativní učení, asociativní, priming, motorické dovednosti**

Dělení paměti podle doby trvání

- Krátkodobá (*short-term memory*) - v řádu sekund až minut
 - Někdo udává i střednědobou - minuty až desítky minut, ale to je otázka
- Dlouhodobá (*long-term memory*) - v řádu hodin, až let, může být i celoživotní
- Vybrané informace z krátkodobé jsou uloženy do dlouhodobé, záleží na jejich signifikanci (např. emoční)
- Převod vzpomínek do dlouhodobé paměti - **konsolidace** (stopa může být i různě transformována, či generalizována)



Krátkodobá a pracovní paměť

Krátkodobé udržení informace

popř. změna chování – to co skutečně lze u zvířete či člověka měřit.

Testování u lidí – nejčastěji „*digit span test*“ – magické číslo 7 (±2)

Pracovní paměť – v podstatě teoretický konstrukt na poli kognitivní psychologie a neurověd.

Exekutivní a pozornostní komponenta krátkodobé paměti, účastníci se dočasné integrace zpracování, dočasného uložení a vybavení informace.

Úlohy pracovní paměti (zpravidla u člověka nebo primátů) zahrnují aktivní monitorování a manipulaci s informacemi nebo typy chování.

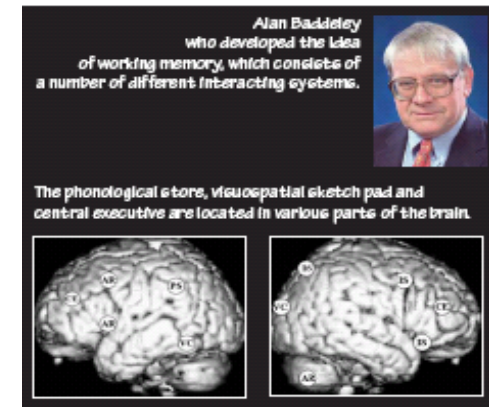
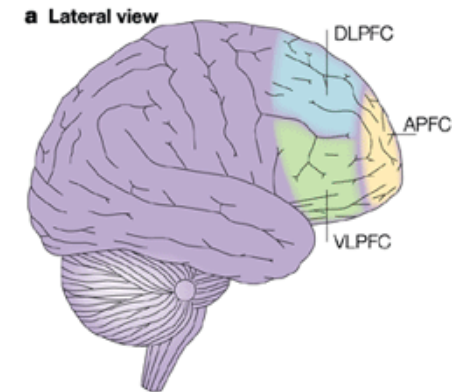
U lidí je nejrozšířenější Baddeleyho model pracovní paměti.

Centrální exekutivní služka a její podřízené

Vizuospaciální náčtrník, Fonologická smyčka

Struktury – prefrontální kůra, ale i parietální, hippocampus, thalamus, bazální ganglia. V PFC je možné přímo u zvířat (primátů) měřit neurony, které odpovídají na určité stimuly během řešení úlohy pracovní paměti na monitoru

Léze nebo funkční vyřazení (inaktivace) PFC u zvířat vede k narušení pracovní paměti.





Krátkodobá paměť u zvířat

- **Řada definicí a pojetí**

Příklad rigorózní definice

„Representation of a cue over a delay period in which the cue is not present, to make subsequent response.“ (Honig, 1978)

„Běžná“ laboratorní definice:

„...a short-term memory for an object, stimulus, or location that is used within a testing session, but not typically between sessions.“

(např. Dudchenko, 2004)

Krátkodobou paměť u zvířat lze testovat řadou úloh, např. spontánní alternací v Y-bludišti nebo v radiálním, popř. Morrisově vodním bludišti

Dlouhodobá paměť (*long-term memory; LTM*)

Trvá od minut po celý život

- Ukládá se prostřednictvím změn v synaptické plasticitě, tedy ve změnách účinnosti synaptického přenosu.
- Výrazná modulační role spánku v konsolidaci paměťových stop, tudíž de facto jeho nezbytnost pro funkci LTM

Solomon Šereševskij – neuropsycholog Alexandr Lurija

Kniha „The Mind of a Mnemonist: A Little Book About a Vast Memory“

Šereševskij trpěl i synestézií (porucha, kdy dochází k inetrakci mezi smyslovými modalitami, např. když slyšel tón, vybavila se mu i barva...přiřazoval lidské charaktery z číslovkám

Další mnemonisté...

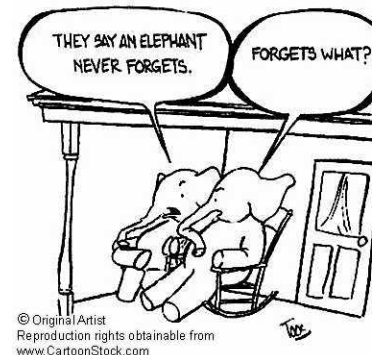


Table 2. Examples of AJ's excellent memory for events and dates if within her areas and time period of interest. Answers given below so reader can self-test

Name the day of the week and the significant event on this date

August 16, 1977; June 6, 1978; May 25, 1979; November 4, 1979 (book wrong date, AJ correct); May 18, 1980; October 5, 1983; January 17, 1994; December 21, 1988; May 3, 1991; May 4, 2001

Name the date for the event

Plane crash in San Diego? Who shot JR episode? Persian Gulf War begins?
Rodney King beating? OJ Simpson verdict? Bombing at Atlanta Olympics?
Death of Princess Diana? Concorde Crash? Election dates for G.W. Bush and Clinton?

Answers (events) AJ gave to dates:

8/16/77 – Tuesday, Elvis died
6/6/78 – Proposition 13 passed in CA
5/25/79 – plane crash, Chicago
11/4/79 – Iranian invasion of US Embassy
5/18/80 – Sunday, Mt. St Helens erupted
10/5/83 – Wednesday, bombing in Beirut, killed 300
1/17/94 – Monday, Northridge earthquake
12/21/88 – Lockerby plane crash
5/3/91 – last episode of Dallas
5/4/01 – Robert Blake's wife killed

Answers (dates) A.J. gave to events:

San Diego crash – September 25, 1978
JR – November 21, 1980
Gulf War – Wednesday, January 16, 1991
Rodney King beating – March 3, 1991
OJ Simpson verdict – Tuesday, October 3, 1995
Atlanta bombing – July 26, 1996
Princess Diana – August 30 or 31, 1997 (depending on France or US)
Concorde – July 25, 2000
Elections date – G.W. Bush – November 7, 2000, Clinton Nov 3, 1992 and November 5, 1996.



Konsolidace – upevnění paměťové stopy

- **Konsolidace – upevnění paměťové stopy z krátkodobé do dlouhodobé paměti**
- **Závislá na přepisu genů a syntéze nových bílkovin > remodelace synapse, zvýšení počtu spojení**
- **Konsolidace** - může být definována na různých úrovních
 - **Systémová – na úrovni mozkových struktur**
 - ...např. *koncept, že engram se fyzicky přesouvá z hipokampu do kortexu...*
 - **Buněčná (změny v synaptické plasticitě, měřitelné např. elektrfyziologicky – LTP, LTD)**

Zde je zajímavý proces tzv. **rekonsolidace**

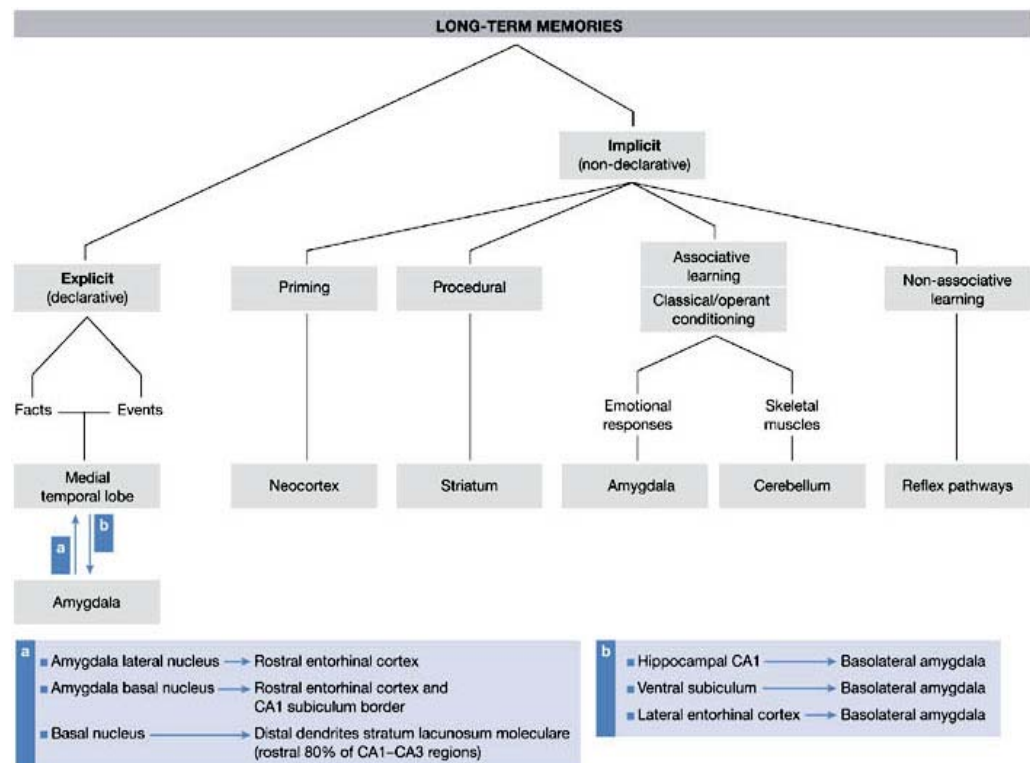


Rekonsolidace

- Předpokládejme, že je již paměťová stopa uložena z krátkodobé paměti do dlouhodobé tedy, konsolidována
- Pokud dojde k jejímu vybavení (retrieval), může se stopa stát znovu labilní (citlivá např. k inhibici proteosyntézy) a tzv. rekonsoliduje...tzn. znova se ukládá do dlouhodobé paměti
- Výskyt jen u některých typů paměti
- Paměť může být během vybavení a následné rekonsolidace modifikována.
 - Potenciální vysvětlení abreakce traumatizujících vzpomínek při kognitivně behaviorální terapii, např. u post-traumatické stresové poruchy (PTSD).
 - Beta blokátor propranolol, snížil emoční náboj traumatické vzpomínky, pokud byl podán po jejím vyvolání. – tento nále z se vztahuje k roli noradrenergických receptorů v některých oblastech mozku ve strachově zbarvené vzpomínce

Dělení paměti podle typu informace a jejího zpracování

- týká se spíše dlouhodobé paměti
- Deklarativní – explicitní paměť
 - Sémantická (fakta)
 - Epizodická paměť (co, kdy, kde)
- Nedeklarativní – implicitní paměť
 - Neasociativní učení – habituace, senzitivace
 - Asociativní učení – podmiňování, klasické operantní
 - Priming
- Další podtypy





