



VYBRANÉ METODY VE VÝZKUMU CHOVÁNÍ

Jan Svoboda

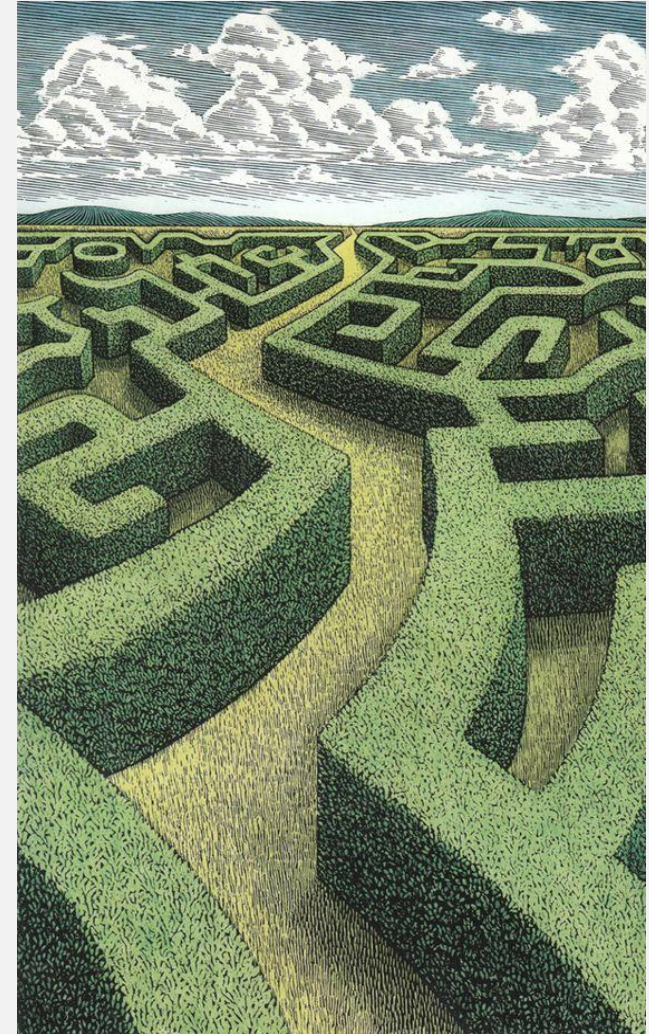
VZTAH MEZI VÝZKUMEM PAMĚTI A CHOVÁNÍM

- Mnohaúrovňový výzkum paměti
 - Chování jedince – přirozené, v behav. testech
 - Chování neuronální sítě – LFP, PET, fMRI, EEG
 - Chování neuronu – extra-, intra-celulárně
 - Děje na synapsi – např. LTP
- Sledování korelací mezi jednotlivými úrovněmi
- Korelace ale nemusí znamenat kauzalitu
- Tu lze zjistit kontrolovanými změnami parametrů a pečlivou volbou kontrolních skupin/podmínek



PŘEHLED BEHAVIORÁLNÍCH TESTŮ

- **Úzkost**
 - Otevřené pole, Vyvýšené křížové bludiště, Kruhové bludiště, Test světlo-tma
- **Pozornost**
 - Prepulzní inhibice, Test reakčního času s pěti výběry
- **Paměť**
 - Prostorová
 - Radiální bludiště, + a Y bludiště, Morrisovo vodní bludiště, Bludiště Barnesové
 - Objektová
 - Rozpoznání nového objektu
 - Sociální
 - Tříkomorový test
 - Strachová
 - Strachové podmiňování
 - Operantní podmiňování
 - Touch screen aparatury



TESTY ÚZKOSTI



test otevřeného pole



test světlo-tma

TESTY ÚZKOSTI



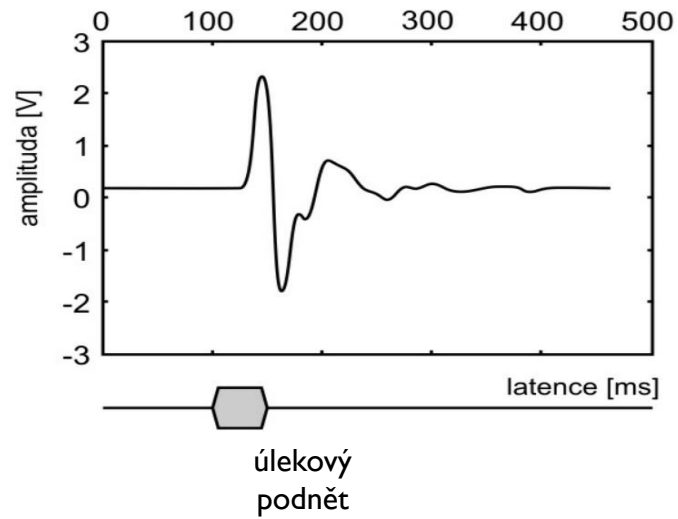
kruhové vyvýšené bludiště



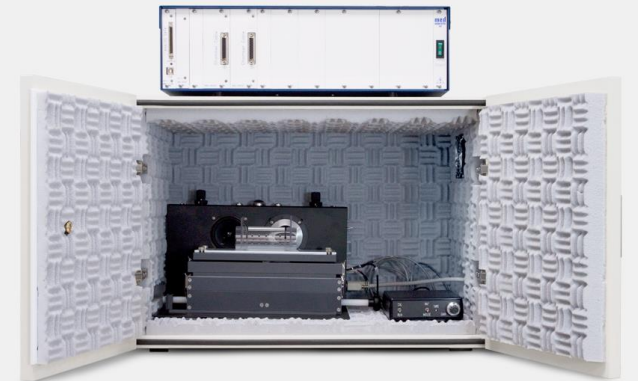
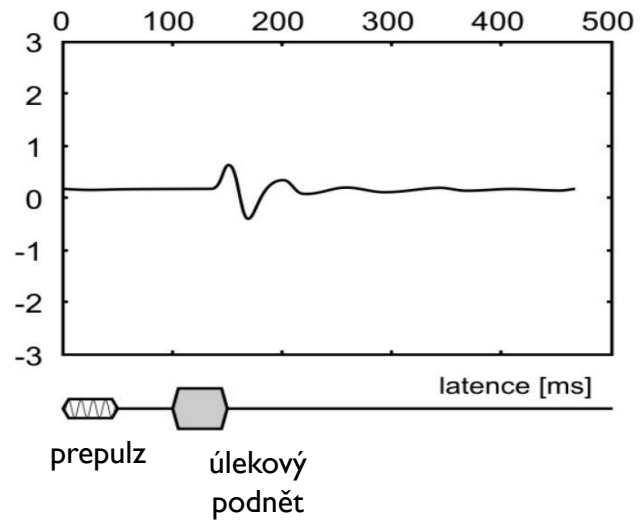
křížové vyvýšené bludiště

