

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Fyziologie živočichů



Bc. Kseniia Lavrova

**Hipokampální aktivita při konsolidaci komplexních
prostorových reprezentací**

**Hippocampal activity during consolidation of complex spatial
representations**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Eduard Kelemen, Ph.D.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11.08.2022

Bc. Kseniia Lavrova

Poděkování

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování svému vedoucímu diplomové práci, RNDr. Eduardu Kelemenovi, Ph.D. za vedení mé práce, za pomoc a cenné rady při zpracování této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala svým kolegům Adamu Františku Hanzlíkovi a Mgr. Tereze Rydzykové, kteří se podělili se mnou o své zkušenosti při studiu experimentálních metod. A také Marii Lebedevé za morální podporu a cenné rady.

Abstrakt

V reálném světě často potřebujeme porozumět složitým prostorovým vztahům a integrovat stávající znalosti. Když se například učíme novou trasu mezi známými místy, musíme integrovat nové znalosti a vytvořit novou kognitivní mapu prostoru. Vzhledem k tomu, že hipokampus je klíčovou strukturou pro tvorbu epizodické paměti a prostorovou navigaci, zkoumali jsme aktivitu hipokampálních neuronů CA1 při kombinaci jednoduchých map složeného prostoru.

Byl navržen experiment, skládající se z několika fází, v každé z nich se potkan seznámil se čtyřmi různými rameny bludiště. V první fázi potkan prozkoumal páry nepřekrývajících se ramen. Ve druhém prozkoumal kombinaci již dříve známých ramen a ve třetím všechna ramena labyrintu. Během těchto návštěv musel potkan porozumět prostorovým vztahům mezi různými kombinacemi a vytvořit celou mapu prostoru.

Moje výsledky naznačují, že potkan nedokázal pochopit vztah mezi nezávislými rameny, než navštívil celé bludiště. Při prozkoumávání celého labyrintu vznikla zcela nová mapa pro bludiště a došlo i ke změnám v aktivitě neuronů kódujících již známé kombinace ramen.

Klíčová slova: hipokampus, spánek, přemapování, buňky místa.

Abstract

In the real world, we often need to understand complex spatial relationships and integrate existing knowledge. For example, when we learn a new route between familiar places, we need to integrate the new knowledge and create a new cognitive map of the space. Since the hippocampus is a key structure for episodic memory formation and spatial navigation, we examined the activity of hippocampal CA1 neurons when combining simple maps of a complex space.

An experiment was designed, consisting of several phases, in each of which the rat was introduced to four different arms of the maze. In the first phase, the rat explored pairs of non-overlapping arms. In the second, it explored a combination of previously known arms, and in the third, all the arms of the labyrinth. During these visits, the rat had to understand the spatial relationships between the different combinations and create a complete map of the space.

My results suggest that the rat was unable to understand the relationship between the independent arms before visiting the entire maze. While exploring the entire labyrinth, a completely new map for the maze was created, and there were also changes in the activity of neurons encoding already known combinations of arms.

Keywords: hippocampus, sleep, remapping, place cells

Obsah

1. ÚVOD	8
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
2.1 Anatomie hipokampální formace	9
Třísynaptický okruh	9
Hipokampus jako atraktor	10
2.2 Hipokampus jako navigační systém.....	12
Place cell.....	12
Théta fázová precese	14
Jiné buňky v navigačním systému mozku	15
Path-integration	16
Role interneuronů v kódování prostoru.....	17
2.3 Přemapování.....	19
Typy přemapování	19
Zkušenost ovlivňuje přemapování	20
Nestabilita reprezentací.....	22
2.4 Spánek a konsolidace paměti	24
Architektura spánku	25
Reaktivace hipokampálních neuronů během spánku.....	26
3. CÍLE PRÁCE	28
4. METODIKA	29
4.1 Experimentální zvířata.....	29
4.3 Výroba implantátů	31
4.4 Stereotaktická operace.....	31
4.5 Nahrávání jednotkové aktivity.....	32
4.6 Analýza dat.....	33
Shlukování a identifikace jednotek	33
Analýza aktivity hipokampálních neuronů.....	34
Strojové učení.....	34
5. VÝSLEDKY.....	36
Zaznamenané neurony.....	36

Charakteristika neuronů v ramenech 1+2 a 3+4 a stabilita jejich kognitivních map	37
Charakteristika neuronů v ramenech 2+3w.....	40
Mapa 2 + 3 ramena nevznikne jednoduchým spojením již známých map	41
Jak se změnila aktivita neuronů ve druhé fázi?.....	42
Vlastnosti neuronů při návštěvě celého bludiště	45
Jak se změnila charakteristika neuronů po seznámení se s 1234	46
Mapa celého bludiště nevznikne jednoduchým spojením již známých map	48
Jak čas odpočinku ovlivnil mapy?	50
Je možné z prostorových charakteristik předpovědět, zda potkan navštíví nový prostor nebo prostor, který je kombinací již známých ramen?.....	52
6. DISKUZE	54
Přemapování mezi návštěvami bludiště	54
Vznik prostorové mapy složitějšího prostředí z jednotlivých jednoduchých map	55
7. ZÁVĚR.....	57
8. REFERENCE.....	58

Seznam zkratek

CA1	cornu ammonis area 1
CA2	cornu ammonis area 2
CA3	cornu ammonis area 3
CSC	complex-spike cell
EEG	electroencephalogram
FRM	firing rate map
LFP	local field potential
LTP	long-term potentiation
non-REM	non-rapid eye movement
REM	rapid eye movement
SWR	slow wave sleep
TC	theta cell

1. Úvod

Schopnost navigace ve prostoru je nezbytná pro přežití lidí a zvířat. Za navigaci jsou zodpovědné buňky, které selektivně reagují na polohu zvířete v prostoru. V první řadě se jedná o buňky místa, které jsou aktivní pouze v omezených částech prostoru a nacházejí se v hipokampu. Stejně jako řada buněk umístěných v oblastech sousedících s hipokampem: mřížkové buňky, které tvoří šestiúhelníkovou mřížku v prostoru, buňky otočení hlavy, které selektivně reagují na polohu hlavy zvířete, hraniční buňky, které jsou aktivní v blízkosti překážek, stěn a útesů. Společně tvoří „vnitřní GPS“, který umožňuje všem savcům navigaci v prostoru.

V současné době existuje mnoho prací věnujících se procesům v hipokampu, ke kterým dochází při orientaci potkana v různých bludištích a při plnění různých prostorových úkolů. Zůstává však neprozkoumané, co se děje při kombinaci dvou map složitého prostoru, tedy během procesu, kdy potkan musí spojit dvě nezávislé prostorové znalosti v jednu a vytvořit tak společnou mapu okolního světa.

Moje práce navazuje na diplomovou práci Marie Lebedevé. Výsledky mého experimentu by měly prohloubit naše porozumění procesům vyskytujícím se při kombinaci jednoduchých map složitého prostoru v oblasti CA1 hippocampu.

2. Literární přehled

2.1 Anatomie hipokampální formace

Hipokampální formace je archikortikální struktura mediálního temporálního laloku, součást limbického systému. Zahrnuje samotný hippocampus, gyrus dentatus a okolní oblasti: entorhinální kůru, subikulum, pre- a parasubikulum. Samotný hippocampus se skládá ze tří oblastí cornu Ammonis (CA) lišící se hustotou, velikostí a spojeními mezi buňkami: CA1, CA2 a CA3 (Amaral and Witter, 1989).

První elektrofyziologické studie identifikovaly dva typy buněk v hippocampu, lišící se svými anatomickými a elektrofyziologickými vlastnostmi. První z nich se nazývaly «complex-spike cell» (CSC), protože emitují akční potenciály po skupinách s přestávkami <10 ms. Jejich amplituda spiku je maximální při prvním výskytu a poté se postupně snižuje. Na rozdíl od CSC měly "théta cell" (TC) spiky stejné amplitudy a jejich aktivita se zvyšuje při výskytu théta rytmu. Aktivita obou typů buněk koreluje s théta vlnami hippocampu (Ranck, 1973). Později bylo zjištěno, že anatomicky CSC odpovídá pyramidovým buňkám a "theta cell" interneuronům.

Hlavním typem buněk v hippocampu jsou pyramidální neurony. Jsou to jediné excitační buňky ve cornu Ammonis, které tvoří asi 90% celkového počtu buněk. Zbývajících 10% buněk jsou inhibiční neurony (Amaral and Witter, 1989), z nichž můžeme rozlišit 20 typů v závislosti na morfologických, elektrofyziologických a molekulárních vlastnostech (Klausberger and Somogyi, 2008).

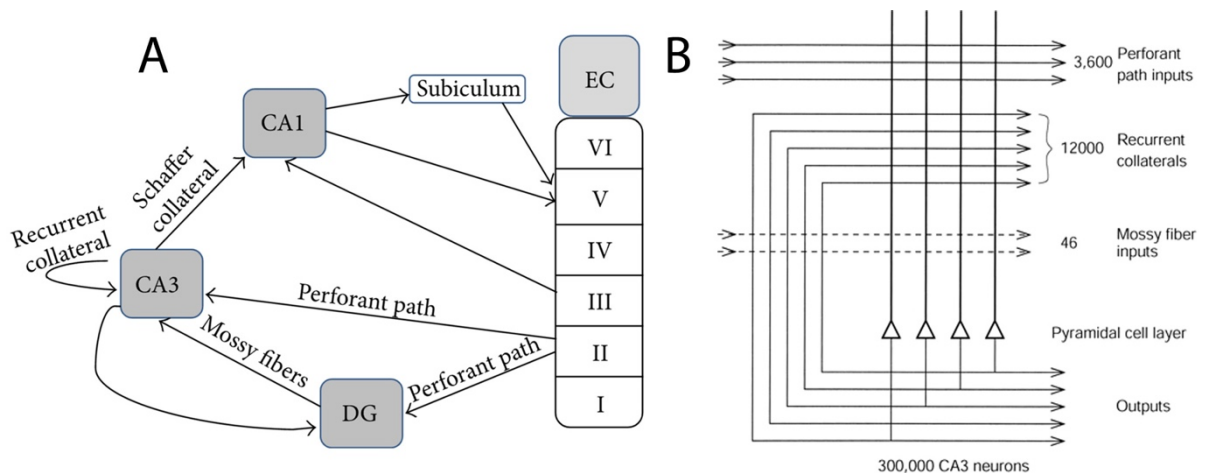
Třísynaptický okruh

Většina externích vstupů do hipokampu pochází z entorhinálního kortexu přes axony perforující dráhy. Hlavní část výběžků vychází z II. vrstvy entorhinálního kortexu a je zaměřena na granulózní buňky gyrus dentatus. Další malá část výběžků z III. vrstvy směřuje přímo do oblastí CA1 a CA3 hippocampu.

Jediná cesta vycházející z granulózních buněk gyrus dentatus se nazývá mechová vlákna (mossy fibers) a vede signál k pyramidovým buňkám a interneuronům oblasti CA3. Poskytují vzácnou, ale silnou asociaci s $3 \cdot 10^5$ pyramidálních buněk CA3 u potkanů. Každý neuron CA3 přijímá asi 50 vstupů mechových vláken, takže řídkost tohoto spojení je 0,005 % (obr. 1).

Pyramidové buňky CA3 tvoří množství rekurentních kolaterálních spojení s jinými buňkami CA3. Poskytují $1,2 \cdot 10^4$ synapse na dendritech, takže systém CA3 je ve skutečnosti síť s přibližně 2% konektivitou mezi různými neurony CA3 (Rolls and Treves, 1998).

Odtud se informace převádí Schafferovými kolaterálami do CA1 oblasti. CA1 dokončuje tento trisynaptický obvod (obr. 1) vysláním signálu do hlubokých vrstev entoriálního kortexu, buď přímo nebo přes subikulum (Andersen et al., 1971).



Obr. 1 Trisynaptický okruh. **A** – obecné schéma. **B** – Počet synapsí vstupujících do každé buňky CA3 u potkana. Vysvětlivky: EC – entorhinální kůra, DG – gyrus dentatus, CA1 – oblast cornu Ammonis, CA3 – CA3 – oblast cornu Ammonis. Upraveno podle Yau et al., 2015.

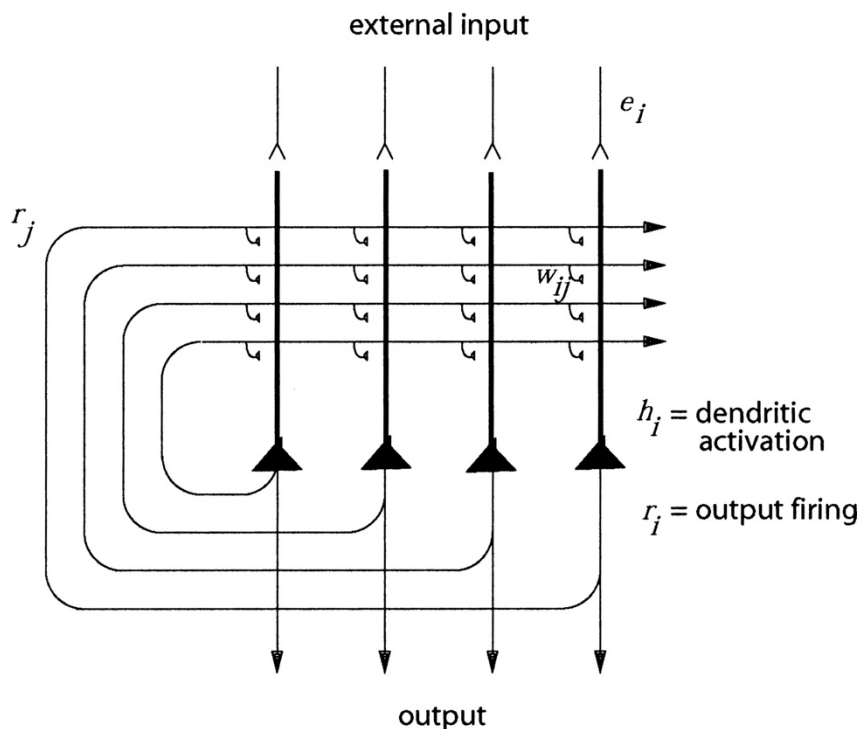
Hipokampus jako atraktor

Atraktorová síť je síť opakovaně propojených neuronů, které jsou díky své vnitřní organizaci schopny přejít do stabilního stavu a udržovat jej (Hopfield, 1982).

Pokud je síť atraktorů schopna posílit spojení mezi současně aktivními neurony podle Hebbových pravidel, pak se nazývá autoasociativní síť. V tomto případě je každý naučený vzorec stabilním atraktorem, který můžeme volat i s částečným signálem. Tento jev se nazývá "pattern completion". Pokud jsou si dva vzory příliš podobné, může dojít k chybě. Proto je druhou důležitou vlastností autoasociativní sítě - "pattern separation", proces, při kterém se podobné vzory stávají méně podobnými (Rolls and Treves, 1998).

Obrázek 2 ukazuje model atraktorové sítě. Vnější signál způsobuje aktivaci neuronu i , který je s neuronem j spojen kolaterálními rekurentními synapsemi W_{ji} . Je tak organizována pozitivní zpětná vazba. Negativní zpětná vazba je uspořádána podobným způsobem, ale zajišťují ji inhibiční interneurony (Rolls, 2007).

Oblast CA3 hippocampu má excitační rekurentní spojení (Ishizuka et al., 1990), a díky plasticitě závislé na časování impulzů (spike-timing dependent plasticity, STDP) pyramidové buňky při společné aktivace posilují synaptické spojení mezi sebou (Bains et al., 1999).



Obr. 2 Architektura sítě atraktorů. Převzato z Rolls et al., 2008.

Kvůli těmto vlastnostem je oblast CA3 hippocampu považována za autoasociativní atraktorovou síť (Treves and Rolls, 1994).

To je potvrzeno výzkumem: s malými změnami ve vstupních signálech je CA3 schopen doplňovat a udržovat pattern, a když jsou změny příliš velké reaguje a odděluje vzory (Lee et al., 2004). Ačkoli můžeme pozorovat pattern separation v CA3, teoretické modely naznačují, že k ní dochází ještě před vstupem do CA3 – v gyrus dentatus (Leutgeb et al., 2007).

Oblast CA1 na rozdíl od CA3 nemá opakující se spojení mezi pyramidovými buňkami, a proto nebude mít schopnost dokončit a oddělit vzory (Guzowski et al., 2004) a změny vzorů přímo úměrně změně příchozích signálů (Lee et al., 2004).

2.2 Hipokampus jako navigační systém

Koncept hippocampu jako struktury nezbytné pro dlouhodobou paměť, vznikl po známém případě pacienta Henryho Mollisona. Kvůli těžké epilepsii mu byl odstraněn hipokampus a okolní oblasti. Po operaci si nedokázal vytvořit nové vzpomínky, i když si uchoval paměť většiny starých (Preilowski, 2009). Protože byl odstraněn nejen hipokampus, ale i amygdala, část parahipokampální a temporální kůry, není zcela správné považovat tento případ za potvrzení role hipokampu v paměti. Následné studie o amnézii a neurodegenerativních onemocněních však potvrdily funkci hipokampu při konsolidaci paměti.

Další důležitý krok v pochopení role a funkce hipokampu se odehrál v roce 1971. O'Keefe a Dostrovsky zjistili, že hipokampální buňky reagují specificky na pozici potkana v prostoru. Tyto buňky se nazývaly buňky místa (O'Keefe a Dostrovsky, 1971) a hippocampus začal být považován za klíčovou strukturu pro prostorovou navigaci.

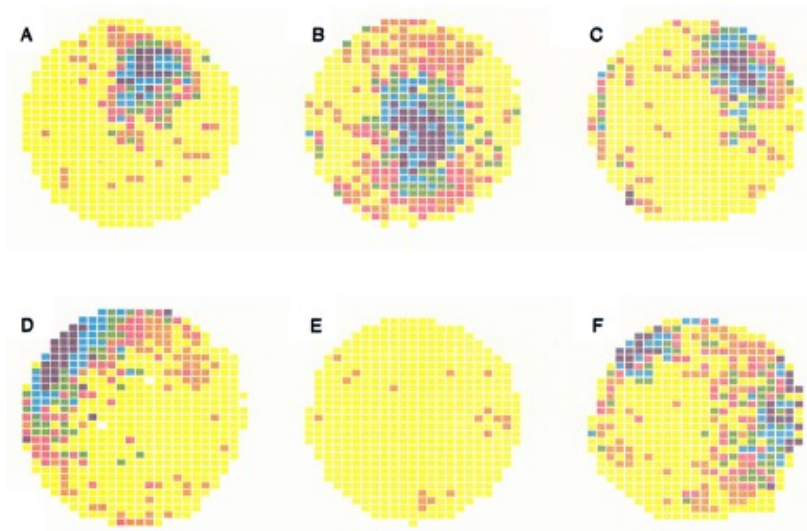
Poškození hippocampu způsobuje deficit v prostorové navigaci (Morris et al., 1982). Je však třeba poznamenat, že deficit vznikal především v úkolech vyžadujících allocentrickou navigaci, a jen v malé míře postihl navigaci egocentrickou, tj. navigaci vzhledem k poloze vlastního těla. Allocentrická navigace se zhoršila pouze v případě, že zpoždění v testu přesáhlo 5 sekund, což může naznačovat roli hipokampu v rozpoznávání a uchovávání allocentrických prostorových informací (Holdstock et al., 2000).

Place cell

Buňky místa (place cell) jsou pyramidální neurony v oblastech CA1 a CA3 hippocampu, které se aktivují pouze tehdy, když zvíře vstoupí do určitého místa v prostoru (O'Keefe and Dostrovsky, 1971). Pole v prostředí, kde bude aktivní buňka místa, se nazývá "firing field" nebo "aktivační pole" (Muller et al., 1987).

Nejběžnější a nejjednodušší metodou pro vizualizaci aktivity place cell je vytvoření firing rate map (FRM). Studovaný prostor je rozdělen na čtvercové

fragments, for each of them the frequency of action potentials is calculated (Muller et al., 1987). The resulting values are shown according to the chosen color scheme. My work (and figure 3) will use a yellow-blue color scheme, where yellow represents zero values and blue represents maximum values.



Obr. 3 Firing rate map pro 6 různých neuronů (A-F), zaznamenané v kruhové aréně. Prostor je rozdělen na stejně velké čtverce a jejich barva udává úroveň aktivity určitého neuronu v prostoru. Žlutá označuje nulovou úroveň aktivity, fialová – maximum. Převzato z Muller et al., 1987

Neurons with overlapping active fields and time of activity are called "cell ensemble". It is unique for a specific environment and each position in it, and therefore by tracking the activity of a cell ensemble, we can accurately determine the path of the animal (Wilson and McNaughton, 1993).

Approximately 30% of hippocampal CA1 cells participate in the coding of each environment (O'Keefe and Nadel, 1979), and 5% of the total number of cells will be active in each point of space (Wilson and McNaughton, 1993). Place cells do not have a topographic organization – neurons located next to each other in the brain can be active in completely different parts of the environment. Conversely, cells active in one place in space can be in the hippocampus far from each other. (Redish et al., 2001).