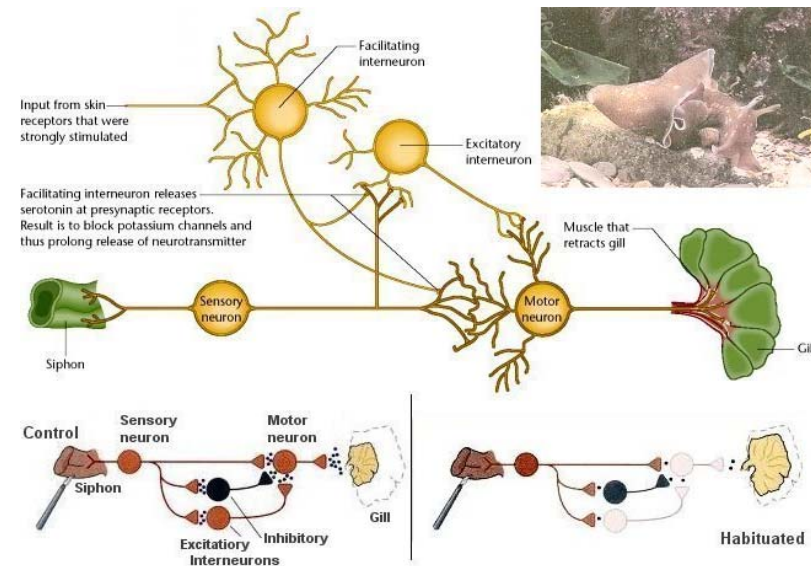
Nedeklarativní, implicitní paměť

- **Reflexy** – habituace, nedochází k asociaci podnětů, je přítomen pouze 1 podnět
- **Asociativní učení** – asociace nepodmíněného podnětu (např. el. ranka nebo potrava s podmíněným podnětem, např. tón či světelný podnět)
 - **Klasické podmiňování** (průkopníkem I.P. Pavlov) – nevyžaduje po zvířeti žádnou volní akci
 - **Operantní podmiňování** – (Skinner)- zvíře se naučí vykonávat určitou činnost (mačkat páčku) aby dosáhlo odměny nebo se vyhnulo trestu (předvídání důsledků svých akcí)
- **Procedurální učení (motor skills)** – tréninkem získané dovednosti, které nemusíme vybavovat vědomě (jízda na kole)
 - U zvířat i u člověka jsou především závislé na bazálních gangliích a mozečku

Neasociativní učení

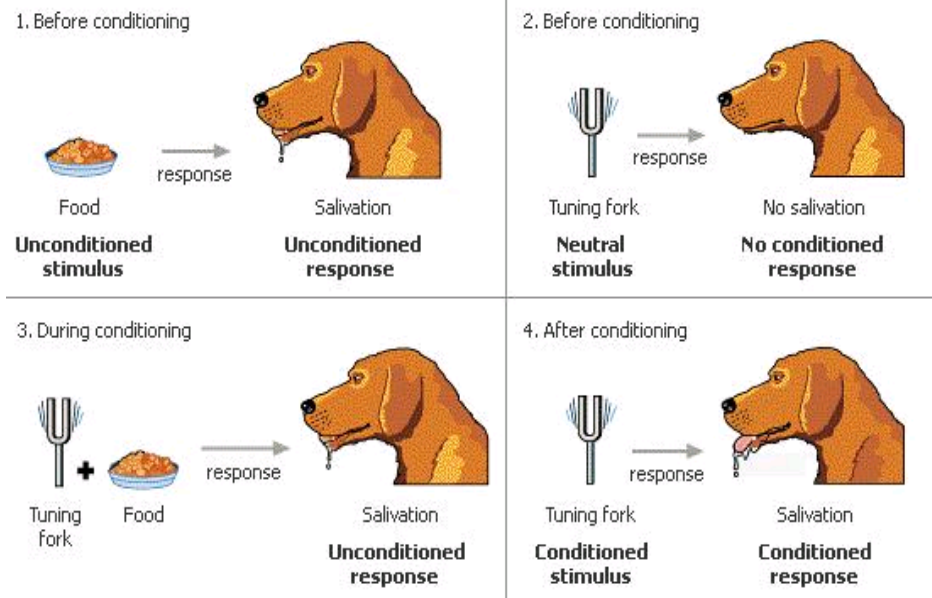
- Habituaace – snížení odpovědi po opakovaném vystavení podráždění
- Senzitivace – zvýšení

Studium habituace a senzitivace
u *Aplysie* – zeje mořského
Eric Kandel (Nobelova cena, 2000)

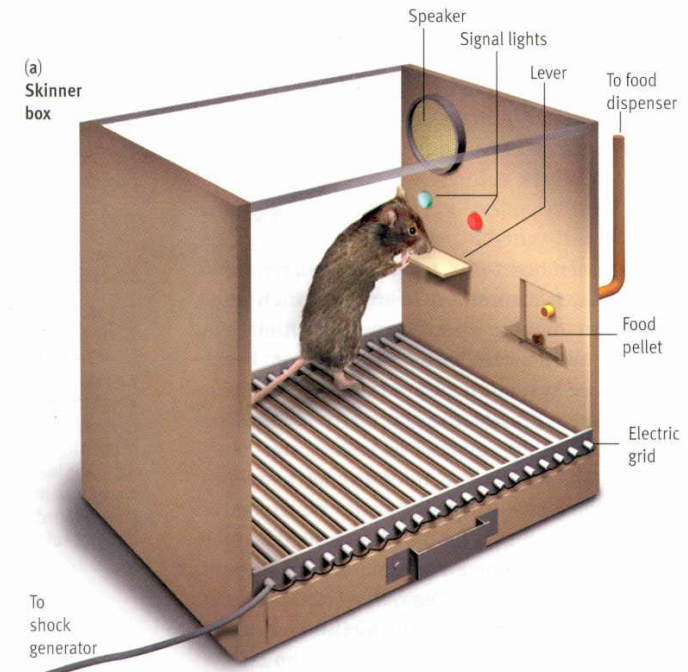


Asociativní učení

- Dochází k asociaci dvou nebo více podnětů.
- Podmiňování (klasické a operantní)



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



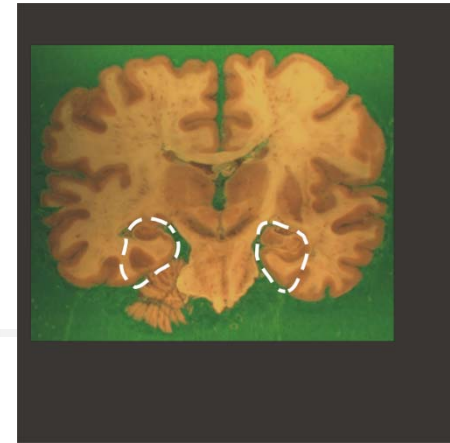
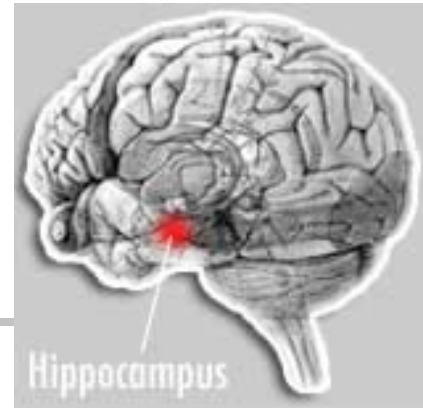
Zvíře se učí vykonávat nějakou činnost aby dosáhlo odměny nebo se vyhnulo trestu

Apetitivní motivace (odměna) – vede ke zvýšení četnosti odpovědí

Averzivní motivace (trest) – vede ke snížení výskytu odpovědí

Zvíře musí „předvídat“ důsledky svého jednání

Deklarativní paměť



- Paměť pro fakta a události
 - Sémantická – vědomé pamatování si faktů nezávisle na místním a časovém kontextu - („Hlavním městem Francie je Paříž“)
 - Epizodická – pamatování si konkrétních událostí v jejich kontextu (u lidí vědomě) - („V Paříži jsem s přítelem navštívila Ioni Eiffelovku)
 - Co, kdy, kde?
 - „vnitřní cestování v čase“ – autobiografická p.
 - knihovna unikátních událostí, single-trial learning (episodic-like)
 - obsahuje komponenty co, kde, kdy
 - Oba typy se mohou v určitých situacích u lidí překrývat
- Závislá na hipokampální formaci a neokortikálních oblastech.
 - Chirurgické odstranění mediálního temporálního (středního spánkového) laloku (např. z terapeutických důvodů při epilepsii) vede k neschopnosti zapamatovat si nová fakta a události, zatímco paměť pro velmi vzdálené vzpomínky zůstane zachována
 - Typický případ pacienta H.M.
 - Miniobčeka – velmi nedávná práce (2007) ukázala, že pacienti bez hipokampu jsou nejen neschopni si zapamatovat nové věci, ale také poškozena konkrétní imaginace nových situací

Deklarativní paměť – situace u zvířat

Situace u zvířat:

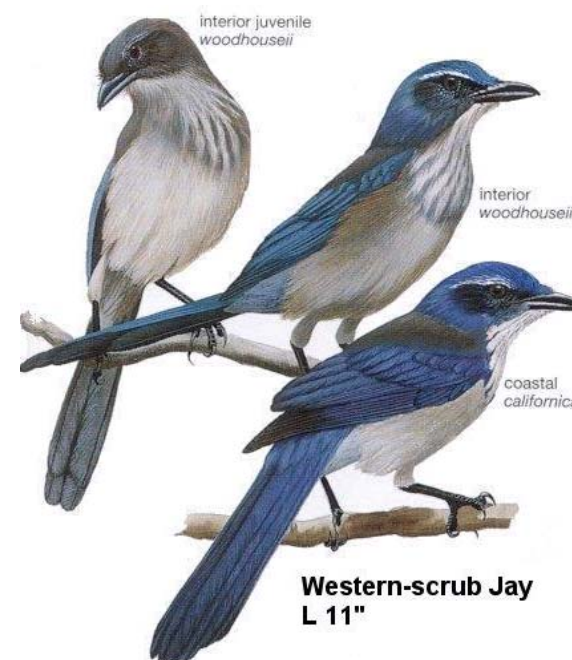
Deklarativní paměť – někteří autoři považují prostorovou paměť, tedy schopnost zapamatovat si místo v prostoru (s pomocí více sensorických modalit) za specifický typ deklarativní paměti – u zvířat nepřístupná „vědomá“ komponenta

Sémantická – problém s analogizací u zvířat

Epizodická – opět nemáme vědomou složku, nicméně některá zvířata (*food-storing birds – scrub jays*) jsou schopna pamatovat si, co, kdy, kde.

Ve výzkumu paměti zvířat obvykle hovoříme o „episodic-like memory“, pokud je přítomná složka časová, prostorová, i věcná

Výzkum těchto organismů rovněž ukazuje, že řadu „vyšších nervových funkcí člověka“ lze modelovat na různých zvířecích druzích





Koncepce paměti u zvířat jako schopnosti modifikovat své chování na základě zkušenosti

- Zvířata vnímají podněty a přiřazují jim biologickou signifikanci, tedy to co je pro ně „užitečné“ (např získání potravy, vyhnutí se predátorovi).
 - We consider learning to be an adaptive change in behavior caused by experience
 - Memory refers to the internal storage and recall of previously learned behaviors. (Forgetting is the loss of storage or recall.)
- Na základě těchto asociací jsou pak např. při příštím setkání se s podnětem modifikovat své chování tak, aby efektivněji využili zdroje.
- Modifikace chování má svůj základ v plastických změnách v činnosti nervových spojů (synaptické plasticitě), které vedou ke změnám signalizace
- Tento pohled je důležitý proto, že současná koncepce paměti pokládá právě synaptickou plasticitu a molekulární změny s ní spojené za hlavní mechanismus uchování informace v mozku, a zároveň kriticky ukazuje důležitost studia chování („jak jinak bychom se dozvěděli, že zvíře se něco učí“?)

