

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Kristýna Klečáková

Role cholinergního systému v prostorové kognici laboratorních potkanů
The role of cholinergic system in spatial cognition in rats

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: MUDr. Daniel Klement, Ph.D.

Praha 2014

Poděkování:

Poděkování patří především mému školiteli, doktoru Klementovi, který se mě ujal a umožnil mi pracovat na tomto zajímavém tématu. Také mu děkuji za vstřícnost a ochotu, s kterou si na mě vždy našel čas. Další díky patří mému příteli a rodině, kteří byli velmi chápaví a podporovali mě.

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 dne

2014

.....

Abstrakt

Studie zabývající se prostorovou orientací jsou velice populární. Na jejich základě dokážeme determinovat vztahy kognitivního chování s nervovými strukturami mozku a vysledovat podstatu různých deficitů, vyskytujících se u neurodegenerativních onemocnění (Alzheimer, Parkinson, schizofrenie,...), za použití animálních modelů. Velké množství experimentů se věnuje potenciálním farmakologickým látkám, které by mohly zvrátit tato poškození. Testování probíhá za pomoci prostorových úloh, pro které jsou navržena speciální bludiště. Velké množství modifikací těchto arén pak umožňuje zkoumat rozdílné typy používané prostorové orientace a související procesy (paměť, pozornost, schopnosti učení...). Značný pokrok přinesl také objev mikrodialýzy, která nám poskytuje informace z extracelulárního prostoru mozku přímo během vykonávání úlohy.

Klíčová slova: cholinergní systém, prostorová orientace, kognitivní mapa, místové neurony, nikotinový receptor, muskarinový receptor, Alzheimerova choroba, bazo-kortikální dráha

Abstract

The studies concentrated on spatial orientation are very popular in these days. Based on its results we can determine relations between cognitive behaviour and neural structures to find out principle of various deficits observed within neurodegenerative diseases (Alzheimer, Parkinson, schizophrenia,...), with usage of animal models. Large amount of experiments are focus on potential pharmacological substances that could revert damages of these diseases. Such experiments use special mazes where spatial tasks take place. Many different modifications of these arenas allow us to observe different types of used spatial orientation and associated processes (memory, attention, learning abilities...). Big progress for research of this field was also invention of microdialysis, that allow us to get information from extracellular brain space during task performance.

Key words: cholinergic system, spatial orientation, cognitive map, place cells, nicotinic receptor, muscarinic receptor, Alzheimer's disease, baso-cortical pathways

Obsah:

| | |
|---|----|
| Abstrakt..... | 3 |
| Abstract..... | 4 |
| 1.Úvod..... | 6 |
| 2.Prostorová orientace..... | 7 |
| 3.Místně specifické neurony..... | 8 |
| 3.1.Místové buňky..... | 8 |
| 3.2.Mřížové neurony..... | 9 |
| 3.3.Neurony směru hlavy..... | 9 |
| 3.4.Hraniční neurony..... | 9 |
| 3.5.Konjunktivní neurony..... | 9 |
| 4.Metody zkoumání prostorové navigace hlodavců..... | 9 |
| 4.1.Radiální bludiště..... | 10 |
| 4.2.Morrisovo vodní bludiště..... | 10 |
| 4.3.Úloha preference místa..... | 10 |
| 4.4.Úlohy vyhýbání se místu..... | 11 |
| 4.4.1.Aktivní alotetické vyhýbání se místu..... | 11 |
| 4.4.2.Úloha pasivního vyhýbání se místu..... | 11 |
| 4.5.Statické úlohy..... | 12 |
| 5.Cholinergní systém..... | 12 |
| 5.1.Prvky a lokalizace..... | 12 |
| 5.1.1.Acetylcholin..... | 13 |
| 5.1.2.Acetylcholinový receptor nikotinového typu..... | 13 |
| 5.1.3.Acetylcholinový receptor muskarinového typu..... | 15 |
| 5.2.Studie lézí..... | 15 |
| 5.3.Baso-kortikální dráha..... | 17 |
| 5.4.Septo-hipokampální a septo-entorhinální dráha..... | 18 |
| 5.5.Striatální cholinergní systém..... | 21 |
| 6.Farmakologické manipulace cholinergního přenosu s účinky na prostorovou navigaci..... | 21 |
| 6.1.Agonisté a antagonisté muskarinových receptorů..... | 22 |
| 6.2.Agonisté a antagonisté nikotinových receptorů..... | 24 |
| 6.3.Cholinesterázové inhibitory..... | 25 |
| 7.Studie pomocí mikrodialýzy..... | 26 |
| 8.Závěr..... | 27 |
| 9.Zdroje..... | 28 |

1. Úvod

Snaha pochopit mechanismy, které zvířatům i lidem umožňují neustálé zpracovávání informací o okolním světě a umožňují jim cílený pohyb v prostoru, dala vzniknout řadě teorií o prostorovém chování. Postupně se zdokonalováním techniky, výzkumných metod a testovacích úloh se vyvíjely i názory ohledně principu orientace a s ní souvisejícími procesy (pozornost, rozhodování, paměť, učení, plánování, abstrakce, ...). Od nejstarších domněnek, že jde pouze o souhrn operací „stimulus-reakce“, přes kognitivní mapy až k odhalení specializovaných mozkových buněk.

Nejintenzivnější studie jsou zaměřeny na zkoumání savců, kteří jsou odjakživa ve středu našeho zájmu a jelikož etické důvody neumožňují provádět některé (zvláště invazivní) experimenty na lidech, tak jako nejideálnější modelové organismy slouží drobní hlodavci. Je také jednodušší provádět pokusy v malém měřítku s potkany, i když v současnosti máme i virtuální verze prostorových úloh pro lidi.

V dnešní době se výzkum zabývá různými mozkovými strukturami, s důrazem na molekulární podstatu věci, ve snaze dešifrovat jejich přesný význam v kognitivních procesech. Poškozením určité tkáně zjišťujeme, které signální dráhy a jaké kognitivní funkce tím byly ovlivněny. Konkrétně acetylcholin má největší koncentraci v asociačních oblastech kůry předního mozku, takže narušení cholinergních projekcí vyvolává vážná poškození, což můžeme pozorovat u mnohých neurodegenerativních onemocnění.

Řada látek působících na neurotransmitery a jejich receptory je testována pro možné využití ve farmakologickém odvětví, s hlavním cílem zmírnit deficity způsobující demenci a další poruchy.

Už víme, že ACh hraje důležitou roli ve spoustě funkcí NS a ovlivňuje paměťové procesy. Tato bakalářská práce je zaměřena konkrétně na cholinergní systém ve vztahu k prostorové kognici potkanů, takže je zde prezentována především prostorová paměť potkanů v různých úlohách, která představuje jednodušší obdobu epizodické paměti.

2. Prostorová orientace

Tato schopnost hraje roli v životě každého živočicha. Denně ji využívají při pátrání po potravě, hledání bezpečného úkrytu či vhodného partnera pro reprodukci. Nepostradatelnou úlohu má u migrací na dlouhé vzdálenosti, kde je většinou možné se zorientovat podle vnějších podnětů. Nicméně dostupnost orientačních bodů bývá závislá na mnoha faktorech, zahrnujících počasí, denní dobu, případně znalost konstelace hvězd u ptáků migrujících v noci. Zvířata se přizpůsobila rozdílným podmínkám a vytvořila si více různých způsobů určení své lokace (sluneční a stelární kompas, orientace založená na detekci magnetických siločar Země,...).

Nejjednodušší verzí orientace je taxonová navigace (navigace trasou), která vychází z teorie podnět-odpověď (Hull 1934). Jedná se o základní formu navigace postavenou na následování po sobě navazujících stimulů, což je velice nepřizpůsobivý způsob orientace a hodně citlivý na komplexitu informací (O'Keefe & Nadel 1978).

Mnohem složitější a uznávanější je teorie kognitivních map, kterou jako první zmínil Tolman po svých pokusech s potkany. V různých typech bludišť testoval, jak rychle se naučí dostat, co nejkratší cestou k potravě za různých podmínek. Zjištění, že v případě, kdy naučená přímá cesta k odměně byla zatarasena překážkou, ale potkani se jí dokázali efektivně vyhnout (Alvernhe et al. 2011), ho usvědčila v názoru, že jsou schopni si utvářet určitou vnitřní reprezentaci prostředí, kognitivní mapu, do které ukládají podněty z okolí, zkušenosti a situace asociované s konkrétním místem. (Tolman 1948).

Na tomto principu je založená schopnost navigace ke skrytým cílům, při které se subjekt orientuje pomocí prostorových vztahů k orientačním bodům. Nejprve je nutné dané prostředí prozkoumat, ale pak je vytvořená mapa velice flexibilní (O'Keefe & Nadel 1978). Klasickým příkladem jejího použití je úloha skryté platformy Morrisova vodního bludiště.

Myšlenku kognitivních map později podpořil také objev tzv. místových neuronů, které se vyskytují v hipokampální formaci, a neuronů směru hlavy, přičemž oba typy buněk mají specifickou aktivitu v určitých oblastech prostředí (viz dále).

V případě, že se zvíře musí pohybovat za tmy či v neprůhledné testovací aréně bez kontroly okolních poznávacích bodů, převezmou hlavní úlohu informace o pohybu z vnitřního ústrojí organismu. Především z vestibulárního systému a proprioreceptorů, tuto navigaci označujeme jako idiotetickou. Během ní probíhá proces integrace dráhy (*path integration*), která se vytváří během aktivního i pasivního pohybu, kdy si zvíře ukládá informace o posunu a přitom generuje návratový vektor (*homing vector*), který směřuje ke startovní pozici (Mittelstaedt & Mittelstaedt 1980). Pokud není možné kontrolovat správnost těchto údajů vzhledem k podnětům z prostředí, tak kumulativně narůstá systematická chyba idioteze (Wallace et al. 2008), která může být odstraněna prostřednictvím informace z vnějšího prostoru (*positional fix*) (Gallistel 1990). Navigace, která se řídí těmito okolními orientačními body, se nazývá alotetická (kognitivní mapy).

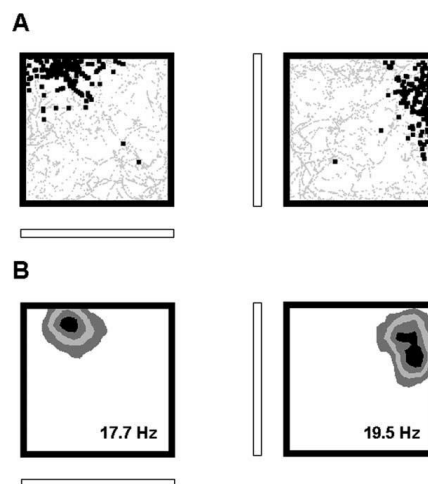
3. Místně specifické neurony

V mozku najdeme specializované nervové buňky, jejichž aktivita je spojená s umístěním subjektu v prostoru a řízena podle příchozích informací z vnějšího prostředí. V hipokampu jsou to tzv. místové buňky (*place cells*). Další typy se vyskytují převážně v entorhinálním kortexu, jsou to mřížové neurony (*grid cells*), neurony směru hlavy (*head-direction cells*), hraniční neurony (*border cells*) a konjunktivní neurony (*conjunctive cells*).

3.1. Místové buňky

Objev tohoto typu neuronu se datuje do roku 1971. Jejich činnost je přímo spjata s pozicí, ve které se zvíře nachází v konkrétním prostoru (O'Keefe & Dostrovsky 1971). Každý místový neuron je aktivován jen ve svém vymezeném úseku prostředí, kde tvoří akční potenciál a nikde jinde. Tato oblast je označována jako aktivní pole neuronu (*place field*). Místní pole všech neuronů dohromady pak definují celý prostor kolem živočicha (O'Keefe & Dostrovsky 1971). Díky tomu byly místové neurony ihned navrženy jako předpokládaný neurální základ kognitivní mapy (O'Keefe & Nadel 1978). Nicméně zákonitosti uspořádání těchto polí odhaleny nebyly (O'Keefe & Conway 1978).

Neurony mají v určité situaci (př. nová překážka na cestě) možnost provést přemapování (*remapping*) (obr.1), čili změnit pozici svého aktivního pole (Alvernhe et al. 2011), což také podporuje teorii kognitivních map, spolu s výsledky pokusů u myši s poškozeným hipokampem (tudíž narušenými místovými neurony), které byly testovány v úloze hledání skryté platformy (Morris et al. 1982; Pearce et al. 1998).



Obr. 1: Názorné přemapování jednoho místového neuronu. A) Šedou barvou je zobrazena trasa potkana a černou aktivní pole neuronu. Zvíře se pohybuje v černé, čtvercové aréně, kde je z jedné strany umístěna bílá karta (obdélník), jako orientační bod. Po přesunu tohoto podnětu se změnila i lokalita, ve které neuron vykazoval aktivitu; B) Jiný způsob znázornění, kde je v černém středu vidět nejvyšší průměrná aktivita. (Převzato od Jeffery et al. 2004).

3.2. Mřížové neurony

Mřížové neurony se vyskytují v mediálním entorhinálním kortexu, který předává své informace do hipokampu. Na rozdíl od místových neuronů, tyto buňky produkují akční potenciál ve více oblastech prostředí. Tato místa jsou uspořádána do pravidelných trojúhelníkových polí a dohromady tvoří mřížovou síť. Jejich aktivace probíhá v okamžiku, kdy se poloha zvířete shoduje s některým z vrcholů rovnostranného trojúhelníku, které pokrývají celé prostředí. Sousedící neurony mají podobnou orientaci a umístění slepých míst, ale jejich vrcholy jsou navzájem posunuté a mají různou prostorovou frekvenci. Strukturní mapa aktivity mřížových neuronů si zachovává tvar i v novém prostředí nebo při zhasnutí světla (Hafting et al. 2005).

