

# 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)

**Behaviorální testy** - experimentální přístupy  
(A. Stuchlík)

**Novinky z oblasti výzkumu chování**  
(Š. Kubík)

**Kognitivní deficit a demence** – diagnostika a projevy  
(J. Laczó)





# 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)

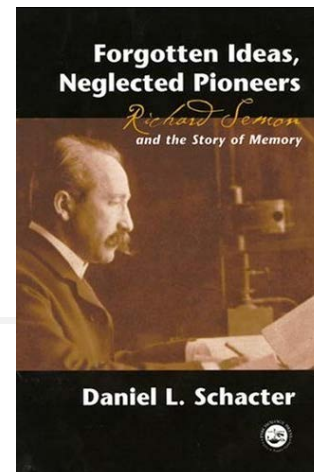


# Učení – Uchování - Vybavení

---

- Učení zahrnuje percepci, zpracování a uložení informací
  - U zvířat se projevuje změnou **chování**
  - Různé podtypy: **neasociativní, asociativní, operantní**
  - Multimodální učení - prostorová paměť
- Uchování paměti (memory storage)
  - „Uskladnění“ různých typů paměti (*multiple memory systems*)
  - Mechanismus souvisí se synaptickou plasticitou
- Vybavení paměti
  - Vybavení (retrieval, recall) je reaktivace paměťové stopy, při které dochází k
  - (Re)konsolidaci paměti – transformace, generalizace, vyhasínání.
  - Změna chování je to, co můžeme měřit u zvířat, u člověka lze verbalizovat.
  - Spontánní nebo vyvolané určitým podnětem, kontextem, či motivací (hlad)

# Paměťová stopa – engram (*memory trace*)



- **Termín navržen Richardem Semonem (1921)**
  - *Semon, R. (1921). The Mneme. London: George Allen & Unwin.*
  - Jednotlivá vzpomínka - „kousek“ paměti
  - Specifické „místo“, kde je uložena konkrétní vzpomínka, ALE!
- **Distributed encoding and storage**
  - Kódování informace v řadě oblastí mozku je distribuované, tj. „rozprostřené“ v celé populaci, spíše než dedikované, kdy jednotlivé neurony mají danu specifickou funkci.
  - Řada typů paměti je v mozku prostorově distribuována napříč strukturami (multimodální).
- **Synaptická plasticita = změna účinnosti synaptického přenosu**
  - Dynamická povaha paměťových stop je založena na změnách účinnosti synaptických spojení, které vedou ke změnám v aktivitě neuronálních obvodů a ke změně chování.



# Klasifikace učení a paměti - Multiple memory systems

---

„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

**Dělení paměti je celá řada...**

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

# Krátkodobá a pracovní paměť

## Krátkodobé udržení informace

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

**Pracovní paměť** – v podstatě teoretický konstrukt kognitivní psychologie

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

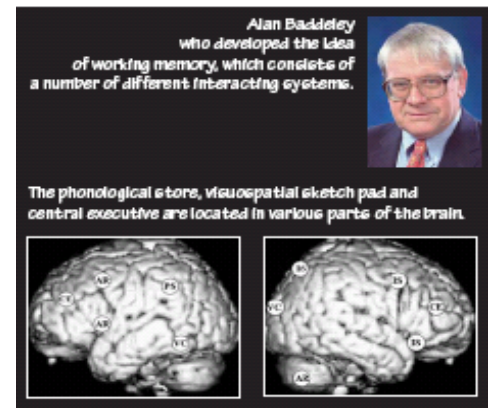
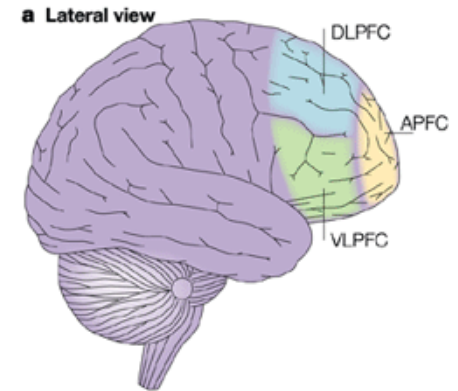
Vizuospaciální náčtrník

a Fonologická smyčka

Struktury – prefrontální, ale také parietální kůra, hippocampus, thalamus, bazální ganglia. V PFC je možné přímo u zvířat (primátů) měřit neurony, které odpovídají na určité stimuly během řešení úlohy pracovní paměti. Léze nebo funkční inaktivace PFC u zvířat vede k narušení pracovní paměti.

U zvířat

Alternace v Y-bludišti, osmiramenné radiální bludiště, DMP ve 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 (intetrakce mezi modalitami, např. tón-barva-číslovka-vlastnost)

Další mnemonisté - AJ, ...

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 plastických změn

---

- **Konsolidace – upevnění paměťové stopy z labilního do stabilního stavu**
- **Závislá na expresi genů a syntéze nových bílkovin** > remodelace synapsí, zvýšení počtu spojení, dendritických trnů apod.
- **Může být definována na různých úrovních**
  - **Synaptická – na úrovni jednotlivých spojení**
  - **Systémová – na úrovni mozkových struktur**
    - **Jedná se spíše o transformaci spojenou s určitou generalizací**
  - **Buněčná - změny v synaptické účinnosti měřitelné např. jako LTP či LTD**
    - **Není totožná se (specifickou) synaptickou k., je to populační jev.**
- **Rekonsolidace – opakovaná konsolidace po vybavení paměťové stopy**
  - **Slouží aktualizaci – jen u některých typů paměti**
  - **Dá se využít k potlačení intruzivních vzpomínek, např. ve spojení s beta-blokátory při PTSD**

# Mechanismy učení a paměti



**Učení jako základ adaptivních změn chování je založeno na změnách neuronální aktivity. Kandidátním mechanismem těchto změn je synaptická plasticita, která také mění zpracování signálu a podílí se na uchování paměťové stopy.**

**Synapse – chemické - synaptická plasticita  
elektrické – interneurony a glie**

# Typy synapsí

## Chemické synapse

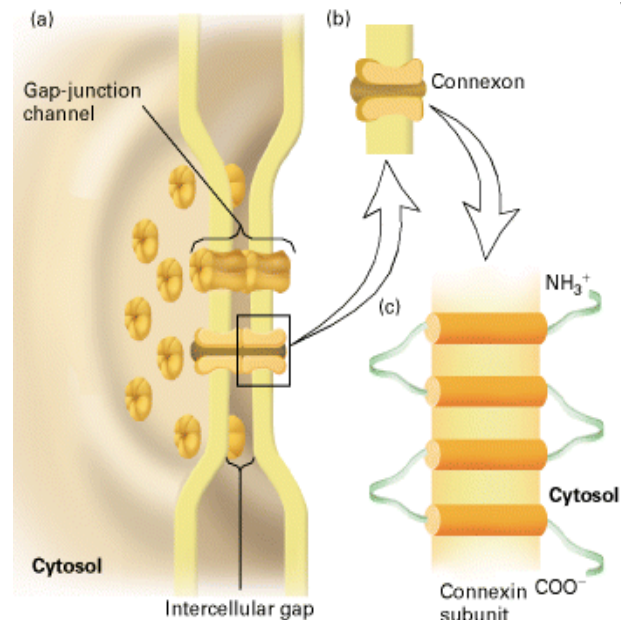
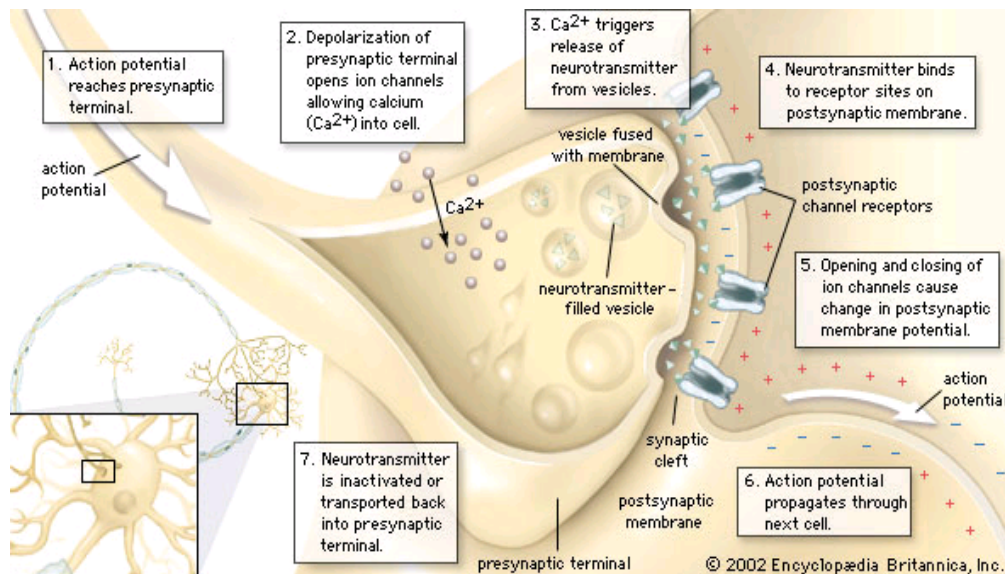
(Ne)spojení jedné nervové buňky s jinou, popř. s jinou efektorovou buňkou (svalovou, žláznou)

Typický neuron tvoří řádově tisíce synapsí, lidský mozek obsahuje řádově  $10^{14}$  synapsí,

Ch.S. Sherrington – autor termínu synapse (řecké „syn“ - spolu a haptain“ – obejmout, stisknout).

Axodendritické, axo-axonální, axosomatické, atd.

Synaptické zpoždění (cca 1ms) – doba potřebná ke vtoku vápníku do zakončení a k fúzi synaptických vezikulů s membránou.



## Elektrické synapse

Přímé nízkoodporové elektrické propojení dvou buněk – absence synaptického zpoždění, typického pro chemickou synapsi.

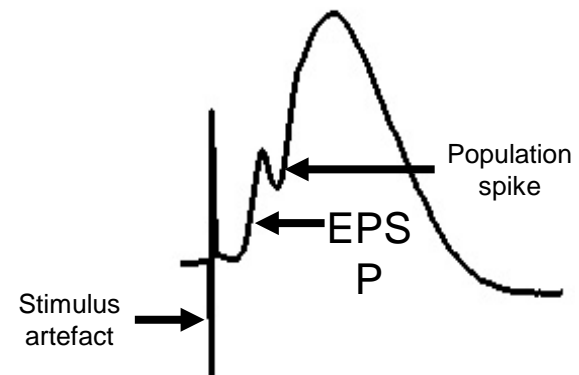
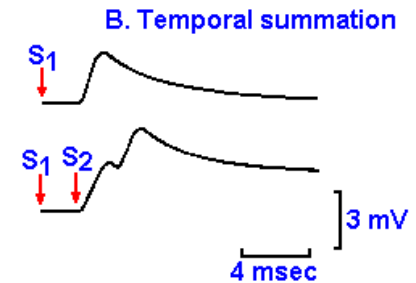
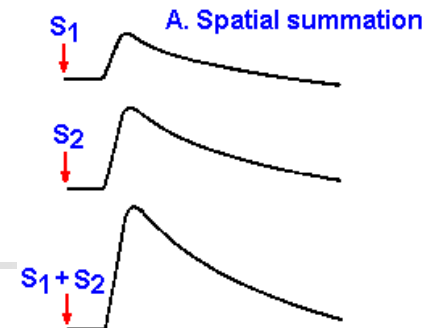
Méně mechanismů pro plasticitu.

Avšak existují usměrňující *gap junctions*, pro které je vodivost v jednom směru podstatně vyšší než v druhém.

Především u gliových buněk a interneuronů

# Synaptická plasticita

- Je nejpravděpodobnějším mechanismem uchování 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

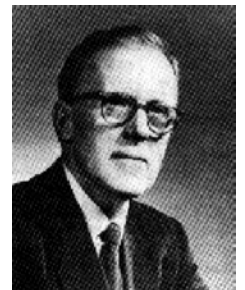
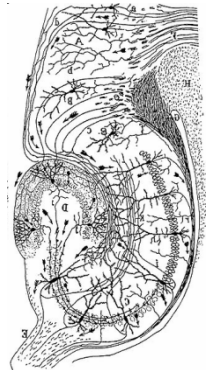
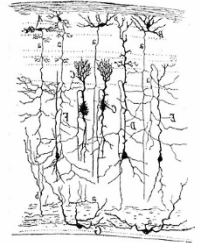
- Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) byl v roce 1894 prvním, kdo navrhl představu, že učení není zprostředkováno přírůstkem počtu neuronů, ale ke změnou síly spojení mezi těmito neurony.
- Tuto myšlenku významně rozvinul Donald Hebb (*Hebb, D. O. (1949) The Organization of Behavior, John Wiley & Sons, 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, často 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

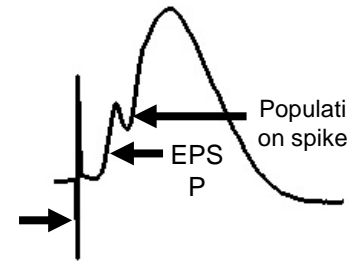
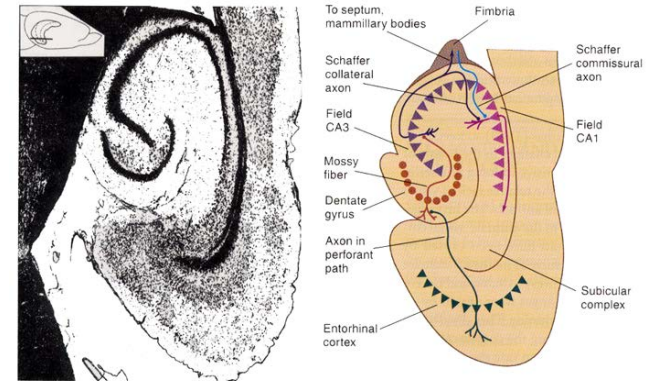
Mechanismů podílejících se na synaptické plasticitě je mnoho, např.:

- fosforylace receptorů,
- zvýšení intracelulárního  $Ca^{2+}$ ,
- vkládání receptorů do syn. štěrbin,
- 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)

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



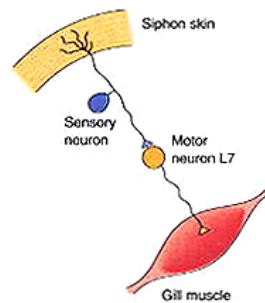
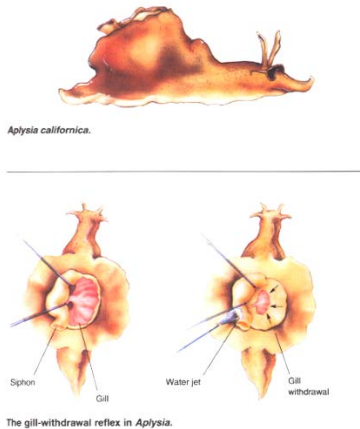
Populační excitační postsynaptický potenciál (fEPSP) v gyrus dentatus drážděním perforující dráhy (svazku přicházejícího z entorhinální kůry)

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

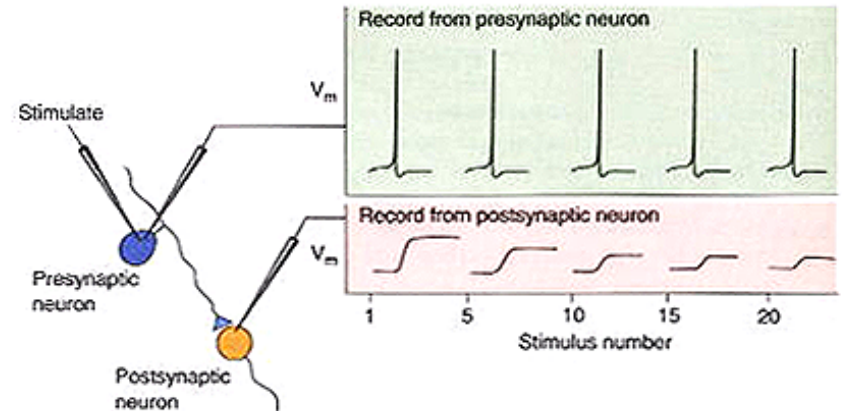
# Formy synaptické plasticity pozorované u nižších bezobratlých

- *Aplysia californica*
- Několik tisíc snadno identifikovatelných, poměrně velkých neuronů.
- Zpravidla se studuje odpověď žaber (gill) na podráždění sifonu (siphon), kterým zvíře nasává a filtruje mořskou vodu  
Někdy vědci studují i zatahování sifonu

Sifon je inervován senzoryckým neuronem (LE mechanosenzorem), který je synapticky spojen s postsynaptickým motorickým neuronem (L7) inervujícím žábry



A simple wiring diagram for the gill-withdrawal reflex. The sensory neuron which detects stimuli applied to the skin of the siphon synapses directly on the motor neuron that causes the gill to withdraw.