Mechanismy učení a paměti

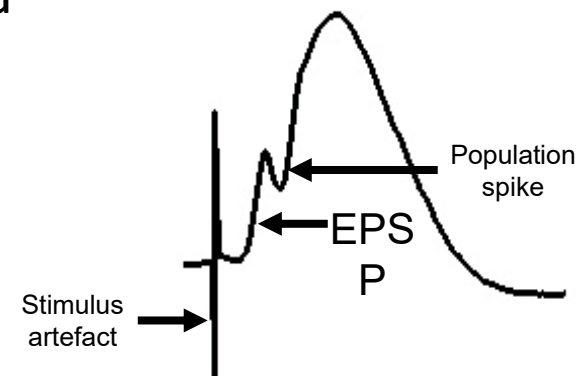
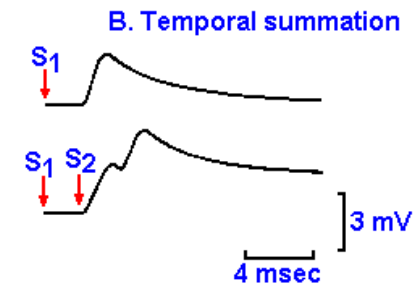
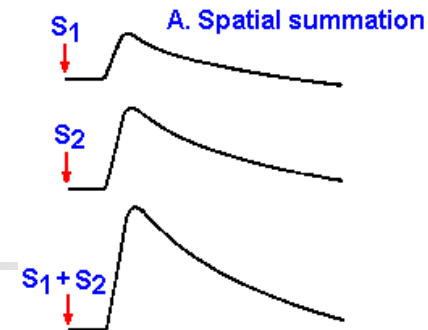


Vzhledem k tomu, že změny chování (co by projevy učení) mají svůj původ ve změnách nervové aktivity, nabízí se synaptická plasticita (která také mění zpracování signálu) jako kandidátní mechanismus pro udržení paměťové stopy.

Synapse - chemické, elektrické
Synaptická plasticita – dobře doložená na chemických synapsích.

Synaptická plasticita

- Je pravděpodobně mechanismem, jímž jsou uchovávány informace v paměti.
- Je patrně podkladem nejen učení a paměti, ale i dlouhodobějších vzorců chování.
- Je přístupná experimentálnímu zkoumání, dá se měřit např. elektrofyziologicky
- Synaptická plasticita je definována jako schopnost synapse změnit svoji synaptickou sílu (*synaptic strength*) v závislosti na vlastní aktivitě.
- Synaptická síla
 - je míra změny postsynaptického potenciálu evokovaného aktivací presynaptického zakončení a následným výlevem neuropřenašeče.
 - *de facto* účinnost, efektivita synaptického přenosu
 - Změna dráždivosti postsynaptické membrány daná opakovanou aktivací presynaptického a postsynaptického neuronu - (tato definice se blíží pojetí Hebba).



A population field potential ("EPSP") evoked in the dentate gyrus by stimulating the perforant path

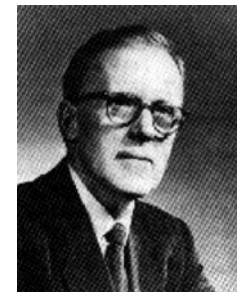
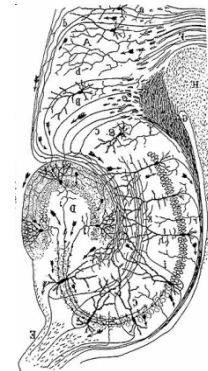
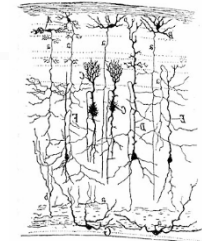
Změnu v účinnosti synaptického přenosu jako základ paměťových stop

- Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) byl v roce 1894 prvním, kdo navrhl představu, že učení není zprostředkováno přírůstkem počtu neuronů, ale ke změně sil spojení mezi těmito neurony.
- Tuto myšlenku rozinul výrazně Donald Hebb (*Hebb, D. O. (1949) The Organization of Behavior, John Wiley & Sons, Inc., N.Y*)
- **Hebbův zákon:** „When an axon of cell A is near enough to excite a cell B and repeatedly and persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficacy, as one of the cells firing B, is increased.“

“Cells that fire together wire together”

Typy synaptické plasticity: LTP, LTD, ale existují i krátkodobé změny v účinnosti, jako např. synaptická facilitace, augmentace, post-tetanická potenciace (pozorovány i na nervosvalovém spojení) – trvají od desítek až stovek ms do řádu desítek minut, z častého je za jejich indukci zodpovědné přetrvávající presynaptické zvýšení koncentrace vápníku

Hebbovská synaptická plasticita byla studována především u nižších živočichů, nejvíce asi u Aplysie (E. Kandel)
Velké neurony, definovaná spojení, apod..



Donald Hebb

Příklady mechanismů synaptické plasticity

Mechanismů, které vedou k synaptické plasticitě, je

mnoho, např.:

fosforylace receptorů,

zvýšení intracelulárního Ca^{2+} ,

vkládání receptorů do syn. štěrby,

syntéza nových bílkovin,

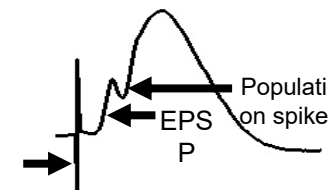
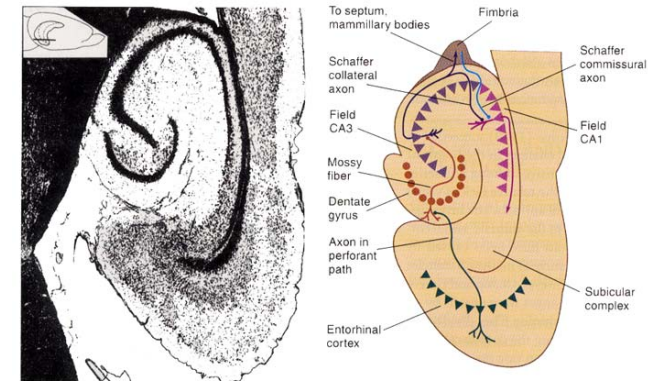
zvýšení počtu synaptických knoflíků,

rašení kolaterálních vláken (sprouting)

zvýšení výlevu z presynaptické terminály

prostřednictvím retrográdního signálu

Tyto jevy jsou studovány buď u nižších bezobratlých, nebo pomocí genetických a elektrofyziologických technik, kdy jsou často snímány excitační postsynaptické potenciály (EPSP)



Populační excitační postsynaptický potenciál (fEPSP) v gyrus dentatus drážděním perforující dráhy (svazku přicházejícího z entorhinální kůry)

V hipokampu vzniká populační excitační postsynaptický potenciál v odezvě na dráždění aferentních vláken

EPSP (intracelulárně – u větších vláken, popř. pomocí techniky terčíkového zámku

fEPSP (field-EPSP) – extracelulárně, připadá v úvahu u struktur s pravidelným uspořádáním neuronů do vrstev a lamin – viz hipokampus

Synaptická plasticita u savců

- **Synaptická plasticita** je pozorovatelná samozřejmě i u vyšších obratlovců, a dlouho se předpokládalo, že by mohla být podkladem uchování paměťových stop.
- Dlouhodobá potenciace a dlouhodobá deprese – LTP a LTD – horcí kandidáti na neurální substrát učení a paměti



Dlouhodobá potenciace (*long - term potentiation; LTP*)

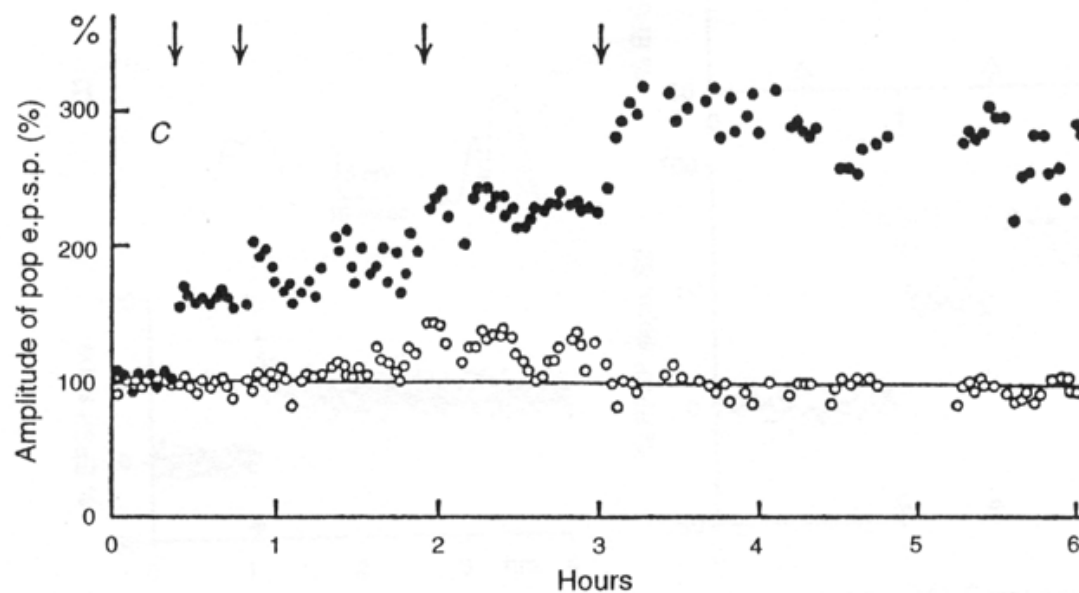


Tim Bliss



Terje Lomo

Dlouhodobé zvýšení synaptických odpovědí post synaptického neuronu (=amplitudy EPSP) po tetanickém dráždění presynaptické terminály
Někdy se vykládá jako zesílení komunikace mezi presynaptickým a postsynaptickým neuronem, na základě aktivace obou těchto neuronů



Bliss and Lomo (1973) *J. Physiol.* 232: 331-356
LTP poprvé popsána v gyrus dentatus králíka

LTP popsána poprvé
v r. 1973 v hipokampu
anestetikovaného králíka –
dlouhodobé zvýšení EPSP po
tetanickém dráždění

Později popsána i u volně
pohyblivých zvířat, včetně
potkanů a myší

Obecně se LTP dělí na časnou
(E-LTP) a pozdní fázi (L-LTP).
E-LTP nezávisí na
proteosyntéze, pozdní
vyžaduje tvorbu nových
bílkovin.