3.3. Neurony směru hlavy

Tyto buňky byly objeveny v postsubikulu potkana (Taube et al. 1990a). Charakteristickým rysem pro neurony směru hlavy je aktivita závislá na přesném úhlu, přičemž každý neuron má vyhrazen vlastní specifický směr, který zůstává neměnný v celé (stabilní) aréně. Rotací arény vyšlo najevo, že určitou kontrolu nad preferovaným aktivním směrem mají vizuální podněty z prostředí (Taube et al. 1990b).

3.4. Hraniční neurony

Hraniční neurony signalizují, že se zvíře nachází blízko nějakého okraje, například překážky. Vyskytují se ve všech vrstvách mediální entorhinální kůry a přilehlém parasubikulu, ale jejich hustota je poměrně řídká (méně než 10 %) (Solstad et al. 2008).

3.5. Konjunktivní neurony

Další typ buněk, který najdeme v mediálním entorhinálním kortexu, jsou konjunktivní neurony, které svými vlastnostmi propojují funkce neuronů směru hlavy a mřížových neuronů. Jejich aktivní pole jsou uspořádána do mřížkového vzoru a navíc se zvyšuje frekvence akčních potenciálů neuronu v určitém směru (Sargolini et al. 2006).

4. Metody zkoumání prostorové navigace hlodavců

Byla vyvinuta celá řada prostorových úloh, které se postupem času průběžně modifikovaly a zdokonalovaly. Obecně slouží k posuzování různých kognitivních procesů a hledání jejich anatomické podstaty. Novou úroveň těchto experimentů přinesl začátek používání mikroelektrod (Hubel 1959), které umožnily sledovat extracelulární signály v mozku během výkonu.

4.1. Radiální bludiště

Bludiště bylo poprvé popsáno 1976 (Olton & Samuelson 1976). Je složeno z centrální kruhové části, od které do všech směrů vybíhají radiální ramena v různém počtu (4, 8, 12). Verze se třemi rameny, tzv. Y-bludiště se obvykle používá pro neprostorové testy (př. spontánní alternace).

U prostorových úloh se podmínky liší podle toho, kterou paměť chceme otestovat. V případě úkolu pracovní paměti jsou na konci každého ramene umístěny potravinové pelety, vyhládlý potkan je postupně sbírá a má se vyhnout opakované návštěvě již vyprázdněného ramene. Pokud chceme zjistit stav referenční paměti, vyplňujeme potravou opakovaně jen některá ramena a potkan si musí zapamatovat, kam se má pro krmení vydat.

Úlohu můžeme modifikovat například změnami vnějších orientačních bodů, rotací, přidáním pachových podnětů atd. Dokonce bylo zkonstruováno velké venkovní (8-ramenné) radiální bludiště pro testování více druhů zvířat (Lipp et al. 2001).

4.2. Morrisovo vodní bludiště

Jedna z nejpoužívanějších alternativ úlohy preference místa, navržena R. Morrisem. Dokazuje, že potkani jsou schopni naučit se nalézt cíl, který není vidět, cítit ani slyšet pokud je stabilní ve vztahu k okolním podnětům (Morris 1981).

V tomto úkolu se využívá kruhovitá aréna naplněná neprůhlednou vodou, pod jejíž hladinou (případně nad) se nachází ostrůvek, který má myš najít. Jde o princip alotetické navigace, takže je důležitá přítomnost orientačních bodů. Trénování prováděné potmě potvrdilo, že význam egocentrické orientace je zanedbatelný (Moghaddam & Bures 1996).

Na začátku testu je myš vložena do vody a začne náhodně hledat neviditelnou platformu (pochopitelně v případě viditelné platformy by zamířila okamžitě k ní, jednalo by se o taxonovou navigaci). Je-li poloha skrytého ostrůvku stále stejná, myš se brzy naučí ji přímočaře vyhledat, i když měníme startovní pozice myši.

Potkani během úlohy statické skryté platformy Morrisova vodního bludiště jednoznačně používají vytvořenou kognitivní mapu prostředí. Což potvrzují poškození hipokampu (Morris et al. 1982).

4.3. Úloha preference místa

Tato úloha využívá pozitivní vazbu na určitý podnět. Potkan se učí rozpoznat spouštěcí místo arény, po jehož navštívení je odměněn peletou. Vlivem tréninku se jeho činnost zúží na běhání pro dávkované pelety a návštěvy definovaného místa.

Při zkoumání místových neuronů se zjistilo, že pokud je zvíře naučeno na úlohu preference místa, které je v rámci místnosti stabilní, pak aktivní pole zúčastněných neuronů nebudou ovlivněna rotací a zůstanou zafixována (Bures et al. 1997).

4.4. Úlohy vyhýbání se místu

Základem je snaha vyhnout se trestu (negativní motivace), který přijde formou mírných elektrických šoků při každém vstupu do zakázané oblasti. Tuto oblast lze vymežit v souřadnicovém systému arény, nebo místnosti.

4.4.1. Aktivní alotetické vyhýbání se místu

Principem tohoto typu úlohy je nutnost aktivního pohybu. Testovací kruhová aréna má vymezený zakázaný úsek, který je určen souřadnicovým systémem místnosti. Během úkolu aréna rotuje, takže potkan musí zvolit rámeček místnosti jako nadřazený pro navigaci a aktivně se přemísťovat, aby se zakázané oblasti vyhnul (Cimadevilla et al. 2000).

Existují také modifikované verze původního konceptu. Například klasické aktivní vyhýbání jen s přidaným sbíráním pelet v aréně nebo úloha tzv. vyhýbání se nepříteli, kdy se dva subjekty učí navzájem mezi sebou udržovat jistou minimální vzdálenost (Telenský et al. 2009).

Předváděné výkony potkanů při aktivním vyhýbání se místu byly narušeny následkem jednostranné inaktivace hipokampu (Cimadevilla et al. 2001), což značí nesmírnou citlivost na integritu této struktury.

4.4.2. Úloha pasivního vyhýbání se místu

Základní myšlenka je stejná jako u předchozí úlohy, ale zvíře není nuceno k vykonávání pohybu, aby se vyhnulo potrestání (Bures et al. 1997). Nicméně je trénováno, aby sbíralo peletové odměny na povrchu arény (jako v úloze sbírání pelet) a zároveň nevstoupilo do zakázaného sektoru, kde se ovšem pelety také vyskytují. Tady jde o konflikt zájmů, protože odměna je i v místě, kde hrozí trest. Proto se musí dbát na vyrovnání obou motivací.

Aréna může být složena z pohyblivého vnitřního disku a nepohyblivého periferního pásu. V tomto případě je potkan nucen určovat nebezpečnou oblast jen pomocí substrátové idioteze (informace z proprioreceptorů), ale ukázalo se, že pro účinné vyhýbání musí být tato idioteze doplněna exteroceptivními podněty z arény (Stuchlík et al. 2001).

4.5. Statické úlohy

V průběhu statické úlohy je testovaný potkan uzavřen v průhledném, velmi omezeném prostoru, který mu brání v mobilitě. Tudíž je možné sledovat prostorovou kognici bez vlivu informací, které do mozku přichází během lokomoce (Klement et al. 2008).

Tato varianta prostorových úloh je zaměřena na funkci rozpoznávání konkrétního vizuálního podnětu. Zda tento proces vyžaduje aktivitu hipokampu bylo testováno následovně. Imobilní potkani byli pasivně přemísťováni a v momentě, kdy se vyskytli v odměňované části místnosti, měli za úkol stisknout páčku krmítka, aby obdrželi odměnu. Když se postup naučili, byl jim inaktivován hipokampus a testování se zopakovalo. Tentokrát potkani mačkali páčku na všech místech, protože bez hipokampu nebyli schopni rozpoznávat žádoucí místa (Klement et al. 2005).

Alternativně se potkan trénuje, aby rozpoznal polohu obrazce promítaného na monitoru (Klement et al. 2010), či konfiguraci obrazců (Nekovářová & Klement 2006).

5. Cholinergní systém

5.1. Prvky a lokalizace

Cholinergní systém je jedním z klíčových prvků, které regulují neuronální aktivitu mozku. Neurony, které označujeme jako cholinergní se podílejí na syntéze, transportu a následném uvolňování acetylcholinu do synaptické štěrbině. V centrálním nervovém systému můžeme cholinergní neurony rozlišit z hlediska funkce na projekční a interneurony.

Interneurony najdeme hlavně v neostriatu, které tvoří nejrozsáhlejší část bazálních ganglií. Sem směřují vlákna z mozkové kůry a thalamu (Kawaguchi et al. 1995).

Cholinergní projekční neurony se nachází zejména v bazální části předního mozku a ve vyšších oblastech mozkového kmene. Inervují především oblasti mozkové kůry, komplex jader amygdaly, hipokampální formaci, čichový bulbus a jádra thalamu. Na základě těchto inervací dělíme cholinergní neurony do šesti hlavních sektorů (CH1 – CH6). Sektory CH1 a CH2, které jsou součástí mediálního septálního jádra (CH1) a vertikální větve diagonálního Brocova svazku (CH2) poskytují hlavní cholinergní inervaci hipokampu. V postranní části horizontální větve diagonálního Brocova svazku najdeme sektor CH3, jenž inervuje čichový bulbus. Cholinergní neurony v nucleus basalis Meynerti spolu s částí diagonálního Brocova svazku tvoří sektor CH4, který je zodpovědný za inervaci některých částí mozkové kůry a amygdaly. Poslední dva sektory (CH5 a CH6) jsou důležitou cholinergní inervací thalamu a jsou lokalizovány v mozkovém kmeni. Zmíněné centrální cholinergní dráhy se podílejí na významných nervových procesech jako je chování, paměťové funkce nebo učení (Mesulam et al. 1983).

5.1.1. Acetylcholin

Acetylcholin má důležitou úlohu na synapsích periferních i centrálních nervových vláken. Jeho hladiny v extracelulárním prostoru závisí na změnách neuronální aktivity.

Působí na dva různé typy membránových receptorů. Prvním je muskarinový receptor nazvaný podle látky muskarin (toxický alkaloid obsažený mj. v muchomůrce červené), který ho také aktivuje a pak nikotinový receptor, na který se váže acetylcholin a nikotin. Mimoto je schopen regulovat další neuropřenašeče (glutamát, glycin, dopamin).

Syntézu acetylcholinu zprostředkovává enzym cholin acetyltransferáza (ChAT) katalýzou reakce cholinu s acetyl-CoA. Vzniklý ACh se shromažďuje v synaptických váčcích pomocí transmembránového proteinu VAcHT (*Vesicular Acetylcholine Transporter*), který je hnán protonovým elektrochemickým gradientem závislým na ATPázových enzymech. VAcHT vyměňuje dva protony za jednu molekulu substrátu (Parsons 2000). Tyto proteiny jsou spolu s vysokoafinním cholinovým transportérem ChT1 (*Choline Transporter 1*), což je enzym který zprostředkovává přenos cholinu zpět do buňky, součástí presynaptické fáze nervového vzruchu.

Po kvantovém vylití ACh do synaptické štěrby, které vyvolala depolarizace spuštěná tokem Ca^{2+} , začíná postsynaptická fáze, během níž dochází k navázání ACh na presynaptické i postsynaptické, muskarinové (mAChR) či nikotinové receptory (nAChR).

Pro ukončení signalizace je ACh hydrolyzován na původní cholin a kyselinu octovou pomocí extracelulárně se vyskytujícího enzymu acetylcholinesterázy (AChE), případně butyrylcholinesterázy (BuChE).

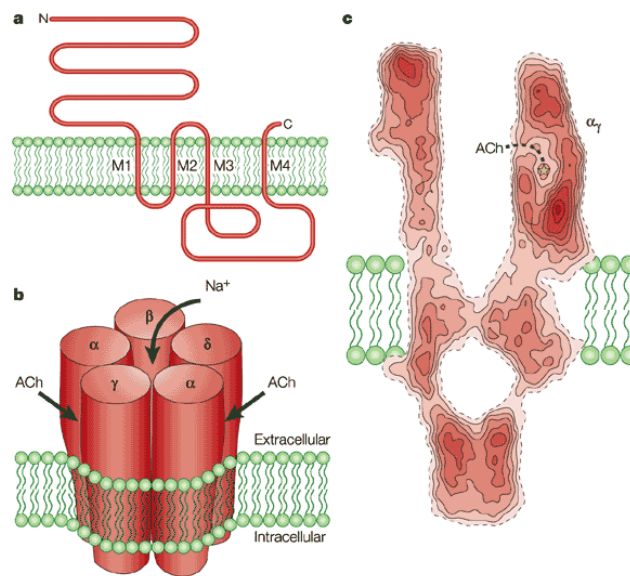
5.1.2. Acetylcholinový receptor nikotinového typu

Acetylcholinový receptor nikotinového typu (nAChR) je neselektivní iontový kanál, který po navázání ligandu propouští kationty. V membráně je složen do struktury pentameru, který tvoří různě zkombinované podjednotky (α (1-9), β (1-4), γ , δ , ϵ), v jejich středu je pak umístěn centrální kanál. Konkrétní složení pentameru odpovídá místu jeho působení a ontogenetickému stádiu organismu.

U neuronálních nAChR bylo popsáno 12 typů podjednotek ($\alpha 2 - \alpha 10$, $\beta 2 - \beta 4$), které vytváří pentamerovou strukturu v hetero- nebo homomerní formě (například $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$ u kuřat nebo $(\alpha 7)_5$) a nalézají se na pre- i postsynaptických nervových zakončeních (Hogg et al. 2003). Díky umístění na presynaptickém segmentu mají schopnost regulovat výlev ostatních neurotransmiterů (Role & Berg 1996).