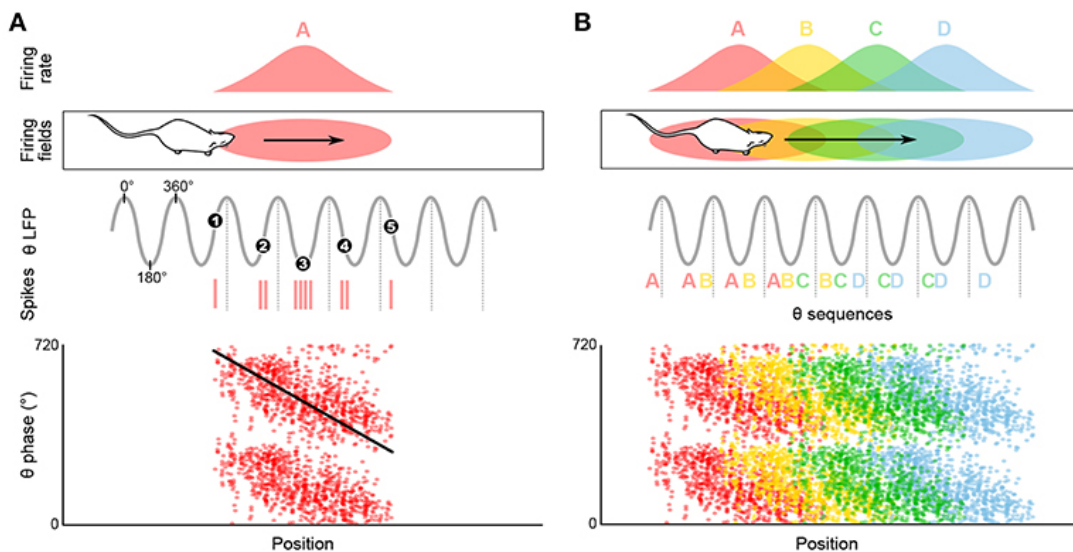
The average firing fields can vary from tens of centimeters to meters (Kjelstrup et al., 2008; Harland et al., 2021). In laboratory conditions, however, large active fields in animals are rare. It is probably caused by the ability of cells to respond to the size of the active field by the size of the test arena (Keefe and

Burgess, 1996). Podobný jev můžeme pozorovat i u počtu aktivních polí. V malých labyrintech má většina place cell pouze jedno aktivní pole, zatímco ve velkých prostorech je počet buněk se dvěma nebo více aktivními poli od 60 do až 90 % (Park et al., 2011; Fenton et al., 2008).

Théta fázová precese

Lokální potenciál pole (LFP) představuje celkovou aktivitu populací neuronů reprezentovanou jejich extracelulárními potenciály. Theta rytmy s frekvencí 6-12 Hz jsou pozorovány v hippocampu bdělého potkana během pohybu a během REM spánku (Vanderwolf, 1969).

O'Keefe a Recce zjistili, že place cell vykazují "fázovou precese", tj. jsou aktivovány v časnějších a časnějších fázích cyklu theta, když zvíře prochází aktivním polem (O'Keefe and Recce, 1993) (obr. 4). Tento jev byl pozorován nejen v buňkách místa, ale i v jiných navigačních buňkách, jako jsou grid cell (Hafting et al., 2005) nebo head direction cell (Tsanov et al., 2011).



Obr. 4 **Nahore:** pole aktivity neuronů. **Uprostřed:** doba aktivace pyramidálních buněk vzhledem k fázi theta. **Dole:** čas aktivace buňky místa vzhledem k fázi theta. Place cell jsou aktivovány v časnějších a časnějších fázích cyklu theta, když zvíře prochází aktivním polem.

Převzato z Drieu and Zugaro, 2019

Existují dvě verze vysvětlující mechanismus fázové precese. Podle první verze mají buňky place svůj vlastní cyklus vnitřních oscilací, který je kratší než vlny theta. Při vstupu do pole místa se oba cykly synchronizují a následně se vlivem rozdílu ve frekvenci postupně rozcházejí. Vzhledem k tomu, že k aktivaci neuronů dochází na vrcholu jejich aktivity, uvidíme posun akční potenciály vzhledem k rytmu theta. (O'Keefe and Recce, 1993).

Druhá hypotéza říká, že akční potenciály jsou emitovány pokaždé, když se neuronu podaří překonat inhibici řízenou fází theta. Protože excitace narůstá v průběhu času, akční potenciály se objevují dříve a dříve než rytmus theta (Kamondi et al., 1998).

Vzhledem k tomu, že absence theta rytmu v hipokampu byla spojena s deficitem prostorové paměti, bylo navrženo, že theta rytmus je nutný pro fungování place cell (Winson, 1978). Vzniklý deficit prostorové paměti nelze vysvětlit porušením tvorby aktivního pole. Hippokampální buňky mohou vytvářet a udržovat aktivní pole jak ve známém, tak v novém prostředí, a to i v nepřítomnosti rytmu theta (Brandon et al., 2014). Theta rytmus byl také spojován s výskytem dvou různých reprezentací na stejné mapě (Jezek et al., 2011).

Jiné buňky v navigačním systému mozku

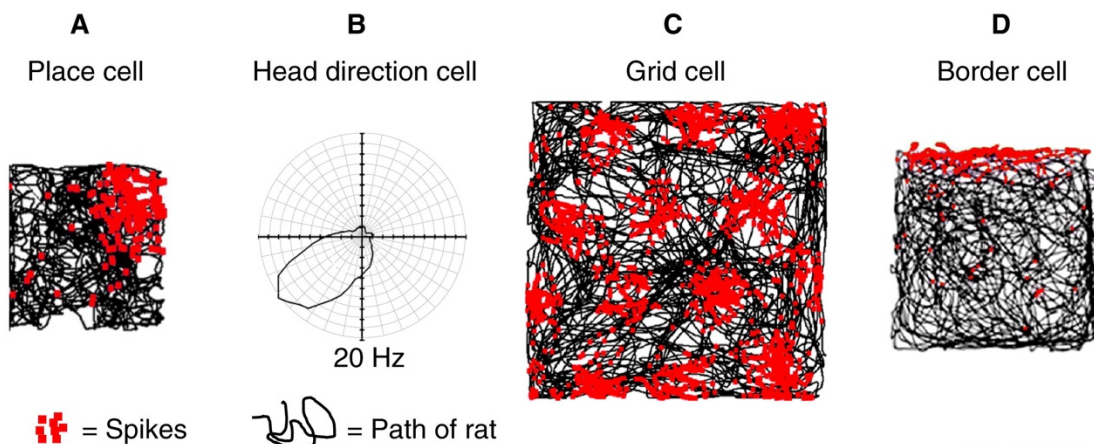
Kromě place cell existuje v mozku řada buněk zapojených do procesu navigace (obr. 5).

Buňky směru hlavy (head direction) jsou buňky, které zvyšují aktivaci, když je hlava zvířete otočena určitým směrem (Taube et al., 1990). Jsou to jediné navigační buňky, které poskytují převážně egocentrické spíše než allocentrické informace o poloze zvířete v prostoru. Původně byly nalezeny v dorzálním presubikulu (Taube et al., 1990), ale nacházejí se také v entoriálním kortexu (Sargolini et al., 2006) a mimo hipokampální formaci, v dorzálním thalamickém jádru a retrosplenálním kortexu (Taube, 2007).

Grid cell jsou lokalizovány v mediálním entoriálním kortexu (Hafting et al., 2005; Sargolini et al., 2006), pre- a parasubikulu (Boccarda et al., 2010). Aktivní pole těchto buněk se objeví v pravidelných intervalech a tvoří tak pole šestiúhelníkových

mřížek. Různé populace buněk mřížky mají různá měřítka aktivních polí, posunutí a orientaci. Navíc se velikost a vzdálenost mezi aktivními poli zvětšuje od dorzálního k ventrálnímu entorinálnímu kortexu (Fyhn et al., 2008).

Border cell je dalším typem navigační buňky umístěné v mediálním entoriálním kortexu a parasubikulu. Tyto buňky vykazují svou aktivitu v blízkosti různých hranic, jako jsou stěny, překážky atd (Solstad et al., 2008).



Obr. 5 **A.** Buňky místa mají jedno aktivní pole v prostoru. **B.** Buňky směru hlavy reagují na úhel hlavy, fungují jako «vnitřní kompas». **C.** Aktivita mřížkových buněk se objeví v pravidelných intervalech a tvoří tak pole šestiúhelníkových mřížek. **D.** Hraniční buňky

Path-integration

Existuje hypotéza, že hipokampus nepotřebuje senzory vstupů k modelování stabilních reprezentací, ale samotná architektura hipokampu umožňuje synchronizaci s pohyby (O'Keefe and Nadel, 1978). Podle této hypotézy budou buňky hippocampu aktualizovat svou aktivitu sledováním pohybů potkanu v prostoru na základě signálů z vestibulárního a proprioceptivního systému (McNaughton et al., 1996). Tato strategie, známá jako integrace cest (path-integration), je však náchylná k hromadění chyb v průběhu času bez rekalibrace. (McNaughton et al., 1991)

Potvrzuje to studie (Save et al., 2000), ve které byli potkani testováni ve čtyřech různých prostředích: se světlem a bez něj a vizuální orientací, s pachy a s čištěním k odstranění pachů. Neurony byly zaznamenávány po dobu 48 minut, aby se vyhodnotily dočasné změny v buněčné aktivitě. Bez vizuálních a čichových

informací byla aktivní pole nestabilní, buňky místa byly často přemapovány a některé dříve aktivní buňky byly obecně tiché. Naopak za přítomnosti zrakových a čichových sensorických informací byly buňky vznikajícího místa nejstabilnější.

Objekty umístěné v prostoru mohou být také podporou pro synchronizaci map a zajistit jejich stabilitu. Pokud jsou potkani slepí od narození umístěny do bludiště stabilních objektů, jejich hipokampus vytváří stabilní reprezentace, stejně jako u krys s funkčním zrakem. Když se objekty otáčejí, otáčejí se i reprezentace, což potvrzuje jejich roli jako sensorických synchronizátorů (Cressant et al., 1997)

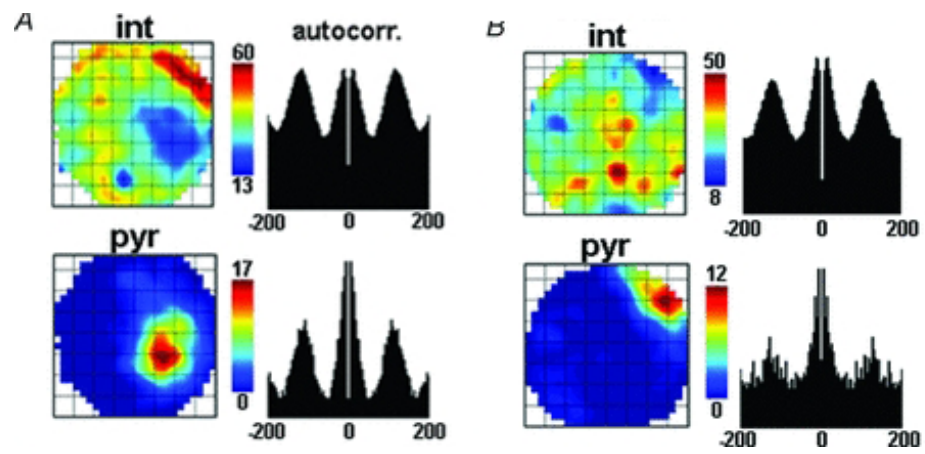
Hipokampální reprezentace jsou tedy řízeny jak vnitřními pozičními podněty, tak vnějšími smyslovými podněty.

Role interneuronů v kódování prostoru

Pokud jsou buňky místa vysoce lokalizovány a jejich firing rate klesne na nulu mimo pole místa, pak interneurony se aktivují velmi vysokou rychlostí (20 nebo více pulzů za sekundu) ve většině prostoru. Proto se obecně uznává, že interneurony umístěné v CA1, CA3 a gyrus dentatus hippocampu na rozdíl od buněk místa neobsahují prostorové informace, ale poskytují základ pro fungování sítě a prevenci nadměrné excitaci.

Stejně jako buňky místa však obsahují i informace o poloze zvířete v prostoru. Na rozdíl od buněk místa, které jsou považovány za hlavní zdroje informací o poloze, obsahují interneurony jak informaci "ON" - místo nejvyššího pálení, tak "OFF" - místo, kde je interneuron neaktivní (Wilent and Nitz, 2007) (obr. 6). Pokles pálení interneuronů může být spojen s uvolněním buněk z inhibice v této zóně. Navíc je toto spojení pozorováno jak v přítomnosti přímého synaptického spojení mezi interneuronem a buňkou místa, tak bez něj (Hangya et al., 2010).

Vzhledem k velkému počtu různých typů interneuronů v hippocampu je důležité poznamenat, že většina typů obsahuje prostorovou informaci, i když její vlastnosti mírně liší (Geiller et al., 2020).



Obr. 6 Příklad aktivního pole interneuronů a buněk místa. Převzato z Hangya et al., 2010

2.3 Přemapování

Typy přemapování

Obecně se uznává, že reprezentace jsou stabilní a přetrvávají při opakovaných návštěvách bludiště v průběhu času (Thompson a Best, 1990). Když se však kontext změní, například při vstupu do jiného prostředí, se změnami smyslových podnětů nebo se změnou vnitřní motivace, některé buňky změní umístění svých polí místa a aktivity. Tento jev se nazývá „přemapování“ (Muller a Kubie, 1987).

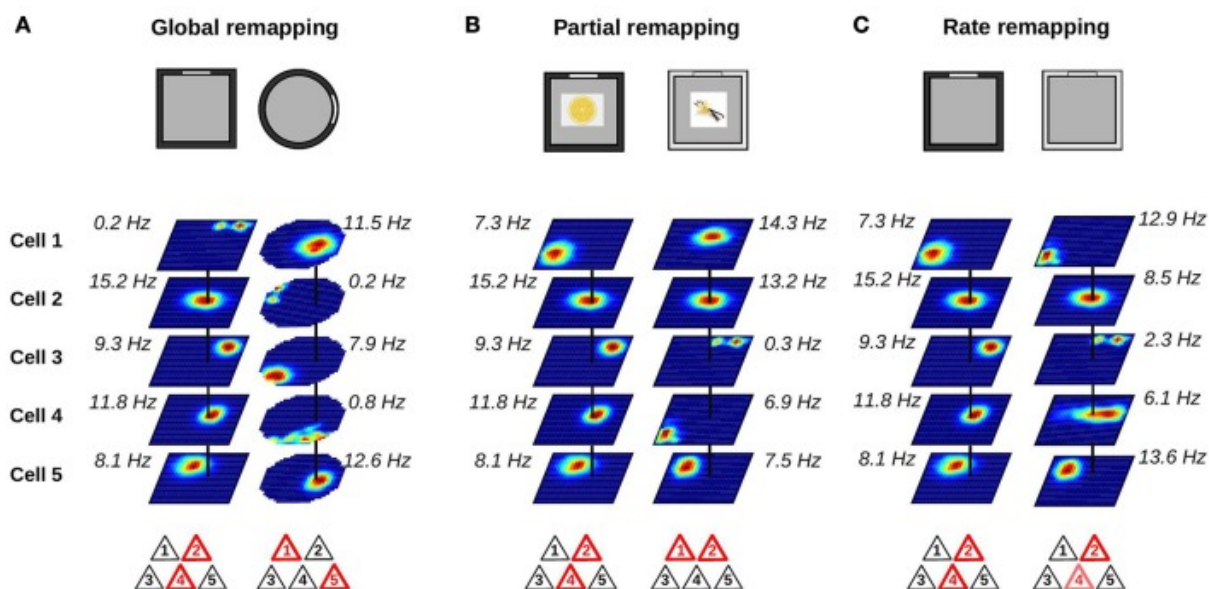
Rozlišujeme několik typů přemapování: globální, částečné a rychlostní (obr.7)

Ke globálnímu nebo úplnému přemapování dochází, když vzorce aktivity ve dvou různých prostorech spolu nekorelují (Muller a Kubie, 1987). Tento jev pozorujeme nejčastěji při přesunu zvířete do nového prostoru a pravděpodobně je to způsobeno potřebou rozlišovat mezi dvěma nezávislými zkušenostmi (Leutgeb et al., 2005). Globální přemapování lze ale pozorovat i v již známých prostorech. Například, když bylo T-bludiště otočeno o 45 stupňů vzhledem k vizuálním podnětům, objevila se zcela nová reprezentace. Při otočení o 90, 180 a 270 stupňů tento jev pozorován nebyl (Cressant et al., 2002).

K částečnému přemapování dochází, když se pole mění pouze v části buněk, zatímco druhá část zachovává stará. Experiment Andersona a Jeffreyho dokonale demonstruje efekt částečného přemapování. Během behaviorálního úkolu byly potkani umístěni do 4 různých prostorů, které se navzájem lišily vůní (vanilka nebo citron) a barvou stěn (černá nebo bílá) testovacího prostoru. Při hodnocení FRM buněk místa bylo zjištěno, že některé z neuronů měly odlišné pole místa ve všech prostorech, některé si pole zachovaly během všech sezení a některé si zachovaly svá pole za stejných sensorických podmínek. Například neurony měly dvě reprezentace, z nichž jedno se objevilo s vanilkou a druhé s citronem (Anderson and Jeffery, 2003).

Rychlostní přemapování (Leutgeb et al., 2005) je posledním typem přemapování, které nemění umístění aktivního pole neuronu, ale firing rate buněk. Nejčastěji je ratingové přemapování pozorováno u úkolů souvisejících s volbou mezi alternativními možnostmi nebo s drobnými změnami v kontextu prostředí. V

experimentu, kdy si potkan v závislosti na druhu potravy musel vybrat mezi dvěma chodbami, firing rate buněk místa určoval budoucí volbu (Allen et al., 2012).



Obr. 7 Tři typy přemapování. Nahoru: testovací prostředí. Uprostřed: FRM pět různých place cell. Dole: buňky aktivní v pozici označené černou čarou jsou zvýrazněny červeně. **(A)** Globální přemapování. Vyskytuje se, když dojde k výrazné změně prostředí. Všechny buňky změnilly aktivní místo. **(B)** Částečné přemapování. Některé neurony si zachovávají své aktivní pole. **(C)** Přemapování rychlosti. Vyskytuje se v důsledku drobných změn v testovací aréně. Pole buněčné aktivity zůstávají na stejných místech, ale firing rate se mění. Převzato z Latuske et al., 2017.

Obecně se uznává, že stupeň přemapování závisí na síle změny okolního prostoru. Existují však studie, kde potkani reagují odlišně na stejné změny v kontextu (Leutgeb et al., 2005; Lever et al., 2002). Jedním z možných důvodů, proč k tomu dochází, je to, že reprezentace závisí na předchozí zkušenosti zvířete.

Zkušenost ovlivňuje přemapování

Vznik nové reprezentace v novém kontextu závisí na mnoha parametrech. V klasickém pohledu se reprezentace objeví okamžitě, když potkan navštíví nový prostor a zůstanou nezměněny po dlouhou dobu (Muller et al., 1987). Ve většině studií však byla zvířata vystavena pouze jednomu kontextu nebo již byla obeznámena s prostředím před zahájením experimentu.

Ve studiích, kde byly potkany testovány ve dvou různých arénách, docházelo k postupnému vzniku reprezentací pro každý prostor (Lever et al., 2002). Pokud navíc zvíře prozkoumalo dva různé prostory jeden po druhém, oddělení prostorových reprezentací trvalo více času než oddělení prostorových map s intervalem mezi návštěvami (Law et al., 2016).

Jedním z vysvětlení pro postupného oddělení dvou reprezentací může být postupný proces učení při zkoumání prostředí.

Takže v morfovacích testech po dlouhou dobu různé laboratoře získávaly protichůdné výsledky. Experimenty s morfováním zahrnují výuku potkany kulaté a čtvercové arény a následné pozorování chování neuronů, jak se tvar postupně mění z kulatého na čtvercový. Některé laboratoře v důsledku toho zaznamenaly postupnou transformaci z jedné reprezentace do druhé (Leutgeb et al., 2005), zatímco jiné zaznamenaly ostrý přechod mezi známými reprezentacemi (Wills et al., 2005).

Nedávná studie z roku 2021 testovala chování populace neuronů CA1 v různých prostředích pomocí virtuální reality. První skupina zvířat navštívila dvě prostředí, která se od sebe výrazně lišila barvou a vlněním pozadí, barvou orientačních bodů. Druhá skupina navštívila nejen tyto dva prostory, ale i meziformy, které si rozšířily zkušenosti. Ve skupině navštěvující výrazně odlišná prostředí způsobilo umístění v přechodném prostředí aktivaci jedné ze dvou extrémních map odvozených z předchozích zkušeností. (Plitt and Giocomo, 2021).