Lákové přirovnání
E-LTP ~ krátkodobá paměť
L-LTP ~ dlouhodobá paměť
Není to tak jednoznačné

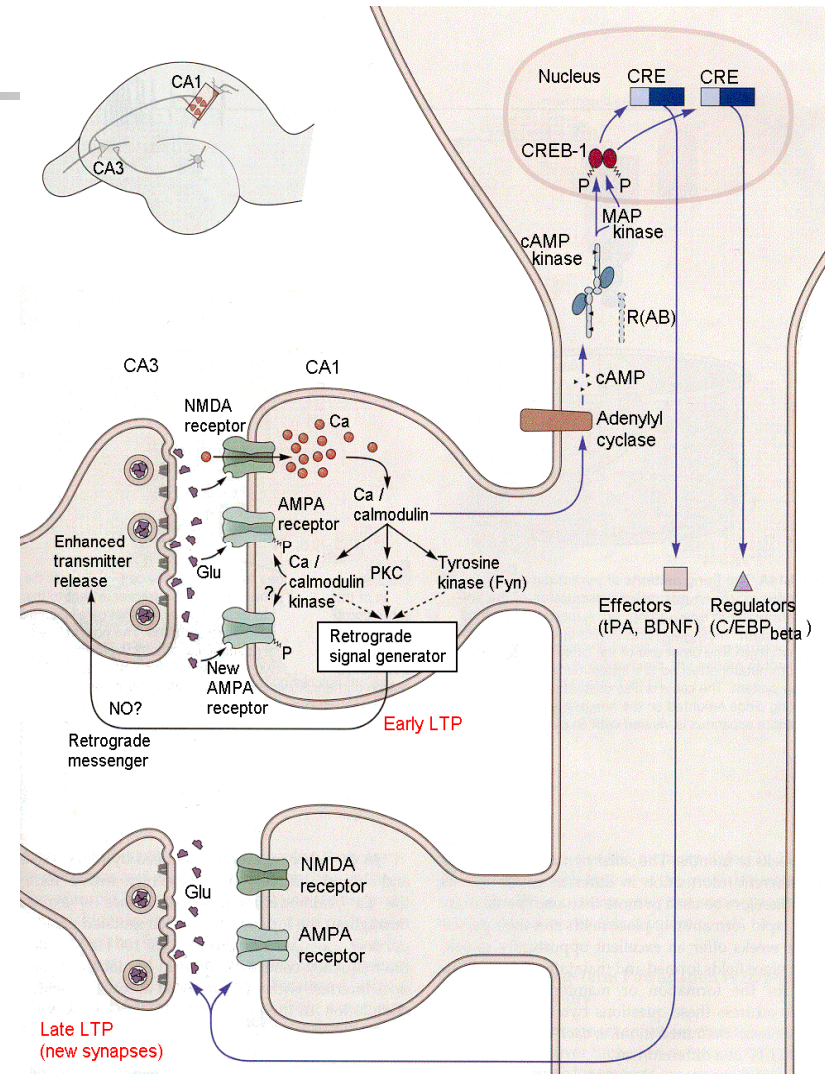
Mechanismy časně a pozdní fáze LTP

- **Indukce časně fáze** – zvýšená aktivace AMPA receptorů – depolarizace – odblokování NMDA receptorů – vtok Ca^{2+} - Ca-calmodulin kináza II – PKC – MAPkináza (MAPK), ale i paralelní aktivace adenylcyklázy – tvorba cAMP – aktivace PKA

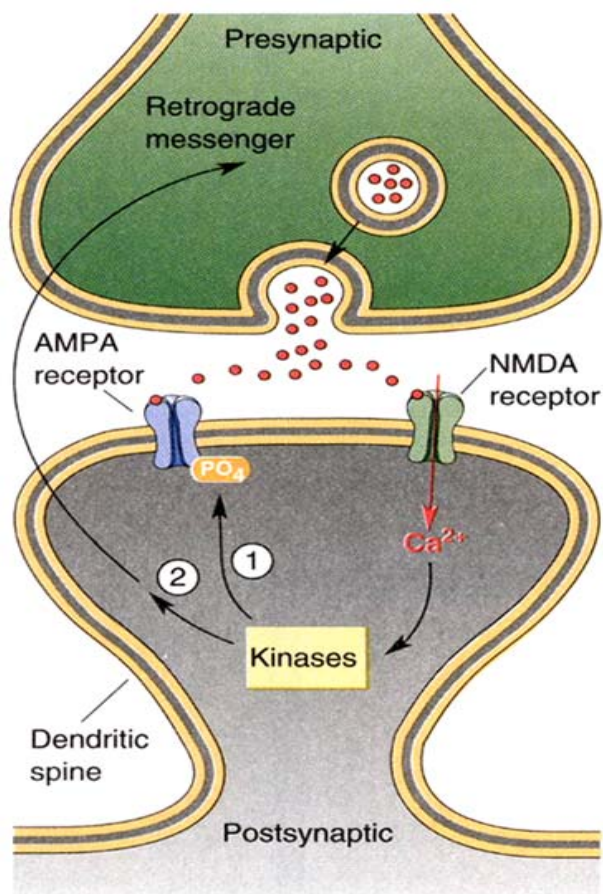
- **Udržování časně** - CMKII a PKC ztrácí závislost na vápníku – perzistentní aktivita > fosforylace AMPA receptorů, inserce AMPA receptorů (**bez proteosyntézy**)

- **Indukce pozdní** – MAPK (ERK) vykazuje prezistentní aktivitu

- **Udržování pozdní** – ERK fosforyluje řady cytosolických a jaderných molekul, které nakonec vedou k syntéze specifických proteinů, které udržují late-LTP, především PKM ζ



Exprese pozdní LTP – udržovací fáze



Mnoho signálních kaskád (CaMKII, PKC) může konvergovat aktivací *extracellular signal-regulated kinase* (ERK).

Ta je patrně spojovacím článkem mezi časnou a pozdní LTP.

ERK fosforyluje řadu proteinů a signálních molekul (jak cytoplazmatických, tak jaderných), včetně transkripčních faktorů.

Klíčovou molekulou pro udržovací fázi pozdní LTP je proteinkináza *Mzeta* (PKM ζ)

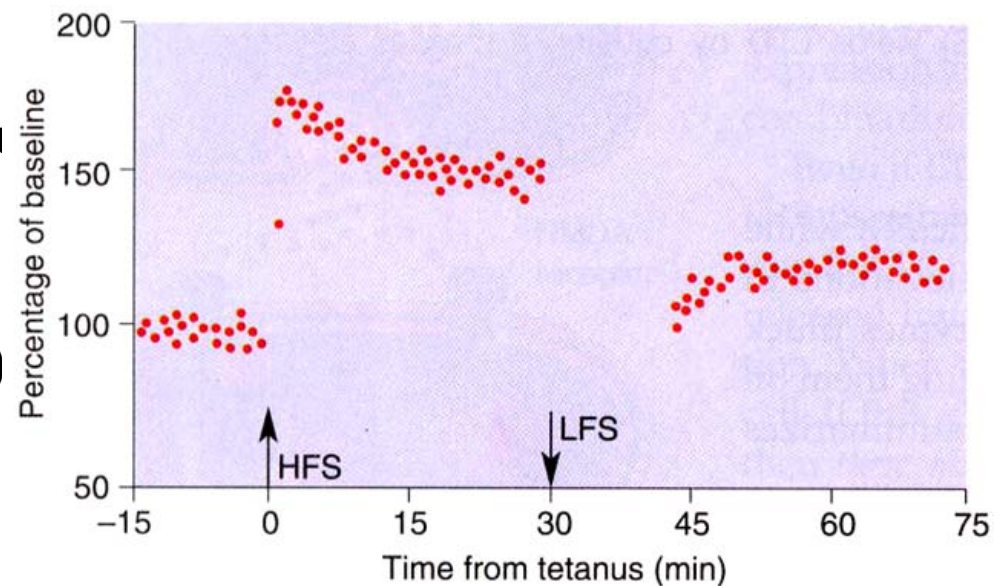
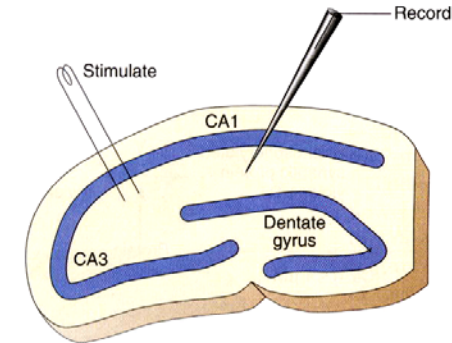
Je to atypická izoforma PKC, která postrádá regulační podjednotku a je trvale aktivní.

Tato molekula je syntetizována a je nezbytnou a dostačující podmínkou pro L-LTP.

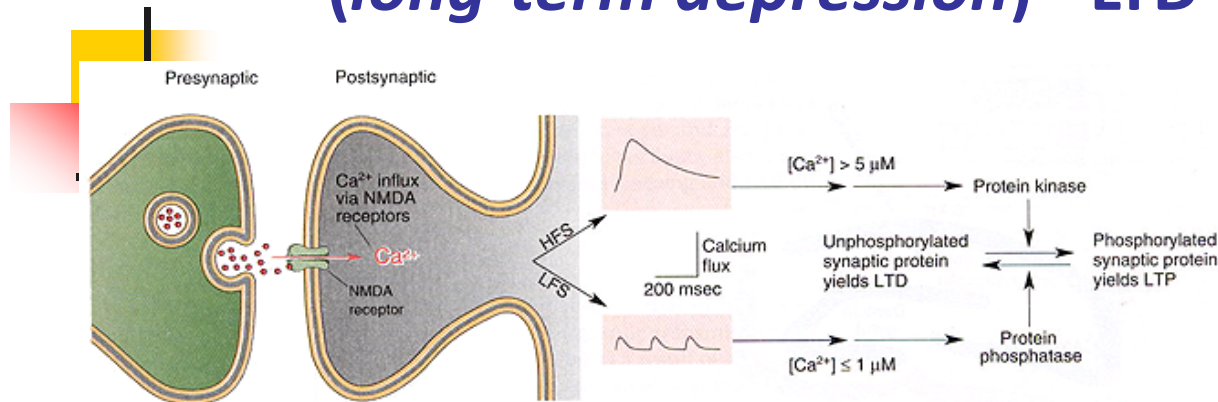
Zároveň je tato molekula substrátem dlouhodobé paměti

Dlouhodobá deprese (*long-term depression*) - LTD

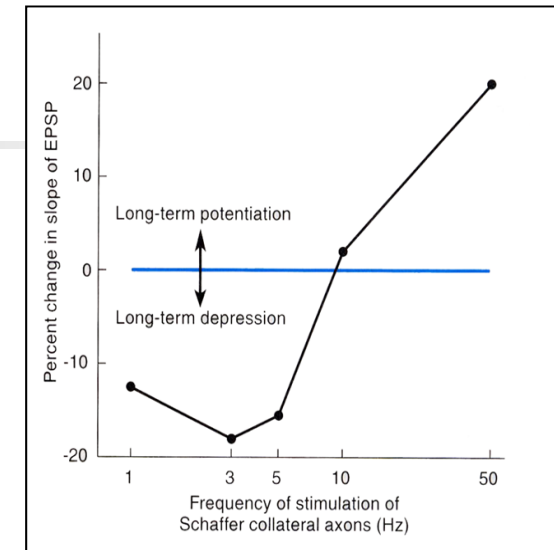
- Opak dlouhodobé potenciace, jde o dlouhodobé snížení účinnosti synaptického přenosu následkem repetitivní stimulace presynaptických vstupů
- Je to vlastně protějšek LTP, z fyziologického hlediska se zdá být intuitivně nezbytný („what goes up, must go down“)
- Vyskytuje se např. v hipokampu (nízkofrekvenční stimulace) nebo v Purkyňových buňkách mozečku (silná stimulace)



Dlouhodobá deprese (*long-term depression*) - LTD



A model for how Ca²⁺ can trigger both LTP and LTD in the hippocampus. High-frequency stimulation (HFS) yields LTP by causing a large elevation of [Ca²⁺]. Low-frequency stimulation (LFS) yields LTD by causing a smaller elevation of [Ca²⁺]. (Source: Adapted from Bear and Malenka, 1994, Fig. 1.)



LTD je podmíněna zpravidla aktivací NMDA receptorů (ne vždy), ale o nižší hodnotě, a zvýšením intracelulárního vápníku, avšak na nižší hladinu, než jaká je pozorována u LTP.

Někdy se LTD mohou účastnit také metabotropní glutamátové receptory (mGluR), popř snad i kanabinoidní receptory (také spřažené s G-proteinem)

Indukce LTD zahrnuje aktivaci fosfatáz (defosforylující enzymy), které následně sníží citlivost glutamátových receptorů a tím redukuje postsynaptickou odpověď na neuropřenašeč.