Habituation at the cellular level. Repeated electrical stimulation of a sensory neuron leads to a progressively smaller EPSP in the postsynaptic motor neuron.

Habituaace - při opakovaném dráždění došlo jak ke snížení behaviorálních odpovědí, tak ke snížení amplitudy postsynaptického potenciálu.

# Synaptické změny v důsledku učení u Aplysie

E. Kandel se svým týmem zjistil, že v důsledku dlouhodobé habituace (opakovanou taktilní stimulací) nebo senzitivace (opakovaným šokováním do ocásku), dochází u zeje ke změně **počtu synaptických spojení** – v důsledku toho i ke změně účinnosti synaptického přenosu

= jeden z příkladů SYNAPTICKÉ PLASTICITY

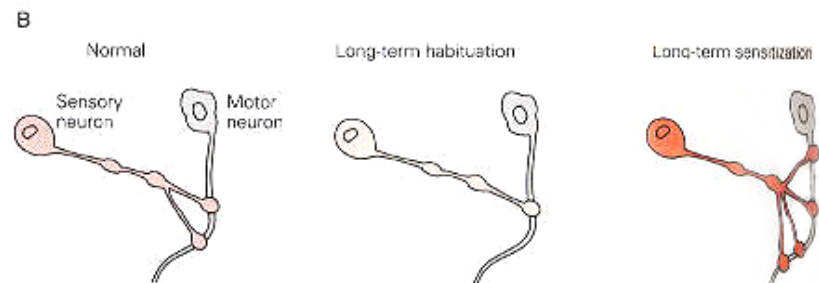
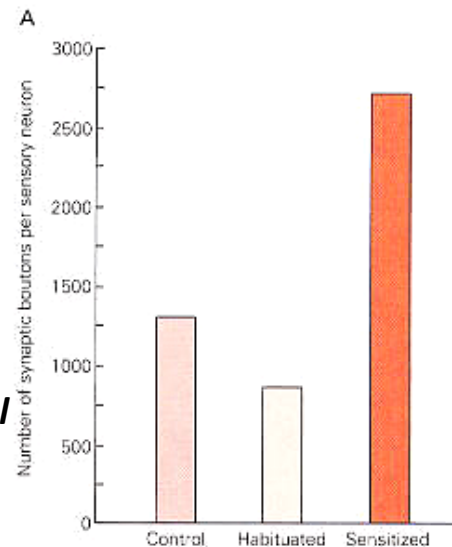
**Avšak zvýšení počtu synapsí je pouze jeden z mechanismů...**

Zajímavost: před časem bylo u Aplysie popsáno také operantní podmiňování (*Hawkins, R.D., Clark, G.A., & Kandel, E.R. (2006). Operant Conditioning of Gill Withdrawal in Aplysia. The Journal of Neuroscience, 26, 2443-2448*).

Pokud Aplysie povolila žábry po určitou hranici, byla „potrestána“ mírným šokem do ocásku.

Zvířata se tedy naučila operantně žábry zatahovat, aby tomuto potrestání vyhnula

Vzhledem k tomu, že neurony inervující struktury, které se tohoto chování účastní, jsou již identifikovány, mohlo by to otevřít cestu ke studiu buněčných mechanismů tohoto typu učení.





# Synaptická plasticita u savců

- **Synaptická plasticita** je pozorovatelná samozřejmě i u vyšších obratlovců a dlouho se předpokládá, 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*)

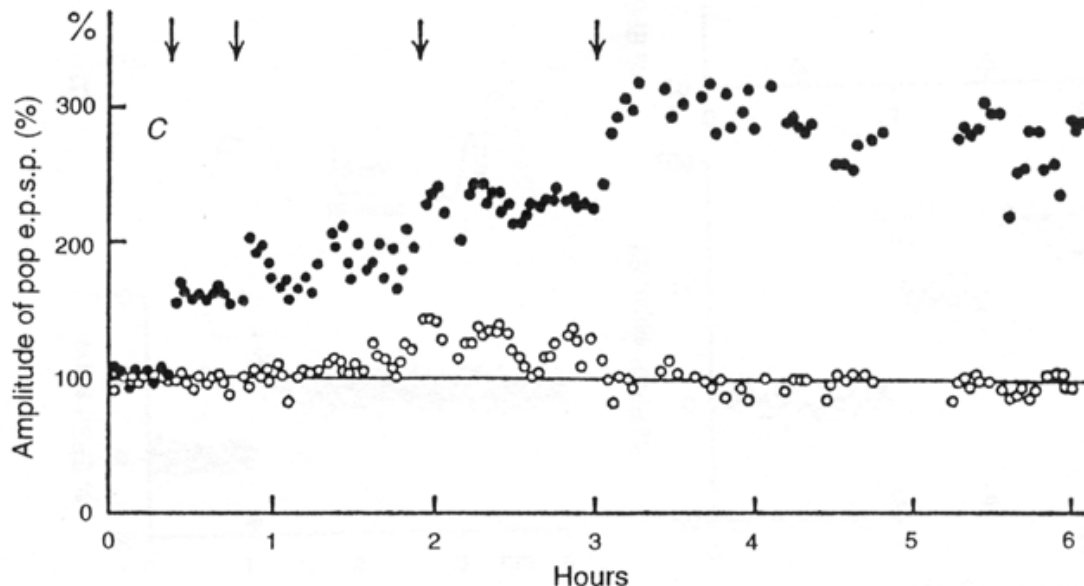


Tim Bliss



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

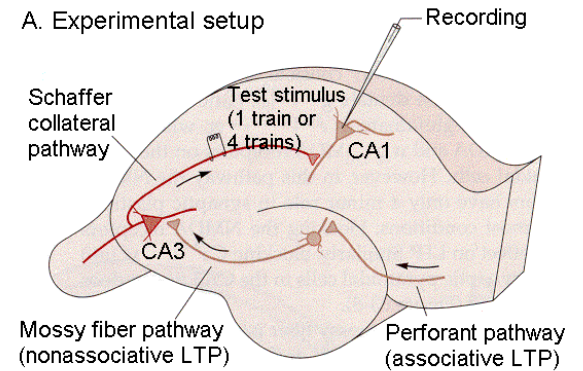
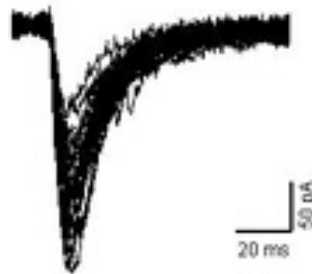
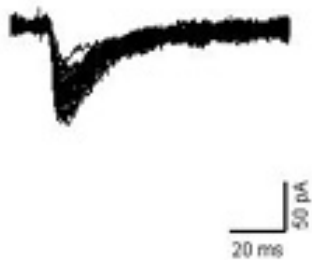
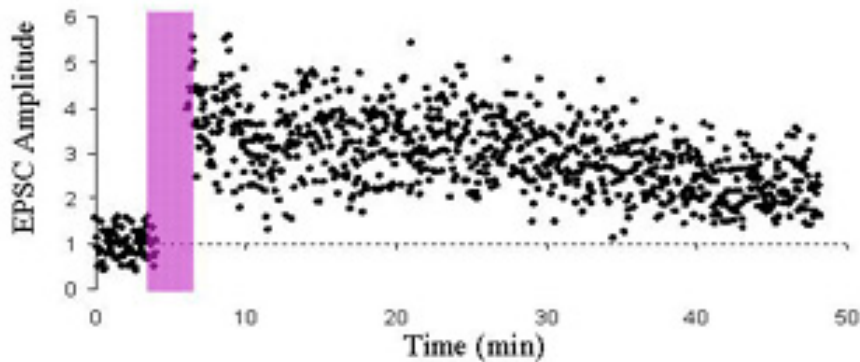
Později popsána i u volně  
pohyblivých zvířat, včetně  
potkanů a myší

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

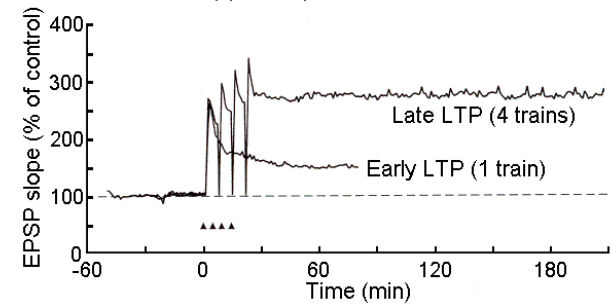
Lákové přirovnání  
E-LTP ~ krátkodobá paměť  
L-LTP ~ dlouhodobá paměť  
Není to tak jednoznačné  
Časově to ne vždy odpovídá

# Dlouhodobá potenciace

*Long Term Potentiation, a mechanisms for memory formation*



B. LTP in the hippocampus CA1 area



- Časná fáze – nezávislá na proteosyntéze
  - Induction
  - Maintenance
  
- Pozdní fáze – závisí na syntéze nových bílkovin a remodelaci synapse.
  - Induction
  - Maintenance

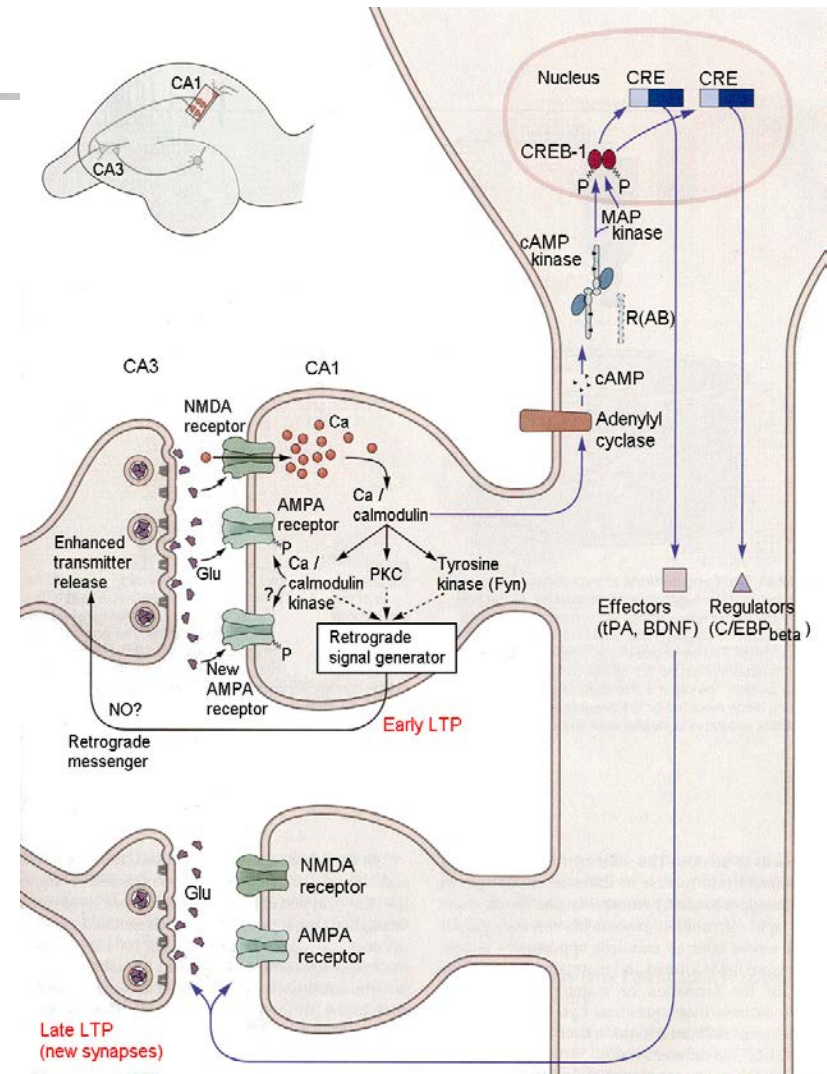
# Mechanismy časně a pozdní fáze LTP

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

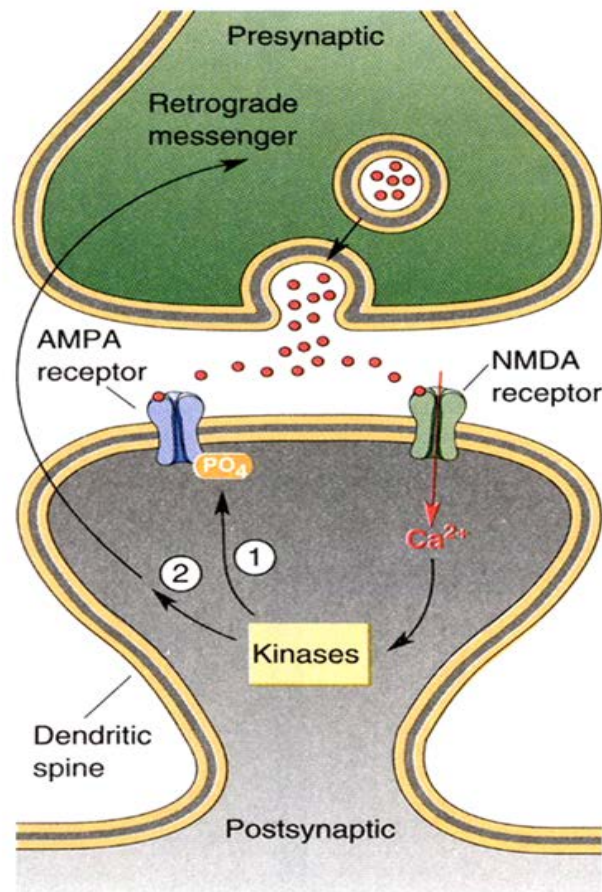
- **Udržování časně** - CMKII a PKC ztrácí závislost na vápníku – perzistentní aktivita > fosforylace AMPA receptorů, inserce AMPA receptorů (**bez proteosyntézy**)

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

- **Udržování pozdní** – ERK fosforyluje řady cytosolických a jaderných molekul, které nakonec vedou k expresi specifických genů (včetně těch časných) a syntéze proteinů, které udržují late-LTP, především PKM $\zeta$



# Exprese pozdní LTP – proteinkináza *Mzeta* (PKM $\zeta$ )



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

Ta je patrně spojovacím článkem mezi časnou a pozdní LTP.