TESTY POZORNOSTI

ÚLEKOVÁ REAKCE

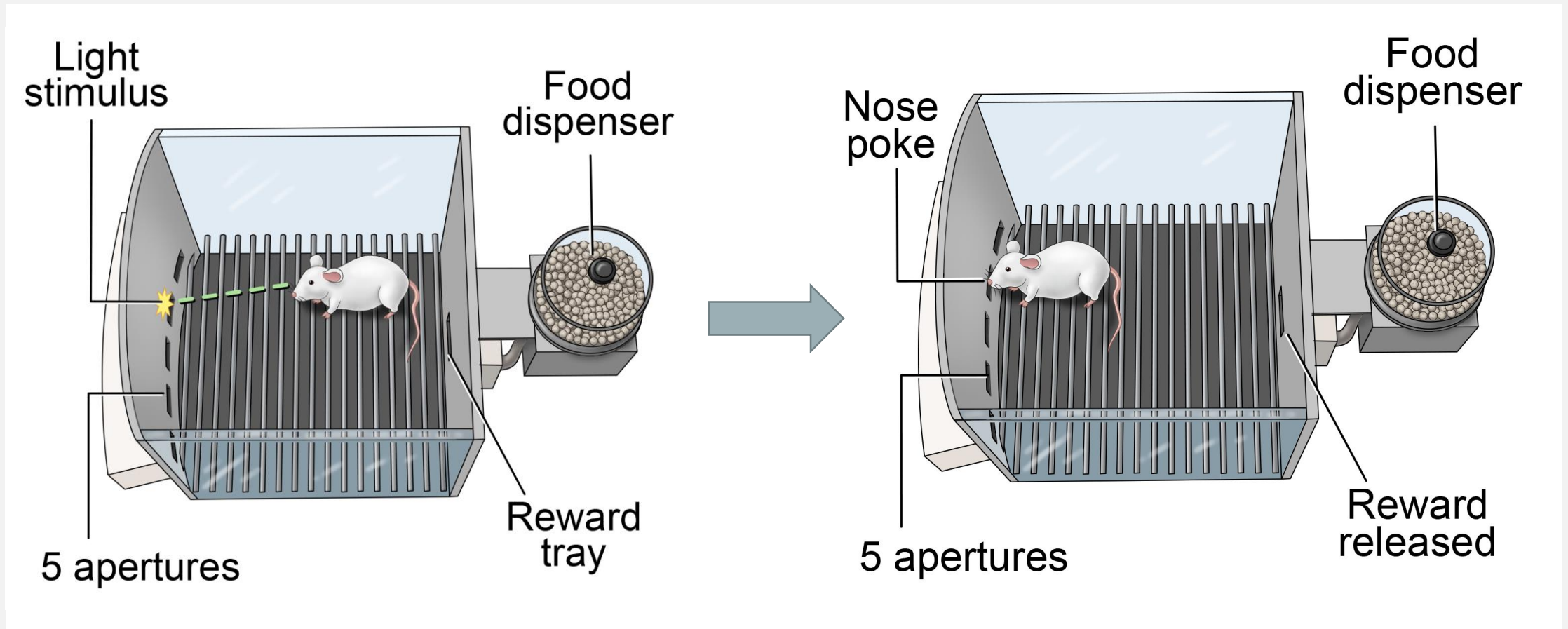


PREPULZNÍ INHIBICE



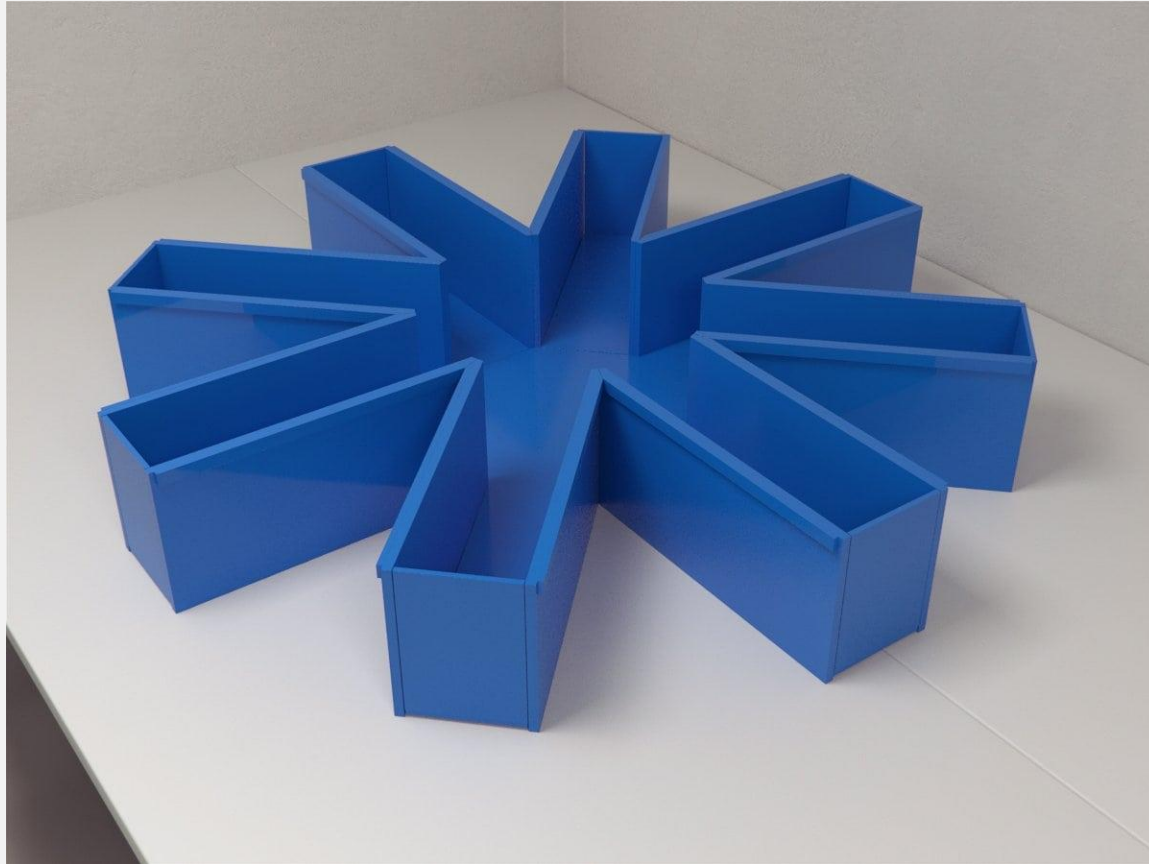
test prepulzní inhibice úlekové reakce

TESTY POZORNOSTI



test reakčního času s pěti výběry (5-choice serial reaction task)

PAMĚŤOVÉ TESTY – APETITIVNÍ



radiální bludiště



Y bludiště

PAMĚŤOVÉ TESTY - AVERZIVNÍ



klasické Morrisovo vodní bludiště



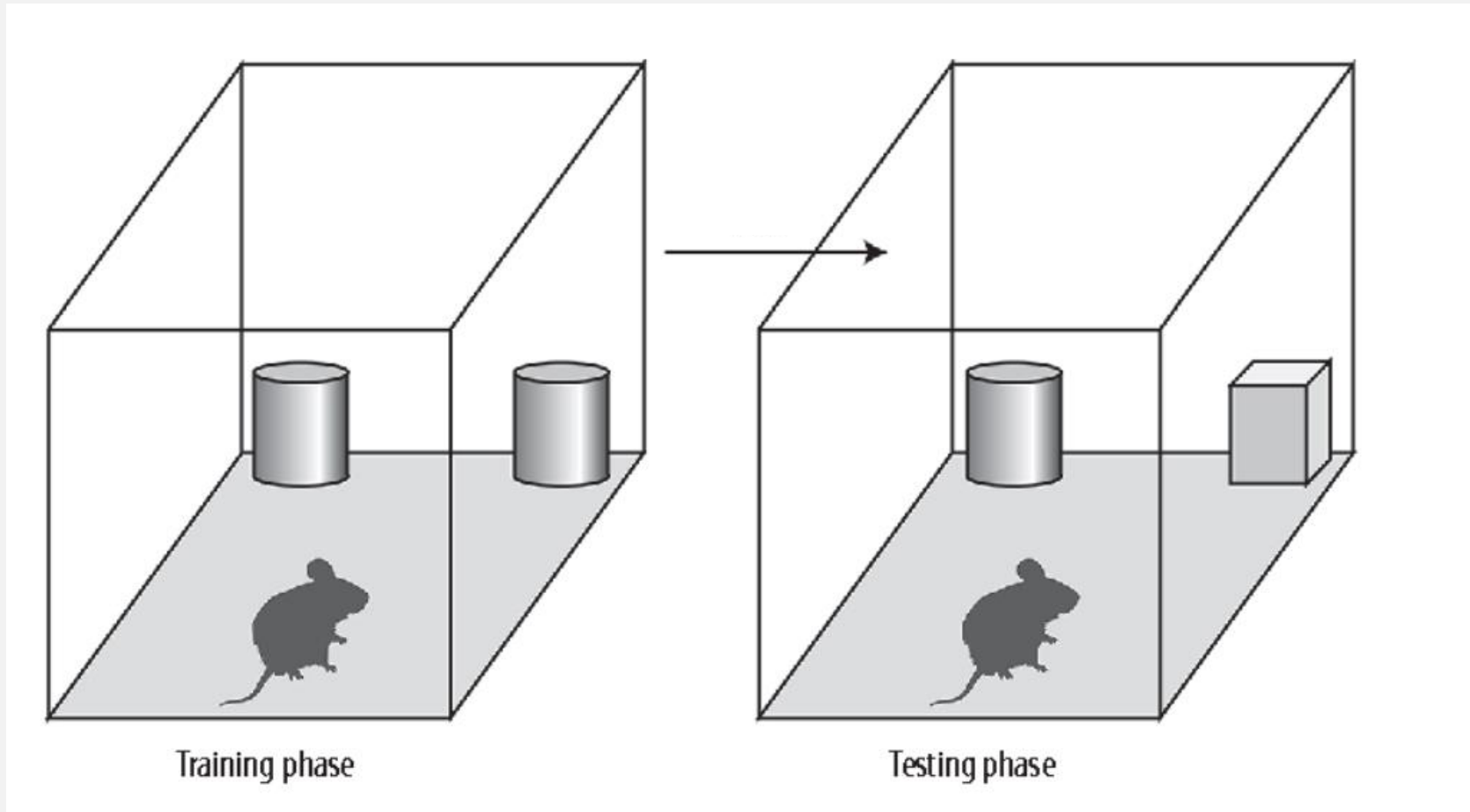
vodní bludiště ve tvaru T

PAMĚŤOVÉ TESTY - AVERZIVNÍ



bludiště Barnesové

PAMĚŤOVÉ TESTY - EXPLORAČNÍ



test rozpoznání nového objektu

PAMĚŤOVÉ TESTY – EXPLORAČNÍ



tříkomorový test

- test sociability (objekt vs. zvíře)
- test sociálního rozpoznání (známé vs. neznámé zvíře)