V případě heteromeru se dvě ligandy navazující podjednotky (α) liší svou rozšířenou konformací od ostatních tří podjednotek receptorového kanálu (Unwin 2005). Na jejich extracelulární, amino-koncové doméně je místo (obr. 2), které je strukturně i funkčně homologické k AChBP (tzv. *ACh-binding protein*). Homopentamer má vazebné místo pro ligand na každé α podjednotce (Brejc et

al. 2001). Po navázání ACh dochází ke změně konformace a otevírá se centrální kanál. Takto vznikne nově stabilizovaná, „relaxovaná“ forma podjednotek (Unwin et al. 2002).



Nature Reviews | Neuroscience

Obr. 2 a) model inkorporace receptorových podjednotek do membrány; b) schéma uspořádání podjednotek svalového nAChR s vyznačenými ACh-vazebnými místy a kanálem pro kationty; c) průřez receptorem v membráně *Torpeda* s naznačeným vazebným místem na α podjednotce (elektronová krystalografie). (Převzato z www.nature.com/nrn/journal/v3/n2/fig_tab/nrn731_F1.html)

Nikotinový receptor má tři základní formy; otevřenou, zavřenou a desenzitizovanou. Jeho aktivace spustí rychlý nárůst propustnosti membrány pro Na^+ a Ca^{2+} . Začne proces depolarizace (excitace), kdy se membránový potenciál buňky snižuje směrem ke kladným hodnotám. Tato změna membránového potenciálu vyvolává akční potenciál, který se šíří dál po membráně. Klíčovým mechanismem je zde rychlá inaktivace napětově-ovládaných sodných kanálů, které se významně podílí na akčním potenciálu. To probíhá pomocí náhlého uzavření kanálu během depolarizace membrány (Hodgkin & Huxley 1952). Po dosažení presynaptického zakončení je vyvolána fúze vezikulů (obsahujících neurotransmitery) s membránou, vylití neuropřenašeče do synapse a navázání na odpovídající receptory.

Značnou desenzitizaci nAChR způsobuje prodloužené vystavení nikotinu. Další měření ukázala, že rychlost návratu nAChR do klidového stavu se zpomaluje s rostoucí koncentrací intracelulárního vápníku (Guo & Lester 2007).

Schopnost nAChR vázat na sebe ACh může být narušena různými látkami. Blokátorem tohoto receptoru je šípový jed kurare (účinná látka je tubokurarin), jehož navázání na nAChR je reverzibilní. Naproti tomu α -bungarotoxin a najatoxin, jedy tvořené různými rody hadů, se vážou ireverzibilně. Tyto látky způsobují, že se synapse stává nefunkční a znemožňuje se přenos signálu. Stejný účinek má inhibice AChE (díky trvalé aktivaci ACh, který není odbouráván) a inhibice uvolňování ACh,

např. botulinem. V medicíně využíváme částečnou inhibici AChE ke zmírnění příznaků některých onemocnění (př. demence Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby, myasthenia gravis, traumatická poranění mozku, křečové formy dětské mozkové obrny, patologické cévní mozkové stavy,...).

5.1.3. Acetylcholinový receptor muskarinového typu

Bylo charakterizováno celkem pět genů, které kódují odlišné mAChR (M1 – M5) (Caulfield & Birdsall 1998). V mozku potkana jsou nejvíce zastoupeny M1, M2 a M4 receptorové proteiny. Imunocytochemií bylo prokázáno, že výskyt jednotlivých podtypů receptoru se liší v různých oblastech. Přítomnost hlavního postsynaptického muskarinového receptoru (M1) vykazoval kortex a striatum. V bazálním předním mozku, rozptýlený v neuronech striata, v tegmentu mezi středním mozem a Varolovým mostem a v kraniálních motorických jádrech se vyskytuje receptor M2. Jeho rozložení v místech s cholinergními neurony naznačuje, že jde o možný autoreceptor, ale najdeme ho i v necholinergních strukturách. Na presynaptické části funguje jako modulátor uvolňování jiných neurotransmiterů. Na M4 je bohaté neostriatum, tuberculum olfactorium a IC (*the island of Calleja*) (Levey et al. 1991). V porovnání s těmito podtypy muskarinových receptorů je výskyt M3 v mozku potkana nižší, ale jeho distribuce (hlavně v kortexu, hipokampu, thalamu a striatu) napovídá, že hraje roli v procesech učení, paměti, motorických funkcích a při kontrole chování (Levey et al. 1994). V některých oblastech mozku pak byly zjištěny malé hladiny receptoru M5 (Yasuda et al. 1993).

Muskarinový AChR patří do skupiny metabotropních receptorů, jejichž princip přenosu signálu do intracelulárního prostředí je založen na aktivaci heterotrimerních G-proteinů (tzv. GPCR = *G protein-coupled receptor*). Velké množství případů signální transdukce probíhá právě přes GPCR. Porozumění jejich funkci bylo klíčové nejen v medicíně.

V membráně jsou mAChR ukotveny sedmi transmembránovými doménami (α - helixy) pospojovanými smyčkami a mají N-terminální konec směřující vně buňky. Různé typy muskarinových receptorů po aktivaci spouští dvě možné signální dráhy. M1, M3 a M5 receptory stimulují pomocí G proteinů činnost fosfolipázy C a adenylátcyklázy. Zbývající M2 a M4 podtypy mAChR adenylátcyklázu inhibují (Caulfield 1993).

Transdukce signálu vždy začíná vazbou ligandu k receptoru, na který se ještě v neaktivním stavu připojí trimerní G-protein (s podjednotkami α , β , γ). Po aktivaci receptoru, následované změnou jeho konformace, se aktivuje G-protein, který vymění na své α podjednotce GDP za GTP, ta se potom oddělí od komplexu $\beta\gamma$. Každá část rozděleného komplexu pak řídí další kaskády. Komplex $\beta\gamma$ je například zodpovědný za regulaci vápníkových kanálů (Herlitze et al. 1996).

5.2. Studie lézí

Na předchozí poznatky o anatomii a funkci cholinergních neuronů navázaly další výzkumy. Četné množství experimentů se věnuje úbytku a degradaci tkáně bazálního předního mozku a redukcii

cholinergních markerů. Největší motivací je snaha pomoci pacientům s neurodegenerativními onemocněními, alespoň zpomalit postupnou degeneraci neuronů a zvýšit kvalitu života.

V termínu cholinergní komplex bazálního předního mozku je zahrnuto mediální septum, horizontální a vertikální větve diagonálního Brocova svazku a bazální Meynertovo jádro. Z těchto struktur směřují cholinergní projekce do mozkové kůry a hipokampu. Zhoršování paměti v důsledku stárnutí bylo připisováno degenerativním změnám právě v neuronech tohoto komplexu. Ale ukázalo se, že ztráta těchto buněk doprovází zejména patologické stárnutí (například Alzheimerovu chorobu; AD), přičemž normální stárnutí zapříčiňuje „pouze“ pozvolná ztráta cholinergní funkce. Významnou degeneraci cholinergních buněk bazálního předního mozku lze pozorovat u patologických stavů, které jsou doprovázeny kognitivními deficity (Parkinsonova nemoc, Downův syndrom, progresivní supranukleární obrna, Creutzfeldt-Jakobova choroba, Korsakovův syndrom, traumatické poranění mozku). Progrese poruchy cholinergního systému může být v časných fázích AD zpomalena farmakologickým zásahem do signalizačních kaskád. Ale AD je provázena ještě neurofibrilárními klubky a beta-amyloidními plaky, které vyvolávají cholinergní dysfunkci (Schliebs & Arendt 2011), a proto pacienty s AD nemůžeme využít jako relevantní zdroj informací pro vymezení funkce cholinergního systému v kognitivních procesech.

Léze bazálního předního mozku byly spojovány s poruchami paměti u lidí i zvířat. Jeden z prvních popisů amnézie u lidí byl případ pacientky, která podstoupila odoperování gliomů. Po zákroku se u ní rozvinula trvalá anterográdní a retrográdní amnézie. Magnetickou rezonancí se odhalila malá léze umístěná v pravém diagonálním Brocově svazku. Došlo se k závěru, že amnézie byla zapříčiněná přerušením dráhy mezi diagonálními svazky a hipokampem, který tak přišel o cholinergní inervaci (Morris et al. 1992).

S lézemi a jejich účinky v různých částech mozku, se testují i chemické látky. Příkladem může být vinconate ze skupiny vinca alkaloidů podaný potkanům s lézemi v mediálním septu. Sledovaly se změny deficitu prostorového učení po podání této látky. Aplikovaný vinconate vykazoval určitou tendenci zvrátit pokles aktivity ChAT, který v hipokampu způsobily léze, což vedlo ke zmírnění dysfunkce ACh neuronů i projevů amnézie (Kinoshita et al. 1992).

U potkanů, kterým byly vytvořeny v septální oblasti RF (radiofrekvenční) a QUIS (quisqualate) léze se vyhodnocovala schopnost učení v radiálním a Morrisově vodním bludišti. RF skupina měla relativně horší výsledky a zvláštní je, že její výkon nebyl ovlivněn podáním skopolaminu (antagonista muskarinu) (Decker et al. 1992).

Pro otestování injekcí 192 IgG-saporinu (selektivní toxin pro cholinergní neurony) do mediálního septa se použila skupina potkanů, vycvičených v 8 ramenném radiálním bludišti. Podstoupili dvě různé verze úkolu, jednu se zakomponovaným zpožděním a druhou, kde se měli vyhýbat 2 ramenům, do kterých nikdy nebyly dány návnady. Ani v jedné verzi nedosahovali uspokojivých výsledků. Uvedená data potvrzují, že cholinergní projekce do hipokampu napomáhají

akvizici informací do systému, který řídí krátkodobou paměť (*spatial working memory*), ale v uchovávání těchto informací roli nehrají (Shen et al. 1996).

Stejný imunotoxin jako v předchozím případě byl použit pro výzkum cholinergních neuronů nucleus basalis magnocellularis (NBM). Zjistilo se, že se tyto neurony nejvíce účastní úkolů, během nichž je potřeba spíše pozornost, než samotné učení a paměť. Elektrofyziologie ukázala, že kromě kontroly procesů pozornosti jsou tyto buňky zapojeny do regulace vzrušení a fázi spánku (Wenk 1997).

Současnější studie, které k narušení struktur využívají operační zákroky, jsou mnohem přesnější. Jedna z nich zkoumala potkany s vysoce selektivními lézemi cholinergních neuronů ve všech důležitých oblastech bazálního předního mozku. Pokusy v radiálním bludišti, zaměřené na prostorové úlohy testující pracovní paměť, pak prokázaly, že cholinergní bazální přední mozek nehraje významnou roli v prostorové pracovní paměti, neboť výsledky skupiny s lézemi nebyly signifikantně odlišné od kontrolních jedinců (Vuckovich et al. 2004).

5.3. Baso-kortikální dráha

U lidí je projekční dráha do mozkové kůry zprostředkována cholinergními vlákny nucleus basalis Meynerti (NBM, NB; sektor CH4). Homologní strukturu u potkanů nazýváme nucleus basalis magnocellularis (NBM) (Wenk 1997). Při posuzování důležitosti této struktury v rámci prostorového učení se prováděly behaviorální testy po snížení neokortikálního cholinergního tonu. Došlo se však k mnoha protichůdným výsledkům.

Za použití lokální infúze kyseliny ibotenové nebo radiofrekvenční ablace buněk CH4, byl způsoben významný pokles ChAT a AChE (Dubois et al. 1985; Hannila et al. 1990; Nieto-Escámez et al. 2002; Salamone 1986). Sníženou aktivitu ChAT v kortexu po jednostranném nebo oboustranném vytvoření elektrolytických či neurotoxických lézí v NB sledoval i (Pepeu et al. 1986), avšak její činnost se po 3 - 6 měsících u testovaných potkanů spontánně obnovila.

Brzy se ukázalo, že výsledky závisí na zvolených neurotoxinech a na konkrétních podmínkách behaviorálních testů. Zatímco některé laboratoře po narušení struktury CH4 došli k alespoň mírnému poškození zpracovávání prostorových informací (Berger-Sweeney et al. 1994; Dokla & Thal 1988; Hannila et al. 1990; Kwo-On-Yuen et al. 1990; Riekkinen et al. 1995), tak jiným se trvalé následky nalézt nepodařilo (Baxter et al. 1995; Garcia-Alloza et al. 2006; Lehmann & Grottick 2003; Page et al. 1991; Torres et al. 1994).

Další experimenty měly odhalit, zda stupeň snižování kortikálního ACh odpovídá závažnosti deficitu prostorového učení a jestli je možné zvrátit účinky NBM lézí pomocí farmakologických látek. Ke kladnému závěru dospěl při svých pokusech v kruhovém vodním bludišti R. J. Mandel (Mandel, Gage, et al. 1989). Naopak u jiných studií míra deficitu prostorového učení neodpovídala. Například aplikace kyseliny ibotenové a quisqualové vyvolaly srovnatelné snížení aktivity kortikální ChAT, ale

relativně se lišily poruchy v prostorovém učení způsobené těmito lézemi (Connor et al. 1991; Dunnett et al. 1991). Při dávkách navozujících stejné cholinergní poškození neokortexu má kyselina quisqualová menší neurologické a regulační účinky než častěji používané toxiny jako N-methyl-d-aspartát, kyselina kainová a ibotenová (Connor et al. 1991; Dunnett et al. 1987). Význam cholinergního přísunu pro neokortex, jakožto klíčový prvek prostorového učení, zpochybnily excitotoxické infúze α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionové kyseliny (AMPA). Ačkoli má AMPA schopnost zredukovat ChAT aktivitu v kůře o 70 %, což je o 20 % víc než léze vyvolané ibotenovou kyselinou, tak poškození akvizice v prostorových úlohách je nízké. Histologie poukázala na fakt, že AMPA je vysoce selektivní neurotoxin cholinergních neuronů, takže její aplikace, na rozdíl od ostatních používaných látek, nepoznamená jiné okolní struktury (Page et al. 1991).