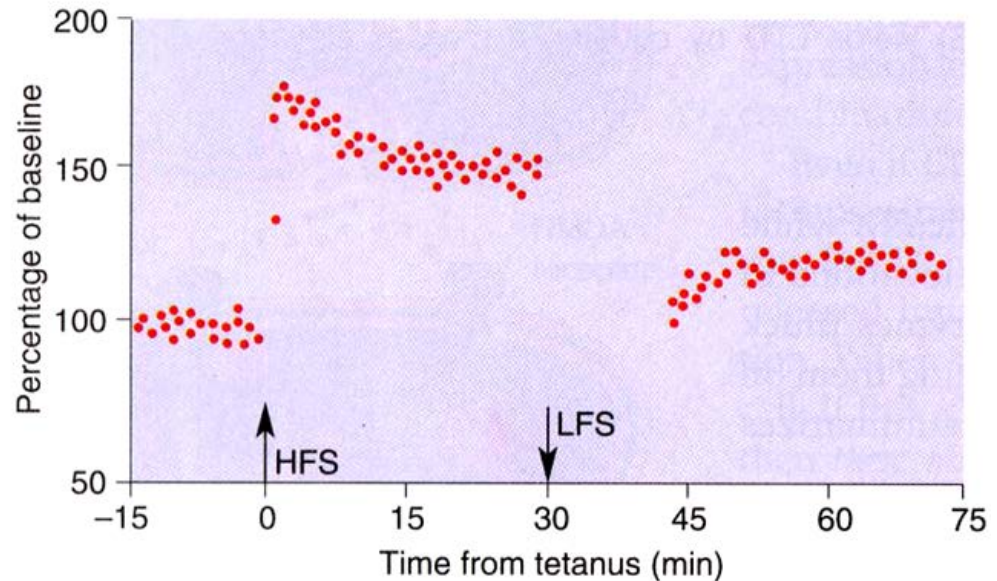
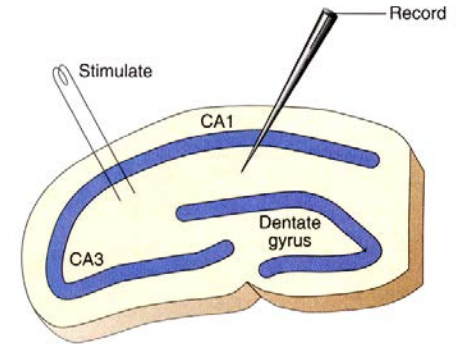
ERK fosforyluje řadu proteinů a signálních molekul (jak cytoplazmatických, tak jaderných), včetně transkripčních faktorů.

Klíčovou molekulou pro udržovací fázi pozdní LTP je proteinkináza *Mzeta* (PKM $\zeta$ )

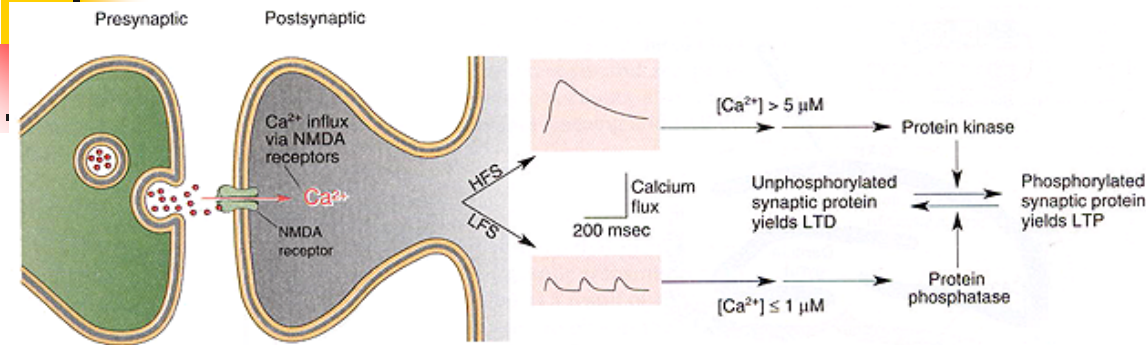
Je to atypická izoforma PKC, která postrádá regulační podjednotku a je trvale aktivní. Tato molekula je syntetizována a je nezbytnou a dostačující podmínkou pro L-LTP a udržování dlouhodobé paměti.

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

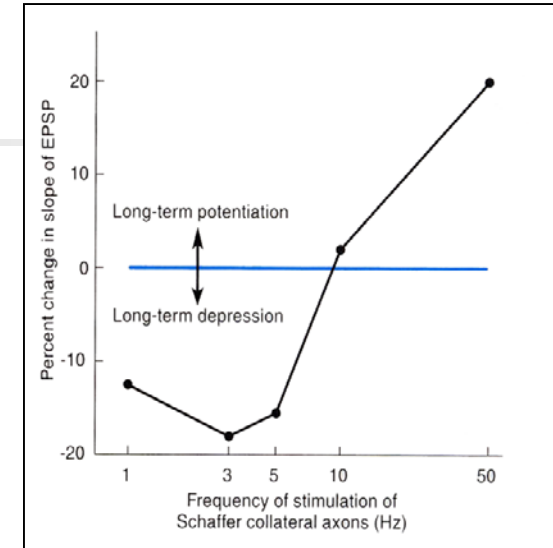
- Opak dlouhodobé potenciace, jde o dlouhodobé snížení účinnosti synaptického přenosu následkem repetitivní (asynchronní) stimulace presynaptických vstupů (a postsynaptické aktivity).
- Je to vlastně protějšek LTP, z fyziologického hlediska se zdá být intuitivně nezbytný („what goes up, must go down“)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



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



A model for how Ca<sup>2+</sup> can trigger both LTP and LTD in the hippocampus. High-frequency stimulation (HFS) yields LTP by causing a large elevation of [Ca<sup>2+</sup>]. Low-frequency stimulation (LFS) yields LTD by causing a smaller elevation of [Ca<sup>2+</sup>]. (Source: Adapted from Bear and Malenka, 1994, Fig. 1.)



LTD je zpravidla (ne vždy) podmíněna aktivací NMDA receptorů a zvýšením intracelulárního vápníku, avšak méně než u LTP.

LTD se mohou účastnit také metabotropní glutamátové receptory (mGluR), popř. kanabinoidní receptory (rovněž spřažené s G-proteinem)

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

V pozdní fázi zahrnuje 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**



# Blokáda LTP ovlivňuje učení

The Journal of Neuroscience, September 1989, 9(9): 3040-3057

## Synaptic Plasticity and Learning: Selective Impairment of Learning in Rats and Blockade of Long-Term Potentiation *in vivo* by the N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antagonist AP5

R. G. M. Morris

Department of Pharmacology, University of Edinburgh Medical School, Edinburgh EH8 9JZ, Scotland

The Journal of Neuroscience, September 1989, 9(9) 3043

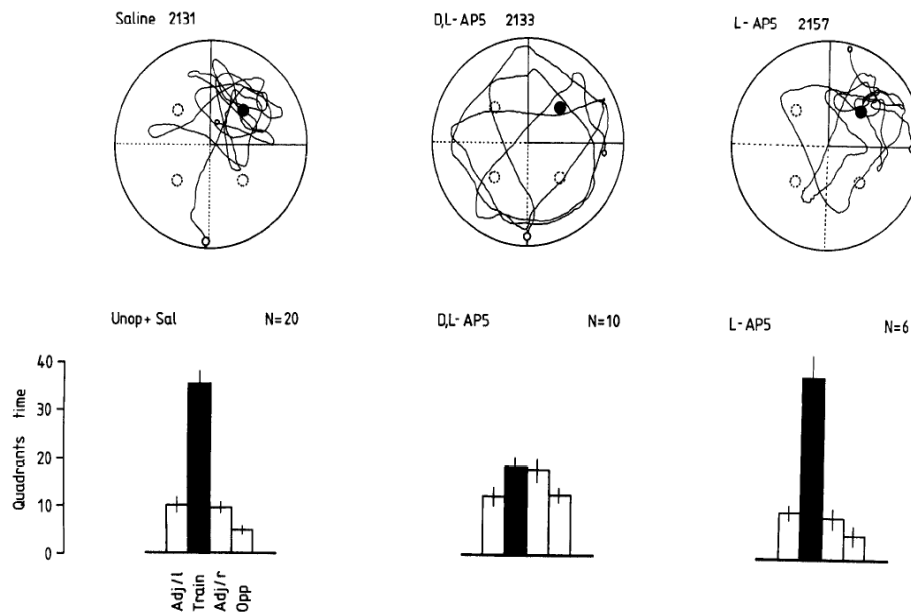


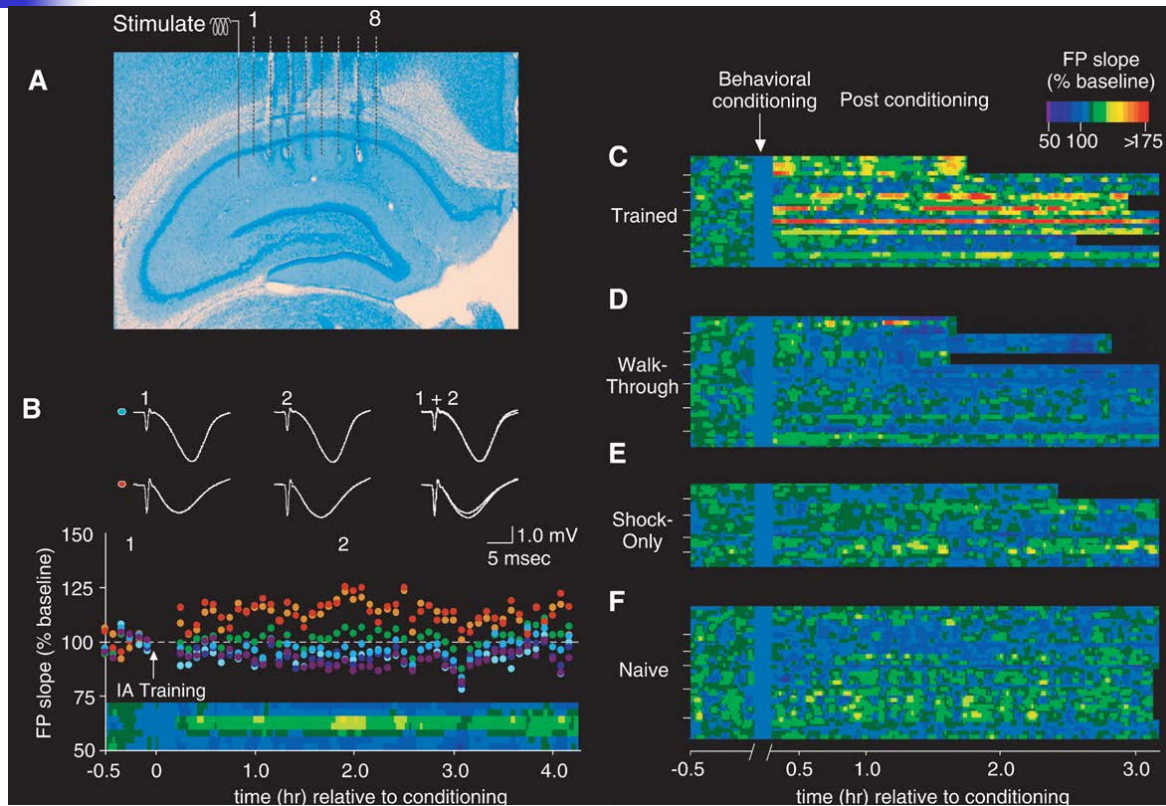
Figure 3. Experiment 1. *Top row*, Swimming path taken during the transfer test of day 9 by the rat closest to the mean in the control (unoperated and saline rats), D,L-AP5, and L-AP5 groups, respectively. Note the absence of spatial bias of the D,L-AP5 rat. *Bottom row*, Group mean times (sec  $\pm$  1 SEM) spent in each of the 4 quadrants of the pool, organized with respect to proximity to the training quadrant (NE or SW). Note the substantial spatial bias in the control and L-AP5 groups.

Po aplikaci antagonisty NMDA receptorů D,L-AP5 došlo jak k zablokování indukce LTP tak k narušení učení ve vodním bludišti.

Potkani, jimž byl aplikován D,L-AP5, hledali během *probe trialu* ostrůvek víceméně náhodně, na rozdíl od aplikace neaktivního izomeru L-AP5

Blokáda učení pomocí AP5 však nemusela znamenat kauzální vztah mezi LTP a učením; je možné, že pouze dochází k zablokování nějakých společných mechanismů.

# 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.**

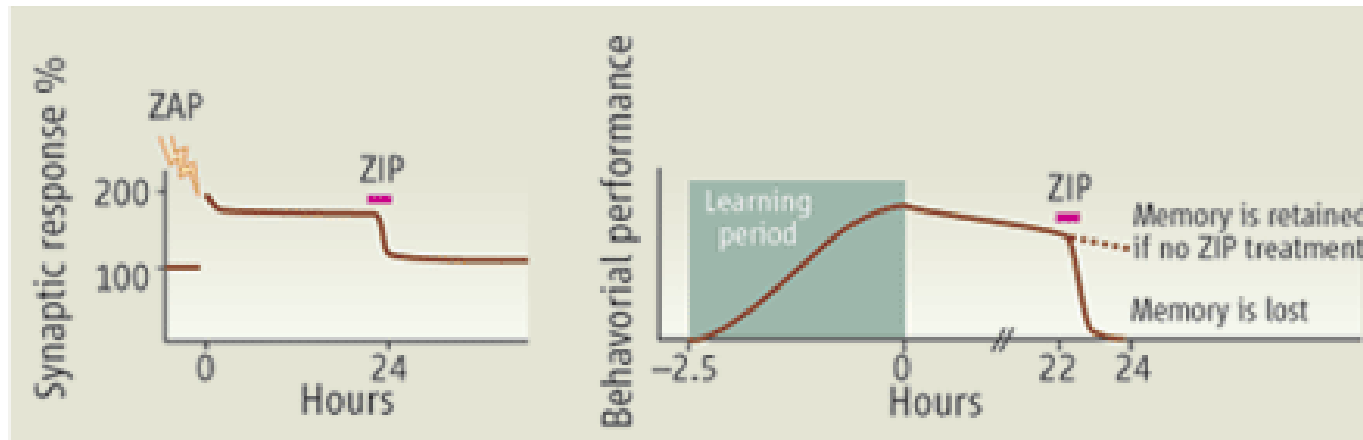
**Je to rovněž podpůrným důkazem pro „distributed memory encoding“**

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

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

# Selektivní blokáda LTP a učení inhibicí PKM $\zeta$

Inhibice PKM $\zeta$  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 $\zeta$  ZIP aplikován do hipokampu zablokoval jak pozdní LTP, tak vybavení naučené informace, ale neovlivnil nové učení. PKM  $\zeta$  tedy hraje roli v udržování pozdní LTP, ale ne v indukci časně LTP.