PAMĚŤOVÉ TESTY - APETITIVNÍ

VEED.IO

operantní úlohy s dotykovou obrazovkou

Bangasser et al, 2017

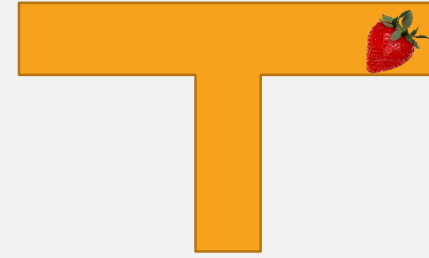
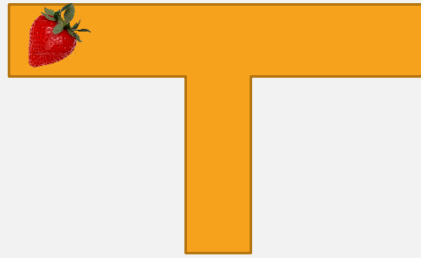
FLEXIBILITA PAMĚTI

- často označována jako behaviorální či **kognitivní flexibilita**
- když naučený behaviorální vzorec nevede ke kýženému výsledku
- definice: adaptivní změna v chování zvířete v reakci na změnu kontingence podnětu a posílení (reinforcer)
- 2 procesy
 - potlačení staré odpovědi
 - nalezení nového řešení
- mezi flexibilitu patří i pouhá extinkce – vyhasínání odpovědi, když není posilována
- 2 typy flexibility
 - **přeučování (reversal)**
 - **změna pozornostních setů (attentional set-shifting)**

KOGNITIVNÍ FLEXIBILITA

Přeučování (reversal)

- původně neodměňovaný podnět (objekt, místo, činnost) se stává odměňovaný
- $A+ \rightarrow A$ $B \rightarrow B+$

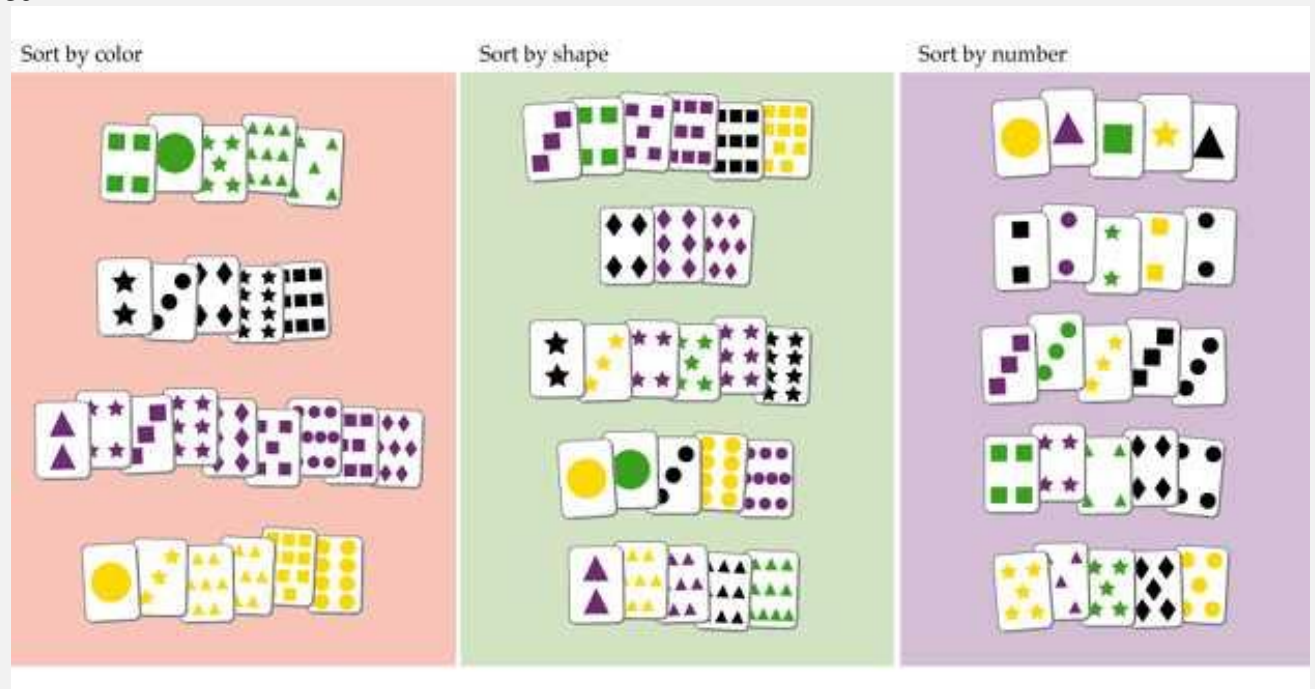


- při asociativním učení se vytváří vazba pozornosti s asociovaným podnětem, ostatní podněty bývají potlačeny. Proto se při přeučování můžeme setkat s těmito jevy:
 - Blokování (blocking): $A \rightarrow A+$, $AB \rightarrow AB+$, $B \rightarrow$ žádná asociace
 - Přehlížení (overshadowing): $AB \rightarrow AB+$, menší asociace pro B než při $B \rightarrow B+$
 - Latentní inhibice: $A \rightarrow A$; hůře se pak učí $A \rightarrow A+$

KOGNITIVNÍ FLEXIBILITA

Změna pozornostních setů (set-shifting)

- Wisconsinský test třídění karet
- odměna se po určité době pojí s odlišným pozornostním setem
- testuje tedy schopnost překonat pozornostní set
- pozornostní sety se zpravidla vyskytují v různých „dimenzích“
- Wisconsinské třídění karet má tři dimenze
- pozornostní set je typem mentálního setu



MENTÁLNÍ SETY

- naučené kognitivní vzorce, které ovlivňují následné cílené chování (čili způsob, jak selektivně vnímáme realitu; jak si ji účelově redukuje)
- součást **učení založeného na modelu** (model-based learning)
vytváření reprezentací prostředí, očekávání, predikcí
- mentální sety nám do jisté míry brání ve flexibilní změně chování



KOGNITIVNÍ FLEXIBILITA

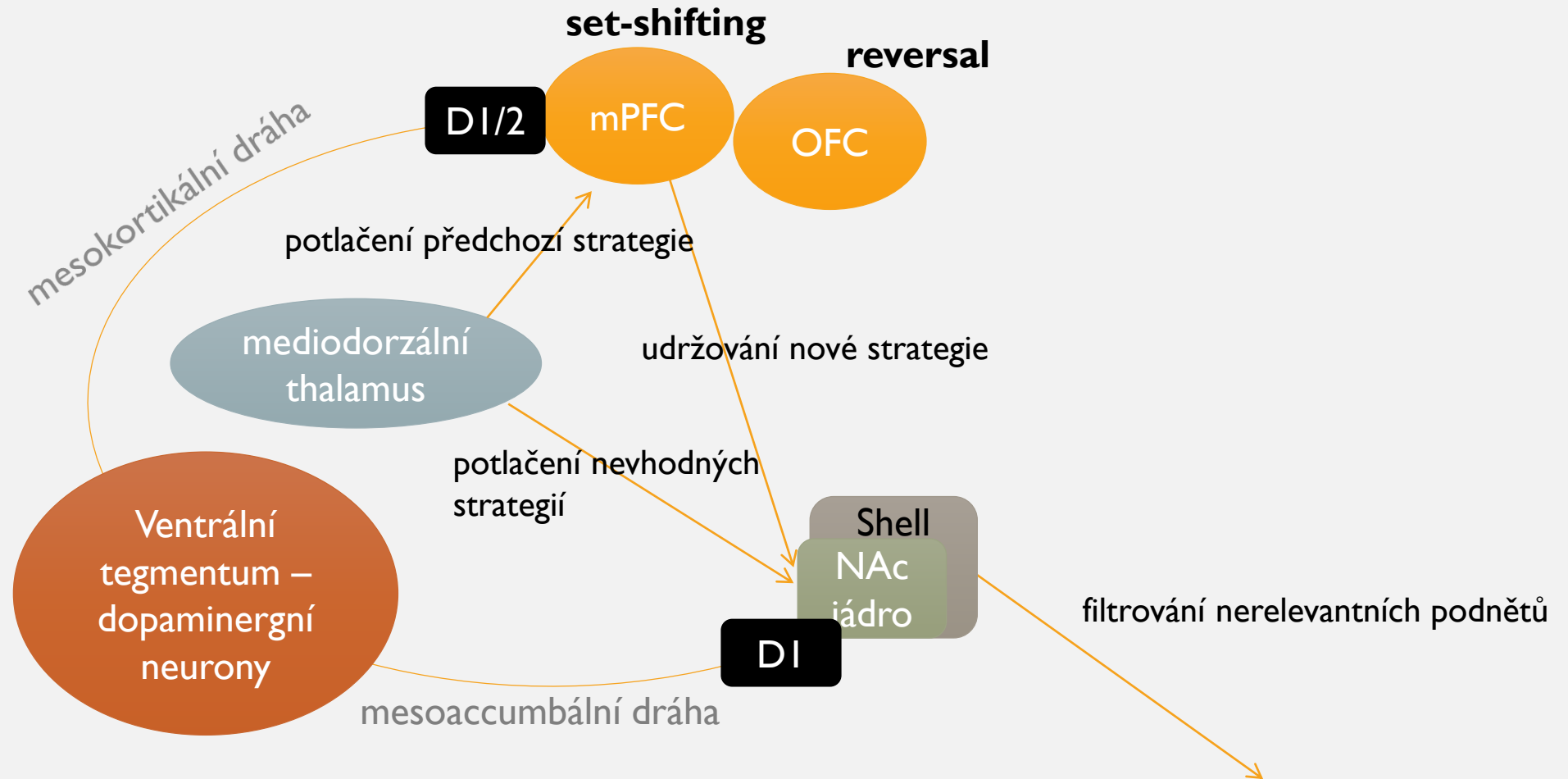
- standardizovaný soubor kognitivních testů Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB)
- intradimensional/extradimensional task (ID/ED test) – obsahuje reversal i set-shifting; uzpůsobený pro lidské subjekty a pro primáty
- analog pro hlodavce – pozornostní set-shifting úloha (ASST) dle Birrell a Brown (2000)
- odměna zahrabaná v misce
- dva sety podnětů (2 smyslové modality/dimenze)
 - **vůně** (bazalka, citrón, šeřík...)
 - **hrabací médium** (piliny, vata, papír...)