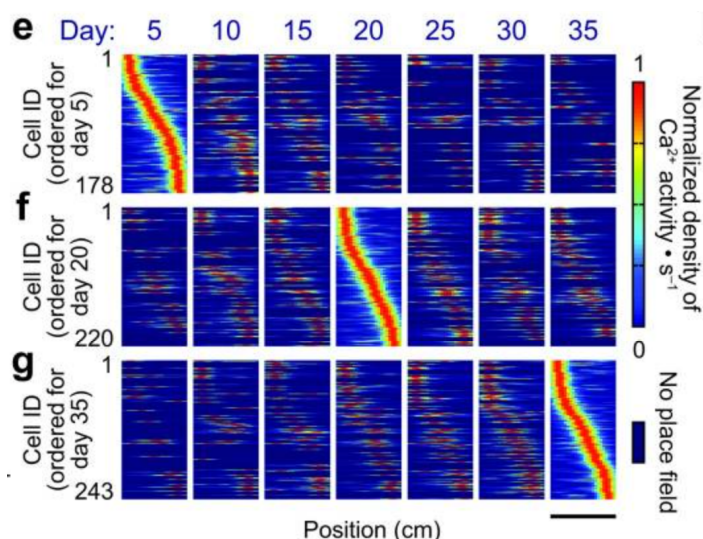
Ve skupině, která byla obeznámena s širším rozsahem vizuálních podnětů, výsledné reprezentace měly tendenci vytvářet přechodné stavy. To nám říká důležitost předchozích zkušeností pro přemapování. Jinými slovy, čím více různých podnětů se potkan naučil identifikovat, tím lépe bude hipokampus schopen rozlišovat mezi různými prostory.

To potvrzuje i další studie, kde, když byly potkany poprvé představeny kulatým a čtvercovým arénám, mělo 73 % neuronů v obou případech homotopická pole. Když se potkany naučily rozlišovat mezi dvěma různými tvary a oddělily zpočátku podobné reprezentace, byly umístěny do jiných kulatých a čtvercových bludišť. V nich měla opět většina neuronů homotypická pole, která byla oddělena, jak byl prostor zkoumán (Lever et al., 2002).

Nestabilita reprezentací

Dokonce i když dojde k oddělení dvou reprezentací, mapy se nestanou absolutně stabilními. Technický pokrok posledního desetiletí umožnil zaznamenat elektrofyziologickou aktivitu obrovských polí neuronů v průběhu času. S možností dlouhodobého záznamu buněk místa se začalo stále častěji mluvit o nestabilitě reprezentace buněk v čase. Nepřetržité změny, ke kterým dochází u hipokampálních reprezentací ve stabilních a známých prostorech, byly nazvány „reprezentační drift“ (“representational drift”) (Rule et al., 2019).

V dlouhodobé 45denní studii velkého množství neuronů CA1 (500-1000 buněk z každého zvířete) bylo možné stanovit, že pouze 15-25 % neuronů si udržuje stabilní pozici mezi dvěma náhodně odebranými sezeními. Současně byla většina buněk aktivní pouze v jednom nebo dvou sezeních (57 %) a populace buněk, která se vyskytla během všech 45 dnů, byla pouze 3 % z celkového počtu zaznamenaných neuronů. Je zvláště zajímavé, že tato 3 % si během experimentu zachovala aktivní pole (Ziv et al., 2013, Obr. 8).



Obr. 8 FRM pro neurony zaznamenané během 35 dnů. Údaje jsou seřazeny podle pozice aktivního pole (e) 5. den, (f) 20. den a (g) 35. den. Je vidět, že reprezentace se neustále postupně mění.

Převzato z Ziv et al., 2013

Taková variabilita je pozorována u CA1, zatímco CA3 zůstává stabilní (Mankin et al., 2012). Jedním z možných vysvětlení by mohla být časová informace přicházející z entoriálního kortexu do oblasti CA1 (Howard and Natu, 2005). Oblast

CA3 by tedy mohla poskytovat kontextové a prostorové informace, zatímco oblast CA1 je doplňuje náhodnými změnami, aby zakódoval časový aspekt (Keinath et al., 2021).

Ve výše uvedených studiích, navzdory malým změnám v souboru neuronů, měly buňky jasně definovaná aktivní pole, která si po nějakou dobu zachovala svou stabilitu. Pro udržení aktivních polí je však nutné mít během experimentu behaviorální úkol nebo cíl (Kentros et al., 2004).

S přesností reprezentací souvisí i náročnost úkolu. Potkani, které měly prostorový úkol, měly jasně organizovaná aktivní pole, na rozdíl od zvířat, která hledala potravu nebo neplnila žádný úkol. Reprezentace volně se pohybujících zvířat bez behaviorálního úkolu se návštěvy od návštěvy velmi lišily (Kentros et al., 2004, Muzzio et al., 2009).

Navíc, pokud měl potkan během plnění behaviorálního úkolu dobře definovaná pole, ale pak úkol opustil, prostorový kód začíná degradovat. Aktivní pole se stávají méně omezenými, zvětšují oblast činnosti, ale zároveň udržují úroveň střelby na stejné úrovni. Při návratu k úloze se aktivní pole opět stávají omezenými a vysoce informativními (Pettit et al., 2022).

Je důležité poznamenat, že při provádění prostorového úkolu se pole aktivních míst se nevyskytují okamžitě. Takové změny mohou být spojeny s "filtrováním" zbytečných podnětů k vyřešení problému (Muzzio et al., 2009, Jeantet and Cho, 2012).

2.4 Spánek a konsolidace paměti

Konsolidace paměti je proces formování dlouhodobé paměti. Konsolidaci můžeme rozdělit na buněčnou, spojenou se synaptickou plasticitou (Bekinschtein et al., 2010) a systémovou, tj. přenos informací z hipokampu do místa dlouhodobého uložení (Marshall and Born, 2007).

Tvorba paměti začíná bezprostředně po události na buněčné úrovni. Patří mezi ně synaptická dlouhodobá potenciace (LTP) nebo dlouhodobá deprese (LTD), časná a pozdní genová exprese. Tyto procesy vedou k remodelaci synapse a konsolidaci paměti na buněčné úrovni (Kandel et al., 2014).

Systémová konsolidace trvá dny až několik let a spočívá v přenosu vzpomínek z hipokampu do neokortexu. Existuje mnoho hypotéz o tom, jak přesně jsou vzpomínky konsolidovány a tvoří dlouhodobou paměť. Standardní model uvádí, že nové vzpomínky se rychle ukládají prostřednictvím synaptické plasticity v hipokampu a poté se postupně přenášejí do různých oblastí kůry posilováním spojení (Squire and Alvarez, 1995). Výsledkem je, že dlouhodobá paměť se stává nezávislou na hipokampu, což může vysvětlit přetrvávání vzpomínek na dětství u pacientů s retrográdní amnézií (McClelland et al., 1995).

Řada dalších hypotéz se navzdory rozdílům mezi sebou shoduje v tom, že hipokampus je potřeba neustále, a to jak pro konsolidaci, tak pro následné vybavování vzpomínek z paměti. V tomto případě je funkcí hipokampu udržování a integrace sémantické a objektové paměti. Příkladem takové teorie by bylo multiple trace theory (Nadel and Moscovitch, 1997), index theory (Teyler and DiScenna, 1986) a contextual building theory (Yonelinas et al., 2019).

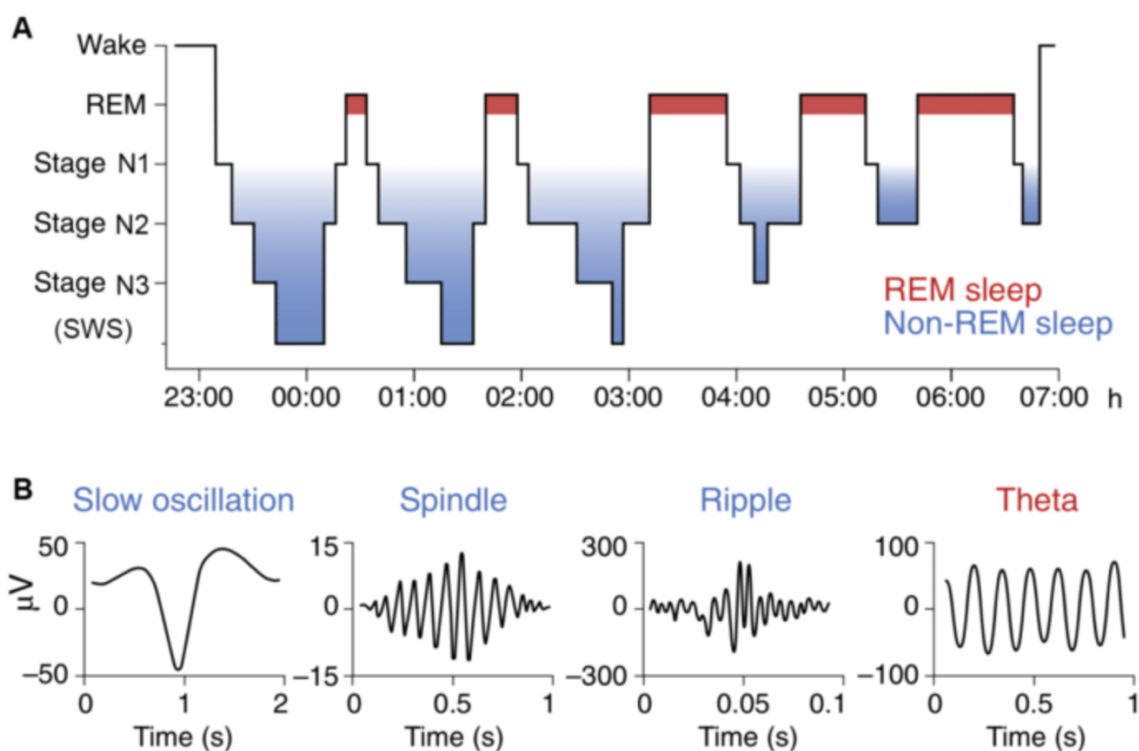
Navzdory obrovskému množství různých teorií každý uznává roli spánku v procesech konsolidace paměti.

Vliv spánku na zlepšení prostorové paměti byl prokázán jak u zvířat, tak u lidí. Podle očekávání lidé po nočním spánku lépe rozpoznali a reprodukovali známé cesty, na rozdíl od skupiny bez spánku a se spánkovou deprivací (Ferrara et al., 2006). Krátký 45minutový spánek sestávající převážně z non-REM také zlepšil výkon u tří typů deklarativních úkolů (Tucker and Fishbein, 2008).

Architektura spánku

Spánek není homogenní proces a skládá se z několika fází, které můžeme rozdělit na REM a non-REM spánek. Tyto fáze spánku se liší svými elektrofyziologickými a funkčními charakteristikami. Spánek s rychlým pohybem očí (REM) je charakterizován théta oscilacemi, zatímco neokortikální pomalé oscilace, thalamokortikální vřeténka a hipokampální ripple jsou rysy spánku bez rychlého pohybu očí (non-REM). Pomalé oscilace a vřetena jsou charakteristické rysy pomalého spánku (SWS) (Steriade et al., 1993) (obr. 9).

Pokud jde o paměťové efekty, REM spánek ovlivnil lidskou procedurální paměť, zatímco non-REM spánek ovlivnil deklarativní paměť (Plihal and Born, 1997).



Obr. 9 **A.** Zobrazení fází spánku u lidí. První polovina spánku je převážně non-REM spánek, druhá se skládá převážně z REM spánku. **B.** Pro non-REM spánek jsou charakteristické pomalé oscilace, vřeténka a ripple. Theta vlny jsou charakteristické pro REM spánek. Převzato z Rusch, 2020

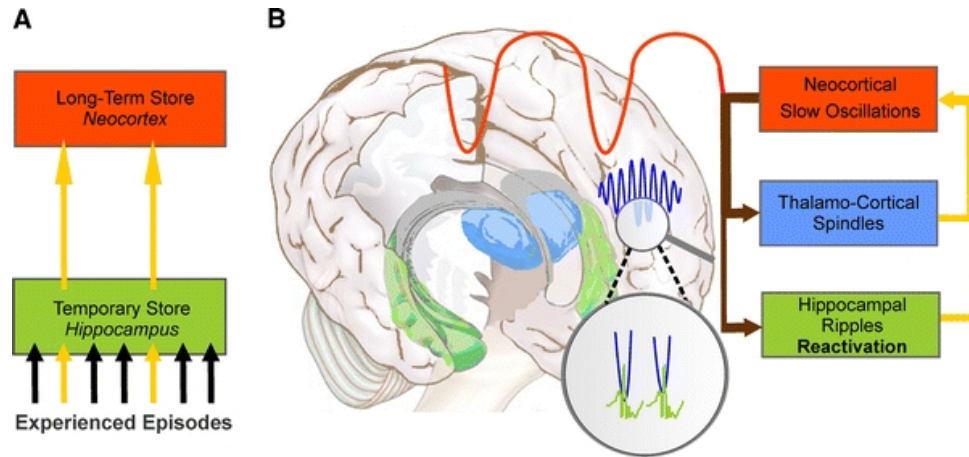
Reaktivace hipokampálních neuronů během spánku

V roce 1994 Wilson a McNaughton pozorovali reaktivaci buněk hippocampu během non-REM spánku. Během hlubokého spánku buňky, které jsou často aktivní společně v hipokampu během bdělosti, současně aktivovány během spánku. (Wilson and McNaughton, 1994). Reaktivace probíhaly ve stejném pořadí, jako kdyby potkan sledoval určitou trajektorii v experimentálním prostředí, ale reprodukovaly se asi 20krát rychleji (Lee and Wilson, 2002). Navíc se tento efekt každým dnem snižoval, což by mohlo být důkazem ztráty relevance pro konsolidaci vzpomínek v paměti (Wilson and McNaughton, 1994). Toto opakování může probíhat jak v přímém pořadí (Davidson et al., 2009), stejným způsobem jako v experimentálním prostředí, tak i obráceně (“reverse replay”) (Foster and Wilson, 2006).

Tato reaktivace buněk se vyskytuje během ripples a dochází k ní jak během spánku, (Ji and Wilson, 2007), tak během bdění (Jackson et al., 2006). Spojení ripples s konsolidací podporuje i řada studií, kde narušení vlnění během spánku zhoršuje prostorové učení. (Ego-Stengel and Wilson, 2010; Girardeau et al., 2009).

Reaktivace buněk během non-REM spánku se shodovala s výskytem sharp wave–ripple (SWR), krátkých výbuchů neuronální aktivity trvajících 50-120 ms, během kterých lokální potenciál silně kolísá kolem 200 Hz (Buzsaki, 2015). Na základě pozorovaných souvislostí mezi různými oscilacemi v mozku a konsolidací byla navržena hypotéza aktivní systémové konsolidace (obr. 10). Tvrdí, že ke konsolidaci paměti během spánku dochází synchronizací reaktivace hipokampu s pomalými rytmy neokortexu, čímž je zajištěn přenos vzpomínek do dlouhodobého uložení (Marshall and Born, 2007).

Roli pomalých oscilací v konsolidaci potvrzuje zkušenost, kdy pomocí transkraniální elektrické stimulace došlo ke zvýšení síly a pravidelnosti pomalých oscilací. Tato manipulace zlepšila účinnost udržování deklarativních vzpomínek závislých na hipokampu. (Marshall et al., 2006). Podobné výsledky byly získány i u potkanů (Binder et al., 2013)



Obr. 10 Model aktivní konsolidace. Během spánku dochází k reaktivaci buněčných souborů v hipokampu. Thalamokortikální oscilace jsou synchronizovány s pomalými oscilacemi kůry, což umožňuje konsolidaci informací z hipokampu. Převzato z Born and Wilhelm, 2012

3. Cíle práce

Hlavním cílem práce bylo prostudovat, jak vzniká mapa složitého prostředí z jednotlivých jednoduchých map. K tomu jsem zaznamenávala aktivitu hipokampálních neuronů během prostorového úkolu a během spánku.

Abych odpověděli na hlavní otázku, musela jsem zodpovědět tyto otázky:

1. Byly reprezentace, které se objevily v první fázi, stabilní? Rozpoznal potkan kombinace ramen mezi sebou? Protože po seznámení se s kombinacemi mohlo dojít k přemapování, bylo nutné pochopit, zda je to způsobeno celkovou nestabilitou reprezentací nebo skutečností seznámení se s novým prostorem.
2. Jak se změnila reprezentace známých jednoduchých map poté, co potkan poznal společnou část? Dotknou se tyto změny pouze společných ramen nebo se dotkne celé reprezentace?
3. Co se stane během odpočinku po seznámení se se společnou částí? Ovlivní odpočinek aktivitu neuronů při následujících návštěvách?
4. Bude mapa celého bludiště podobná mapám jednotlivých kombinací ramen?

4. Metodika

4.1 Experimentální zvířata

V experimentu se použili samci potkanů Long Evans ve věku 3-6 měsíců a vážící 450-600 gramů v době implantace. Zvířata byla chována v klimatizovaném zvěřinci (22 ± 2 °C) s konstantním cyklem 12h den / 12h noc v jednotlivých průhledných plastových chovných boxech. Přísun vody a jídla měli ad libitum. Všichni potkani byli experimentálně naivní a testováni pouze jednou. Všechna zvířata byla dodána společností Velaz s.r.o.

4.2 Experimentální design

Ke splnění úkolu byl použit labyrint sestávající ze 4 ramen s různými ornamenty (obr. 11B). Přepážky umožnily uzavřít testovací prostor od zbytku bludiště.

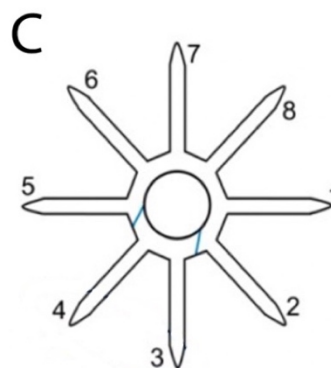
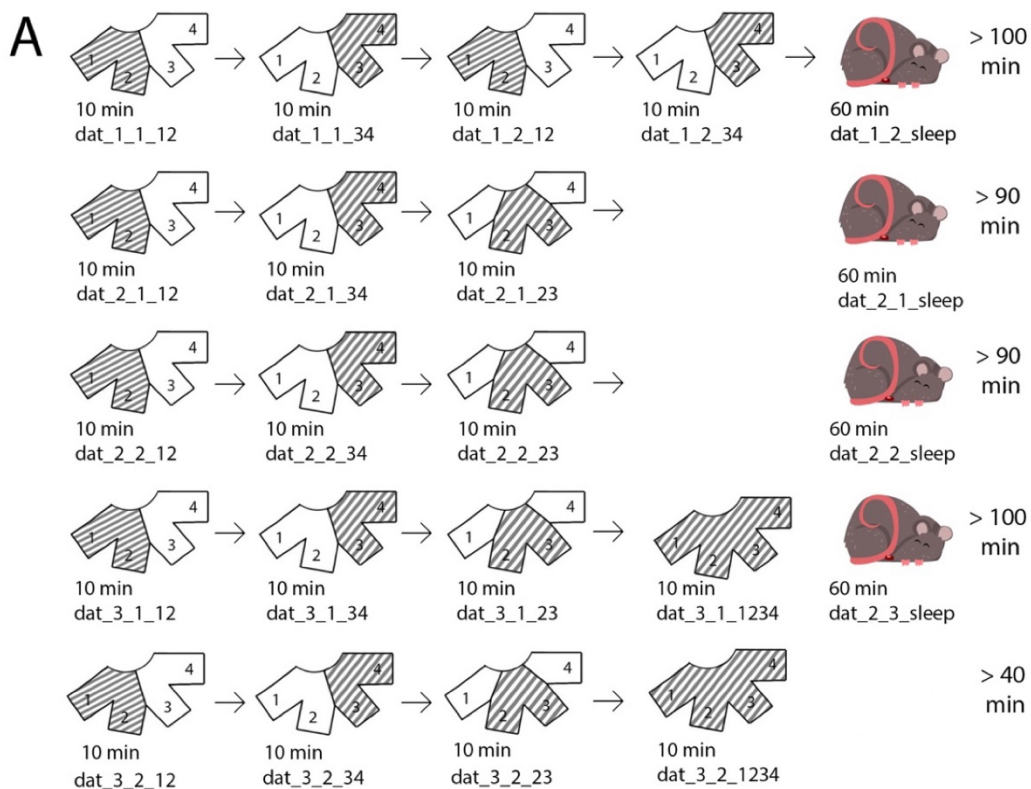
Experiment se skládá ze tří fází po dvou opakováních (obr. 11A). Každé opakování fáze, s výjimkou první a poslední, je zakončeno hodinovým odpočinkem ve spacím koši, se kterým byl potkan již před experimentem dobře obeznámen. Každá návštěva bludiště trvá 10 minut, během kterých potkan bludiště volně prozkoumává. K záznamu neurální aktivity dochází jak během prozkoumání bludiště potkanem, tak během spánku.

První fáze je nezbytná k seznámení potkana s testovacím prostorem a sestává ze dvou opakování návštěv nezávislých ramen bludiště, tj. 1 a 2, 3 a 4.

