

Katedra fyziologie živočichů

Přírodovědecká fakulta  
Univerzity Karlovy



# **Vliv léze prefrontální a posteriorní parietální kůry na chování v testech prostorové kognice**

Diplomová práce

**Martin Vodička**

Školitel: Mgr. Petr Telenský

Praha 2011

**Prohlášení:**

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

Dne 26. srpna 2011

Martin Vodička

## **Poděkování**

Chtěl bych poděkovat především svému školiteli Mgr. Petru Telenskému za odborné vedení, trpělivost a pochopení. Dále bych chtěl poděkovat všem, kteří mi při práci pomohli, ať již dobrou radou či povzbuzením.

## **Abstrakt**

### **Vliv léze prefrontální a posteriorní parietální kůry na chování v testech prostorové kognice**

V této práci jsme testovali vliv léze prefrontální kůry a vliv léze posteriorní parietální kůry na chování a navigaci potkana.

Mediální prefrontální kůra je dáována do souvislosti s pracovní pamětí, behaviorální flexibilitou a kódováním prostorového cíle. Potkany jsme testovali v kolotočovém bludišti na přeučování pozice zakázaného sektoru a následně jsme je testovali v úloze vyhýbání se rámci arény za tmy.

Zjistili jsme, že potkani s lézí mediální prefrontální kůry v testu na přeučování zhoršení nebyli, byli ale zhoršení v samotném učení úlohy. V testu na rámec arény se nelišili od kontrol.

Posteriorní parietální kůra hraje roli v procesech pozornosti a podílí se na zpracování prostorové informace a dlouhodobé paměti.

Potkany s bilaterální lézí posteriorní parietální kůry jsme testovali řadou testů na kolotočové aréně (přeučování, dvojité vyhýbání) a v Morrisově vodním bludišti (klasická verze se vzdálenými orientačními body a modifikovaná verze s orientačními body uvnitř arény).

Potkani s lézí posteriorní parietální kůry byli v úlohách na kolotočovém bludišti zhoršení při přeučování na rámec arény. Tento trend se potvrdil i v úloze dvojitého vyhýbání, kdy měli více vstupů do sektoru definovaného rámcem arény. V úloze Morrisova vodního bludiště byli zhoršení v testu s orientačními body uvnitř bazénu.

**Klíčová slova:** neokortex, posteriorní parietální kůra, prefrontální kůra, navigace, prostorová orientace, kolotočové bludiště, Morrisovo vodní bludiště, potkan



## **Abstract**

### **The effect of prefrontal and posterior parietal lesion on behavior in behavioral tests of spatial cognition**

In this thesis we examined the effect of prefrontal and posterior parietal cortex lesions on rat behavior.

Medial prefrontal cortex is involved in working memory, behavioral flexibility and coding of spatial goals. Rats were tested in carousel maze in room frame reversal task and consequently in arena frame task on dark arena.

We observed, that the lesion of medial prefrontal cortex did not disrupt the reversal learning task, but the rats were impaired in initial learning of the task. No difference was found in arena frame task.

Posterior parietal cortex has a role in attention processes and takes part in processing spatial information and long term memory.

Rats with bilateral lesion of posterior parietal cortex were tested in battery of tests on carousel maze (reversal learning, double avoidance) and in Morris water maze (distal landmark version and modified version with intramaze landmarks).

Lesioned animals were impaired in carousel maze task in reversal learning of room frame representation. This effect was confirmed in double avoidance task, where lesioned animals had more entrances into room frame than the controls. In Morris water maze task, lesioned animals were impaired in intramaze landmark version.

Keywords: neocortex, posterior parietal cortex, prefrontal cortex, navigation, spatial orientation, carousel maze, Morris water maze, rat

# OBSAH

Seznam zkratk	8
Obsah	6
1. ÚVOD	9
2. SHRNU TÍ DOSAVADNÍCH POZNATKŮ	10
2.1. Posteriorní parietální kůra (PPC)	10
2.1.1. Konektivita a definice PPC	10
2.1.1.1. Obecná definice PPC a homologie napříč druhy	10
2.1.1.2. Cytoarchitektonické a myeloarchitektonické vymezení PPC u potkana	11
2.1.1.3. Vymezení PPC na základě konektivity	11
2.1.2. Role PPC při udržení pozornosti	12
2.1.2.1. Neglekt- příklad deficitu prostorové pozornosti	12
2.1.2.2. Neurální okruhy související s pozorností u potkana, model neglektu	13
2.1.2.3. Význam cholinergních projekcí pro pozornost	15
2.1.2.4. Funkce PPC v dalších testech pozornosti	16
2.1.3. Role PPC v prostorové navigaci	16
2.1.3.1. Balintův syndrom jako příklad prostorového deficitu u člověka	16
2.1.3.2. Potkani s lézí PPC v testech idiotické navigace	17
2.1.3.3. Potkani s lézí PPC v testech allotické navigace	17
2.1.4. PPC a paměť	19
2.1.4.1. Role PPC v dlouhodobé paměti	19
2.1.4.2. Role PPC v pracovní paměti	20
2.1.4.3. Elektrofyziologické studie a PPC	20
2.2. Prefrontální kůra (PFC)	23
2.2.1. Úvod k PFC	23
2.2.2. Definice PFC pomocí konektivity, homologie	25
2.2.3. Význam PFC pro behaviorální flexibilitu	26
2.2.4. Úloha PFC v pracovní paměti	27
2.2.5. Význam PFC pro prostorovou navigaci	28
3. CÍLE PRÁCE	30
4. MATERIÁL A METODIKA	31
4.1. Použitá zvířata	31
4.2. Popis operačních výkonů	31
4.2.1. Ablace posteriorní parietální kůry termokoagulací	31
4.2.2. Excitotoxická léze prefrontální kůry	32
4.3. Aparatura pro behaviorální experimenty	33
4.3.1. Kolotočové bludiště	33
4.3.1.1. Aparatura kolotočového bludiště	33
4.3.1.2. Habitua ce na kolotočovém bludišti	34
4.3.1.3. Úlohy v kolotočovém bludišti	35
4.3.1.3.1. Vyhýbání se zakázanému sektoru v rámci místnosti (RM)	35
4.3.1.3.2. Vyhýbání se zakázanému sektoru v rámci arény (RA)	35
4.3.2. Aparatura Morrisova vodního bludiště	36
4.4. Behaviorální experimenty	37
4.4.1. Experiment I	37
4.4.1.1. Experiment Ia	37
4.4.1.2. Experiment Ib	37
4.4.1.3. Experiment Ic	37