rozlišování (discrimination)	relevantní dimenze	irelevantní dimenze	odměňovaná kombinace	neodměňovaná kombinace
jednoduché	vůně		V1	V2
složené	vůně	médium	V1/M1 V1/M2	V2/M2 V2/M1
reversal 1	vůně	médium	V2/M1 V2/M1	V1/M1 V1/M2
změna v rámci dimenze (intra-dimensional shift)	vůně	médium	V3/M3 V3/M4	V4/M3 V4/M4
reversal 2	vůně	médium	V4/M3 V4/M4	V3/M3 V3/M4
změna mimo dimenzi (extra-dimensional shift)	médium	vůně	M5/V5 M5/V6	M6/V5 M6/V6
reversal 3	médium	vůně	M6/V5 M6/V5	M5/V5 M5/V6

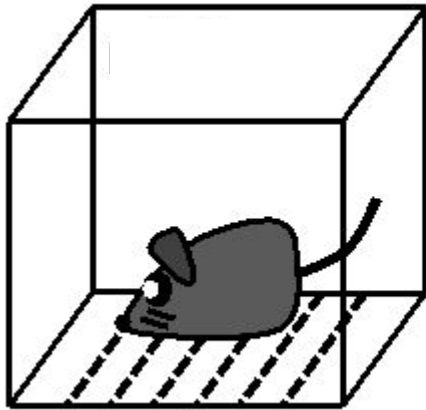


NEUROANATOMIE BEHAVIORÁLNÍ FLEXIBILITY

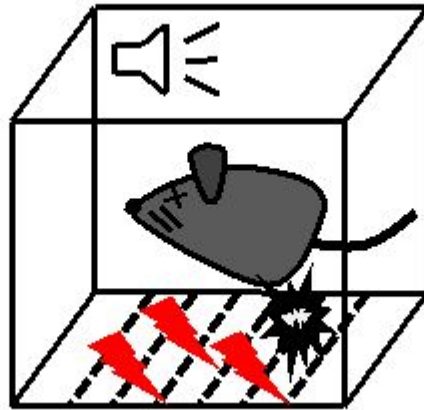


STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ

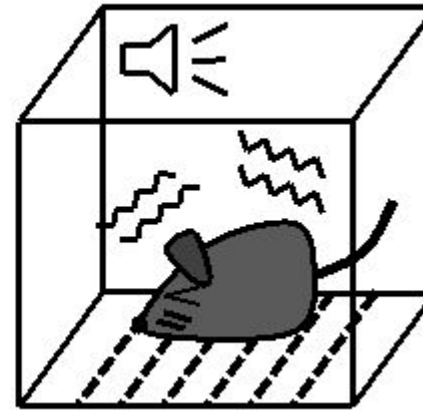
habituaace



učení



test

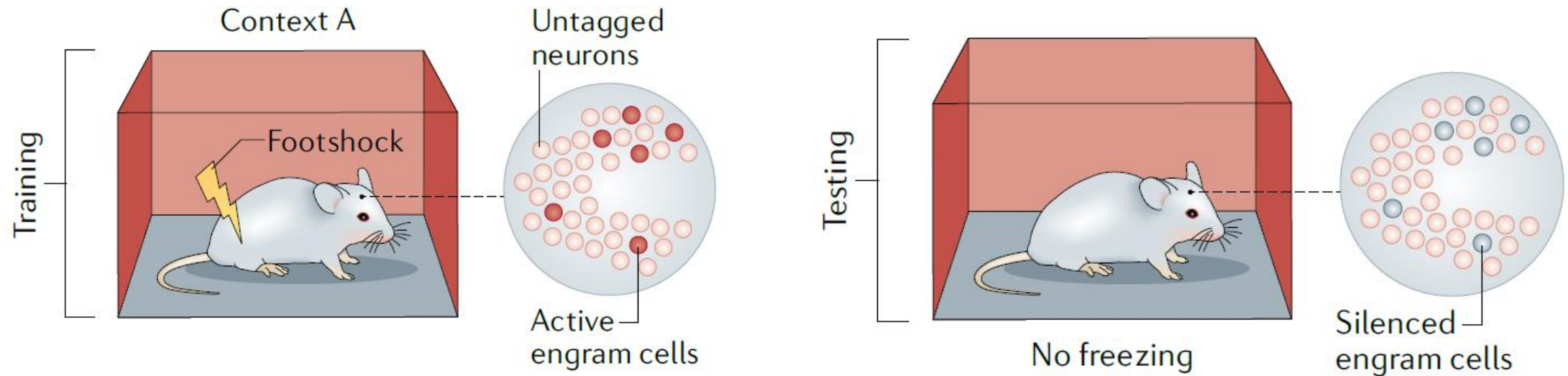


podmíněný podnět – zvuk
nepodmíněný podnět – šok

Podmíněná
odpověď - freezing

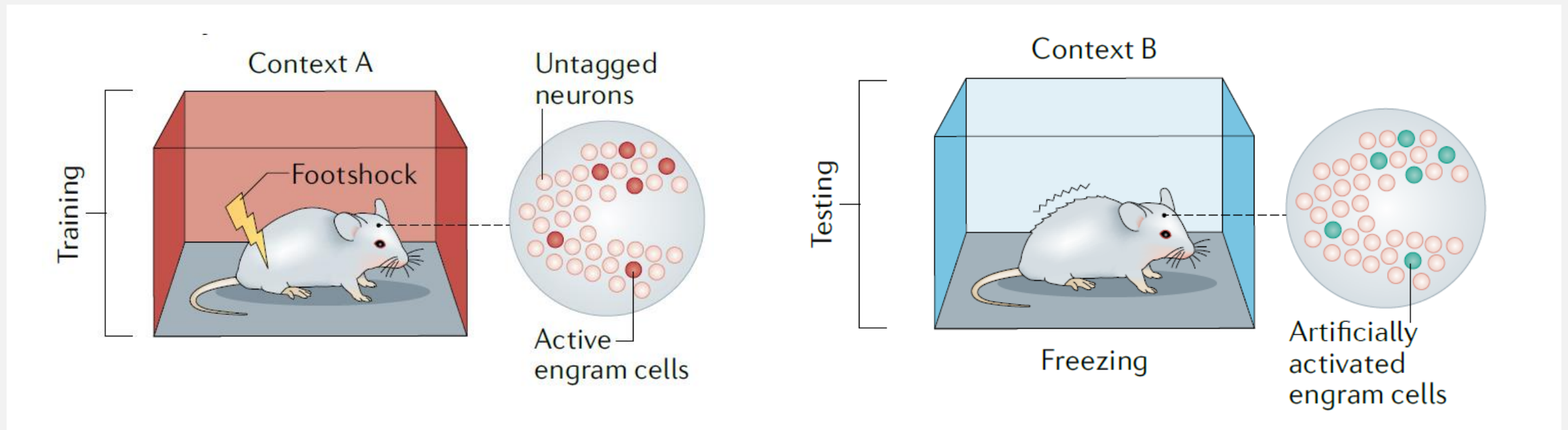
STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ – MANIPULACE S ENGRAMEM