Lézové narušení kortikální cholinergní dráhy by mohlo napravit dodání ACh agonisty či inhibitoru AChE. Touto hypotézou se zabývaly následující pokusy. V prvním případě se BF lézovaným potkanům 3 týdny podávaly infúze oxotremorinu a fyzostigminu a během této doby se posuzovala výkonost v různých behaviorálních úlohách. Bylo pozorováno, že podávání cholinergních léků zlepšilo akvizici a schopnost zapamatování u těchto potkanů (Miyamoto et al. 1989). Navazovaly další výzkumy inhibitoru cholinesterázy fyzostigminu (Dokla & Thal 1988; Mandel, Chen, et al. 1989; Mandel & Thal 1988) získaného z liány *Physostigma venenosum*, u něhož se dospělo k rozporupným výsledkům ohledně otázky potenciálního terapeutického využití. Inhibitor AChE tetrahydroaminoacridin (THA) prokazatelně zvýšil dovednost prostorového učení (Kwo-On-Yuen et al. 1990). Silný účinek na potlačení cholinesterázové aktivity se projevil u huperzinu A, izolovaného z rostliny *Huperzia serrata* (LIU et al. 1986). Jiný způsob podpory cholinergních neuronů spočívá v aplikaci nervového růstového faktoru (NGF). Následkem této farmakologické manipulace byla sledována zvýšená akvizice v úlohách s vodními bludišti (Mandel, Gage, et al. 1989). Tato zjištění nám dokazují, že problémy s prostorovým učením byly částečně zapříčiněny smrtí cholinergních buněk NBM. Jakým způsobem narušuje nedostatek cholinergní aktivity zpracovávání údajů během prostorového učení není jasné, ale víme, že ACh hraje důležitou roli během pozornosti, což se ukazuje v komplexnějších úlohách vyžadujících tento proces.

5.4. Septo-hipokampální a septo-entorhinální dráha

Jednou z klíčových struktur podílejících se na prostorové orientaci je hipokampus (Cain & Saucier 1996; Morris et al. 1982). Potvrdily to četné pokusy ve vodním (Morris et al. 1982; Sutherland et al. 1989) a radiálním bludišti (Bouffard & Jarrard 1988; Jarrard 1993), kde byla po vytvoření lézí v hipokampu narušena akvizice. Kvůli velikosti a tvaru této mozkové struktury se vyplatí použití neurotoxinů nebo umístění většího počtu lézí (Jarrard 1993) pro dosažení přesnějších výsledků.

Snaha definovat roli, kterou hipokampus zastává při formování paměti a v procesu prostorového učení dala vzniknout třem hlavním teoriím.

První z nich je standardní konsolidační teorie. Nejdříve se zjistilo, že hipokampus má nezbytnou úlohu při sjednocování paměťových stop (především explicitní paměť, pro implicitní není vyžadován) (Squire 1992). Testovala se jeho aktivita během čtyřfázového procesu vytváření vzpomínek; kódování, ukládání, konsolidace a opětovné vybavování (Riedel et al. 1999). Pod pojem struktury mediálního temporálního laloku byl zahrnut hipokampus s okolními korovými oblastmi (entorhinální, perirhinální a parahipokampální kůra). S tímto systémem jsou propojeny některé typy paměti a jeho poškození ničí čerstvě získané vzpomínky. Nicméně vzdálené vzpomínky zůstávají nedotčené, což signalizuje účinkování těchto struktur v jejich konsolidaci, ale výsledné úložiště se nachází jinde (Alvarez & Squire 1994).

Následující hypotéza, označovaná jako teorie mnohonásobných paměťových stop (MTT, Multiple Trace Theory) se zakládá na tvrzení, že hipokampální aktivita vždy zodpovídá jak za vybavování dlouhodobých vzpomínek, tak i za prostorové učení. Podle této teze opakováním jedné akce vznikají vícenásobné stopy tohoto zážitku a jeho úplné odstranění je pak velice obtížné. Z čehož vyplývá, že větší množství paměťových stop mají především starší vzpomínky (Moscovitch et al. 2005; Moscovitch et al. 2006; Nadel & Moscovitch 1997).

Poslední teorii popsali ve své knize O'Keef a Nadel (1978). Je to teorie kognitivních map, která navrhuje definování každého prvku v prostoru kolem nás pomocí místových neuronů (*place cells*). Tyto buňky jsou pomocí svých aktivních polí (*firing fields*) schopné uspořádat kompletní trojrozměrnou mapu okolního prostoru.

Novější poznatky odkazují na mnohé další struktury, které se podílejí na řešení prostorové orientace. Nesmírně důležité jsou mřížkové entorhinální buňky (Moser et al. 2008). Kromě entorhinální kůry hrají podstatnou roli ještě kůra perirhinální, postrhinální a retrosplenální. Navzdory anatomickým konexím těchto struktur se po jejich odstranění neprojeví takřka žádné účinky v prostorových úlohách. Alespoň nějaký efekt při testech prostorové paměti vyvolaly pouze léze retrosplenálního a entorhinálního kortexu (Aggleton et al. 2000). Nejspíše existuje více možných tras, kterými se prostorová informace z kůry může do hipokampu dostat. Ze sektoru CH1 a CH2 vybíhají cholinergní zdroje do hipokampální formace, které pravděpodobně regulují dynamiku oběhu kódování, konsolidace a vybavování, která zde probíhá (Hasselmo & McGaughy 2004; Hasselmo et al. 1995). Byly pozorovány proměnlivé fyziologické účinky ACh v kortikálním oběhu a zjistilo se, že při zvýšení jeho hladiny se současně snižuje vliv procesu zpětné vazby. Tudiž je zvýšená pozornost na smyslové podněty a kódování nově přichozích informací, ale je zamezeno rušení od vnitřního zpracovávání již uložených vzpomínek. Odlišná situace nastává během klidného stavu bdělosti nebo delta spánku, kdy je zastoupení ACh nižší a pro kódování nových informací nedostačující. V tomto případě se potlačované zpětné kolaterály projeví a rozvinutím aktivity hipokampu a odtud i entorhinálního kortexu se zjednoduší konsolidace a vybavování paměťových stop (Hasselmo & McGaughy 2004; Hasselmo et al. 1995).

Léze septo-hipokampálních cholinergních neuronů způsobily odlišný *remapping* od kontrolní skupiny. Z toho vychází domněnka, že cholinergní vstup je schopen rozhodnout, zda bude v hipokampální síti aktivně zpracován nový vizuální podnět nebo už uložené znázornění aktuálního prostředí (Ikonen et al. 2002).

Hipokampus má cholinergní vstupy z mediálního septa (CH1) a diagonálního Brocova svazku (CH2). Význam tohoto septo-hipokampálního cholinergního systému zpochybnilo několik studií. Po vytvoření lézí v septu experimentálních jedinců se uváděly jisté poruchy prostorové paměti, ale u novodobějších a propracovanějších neurotoxických lézí, které nezpůsobují takové vedlejší ztráty necholinergních buněk (např. bazálního předního mozku), se poškození paměti nepotvrdila (Baxter et al. 1995; Berger-Sweeney et al. 1994; Bizon et al. 2003; Niewiadomska et al. 2009). Z těchto zjištění lze vydedukovat, že nestačí pouze ztráta cholinergních zdrojů, aby se u subjektu projevilo narušení prostorového učení, které závisí na hipokampu. Ale léze CH1 mají různé další dopady na hipokampus. Jsou schopné například omezit jeho metabolismus ACh (Ginn & Peterson 1992), zrušit theta rytmickou aktivitu (Andersen et al. 1979) nebo přivodit dysfunkci. Potkani, u nichž bylo laboratorně poškozeno mediální septum, byli testováni v četných variantách prostorových úloh. Ve vodním bludišti (Brandner & Schenk 1998; Decker et al. 1994; Fraser et al. 1991; Hagan et al. 1988), v bludišti s radiálními rameny (Feasey-Truger et al. 1992; Janis et al. 1998; Lehmann & Grottick 2003; Walsh et al. 1996), T-bludišti (Johnson et al. 2002) i tzv. kuželovém bludišti (*cone-field maze*) (van der Staay et al. 2006). Pozorované výkony odpovídaly nižší úrovni cholinergních prvků a narušení akvizice spolu se zachováváním prostorové paměti. Tyto závěry zpochybňují zase jiné studie, ve kterých se samotné odstranění septo-hipokampální cholinergní dráhy pomocí selektivních imunotoxinů či neurotoxinů nedotklo prostorové paměti (Baxter et al. 1995; Bizon et al. 2003; Fletcher et al. 2007; McMahan et al. 1997), nebo vyvolalo deficity jen u pracovní paměti, ale ne u dlouhodobé. Tudíž by role cholinergních projekcí do hipokampu usnadňovala pouze získávání informací pro prostorovou pracovní paměť (Shen et al. 1996; Everitt & Robbins 1997). Navzdory velkému množství různých výsledků, které zpochybňují roli septo-hipokampální dráhy při prostorovém učení, tak hipokampální formace je stále považována za klíčový systém při zpracování údajů z prostředí.

Entorhinální kůra (EC) je jednou z dalších podpurných struktur hipokampu. Výběžky jejích neuronů tvoří dráhu, která do něj přináší předzpracované nové informace (Witter et al. 2000). Do EC směřují aferenty ze spousty kortikálních oblastí. Mezi nimi jsou hlavní perirhinální a parahipokampální kůra, u kterých se ukázalo, že nejsou pouhým mezníkem mezi neokortexem a hipokampální formací, ale mají určitou svou funkci během paměťových procesů. Dále sem směřují ještě piriformní, orbitofrontální, cingulární a retrosplenální kortex (Lavenex & Amaral 2000). Již byly zmíněny mřížkové entorhinální buňky, které na základě podnětů pomáhají sestavit topografickou neurální mapu daného prostoru (Hafting et al. 2005; Moser et al. 2008). Léze entorhinálního kortexu způsobují nedostatky v prostorovém učení (Goodlett et al. 1989; Jarrard et al. 1984) a vykazují

neschopnost přizpůsobit se při úlohách ve vodním bludišti, kdy je přesouvána platforma (Hagan et al. 1992). Avšak tyto výsledky nejsou důkazem, že by problémy se zpracováním prostorových informací v EC znemožnily formovat prostorovou paměť. Ale je možné, že narušením dráhy do hipokampu se prostorová informace nesprávně zpracuje. Do entorhinální kůry vedou, stejně jako do hipokampu, projekce z CH1 (Alonso & Köhler 1984; Jones 1993), což naznačuje, že by se na prostorovém učení mohla aktivně podílet i septo-entorhinální dráha (Walsh et al. 1996). Pro přesnější určení důsledků, které mají léze CH1 na tyto dvě jednotlivé struktury, bude potřeba širší výzkum používající lokální inhibiči cholinergních receptorů.

5.5. Striatální cholinergní systém

Tato soustava může řídit motoriku i reakce na podněty (McDonald & White 1993). Funkce striata v mozku potkanů se zjišťovaly například v křížovém bludišti (*cross-maze task*), kde si sledovaní jedinci měli vybírat správné rameno za použití různých strategií (Packard 1999; Packard & McGaugh 1996). Měřením uvolňování ACh v hipokampu a ve striatu zároveň se ukázalo, že nejdříve se aktivuje hipokampus, který řídí prostorové učení na základě pozice a následně, když učení přejde na strategii odpovědi, se aktivuje také striatum. Takto by se pomocí mikrodialýzy mohl neurobiologicky znázornit přechod z deklarativního učení na procedurální (Chang & Gold 2003). Po selektivní ablacii striatálních cholinergních neuronů je narušeno procedurální učení u tónem naváděné (*tone-cued*) úlohy a pracovní paměť při testu alternace v T-bludišti. Akvizice referenční paměti se zdá být v úloze vodního bludiště nedotčená (Kitabatake et al. 2003). V Morrisově vodním bludišti se zkoumaly i funkce jednotlivých podoblastí striata (Devan et al. 1999; Devan & White 1999). U verze se skrytou i viditelnou platformou se nejvíce účastnilo akvizice dorzomediální striatum (Devan et al. 1999; Whishaw et al. 1987). Tato oblast striata má pravděpodobně na svědomí inhibiči starého vzorce odpovědi, pokud je potřeba přejít na novou strategii (Ragozzino 2003; Ragozzino & Choi 2004; Ragozzino et al. 2002). V případě změny podmínek v prostředí, kdy je žádoucí vytvoření nové prostorové odpovědi, se odpovídajícím způsobem upraví výlevy ACh v cholinergních neuronech dorzomediálního striata.

6. Farmakologické manipulace cholinergního přenosu s účinky na prostorovou navigaci

Pomocí lézí jsme schopni určit významnost ACh transmise v neurálních strukturách během různých behaviorálních aktivit. Abychom zjistili konkrétnější informace o tom, které typy receptorů se procesu účastní nebo kdy přesně během testovaného výkonu se uvolňování spouští, používáme centrálně aktivní cholinergní látky (s vyšším časovým rozlišením). Máme možnost sledovat jejich vliv na EEG (Platt & Riedel 2011), cholinergní tonus a jiné fyziologické děje. Kromě toho se jejich

přítomnost projevuje v kognitivních testech u lidí i zvířat. Systémově podané látky, ale nejsou cílené jen do konkrétní části mozku.

Při výzkumu prostorového učení se používají hlavně agonisté a antagonisté centrálních cholinergních receptorů (muskarinových i nikotinových), dále pak exogenní zvýšení či blokování cholinergní aktivity. Problém je, že cholinergní tonus může být ovlivněn i jinými neurotransmiterovými systémy.