Druhá fáze opakuje první, ale na závěr se přidává návštěva 2. a 3. ramene, které jsou novou kombinací již známých ramen. Pak přichází hodinový odpočinek a fáze se opakuje podruhé, rovněž končí odpočinkem.

Třetí fáze opět opakuje druhou, ale s další návštěvou všech čtyř ramen labyrintu. Stejně jako předchozí fáze se opakuje dvakrát, ale spánek je mezi opakováními zaznamenán pouze jednou.

Spánek byl zaznamenáván následovně: potkan byl umístěn do spánkového koše, zatímco bylo monitorováno EEG. Jakmile se objevila spánková vřeténka a K-komplexy, charakteristické pro hlubokou fázi, byl zahájen záznam neuronální aktivity po dobu 20 minut. Poté byla pomocí EEG znovu určena fáze spánku a, když byly detekovány rysy nREM, bylo zapnuto druhé nahrávání.



Obr. 11 **A.** Schéma experimentu. Experiment se skládá ze tří fází po dvou opakováních. Ramena navštívená potkanem jsou na obrázku vystínovaná. Od zbytku labyrintu jsou odděleny přepážkami, takže zvíře nemůže dostat do jiné části bludiště. **B.** Fotografie bludiště. Převzato z Lebedeva, 2020. **C.** Schematické znázornění bludiště, blízké skutečnému poměru stran.

Mezi každou návštěvou bludiště byla provedena řada kroků, aby se vyloučila možnost jakékoli jiné orientace než vizuální. Nejprve byl povrch dezinfikován, aby se odstranily pachy. Za druhé, pohyb potkana do a ven z bludiště se prováděl pod látkou tak, že potkan neviděl uzavřené části bludiště a prostředí. Za třetí, mezi každou návštěvou a odpočinkem v košíku byl potkan umístěn do ručníku a nějakou dobu se

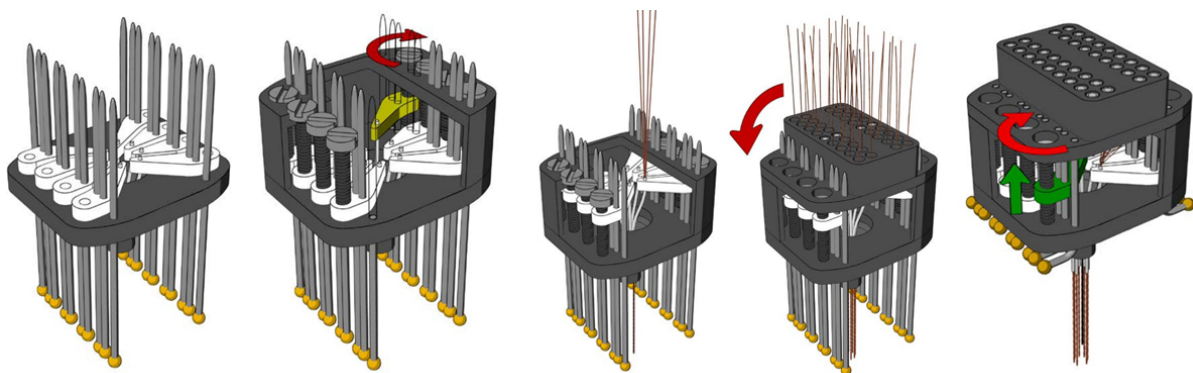
přemísťoval z místnosti do místnosti, točil se atd., aby se vyřadila jeho vnitřní orientace. S ohledem na dobu trvání experimentu byla do spacího koše umístěna miska s vodou.

4.3 Výroba implantátů

Tetrody byly vyrobeny stočením čtyř niklchromových drátů o průměru 25 nebo 12,5 mikrometru a jejich následným zahřátím na několik sekund, aby došlo k roztavení povlaku a spojení čtyř drátů dohromady. Vzhledem k tomu, že jedna elektroda registruje několik buněk kolem sebe najednou, tetrodová konfigurace usnadňuje vzájemné odlišení různých neuronů během analýzy porovnáním potenciálu na různých elektrodách.

Dále byly tetrody vloženy do implantátu VersaDrive8 (Axona), jehož konstrukce umožňuje vertikální posun tetrod nezávisle na sobě pomocí šroubů (obr. 12).

Před implantací byly elektrody čištěny ve 0,7% NaCl roztoku po dobu 20 sekund a poté pokryty zlatým roztokem (gold solution, 5-10%; Neuralynx), aby se snížil impedance elektrod na ± 90 -120 kOhm.



Obr. 12 Zjednodušené schéma konstrukce implantátu. Každá tetroda je umístěna v kanylu připevněnou ke šroubu s plastovým prvkem. Tato konstrukce umožňuje nezávislý vertikální pohyb tetrody. Převzato a upraveno z návodu "VersaDrive 8 Construction Manual", Neuralynx

4.4 Stereotaktická operace

Před chirurgickým zákrokem byli potkani anestetizováni inhalací 5% isofluranu. Po usnutí bylo zvíře umístěno do stereotaxického rámu a fixováno ušními tyčinkami pro stabilizaci hlavy během operace. V průběhu operace byla anestezie udržována inhalací roztoku isofloranu 2,5-4% v závislosti na individuálních reakcích zvířete.

Srst z hlavy byla oholena, následně byla kůže odstraněna skalpelem, aby se umožnil přístup k lebce. Povrch lebky byl očištěn od buněk a krve.

Do lebky bylo vyvrtáno 6 průchozích otvorů a do každého z nich byly vloženy šrouby. Ke čtyřem z nich byly následně připevněny zemní dráty, zbylé dva šrouby sloužily k dodatečné fixaci implantátů na lebce. Další otvor byl lokalizován nad oblastí CA1 hipokampu 3,8 mm posteriorně, 2,5 mm laterálně od bregmy. Konce tetrod byly sníženy 1,5–2 mm pod povrch mozku.

Tetrody a otvor v lebce byly pokryty vazelínou. Implantát byl k lebce fixován rychle tvrdnoucím zubním cementem (Duracol).

Po operaci potkani dostávali týden perorálně antibiotikum Enroxil a 3 dny analgetikum Metacam. Potkan měl minimálně 7 dní na zotavení z operace.

4.5 Nahrávání jednotkové aktivity

Když se potkan po operaci zotavil, tetrody byly postupně ponořeny hluboko do mozku, dokud nedosáhly oblasti CA1. To je nutné, protože během operace byly elektrody umístěny několik milimetrů nad cílovou oblastí.

Elektrody byly snižovány o 30-60 μm jednou denně. Několik hodin po každém posunu tetrody byl potkan umístěn do čtvercové arény, kterou jsme během experimentu nepoužili, k určení polohy tetrody v mozku. Pokud jsme viděli theta amplitudu charakteristickou pro hippocampus a na záznamech se objevily prostorově specifické buňky, pak jsme usoudili, že jsme ve správné oblasti. Experiment začal, když tam bylo alespoň několik buněk.

Pro záznam neurální aktivity byl k implantátu na hlavě potkana připevněn předzesilovač s kabelem vedoucím k sekundárnímu zesilovači a následně k systémové jednotce (Axona Ltd.). Signály z elektrod byly filtrovány při frekvencích

600 Hz a 6 kHz. Všechny signály překračující manuálně nastavený práh byly uloženy pro pozdější analýzu.

Poloha zvířete byla monitorována pomocí LED diod připevněných k hlavě potkana.

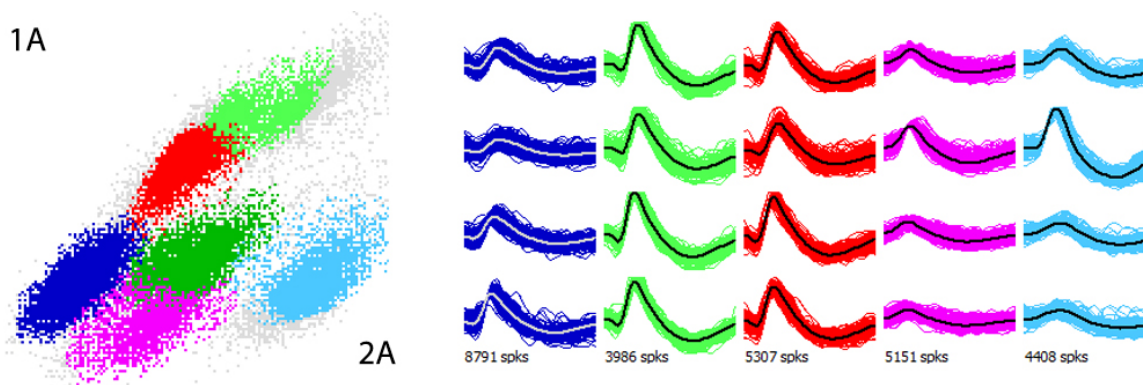
4.6 Analýza dat

Shlukování a identifikace jednotek

Díky konfiguraci tetrody je každý akční potenciál (spike) současně zaznamenáván každou ze čtyř elektrod. Při shlukové analýze můžeme párově porovnávat informace přijaté z každé elektrody podle nějakého znaku, například podle největší amplitudy. Dostaneme tedy šest bodových grafů, kde každá tečka představuje spike registrovaný tetrodou. Spiky na grafech se obvykle shromažďují ve znatelných shlucích, a proto jsou snadno rozlišitelné. Každý takový shluk je považován za samostatnou buňku (obr.13)

K určení, zda je přijímaný signál neuron nebo šum, byla použita autokorelace. Jedná se o metodu, která umožňuje porovnat pravděpodobnost výskytu spiku vzhledem k sobě samému. Pokud byl záznam šum, pak jsme viděli symetrické periodické vrcholy a nepovažovali jsme to za buňku.

K vizualizaci a shlukování byl použit program Tint (Axona Ltd.).



Obr. 13 Znárodnění shlukové analýzy. **Vlevo.** Graf získaný porovnáním 1. a 2. elektrody ze stejné tetrody. Různé barvy označují různé buňky vybrané během shlukové analýzy. **Vpravo.** Zaznamenané neurony. Barva neuronů odpovídá barvě shluků při shlukové analýze. Je jasné vidět, že všechny čtyři elektrody jedné tetrody zaznamenaly odlišný signál, což usnadnilo vzájemné oddělení buněk.

Analýza aktivity hipokampálních neuronů

K interpretaci zaznamenaných dat z Axony, k sestavení firing rate map (FRM), k výpočtu prostorových informací, koherence a firing rate byly použity programy napsané E. Kelemenem v prostředí Matlab.

Pro konstrukci FRM byla použita data o pohybu potkana v aréně. Celá plocha bludiště byla rozdělena na 16x16 pixelů pro kombinaci dvou ramen a 32x32 pixelů pro celé bludiště. Pro každý pixel byl vypočten součet spiků a čas strávený v těchto prostorových souřadnicích. Potom vydělením počtu spiků časem jsme dostali hodnoty firing rate pro každý pixel, které byly následně vizualizovány. Pixely s nejvyšší firing rate jsou na mapě označeny modře, pixely s nulovými hodnotami žlutě.

Pro statistickou analýzu a vizualizaci grafů jsem použila své vlastní programy napsané v Pythonu a také program Prism.

Strojové učení

K objevení skrytých vztahů jsem použila nástroj strojového učení BigML.

Analýzoval databázi, která obsahovala informace o fázi experimentu, firing rate neuronů, koherenci, prostorové informace, zda to byl spánek nebo ne, zda mapa byla nová a zda se jednalo o kombinaci již známých (tj. 23 nebo 1234).

V závislosti na účelu byla některá data z databáze odstraněna. Například při predikci fáze se nepočítalo s informací o novosti mapy a o tom, zda šlo o kombinaci. Při předpovídání novosti nebo toho, zda byla mapa kombinací jiných, byly odstraněny informace o fázi experimentu. To bylo nutné, aby neuronová síť nezakládala své závěry na těchto datech.

Na začátku jsem automaticky rozdělila databázi na trénovací (80%) a testovací (20%). Na trénovací datové sadě je síť trénována k predikci analýzou již známých charakteristik. V testu zkontroluje, zda byly tyto vlastnosti uhodnuty správně nebo ne a prezentuje výsledky jako konfusní matici (obr.14).

Recall nebo sensitivity znamená počet pozitivních případů odhadnutých jako pozitivní. Čím menší je tato hodnota, tím více chyb druhého typu, tedy falešně negativních předpovědí.

Specificity je podobná, ale počítá počet negativních případů uhodnutých jako negativní. Čím nižší je tato hodnota, tím více chyb prvního typu, tedy falešně pozitivních předpovědí.

Accuracy znamená přesnosti předpovědí, tedy poměru správně uhodnutých hodnot k celkovému počtu. Precision udává, jaké procento pozitivně předpovězených hodnot je skutečně pozitivní.

F-score pomáhá měřit Recall a Precision současně (Sharma et al., 2022).

		Predicted Class		
		Positive	Negative	
Actual Class	Positive	True Positive (TP)	False Negative (FN) Type II Error	Sensitivity $\frac{TP}{(TP + FN)}$
	Negative	False Positive (FP) Type I Error	True Negative (TN)	Specificity $\frac{TN}{(TN + FP)}$
		Precision $\frac{TP}{(TP + FP)}$	Negative Predictive Value $\frac{TN}{(TN + FN)}$	Accuracy $\frac{TP + TN}{(TP + TN + FP + FN)}$

Obr. 14 Konfusní matice. Převzato z Shajihan, 2020

Pro predikci jsem použila metodu Decision Forest. Pro každou množinu sestaví rozhodovací strom ve formě stromového diagramu, kde každá větev představuje nějakou hodnotu parametru. Decision Forest tento postup mnohokrát opakuje a najde neoptimalnější a nejpřesnější hodnoty pro předpovědi. To neznamená, že budeme mít parametry, které předpovídají výsledek se 100% pravděpodobností. To znamená, že přesnost předpovědi bude stanovena co nejpřesněji.

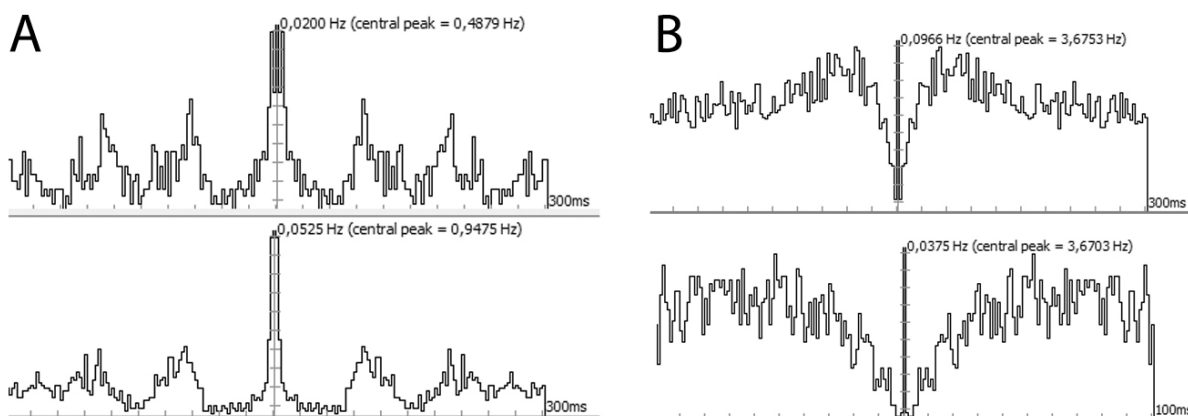
5. Výsledky

Zaznamenané neurony

Od jednoho zvířete bylo zaznamenáno celkem 20 neuronů, z toho 6 interneuronů a 14 pyramidových buněk. Tyto dva typy byly odlišeny autokorelogramy (obr. 15) a firing rate. Interneurony měly charakteristickou refrakterní periodu a větší firing rate, zatímco pyramidální buňky měly výrazné vrcholy odpovídající fázi theta a menší firing rate.

Průměrný firing rate interneuronů byl 6.03 ± 3.11 Hz během bdělosti a 4.882 ± 2.676 Hz během odpočinku. U pyramidálních buněk střední hodnoty odpovídají 0.571 ± 0.436 Hz během bdění a 0.265 ± 0.293 Hz během odpočinku.

Během experimentu se aktivita pyramidálních neuronů výrazně změnila. Minimální hodnota pro pyramidové buňky během bdělosti byla 0.016, maximální byla 4.065. Během odpočinku byly minimální a maximální hodnoty 0.014 a 1.213.

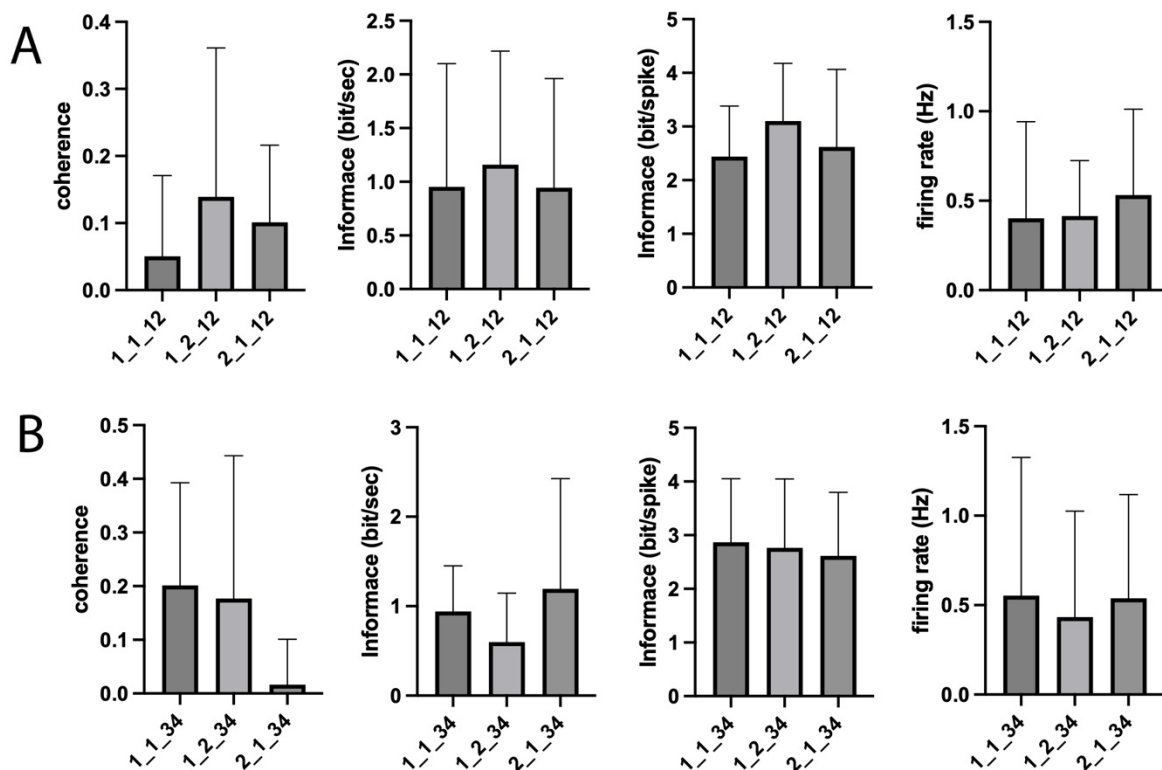


Obr. 15 Autokorelogramy neuronů zaznamenaných během spánku. **A.** Autokorelogramy dvou pyramidálních buněk a **B.** dvou interneuronů

Charakteristika neuronů v ramenech 1+2 a 3+4 a stabilita jejich kognitivních map

Potkan před experimentem bludiště nikdy nenavštívil, takže naší první otázkou bylo, zda se během prvních návštěv ramen 1+2 a 3+4 mohou objevit stabilní reprezentace. Zajímalo nás také, jaké vlastnosti budou mít neurony ve dvou různých kombinacích ramen a zda mezi nimi bude výrazný rozdíl.

Nejprve jsem porovnávala změny v prostorových charakteristikách a firing rate neuronů za první tři návštěvy obou kombinací ramen (obr. 16). Ke kvantifikaci neuronální aktivity neuronů se používá míra prostorové koherence (Muller and Kubie, 1989) a prostorové informace (Skaggs et al., 1992).