4.4.2. Experiment II .....	38
4.4.2.1. Experiment IIa.....	38
4.4.2.2. Experiment IIb .....	38
4.4.3. Experiment III .....	39
4.4.4. Experiment IV .....	40
4.4.5. Schéma experimentů .....	40
4.5. Statistika a analýza dat.....	41
4.6. Histologie.....	42
4.6.1. Usmrcení zvířat .....	42
4.6.2. Způsob vytvoření řezů, barvení.....	42
5. VÝSLEDKY .....	43
5.1. Experiment I.....	43
5.1.1. Experiment Ia .....	43
5.1.2. Experiment Ib.....	45
5.1.3. Experiment Ic .....	47
5.2. Experiment II .....	49
5.2.1. Experiment IIa.....	49
5.2.2. Experiment IIb .....	50
5.3. Experiment III.....	51
5.4. Experiment IV.....	54
5.5. Histologie.....	57
6. DISKUSE .....	58
6.1. Parietální léze.....	58
6.2. Prefrontální léze .....	61
7. ZÁVĚR.....	62
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	63

## **SEZNAM ZKRATEK**

### **Anatomické zkratky**

(vm)SNr – (ventromediální část) substantia nigra  
AC – anteriorní cingulum  
Agm – Agranulární mediální kůra  
Aip-posteriorní agranulární insulární oblast  
AM - Anteromediální kortex  
AO-přední čichové jádro  
DGL – Dorzální genikulární jádro  
DCS – dorsocentrální striatum  
Ent-entorhinální oblast  
FL-oblast přední končetiny  
Fr1/3-frontální oblasti 1 a 3  
Hip-hipokampus  
HL-oblast zadní končetiny  
IL – infralimbická oblast  
LD – laterodorsální jádro thalamu  
LP - laterální posteriorní jádro thalamu  
ISColli – laterální část colliculu superior  
MD – mediodorsální jádro thalamu  
MDI – laterální podjádro mediodorsálního jádra thalamu  
mPFC – mediální prefrontální kůra  
mSColli – mediální část colliculu superior  
MVB – Morrisovo vodní bludiště  
Oc1-primární zrakový kortex  
Oc2L – sekundární laterální zraková oblast 2  
Oc2M – sekundární mediální zraková oblast 2  
Par 1(dysgr)-dysgranulární část parietální kůry  
Par 2-Parietální kůra, oblast 2  
PFC – prefrontální kůra  
Pir-prepiriformní kortex  
PL – paralimbická oblast  
PPC – posteriorní parietální kůra  
RSA-agranulární retrosplenální kortex  
RSG-granulární retrosplenální kortex  
Te2 - oblast 2 temporálního kortexu  
VAL - ventrálně anteriorní jádro thalamu  
VB – ventrobazální jádro thalamu

### **Zkratky využité v experimentální části**

AAPA - aktivní allostetické vyhýbání se místu (Active Allothetic Place Avoidance)  
DV – úloha dvojitého vyhýbání (Double Avoidance)  
MVB – Morrisovo vodní bludiště (Morris Water Maze)  
RA – zakázaný sektor definovaný rámcem arény (arena frame)  
RM – zakázaný sektor definovaný rámcem místnosti (room frame)  
NMDA – N-metyl-D-aspartát

# 1. ÚVOD

Hlavním tématem této diplomové práce je role dvou asociačních oblastí neokortexu posteriorní parietální a prefrontální kůry a důsledky jejich léze na chování potkana v testech prostorové kognice.

Asociační oblasti byly dříve nazývány „tiché“, protože elektrické dráždění těchto oblastí nevyvolávalo motorickou, ani senzoryckou odpověď. Dnes víme, že ačkoliv nemají přímou motorickou či senzoryckou funkci, probíhají v těchto oblastech důležité jevy jako vyhodnocování senzoryckých stimulů, zpracovávání a integrace multisenzorycké informace. Obě oblasti se podílejí na zpracování prostorové informace a jsou dávány do souvislosti s pamětí, pozorností a vyhodnocováním motivačních aspektů.

Ve své práci jsem se snažil zjistit, jak léze posteriorní parietální a mediální prefrontální kůry ovlivní navigaci, učení a paměť potkanů. Testy probíhaly převážně v kolotočovém bludišti a menší část také v Morrisově vodním bludišti.

Rotace arény v kolotočovém bludišti umožňuje oddělit orientační rámec místnosti od orientačního rámce daného vnitřním prostorem arény. To nám umožňuje sledovat, kdy a jaký rámec potkan preferuje. V kombinaci s přeučováním (v okamžiku, kdy se potkan naučí jednu úlohu, je úloha pozměněna tak, že se potkan musí učit znovu) nám umožňuje dosáhnout různou obtížnost úloh.

Morrisovo vodní bludiště jsme využili jako referenční test pro ověření výsledků získaných na kolotočové aréně.

Experimenty byly prováděny na potkanech, proto jsem se i v literárním přehledu zaměřil na funkce posteriorní parietální kůry a prefrontální kůry převážně u potkana, v souvislosti s charakteristickými vlastnostmi těchto oblastí u člověka a primátů.