6.1. Agonisté a antagonisté muskarinových receptorů

Když pomocí nesespecifických antagonistů, jako jsou skopolamin (*hyoscin*) nebo atropin, zablokujeme muskarinový receptor ještě před fází učení, tak se následně znemožní tvorba prostorové paměti. Látky tohoto typu nejčastěji testujeme na hlodavcích, pomáhají při hledání možných terapeutických farmaceutik pro léčbu kognitivních onemocnění (Drachman & Leavitt 1974). Studie prováděné u lidí ukázaly, při porovnání fungování skopolaminem poškozené paměti s deficitem u pacientů trpících demencí v důsledku vyvinutí Huntingtonovy choroby, určité rozdíly. Skopolamin zhoršuje u lidí výsledky v úlohách, v nichž jsou známé prvky představovány v nových kombinacích (Beatty et al. 1986), ale pracovní paměť pro vysoce povědomé stimuly, jako jsou slova a čísla, zůstává nedotčená. Zablokování muskarinových receptorů hlodavce naruší prostorové učení a volbu strategie ve vodním bludišti při testech referenční paměti, avšak neprostorové předtrénování (*non-spatial pretraining*) zvířatům umožní zvolit nejvhodnější strategii (Cain et al. 2000). Zmíněné deficity mohou být následkem neschopnosti potlačit neefektivní únikové strategie (Day & Schallert 1996). Takže blokování muskarinových receptorů způsobuje, že je kompromitován výběr nejlepší strategie učení (Day & Schallert 1996; Sutherland et al. 1982; Whishaw 1985; Whishaw et al. 1995). Tato překážka se dá překonat opakovaným trénováním, dokud je hlavní prostorová strategie (Day & Schallert 1996). Což neodporuje zjištění, že narušením cholinergního přenosu se poškozuje prostorová pracovní paměť (Ballard & McAllister 1999; Buxton et al. 1994; Han et al. 2000; Whishaw et al. 1995). Skopolamin dokáže negativně ovlivnit také sensorické filtrování, které vyřazuje bezvýznamné podněty ze smyslového zpracovávání. Zvíře pak není schopné vyhodnotit smyslové informace správně, což u něj může vyvolat pocity úzkosti a strachu (Smythe et al. 1996).

Během procesu paměťového zpracovávání se úloha ACh mění. Nejvýznamnější je při počátečním formování a následně se jeho role sníží. A proto se provedením cholinergní blokády ještě před začátkem tréninku naruší kódování, ale když je to provedeno až při konsolidaci, tak není vybavování informace nijak poškozeno. Tuto dvoufázovou účast ACh při tvorbě prostorové paměti naznačují několikery zjištění (Marighetto et al. 1993; Micheau & Marighetto 2011).

Cholinomimetika, jakožto látky podporující či zastupující účinky ACh, se dají využít za účelem zmírnění úpadku kognitivních funkcí v důsledku přirozeného stárnutí nebo jako možná léčba AD. Rozsáhlá škála muskarinových agonistů byla testována na hlodavcích. Patří mezi ně například

karbachol, pilokarpin, oxotremorin a mnohé další, jejichž studie jsou shrnuté v Deiana et al. (2011). Hodně záleží na věku zkoumaného subjektu a stavu jeho cholinergního systému. U mladších jedinců nemají cholinergní agonisté žádný podstatný vliv na paměťové zpracování (Givens & Olton 1990). Naopak tomu je u starších zvířat, animálních modelů demence a pacientů postižených demencí (Brandeis et al. 1990; De-Mello et al. 2005; Markowska et al. 1995). V těchto případech může být narušení cholinergního systému zapříčiněno senescencí, nicméně léky na povzbuzení ACh funkce pomáhají posílit jeho činnost. Mladé subjekty mají dostačující ACh aktivitu a nepotřebují podporu či prodlouženou aktivaci receptorů. Farmakologická cholinergní blokace způsobuje poruchy prostorové paměti, ale muskarinové agonisté se těmto vzniklým deficitům dokáží bránit zvýšením aktivity septo-hipokampálních neuronů (Givens & Sarter 1997; Markowska et al. 1995), čímž docílí nárůstu uvolněného ACh v hipokampu (Bland & Oddie 1998; Givens & Olton 1994; Givens & Olton 1995; Monmaur & Breton 1991). Dávka cholinergních léků podaná po fázi akvizice může poškozovat výkonnost prostorové paměti (Bunce et al. 2003; Bunce et al. 2004), což by odpovídalo předpokládanému rozvrácení procesu konsolidace. Opět narážíme na zmíněné dvoufázové účinky ACh, lišící se během akvizice a uchovávání vzpomínek (Marighetto et al. 1993).

Studie stále neodhalily specifický subtyp receptoru, který by byl aktivně zapojený během různých úloh. Nicméně se zjistilo, že jedním ze způsobů jak lze zvýšit hladinu ACh je vysoce specifické zablokování presynaptických autoreceptorů (M2), ovšem nesmí dojít k blokáde postsynaptických receptorů (M1), která by zrušila kognitivní přenos. Takové schopnosti má třeba sloučenina s názvem SCH 72788. Tento antagonist M2 muskarinových autoreceptorů, které řídí výlev ACh, přispěje svým působením k nárůstu uvolněného ACh ve striatu (Lachowicz et al. 2001). Na stejném principu to funguje i v hipokampu a mozkové kůře, kde najdeme tento typ receptoru v mozku potkana také (Lapchak et al. 1989; Quirion et al. 1995; Quirion et al. 1994; Stillman et al. 1996). Starším potkanům se špatnou kognicí pomáhá podání selektivních antagonistů M2, jako například BIBN-99, k lepšímu výkonu ve vodním bludišti (Doods et al. 1993; Rowe et al. 2003). Toto zlepšení přetrvávalo ještě dlouho po skončení léčby. Konkrétnější blokady M2 receptorů v určitých oblastech přinesly různé poznatky. Důsledkem blokace v dorsolaterálním striatu se zlepšila procedurální paměť, ale referenční prostorová paměť zůstala beze změny (Lazaris et al. 2003). Naproti tomu v dorzálním hipokampu nevyvolal zásah žádné efekty na krátkodobé ani dlouhodobé paměti (Andrews et al. 1994; Herrera-Morales et al. 2007). U myši byla provedena genová inaktivace M2 receptorů a zdálo se, že to má na kognici neblahý vliv a vyvolává to abnormální aktivity mozku (Bainbridge et al. 2008; Seeger et al. 2004). Na opačném principu založená selektivní aktivace M2 receptorů nedokázala, dle očekávání, zvrátit poškození vyvolaná skopolaminem (Shannon et al. 1990).

U postsynapticky umístěných M1 cholinergních receptorů (Wevers 2011) způsobí jejich odstavení pirenzepinem (muskarinový antagonist) v předtréninku zhoršení prostorového učení (Bymaster et al. 1993). Na věku závislá porucha prostorové paměti byla úspěšně revertována M1 agonisty v úlohách radiálního a vodního bludiště (Brandeis et al. 1990). Slibné výsledky přinesli velmi

účinně působící noví selektivní agonisté M1, kteří pozvedli výkonnost i u normálních jedinců (Vanover et al. 2008).

6.2. Agonisté a antagonisté nikotinových receptorů

Obecně můžeme tvrdit, že zablokování nikotinových receptorů způsobí deficity v prostorové paměti, ale určení související funkční podstaty je složitější. Ukázalo se, že antagonisté nAChR mají obecně slabší účinky než skopolamin, ale v některých podmínkách se poškození vůbec prokázat nepodařilo (Bymaster et al. 1993; Maviel & Durkin 2003). Nejčastěji je prostorových poruch dosahováno, je-li látka subjektu podána před tréninkem. Zajímavé poznatky přinesla studie, jež testovala důsledky mecamylaminu (nikotinový antagonist) v bludišti s radiálními rameny. Cílové struktury s vysokou koncentrací nAChR byly substantia nigra a ventrální tegmentální oblast. Sem směřovaly infuse mecamylaminu, které výrazně zhoršily pracovní paměť v této úloze. Pak se zkoumaly účinky nikotinových agonistů (cytisin, nikotin) a zjistilo se, že jistá dávka nikotinu přivodí sníženou přesnost volby, ale vyšší dávka mecamylaminu tyto účinky dokázala zvrátit (Levin et al. 1994). Zmíněné oblasti a receptory jsou zapojeny v konsolidaci procedurálních prvků úlohy, ale vypadá to, že při získávání strategické odpovědi se navzájem ovlivňují různé paměťové systémy (Micheau et al. 2004). Novější selektivní antagonisté nAChR dihydro- β -erythroidine (působící na heteromer $\alpha 4\beta 2$) a methyllycaconitine (blokující homomer $\alpha 7$) zatím ve všech provedených pokusech poškodili prostorovou paměť (souhrn tabulka 3. (Deiana et al. 2011)*). Pro svou účast v kognitivních procesech se nikotinové receptory brzy staly středem zájmu při hledání terapeutické léčby chorob doprovázených kognitivními poruchami.

Po aktivování nAChR nikotinem dochází ke zlepšení kognitivních schopností jak u zdravých lidí a zvířat, tak i dysfunkčních zvířat a pacientů trpících AD (Levin 1992; Newhouse et al. 1988; Rusted et al. 1995). Zaznamenáno bylo i zvýšení rychlosti odpovědi či posílení pozornosti (Provost & Woodward 1991; Edwards et al. 1985). Jenže dlouhodobým vystavením nikotinu se snižuje citlivost příslušného neurotransmiterového systému. Podrobnější testování proběhlo u zvířat. Ačkoli u primátů byla nikotinová léčba schopná zlepšit jejich výkonnost (Buccafusco & Jackson 2003; Rupniak et al. 1989), tak u hlodavců vykazovala mnoho různorodých výsledků. Důležitou roli má způsob podání tohoto agonisty nAChR do systému. Následkem intraperitoneálního a subkutánního dávkování nikotinu došlo k posílení výkonu pracovní paměti potkanů (Levin & Torry 1996; Taylor et al. 2005), ale po orální a lokální aplikaci byly důsledky spíše nežádoucí (Levin et al. 1994). Pro terapeutické účely je proto nutné používání globálně aktivních agonistů nikotinových receptorů značně zdokonalit.

Nikotin dokáže povzbuzovat kognitivní funkce u starších jedinců (Levin 1996). Nicméně míra zlepšení se odvíjí od velikosti konkrétní dávky a typu prostorové úlohy, v které je jeho účinek testován. K efektivnějším výkonům přispívá v úlohách zaměřených na krátkodobou paměť, na rozdíl od pokusů s referenční pamětí (Taylor et al. 2005). Účinky nikotinu se mohou dotýkat i motorických

schopností (Attawaya et al. 1999), na což je třeba při behaviorálních studiích dávat pozor. Pokud je léčba nikotinem prováděna pouze nárazově, tak nemá takový vliv jako při dlouhodobějším vystavení (7 dní +) (Abdulla et al. 1996; Bernal et al. 1999). Během postupné desenzitizace receptorů, způsobené chronickým příjmem agonisty, slábnou vedlejší motorické účinky (Giniatullin et al. 2005).

Další variantou agonistů nAChR jsou ligandy, které se selektivně váží na specifickou podjednotku receptoru. Příkladem takové látky je SIB-1553A s vazbou na $\beta 4$ podjednotku. Jeho efekt je v některých případech srovnatelný s nikotinem. Například v úloze alternace v T-bludišti, kde byla hodnocena pracovní paměť myši s deficitem indukovanými skopolaminem. Aplikace SIB-1553A zde zlepšila výkon pozorovaných subjektů. Ještě účinněji se však projevila u poruch v důsledku stárání. Schopnosti tohoto agonisty můžeme přirovnat ke klinickým projevům inhibitoru AChE, donepezilu (Bontempi et al. 2003).

Poněkud odlišný způsob jak se vypořádat s paměťovými deficitem nabízí allosterický modulátor $\alpha 7$ nAChR NS1738 nebo dilinoleoylphosphatidylcholin. NS1738 dokáže v přítomnosti ACh umocnit průtok skrz nikotinový receptor a přispět tak k posílení kognitivních procesů (Timmermann et al. 2007; Yaguchi et al. 2009).

6.3. Cholinesterázové inhibitory

Obnovení paměti lze docílit jak zmíněnými selektivními agonisty, tak zabráněním hydrolýzy ACh pomocí ChEI. ChEI jsou už dlouho součástí léčby neurodegenerativních onemocnění a demence. Za tu dobu se nahromadilo obrovské množství dat o jejich působení a vedlejších účincích u lidí i zvířat. Mezi nejčastěji indikované inhibitory patří donepezil (Birks & Harvey 2006), rivastigmin (Birks et al. 2000) a galantamin (Loy & Schneider 2004), ačkoli jejich účinnost je slabá. Neustále se testují nové, potenciálně léčivé látky (př. huperzin A), ale jejich přínos může být zastíněn nežádoucími vedlejšími účinky (takrin). Dalším problémem je aktivace pre- a postsynaptických receptorů zároveň.

Lépe přizpůsobené efektivní dávky donepezilu a rivastigminu snížily vedlejší účinky a v četných experimentech prokázaly prospěšný vliv na prostorovou paměť u zvířecích modelů poruchy cholinergního přenosu. Ale nadměrná cholinergní stimulace může v některých fázích učení naopak uškodit (Beglinger et al. 2005).

ChEI účinně pomáhají v případě existujících cholinergních patologických stavů jako je demence, farmakologickým zásahem vyvolané poškození či omezená funkce zapříčiněná stáráním. Jenomže trvale zvýšená cholinergní aktivita brání konsolidaci paměti, při které je žádoucí nižší úroveň ACh.