- taggování engramových neuronů – označení neuronů, které jsou aktivní během vytváření strachové vzpomínky
- využití exprese raného genu c-fos
- pod jeho promotorem může být exprimována např. fluorescenční barvička
- a/nebo např. archeorhodopsin, což je světločivný kanál (protonová pumpa), jehož aktivace způsobí hyperpolarizaci neuronu
- světlem pak dokážeme engram vypnout

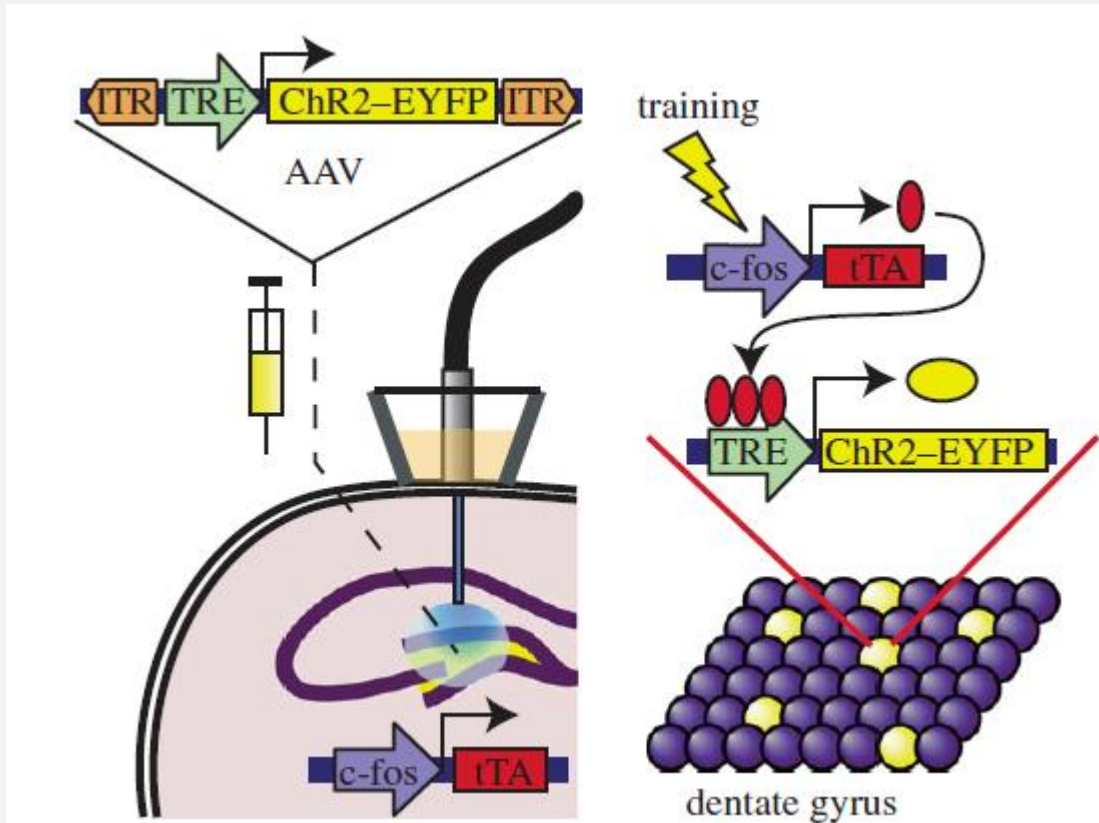


STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ – MANIPULACE S ENGRAMEM

- taggování engramových neuronů – označení neuronů, které jsou aktivní během vytváření strachové vzpomínky
- využití exprese raného genu *c-fos*
- pod jeho promotorem může být exprimována např. fluorescenční barvička
- a/nebo např. channelrhodopsin2, což je světločivný kanál, jehož aktivace způsobí depolarizaci neuronu
- světlem pak dokážeme engram aktivovat a vyvolat ve zvířeti vzpomínku i mimo původní kontext



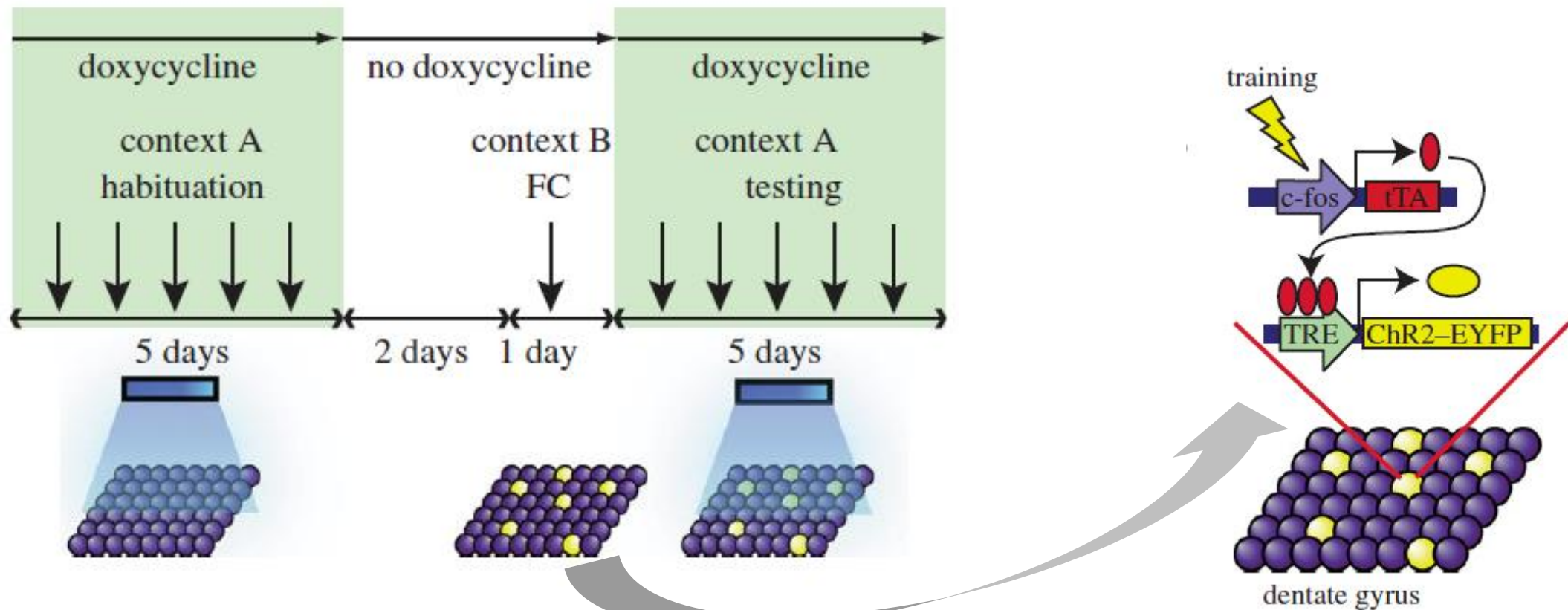
STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ – MANIPULACE S ENGRAMEM