Může zahrnovat také internalizaci AMPA receptorů z postsynaptické membrány do intracelulárních kompartmentů.

Na synapsích Schafferových kolaterál (spojení hipokampálních oblastí CA3 a CA1) lze vyvolat LTP i LTD tetanickým drážděním, klíčovým faktorem pro to, který fenomén bude indukován, je frekvence dráždění (viz obrázek).

Nízkofrekvenční stimulace vede ke vzniku LTD.

LTD je odlišná od tzv. synaptické depotenciace, což je de facto návrat LTP na klidovou hladinu. V mozečku se LTD účastní motorického učení.

Studium vztahu LTP a učení/paměti

Je tedy LTP (popř. LTD – méně studovaná) skutečně podkladem učení a paměti ?

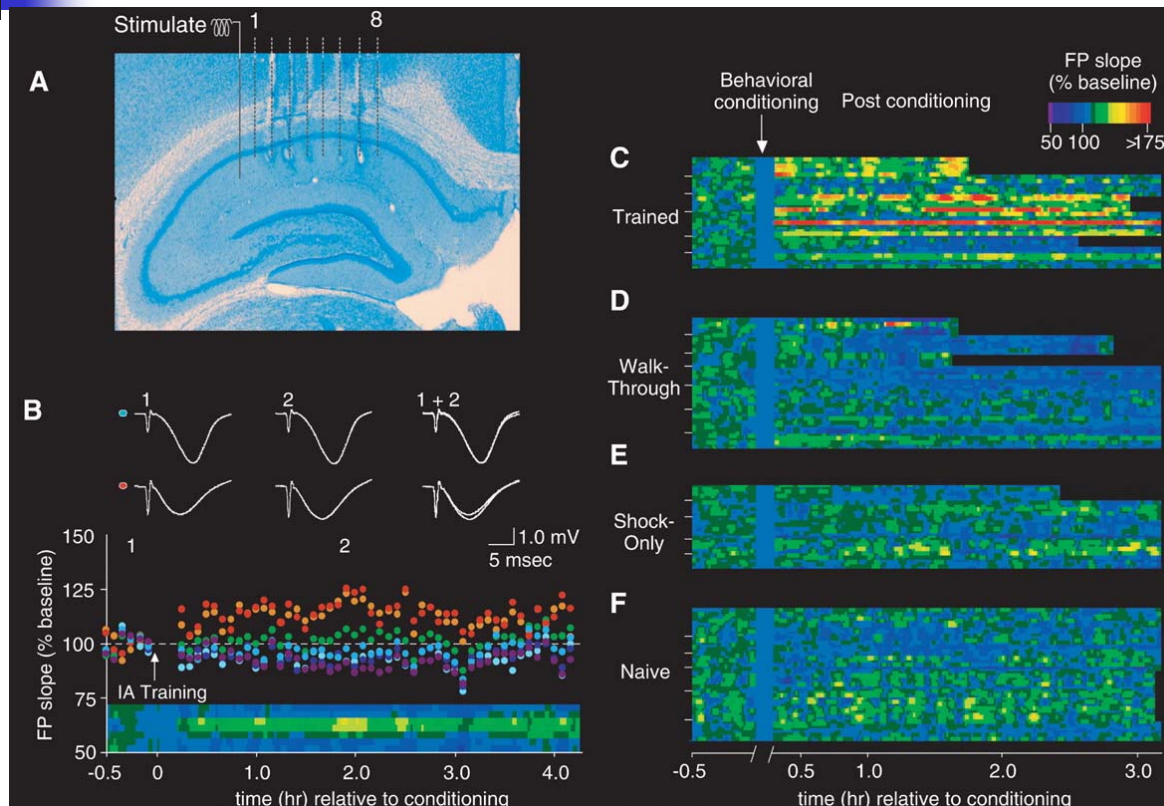
Zkušenost → Změna synaptické účinnosti (přirozená plasticita) → Paměť

Tetanizace → Změna účinnosti synaptického přenosu (LTP) → Zvýšení evokované odpovědi (EPSP)

Typy studií zabývajících se vztahem LTP - paměť:

- **Vliv učení na synaptickou sílu a LTP**
- **Vliv dlouhodobé tetanizace (saturace LTP) na učení**
- **Vliv manipulace (např. blokády) synaptické plasticity na učení paměť**

Dochází při učení skutečně k indukci LTP ?



Whitlock a jeho kolegové trénovali potkany v úloze pasivního vyhýbání (inhibitory avoidance) a zjistili, že u některých synapsí dochází vlivem učení k indukci LTP

U mnoha z měřených neuronů však LTP indukována není.

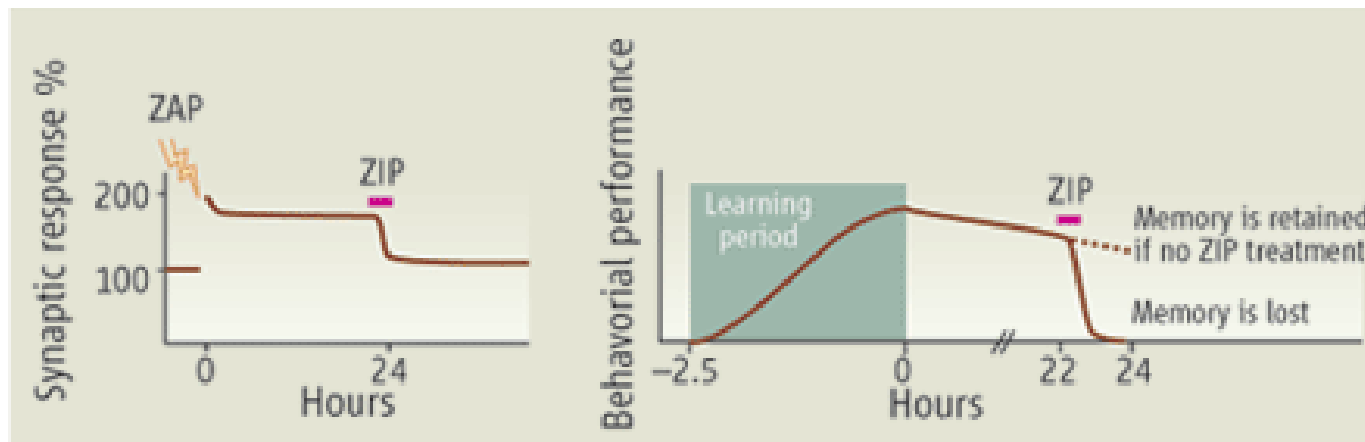
Je to rovněž podpůrným důkazem pro „distributed memory encoding“

Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF.

Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. Science. 2006; 313(5790):1093-7

Lze LTP u učení selektivně farmakologicky zablokovat?

Inhibice PKM ζ vede k vymizení LTP
a k vymazání již ustavené dlouhodobé paměťové stopy



Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC. Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. Science. 2006;313(5790):1141-4

Specifický blokátor PKM ζ byl aplikován do hipokampu a zablokoval jak pozdní LTP, tak vybavení naučené informace **avšak neovlivní nové učení, tzn. že PKM ζ nehraje patrně roli v indukci časně LTP**

Prokázáno bylo, že syntéza PKM ζ je nezbytnou a dostačující podmínkou pro udržovací fázi pozdní LTP

Prefrontální kůra (PFC) jako struktura klíčová pro pracovní paměť

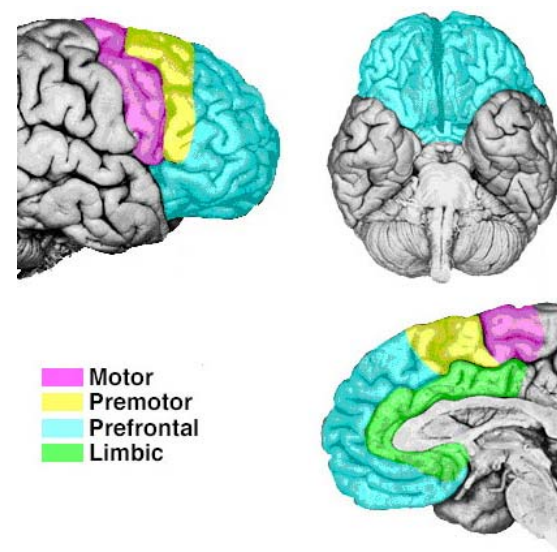
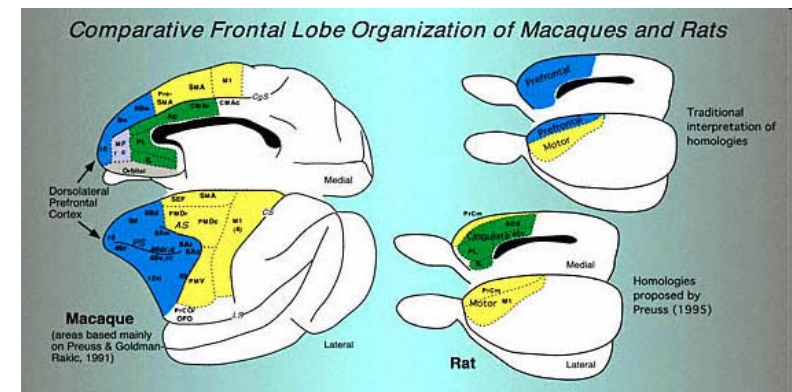
U zvířat vyjma primátů je prefrontální oblast spíše menší a její homologie s PFC u primátů je předmětem debat

Nicméně i laboratorní hlodavci mají krátkodobou paměť a funkční PFC

Pro fungování pracovní paměti jsou důležité zejména dopaminergní, noradrenergí a glutamatergí dráhy v PFC a její spojení se středním mozkem a ostatními korovými oblastmi

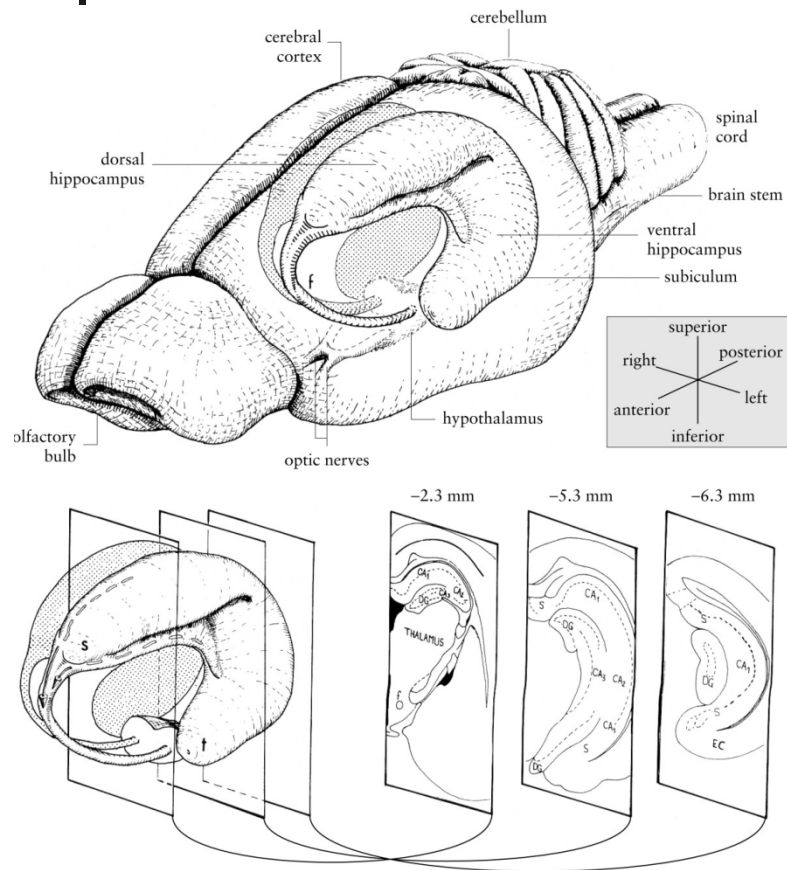
PFC důležitá také pro orientovanou pozornost, flexibilitu, role v sociálním chování, rozhodování, role v chování v závislosti na odměně