## 2. SHRUTÍ DOSAVADNÍCH POZNATKŮ

### 2.1. POSTERIORNÍ PARIETÁLNÍ KŮRA (PPC)

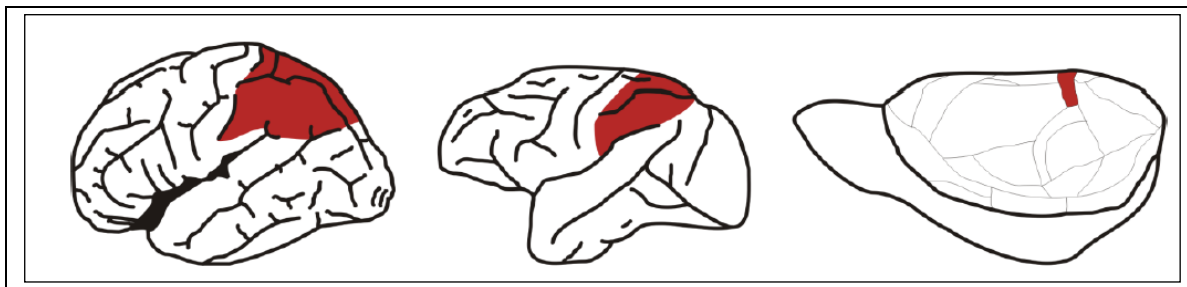
#### 2.1.1. Konektivita a definice PPC

##### 2.1.1.1. Obecná definice PPC a homologie napříč druhy

Posteriórní parietální kůra (PPC) patří mezi asociační oblasti a je u člověka a primátů definována v okolí sulcus intraparietalis, kdy pokrývá Brodmanovi oblasti 5 a 7 (Husain a Nachev, 2007). Důsledky jejího vyřazení jsou snadno rozpoznatelné a exaktně popsané. V případě unilaterálního poškození můžeme pozorovat syndrom opomíjení, při oboustranné lézi PPC u člověka se projeví Balintův syndrom (Kerkhoff, 2001).

Pokrok ve studiu asociačních oblastí u druhů nepříbuzných primátům byl pomalý zejména ze dvou důvodů: Zaprvé proto, že u lidského mozku zabírají asociační oblasti poměrně velký prostor. Předpokládalo se, že jsou klíčové pro vyšší kognitivní funkce charakteristické pro člověka a na základě tohoto paradigmatu se existence těchto oblastí u jiných druhů zdála nepravděpodobná.

Za druhé, ukázalo se, že je obtížné asociační oblasti přesněji definovat. Tento problém se podařilo překlenout až kombinací cytoarchitektonických kritérií s charakteristickým vzorcem propojení s korovými i podkorovými strukturami (Kolb a Walkey, 1987) viz kap 2.1.1.2



Obrázek 1. Srovnání velikostí PPC (červeně) v poměru k velikosti neokortexu u člověka (vlevo), makaka (uprostřed) a potkana (vpravo).

### **2.1.1.2. Cytoarchitektonické a myeloarchitektonické vymezení PPC u potkana**

Za strukturu, která by mohla odpovídat lidské PPC byla zpočátku považována oblast 7, definovaná Kriegem (1946). U potkana ji rostrálně ohraničuje primární somatosenzorická kůra, kaudálně kůra zraková. Krieg (1946) cytoarchitektonicky popisuje tuto oblast jako mnohem tenčí, oproti somatosenzorické kůře, zejména díky výraznému ztenčení a zhuštění lamin II. a III., lamina IV je také ztenčena, ale stále jí lze rozeznat jako samostatnou vrstvu. Myeloarchitektonicky má oblast 7 méně vláken, než somatosenzorická kůra. Na hranici se zrakovou kůrou dokonce popisuje úplnou absenci vláken.

Velkým přínosem k uznání PPC jako samostatného okrsku kůry byla práce Kolb a Walkey (1987), kteří provedli řadu anatomických a behaviorálních experimentů zaměřených na oblast kůry známou jako „area 7“. Kolb podporuje Kriegem popsanou cytoarchitektonickou stavbu, ačkoliv přiznává, že v materiálu barveném podle Nissla jsou rozdíly mezi posteriorní parietální a sekundární zrakovou kůrou velmi těžko rozlišitelné, preparáty barvené na myelin však dle něj dávají za pravdu Kriegovi. Naproti tomu Zilles (1985) ve svém atlasu mozkové kůry oblast nyní označovanou jako PPC zahrnuje pod sekundární zrakové oblasti, i když připouští, že samostatná PPC může být rozpoznatelná.

### **2.1.1.3. Vymezení PPC na základě konektivity**

Omezení plynoucí z využití cytoarchitektonických kritérií, lze překlenout pomocí porovnání vzorců zapojení jednotlivých oblastí. A to jak thalamo-kortikálních, tak kortiko-kortikálních spojů. Pomocí retrográdního značení axonů Kolb a Walkey (1987) zjistili, že PPC dostává vstupy z thalamických jader: laterodorsálního (LD) a laterálního posteriorního (LP) jádra. Bez vstupů ze somatosenzorického ventrobazálního (VB) jádra, či zrakového dorsálního genikulárního jádra (DGL).

Stejným schématem zapojení je definována i PPC u člověka a primátů, s tím rozdílem, že za majoritní zdroj vstupních vláken pro PPC z thalamu je považován pulvinar (Schmahmann & Pandya, 1990). Ačkoliv se u potkanů pulvinar nevyskytuje, lze toto schéma zapojení přijmout, protože LP jádro thalamu je považováno za homologní k pulvinaru u druhů, které ho nemají (Harting, a kol., 1972).