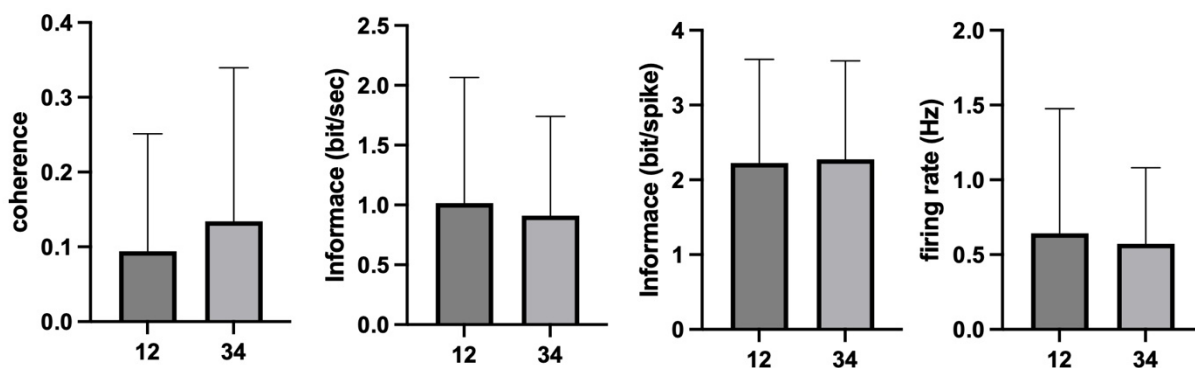
Obr. 16 Porovnání prostorových charakteristik a firing rate neuronů během prvních tří návštěv 1+2 a 3+4 ramena. **A.** Porovnání 1+2 ramen. **B.** Porovnání 3+4 ramen. V žádném ze srovnání nebyl nalezen významný rozdíl

Koherence měří shlukování neuronální aktivity. Pokud jsou aktivní pole pyramidálních buněk prostorově omezena, pak bude koherence vysoká, pokud je

neuron aktivní po celé studované oblasti, pak bude koherence nízká. U tohoto parametru nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl pro žádnou z prvních návštěv ramen 1+2 a 3+4 (interneurony: $F(17, 85) = 1.582$, $p = 0.09$, pyramidální: $F(17, 139) = 1.435$, $p = 0.13$, RM, one-way ANOVA).

Prostorová informace vyjádřená buď v bit/spike nebo v bit/sec označuje prostorovou specifitu v neuronální aktivitě. Jinými slovy, je to měřítko toho, jak přesně můžeme určit pole místa neuronu podle jeho aktivity. Ani zde nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi 1+2 návštěvami a návštěvy 3+4. Firing rate, také neměl žádný statisticky významný rozdíl mezi návštěvami 1+2.

Porovnání prostorových charakteristik mezi návštěvami 1+2 a 3+4 ramen (obr. 17) nevykazuje statisticky významné rozdíly pro koherenci (two-tailed, paired t-test, $t = 1.031$, $df = 26$, $p = 0.3119$), pro bit/sekundu prostorové informace (one-tailed, paired t-test, $t = 0.6289$, $df = 26$, $p = 0.2675$), pro prostorové informace bit/spike (one-tailed, paired t-test, $t = 0.1765$, $df = 36$, $p = 0.4304$) a pro firing rate (one-tailed, paired t-test, $t = 0.9040$, $df = 33$, $p = 0.3725$).

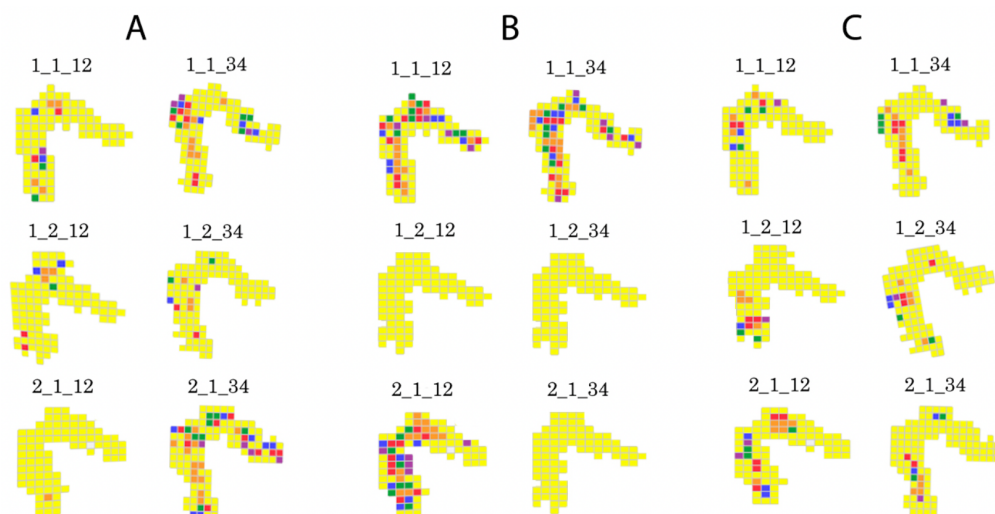


Obr. 17 Porovnání prostorových charakteristik a firing rate mezi 12 a 34 rameny. V žádném ze srovnání nebyl nalezen významný rozdíl

Jasnou známkou vzniku odlišných a stabilních prostorových map je podobnost jejich aktivních polí mezi návštěvami. Proto jsem vypočítala FRM (firing rate map) a porovnála je pro každý neuron mezi návštěvami.

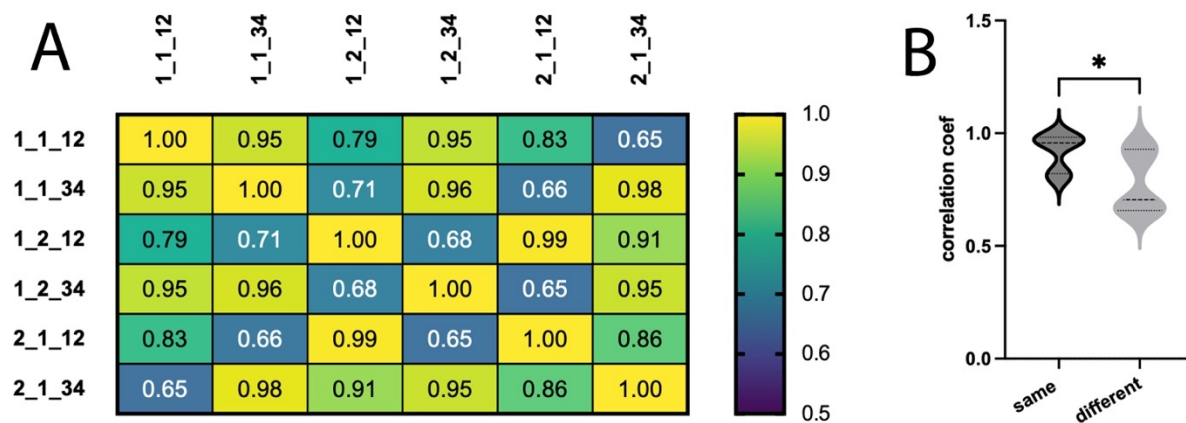
Během všech prvních návštěv měly neurony různá pole míst 1+2 a 3+4, ale nebyly stabilní a měnily se každou návštěvu (obr. 18). Z tohoto důvodu je obtížné říci, zda globální přemapování bylo způsobeno skutečností, že zvíře bylo ve dvou různých prostorech, nebo nějakým jiným faktorem. Průměrná korelace polí aktivity neuronů mezi návštěvami byla 0.037 a -0.034 pro 1+2 ramena a -0.034 a 0.144 pro 3+4 ramena (příloha 1). Přestože existovaly jednotlivé neurony, jejichž korelace FRM mezi

relacemi byla vyšší než 0.5, neměly jasně definované pole a byly aktivní téměř v celém bludišti.



Obr. 18 FRM neurony (A-C) při prvních třech návštěvách 1+2 a 3+4 ramena.

Globální přemapování lze vysvětlit malým množstvím času, který uplynul od doby, kdy potkan vstoupil do bludiště, takže porovnala jsem korelaci aktivity pyramidálních buněk při prvních návštěvách (Obr.19). Pokud se skupina neuronů chovala podobně, jejich aktivita se synchronně zvyšovala nebo snižovala, pak se hodnota korelace blížila 1. Pokud neurony měnily své charakteristiky nezávisle, korelační hodnota v tabulce se blížila nule



Obr. 19 Korelace firing rate při prvních návštěvách 1+2 a 3+4}. **A.** Pearsonova korelační matice. Žlutá barva označuje korelaci rovnající se 1, tmavě modrá znamená korelaci rovnající se 0,5. **B.** Porovnání hodnot korelace mezi stejnými (same) a různými (different) kombinace ramen

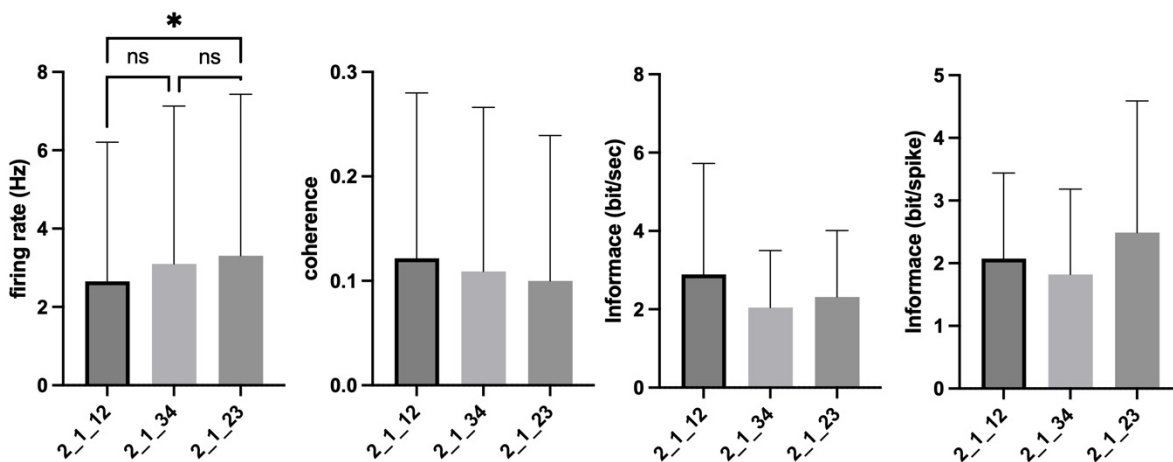
První návštěva 1.1.12 více korelovala s 1.1.34 a 1.2.34 ($r = 0.95$) než s návštěvami 1.2.12 a 2.1.12 ($r = 0.79$, $r = 0.83$). Je možné, že při první návštěvě potkan nerozlišoval mezi dvěma rameny, takže prostor kódovaly stejné neurony, což vysvětluje vysokou korelaci. Při dalších návštěvách se mapy oddělí: vidíme, že korelační koeficient pro podobné kombinace je vyšší než pro různé kombinace (two-tailed, paired t-test, $t = 2.217$, $df = 13$, $p = 0.0451$).

Buňky tedy nevytvořily stabilní pole míst a my pozorujeme globální přemapování při každé návštěvě bludiště. Zároveň vidíme, že u všech návštěv bludiště, kromě první, je korelace firing rate ve stejných kombinacích vyšší než v různých. To může znamenat, že potkan dokázal vytvořit dvě různé karty, ale bez stabilních polí.

Charakteristika neuronů v ramenech 2+3

Ve druhé fázi potkan navštívil rameno 2+3, což je kombinace již známých ramen 1+2 a 3+4. Zajímalo nás, jaké vlastnosti budou mít neurony nové kombinace a zda se tyto vlastnosti budou lišit od těch předchozích.

Nejprve jsem porovnála prostorové charakteristiky a firing rate neuronů prvního opakování druhé fáze (obr. 20).



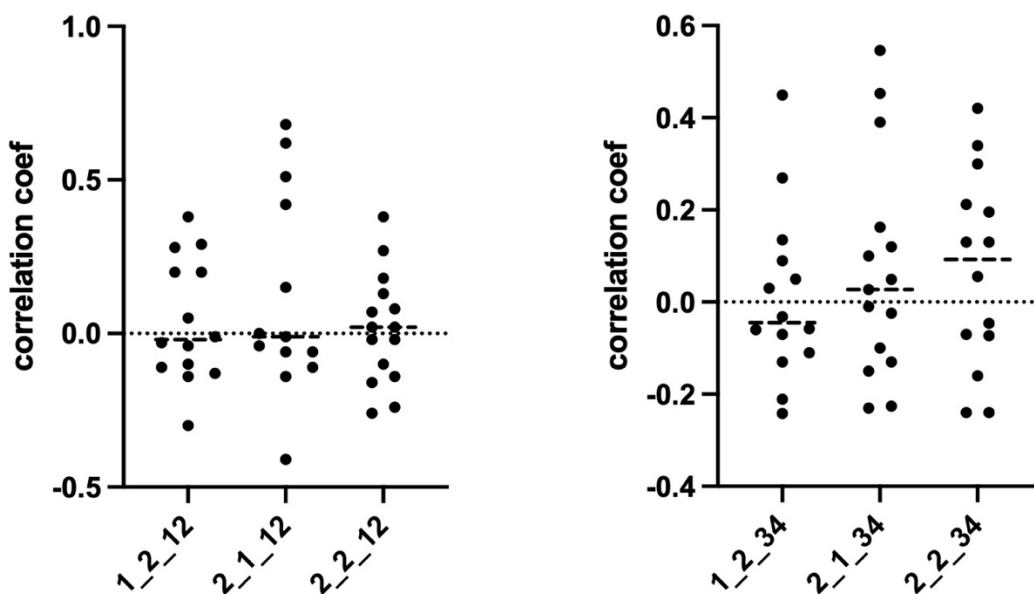
Obr. 20 Srovnání prostorových charakteristik a firing rate pro tři různé kombinace etapy 2.1. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn pouze v firing rate neuronů a byl způsoben zvýšením aktivity interneuronů během návštěvy 2.1.23 ($F(2, 26) = 4.187$ $p = 0.02$, one-way ANOVA). ns - not statistically significant, * $p < 0.05$ (Co znázorňují chybové úsečky?)

Pro firing rate vidíme statisticky významný rozdíl mezi návštěvami 1+2 a 2+3 (Tukey's multiple comparisons test, $p = 0.02$), ($F(2, 26) = 4.187$, $p = 0.02$, RM, one-way ANOVA), který byl zajištěn zvýšením firing rate interneuronů ($F(2, 10) = 6.205$, $P = 0.02$, RM, one-way ANOVA), ale ne pyramidálních buněk ($F(2, 14) = 0.2357$, $p = 0.79$, RM, one-way ANOVA).

Další vlastnosti neuronů, jako je koherence ($F(2, 27) = 0.09139$, $p = 0.91$, RM, one-way ANOVA), prostorové informace bit/sec ($F(2, 27) = 2.333$, $p = 0.12$, RM, one-way ANOVA) a bit/spike ($F(2, 27) = 1.903$, $p = 0.17$, one-way ANOVA), nebyly statisticky významné.

Mapa 2 + 3 ramena nevznikne jednoduchým spojením již známých map

Jednou z hypotéz bylo, že mapa složeného prostoru vznikne spojením již známých map. Pro ověření této hypotézy jsem porovnála aktivační pole neuronů v ramenech 1+2 a 3+4 s poli odpovídajících ramen v kombinaci 2+3 (obr. 21).



Obr. 21 Korelace 2. a 3. ramene různých kombinací. Tečky na grafech označují míru korelace aktivních polí jednotlivých neuronů pro každou z prvních 3 návštěv ramen 1+2 a 3+4 z 23. Aktivní pole byla srovnávána pouze ve společných částech labyrintu, tedy ve 2. rameni pro 1+2 a 2+3 a ve 3. rameni pro 2+3 a 3+4.

Nebyla nalezena žádná korelace mezi aktivními poli druhého ramene v kombinaci 1+2 a v kombinaci 2+3 (průměrná korelace 0.038, 0.119 a 0.014) a pro rameno 3 mezi kombinacemi 2+3 a 3+4 ramen (průměrná korelace 0.007, 0.065 a 0.068). Rovněž nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl v korelaci 2+3 s

předchozími návštěvami (pro rameno 2: $F(2, 25) = 0.7415$, $p = 0.49$, pro rameno 3: $F(2, 26) = 0.4726$, $p = 0.63$, RM, one-way ANOVA).

Jednotlivé neurony vykazovaly vysokou korelaci mezi ramena, ale jejich prostorová aktivita byla rozložena buď po celém povrchu labyrintu, nebo po celém rameni. To znamená, že nová kombinace již známých, ale v jiných kombinacích, ramen nevzniká spojením již známých map.

Jak se změnila aktivita neuronů ve druhé fázi?

V předchozí práci Marie Lebedevé bylo zjištěno, že po seznámení s 2+3 došlo při další návštěvě ke změně aktivních polí 2+3 ramena. Proto jsem srovnání zopakovala a doplnila je o srovnání prostorových vlastností (obr. 22).

Statisticky významný rozdíl v firing rate neuronů byl pozorován v každé kombinaci ramen, ale mezi různými stádii a mezi různými buňkami. Pro rameno 1+2 tedy nedošlo ke statisticky významným změnám v aktivitě interneuronů ($F(2, 10) = 0.6950$, $p = 0.52$, RM, one-way ANOVA), ale pyramidové buňky výrazně snížily svou aktivitu mezi 2.1.12 a 3.1.12 ($F(2, 12) = 4.201$, $p = 0.04$, RM, one-way ANOVA).

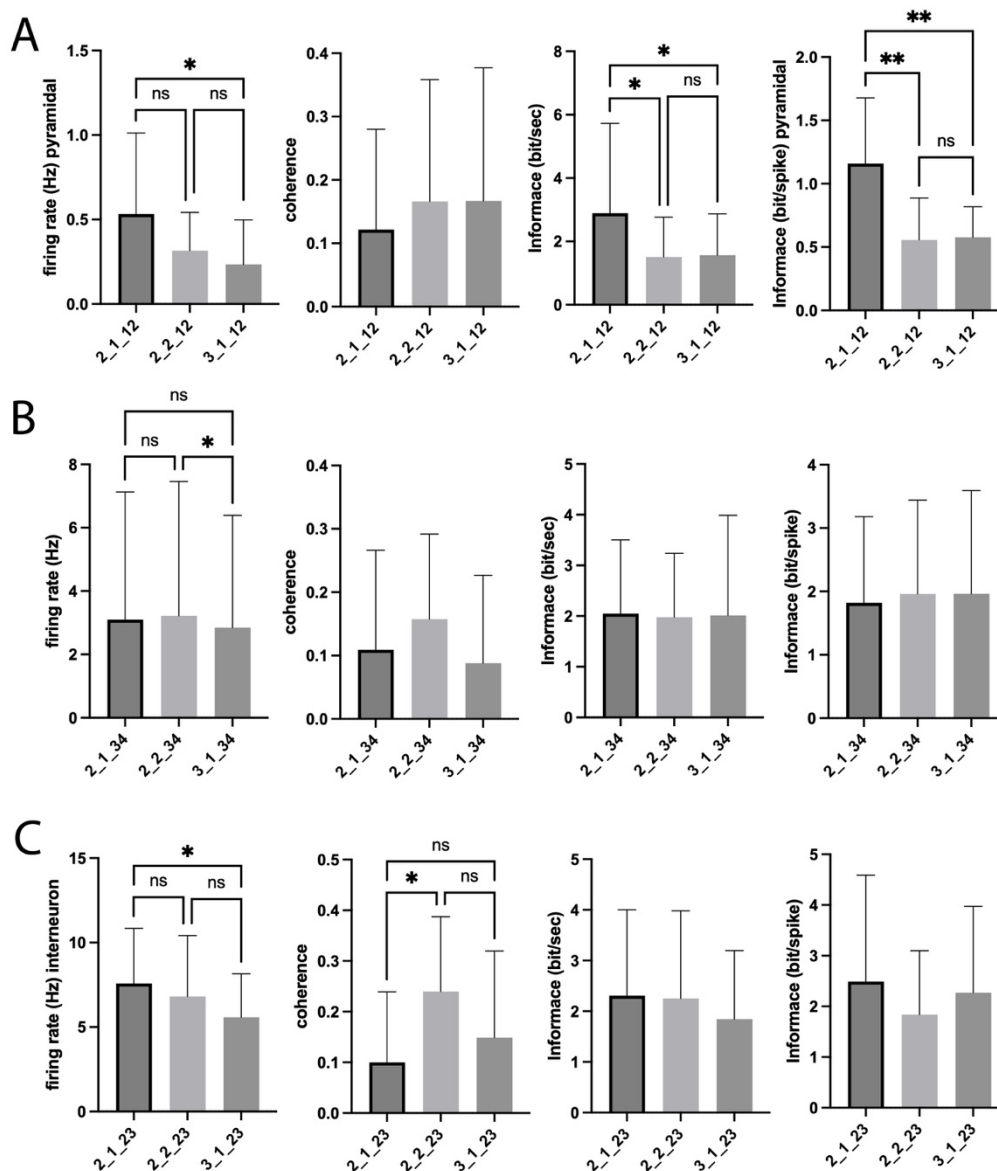
Kombinace 3+4 ramen nevykázala žádný významný rozdíl při analýze firing rate pyramidových buněk ($F(2, 14) = 2.631$, $p = 0.11$, RM, one-way ANOVA) a interneuronů ($F(2, 10) = 2.304$, $p = 0.15$, RM, one-way ANOVA), ale vykázala významný rozdíl mezi návštěvami 2.2.34 a 3.1.34 při srovnání celkové firing rate ($F(2, 26) = 3.276$, $p = 0.05$, RM, one-way ANOVA). To je způsobeno tím, že jak interneurony, tak pyramidové buňky snížily svou aktivitu.

Pro ramena 2+3 byly pozorovány signifikantní změny u interneuronů ($F(2, 10) = 4.546$, $p = 0.04$, RM, one-way ANOVA), ale nikoli u pyramidových buněk ($F(2, 15) = 0.2466$, $p = 0.78$, RM, one-way ANOVA).