**Syntéza PKM $\zeta$  je nezbytnou a dostačující podmínkou pro udržovací fázi pozdní LTP a uchování dlouhodobé paměti.**



# Proteinkináza MŽ, LTP a dlouhodobá paměť

---

- Inhibice PKMŽ pomocí peptidu ZIP maže vedle passive a place avoidance, kognitivní úlohy extrémně závislé na hipokampu, také jiné druhy paměti a v jiných strukturách v mozku. Příkladem je podmíněná chuťová averze a inzuliní kůra.
  - *Shema R, Sacktor TC, Dudai Y. Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. Science; 317(5840):951-3*
- Tento mechanismus funguje pro prostorovou paměť a operantní i klasické podmiňování.
  - *Serrano P, Friedman EL, Kenney J, Taubenfeld SM, Zimmerman JM, Hanna J, Alberini C, Kelley AE, Maren S, Rudy JW, Yin JC, Sacktor TC, Fenton AA. PKMzeta maintains spatial, instrumental, and classically conditioned long-term memories. PLoS Biol. 2008 Dec 23;6(12):2698-706.*
- Minimálně některé typy paměti jsou tedy založeny na dlouhodobých změnách synaptické účinnosti, jež jsou mechanismem LTP a dalších forem synaptické plasticity.
- *A na ty se teď podíváme ...*

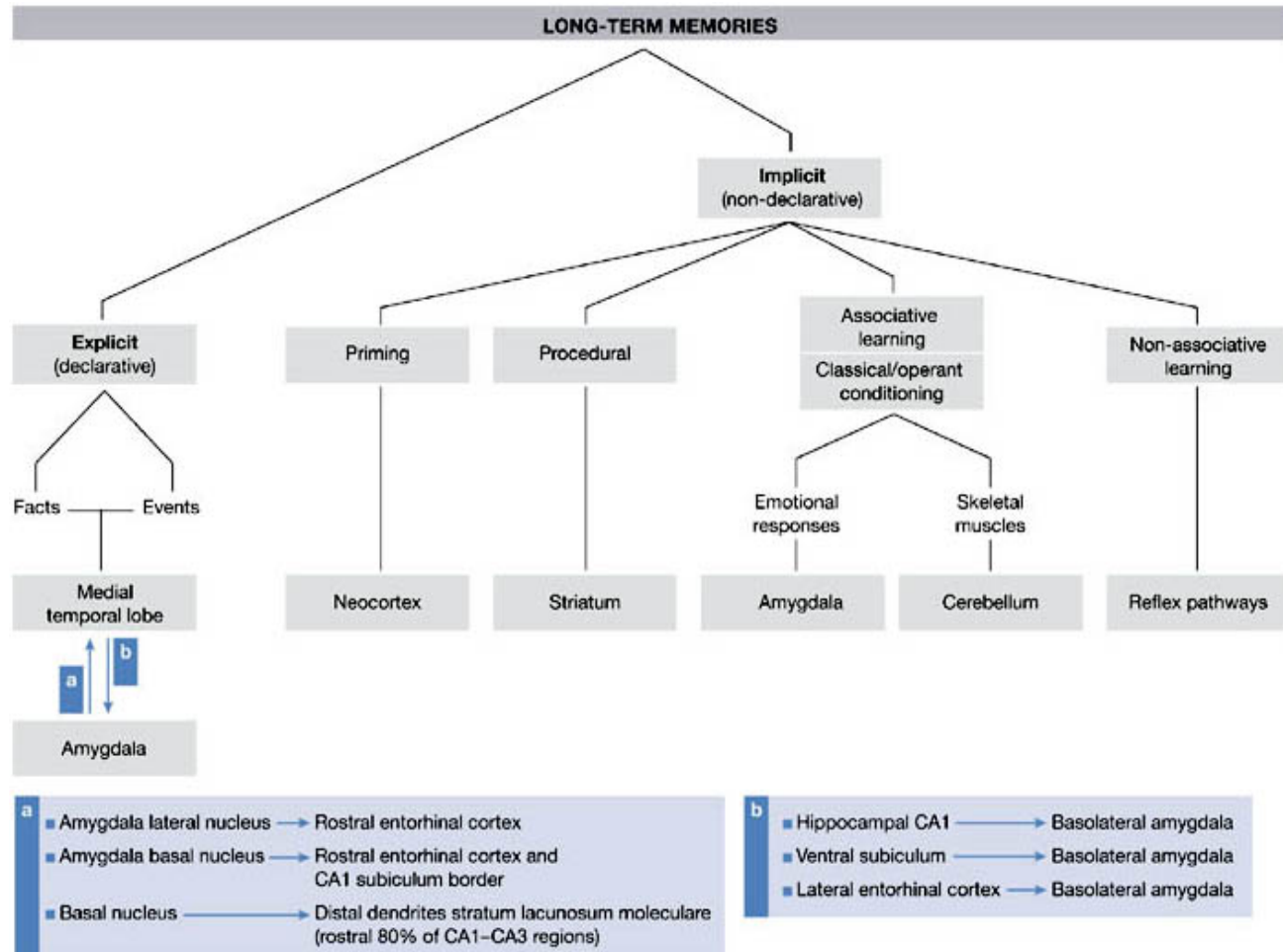
# Dělení (především dlouhodobé) paměti podle typu informace a jejího zpracování

## ■ Deklarativní – explicitní

- Sémantická (fakta)
- Epizodická (co, kdy, kde)
- Prostorová

## ■ Nedeklarativní – procedurální – implicitní

- Neasociativní učení – habituace, senzitivace
- Asociativní učení – klasické a operantní podmiňování
- Priming





# Nedeklarativní učení, implicitní paměť

---

- **Reflexy – habituace, senzitivace** - nedochází k asociaci podnětů, je přítomen pouze 1
- **Asociativní učení** – asociace podmíněného podnětu (např. tón či světelný podnět) s nepodmíněným podnětem (negativním - např. el. ranka nebo pozitivním - potrava)
  - **Klasické podmiňování** (průkopníkem I.P. Pavlov) – nevyžaduje po zvířeti žádnou volní akci ani novou odpověď.
  - **Operantní podmiňování** (Skinner Box) – zvíře se naučí vykonávat určitou činnost (mačkat páčku, nosepoke, touchscreen) aby dosáhlo odměny nebo se vyhnulo trestu (předvídání důsledků svých akcí).
- **Procedurální učení - (sensory-)motor skills** – tréninkem získané dovednosti, které nemusíme vybavovat vědomě (jízda na kole či lyžích, chůze, písmo, zrcadlové čtení, aj.)
  - **Závislé především na bazálních gangliích a mozečku (ale také na senzoryckých a motorických korových a subkorových centrech)**

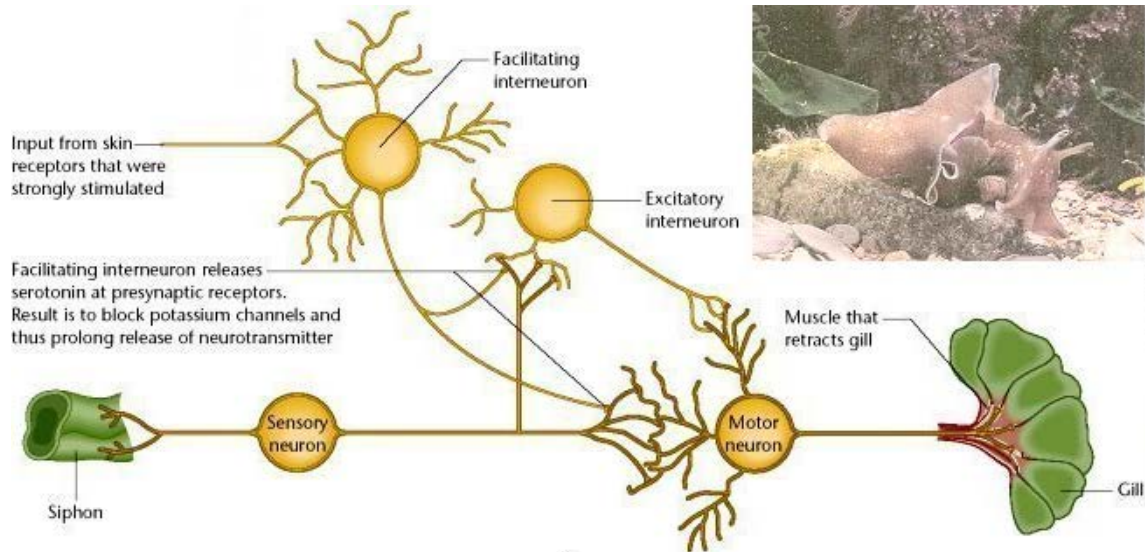
# Neasociativní učení

- **Habituaace** – snížení odpovědi po opakovaném podráždění
- **Senzitizace** – zvýšení odpovědi po opakovaném podráždění

## Studium habituace a senzitizace u *Aplysie* – zeje mořského

Eric Kandel (Nobelova cena, 2000)

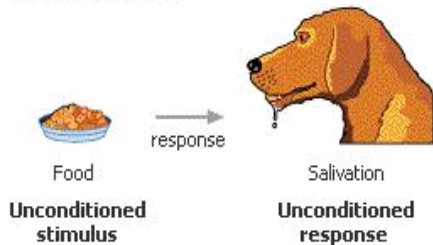
### Aplysia in Different Behavioral States



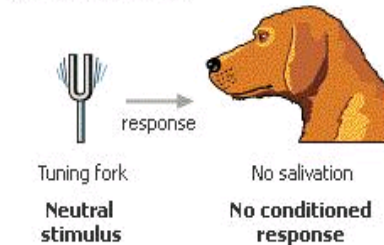
# Asociativní učení

- Dochází k asociaci dvou nebo více podnětů.
- Klasické a operantní podmiňování

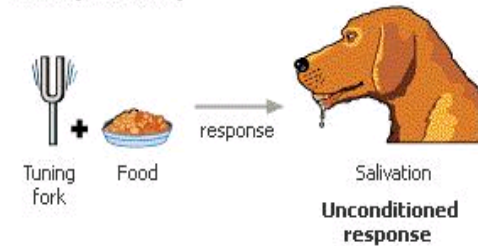
1. Before conditioning



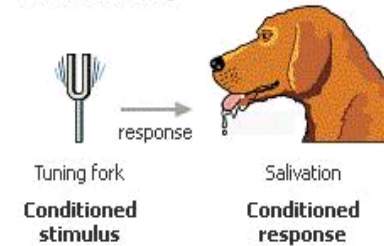
2. Before conditioning



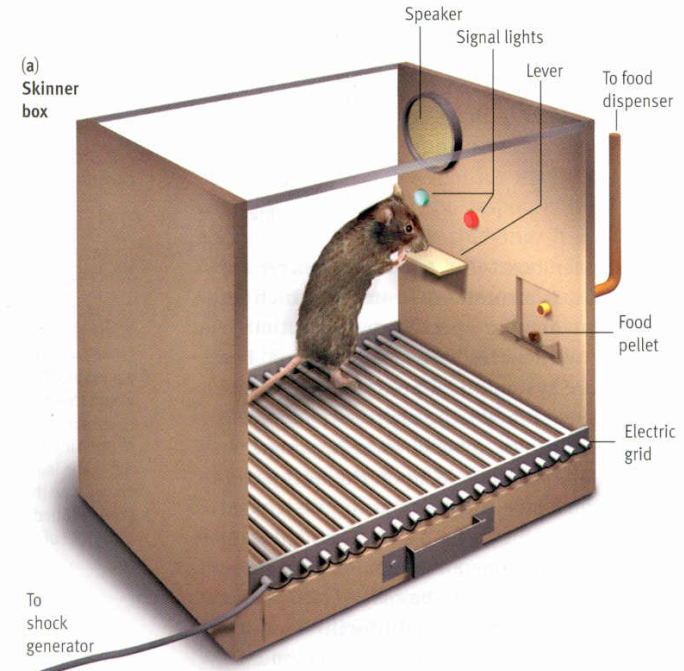
3. During conditioning



4. After conditioning



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



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

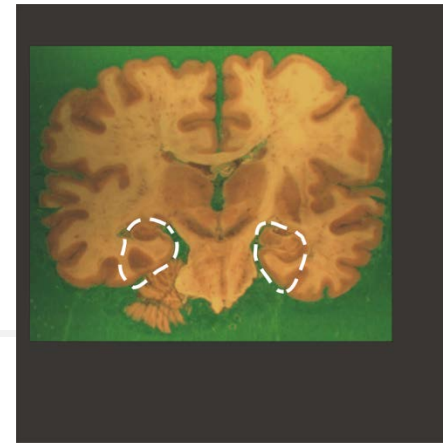
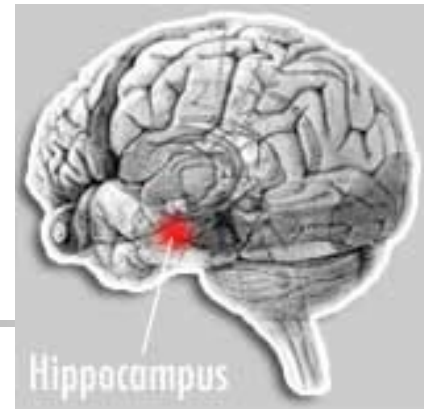
**Apetitivní motivace (odměna)** – vede ke zvýšení četnosti odpovědí

**Averzivní motivace (trest)** – vede ke snížení výskytu odpovědí

Zvíře musí „předvídat“ důsledky svého jednání



# Deklarativní paměť



- Paměť pro fakta a události
  - Sémantická – vědomá paměť pro fakta nezávisle na místním a časovém kontextu - „Hlavní město Francie je Paříž“
  - Epizodická – vědomá paměť pro konkrétní události v jejich kontextu - „V roce 2002 jsem v Paříži nenavštívil Eiffelovku)
  - Autobiografická – „vnitřní cestování v čase“
  - Episodic-like – u zvířat - co, kdy, kde?
  - knihovna unikátních událostí, single-trial learning
  - 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.
      - Miniodbočka – 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 u zvířat

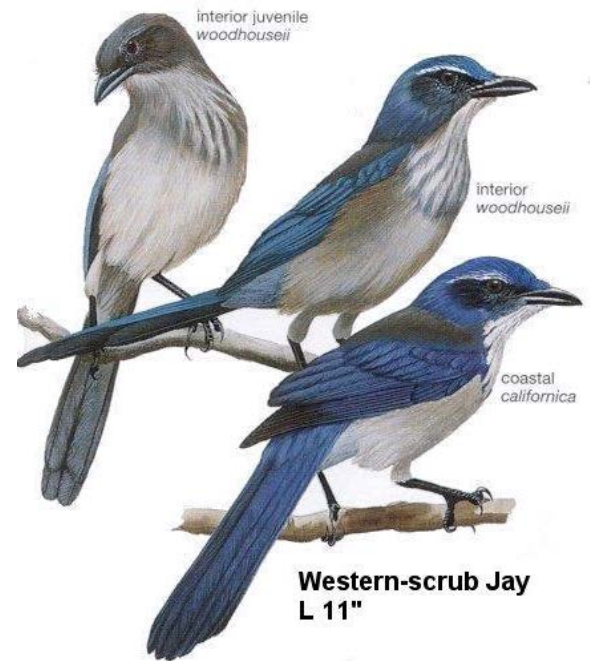
Deklarativní paměť – někteří autoři považují prostorovou paměť, tedy schopnost zapamatovat si místo v prostoru (s pomocí více sensorických modalit) za specifický typ deklarativní paměti – u zvířat nepřístupná „vědomá“ komponenta

Sémantická – problém s analogizací u zvířat (8-arm RAM)