Chandler a kol. (1992) potvrdili pomocí injekcí retrográdních tracerů, že vstupy do PPC u potkana opravdu přicházejí z LD a LP a zároveň nepřicházejí z VB, či DGL. Naproti tomu, rostrálně přiléhající somatosenzorická kůra sice také dostává vstupy z LD a LP, ale také i z VB. Naopak kaudálně sousedící sekundární zrakové oblasti Oc2L a Oc2M, dostávají kromě

LD a LP i vstupy z DGL. Mediálně hraničí PPC s retrosplenální kůrou, která má také některé vstupy z LD a LP, ale hlavní podíl vstupů dostává z anteriorních jader thalamu. Laterálně se nalézá somatosensorická oblast (Par1), která má hlavní část vstupů z VB, navíc je dobře odlišitelná i na základě cytoarchitektonických kritérií. Na základě výše popsaných odlišností od přiléhajících struktur je PPC jasně definována a v současnosti panuje shoda v tom, že se za PPC u potkana považuje oblast asi 3,5-4,5 mm kaudálně od bregmy a 1,5-5 mm laterálně od střední čáry (Reep a kol., 1994).

### **2.1.2. Role PPC při udržení pozornosti**

Pozornost představuje soubor kognitivních schopností, umožňující aby se živý organismus vyrovnal s množstvím informací přicházejících do sensorického systému a aby tyto informace využil k cílenému nebo adaptivnímu chování. Popisuje se několik typů pozornosti. Selektivní pozornost umožňuje filtrovat relevantní a nerelevantní podněty. Rozdělená pozornost umožňuje zvládat více úloh najednou. Důležitá je také schopnost přesunout pozornost a díky tomu si vybrat mezi podněty. V neposlední řadě je důležitá schopnost udržet pozornost potřebnou k vyřešení úlohy.

#### **2.1.2.1. Neglekt - příklad deficitu prostorové pozornosti**

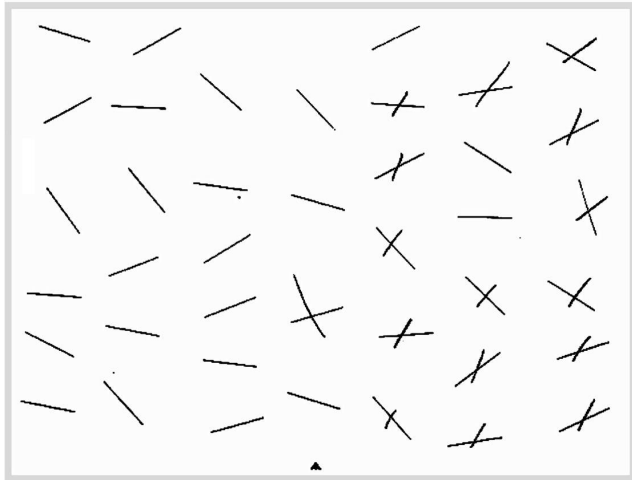
Syndrom opomíjení (neglekt), vzniká u člověka v akutní fázi po prodělané mozkové mrtvici, je-li jednostranně poškozena PPC. Pokud je ložisko poškození vlevo, projeví se neglekt u 33% pacientů, je-li poškozena PPC na pravé straně, syndromem opomíjení trpí více než 50% pacientů (Stone a kol., 1991). Syndrom je popisován jako neschopnost reagovat, popisovat nebo se orientovat na podněty přicházející ze strany kontralaterální vůči poškozené, bez poškození intelektuálních schopností, nebo primárního zrakového, či motorického deficitu (Kerkhoff, 2001).

PPC však není jedinou oblastí, při jejímž poškození je pozorován neglekt. Ten vzniká také při jednostranném poškození dorsolaterální kůry, nebo cingula (Heilman a kol. 1993; Ogden, 1985; Reep a Corwin 2008), posteriorního thalamu (Posner, 1994), či bazálních ganglií (Damasio a kol., 1980; Karnath a kol., 2002) a je popisován i u pacientů s přerušenými vlákny spojujícími frontální a parietální kortex.

Neglekt, jako příklad pozornostního deficitu, názorně demonstruje složitost okruhu zapojeného do procesů spojených s udržením pozornosti



Že můžeme chápat neglekt jako pozornostní deficit, ukazuje studie, ve které Voeller a Heilman (1988) pozorovali, že děti se syndromem pozornostního deficitu (ADHD), mají v některých prostorových testech stejné výsledky jako pacienti s neglektem.



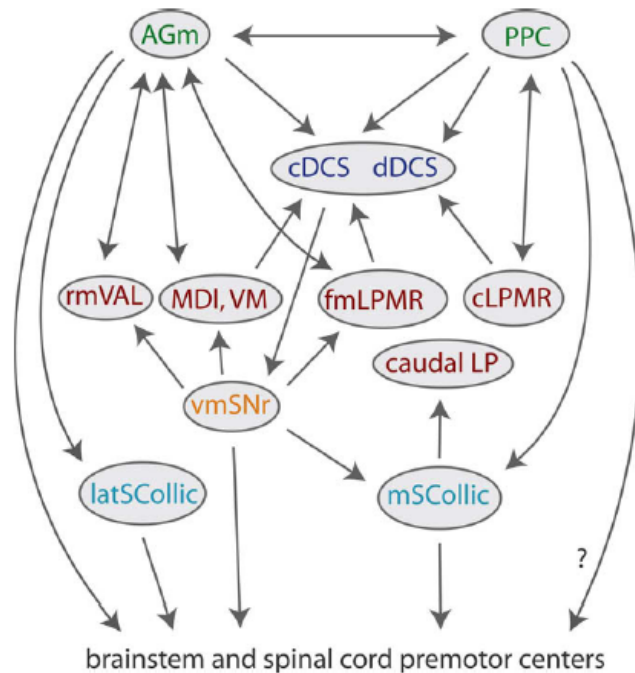
**Obrázek 2: Typický výsledek práce pacienta trpícího (levostranným) neglektem. Je-li požádán, aby přeškrtnul všechny čárky, jeho pozornost se zaměří pouze na pravou polovinu a levou zcela opomene. (zdroj obrázku: <http://www.mrc-cbu.cam.ac.uk/research/rehabilitation/linecan.jpg>)**