7. Studie pomocí mikrodialýzy

Tato metoda nám umožňuje pozorování metabolismu tkání *in situ* a *in vivo*. Prostřednictvím detekce ACh toku v mezibuněčném prostoru byla účast cholinergní transmise v behaviorálních procesech opět potvrzena.

Během prostorových úloh, fáze akvizice uvede do chodu cholinergní projekce vedoucí do hipokampu a pak je možné sledovat uvolňování ACh při plnění úkolu. Když se v jednotlivých oblastech mozku liší míra uvolňování ACh u sledovaných potkanů, může to odpovídat jejich různě zvoleným strategiím (McIntyre et al. 2003).

V hipokampu se nárůst ACh objevil při řešení úkolu spontánní alternace (pracovní paměť), ale i u úlohy preference místa, která je řízena amygdalou a v tomto případě měl jeho vliv negativní dopad na výkon (McIntyre et al. 2002). Tato cholinergní modulace je důležitá pro výboje (*firing*) místových neuronů, průběh učení i dobu po něm (Brazhnik et al. 2003). Po vystavení dosud neznámému prostředí se aktivuje kortikální cholinergní systém, se kterým pravděpodobně souvisí mechanismy vzrušení a selektivní pozornosti (Giovannini et al. 1998). Další pokusy detekovaly uvolňování kortikálního ACh pouze v průběhu využívání pracovní paměti a hipokampálního ACh zejména při úlohách referenční paměti (Hironaka et al. 2001).

U potkanů, kteří strávili 12 dní učení v radiálním bludišti, se každý den během trénování sbírali vzorky dialyzátu z hipokampu. Bylo vyhodnoceno, že po celou dobu uvolňování ACh postupně narůstalo, stejně jako zdokonalování jedince v úloze (Fadda et al. 2000). Což značí určitou závislost.

V experimentech s křížovým bludištěm se sledovala cholinergní změna při přesunu na jinou strategii odpovědi. Potkani nejdříve používali strategii učení na základě místa, ale časem přešli na naučenou odpověď. Během testování se uvolňované množství ACh v hipokampu zvyšovalo a pak se ustálilo na úrovni, na které zůstalo i po změně strategie. Následný přechod k nové odpovědi byl spojen s navýšeným výlevem ACh ve striatu (Chang & Gold 2003). Tento proces může být neurobiologickým znázorněním přesunu od deklarativního k procedurálnímu učení. Ragozzino se domníval, že funkci striatálních cholinergních neuronů můžeme interpretovat jako základ behaviorální flexibility, protože přispívají k inhibici starého vzorce odpovědi (Ragozzino 2003).

Při formování paměti hraje roli prodloužené uvolňování ACh v hipokampu a kortexu, které trvá ještě nějakou dobu po skončení úlohy. V hipokampu odezní dříve než v korových oblastech (Toumane et al. 1988), což odpovídá jeho bifázické funkci. Paměť můžeme povzbudit látkami jako je glukosa a cholin, které podporují výlev ACh v myším hipokampu (Kopf et al. 2001).

8. Závěr

Mnoho experimentů potvrdilo, že zapojení acetylcholinu do procesů prostorové kognice je opravdu nepostradatelné. Cholinergní projekce, spojující řadu důležitých nervových struktur, mají největší koncentraci v oblasti bazálního předního mozku. Zde jsou také patrné největší patologické změny v případě neurodegenerativních onemocnění (AD). Hlavní cholinergní inervace vede do mozkové kůry a hipokampu, který má klíčovou funkci v prostorových úlohách.

O této funkci svědčí, mimo jiné, místně specifické neurony, které zde byly objeveny. Tyto místové buňky jsou pokládány za neurální základ vnitřní reprezentace prostředí. Vyznačují se majoritní spoluúčastí na tvorbě kognitivních map, které pak zvířeti umožňují flexibilní pohyb v prostoru okolo překážky, zkratkou nebo ke skrytým cílům.

Do hipokampu také přichází informace získané akvizicí, které se zde zpracovávají a konsolidují (viz. standardní konsolidační teorie), přičemž výsledky studií vypovídají, že uchování těchto zkonsolidovaných informací má úložiště mimo hipokampus. Zajímavé je, že ačkoli je acetylcholin ve většině procesů žádaný, tak v případě konsolidace má jeho vysoká úroveň negativní dopady. Zjistilo se, že zvýšení jeho hladiny podporuje pozornost na smyslové podněty a kódování nových informací za současného snižování rušivých vlivů zpětné vazby (ze strany již uložených vzpomínek). Můžeme tedy říct, že má bifázickou funkci a jeho vysoká úroveň je nutná hlavně pro počáteční procesy formování paměti. V opačném případě, během klidného bdělého stavu nebo delta spánku, jeho nízká hladina napomáhá konsolidaci vzpomínek.

Rozporuplné výsledky přinesly studie bazo-kortikální dráhy. Například srovnatelné oslabení aktivity AChT vyvolávalo různý stupeň prostorových deficitů, ale v jiných úlohách se zase dle očekávání dařilo zvrátit poškození akvizice působením ACh agonistů.

Účinnost cholinacetylerázových inhibitorů také není taková, jak bychom čekali (a narušuje konsolidaci), i když v případě patologických cholinergních stavů částečně pomáhají.

Každopádně pro dostatečné pochopení procesů souvisejících s tímto neurotransmiterem bude potřeba ještě řadu otázek zodpovědět a vysvětlit dosavadní matoucí výsledky. S důrazem na vyvinutí efektivnějších cholinomimetik.

9. Zdroje

- Abdulla, F. a et al., 1996. Relationship between up-regulation of nicotine binding sites in rat brain and delayed cognitive enhancement observed after chronic or acute nicotinic receptor stimulation. *Psychopharmacology*, 124(4), pp.323–31.
- Aggleton, J.P. et al., 2000. Identifying cortical inputs to the rat hippocampus that subserve allocentric spatial processes : A simple problem with a complex answer. *Hippocampus*, 10(4), pp.466–474.
- Alonso, a & Köhler, C., 1984. A study of the reciprocal connections between the septum and the entorhinal area using anterograde and retrograde axonal transport methods in the rat brain. *The Journal of comparative neurology*, 225(3), pp.327–43.
- Alvarez, P. & Squire, L.R., 1994. Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(15), pp.7041–5.
- Alvernhe, A., Save, E. & Poucet, B., 2011. Local remapping of place cell firing in the Tolman detour task. *The European journal of neuroscience*, 33(9), pp.1696–705.
- Andersen, P. et al., 1979. Septo-hippocampal pathway necessary for dentate theta production. *Brain research*, 165(1), pp.13–22.
- Andrews, J.S. et al., 1994. Effects of disrupting the cholinergic system on short-term spatial memory in rats. *Psychopharmacology*, 115(4), pp.485–94.
- Attaway, C.M., Compton, D.M. & Turnera, M.D., 1999. The Effects of Nicotine on Learning and Memory : A Neuropsychological Assessment in Young and Senescent Fischer 344 Rats. *Physiology & Behavior*, 67(3), pp.421–431.
- Bainbridge, N.K. et al., 2008. Learning and memory impairments in a congenic C57BL/6 strain of mice that lacks the M2 muscarinic acetylcholine receptor subtype. *Behavioural brain research*, 190(1), pp.50–8.
- Ballard, T.M. & McAllister, K.H., 1999. The acetylcholinesterase inhibitor, ENA 713 (Exelon), attenuates the working memory impairment induced by scopolamine in an operant DNMTTP task in rats. *Psychopharmacology*, 146(1), pp.10–8.
- Baxter, M.G. et al., 1995. Selective immunotoxic lesions of basal forebrain cholinergic cells: effects on learning and memory in rats. *Behavioral neuroscience*, 127(5), pp.619–27.
- Beatty, W.W., Butters, N. & Janowsky, D.S., 1986. Patterns of memory failure after scopolamine treatment: implications for cholinergic hypotheses of dementia. *Behavioral and neural biology*, 45(2), pp.196–211.
- Beglinger, L.J. et al., 2005. Neuropsychological test performance in healthy elderly volunteers before and after donepezil administration: a randomized, controlled study. *Journal of clinical psychopharmacology*, 25(2), pp.159–65.
- Berger-Sweeney, J. et al., 1994. Differential effects on spatial navigation of immunotoxin-induced cholinergic lesions of the medial septal area and nucleus basalis magnocellularis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 14(7), pp.4507–19.

- Bernal, M. et al., 1999. Effects of nicotine on spatial learning in C57BL mice. *Behavioural Pharmacology*, 10(3), pp.333–336.
- Birks, J. et al., 2000. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, (4), p.CD001191.
- Birks, J. & Harvey, R.J., 2006. Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, (1), p.CD001190.
- Bizon, J.L. et al., 2003. Effects of hippocampal cholinergic deafferentation on learning strategy selection in a visible platform version of the water maze. *Hippocampus*, 13(6), pp.676–84.
- Bland, B.H. & Oddie, S.D., 1998. Anatomical, Electrophysiological and Pharmacological Studies of Ascending Brainstem Hippocampal Synchronizing Pathways Neuroscience & Biobehavioral Reviews. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 22(2), pp.259–273.
- Bontempi, B. et al., 2003. Cognitive enhancing properties and tolerability of cholinergic agents in mice: A comparative study of nicotine, donepezil, and SIB-1553A, a subtype-selective ligand for nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropsychopharmacology*, 28, pp.1235–1246.
- Bouffard, J.-P. & Jarrard, L.E., 1988. Acquisition of a complex place task in rats with selective ibotenate lesions of hippocampal formation: Combined lesions of subiculum and entorhinal cortex versus hippocampus. *Behavioral Neuroscience*, 102(6), pp.828–834, 995.
- Brandeis, R. et al., 1990. Reversal of age-related cognitive impairments by an M1 cholinergic agonist, AF102B. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 36(1), pp.89–95.
- Brandner, C. & Schenk, F., 1998. Septal lesions impair the acquisition of a cued place navigation task: attentional or memory deficit? *Neurobiology of learning and memory*, 69(2), pp.106–25.
- Brazhnik, E.S., Muller, R.U. & Fox, S.E., 2003. Muscarinic blockade slows and degrades the location-specific firing of hippocampal pyramidal cells. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(2), pp.611–21.
- Brejc, K. et al., 2001. Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature*, 411(6835), pp.269–76.
- Buccafusco, J.J. & Jackson, W.J., 2003. Beneficial effects of nicotine administered prior to a delayed matching-to-sample task in young and aged monkeys. *Neurobiology of Aging*, 12(3), pp.233–238.
- Bunce, J., Sabolek, H., & Chrobak, J., 2003. Intraseptal infusion of oxotremorine impairs memory in a delayed-non-match-to-sample radial maze task. *Neuroscience*, 121(2), pp.259–267.
- Bunce, J.G., Sabolek, H.R. & Chrobak, J.J., 2004. Intraseptal infusion of the cholinergic agonist carbachol impairs delayed-non-match-to-sample radial arm maze performance in the rat. *Hippocampus*, 14(4), pp.450–9.
- Bures, J. et al., 1997. Place cells and place navigation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(1), pp.343–50.
- Buxton, a et al., 1994. Cholinergic agents and delay-dependent performance in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 49(4), pp.1067–73.

- Bymaster, F.P. et al., 1993. Comparative behavioral and neurochemical activities of cholinergic antagonists in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 267(1), pp.16–24.
- Cain, D.P., Ighanian, K. & Boon, F., 2000. Individual and combined manipulation of muscarinic, NMDA, and benzodiazepine receptor activity in the water maze task: implications for a rat model of Alzheimer dementia. *Behavioural brain research*, 111(1-2), pp.125–37.
- Cain, D.P. & Saucier, D., 1996. The neuroscience of spatial navigation: focus on behavior yields advances. *Reviews in the neurosciences*, 7(3), pp.215–31.
- Caulfield, M.P., 1993. Muscarinic receptors--characterization, coupling and function. *Pharmacology & therapeutics*, 58(3), pp.319–79.
- Caulfield, M.P. & Birdsall, N.J., 1998. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacological reviews*, 50(2), pp.279–90.
- Cimadevilla, J.M. et al., 2001. Inactivating one hippocampus impairs avoidance of a stable room-defined place during dissociation of arena cues from room cues by rotation of the arena. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(6), pp.3531–6.
- Cimadevilla, J.M. et al., 2000. Passive and active place avoidance as a tool of spatial memory research in rats. *Journal of neuroscience methods*, 102(2), pp.155–64.
- Connor, D.J., Langlais, P.J. & Thal, L.J., 1991. Behavioral impairments after lesions of the nucleus basalis by ibotenic acid and quisqualic acid. *Brain research*, 555(1), pp.84–90.
- Day, L.B. & Schallert, T., 1996. Anticholinergic effects on acquisition of place learning in the Morris water task: Spatial mapping deficit or inability to inhibit nonplace strategies? *Behavioral Neuroscience*, 110(5), pp.998–1005.
- Decker, M. et al., 1992. Differential-effects of medial septal-lesions on spatial-memory tasks. *Psychobiology*, 20(1), pp.9–17.
- Decker, M.W. et al., 1994. Effects of ABT-418, a novel cholinergic channel ligand, on place learning in septal-lesioned rats. *European journal of pharmacology*, 261(1-2), pp.217–22.
- Deiana, S., Platt, B. & Riedel, G., 2011. The cholinergic system and spatial learning. *Behavioural brain research*, 221(2), pp.389–411.*
- De-Mello, N., Souza-Junior, I.Q. & Carobrez, A.P., 2005. Pilocarpine prevents age-related spatial learning impairments in rats. *Behavioural brain research*, 158(2), pp.263–8.
- Devan, B.D., McDonald, R.J. & White, N.M., 1999. Effects of medial and lateral caudate-putamen lesions on place- and cue-guided behaviors in the water maze: relation to thigmotaxis. *Behavioural brain research*, 100(1-2), pp.5–14.
- Devan, B.D. & White, N.M., 1999. Parallel information processing in the dorsal striatum: relation to hippocampal function. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(7), pp.2789–98.