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*



Clayton & Dickinson, 1998



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

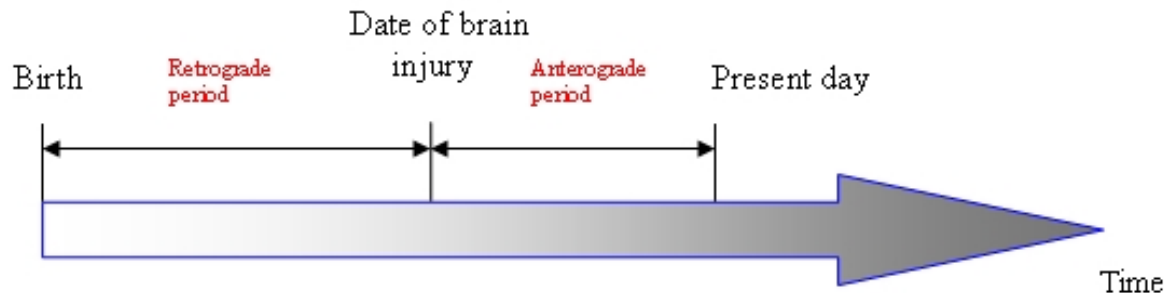
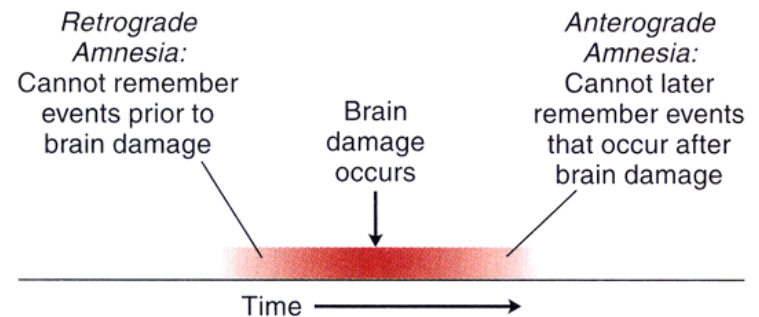
---

- Zvířata vnímají podněty a přiřazují jim biologickou signifikanci podle toho, co je pro ně momentálně „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 při dalším kontaktu s podnětem schopna modifikovat své chování tak, aby efektivněji využila dostupné zdroje.
- Modifikace chování má svůj základ v plastických změnách v činnosti nervových spojů (synaptické plasticitě), které vedou ke změnám vzorců aktivity neuronálních populací.
- 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“?)

# Patofyziologie paměti

- Amnézie, hypermnézie (Solomon Šereševskij- neuropsycholog A. Lurija)
- Amnézie – retrográdní, anterográdní – nemusí být absolutní a mohou být gradované (retro)
- Například pacient H.M. (s resekcí MTL včetně hipokampu) trpí anterográdní amnézií a časově gradovanou retrográdní amnézií – nepamatuje si události těsně před operací, ale velmi staré vzpomínky má zachovány.

## ► A Schematic Definition of Retrograde Amnesia and Anterograde Amnesia



# Prefrontální kůra (PFC) - struktura klíčová pro pracovní paměť a exekutivní funkce

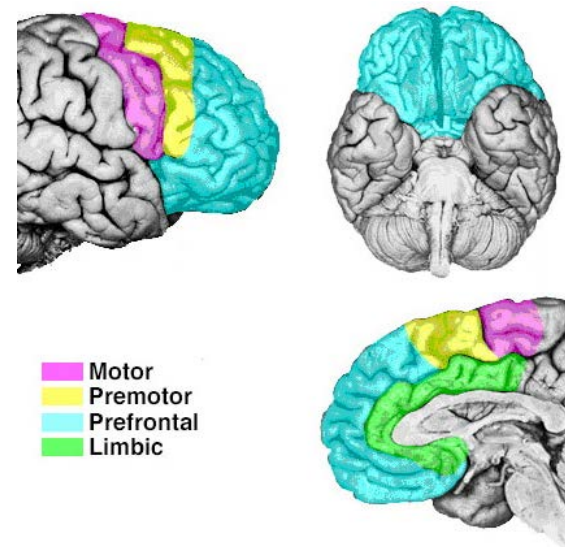
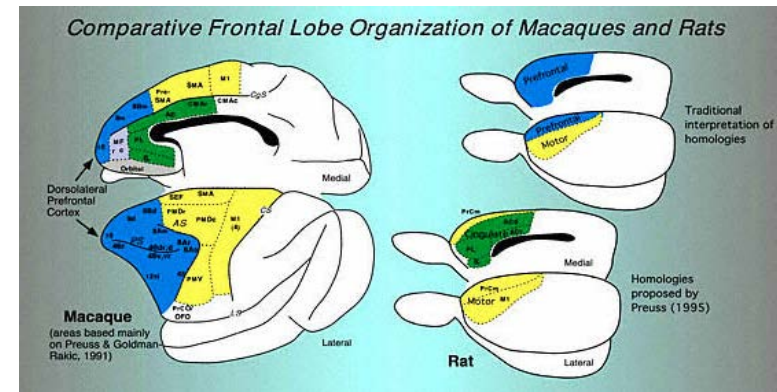
U zvířat vyjma primátů je prefrontální oblast spíše menší a její homologie s PFC primátů je předmětem debat

Nicméně i laboratorní hlodavci mají krátkodobou paměť a funkční PFC

Pro fungování pracovní paměti jsou důležité zejména dopaminergní, noradrenergní a glutamatergní dráhy v PFC a její spojení s ostatními korovými oblastmi a se středním mozem

PFC je 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



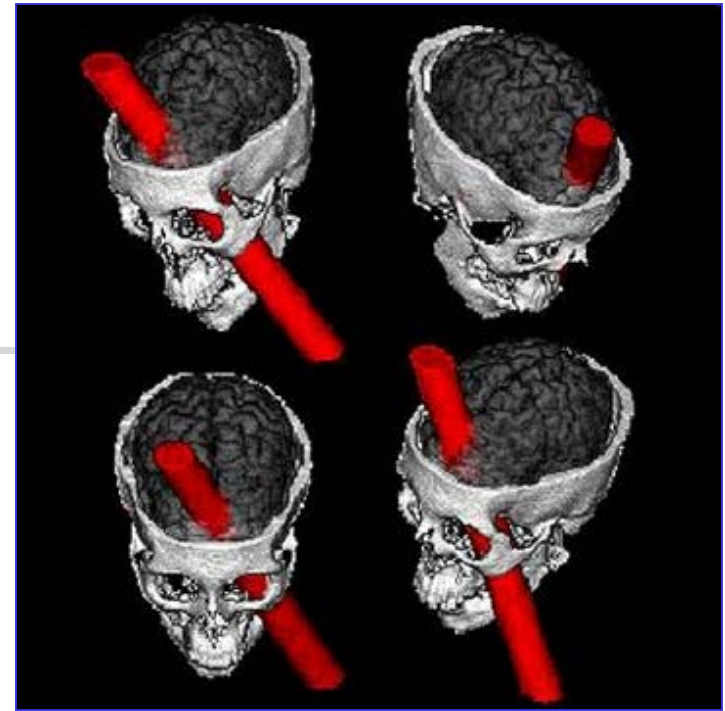
# Léze PFC u hlodavců, primátů a člověka

## u primátů:

- poškození pracovní paměti (dorzolaterální PFC)
- narušení selektivní pozornosti (mediální PFC)
- deficity v monitorování a plánování behaviorálních akcí
- hyperkineze, poškození některých sensorických vjemů (čich, chuť)
- disinhibice motorických odpovědí (orbitofrontální PFC).
- dochází také k narušení kódování pohybů a snížení vnímání bolesti (přední cingulární kůra)

## u hlodavců (především potkanů)

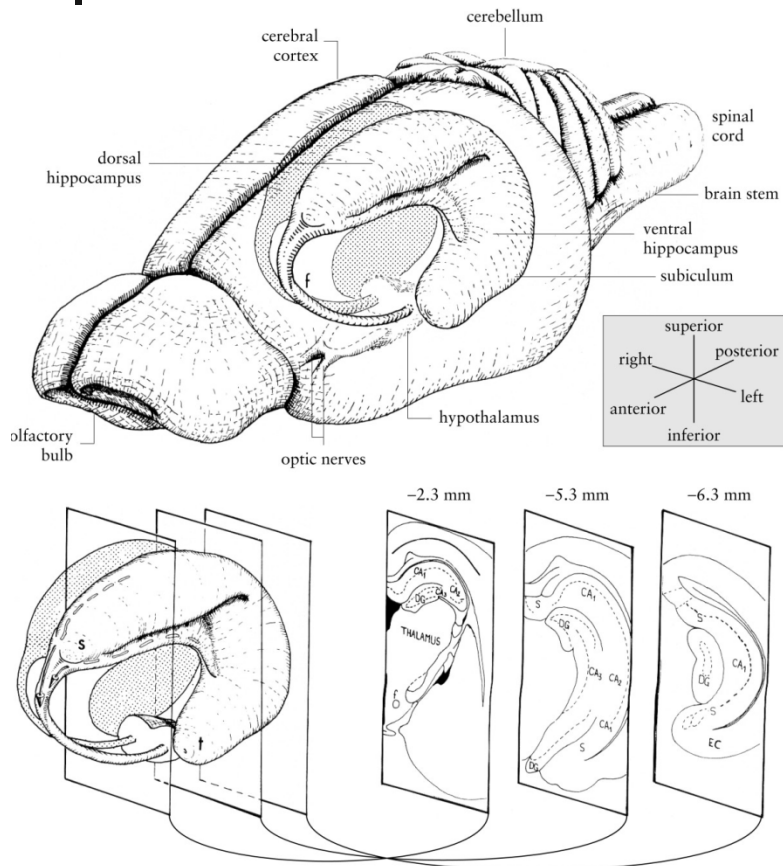
- deficity ve vizuální pracovní paměti (mPFC)
- formování behaviorální strategie
- spatial reversal learning*
- poškození habituace, pozornosti, hyperaktivita (OFC)
- narušené sociální chování (OFC)
- deficit operantní pracovní paměti, čichová pracovní paměť, a konzumace potravy (OFC)



Klasický příklad, pacient Phineas Gage, bilaterální poškození PFC kovovou tyčkou (1948). -dlouhodobá paměť, řeč a motorické funkce zachovány, ale narušení jeho osobnosti – cholerický, netrpělivý, impulzivní, neschopný plánovat

U dalších pacientů s poškozením PFC patrná tendence k chování bez ohledu na dlouhodobé následky, + další změny, deficity pozornosti, pracovní paměti, neschopnost plánování, perseverace ale i koprolalie. Funkce PFC je patrně narušena na úrovni neuropřenašečových systémů i u schizofrenie, bipolární poruchy, ADHD a dalších poruch

# Hipokampus - klíčová struktura pro deklarativní, a zvláště epizodickou, paměť u lidí a prostorovou paměť u zvířat

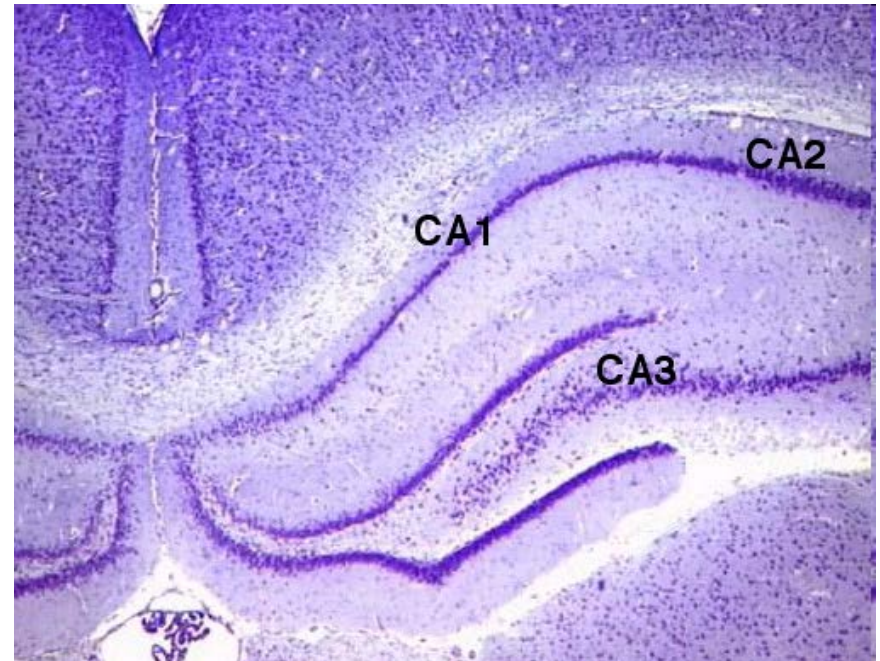


Strukturně jednodušší mozek

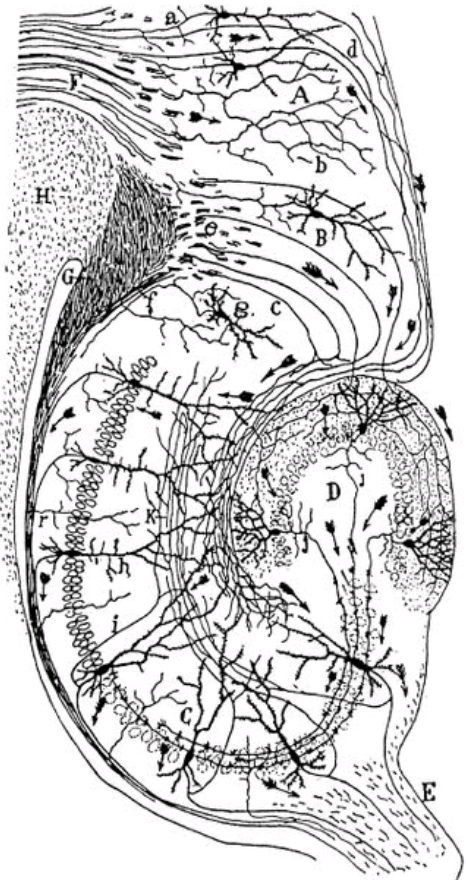
Absence rýhování hemisfér koncového mozku,