Nedávná studie ukázala, že pacienti s levostranným neglektem mají problém odtrhnout pozornost od pravostranného zorného pole. V testu měli pacienti za úkol rovnoměrně umístit 120 bodů na počítačovou obrazovku. Test probíhal za dvou podmínek, se zpětnou vazbou (kdy pacienti viděli, kam body umisťují) a bez ní. Při přítomnosti zpětné vazby pacienti s neglektem umístiti několik prvních bodů vpravo a ty natolik zaměstnávali jejich pozornost, že většinu dalších bodů umístiti také doprava. Naproti tomu bez možnosti zpětné vazby umísťovali body mnohem rovnoměrněji (Schnider a kol., 2011).

#### **2.1.2.2. Neurální okruhy související s pozorností u potkana, model neglektu**

U potkana je do okruhu pozornosti zahrnuta zejména agranulární mediální kůra (AGm), PPC, dorsocentrální striatum (DCS) a lateroposteriorní jádro thalamu (LP). AGm dostává signály z mediodorsálního, ventrálního laterálního a laterálního posteriovního jádra thalamu a je zdrojem kortikospinálních projekcí a podílí se na koordinaci pohybů hlavy, krku a hmatových fousků. PPC přijímá thalamické vstupy z laterálního dorsálního a laterálního posteriovního jádra. Neurony v PPC odpovídají na vizuální a hmatové stimuly. AGm i PPC jsou hojně propojeny s dalšími korovými oblastmi (Reep, 2009; viz obr 3.).

Corwin a Reep (2004) popisují model neglektu u potkana, docílený poškozením výše uvedených struktur. Dle jejich zjištění se behaviorální projevy neglektu u potkana neliší od těch u člověka a zahrnují: kontralaterální opomíjení zrakových, sluchových i hmatových stimulů, vnímání bolestivých stimulů na jiném místě (allestézie), mimovolné pohyby (alokineze) a poruchy prostorové koordinace (Corwin a Reep 1998; King a Corwin, 1992).



**Obrázek 3:** zapojení korových a podkorových struktur podílejících se na řízení pozornosti. Podle Reep a Corwin (2009); Korové oblasti (zeleně): Agm – agranulární mediální kůra; PPC – posteriorní parietální kůra; Dorsocentrální striatum (modře): DCS – dorsocentrální striatum; Jádra thalamu (červeně): VAL - ventrálně anteriorní - ventrálně laterální skupina jader; MDI – laterální podjádro mediodorsálního jádra; VM – ventromediální jádro; LP – laterální posteriorní jádro thalamu; vmSNr – ventromediální část substantia nigra (oranžové); a mediální mSCollic a laterální lSCollic jádra colliculu superior (světle modře)

Tento model například umožnil studovat specifické části neurálních okruhů a jejich interakce. Předpokládalo se, že prefrontální a parietální oblasti pracují u člověka společně, jako integrovaný okruh pro řízenou pozornost (Heilman et al., 1993). Spojení mezi prefrontální a parietální oblastí vedou u primátů v bílé hmotě a proto jsou nedostupné pro experimentální manipulaci. U potkana však tyto axony vedou skrze šedou hmotu, odděleně od ostatních axonů (Vandeveldel a kol., 1996). To umožnilo provést pokusy se specifickým protětním těchto drah. Ukázalo se, že samotné přerušení této dráhy stačí k vyvolání neglektu (Burcham a kol., 1997). To podle Reepa a Corwina (2009) podporuje hypotézu, že prefrontální kůra a PPC tvoří funkční celek podílející se na prostorové pozornosti a prostorovém učení.

Zdá se však, že unilaterální poškození PPC potkana neglekt nevyvolá. Crowne a kol. (1986) sice zjistili, že při unilaterální aspirační lézi, v kaudální oblasti kůry, pokusná zvířata projevila příznaky neglektu. Poškození kůry však zasahovalo i do sousedních oblastí, zejména

do oblasti frontální a somatosenzorické pro přední i zadní končetinu. Navíc poškození nepokrývalo rostrální část PPC, tak jak byla definována Reepem (1994). King a Corwin (1992), také pozorovali neglekt u potkana, ale i jejich léze, ačkoliv byla přesnější, také přesahovala do sousedních oblastí. Pokud byla léze provedena tak, že poškození odpovídalo pouze PPC, neglekt nebyl pozorován (Ward a Brown, 1997).

### **2.1.2.3. Význam cholinergních projekcí pro pozornost**

Velký význam v řízení pozornosti se přikládá cholinergním projekcím ze substantia innominata/nucleus basalis. Bylo zjištěno, že cholinergní vlákna hrají důležitou roli při změnách pozornosti vyvolaných překvapením.

Selektivní vyřazení cholinergních vláken použitím 192IgG-saporinu<sup>1</sup> blokuje normální změny v pozornosti spojené s překvapivým podnětem (Bucci a kol., 1998). V následné studii Bucci a MacLeod (2007) popisují, že pokud je porušena následnost podmíněného a nepodmíněného stimulu, vede to ke zvýšení pozornosti. V PPC u potkana došlo ke zvýšení markeru neuronální aktivity, exprese časného genu c-fos.

V jiné studii se ukázalo, že odstranění cholinergní aferentace do PPC poškodilo zesílení učení, způsobené překvapením („Surprise-induced enhancement“), avšak nemělo vliv na výkon stejných potkanů v testu pozornosti (Maddux a kol., 2007).