Koherence se nejvíce změnila mezi první a druhou návštěvou u 2+3 ramen ($F(2, 27) = 3.605$, $p = 0.04$, RM, one-way ANOVA). Protože se koherence zvýšila, může tato změna souviset s tvorbou neuronových míst. Nebyl nalezen žádný významný rozdíl v kombinacích ramen 1+2 ($F(2, 44) = 0.2996$, $p = 0.74$, RM, one-way ANOVA) a 3+4 ($F(2, 26) = 1.212$, $p = 0.31$, RM, one-way ANOVA)

Informativnost se významně změnila pouze v rameni 1+2 mezi první a dvěma následujícími návštěvami (bit/sec: $F(2, 27) = 5.827$, $p = 0.08$ a bit/spike: $F(2, 10) =$

17.27, $p < 0.001$, RM, one-way ANOVA). Oba tyto parametry se snížily, což spolu s poklesem firing rate může ukazovat na destabilizaci mapy.

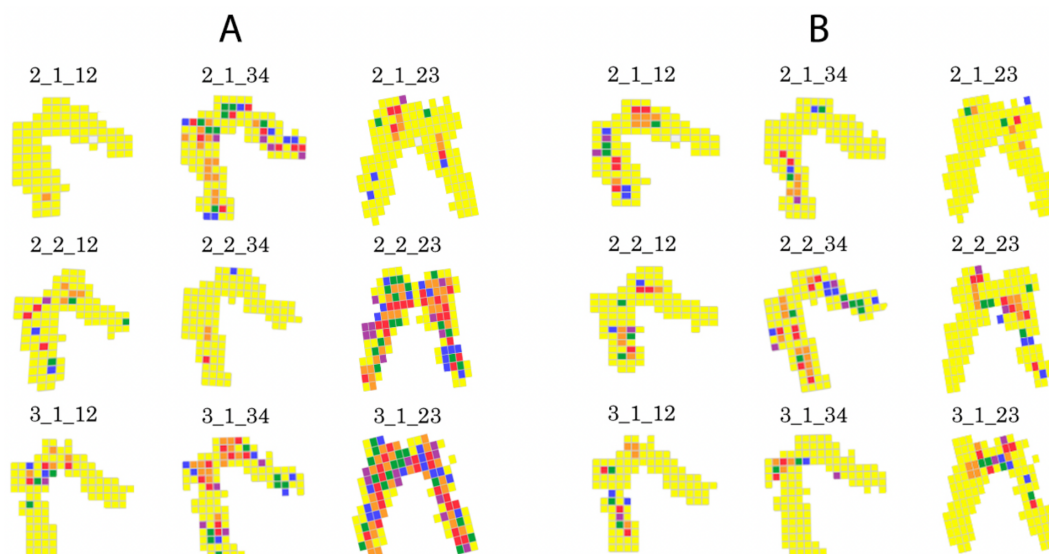


Obr. 22 Změny v prostorových charakteristikách a rychlosti akčních potenciálů neuronů během 2. fáze a před návštěvou celého bludiště. **A.** pro ramena 1 + 2. **B.** pro ramena 3 + 4. **C.** pro ramena 2 + 3. ns – not statistically significant, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Průměrná hodnota FRM korelace pro 1+2 ramena během druhé fáze až do seznámení s celým bludištěm postupně klesá (obr. 22). Pro 2.1.12 a 2.2.12 je průměrná korelace 0.144 ± 0.21 a pro 2.1.12 a 3.1.12 je 0.061 ± 0.152 . Pro 3+4 ramena je však korelace mezi návštěvami ještě menší, 0.127 ± 0.18 a -0.004 ± 0.09 . To

znamená, že změny v charakteristikách kombinací 1+2 nelze vysvětlit přemapováním.

Kombinace již známých ramen 2+3 také vykazovala nízké průměrné hodnoty korelace mezi návštěvami: 0.044 pro první (2.1.23) a druhou (2.2.23) návštěvu, 0.056 pro druhou (2.2.23) a třetí (3.1.23) návštěvu (obr. 24). Charakteristickým rysem FRM ramen 2+3 byla neorganizovaná aktivní pole většiny neuronů, které měly relativně omezenou aktivitu v ramenech 1+2 a 3+4 (obr. 23).



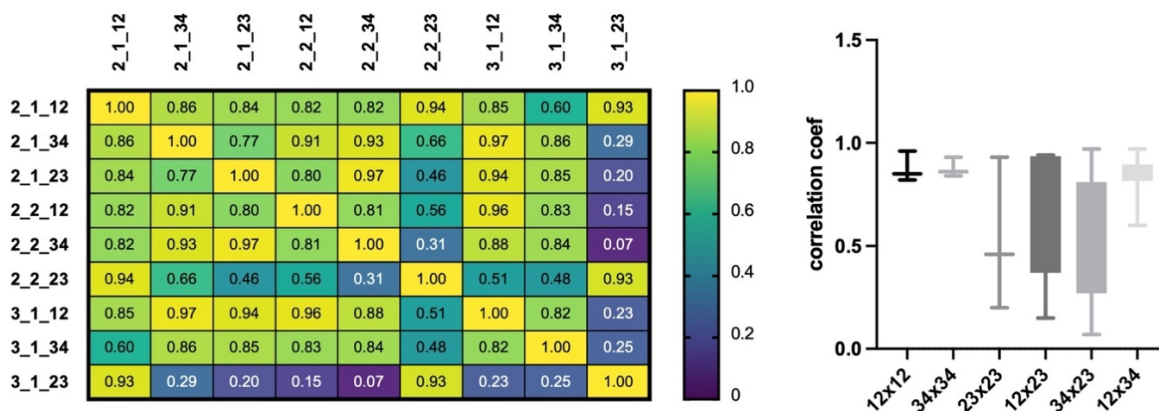
Obr. 23 FRM neurony (A-B) během druhé fáze až do seznámení s celým bludištěm

Vzhledem k tomu, že analýza první fázi ukázala, že změny firing rate jednotlivých neuronů korelují s návštěvou různých kombinací a mohou být indikátorem stability, porovnála jsem korelaci v firing rate pyramidových buněk ve druhé fázi.

Na obr. 20 vidíme, že 2.1.12, která dříve korelovala s jinými 1+2 návštěvami, již nekoreluje sama se sebou ani s 3+4 rameny. Zároveň vidíme vysokou korelaci v 2.1.12 s druhou a třetí návštěvou 2+3 ramen ($r = 0.87$, $r = 0.78$), ale ne první ($r = -0.57$). První návštěva 2+3 ramen je nejpodobnější 2.2.34 ($r = 0.82$) a není podobná dalším dvěma návštěvám kombinace 2+3.

Pokud porovnáme korelaci mezi stejnými a různými kombinacemi (obr. 24), uvidíme, že firing rate buněk v ramenech 1+2 a 3+4 spolu korelují, ale ne s 2+3. Jedním z vysvětlení je, že hippocampus se snaží podobné kontexty co nejvíce oddělit,

aby nedošlo k chybě (Chanales et al., 2017). Různé kontexty jsou si přitom často více podobné než odlišné.



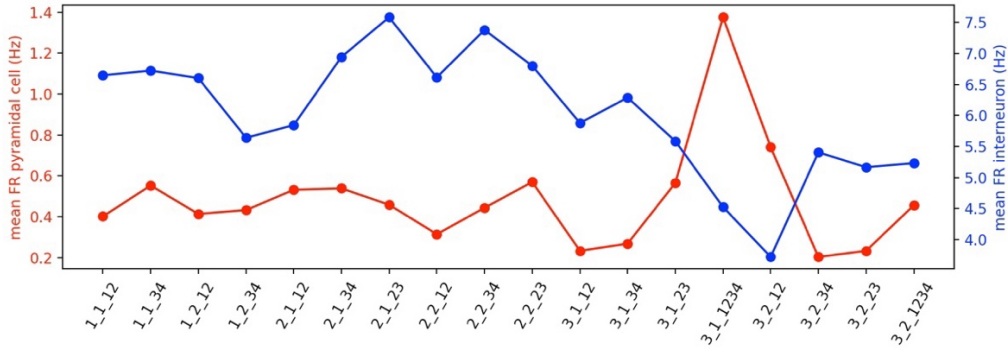
Obr. 24 Korelace firing rate neuronů ve druhé fázi a před návštěvou celého bludiště. A. Pearsonova korelační matice. Žlutá barva označuje korelaci rovnající se 1, tmavě modrá - 0. B. Porovnání hodnot korelace mezi různými kombinacemi ramen

Vidíme tedy, že buňky po seznámení se s rameny změnila svá pole místa, která jsou kombinací již známých. Nová mapa kombinace 2+3 ramena se neobjevila při první návštěvě, ale až po druhé.

Vlastnosti neuronů při návštěvě celého bludiště

Ve třetí fázi potkan prozkoumal celé bludiště. Hypoteticky, pokud potkan pochopil, jak jsou ramena spojena, pak by neměl mít problém sestavit mapu pro všechna čtyři ramena.

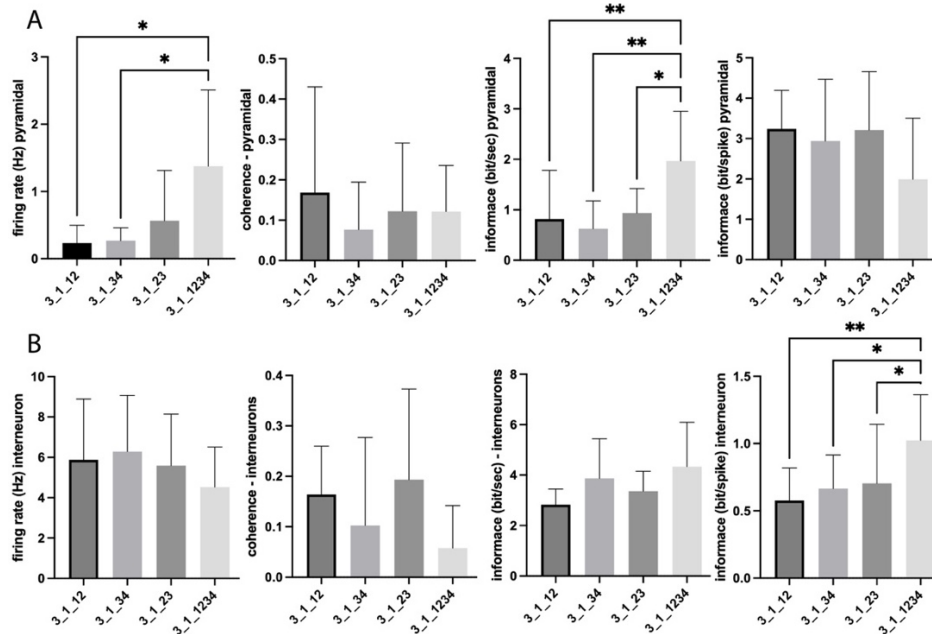
Při porovnání charakteristik mapy celého bludiště s předchozími návštěvami jiných kombinací ramen v kroku 3.1 vidíme, že firing rate pyramidálních buněk výrazně vzrostla ($F(3, 23) = 5.151, p = 0.007, RM, one-way ANOVA$). Při porovnávání buněčné aktivity v průběhu experimentu také vidíme významný rozdíl v aktivitě pyramidálních buněk a interneuronů při návštěvě 3.1.1234 (obr.25).



Obr. 25 Změny firing rate interneuronů (modrá) a pyramidálních buněk (červená) v průběhu experimentu

Statisticky významný rozdíl vidíme také u informativnosti vyjádřené v bit/sec ($F(3, 24) = 6.513, p = 0.002$, RM, one-way ANOVA), což není překvapivé, protože tyto parametry spolu souvisí (obr. 26).

U dalších dvou charakteristik, koherence a bit/spike informace, nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly (koherence: $F(3, 42) = 0.8646, p = 0.47$, informace: $F(3, 42) = 1.167, p = 0.33$, RM, one-way ANOVA).

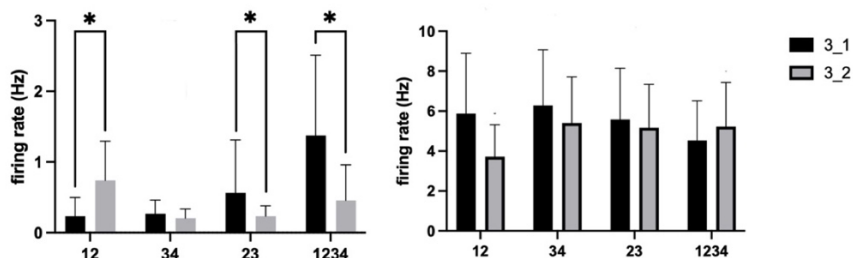


Obr. 26 Porovnání prostorových charakteristik a firing rate neuronů první návštěvy ve třetí fázi. **A.** pro pyramidové buňky. **B.** pro interneurony.

Jak se změnila charakteristika neuronů po seznámení se s 1234

Nejprve jsem porovnával prostorové charakteristiky mezi návštěvami.

Firing rate pyramidálních neuronů se mezi návštěvami 3.1 a 3.2 výrazně změnil. Navíc se zvýšila aktivita neuronů v kombinaci 1 + 2 (two-tailed, paired t-test, $t = 3.008$, $df = 5$, $p = 0.0298$) a v kombinaci 2 + 3 (two-tailed, paired t-test, $t = 0.9345$, $df = 6$, $p = 0.038$) a 1234 se snížily ($t = 2.738$, $df = 6$, $p = 0.033$). Pouze u 3+4 zůstala aktivita nezměněna (two-tailed, paired t-test, $t = 3.008$, $df = 5$, $p = 0.386$).

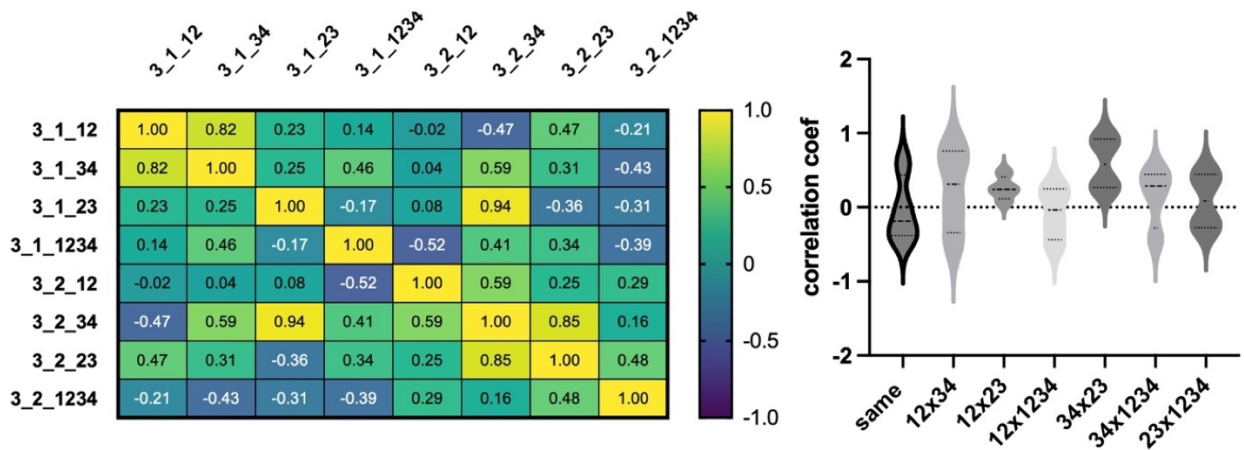


Obr. 27 Porovnání firing rate neuronů stejné kombinace ramen mezi dvěma opakováními třetí fáze. **Napravo.** Pro pyramidové buňky. Ve všech případech kromě 34 vidíme statisticky významný rozdíl. **Nalevo.** U interneuronů nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. * $p < 0.05$

Míry koherence ($F(7, 52) = 0.9981$, $p = 0.44$, RM, one-way ANOVA), informace bit/spike ($F(7, 52) = 2,069$, $p = 0.06$, RM, one-way ANOVA) a bit/sec ($F(7, 52) = 2,069$, $p = 0.06$, RM, one-way ANOVA) nevykázala žádný statisticky významný rozdíl.

Stejně jako v předchozích fázích je korelace aktivních pole neuronů prakticky nulová (obr. 28, $r = -0.039$ pro 12, $r = 0.019$ pro 34).

Porovnání korelace FR neuronů ukazuje (obr. 28, že ve fázi 3.1 před návštěvou celého bludiště ramena 12 a 34 mezi sebou vysoce korelují ($r = 0.82$) a korelují slabě s 23 ($r = 0.23$, $r = 0.25$). Po návštěvě se aktivita změní a rameno 34 začíná být podobné rameni 23 ($r = 0.85$), přičemž korelace s 12 klesá ($r = 0.59$). Korelace mezi podobnými kombinacemi mezi 3.1 a 3.2 návštěvami je značně snížena. Při porovnávání stejných a různých kombinací ramen je vidět, že stejné kombinace již spolu nekorelují.

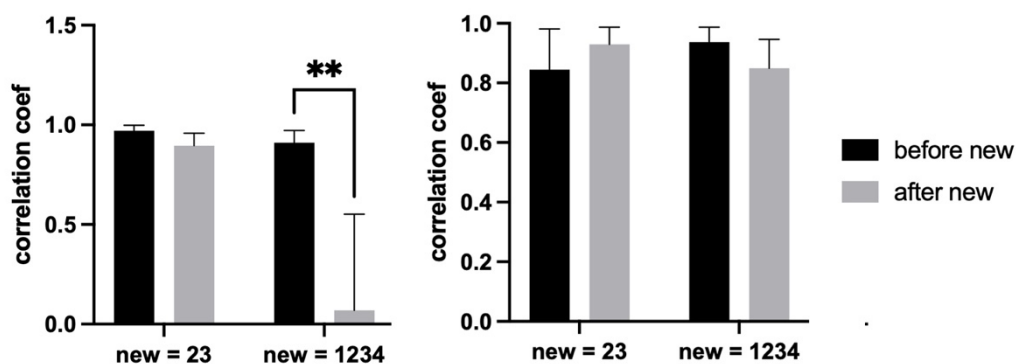


Obr. 28 Korelace aktivity neuronů ve třetí fázi}. **Vlevo.** Pearsonova korelační matice. Žlutá barva označuje korelaci rovnající se 1, tmavě modrá -1. **Vpravo.** Porovnání hodnot korelace mezi různými kombinacemi ramen

Poté, co potkan navštívil celé bludiště, korelace identických ramen se značně snížila. Vystala otázka: je tato změna způsobena setkáním s novým prostorem nebo je charakteristická pouze pro 1234.

K tomu jsem porovnávala hodnoty korelace stejných kombinací před a po setkání s novou mapou 23 nebo 1234 (obr.29). První návštěva kombinace 2+3 neměla na korelaci podobné ramena žádný vliv, zatímco po návštěvě 1234 průměrná hodnota korelace klesla z 0,9 na 0,07 (Šídák's multiple comparisons test, $p = 0.0033$).

Změny v korelaci neuronální aktivity před a po návštěvě nového prostoru



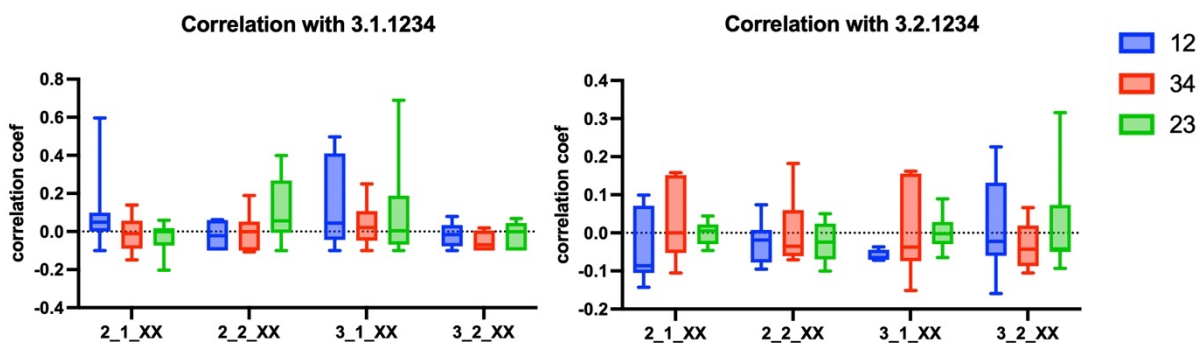
Obr. 29 Změny v korelaci mezi identickými návštěvami před a po návštěvě nového prostoru. **Vlevo.** Pro pyramidové buňky. **Vpravo.** Pro interneurony. ** $p < 0.01$

Lze konstatovat, že k výrazným změnám došlo nejen díky návštěvě nového prostoru. Snad až v této fázi si potkan uvědomil, že je ve složeném prostoru, což způsobilo výrazné změny v aktivitě neuronů a ovlivnilo korelaci.