Exekutivní funkce (plánování, online kontrola vykonávaných činností apod.) tyto funkce jsou v jisté míře přítomné i u zvířat



Hipokampus

- klíčová struktura pro prostorovou paměť u zvířat a deklarativní paměť u lidí

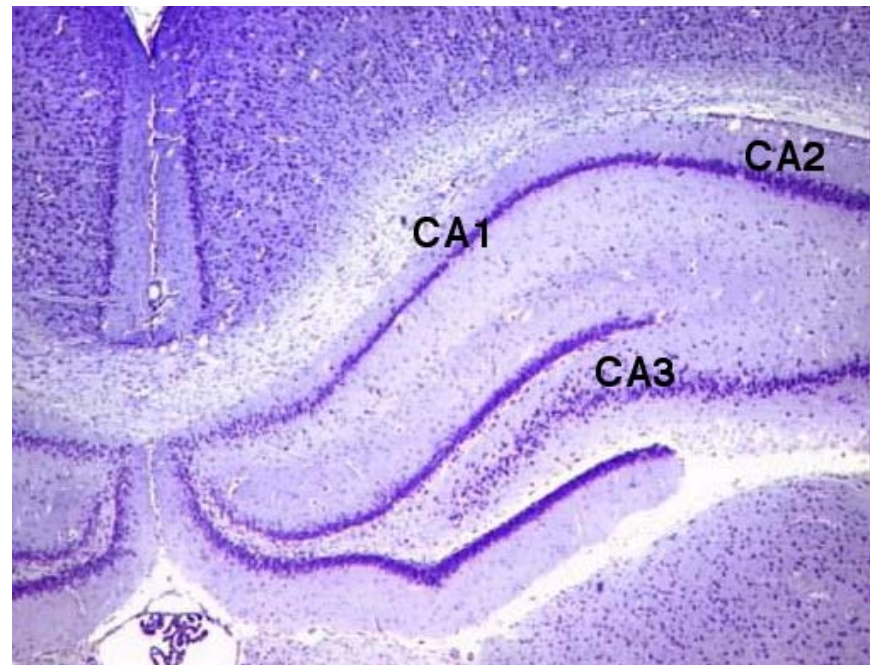


Strukturně jednodušší mozek

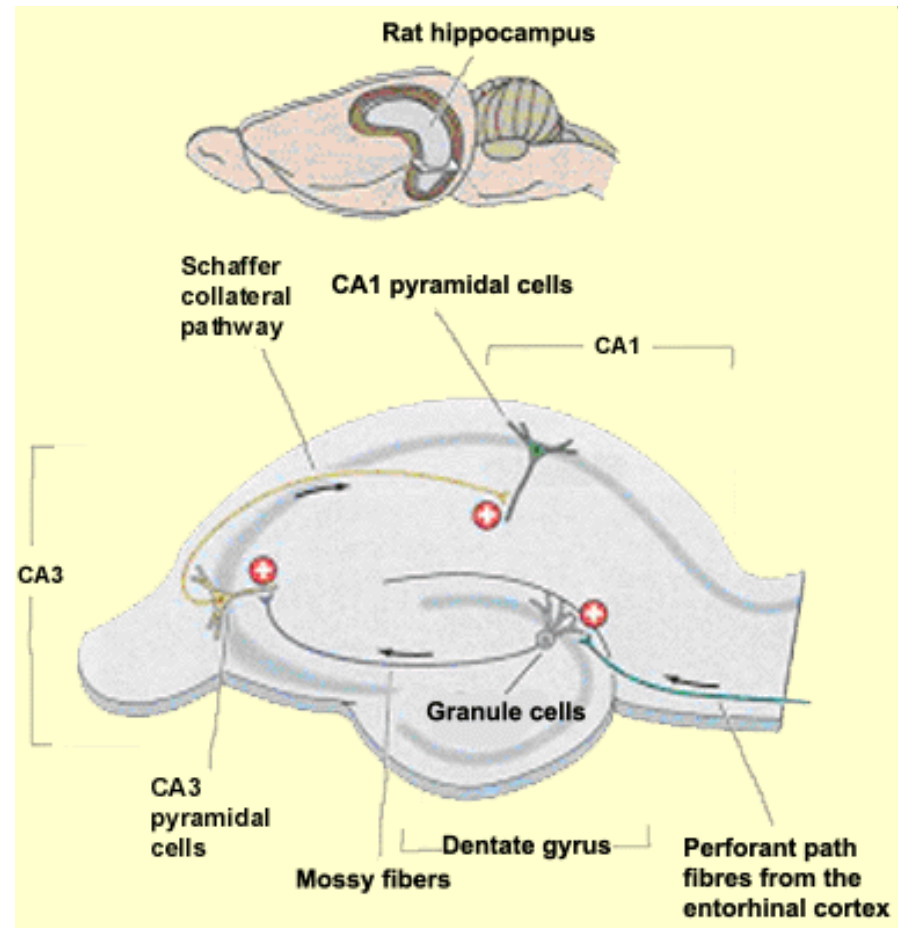
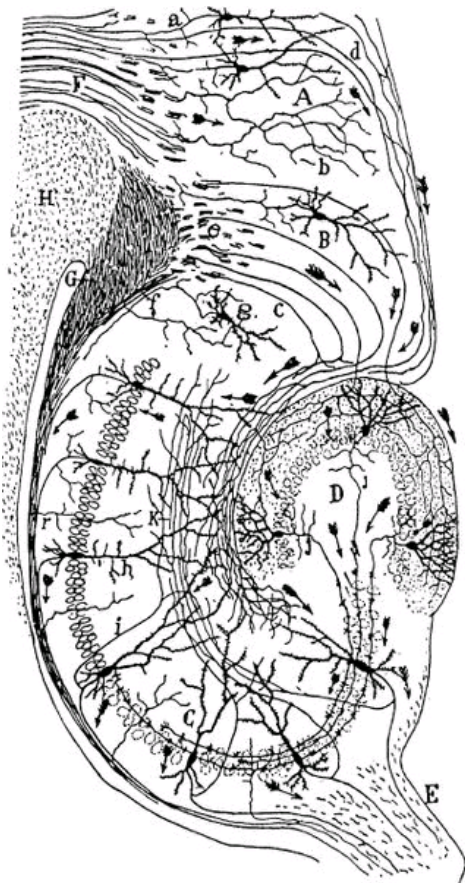
Absence rýhování hemisfér koncového mozku,

Poměrně značnou část potkaního mozku zabírají hipokampus a čichové laloky

Hipokampus inervován především z mediálního septa (Ach, GABA) a entorhinální kůry (Glu)



Hipokampus a jeho hlavní nervové dráhy

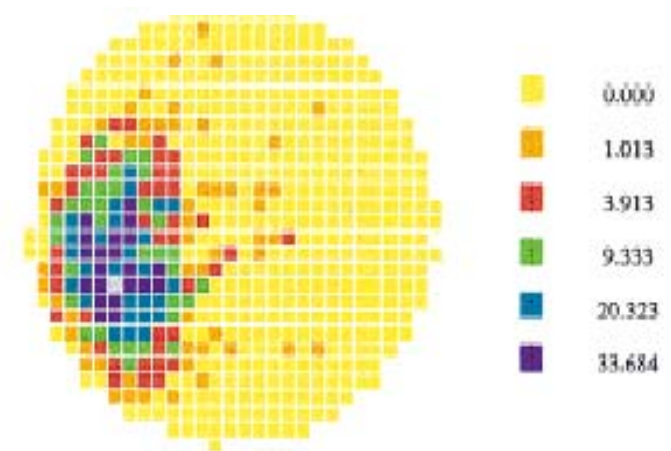
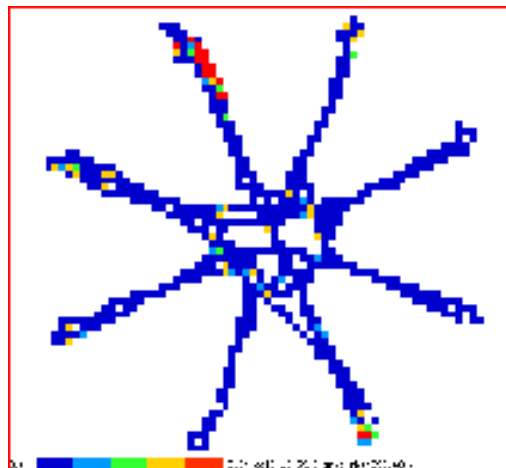
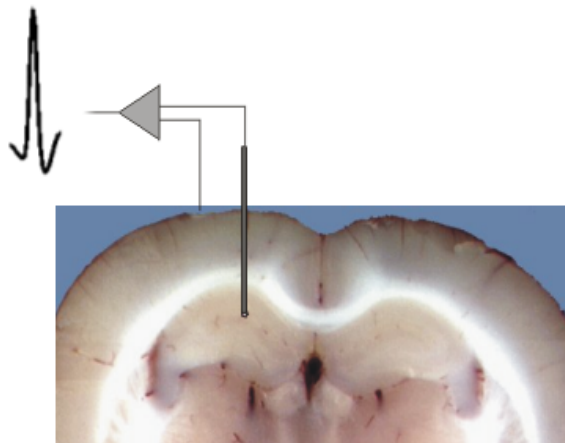


Santiago Ramón y Cajal.
Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertebretes,
Vols. 1 and 2. A. Maloine. Paris. 1911.

Hipokampus a místové neurony

Pyramidové neurony v CA1, CA3 a DG oblastech hipokampu,
V DG také granulární a košíčkové buňky
(O'Keefe and Dostrovsky, 1971)

Nahrávají *in vivo* extracelulárně
vykazují prostorově specifickou aktivitu



Metodické přístupy ke studiu paměti a chování u zvířat



Na učení, paměť a související fenomény je velmi užitečné nahlížet jako na změny chování získané zkušeností.

Učení a paměť lze studovat i v přirozených podmínkách, ale často se využívá experimentálních přístupů, tedy paměťových úloh.