- Dokla, C.P. & Thal, L.J., 1988. Effect of cholinesterase inhibitors on Morris water task behavior following lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behavioral Neuroscience*, 102(6), pp.861–871.
- Doods, H.N. et al., 1993. Therapeutic potential of CNS-active M2 antagonists: novel structures and pharmacology. *Life sciences*, 52(5-6), pp.497–503.
- Drachman, D.A. & Leavitt, J., 1974. Human Memory and the Cholinergic System A Relationship to Aging. *Arch Neurol.*, 30(2), pp.113–121.
- Dubois, B. et al., 1985. Profound disturbances of spontaneous and learned behaviors following lesions of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. *Brain research*, 338(2), pp.249–58.
- Dunnett, S.B. et al., 1987. Behavioural, biochemical and histochemical effects of different neurotoxic amino acids injected into nucleus basalis magnocellularis of rats. *Neuroscience*, 20(2), pp.653–69.
- Dunnett, S.B., Everitt, B.J. & Robbins, T.W., 1991. The basal forebrain-cortical cholinergic system: interpreting the functional consequences of excitotoxic lesions. *Trends in neurosciences*, 14(11), pp.494–501.
- Edwards, J.A., Wesnes, K. & Warburton, D.M., 1985. Evidence of more rapid stimulus evaluation following cigarette smoking. *Addictive Behaviors*, 10(2), pp.113–126.
- Everitt, B.J. & Robbins, T.W., 1997. Central cholinergic systems and cognition. *Annual review of psychology*, 48(February 1997), pp.649–84.
- Fadda, F., Melis, F. & Stancampiano, R., 2000. Hippocampal acetylcholine release correlates with spatial learning performance in freely moving rats. *Neuroreport.*, 11(10), pp.2265–2269.
- Feasey-Truger, K.J., Li, B.H. & ten Bruggencate, G., 1992. Lesions of the medial septum which produce deficits in working/spatial memory do not impair long-term potentiation in the CA3 region of the rat hippocampus in vivo. *Brain research*, 591(2), pp.296–304.
- Fletcher, B.R. et al., 2007. Selective cholinergic depletion of the hippocampus spares both behaviorally induced Arc transcription and spatial learning and memory. *Hippocampus*, 17(3), pp.227–34.
- Fraser, K. a et al., 1991. Role of the medial and lateral septum in a variable goal spatial problem solving task. *Physiology & behavior*, 50(4), pp.739–44.
- Gallistel, C.R., 1990. *The organization of learning. Learning, development, and conceptual change.*, Cambridge, MA.
- Garcia-Alloza, M. et al., 2006. Effect of selective cholinergic denervation on the serotonergic system: implications for learning and memory. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 65(11), pp.1074–81.
- Giniatullin, R., Nistri, A. & Yakel, J.L., 2005. Desensitization of nicotinic ACh receptors: shaping cholinergic signaling. *Trends in neurosciences*, 28(7), pp.371–8.
- Ginn, S.R. & Peterson, G.M., 1992. Fate of septohippocampal neurons following intracerebroventricular injections of colchicine. *Brain research bulletin*, 29(5), pp.635–42.

- Giovannini, M.G. et al., 1998. Acetylcholine release from the frontal cortex during exploratory activity. *Brain research*, 784(1-2), pp.218–27.
- Givens, B. & Olton, D.S., 1995. Bidirectional Modulation of Scopolamine-Induced Working Memory Impairments by Muscarinic Activation of the Medial Septal Area. *Neurobiology of Learning and Memory*, 63(3), pp.269–276.
- Givens, B. & Olton, D.S., 1994. Local modulation of basal forebrain: effects on working and reference memory. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 14(6), pp.3578–87.
- Givens, B. & Sarter, M., 1997. Modulation of cognitive processes by transsynaptic activation of the basal forebrain. *Behavioural brain research*, 84(1-2), pp.1–22.
- Givens, B.S. & Olton, D.S., 1990. Cholinergic and GABAergic modulation of medial septal area: Effect on working memory. *Behavioral Neuroscience*, 104(6), pp.849–855.
- Goodlett, C.R. et al., 1989. Long-term deficits in water maze spatial conditional alternation performance following retrohippocampal lesions in rats. *Behavioural brain research*, 32(1), pp.63–7.
- Guo, X. & Lester, R. a J., 2007. Regulation of nicotinic acetylcholine receptor desensitization by Ca²⁺. *Journal of neurophysiology*, 97(1), pp.93–101.
- Hafting, T. et al., 2005a. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*, 436(7052), pp.801–6.
- Hafting, T. et al., 2005b. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*, 436(7052), pp.801–6.
- Hagan, J.J. et al., 1992. Behavioural and electrophysiological studies of entorhinal cortex lesions in the rat. *Physiology & Behavior*, 51(2), pp.255–266.
- Hagan, J.J. et al., 1988. Place navigation in rats is impaired by lesions of medial septum and diagonal band but not nucleus basalis magnocellularis. *Behavioural brain research*, 27(1), pp.9–20.
- Han, C.J. et al., 2000. A performance-dependent adjustment of the retention interval in a delayed non-matching-to-position paradigm differentiates effects of amnesic drugs in rats. *European journal of pharmacology*, 403(1-2), pp.87–93.
- Hannila, T., Sirviö, J. & Riekkinen, P.J., 1990. The effect of gamma-vinyl-GABA on the performance of nucleus basalis-lesioned rats in spatial navigation task. *Brain research*, 537(1-2), pp.363–6.
- Hasselmo, M.E. & McGaughy, J., 2004. High acetylcholine levels set circuit dynamics for attention and encoding and low acetylcholine levels set dynamics for consolidation. *Progress in brain research*, 145, pp.207–31.
- Hasselmo, M.E., Schnell, E. & Barkai, E., 1995. Dynamics of learning and recall at excitatory recurrent synapses and cholinergic modulation in rat hippocampal region CA3. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(7 Pt 2), pp.5249–62.
- Herlitze, S. et al., 1996. Modulation of Ca²⁺ channels by G-protein beta gamma subunits. *Nature*, 380(6571), pp.258–62.

- Herrera-Morales, W. et al., 2007. Activation of hippocampal postsynaptic muscarinic receptors is involved in long-term spatial memory formation. *The European journal of neuroscience*, 25(5), pp.1581–8.
- Hironaka, N. et al., 2001. Memory-related acetylcholine efflux from rat prefrontal cortex and hippocampus: a microdialysis study. *Brain research*, 901(1-2), pp.143–50.
- Hodgkin, A.L. & Huxley, A.F., 1952. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation nerve. *J.Physiol*, 117(1), pp.500–544.
- Hogg, R.C., Raggenbass, M. & Bertrand, D., 2003. Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 147, pp.1–46.
- Hubel, D.H., 1959. Single unit activity in striate cortex of unrestrained cats. *J.Physiol*, 147, pp.226–238.
- Hull, C.L., 1934. The concept of the habit-family hierarchy and maze learning: Part I. *Psychological Review*, 41, pp.33–54.
- Chang, Q. & Gold, P.E., 2003. Switching memory systems during learning: changes in patterns of brain acetylcholine release in the hippocampus and striatum in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(7), pp.3001–5.
- Ikonen, S. et al., 2002. Cholinergic system regulation of spatial representation by the hippocampus. *Hippocampus*, 12(3), pp.386–97.
- Janis, L.S. et al., 1998. Intraseptal injections of 192 IgG saporin produce deficits for strategy selection in spatial-memory tasks. *Behavioural brain research*, 90(1), pp.23–34.
- Jarrard, L.E. et al., 1984. On the role of hippocampal connections in the performance of place and cue tasks: Comparisons with damage to hippocampus. , 98(6), p.7044.
- Jarrard, L.E., 1993. On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behavioral and neural biology*, 60(1), pp.9–26.
- Jeffery, K.J. et al., 2004. A proposed architecture for the neural representation of spatial context. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 28(2), pp.201–18.
- Johnson, D. a, Zambon, N.J. & Gibbs, R.B., 2002. Selective lesion of cholinergic neurons in the medial septum by 192 IgG-saporin impairs learning in a delayed matching to position T-maze paradigm. *Brain research*, 943(1), pp.132–41.
- Jones, R.S., 1993. Entorhinal-hippocampal connections: a speculative view of their function. *Trends in neurosciences*, 16(2), pp.58–64.
- Kawaguchi, Y. et al., 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in Neurosciences*, 18(12), pp.527–535.
- Kinoshita, H. et al., 1992. Effects of vinconate on spatial learning impairments induced by medial septal lesion in rats. *Life Sciences*, 51(4), pp.267–273.

- Kitabatake, Y. et al., 2003. Impairment of reward-related learning by cholinergic cell ablation in the striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(13), pp.7965–70.
- Klement, D. et al., 2010. Spatial task for rats testing position recognition of an object displayed on a computer screen. *Behavioural brain research*, 207(2), pp.480–9.
- Klement, D., Blahna, K. & Nekovářová, T., 2008. Novel behavioral tasks for studying spatial cognition in rats. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 57 Suppl 3, pp.S161–5.
- Klement, D., Past'alková, E. & Fenton, A. a, 2005. Tetrodotoxin infusions into the dorsal hippocampus block non-locomotor place recognition. *Hippocampus*, 15(4), pp.460–71.
- Kopf, S.R. et al., 2001. Glucose plus choline improve passive avoidance behaviour and increase hippocampal acetylcholine release in mice. *Neuroscience*, 103(2), pp.365–371.
- Kwo-On-Yuen, P.F. et al., 1990. Tetrahydroaminoacridine improves the spatial acquisition deficit produced by nucleus basalis lesions in rats. *Experimental neurology*, 108(3), pp.221–8.
- Lachowicz, J.E. et al., 2001. Facilitation of acetylcholine release and improvement in cognition by a selective M2 muscarinic antagonist, SCH 72788. *Life sciences*, 68(22-23), pp.2585–92.
- Lapchak, P. a et al., 1989. Binding sites for [3H]AF-DX 116 and effect of AF-DX 116 on endogenous acetylcholine release from rat brain slices. *Brain research*, 496(1-2), pp.285–94.
- Lavenex, P. & Amaral, D.G., 2000. Hippocampal-neocortical interaction: A hierarchy of associativity. *Hippocampus*, 10(4), pp.420–430.
- Lazaris, A. et al., 2003. Intrastratial infusions of methoctramine improve memory in cognitively impaired aged rats. *Neurobiology of Aging*, 24(2), pp.379–383.
- Lehmann, O. & Grottick, A., 2003. A double dissociation between serial reaction time and radial maze performance in rats subjected to 192 IgG- saporin lesions of the nucleus basalis and/or the septal. *European Journal of ...*, pp.651–666.
- Levey, A.I. et al., 1991. Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific antibodies. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 11(10), pp.3218–26.
- Levey, A.I. et al., 1994. Localization of muscarinic M3 receptor protein and M3 receptor binding in rat brain. *Neuroscience*, 63(1), pp.207–221.
- Levin, E.D., 1996. Nicotinic agonist and antagonist effects on memory. *Drug Dev. Res.*, 38, pp.188–195.
- Levin, E.D., 1992. Nicotinic systems and cognitive function. *Psychopharmacology*, 108(4), pp.417–31.
- Levin, E.D. et al., 1994. Working memory performance and cholinergic effects in the ventral tegmental area and substantia nigra. *Brain research*, 657(1-2), pp.165–70.

- Levin, E.D. & Torry, D., 1996. Acute and chronic nicotine effects on working memory in aged rats. *Psychopharmacology*, 123(1), pp.88–97.
- Lipp, H.-P. et al., 2001. A large outdoor radial maze for comparative studies in birds and mammals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(1), pp.83–99.
- LIU, J. et al., 1986. The structures of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity. *CANADIAN JOURNAL OF CHEMISTRY-REVUE CANADIENNE DE CHIMIE*, 64(4), pp.837–839.
- Loy, C. & Schneider, L., 2004. Galantamine for Alzheimer's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, (4), p.CD001747.
- Mandel, R.J., Chen, a D., et al., 1989. Continuous physostigmine infusion in rats with excitotoxic lesions of the nucleus basalis magnocellularis: effects on performance in the water maze task and cortical cholinergic markers. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 251(2), pp.612–9.
- Mandel, R.J., Gage, F.H. & Thal, L.J., 1989. Spatial learning in rats: correlation with cortical choline acetyltransferase and improvement with NGF following NBM damage. *Experimental neurology*, 104(3), pp.208–17.
- Mandel, R.J. & Thal, L.J., 1988. Physostigmine improves water maze performance following nucleus basalis magnocellularis lesions in rats. *Psychopharmacology*, 96(3), pp.421–5.
- Marighetto, a, Micheau, J. & Jaffard, R., 1993. Relationships between testing-induced alterations of hippocampal cholinergic activity and memory performance on two spatial tasks in mice. *Behavioural brain research*, 56(2), pp.133–44.
- Markowska, a L., Olton, D.S. & Givens, B., 1995. Cholinergic manipulations in the medial septal area: age-related effects on working memory and hippocampal electrophysiology. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(3 Pt 1), pp.2063–73.
- Maviel, T. & Durkin, T., 2003. Role of central cholinergic receptor sub-types in spatial working memory: a five-arm maze task in mice provides evidence for a functional role of nicotinic receptors in mediating trace access processes. *Neuroscience*, 120(4), pp.1049–1059.
- McDonald, R.J. & White, N.M., 1993. A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behavioral neuroscience*, 127(6), pp.835–53.
- McIntyre, C.K. et al., 2002. Competition between memory systems: acetylcholine release in the hippocampus correlates negatively with good performance on an amygdala-dependent task. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(3), pp.1171–6.
- McIntyre, C.K., Marriott, L.K. & Gold, P.E., 2003. Patterns of brain acetylcholine release predict individual differences in preferred learning strategies in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 79(2), pp.177–183.
- Mcmahan, R.W. et al., 1997. Selective Immunolesions of Hippocampal Cholinergic Input Fail to Impair Spatial Working Memory. *Hippocampus*, 7, pp.130–136.
- Mesulam, M.M. et al., 1983. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience*, 10(4), pp.1185–201.