Mapa celého bludiště nevznikne jednoduchým spojením již známých map

Znovu jsem testovala předpoklad, že mapy obecného prostoru lze sestavit jednoduchou kombinací již známých částí. Stejně jako v předchozí analýze ramen 2+3 byly porovnány nejen mapy přicházející bezprostředně před nebo bezprostředně po seznámení 1+2+3+4, ale i předchozí mapa (obr.30).

Nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl v korelaci 1+2 ramen různých návštěv bludiště s první ($F(3, 23) = 1.441$, $p = 0.26$, RM, one-way ANOVA) a druhou ($F(3, 20) = 1.362$, $p=0.28$, RM, one-way ANOVA) návštěvou celého bludiště.



Obr. 30 Korelace FRM pro každý pár ramen a mapou celého bludiště. **A.** Pro první návštěvu celého labyrintu. Vidíme, že nejvyšší míra korelace byla s návštěvou 1+2 ramen stejné fáze. Průměrná korelace se však byla nízká ($r = 0.12$). **B.** Na druhou návštěvu celého labyrintu. Vidíme, že korelace s předchozími návštěvami je záporná nebo nulová ($r = -0.031$)

Podobně u ramen 2+3 a 3+4 nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl v korelaci s odpovídajícími rameny 3.1.1234 1234 (3+4 ramena: $F(3, 19) = 0.7095$, $p = 0.56$, a 2+3 ramena: $F(3, 14) = 1.301$, $p = 0.31$, RM, one-way ANOVA) a 3.2.1234 (3+4 ramena: $F(3, 15) = 0.5826$, $p = 0.64$, 2+3 ramena: $F(3, 19) = 0.4239$, $p = 0.74$).

Průměrné hodnoty korelace párů ramen s odpovídajícími rameny v celém bludišti byly ve všech případech v rozmezí od -0,43 do 0,12. To znamená, že ani při návštěvě celého labyrintu nevznikají mapy pouhým spojením map již známých prostorů.

Jak čas odpočinku ovlivnil mapy?

Chtěli jsme otestovat, zda aktivita neuronů během odpočinku nějak souvisí s aktivitou neuronů před a po spánku a také s jejich prostorovými charakteristikami.

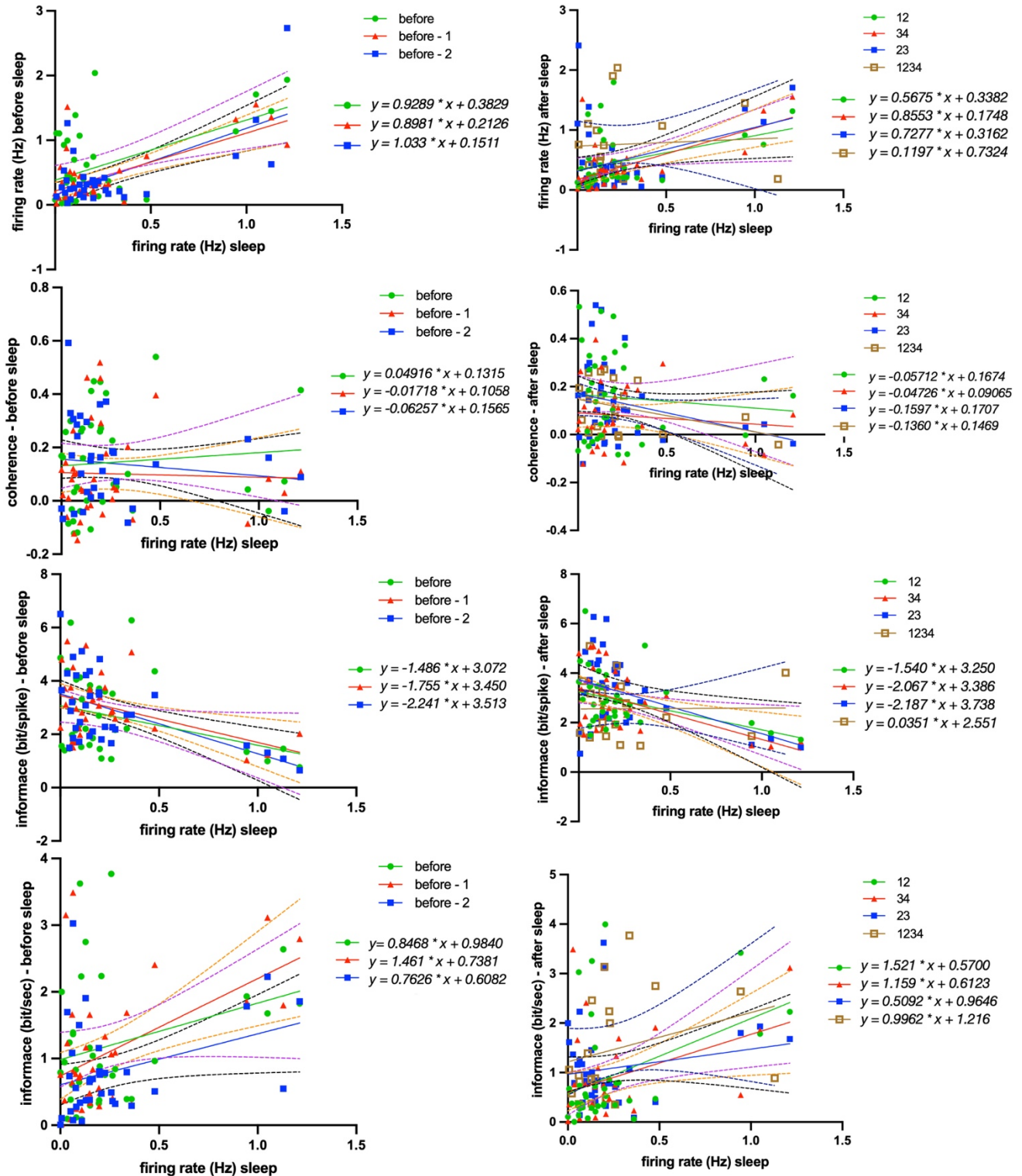
Za tímto účelem jsem sestavila diagramu závislosti různých naměřených parametrů neuronu na jejich v klidu (obr. 31). Pro zjištění vztahu byla provedena regresní analýza. Regresní přímka je konstruována tak, že vzdálenost od ní k bodům na ose X je nejmenší. R squared je druhou mocninou Pearsonovy korelace a vyhodnocuje kvalitu přímky, tedy jak dobře vysvětluje body grafu.

U firing rate vidíme, že regresní přímky mají v rovnici kladný koeficient, což ukazuje na kladnou závislost parametrů na sobě. Tato závislost je zachována jak pro závislost firing rate před odpočinkem na FR během odpočinku (první řádek na obr. 26).

Hodnoty FR před odpočinkem a FR během odpočinku spolu korelují s koeficienty $r = 0,362$ pro návštěvu bezprostředně před odpočinkem, $r = 0,45$ pro druhou návštěvu před odpočinkem a $0,675$ pro třetí návštěvu před odpočinkem. Zajímavé je, že v mém případě byly nejvyšší korelační koeficienty získány z třetí návštěvy před odpočinkem. To odpovídá návštěvě ramen 1+2 a 3+4, tedy nejvíce studovaných. FR během odpočinku nejlépe koreluje s prvními třemi návštěvami po odpočinku, přičemž 1+2 ($r = 0,364$) a 2+3 ($r = 0,389$), mají menší korelaci než 3+4 ($r = 0,632$).

Koeficient před X v rovnicích přímek pro koherenci má hodnotu blízkou nule. To znamená, že v obou případech neexistuje žádný vztah.

U informací vyjádřených v bit/spike a bit/sec vidíme dvě zcela odlišné závislosti. Závislost bit/spike informace je negativní a klesá s rostoucí hodnotou FR během odpočinku. U bit/sec je situace opačná. Za zmínku stojí, že efekt se rozšiřuje na rameno 1 + 2, tedy na mapu bezprostředně po spánku, a poté klesá.



Obr. 31 Bodové grafy s regresními přímkami. **Vlevo.** Grafy porovnávající parametry před odpočinkem a během odpočinku. **Vpravo.** Grafy porovnávající parametry po odpočinku a během odpočinku.

Je možné z prostorových charakteristik předpovědět, zda potkan navštíví nový prostor nebo prostor, který je kombinací již známých ramen?

Protože mohou existovat složité vztahy, které je obtížné vyhodnotit, rozhodla jsem se prozkoumat výsledky pomocí strojového učení. Jako studované parametry byly vybrány „Novinka“ a „Kombinace“, což je booleovská proměnná, která má pouze dvě možné hodnoty: true nebo false. Tyto hodnoty byly předpovězeny neuronovou sítí na základě prostorových charakteristik a firing rate neuronu.

Celková přesnost předpovědi pro parametr „Novinka“ byla vysoká (76.71% accuracy, 80.74% precision, 62.66% recall, 0.6343 F-measure), ale byla velmi odlišná pro předpovědi pozitivní a negativní.

Neuronová síť často dávala falešně pozitivní výsledky pro hodnotu "True" (recall 27,27%), ale v predikci hodnoty "False" nebyly prakticky žádné chyby (recall 98.04%). To znamená, že neuronová síť téměř přesně identifikovala nové návštěvy jako nové a nikdy je nepovažovala za staré. Některé návštěvy již známých prostor však ohodnotila jako nové.

To lze vysvětlit buď nepřesností samotné neuronové sítě, nebo chybou v databázi. Protože hodnoty „novosti“ byly dány pro návštěvy, které byly experimentálně nové, nemusí odpovídat vnitřním pocitům potkana.

U předpovědí, zda je neuron zaznamenán při návštěvě mapy, která je kombinací známých, nebyl pozorován žádný rozdíl v předpovědi "true" nebo "false" hodnot. Přesnost předpovědi byla vysoká (80.82% accuracy, 80.40% precision, 78.37% recall, 0.7909 F-measure).

Poté jsem analyzovala stromy a identifikovala několik rysů, které mohou předpovědět novost mapy.

- Poměr koherence a Hz dokáže předpovědět novou mapu s pravděpodobností až 30%. Pokud je koherence záporná, pak s větší pravděpodobností jde o novou mapu.

- Existuje 56.8% šance, že mapa je nová, pokud je její koherence nízká nebo záporná a její hodnoty prostorových informací jsou nižší než 1.

- Paradoxně kombinace vysoké prostorové informace a koherence také ukazuje na zvýšenou pravděpodobnost nové mapy.

- Přesnější předpovědi získáme, pokud budeme porovnávat ve třech parametrech současně. S pravděpodobností 76.7% je mapa nová, pokud má nízkou koherenci a nízkou prostorovou informaci a Hz je menší než 2.34.

- Při vyšších hodnotách H_z se pravděpodobnost setkání s novou mapou snižuje asi na 60%, ale vzniká další centrum – při vysoké prostorové a koherenci. Ale jeho pravděpodobnost je taky asi 60%.

A znaky, které mohou naznačovat, že navštívená mapa je kombinací dříve navštívených map.

- S pravděpodobností do 72.6% nám o kombinaci řekne $H_z > 4.3$ a koherence je menší než 0.27.

- S pravděpodobností asi 65% může vysoká prostorová informace a $H_z > 1$ naznačovat kombinaci.

- Vysoká prostorová informace (> 4.5) v kombinaci s nízkou koherencí také naznačuje kombinaci.

6. Diskuze

Nahrála jsem neurony v oblasti CA1 hipokampu potkana během experimentu simulujícího spojení dvou nezávislých map složitého prostoru. Moje práce vycházela z hypotézy, že při návštěvě kombinace již známých ramen potkan pochopí, že je ve společném prostoru a spojí mapy mezi sebou.

Přemapování mezi návštěvami bludiště

V diplomové práci Marie Lebedevé, ve které pokračuji, se po první návštěvě objevily hipokampální mapy pro ramena 1+2 a 3+4 a při druhé návštěvě zůstaly nezměněny. Během mého experimentu se však pole aktivity neuronů neustále měnila.

Rozdíl ve výsledcích lze vysvětlit mnoha faktory. Nejprve jsme měli jiný design experimentu. Experiment Marie Lebedeva sestával ze dvou následných návštěv ramen 1+2, 3+4 a 2+3. Potkan tedy ještě před prvním spánkem navštívil všechny tři kombinace ramen, zatímco jsem měla tři opakování návštěvy 1+2 a 3+4 ramen před umístěním potkana do kombinace 2+3.

Za druhé, v mém experimentu potkan strávil v každé kombinaci 10 minut, a ne 15, jako v případě Marie Lebedeva. Když zvíře vstoupí do nového neznámého prostoru, hipokampální buňky potřebují čas na vytvoření stabilních polí. Některé studie tvrdí, že ke vzniku většiny polí místa dochází již při prvním přechodu prostorem (Hill, 1978), jiné, že neuron může být při seznamování s novým prostorem několik minut neaktivní, i když zvíře místem několikrát projde, a teprve poté vytvoří jeho pole místa (Frank et al., 2004).

Podle některých studií trvá vytvoření stabilních polí desítky minut (Wilson and McNaughton, 1993), jiné studie uvádějí stabilní pole po 5 minutách (Frank et al., 2004).

Je možné, že při prvních návštěvách potkan neměl dostatek času na vytvoření stabilních map. To by však vysvětlovalo, proč se u potkana při první návštěvě nevyvinula stabilní pole místa, ale nevysvětluje to nedostatek stability v polích místa po druhé návštěvě.

Třetím faktorem, který by mohl vysvětlit rozdíl v našich výsledcích, je chybějící cíl. V experimentu Marii byly potkani vycvičeny ke sbírání potravy, zatímco v mém experimentu potkan volně prozkoumával bludiště bez behaviorálních úkolů.

Absence cíle je spojena s nestabilitou polí míst a jejich dezorganizací v prostoru (Muzzio et al., 2009). Průzkum nového neznámého prostoru je však spojen také s vysokou prostorovou organizací neuronů, stejně jako plnění úkolu (Kentros et al., 2004). Koherence, jako měřítko organizace polí míst, v mém experimentu nekoreluje s návštěvami nového prostoru a nemá statisticky významné rozdíly mezi návštěvami.

Za čtvrté, stabilita map mohla být ovlivněna podobností studovaných kombinací ramen. Jediným rozdílem byl vzor stěn bludiště. Velikost a tvar se mezi návštěvami nezměnily a čichové senzorké vstupy chyběly. Nicméně, podle FRM a korelace v neuronální aktivitě, potkan okamžitě začal rozlišovat mezi dvěma prostory. Nemůžeme ale vyloučit, že během experimentu nedošlo k separaci podobných prostorových map (Plitt and Giocomo, 2021).

Vznik prostorové mapy složitého prostředí z jednotlivých jednoduchých map

Abychom odpověděli na otázku, co se děje v hipokampu během formování složené mapy, musíme pochopit, v jakém okamžiku se to stane. Náš experiment vycházel z předpokladu, že po první návštěvě 2 + 3 ramen potkan pochopí, že je ve složeném prostoru. Tuto myšlenku podporují výsledky Marii, kde k největším změnám ve FRM došlo ve 2+3 ramenech.

Ve svém experimentu jsem také pozorovala větší změny v ramenech 2+3 než v 1+2 a 3+4 po seznámení se s jejich kombinací 2+3. Avšak poté, co je potkan vystaven celému bludišti, pozorujeme významné změny v neuronální aktivitě pro všechny kombinace ramen.

Před otevřením přepážek byla aktivita buněk ve stejných kombinacích ramen podobná. Ale po návštěvě celého labyrintu se firing rate neuronů změnil a již nekoreloval s předchozími návštěvami stejných ramen, což ukazuje na globální změny v reprezentaci prostoru.

Korelace firing rate může naznačovat přítomnost skupiny neuronů, které kódují prostor. Potvrzují to experimenty, kde se ukázalo spojení nejaktivnější skupiny neuronů s následným kódováním prostoru (Karlsson and Frank, 2008).

Také seznámení s celým bludištěm je spojeno se znatelným zvýšením firing rate pyramidálních buněk a snížením firing rate interneuronů, což se také výrazně liší od jejich aktivity při jiných návštěvách bludiště. Tyto procesy již byly spojeny s prozkoumáváním nového prostoru potkanem (Wilson and McNaughton, 1993). Předpokládá se, že snížení aktivity interneuronů uvolňuje pyramidové buňky z inhibice a umožňuje efektivnější modelování synaptických spojení (Dragoi et al., 2003).

Změny v chování potkana také potvrzují předpoklad, že uvědomění si souvislosti v prostoru přišlo až po seznámení se s celým bludištěm. Předtím zvíře nevykazovalo žádný zvláštní zájem o přepážky oddělující ho od zbytku bludiště. Po otevření všech ramen se však potkan začal pokoušet rozbít přepážky.

Tato pozorování zpochybňují, že potkan může porozumět vztahům mezi rameny bludiště, aniž by navštívil celé otevřené bludiště.

7. Závěr

Vzhledem k malému počtu testovaných zvířat nelze můj experiment považovat za plnohodnotnou studii. Podařilo se mi však odhalit několik jevů, které vyžadují další zkoumání.

Za první, mé výsledky zpochybňují náš původní předpoklad, že potkan je schopen porozumět složitým prostorovým vztahům mezi rameny při návštěvě 2+3.

Za druhé, po návštěvě celého bludiště jsem pozorovala významnou změnu firing rate neuronů, což ovlivnilo jak nové, tak již známé mapy kombinací ramen.

Reference

- Allen, K., Rawlins, J. N. P., Bannerman, D. M., and Csicsvari, J. (2012). Hippocampal place cells can encode multiple trial-dependent features through rate remapping. *The Journal of Neuroscience*, 32:14752.
- Amaral, D. G. and Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3):571–591.
- Andersen, P., Bliss, T. V., and Skrede, K. K. (1971). Lamellar organization of hippocampal pathways. *Experimental brain research*, 13:222–238.
- Anderson, M. I. and Jeffery, K. J. (2003). Heterogeneous modulation of place cell firing by changes in context. *The Journal of Neuroscience*, 23:8827.
- Bains, J. S., Longacher, J. M., and Staley, K. J. (1999). Reciprocal interactions between ca3 network activity and strength of recurrent collateral synapses. *Nature neuroscience*, 2:720–726.
- Bekinschtein, P., Katche, C., Slipczuk, L., Gonzalez, C., Dorman, G., Cammarota, M., Izquierdo, I., and Medina, J. H. (2010). Persistence of long-term memory storage: New insights into its molecular signatures in the hippocampus and related structures. *Neurotoxicity Research* 2010 18:3, 18:377–385.
- Binder, S., Rawohl, J., Born, J., and Marshall, L. (2013). Transcranial slow oscillation stimulation during nrem sleep enhances acquisition of the radial maze task and modulates cortical network activity in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7.
- Boccaro, C. N., Sargolini, F., Thoresen, V. H., Solstad, T., Witter, M. P., Moser, E. I., and Moser, M. B. (2010). Grid cells in pre- and parasubiculum. *Nature neuroscience*, 13:987–994.
- Born, J. and Wilhelm, I. (2012). System consolidation of memory during sleep. *Psychological Research*, 76:192.
- Brandon, M. P., Koenig, J., Leutgeb, J. K., and Leutgeb, S. (2014). New and distinct hippocampal place codes are generated in a new environment during septal inactivation. *Neuron*, 82:789.
- Buzsáki, G. (1986). Hippocampal sharp waves: their origin and significance. *Brain research*, 398:242–252.
- Buzsáki, G. (2015). Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning. *Hippocampus*, 25:1073.
- Buzsáki, G., S., L. L.-W., and Vanderwolf, C. H. (1983). Cellular bases of hippocampal eeg in the behaving rat. *Brain research*, 287:139–171.
- Chanales, A. J., Oza, A., Favila, S. E., and Kuhl, B. A. (2017). Overlap among spatial memories triggers repulsion of hippocampal representations. *Current biology : CB*, 27:2307.
- Cressant, A., Muller, R. U., and Poucet, B. (2002). Remapping of place cell firing patterns after maze rotations. *Experimental Brain Research* 2002 143:4, 143:470–479.
- Davidson, T. J., Kloosterman, F., and Wilson, M. A. (2009). Hippocampal replay of extended experience. *Neuron*, 63:497.
- Dragoi, G., Harris, K. D., and Buzsáki, G. (2003). Place representation within hippocampal networks is modified by long-term potentiation. *Neuron*, 39:843–853.
- Ego-Stengel, V. and Wilson, M. A. (2010). Disruption of ripple-associated hippocampal activity during rest impairs spatial learning in the rat. *Hippocampus*, 20:1.