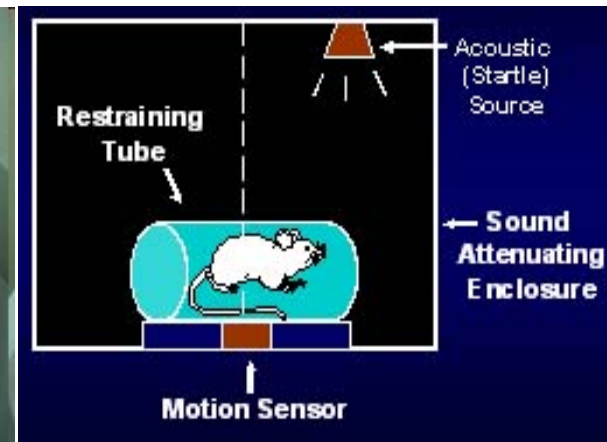
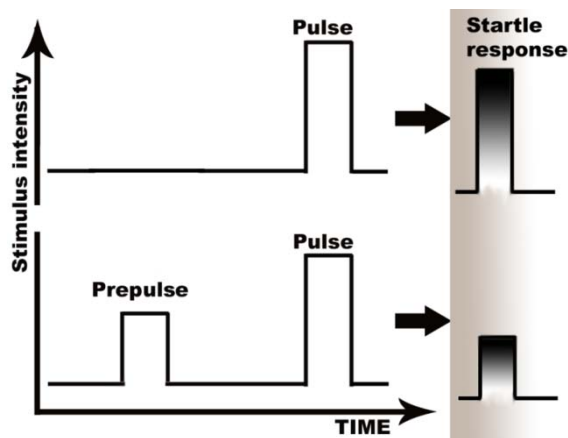
Základní okruhy chování studované v laboratorních podmínkách

- **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
- **Sociální chování a interakce**

Všechny tyto přístupy jsou zpravidla kombinovány s operačními, farmakologickými, genetickými, elektrofyziologickými a jinými technikami za účelem testování konkrétní hypotéz, např. týkajících se vztahu chování a jednotkové aktivity neuronů, popř. genetického či neuropřenašečového základu chování.

Senzorimotorické zpracování – test prepulzní inhibice úlekové reakce

- 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

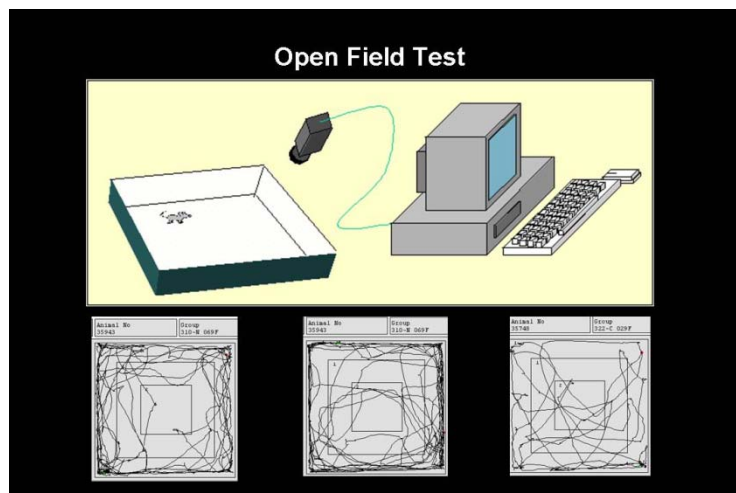


Samotná úleková odpověď na stimulus, bez přítomnosti prestimulu je reflexní, vyjadřuje celkovou aktivaci organismu – tato úleková reakce je zvýšena např. u PTSD

Test PPI – znázornění aparatury

Spontánní aktivita zvířat

- Nejčastěji studována v tzv. testu otevřeného pole (angl. *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



Horizontální aktivita – lokomoce, thigmotaxe

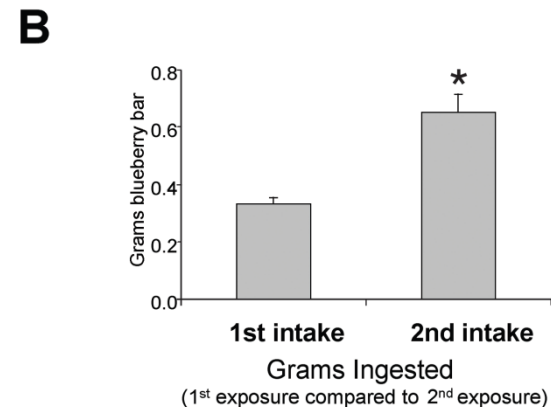
Vertikální aktivita - panáčkování

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

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

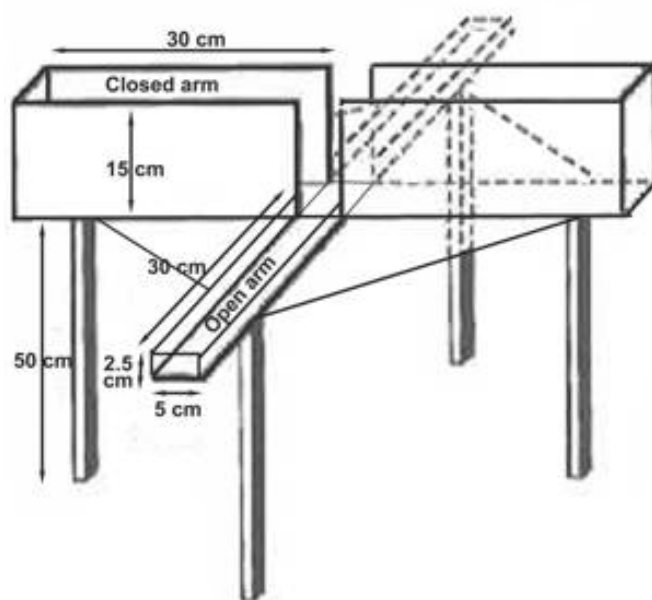
Testování anxiety a emocionality

- 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 zvýšené křížové bludiště (*elevated plus maze – EPM*)



Ukázka testu chuťové neofobie

Vyvýšené křížové bludiště (*elevated plus maze; 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

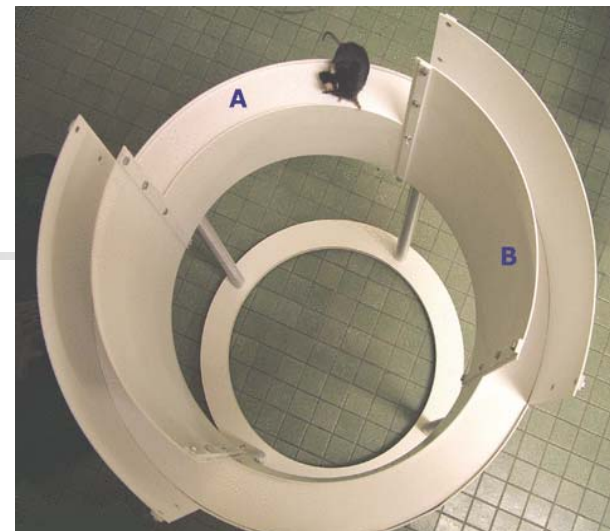
Některé jiné léky, používané ke zmírnění úzkosti v klinice (např. SSRI) nevykazují v tomto testu příliš silné výsledky

Jiné testy na anxietu zvířat



Tail suspension test – jednoduchý, často užíván u myší při screeningu antidepresiv

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



Zero maze – cirkulární bludiště – jistá analogie s EPM



Forced swim test

Forced swim – využíván rovněž při studiu stresu a jeho vlivu na paměť a v animálních modelech afektivních poruch



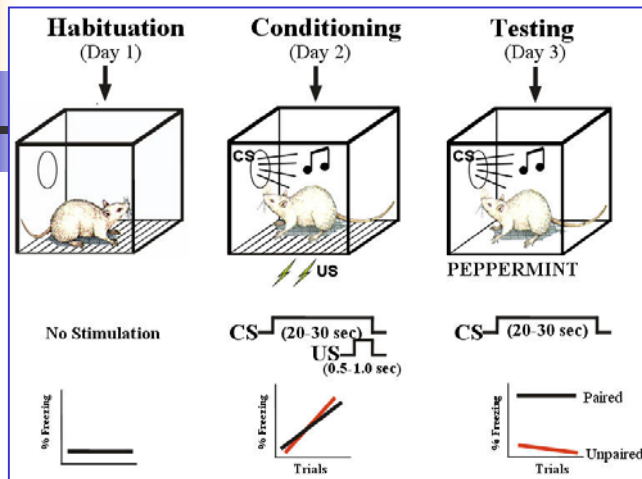
Učení a paměť

Speciální typ chování, vysoká adaptivní hodnota

Zpravidla pozorováno jako změna chování vyvolaná individuální zkušeností subjektu, či opakovanou expozicí určité situaci nebo podnětu (v nejjednodušším případě např. habituace).

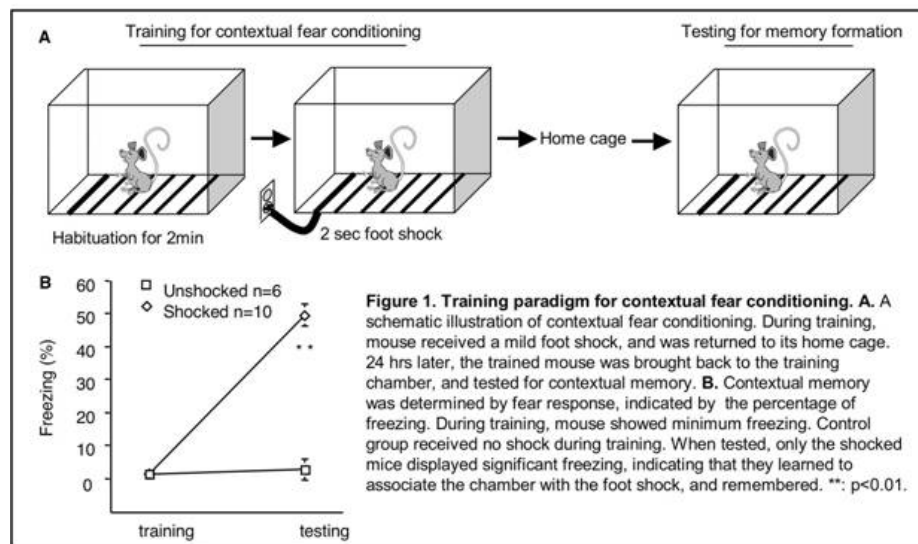
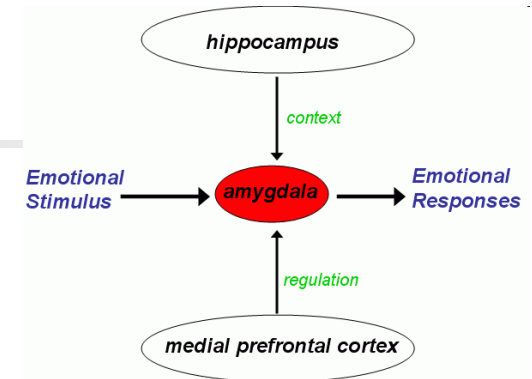
Obtíže s vyčerpávající definicí, která by zahrnovala všechny aspekty těchto jevů.

Strachové podmiňování (angl. fear conditioning)



**Auditory
fear conditioning –
pavlovovské**

Klíčová role amygdaly



Kontextuální strachové podmiňování

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

Dnes dostupné tzv. multi-conditioning“ systémy – modulární stavba, přizpůsobivost

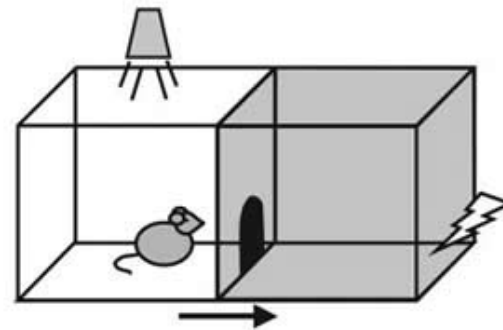
Lze studovat i u lidí, např. projekcí obrázků a měřením kožního odporu, či jiných odpovědí VNS

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

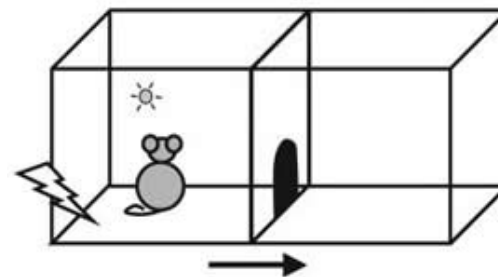


Aktivní vyhýbání ve vodní verzi
- Určeno pro studium chování akvarijských rybek



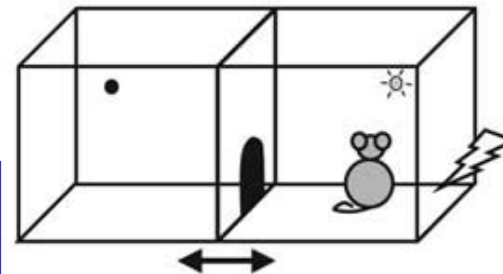
Passive Avoidance
Exploits a natural tendency of mice to enter dark environments.