Liu et al 2012

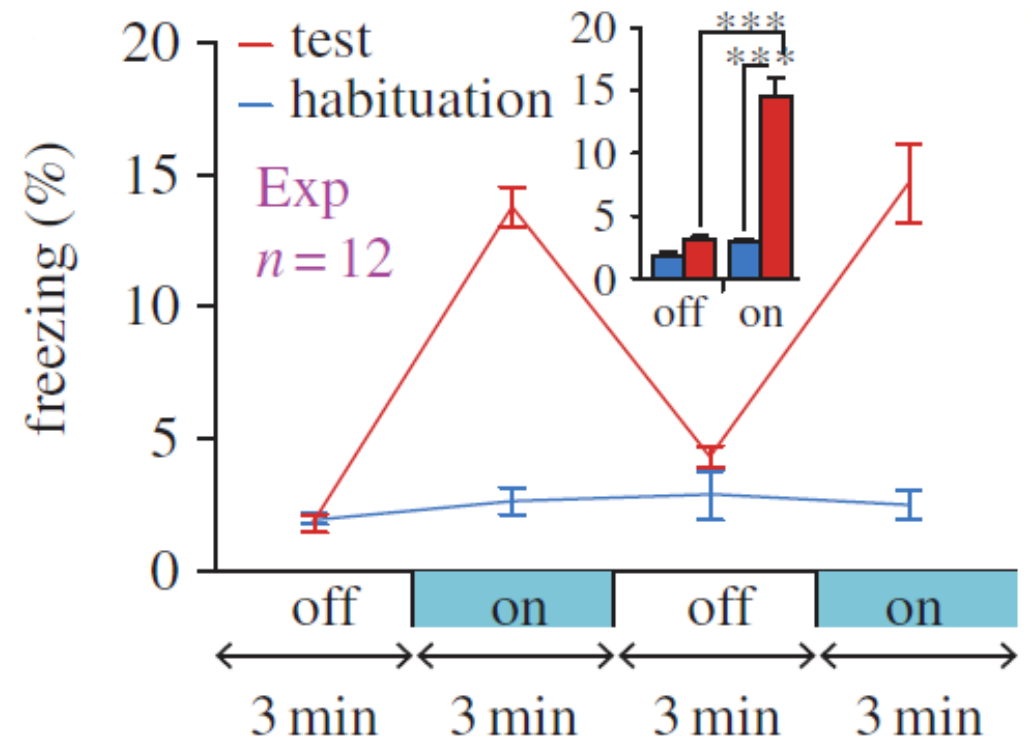
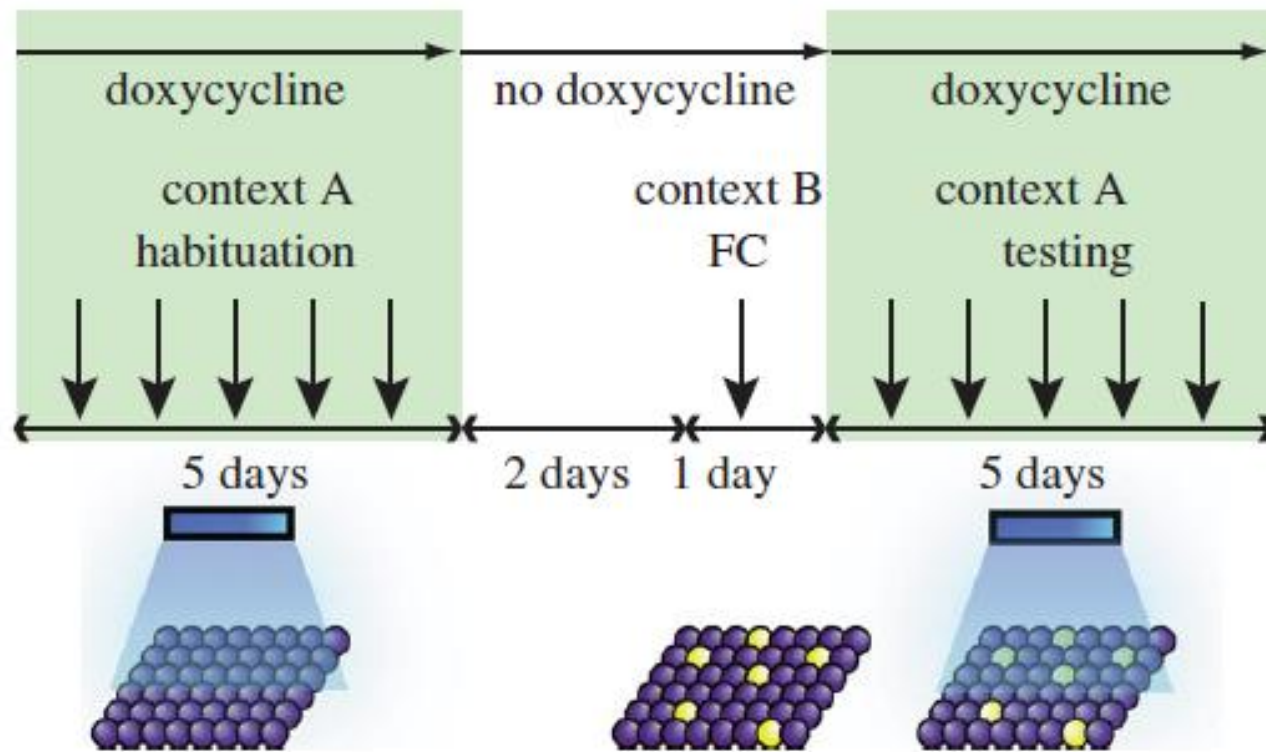
- Transgenní myš s genem pro tetracyklin-aktivátor (tTA) pod promotorem c-fos.
- Injekce adeno-asociovaného viru, který nese gen pro tetracyklin-response element (TRE), Channelrhodopsin 2 (ChR2) a žlutý fluorescenční protein (EYFP); vir transfekuje všechny neurony v gyrus dentatus
- Doxycyklin přítomen → inhibuje expresi tTA → inhibice exprese ChR2 + EYFP
- Doxycyklin není přítomen → exprese tTA v c-fos aktivovaných neuronech → vazba na TRE umožní expresi ChR2 + EYFP
- Strachové podmiňování vyvolá aktivitu cca 2-4% granulárních neuronů v gyrus dentatus → exprese c-fos → exprese ChR2 + EYFP
- Ve výsledku nesou všechny neurony aktivované během podmiňování Channelrhodopsin 2 (ChR2) a žlutý fluorescenční protein (EYFP)

STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ - MANIPULACE S ENGRAMEM



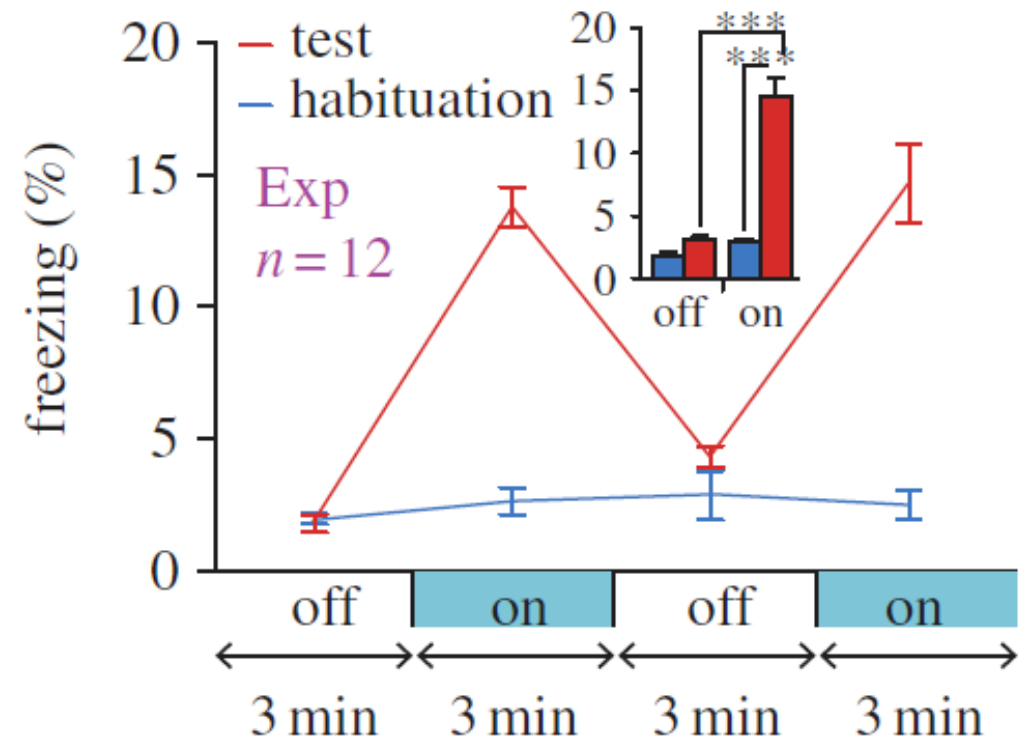
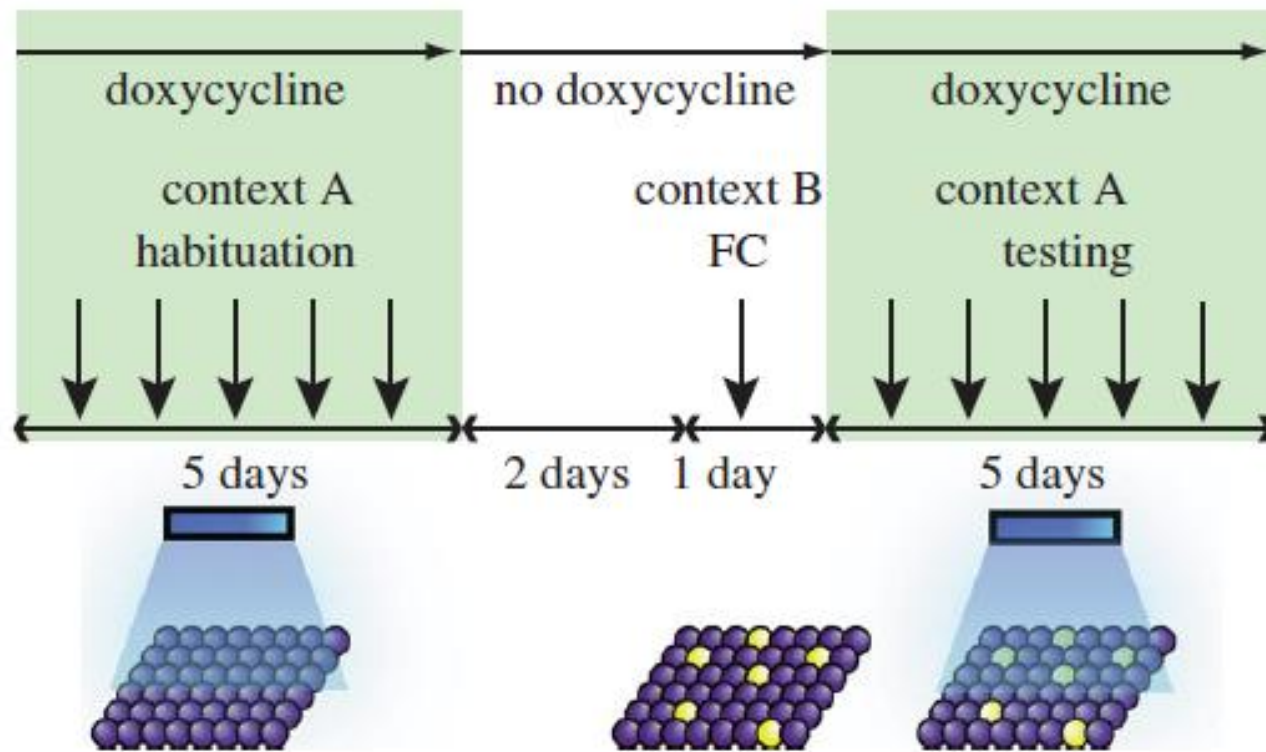
- Při habituaci nemá stimulace modrým světlem žádný efekt
- Zvíře si vytvoří strachovou vzpomínku v kontextu B, která se ale nepřenesse do kontextu A
- Stimulace modrým světlem ale otevře ChR2 kanál, dojde k aktivaci neuronu a tedy vybavení strachové vzpomínky i v kontextu A

STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ - MANIPULACE S ENGRAMEM



- Při habituaci nemá stimulace modrým světlem žádný efekt
- Zvíře si vytvoří strachovou vzpomínku v kontextu B, která se ale nepřenesla do kontextu A
- Stimulace modrým světlem ale otevře ChR2 kanál, dojde k aktivaci neuronu a tedy vybavení strachové vzpomínky i v kontextu A

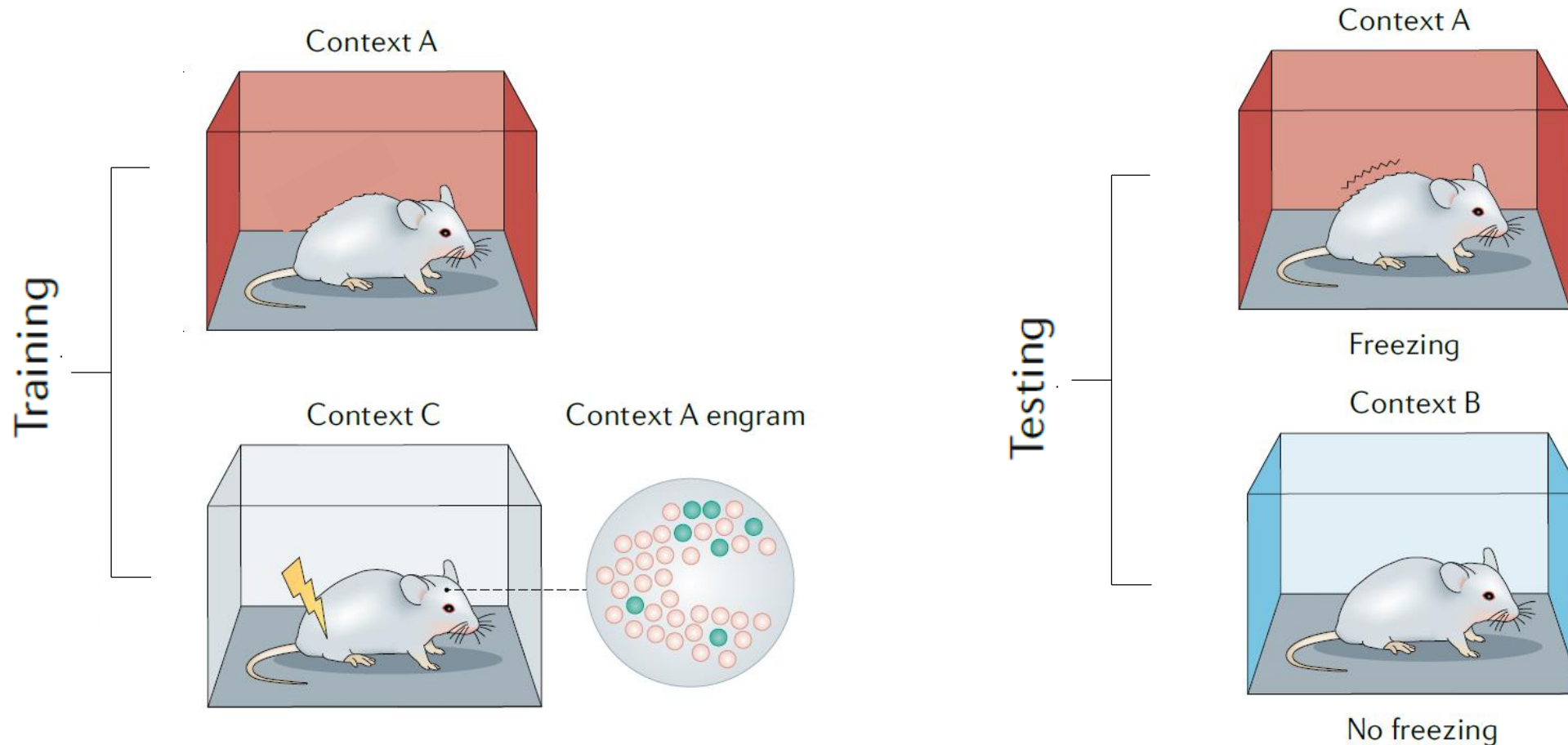
STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ - MANIPULACE S ENGRAMEM



- Závěr: Dokážeme uměle reaktivovat vzpomínku, aniž bychom zvíře vystavili původnímu kontextu ...aneb „rozsvítilo se mi“ zde dostává v souvislosti s pamětí nový rozměr...

STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ – MANIPULACE S ENGRAMEM

- reaktivace engramu neutrální vzpomínky v kontextu averzivní události může vést k implementaci „falešné paměti“



Neuroscientists plant false memories in the brain

MIT study also pinpoints where the brain stores memory traces, both false and authentic.

Anne Trafton, MIT News Office
July 25, 2013



Health » Food | Fitness | Wellness | Parenting | Live Longer

Scientists give mice false memories

By **Elizabeth Landau**, CNN

updated 3:36 PM EDT, Thu July 25, 2013

Scientists Trace Memories of Things That Never Happened



REPORT



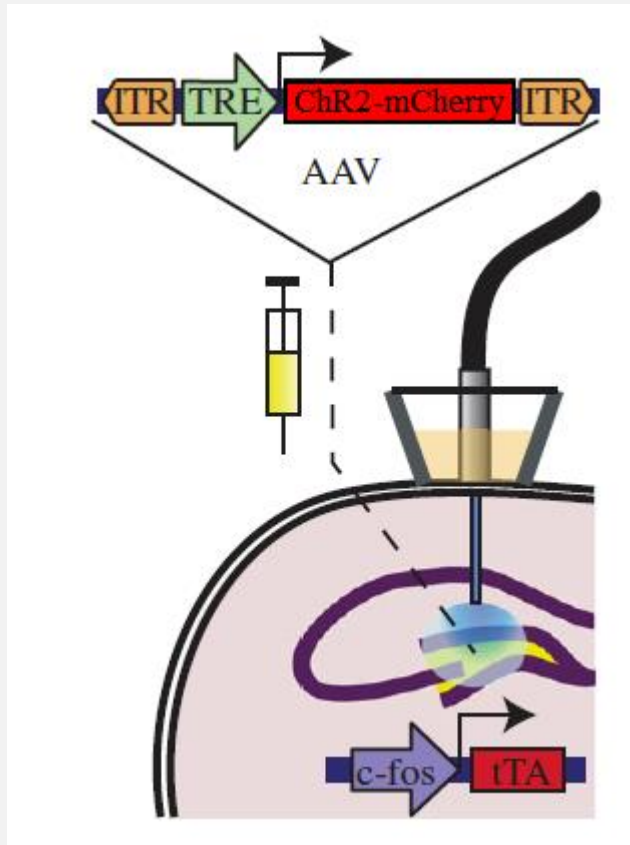
Creating a False Memory in the Hippocampus

[STEVE RAMIREZ](#), [XU LIU](#), [PEI-ANN LIN](#), [JUNGHYUP SUH](#), [MICHELE PIGNATELLI](#), [ROGER L. REDONDO](#), [TOMÁS J. RYAN](#), AND [SUSUMU TONEGAWA](#) [Authors Info & Affiliations](#)