- Fenton, A. A., Kao, H. Y., Neymotin, S. A., Olypher, A., Vayntrub, Y., Lytton, W. W., and Ludvig, N. (2008). Unmasking the ca1 ensemble place code by exposures to small and large environments: More place cells and multiple, irregularly arranged, and expanded place fields in the larger space. *The Journal of Neuroscience*, 28:11250.
- Ferrara, M., Iaria, G., Gennaro, L. D., Guariglia, C., Curcio, G., Tempesta, D., and Bertini, M. (2006). The role of sleep in the consolidation of route learning in humans: A behavioural study. *Brain Research Bulletin*, 71:4–9.
- Foster, D. J. and Wilson, M. A. (2006). Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature*, 440:680–683.
- Frank, L. M., Stanley, G. B., and Brown, E. N. (2004). Hippocampal plasticity across multiple days of exposure to novel environments. *The Journal of Neuroscience*, 24:7681.
- Fyhn, M., Hafting, T., Witter, M. P., Moser, E. I., and Moser, M. B. (2008). Grid cells in mice. *Hippocampus*, 18:1230–1238.
- Geiller, T., Vancura, B., Terada, S., Troullinou, E., Chavlis, S., Tsagakatakis, G., Tsakalides, P., O'csai, K., Poirazi, P., Rózsá, B. J., and Losonczy, A. (2020). Large-scale 3d two-photon imaging of molecularly-identified ca1 interneuron dynamics in behaving mice. *Neuron*, 108:968.
- Girardeau, G., Benchenane, K., Wiener, S. I., Buzsáki, G., and Zugaro, M. B. (2009). Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nature Neuroscience* 2009 12:10, 12:1222–1223.
- Grieves, R. M., Jedidi-Ayoub, S., Mishchanchuk, K., Liu, A., Renaudineau, S., and Jeffery, K. J. (2020). The place-cell representation of volumetric space in rats. *Nature Communications* 2020 11:1, 11:1–13.
- Guzowski, J. F., Knierim, J. J., and Moser, E. I. (2004). Ensemble dynamics of hippocampal regions ca3 and ca1. *Neuron*, 44:581–584.
- Hafting, T., Fyhn, M., Molden, S., Moser, M. B., and Moser, E. I. (2005). Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*, 436:801–806.
- Hangya, B., Li, Y., Muller, R. U., and Czurkó, A. (2010). Complementary spatial firing in place cell–interneuron pairs. *The Journal of Physiology*, 588:4165.
- Harland, B., Contreras, M., Souder, M., and Fellous, J. M. (2021). Dorsal CA1 hippocampal place cells form a multi-scale representation of megaspace. *Current Biology*, 31(10):2178–2190.e6.
- Hill, A. J. (1978). First occurrence of hippocampal spatial firing in a new environment. *Experimental Neurology*, 62:282–297.
- Holdstock, J. S., Mayes, A. R., Cezayirli, E., Isaac, C. L., Aggleton, J. P., and Roberts, N. (2000). A comparison of egocentric and allocentric spatial memory in a patient with selective hippocampal damage. *Neuropsychologia*, 38:410–425.
- Hopfield, J. J. (1982). Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79:2554.
- Ishizuka, N., Weber, J., and Amaral, D. G. (1990). Organization of intrahippocampal projections originating from ca3 pyramidal cells in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 295:580–623.
- Jackson, J. C., Johnson, A., and Redish, A. D. (2006). Hippocampal sharp waves and reactivation during awake states depend on repeated sequential experience. *The Journal of Neuroscience*, 26:12415.

- Jeantet, Y. and Cho, Y. H. (2012). Evolution of hippocampal spatial representation over time in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, 98:354–360.
- Jezek, K., Henriksen, E. J., Treves, A., Moser, E. I., and Moser, M. B. (2011). Theta-paced flickering between place-cell maps in the hippocampus. *Nature* 2011 478:7368, 478:246–249.
- Ji, D. and Wilson, M. A. (2007). Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nature neuroscience*, 10:100–107.
- Kamondi, A., Acsády, L., Wang, X.-J., and Buzsáki, G. (1998). Theta oscillations in somata and dendrites of hippocampal pyramidal cells in vivo: Activity-dependent phase-precession of action potentials. *Hippocampus*, 8(3):244–261.
- Karlsson, M. P. and Frank, L. M. (2008). Network dynamics underlying the formation of sparse, informative representations in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 28:14271.
- Keefe, J. O. and Burgess, N. (1996). Geometric determinants of the place fields of hippocampal neurons. *Nature* 1996 381:6581, 381:425–428.
- Kentros, C. G., Agnihotri, N. T., Streater, S., Hawkins, R. D., and Kandel, E. R. (2004). Increased attention to spatial context increases both place field stability and spatial memory. *Neuron*, 42:283–295.
- Kjelstrup, K. B., Solstad, T., Brun, V. H., Hafting, T., Leutgeb, S., Witter, M. P., Moser, E. I., and Moser, M. B. (2008). Finite scale of spatial representation in the hippocampus. *Science*, 321(5885):140–143.
- Klausberger, T. and Somogyi, P. (2008). Neuronal diversity and temporal dynamics: The unity of hippocampal circuit operations. *Science (New York, N.Y.)*, 321:53.
- Latuske, P., Kornienko, O., Kohler, L., and Allen, K. (2017). Hippocampal remapping and its entorhinal origin. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11:253.
- Law, L. M., Bulkin, D. A., and Smith, D. M. (2016). Slow stabilization of concurrently acquired hippocampal context representations. *Hippocampus*, 26:1560.
- Lebedeva, M. (2020). Role hipokampálních neuronů při tvorbě kognitivních schémat a prostorových vztahů vyššího řádu. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Praha
- Lee, A. K. and Wilson, M. A. (2002). Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron*, 36:1183–1194.
- Lee, I., Yoganarasimha, D., Rao, G., and Knierim, J. J. (2004). Comparison of population coherence of place cells in hippocampal subfields ca1 and ca3. *Nature*, 430:456–459.
- Leutgeb, J. K., Leutgeb, S., Moser, M. B., and Moser, E. I. (2007). Pattern separation in the dentate gyrus and ca3 of the hippocampus. *Science (New York, N.Y.)*, 315:961–966.
- Leutgeb, S., Leutgeb, J. K., Barnes, C. A., Moser, E. I., McNaughton, B. L., and Moser, M. B. (2005). Independent codes for spatial and episodic memory in hippocampal neuronal ensembles. *Science (New York, N.Y.)*, 309:619–623.
- Lever, C., Wills, T., Cacucci, F., Burgess, N., and O’Keefe, J. (2002). Long-term plasticity in hippocampal place-cell representation of environmental geometry. *Nature*, 416(6876):90–94.
- Marshall, L. and Born, J. (2007). The contribution of sleep to hippocampus-dependent memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences*, 11:442–450.
- Marshall, L., Helgado-ttir, H., Mo ñle, M., and Born, J. (2006). Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature*, 444:610–613.

McClelland, J. L., McNaughton, B. L., and O'Reilly, R. C. (1995). Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychological review*, 102:419–457.

Morris, R. G., Garrud, P., Rawlins, J. N., and O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 1982 297:5868, 297:681–683.

Muller, R. U. and Kubie, J. L. (1987). The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *The Journal of Neuroscience*, 7:1951.

Muller, R. U. and Kubie, J. L. (1989). The firing of hippocampal place cells predicts the future position of freely moving rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 9:4101–4110.

Muller, R. U., Kubie, J. L., and Ranck, J. B. (1987). Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. *The Journal of Neuroscience*, 7:1935.

Muzzio, I. A., Levita, L., Kulkarni, J., Monaco, J., Kentros, C., Stead, M., Abbott, L. F., and Kandel, E. R. (2009). Attention enhances the retrieval and stability of visual-spatial and olfactory representations in the dorsal hippocampus. *PLoS Biology*, 7:1000140.

Nadel, L. and Moscovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology*, 7:217–227.

O'Keefe, J. and Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34:171–175.

O'Keefe, J. and Nadel, L. (1979). Précis of o'keefe & nadel's the hippocampus as a cognitive map. *Behavioral and Brain Sciences*, 2(4):487–494.

O'Keefe, J. and Recce, M. L. (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus*, 3(3):317–330.

Park, E. H., Dvorak, D., and Fenton, A. A. (2011). Ensemble place codes in hippocampus: Ca1, ca3, and dentate gyrus place cells have multiple place fields in large environments. *PLoS ONE*, 6:22349.

Pettit, N. L., Yuan, X. C., and Harvey, C. D. (2022). Hippocampal place codes are gated by behavioral engagement. *Nature Neuroscience*, 25:561.

Plihal, W. and Born, J. (1997). Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *Journal of cognitive neuroscience*, 9:534–547.

Plitt, M. H. and Giocomo, L. M. (2021). Experience-dependent contextual codes in the hippocampus. *Nature neuroscience*, 24:705.

Preilowski, B. (2009). [remembering an amnesic patient (and half a century of memory research)]. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, 77:568–576.

Ranck, J. B. (1973). Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats: Part i. behavioral correlates and firing repertoires. *Experimental Neurology*, 41:462–531.

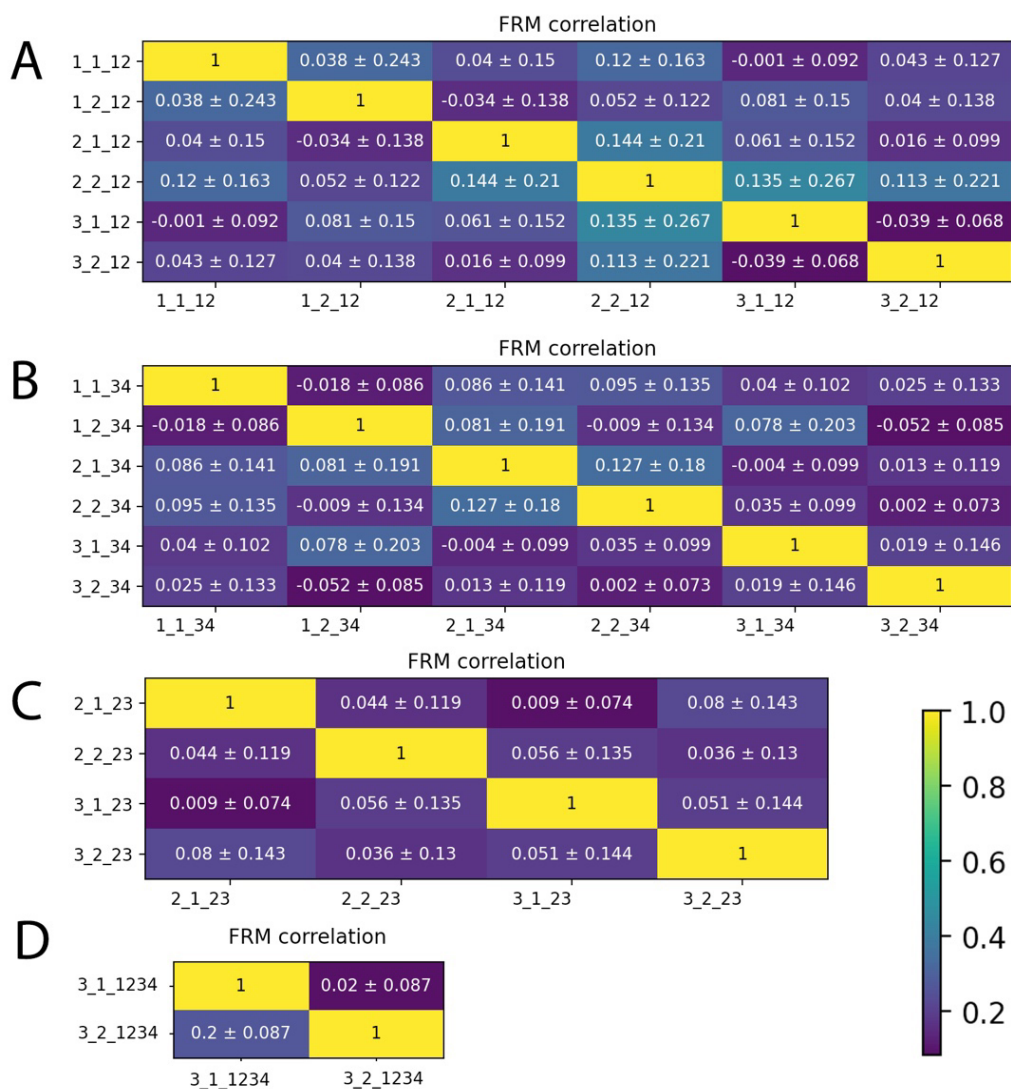
Redish, A. D., Battaglia, F. P., Chawla, M. K., Ekstrom, A. D., Gerrard, J. L., Lipa, P., Rosenzweig, E. S., Worley, P. F., Guzowski, J. F., McNaughton, B. L., and Barnes, C. A. (2001). Independence of firing correlates of anatomically proximate hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Neuroscience*, 21:RC134.

Richards, B. A., Xia, F., Santoro, A., Husse, J., Woodin, M. A., Josselyn, S. A., and Frankland, P. W. (2014). Patterns across multiple memories are identified over time. *Nature Neuroscience* 2014 17:7, 17:981–986.

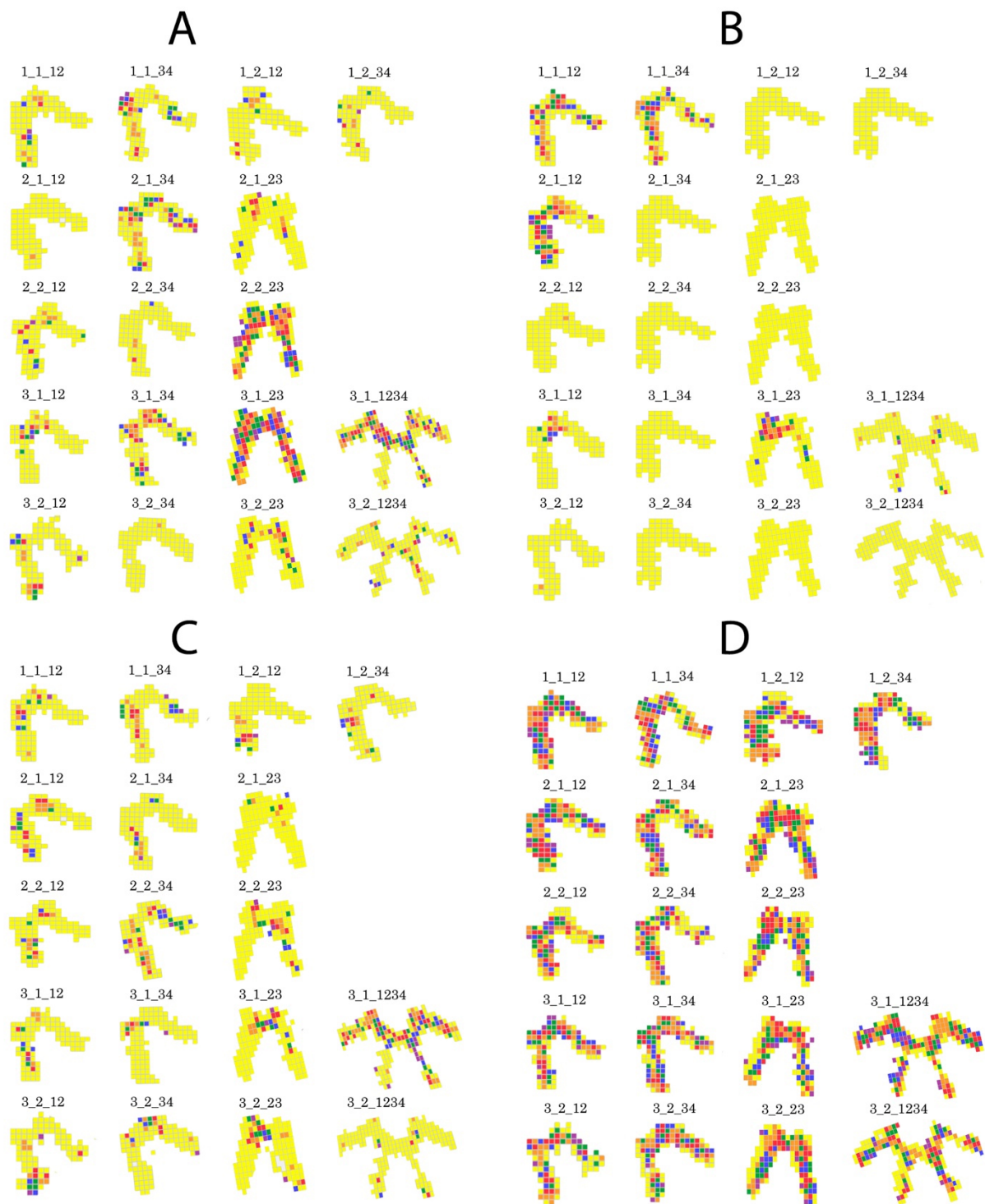
- Robins, A. (2010). Catastrophic forgetting, rehearsal and pseudorehearsal. <https://doi.org/10.1080/09540099550039318>, 7:123–146.
- Robinson, T. E. (1980). Hippocampal rhythmic slow activity (rsa; theta): a critical analysis of selected studies and discussion of possible species-differences. *Brain research*, 203:69–101.
- Rolls, E. and Treves, A. (1998). Neural networks and brain function. *Neural Networks and Brain Function*.
- Rolls, E. T. (2007). An attractor network in the hippocampus: Theory and neurophysiology. *Learning and Memory*, 14:714–731.
- Rusch, H. (2020). Links between stress, sleep, and inflammation: a translational perspective of resilience. PhD thesis.
- Sargolini, F., Fyhn, M., Hafting, T., McNaughton, B. L., Witter, M. P., Moser, M. B., and Moser, E. I. (2006). Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex. *Science*, 312:758–762.
- Shajihan, N. (2020). Classification of stages of diabetic retinopathy using deep learning.
- Sharma, D. K., Chatterjee, M., Kaur, G., and Vavilala, S. (2022). Deep learning applications for disease diagnosis. *Deep Learning for Medical Applications with Unique Data*, pages 31–51.
- Sirota, A., Csicsvari, J., Buhl, D., and Buzsáki, G. (2003). Communication between neocortex and hippocampus during sleep in rodents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100:2065.
- Skaggs, W., McNaughton, B., and Gothard, K. (1992). An information-theoretic approach to deciphering the hippocampal code. *Advances in neural information processing systems*, 5.
- Squire, L. R. and Alvarez, P. (1995). Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Current Opinion in Neurobiology*, 5:169–177.
- Taube, J. S. (2007). The head direction signal: origins and sensory-motor integration. *Annual review of neuroscience*, 30:181–207.
- Taube, J. S., Muller, R. U., and Ranck, J. B. (1990). Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. i. description and quantitative analysis. *The Journal of Neuroscience*, 10:420.
- Teyler, T. J. and DiScenna, P. (1986). The hippocampal memory indexing theory. *Behavioral neuroscience*, 100:147–154.
- Thompson, L. T. and Best, P. J. (1990). Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. *Brain research*, 509(2):299–308.
- Treves, A. and Rolls, E. T. (1994). Computational analysis of the role of the hippocampus in memory. *Hippocampus*, 4:374–391.
- Tsanov, M., Chah, E., Vann, S. D., Reilly, R. B., Erichsen, J. T., Aggleton, J. P., and O'Mara, S. M. (2011). Theta-modulated head direction cells in the rat anterior thalamus. *The Journal of Neuroscience*, 31:9489.
- Tucker, M. A. and Fishbein, W. (2008). Enhancement of declarative memory performance following a daytime nap is contingent on strength of initial task acquisition. *Sleep*, 31:197.
- Vanderwolf, C. H. (1969). Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 26:407–418.

- Wilent, W. B. and Nitz, D. A. (2007). Discrete place fields of hippocampal formation interneurons. *Journal of Neurophysiology*, 97:4152–4161.
- Wills, T. J., Lever, C., Cacucci, F., Burgess, N., and O’Keefe, J. (2005). Attractor dynamics in the hippocampal representation of the local environment. *Science (New York, N.Y.)*, 308:873.
- Wilson, M. A. and McNaughton, B. L. (1993). Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science*, 261:1055–1058.
- Wilson, M. A. and McNaughton, B. L. (1994). Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science (New York, N.Y.)*, 265:676–679.
- Winson, J. (1978). Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat. *Science (New York, N.Y.)*, 201:160–163.
- Yartsev, M. M. and Ulanovsky, N. (2013). Representation of three-dimensional space in the hippocampus of flying bats. *Science*, 340:367–372.
- Yau, S. Y., Li, A., and So, K. F. (2015). Involvement of adult hippocampal neurogenesis in learning and forgetting. *Neural Plasticity*, 2015.
- Yonelinas, A. P., Ranganath, C., Ekstrom, A. D., and Wiltgen, B. J. (2019). A contextual binding theory of episodic memory: Systems consolidation reconsidered. *Nature reviews. Neuroscience*, 20:364.
- Ziv, Y., Burns, L. D., Cocker, E. D., Hamel, E. O., Ghosh, K. K., Kitch, L. J., Gamal, A. E., and Schnitzer, M. J. (2013). Long-term dynamics of cal hippocampal place codes. *Nature neuroscience*, 16:264.

Přílohy



Příloha 1: Korelace FRM neuronů v průběhu experimentu. (A) Pro 1+2 ramena. (B) Pro zbraně 3+4. (C) Pro 2+3 ramena. (D) Pro ramena 1+2+3+4.



Příloha 2: FRM neurony v průběhu experimentu. (A) Pyramidální neuron. (B) Pyramidální neuron se během experimentu objevuje a mizí. (C) Pyramidální neuron. (D) Interneuron