Vyřazení cholinergních vláken do PPC mělo vliv i na elektrofyziologickou aktivitu buněk. Broussard a kol. (2009) měřili extracelulární elektrickou aktivitu v PPC u potkanů při testu na udržení pozornosti. Vizuální podněty měly za následek vysokou aktivitu v oblasti PPC. Po vyřazení cholinergních vláken tato aktivita téměř zmizela. V druhé části experimentu prezentovali potkanům při testu vizuální rušivý podnět. Část neuronů v PPC na tento podnět selektivně reagovala. Po denervaci cholinergních vláken byla tato reakce zesílená a zapříčinila sníženou reakci na adekvátní podnět. Podle autorů cholinergní vstupy zesilují detekci podnětů a inhibují reakce na rušivé podněty.

---

<sup>1</sup> 192IgG- saporin komplex sestávající s ribozom inaktivujícího proteinu Saporinu, na nějž je navázána monoklonálně vytvořená protilátka 192IgG specifická proti nízkoafinitnímu NGF receptoru. Tento receptor je exkluzivně exprimován v cholinergních neuronech. Proto tento komplex selektivně vyřazuje cholinergní vlákna (Wenk a kol., 1994).

#### **2.1.2.4. Funkce PPC v dalších testech pozornosti**

##### Podmíněná a nepodmíněná orientace

Bucci (2005) prezentoval potkanům nový stimulus (světlo), který nebyl posilován odměnou. Následovala charakteristická reakce potkanů (panáčkování směrem ke stimulu) jako výraz pozornosti k novému stimulu. Pokud tato reakce není odměňována, vyhasíná. Reakce se však obnoví, pokud je podnět spojen například s potravou (podmíněná orientace). Když se zvíře naučí nový význam stimulu, reakce opět vymizí. V tomto testu nebyl nalezen rozdíl mezi potkany s lézí PPC a kontrolami.

V jiné práci Tees (1999) také nepozoroval deficit potkanů s lézí PPC v testech na habituaci a následnou dishabituaci. Lze se tedy domnívat, že se PPC na tomto typu pozornosti nepodílí.

##### Úloha PPC v testu percepční pozornosti (Perceptual-attentional set-shifting).

V tomto testu se potkani nejprve učili diskriminaci mezi dvěma různými podněty stejné dimenze (rozlišit mezi dvěma vůněmi; rozlišit mezi různými taktilními podněty). V poslední fázi experimentu museli vybírat mezi různými modalitami (např. pouze na základě taktilních podnětů bez ohledu na vůni). Potkani s lézí PPC zvládali celkem dobře všechny fáze, kromě poslední, která je sama o sobě těžká a léze PPC tento aspekt ještě zvýraznila. Autor to vysvětluje tím, že potkan s lézí PPC má problém přepnout pozornost při percepci mezi dvěma modalitami (Fox a kol., 2003).

#### **2.1.3. Role PPC v prostorové navigaci**

##### **2.1.3.1. Balintův syndrom jako příklad prostorového deficitu u člověka**

Balintův syndrom je popisován u lidských pacientů s oboustrannou lézí PPC.

K charakteristickým potížím, se kterými se pacienti s tímto syndromem musí potýkat, patří optická ataxie, optická apraxie a simultagnosie. Optická ataxie se popisuje jako neschopnost uchopit předměty v zorném poli (např.: pokud mají někomu připálit cigaretu, zapálí jí spíše uprostřed než na jejím okraji). Optická apraxie je neschopnost odtrhnout pohled od nějakého předmětu a zaměřit se na jiný předmět v zorném poli. Simultagnosie znamená, že pokud jsou pacientovi prezentovány 2 a více objektů v zorném poli najednou, není schopen je vnímat oba současně (pokud jsou prezentovány jednotlivě, vnímá je). Pacienti postižení tímto syndromem se chovají podobně jako nevidomí jedinci (ačkoliv vidí), narážejí do objektů. Mohou například spadnout ze židle, na které sedí, neboť neodhadnou své těžiště ve vztahu k prostoru (Balint, 1909; Calton a Taube 2009, Vallar, 2007).

Potkani s bilaterální lezí PPC také vykazují potíže s navigací. Závažnost deficitu závisí na typu úlohy. Navigaci můžeme dělit, podle vztahu k orientačním bodům na ideotetickou a allotetickou.

### **2.1.3.2. Potkani s lezí PPC v testech idiotetické navigace**

Idiotetickou navigací se rozumí orientace pomocí vnitřních vstupů, za využití informace o poslední známé poloze a dále informací přicházejících z propiocepčních a statokinetických čidel, případně za využití krátkodobých kopií motorických povelů („motor efference copies“) (Kesner, 2009). V praxi si tento způsob navigace můžeme představit jako orientaci ve tmě. Pokud jsou například mláďata pískomila přemístěna z hnízda za úplné tmy, jejich matka je schopna, poté co je nalezne, vrátit se do hnízda nejkratší cestou, zatímco při jejich hledání postupovala klikatě (Mittelstaedt a Mittelstaedt, 1980).

V úplné tmě byli také trénováni potkani v modifikované verzi Morrisova vodního bludiště. Jednalo se o egocentrickou verzi úlohy, kdy byla pozice ostrůvku vůči startu konstantní a ostrůvek byl dosažitelný pouze na základě informace o směru a rychlosti plavby. Léze PPC měla za následek zhoršení při hledání ostrůvku (Save a Moghaddam, 1996).

V obecnější rovině se někdy jako o idiotetické (egocentrické)<sup>2</sup> navigaci hovoří, je-li zvířeti zabráněno využívat vzdálené body při navigaci. Takto postupovali Rogers a Kesner (2006), kteří využili upravené Hebb-Williamsovo bludiště. V allocentrické úloze měla zvířata možnost orientovat se podle vzdálenějších orientačních bodů, v egocentrické verzi jim ve výhledu bránily zvýšené stěny bludiště. Potkani s lézí PPC byli zhoršeni v egocentrické verzi, naproti tomu léze hipokampu měla za následek zhoršení v allocentrické verzi.