SCIENCE • 26 Jul 2013 • Vol 341, Issue 6144 • pp. 387-391 • DOI:10.1126/science.1239073



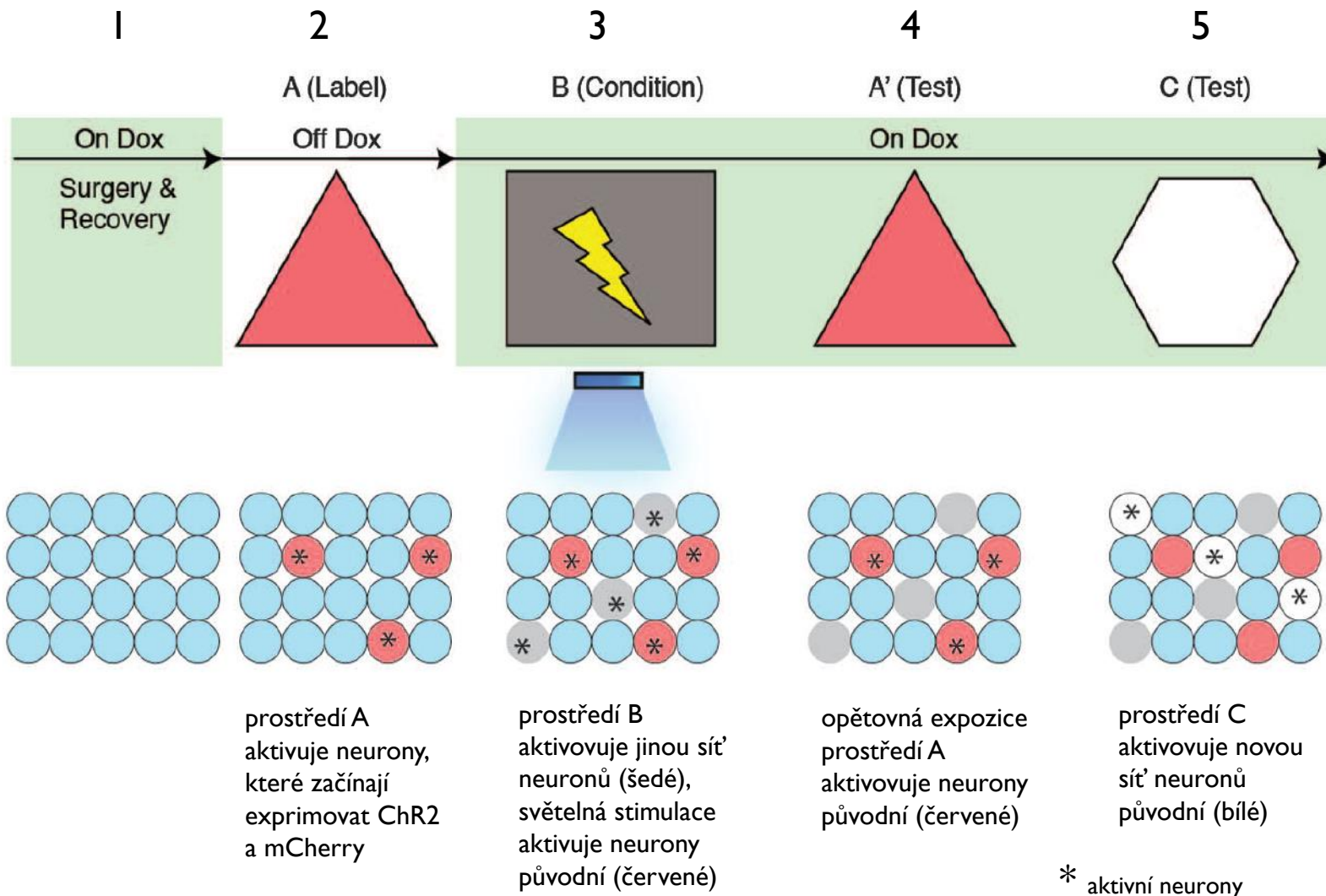
STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ – MANIPULACE S ENGRAMEM



Ramirez et al 2013

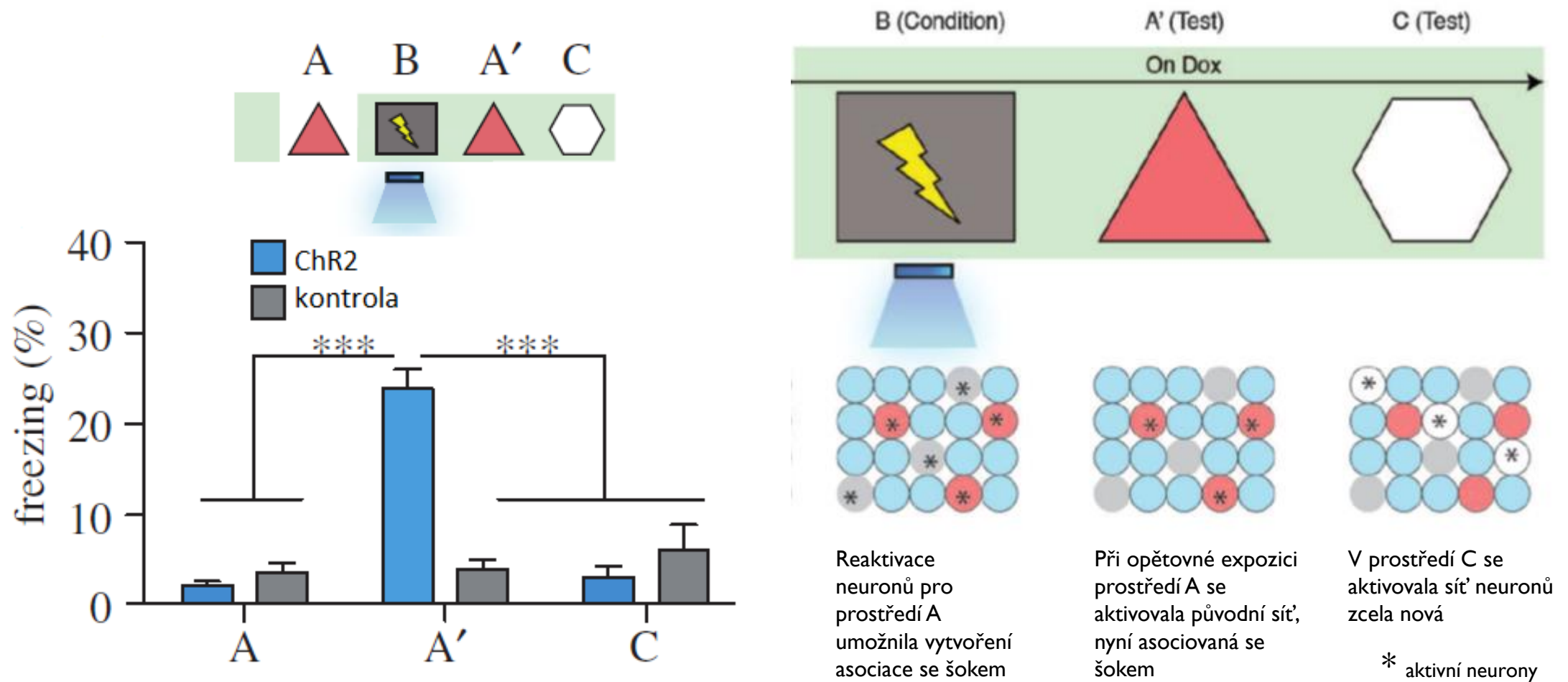
- Transgenní myš s genem pro tetracyklin-aktivátor (tTA) pod promotorem c-fos.
- Injekce adeno-asociovaného viru, který nese gen pro tetracyclin-response element, Channelrhodopsin 2 (ChR2) a červený fluorescenční protein (mCherry); vir transfekuje všechny neurony v gyrus dentatus

STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ – MANIPULACE S ENGRAMEM



1. Zvíře dostává doxycyklin – nedochází k expresi ChR2
2. Vysazen doxycyklin, zvíře exploruje prostředí A – exprese ChR2 v c-fos aktivovaných neuronech
3. Opět nasazen doxycyklin; zvíře exploruje prostředí B, kde dostává šok, za současné aktivace ChR2 modrým světlem
4. Zjišťuje se míra nehybnosti v prostředí A
5. Zjišťuje se míra nehybnosti v prostředí C, ve kterém zvíře předtím nikdy nebylo

STRACHOVÉ PODMIŇOVÁNÍ – MANIPULACE S ENGRAMEM



- Závěr: Podařilo se vytvořit umělou vzpomínku – zvíře si vybavilo šok v prostředí, v němž šok nikdy nedostalo.

DĚKUJI ZA POZORNOST