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.

Podmíněná chuťová averze

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

jedná se o formu klasického (pavlovovského) podmiňování, Asociace podmíněného podnětu (určité chuti) s nepodmíněným nevolností), která vede k vyhýbání se této chuti

Tato paměťová stopa může perzistovat po VELMI dlouhou dobu

Evolučně velmi výhodný typ učení, probíhá i v narkóze

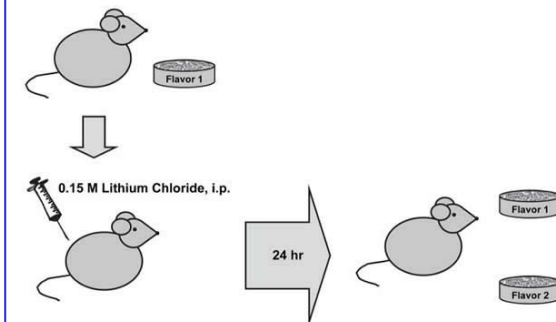
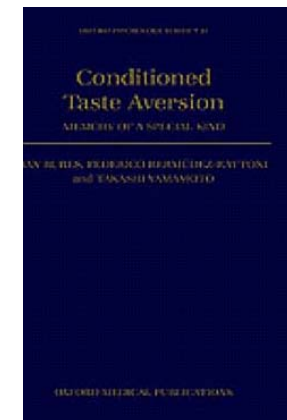
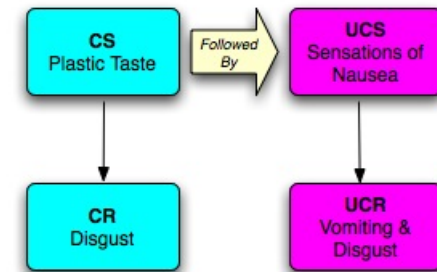
Kriticky závislá na **parabrachiálním jádře** (hlubokém jádru spodního mozku) a **insulárním kortexu** (obsahuje korovou oblast pro zpracování chuťových vjemů), **amygdale**, **supramammilárním jádře**, **nucleus accumbens**

Je rovněž zprostředkována proteinkinázou Mzeta, její blokáda v insulární kůře vede k vymazání této averze

Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta.

Shema R, Sacktor TC, Dudai Y.

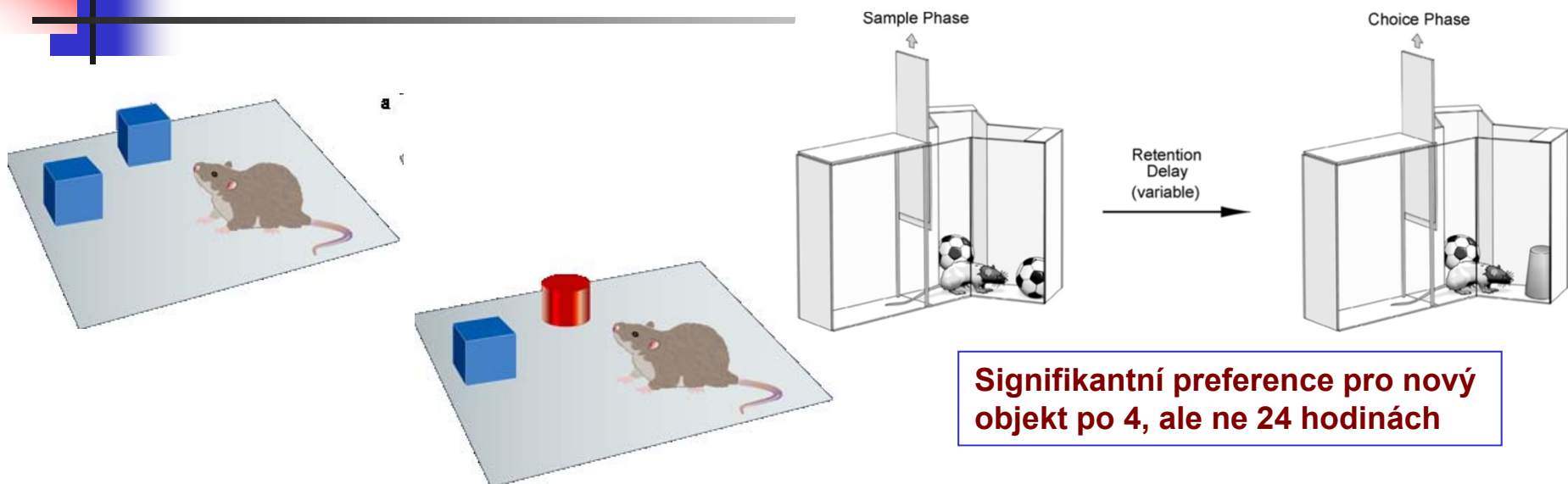
Science. 2007 Aug 17;317(5840):951-3.



Generalizace stimulu – subjekt se vyhýbá i podobným chutím

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

Úloha rozpoznávání objektu (*object recognition task*)



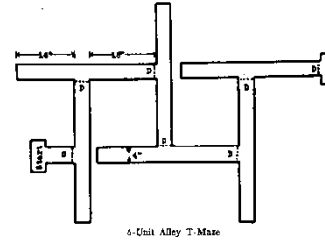
Měřenou veličinou je doba prozkoumávání objektu, doba, kdy je zvíře v kontaktu s tímto objektem

Zvíře objekt očíhává, kontaktuje, prozkoumává

Tato úloha je citlivá k vyčerpání (depleci) serotoninu, např. pomocí p- chlorofenylalaninu, jako jedna z mála.

Odbočka – **serotoninová deplece** – buď dietou, nebo chemicky, má jistý vliv na kognitivní funkce u člověka, u zvířat je dopad podstatně menší

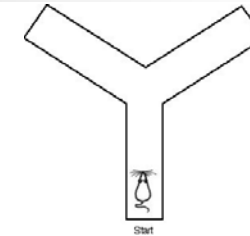
Prostorové úlohy



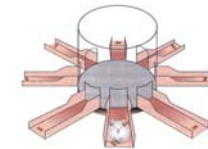
Komplexní bludiště
Dnes se využívá jen zřídka

- **Prostorová paměť (ve smyslu navigace k cílům, jež 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 posteriorní parietální kůra (PPC)**

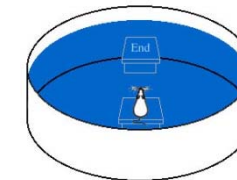
- „Y“, „T“ a křížové bludiště



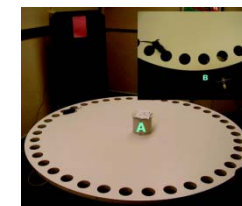
- Radiální bludiště (*radial arm maze*)



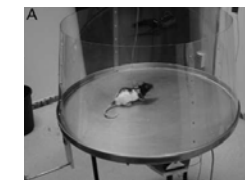
- Morrisovo vodní bludiště



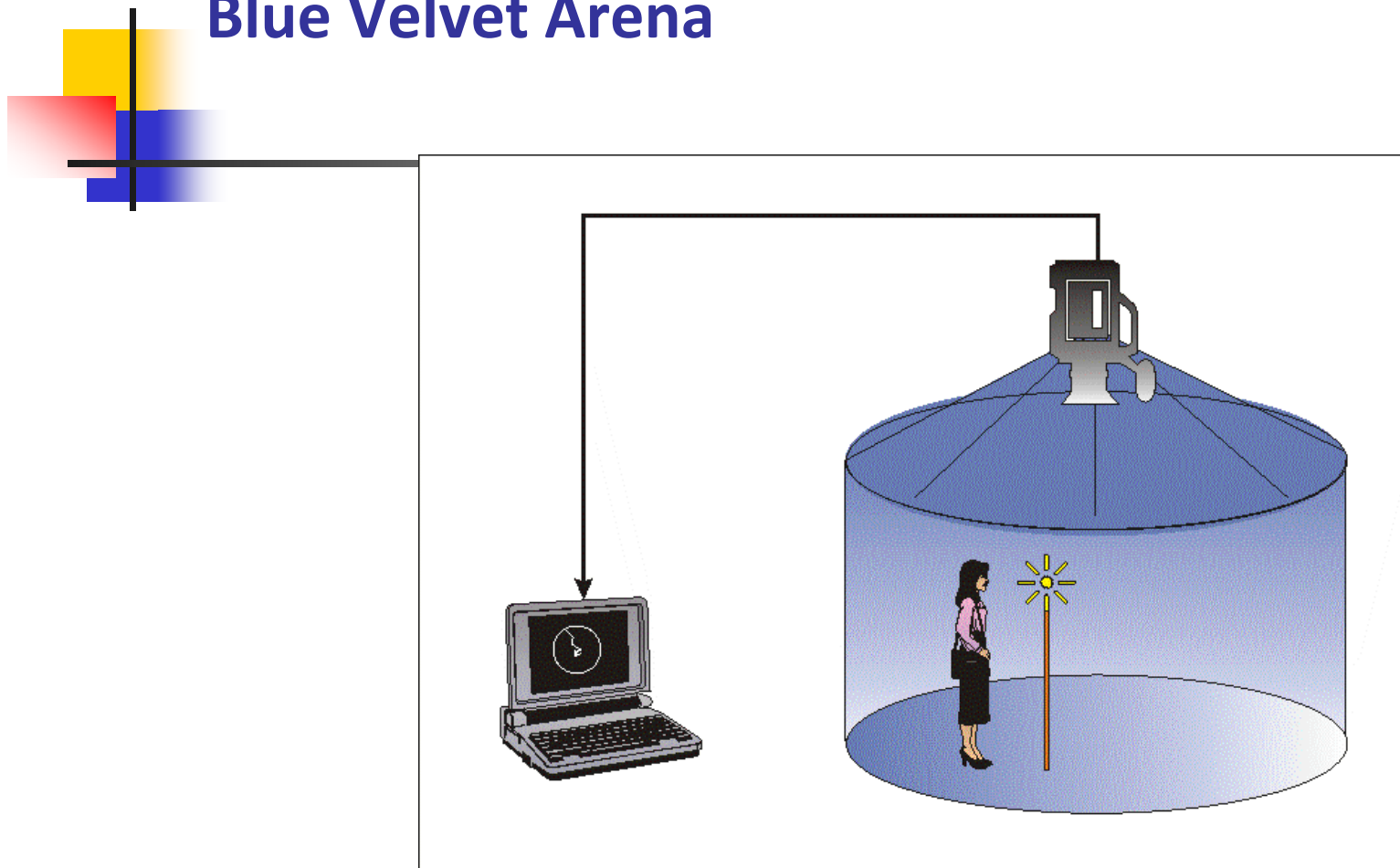
- Barnesové bludiště



- Úlohy vyhýbání se místu



Blue Velvet Arena



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