Potkani s lézí PPC byli zhoršeni v úloze, kde cílem bylo najít a sebrat pamlsěk a s ním se vrátit do startovacího hnízda (Parron a Save, 2004). V této studii byli také sledováni potkani s lézí entorhinální kůry. I ti vykazovali v úloze horší výsledky oproti kontrolám.

### **2.1.3.3. Potkani s lezí PPC v testech allotetické navigace**

Pokud je při navigaci použito vnějších orientačních bodů, hovoříme o allotetické navigaci. Jako příklad může sloužit potkan v klasickém Morrisově vodním bludišti. Ohledně výsledků potkanů s lézí PPC v Morrisově vodním bludišti nepanuje shoda. Kolb a Walkey (1987)

---

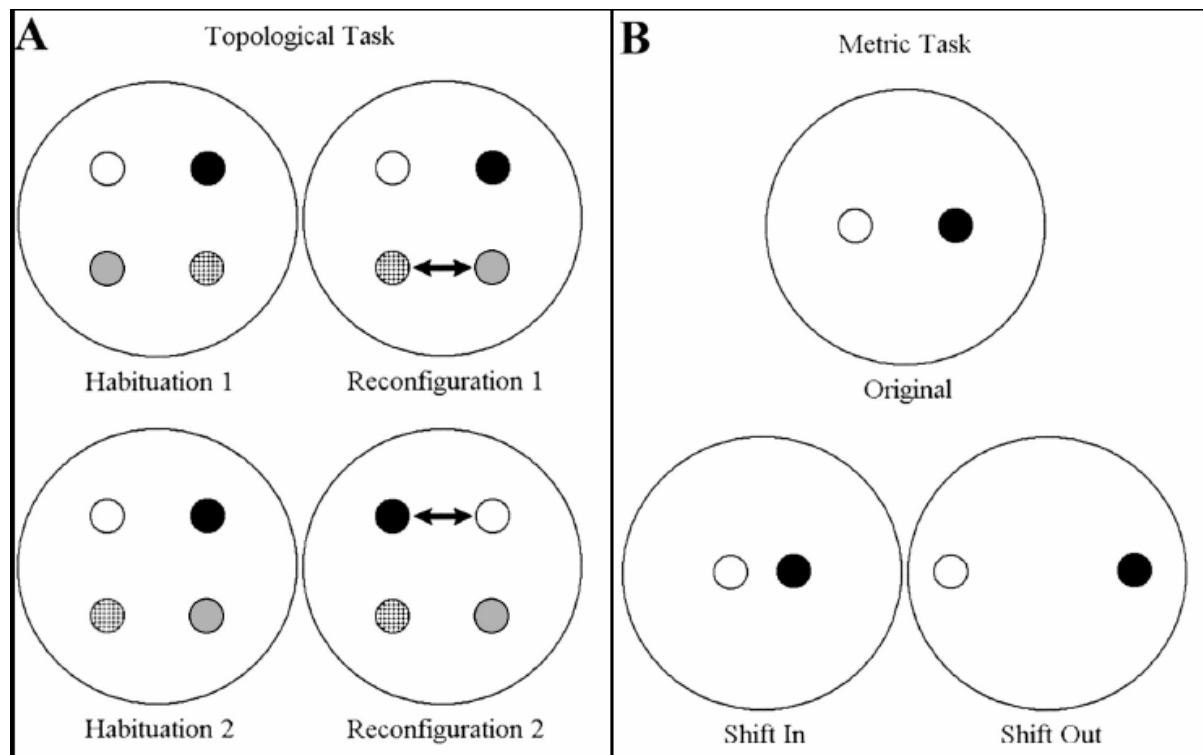
<sup>2</sup> Idiotetickou navigací se rozumí navigace za využití vnitřních vstupů (viz kap.2.1.3.2). Naproti tomu allotetická navigace je s využitím vzdálených bodů (kap. 2.1.3.3.). Někdy se jako jejich synonyma používá egocentrická a allocentrická navigace. Není to však úplně přesné, allocentrická znamená, že je navigace vztažena k nějakému bodu v okolí (většinou je to nějaký výrazný stabilní bod). Egocentrická znamená že referenčním bodem, ke kterému vztahují ostatní body, jsem já (v případě potkana je to potkan).

popisují zhoršení v Morrisově vodním bludišti jako následek léze PPC, naopak Save a Poucet (2000) žádný rozdíl mezi lézovanými a kontrolními potkany nepozoroval.

Long a Kesner (1996) testovali pracovní paměť potkanů s lézí PPC a hipokampu v allocentrické verzi testu „go/no go task“, zatímco léze hipokampu měla za následek výrazný deficit v pracovní paměti, u potkanů s lézí PPC popisují pouze přechodné zhoršení.

V následné studii sledovali potkany s lézí PPC a hipokampu v testu opožděné odpovědi, tentokrát v egocentrické verzi. Zde byli potkani s lézí hipokampu mírně zhoršení, zatímco potkani s lézí PPC zvládali tuto úlohu bez potíží (Long a Kesner, 1998).

Podle vztahu, v jakém se vůči sobě jednotlivé orientační body nacházejí, je můžeme rozdělit na „topologické“ a „metrické“. Při metrickém se mohou měnit jak úhly, tak vzdálenosti mezi objekty. Topologické vztahy nemohou být narušeny metrickými změnami. Jedná se o vztahy mezi jednotlivými objekty (viz obr.4) (Gallistel, 1990).