Poměrně značnou část potkaního mozku zabírají hipokampus a čichové laloky

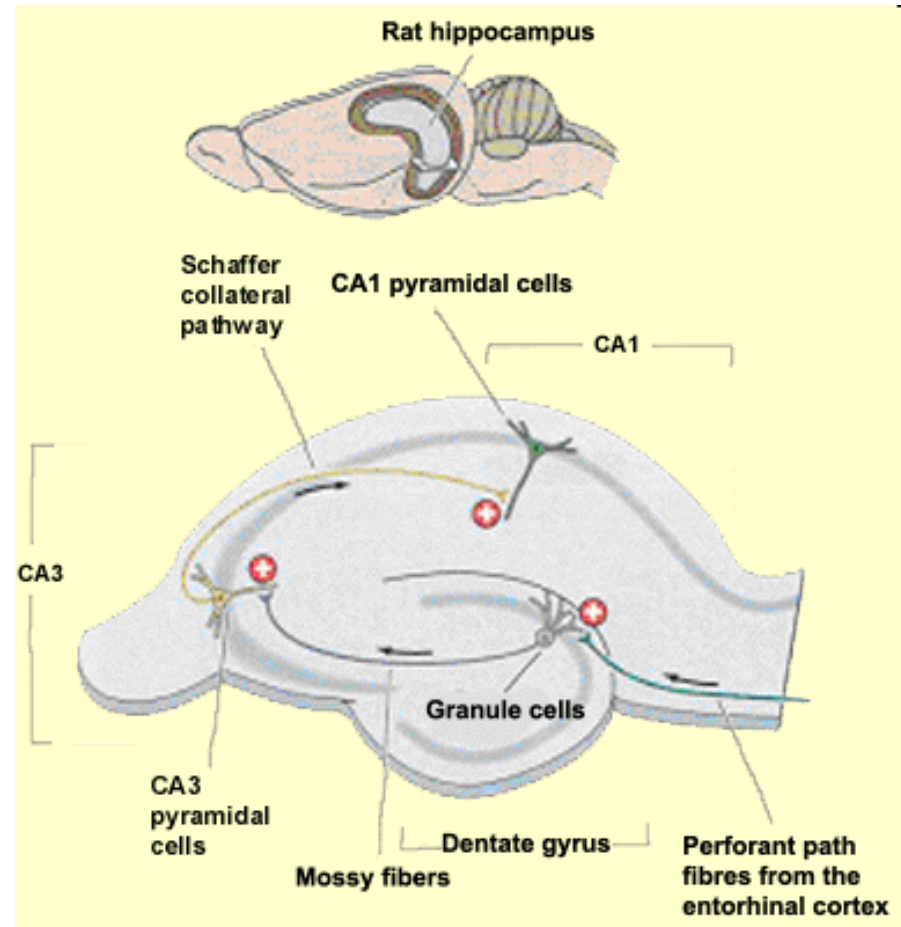
Hipokampus inervován především z mediálního septa (Ach, GABA) a entorhinální kůry (Glu)



# 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.

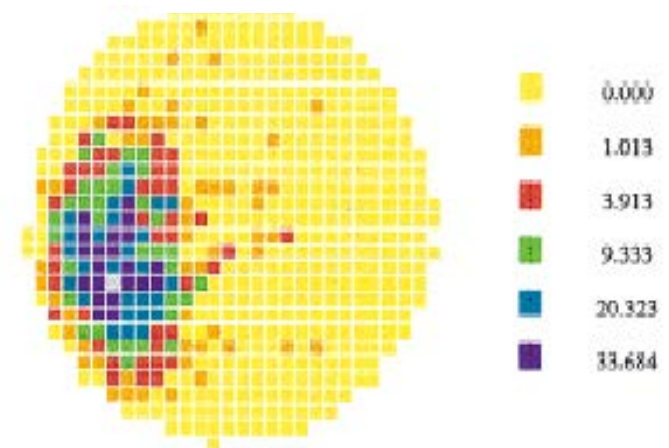
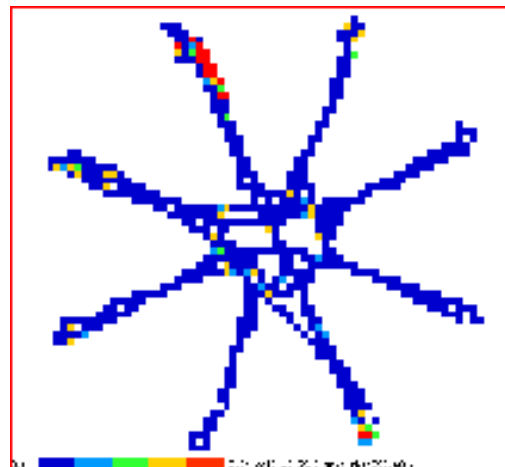
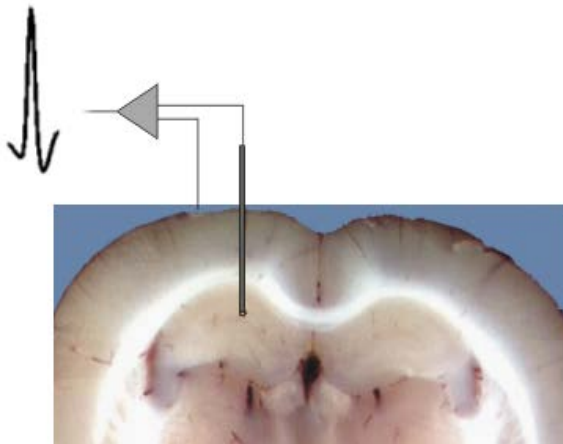




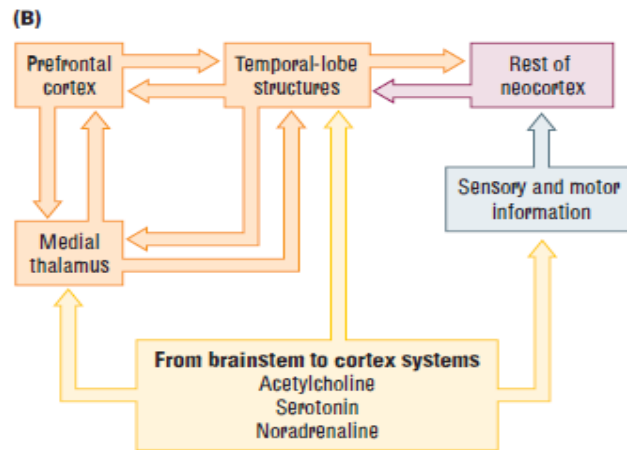
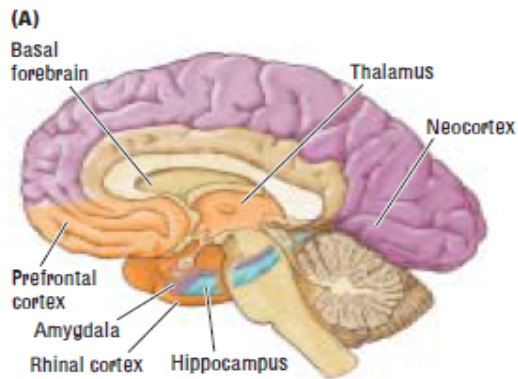
# Hipokampus a place cells (místové neurony)

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

Nahrávány *in vivo* extracelulárně  
vykazují prostorově specifickou aktivitu

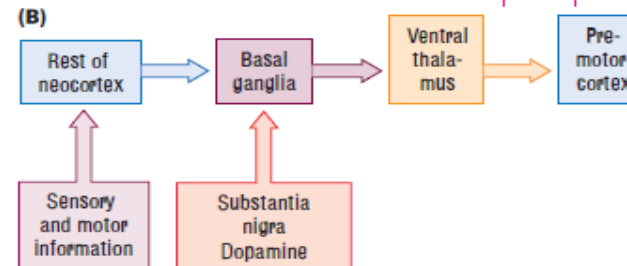
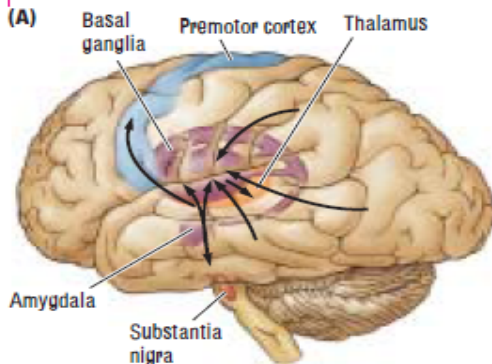


# Deklarativní a nedeklarativní paměť



**Figure 13-14**

**Neural Circuit Proposed for Explicit Memory**  
**(A)** General neuroanatomical areas controlling explicit memory. **(B)** Circuit diagram showing the flow of information, beginning with inputs from the sensory and motor systems, which are not considered part of the memory circuit.



**Figure 13-15**

**Unidirectional Neural Circuit Proposed for Implicit Memory**  
**(A)** General anatomical areas controlling implicit memory. **(B)** Circuit diagram showing the unidirectional flow of information, beginning with inputs from the sensory and motor systems, which are not considered part of the memory circuit.

# 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.

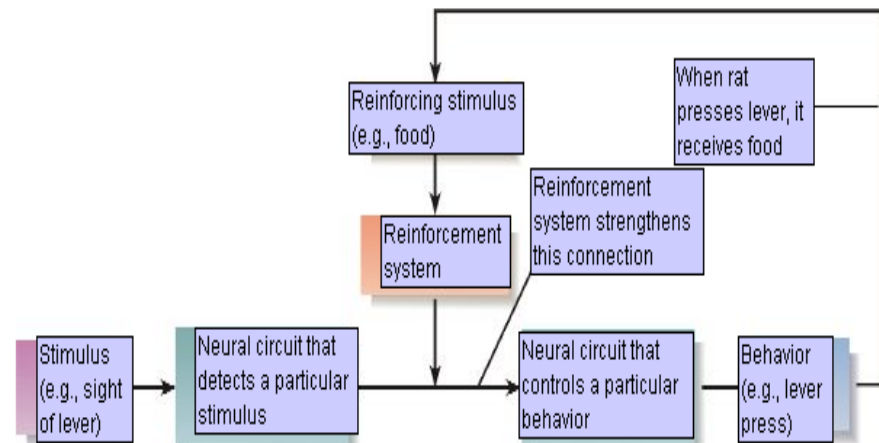
# Učení a paměť (a obecně chování) zvířat

- 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 husí (zpopularizoval K. Lorenz, ale pozorován již v 19. století amatérským biologem Spaldingem)



# 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

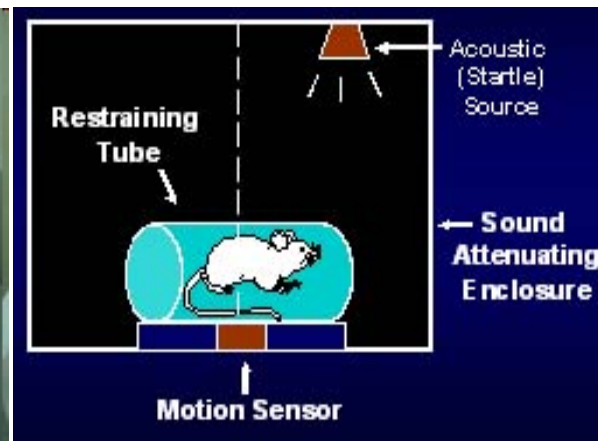
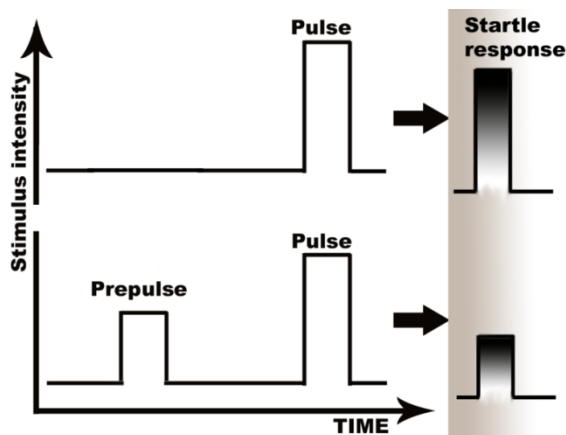
---

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

Tyto přístupy jsou kombinovány s farmakologickými, genetickými, chirurgickými, elektrofyziologickými a dalšími technikami za účelem testování konkrétních hypotéz, např. týkajících se vztahu chování a jednotkové aktivity neuronů nebo 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



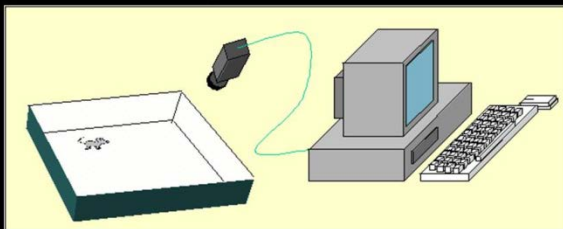
Samotná úleková odpověď na stimulus, bez přítomnosti prestimulu je reflexní, vyjadřuje celkovou aktivaci organismu – tato úleková reakce je zvýšena např. u PTSD

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 (úzkosti) 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 (vyhýbání se středu – thigmotaxe, nehybnost-freezing).
- Procedura je velmi jednoduchá, zvíře se umístí do arény, a poté se monitoruje jeho chování, nejčastěji pomocí videokamery napojené na automatizovaný počítačový systém

Open Field Test



**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** – ukazují úroveň anxiety

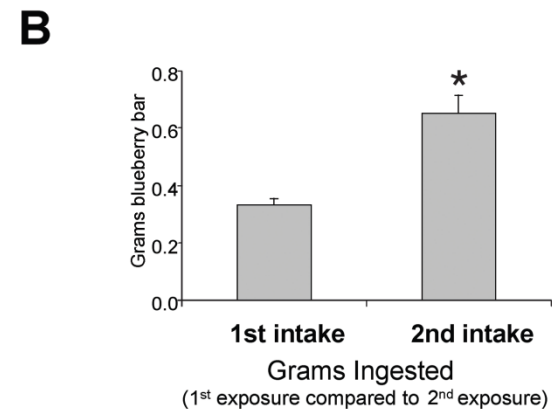


# Test otevřeného pole

- 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.**
  - 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
- **Senzitizace 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 adrenergických receptorů**

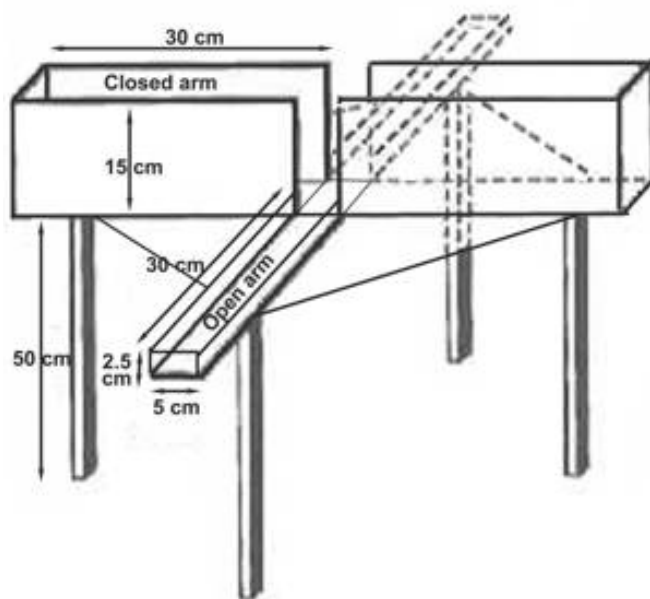
# Testování anxiety a emocionality

- 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)



**Počet vstupů do otevřených a uzavřených ramen**

**Celkový čas strávený v otevřených a uzavřených ramenech – často se vytvářejí indexy**

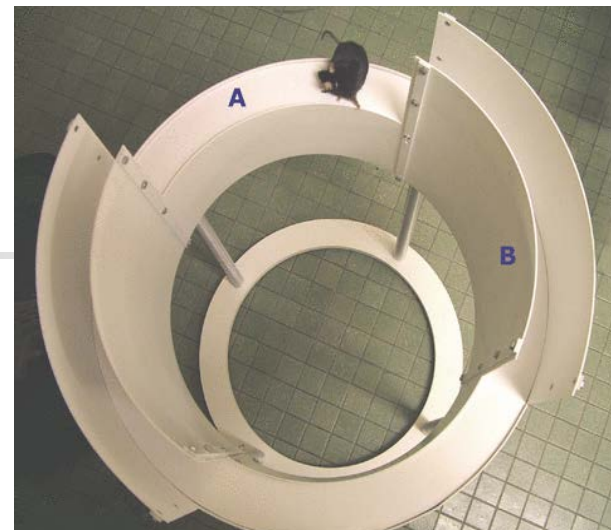
**BZD (pozitivní allost.modulátory GABA-A) konzistentně zvyšují dobu strávenou v otevřených ramenech  
Některé jiné léky, používané ke zmírnění úzkosti v klinice (např. SSRI) nevykazují v tomto testu příliš silné výsledky**