- Micheau, J. et al., 2004. Reversible hippocampal inactivation partially dissociates how and where to search in the water maze. *Behavioral neuroscience*, 118(5), pp.1022–32.
- Micheau, J. & Marighetto, A., 2011. Acetylcholine and memory : A long , complex and chaotic but still living relationship Research highlights. *Behavioural Brain Research*, 221(2), pp.424–429.
- Mittelstaedt, M.-L. & Mittelstaedt, H., 1980. Homing by path integration in a mammal. *Naturwissenschaften*, 67(11), pp.566–567.
- Miyamoto, M. et al., 1989. Effects of continuous infusion of cholinergic drugs on memory impairment in rats with basal forebrain lesions. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 248(2), pp.825–35.
- Moghaddam, M. & Bures, J., 1996. Contribution of egocentric spatial memory to place navigation of rats in the Morris water maze. *Behavioural brain research*, 78(2), pp.121–9.
- Monmaur, P. & Breton, P., 1991. Elicitation of hippocampal theta by intraseptal carbachol injection in freely moving rats. *Brain research*, 544(1), pp.150–5.
- Morris, M.K. et al., 1992. Amnesia Following a Discrete Basal Forebrain Lesion. *Brain*, 115(6), pp.1827–1847.
- Morris, R.G. et al., 1982. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297, pp.681–3.
- Morris, R.G.M., 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, 12(2), pp.239–260.
- Moscovitch, M. et al., 2005. Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *Journal of anatomy*, 207(1), pp.35–66.
- Moscovitch, M. et al., 2006. The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Current opinion in neurobiology*, 16(2), pp.179–90.
- Moser, E.I., Kropff, E. & Moser, M.-B., 2008. Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annual review of neuroscience*, 31(July 2008), pp.69–89.
- Nadel, L. & Moscovitch, M., 1997. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current opinion in neurobiology*, 7(2), pp.217–27.
- Nekovářová, T. & Klement, D., 2006. Operant behavior of the rat can be controlled by the configuration of objects in an animated scene displayed on a computer screen. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 55(1), pp.105–13.
- Newhouse, P. a. et al., 1988. Intravenous nicotine in Alzheimer's disease: a pilot study. *Psychopharmacology*, 95(2), p.125.
- Nieto-Escámez, F. a, Sánchez-Santed, F. & de Bruin, J.P.C., 2002. Cholinergic receptor blockade in prefrontal cortex and lesions of the nucleus basalis: implications for allocentric and egocentric spatial memory in rats. *Behavioural brain research*, 134(1-2), pp.93–112.

- Niewiadomska, G., Baksalerska-Pazera, M. & Riedel, G., 2009. The septo-hippocampal system, learning and recovery of function. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 33(5), pp.791–805.
- O’Keefe, J. & Conway, D.H., 1978. Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Experimental brain research*, 31(4), pp.573–90.
- O’Keefe, J. & Dostrovsky, J., 1971. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain research*, 34(1), pp.171–5.
- O’Keefe, J. & Nadel, L.I., 1978. *The hippocampus as a Cognitive Map*, Oxford, Clarendon Press.
- Olton, D.S. & Samuelson, R.J., 1976. Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 2(2), pp.97–116.
- Packard, M.G., 1999. Glutamate infused posttraining into the hippocampus or caudate-putamen differentially strengthens place and response learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(22), pp.12881–6.
- Packard, M.G. & McGaugh, J.L., 1996. Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of learning and memory*, 65(1), pp.65–72.
- Page, K.J. et al., 1991. Dissociable effects on spatial maze and passive avoidance acquisition and retention following AMPA- and ibotenic acid-induced excitotoxic lesions of the basal forebrain in rats: differential dependence on cholinergic neuronal loss. *Neuroscience*, 43(2-3), pp.457–72.
- Parsons, S.M., 2000. Transport mechanisms in acetylcholine and monoamine storage. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14(15), pp.2423–34.
- Pearce, J.M., Roberts, a D. & Good, M., 1998. Hippocampal lesions disrupt navigation based on cognitive maps but not heading vectors. *Nature*, 396(6706), pp.75–7.
- Pepeu, G. et al., 1986. Are the neurochemical and behavioral changes induced by lesions of the nucleus basalis in the rat a model of Alzheimer’s disease? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 10(3-5), pp.541–551.
- Platt, B. & Riedel, G., 2011. The cholinergic system, EEG and sleep. *Behavioural brain research*, 221(2), pp.499–504.
- Provost, S.C. & Woodward, R., 1991. Effects of nicotine gum on repeated administration of the Stroop test. *Psychopharmacology*, 104(4), pp.536–40.
- Quirion, R. et al., 1995. Facilitation of acetylcholine release and cognitive performance by an M(2) - muscarinic receptor antagonist in aged memory - impaired. *The Journal of Neuroscience*, 15(2), pp.1455–1462.
- Quirion, R., Richard, J. & Wilson, A., 1994. Muscarinic and nicotinic modulation of cortical acetylcholine release monitored by in vivo microdialysis in freely moving adult rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, 17(2), pp.92–100.

- Ragozzino, M.E., 2003. Acetylcholine actions in the dorsomedial striatum support the flexible shifting of response patterns. *Neurobiology of learning and memory*, 80(3), pp.257–67.
- Ragozzino, M.E. & Choi, D., 2004. Dynamic changes in acetylcholine output in the medial striatum during place reversal learning. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 11(1), pp.70–7.
- Ragozzino, M.E., Jih, J. & Tzavos, A., 2002. Involvement of the dorsomedial striatum in behavioral flexibility: role of muscarinic cholinergic receptors. *Brain research*, 953(1-2), pp.205–14.
- Riedel, G. et al., 1999. Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nature neuroscience*, 2(10), pp.898–905.
- Riekkinen, P., Kuitunen, J. & Riekkinen, M., 1995. Effects of scopolamine infusions into the anterior and posterior cingulate on passive avoidance and water maze navigation. *Brain research*, 685(1-2), pp.46–54.
- Role, L.W. & Berg, D.K., 1996. Nicotinic receptors in the Development and Modulation of CNS Synapses. *Neuron*, 16, pp.1077–1085.
- Rowe, W.B. et al., 2003. Long-term effects of BIBN-99, a selective muscarinic M2 receptor antagonist, on improving spatial memory performance in aged cognitively impaired rats. *Behavioural brain research*, 145(1-2), pp.171–8.
- Rupniak, N.M. et al., 1989. Comparison of the effects of four cholinomimetic agents on cognition in primates following disruption by scopolamine or by lists of objects. *Psychopharmacology*, 99(2), pp.189–95.
- Rusted, J., Graupner, L. & Warburton, D., 1995. Effects of post-trial administration of nicotine on human memory: evaluating the conditions for improving memory. *Psychopharmacology*, 119(4), pp.405–13.
- Salamone, J.D., 1986. Behavioural functions of nucleus basalis magnocellularis and its relationship to dementia. *Trends in Neurosciences*, 9, pp.256–258.
- Sargolini, F. et al., 2006. Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex. *Science (New York, N.Y.)*, 312(5774), pp.758–62.
- Seeger, T. et al., 2004. M2 muscarinic acetylcholine receptor knock-out mice show deficits in behavioral flexibility, working memory, and hippocampal plasticity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(45), pp.10117–27.
- Shannon, H.E. et al., 1990. Interactions between scopolamine and muscarinic cholinergic agonists or cholinesterase inhibitors on spatial alternation performance in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 255(3), pp.1071–7.
- Shen, J. et al., 1996. Differential effects of selective immunotoxic lesions of medial septal cholinergic cells on spatial working and reference memory. *Behavioral Neuroscience*, 110(5), pp.1181–1186.
- Schliebs, R. & Arendt, T., 2011. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural brain research*, 221(2), pp.555–63.

- Smythe, J.W. et al., 1996. Muscarinic antagonists are anxiogenic in rats tested in the. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54(1), pp.57–63.
- Solstad, T. et al., 2008. Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science (New York, N.Y.)*, 322(5909), pp.1865–8.
- Squire, L.R., 1992. Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99(2), pp.195–231.
- Van der Staay, F.J. et al., 2006. Long-term effects of immunotoxic cholinergic lesions in the septum on acquisition of the cone-field task and noncognitive measures in rats. *Hippocampus*, 16(12), pp.1061–79.
- Stillman, M.J. et al., 1996. Effects of M2 antagonists on in vivo hippocampal acetylcholine levels. *Brain Research Bulletin*, 41(4), pp.221–226.
- Stuchlík, A., Fenton, A.A. & Bureš, J., 2001. Substratal idiothetic navigation of rats is impaired by removal or devaluation of extramaze and intramaze cues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(6), pp.3537–42.
- Sutherland, R.J. et al., 1989. Damage to the hippocampal formation in rats selectively impairs the ability to learn cue relationships. *Behavioral and neural biology*, 52(3), pp.331–56.
- Sutherland, R.J., Whishaw, I.Q. & Regehr, J.C., 1982. Cholinergic receptor blockade impairs spatial localization by use of distal cues in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 96(4), pp.563–573.
- Taube, J.S., Muller, R.U. & Ranck, J.B., 1990a. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 10(2), pp.420–35.
- Taube, J.S., Muller, R.U. & Ranck, J.B., 1990b. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. II. Effects of environmental manipulations. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 10(2), pp.436–47.
- Taylor, G.T., Bassi, C.J. & Weiss, J., 2005. Limits of learning enhancements with nicotine in old male rats. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 65(2), pp.125–36.
- Telenský, P. et al., 2009. Enemy avoidance task: a novel behavioral paradigm for assessing spatial avoidance of a moving subject. *Journal of neuroscience methods*, 180(1), pp.29–33.
- Timmermann, D.B. et al., 2007. An allosteric modulator of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor possessing cognition-enhancing properties in vivo. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 323(1), pp.294–307.
- Tolman, E.C., 1948. Cognitive maps in rats and men. *Psychological review*, 55(4), pp.189–208.
- Torres, E.M. et al., 1994. Behavioural, histochemical and biochemical consequences of selective immunolesions in discrete regions of the basal forebrain cholinergic system. *Neuroscience*, 63(1), pp.95–122.

- Toumane, A. et al., 1988. Differential hippocampal and cortical cholinergic activation during the acquisition, retention, reversal and extinction of a spatial discrimination in an 8-arm radial maze by mice. *Behavioural brain research*, 30(3), pp.225–34.
- Unwin, N. et al., 2002. Activation of the nicotinic acetylcholine receptor involves a switch in conformation of the alpha subunits. *Journal of molecular biology*, 319(5), pp.1165–76.
- Unwin, N., 2005. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4Å resolution. *Journal of molecular biology*, 346(4), pp.967–89.
- Vanover, K.E., Veinbergs, I. & Davis, R.E., 2008. Antipsychotic-like behavioral effects and cognitive enhancement by a potent and selective muscarinic M-sub-1 receptor agonist, AC-260584. *Behavioral neuroscience*, 122(3), pp.570–5.
- Vuckovich, J. a, Semel, M.E. & Baxter, M.G., 2004. Extensive lesions of cholinergic basal forebrain neurons do not impair spatial working memory. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 11(1), pp.87–94.
- Wallace, D.G., Martin, M.M. & Winter, S.S., 2008. Fractionating dead reckoning: role of the compass, odometer, logbook, and home base establishment in spatial orientation. *Die Naturwissenschaften*, 95(11), pp.1011–26.
- Walsh, T.J. et al., 1996. Injection of IgG 192-saporin into the medial septum produces cholinergic hypofunction and dose-dependent working memory deficits. *Brain research*, 726(1-2), pp.69–79.
- Wenk, G.L., 1997. The nucleus basalis magnocellularis cholinergic system: one hundred years of progress. *Neurobiology of learning and memory*, 67(2), pp.85–95.
- Wevers, A., 2011. Localisation of pre- and postsynaptic cholinergic markers in the human brain. *Behavioural brain research*, 221(2), pp.341–55.
- Whishaw, I.Q., 1985. Cholinergic receptor blockade in the rat impairs locale but not taxon strategies for place navigation in a swimming pool. *Behavioral Neuroscience*, 99(5), pp.979–1005.
- Whishaw, I.Q. et al., 1987. Impairments in the acquisition, retention and selection of spatial navigation strategies after medial caudate-putamen lesions in rats. *Behavioural brain research*, 24(2), pp.125–38.
- Whishaw, I.Q., Cassel, J.C. & Jarrad, L.E., 1995. Rats with fimbria-fornix lesions display a place response in a swimming pool: a dissociation between getting there and knowing where. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(8), pp.5779–88.
- Witter, M.P. et al., 2000. Cortico-Hippocampal Communication by Way of Parallel Parahippocampal-Subicular Pathways. *Hippocampus*, 10(4), pp.398–410.
- Yaguchi, T., Nagata, T. & Nishizaki, T., 2009. Dilinoleoylphosphatidylcholine ameliorates scopolamine-induced impairment of spatial learning and memory by targeting alpha7 nicotinic ACh receptors. *Life sciences*, 84(9-10), pp.263–6.
- Yasuda, R.P. et al., 1993. Development of antisera selective for m4 and m5 muscarinic cholinergic receptors: distribution of m4 and m5 receptors in rat brain. *Molecular pharmacology*, 43(2), pp.149–57.