## 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.**

**Vybrané úlohy ke studiu učení a paměti:**

**Fear Conditioning - strachové podmiňování**

**Active Avoidance – aktivní vyhýbání**

**Passive Avoidance – pasivní vyhýbání**

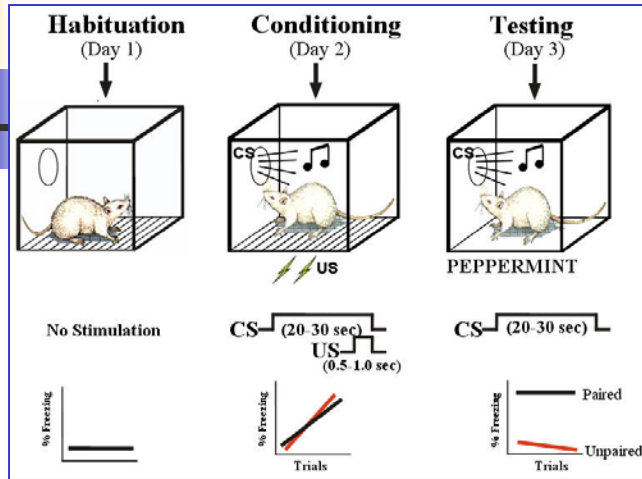
**Taste Memory – především podmíněná chuťová averze**

**Object recognition task**

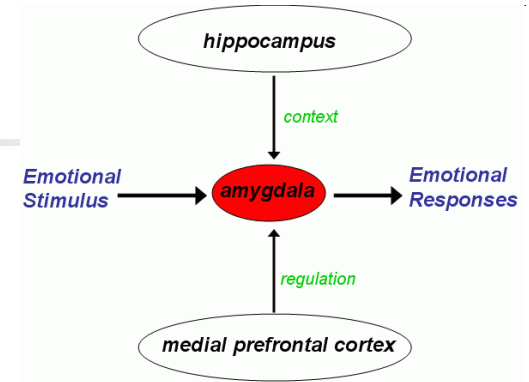
**Spontaneous Alternation – spontánní alternace**

**Water and Radial Maze – vodní a radiální bludiště**

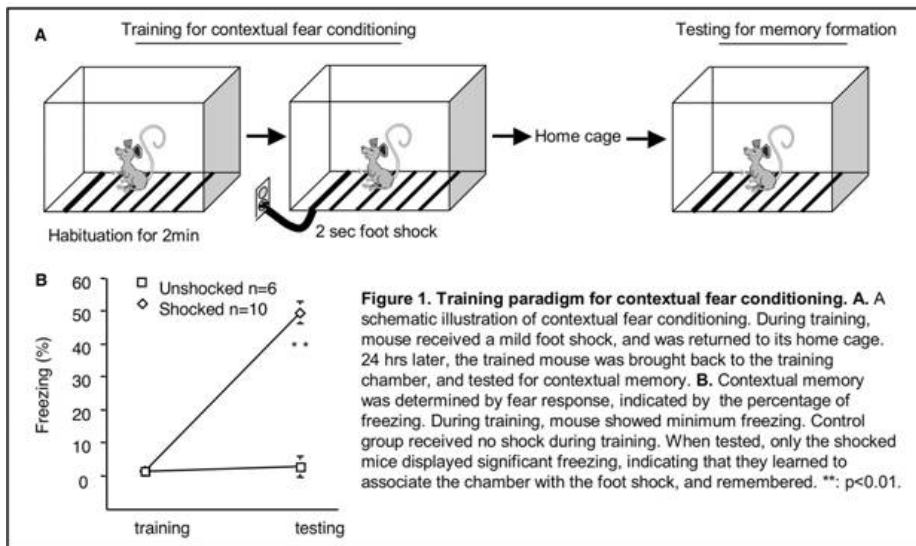
# Strachové podmiňování - fear conditioning



**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

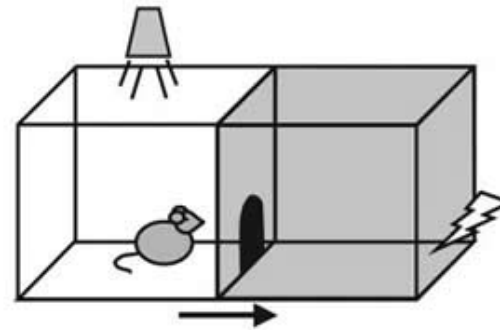
Lze studovat i u lidí, např. projekcí obrázků a měřením kožního odporu, či jiných odpovědí VNS

# Aktivní 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

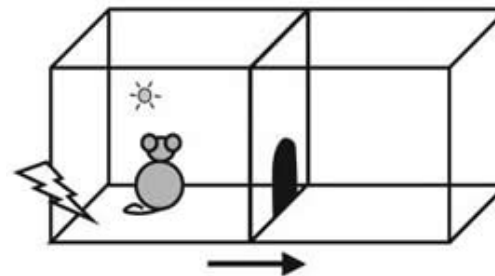


Aktivní vyhýbání ve vodní verzi  
- Určeno pro studium chování akvarijních rybek



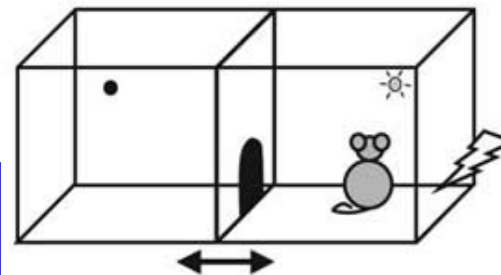
**Passive Avoidance**  
*Exploits a natural tendency of mice to enter dark environments.*

*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*

Klasické (pavlovovské) podmiňování: Asociace podmíněného podnětu (určité chuti) s nepodmíněným (nevolností) vede k vyhýbání se této chuti.

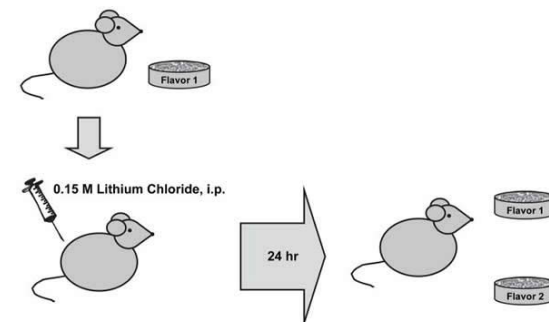
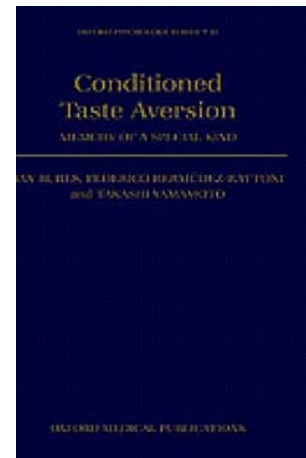
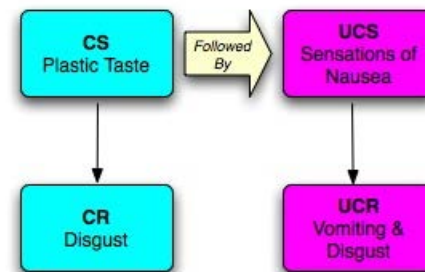
Tato paměťová stopa vzniká velmi rychle a může perzistovat po **VELMI** dlouhou dobu.

Evolučně velmi důležitý typ učení, probíhá i v narkóze  
V minulosti podrobně studován v naší laboratoři (Dr. Bureš, Dr. Bielavská)

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

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

Shema R, Sacktor TC, Dudai Y (2007) Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. Science 317: 951-3.

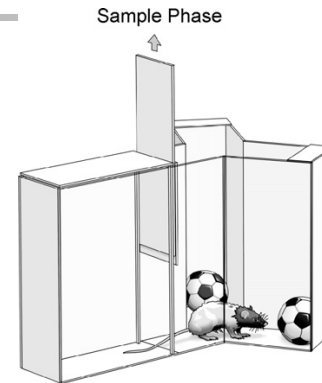
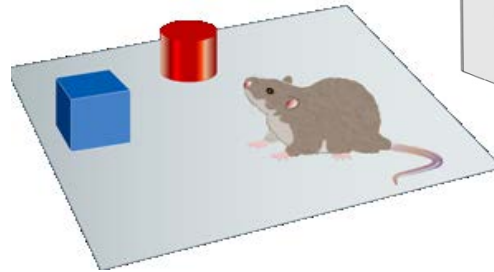
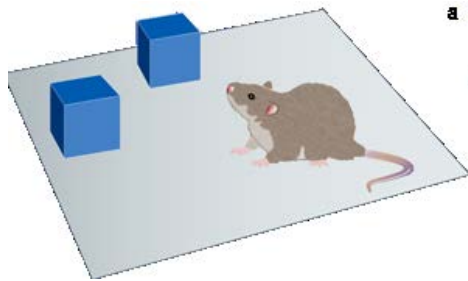


**Generalizace stimulu – subjekt se vyhýbá i podobným chutím**

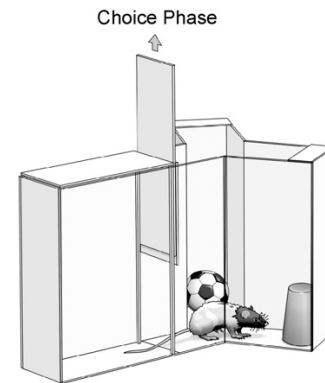
**Objev – 50. léta 20.století – John Garcia – studium vlivu ozáření na chování**



# Úloha rozpoznávání objektu (*object recognition task*)



Retention  
Delay  
(variable)



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

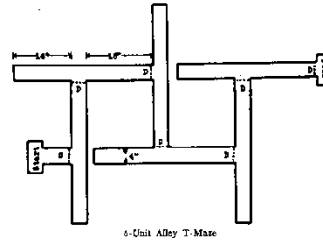
Měřenou veličinou je doba prozkoumávání objektu, doba, kdy je zvíře v kontaktu s tímto objektem

Zvíře objekt očichává, kontaktuje, prozkoumává

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

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

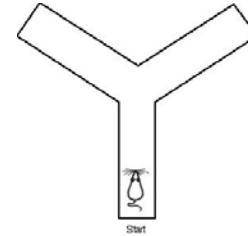
# Prostorové úlohy



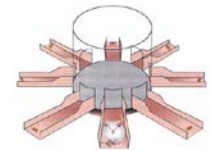
**Komplexní bludiště**  
**Dnes se využívá jen zřídka**

- **Prostorová paměť (ve smyslu navigace ke skrytým 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) nebo vůči výchozí pozici a vlastnímu pohybu (idiotetická orientace).**
- **Vytváří „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 aferentní struktura), a v některých uspořádáních také prefrontální (PFC) a posteriošní parietální kůra (PPC).**

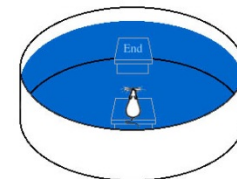
- „Y“, „T“ a křížové bludiště



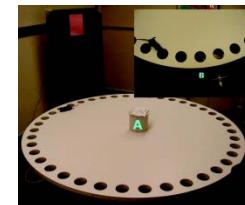
- Radiální bludiště (*radial arm maze*)



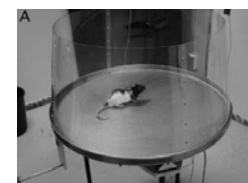
- Morrisovo vodní bludiště



- Bludiště Barnesové



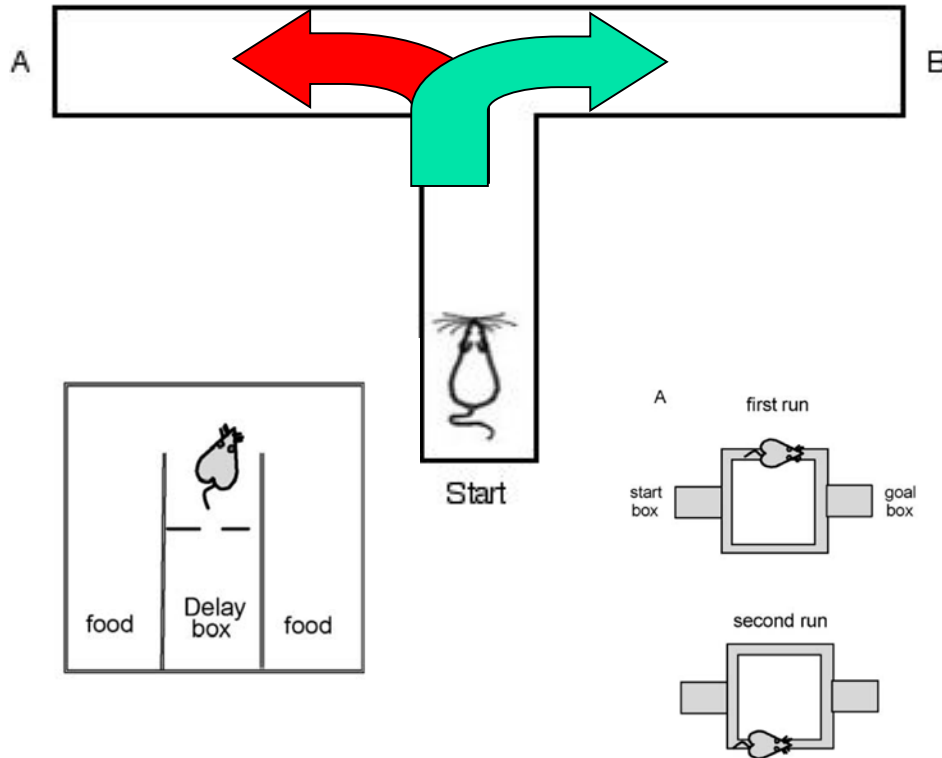
- Úlohy vyhýbání se místu



# Spontánní alternace

## Spontánní alternace

(SAB - Spontaneous Alternation Behavior)



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 jednorokých již ano

Snad zvláštní forma exploračního chování, v přírodě zřejmě velmi univerzální (ukázáno u trepky *Paramecium* i lidských spermií v „mikrobludištích“)

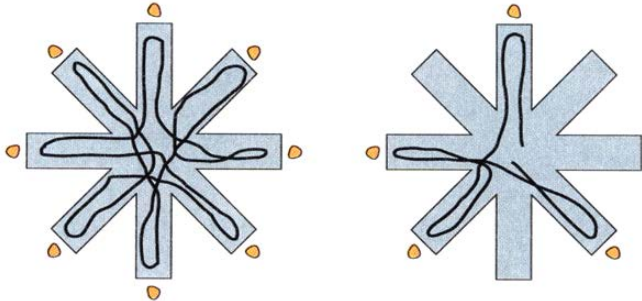
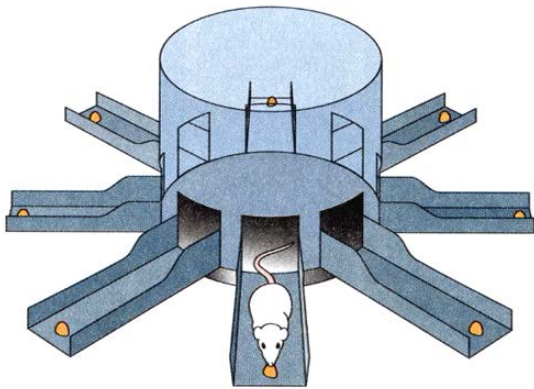
Dosavadní vysvětlení tohoto „jednoduchého jevu“ jsou zatím nedostatečná

Často 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

# Radiální bludiště

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



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 v 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.)*

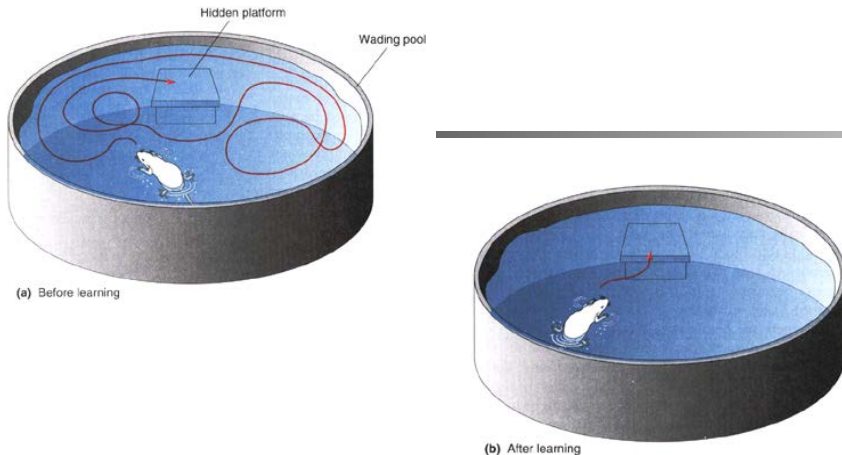
Olton et al. (1977) ukázali, že pokud byl počet ramen 17, výkonnost ve verzi pracovní paměti se snížila jen mírně.

Cole a Chappell-Stephenson (2003) doložili, že limit pro úspěšné pamatování se navštívených ramen leží někde mezi 24 a 32 rameny (použili max. 48 ramen)

Úloha existuje v modifikaci pro pracovní i referenční paměť

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

# Morrisovo vodní bludiště (*Morris water maze; MWM*)



- 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.

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.

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), a další. Zpravidla se využívá také **test hledání viditelného ostrůvku**, slouží k **vyloučení senzomotorického a motivačního poškození** po určité experimentální manipulaci.

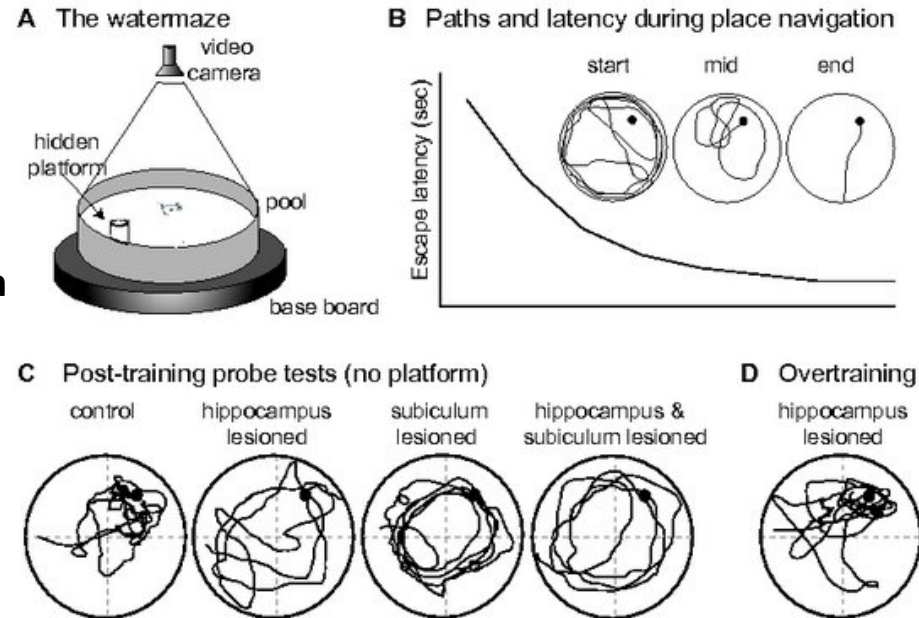
# MWM

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.

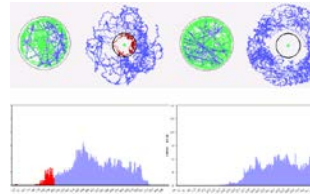
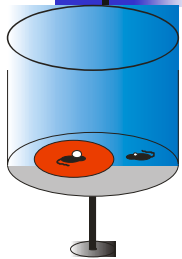
**NSP odstraní řadu poškození**, např. skopolaminem (antagonista mAChR), či APV (NMDAR antagonist) – z toho lze vyvozovat, že část deficitů způsobených těmito látkami lze připsat na vrub procedurálnímu poškození, nebo také na naučení se „pravidel“ úlohy.

Existuje ve verzi pro dlouhodobou i krátkodobou paměť. Test pracovní paměti (*delayed matching to place-DMTP*) – 4 plavby denně, poloha ostrůvku se mezi dny mění – vysoce závislá na hipokampu i po předtrénování.

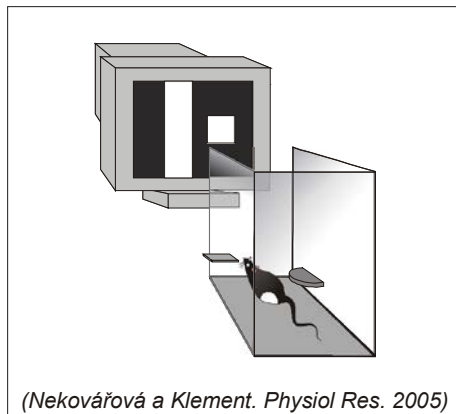


# Úlohy navržené v naší laboratoři

## Vyhýbání se pohyblivému robotu – Enemy Avoidance



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

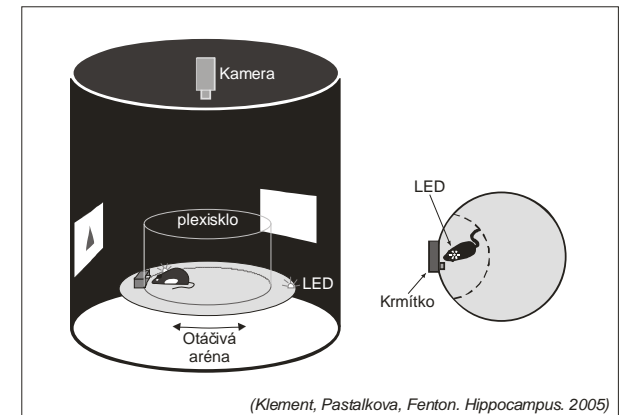


Potkan se učí rozpoznávat konfiguraci objektů na monitoru  
Operantní odpověď na základě prostorového rozpoznání?  
Configuration (geometry) vs. pattern recognition

(Nekovářová a Klement. *Physiol Res.* 2005)

## Konfigurace objektů na monitoru

## Rozpoznání místa



(Klement, Pastalkova, Fenton. *Hippocampus.* 2005)

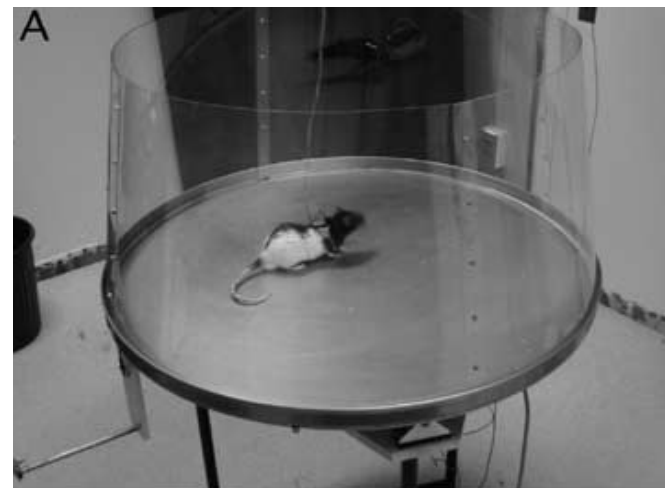
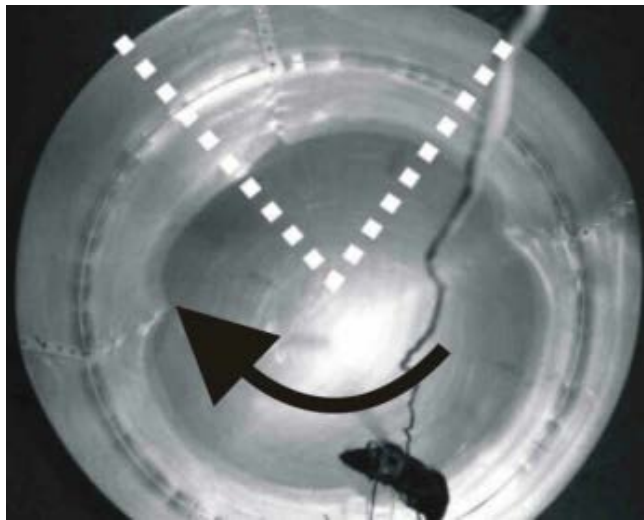
Prostorově řízené operantní chování, pouze v určité oblasti prostoru je zmáčknutí „honorováno“ odměnou

Klement et al., 2002

# Aktivní alotetické vyhýbání se místu

## *Active Allothetic Place Avoidance - AAPA*

### *Carousel task*



Potkan má za úkol se vyhýbat sektoru definovanému v souřadnicích místnosti na plynule rotující aréně  
(*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 také „**kognitivní koordinaci**“ dostupných podnětů do koherentních reprezentací jednotlivých rámců.

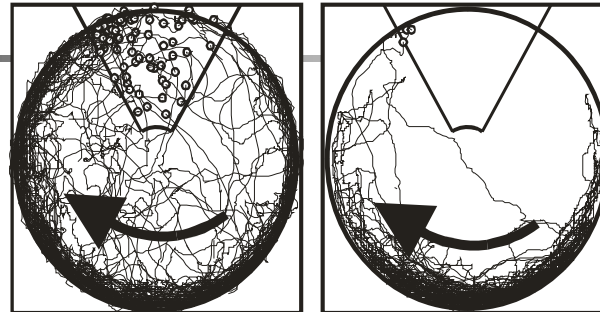
(*Kubik a Fenton, 2005; Wesierska et al., 2005*)

Úloha je **citlivá i k jednostranné inaktivaci hipokampu** (vysoký nárok na integritu hipokampu).

(*Cimadevilla et al., 2000*)



# Aktivní alotetické vyhýbání se místu



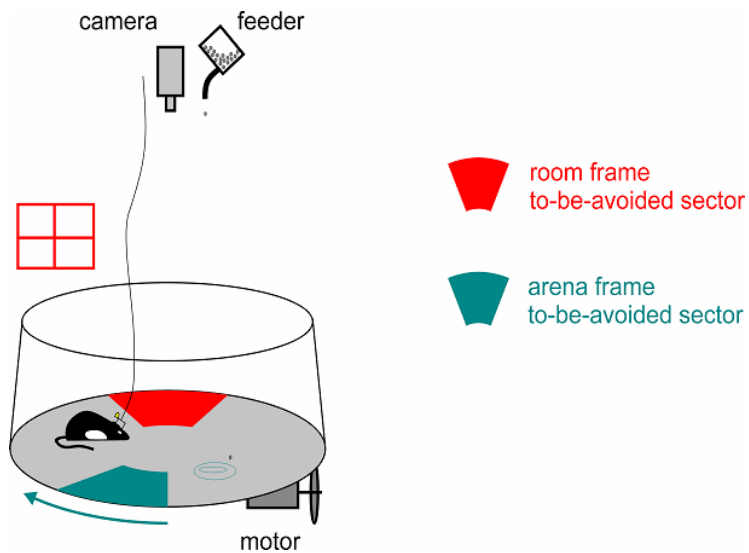
A

B

Ukázky trajektorií poškozeného a nepoškozeného potkana

Nalevo – hyperlokomoce + neschopnost řešit úlohu

# Dvojité vyhýbání (double avoidance)

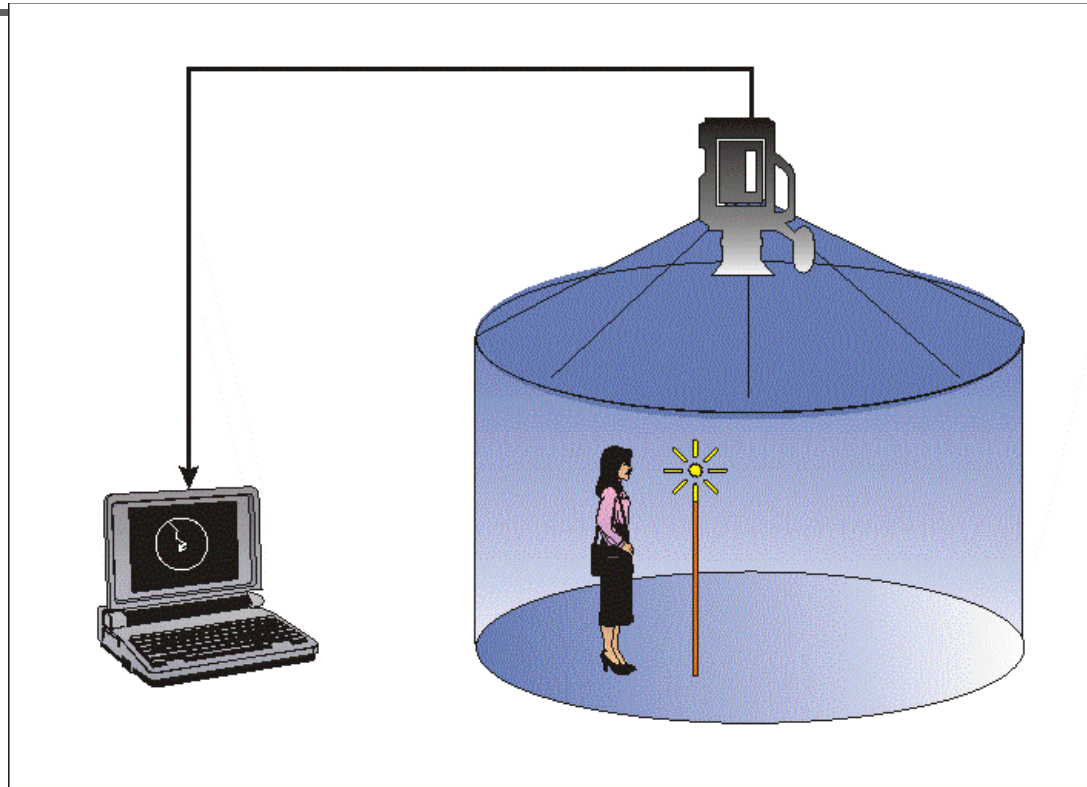


**Potkan je trénován vyhýbat se místu stabilnímu v místnosti a zároveň místu na rotující aréně.**

**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: kamil@biomed.cas.cz*)