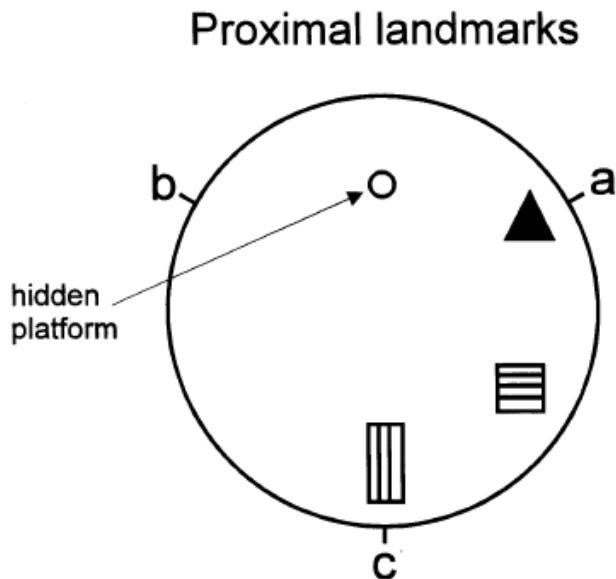


Obr. 4: Topologická a metrická úloha, podle (Goodrich-Hunsaker a kol, 2005; popis v textu)

Pro zodpovězení otázky, zda se PPC podílí na topologickém, či metrickém zpracování prostorové informace, byli potkani testováni na poznávání nových objektů („novelty detection“). Topologická úloha sestávala ze čtyř různých objektů umístěných do čtvercového útvaru. Po habituaci, byly u dvou objektů prohozeny pozice (viz obr. A nahoře). Poté co se potkani habituovali na změnu, byly objekty vráceny opět do původní polohy. (obr. A (dole)). Metrická úloha sestávala ze dvou různých objektů, umístěných ve vzdálenosti 68cm. Po habituaci byly objekty přemístěny tak, že vzdálenost mezi nimi klesla na 38cm. Následující

den byly umístěny 98cm od sebe. Kritériem hodnocení byla explorace objektů po změně. Potkani s poškozením PPC vykazovali nízkou exploraci v topografické úloze. V testu byli testováni i potkani s poškozením dorsálního hipokampu. Ti byli naopak zhoršeni v metrické úloze (Goodrich-Hunsaker a kol., 2005).

Léze PPC má za následek zhoršení v úloze ve vodním bludišti, kdy je ostrůvek definován předměty uvnitř bazénku. Nejedná se o egocentrickou úlohu, neboť potkan musí při jejím řešení využívat vnějších (byť blízkých) orientačních bodů (Save a kol., 2000).



**Obrázek 5:** Schéma pokusu (Save a kol. 2000). Ostrůvek je definován třemi objekty nacházejícími se uvnitř vodního bludiště. Potkani byli vypouštěni z různých startovních pozic (a, b, c)

#### **2.1.4. PPC a paměť**

##### **2.1.4.1. Role PPC v dlouhodobé paměti**

Je všeobecně přijímáno, že spolupráce neokortexu a hipokampu je klíčová pro vytvoření dlouhodobé paměťové stopy u člověka (McClelland a kol. 1995). Předpokládá se, že hipokampus je zodpovědný za rychlé zaznamenání, načež se informace dlouhodoběji uloží v neokortexu (Frankland a Bontempi, 2005).

PPC by mohla hrát roli v konsolidaci paměťové stopy (Maviel a kol. 2004). Pokud by byla tato hypotéza pravdivá, mělo by poškození PPC vést k poškození již naučené informace. Dosavadní výsledky jsou však dosti rozporuplné. Cho a Kesner (1995) ve své studii ukázali, že poškození PPC nevede k poškození již naučených úloh v radiálním bludišti. V následné studii ale, stejní autoři, popisují deficit paměti u potkanů s poškozenou PPC (Cho a Kesner, 1996).

Poškození PPC vyvolá poruchu udržení paměti v egocentrické úloze v Morrisově vodním bludišti a přechodné zhoršení i v úloze allocentrické (Commins a kol., 1999). Hoh a kol. (2003) nezaznamenal žádné zhoršení po odstranění PPC v allocentrické verzi Morrisova vodního bludiště.

Rogers a Kesner (2006) testovali potkany v upraveném bludišti podle Hebb-Williamse. A to jak v egocentrické, tak v allocentrické úloze. Jak již bylo zmíněno výše, potkani s lézí PPC byli zhoršeni v egocentrické úloze. Součástí experimentu byla také úloha na udržení již naučené znalosti. (Léze byla provedena po behaviorálním tréninku.) V tomto experimentu mělo poškození PPC za následek zhoršení jak v egocentrické, tak allocentrické verzi bludiště.

#### **2.1.4.2. Role PPC v pracovní paměti**

Existuje značné množství studií, které podporují roli PPC v pracovní paměti u primátů (Oztekin a kol., 2009; Ravizza a kol., 2004). Pomocí zobrazovacích metod a studií s lézemi bylo prokázáno, že je PPC primátů spjata se schopností udržet informaci důležitou pro úlohu v průběhu prodlení (Champod a Petridides, 2007; Curtis, 2006; van Asselen et. kol. 2006). Tato problematika je u potkanů málo prozkoumána a existující studie roli PPC v pracovní paměti nepotvrzují. Espina-Marchant a kol. (2006) dočasně inaktivovali PPC a anteromediální kortex (AM) v průběhu prodlení při testování pracovní paměti. Potkani s inaktivací PPC byli zhoršeni pouze v případě, že ke správnému vyřešení úlohy potřebovali i dlouhodobou paměť. Ani další práce vliv PPC na pracovní paměť nepotvrdily. Například Kolb a kol. (1994) provedli aspirační lézi celé PPC a nenalezli žádný deficit v úlohách, kdy byl prezentován jeden objekt, po čase (10-20 s) byly prezentovány dva objekty, původní a nový. Potkan byl odměněn, když vybral ten nový (jednalo se o typ úlohy „non match to sample task“). V souladu s těmito daty nebylo zaznamenáno zhoršení potkanů s lezí PPC v neprostorové úloze testující pracovní paměť (Compton a kol., 1994).

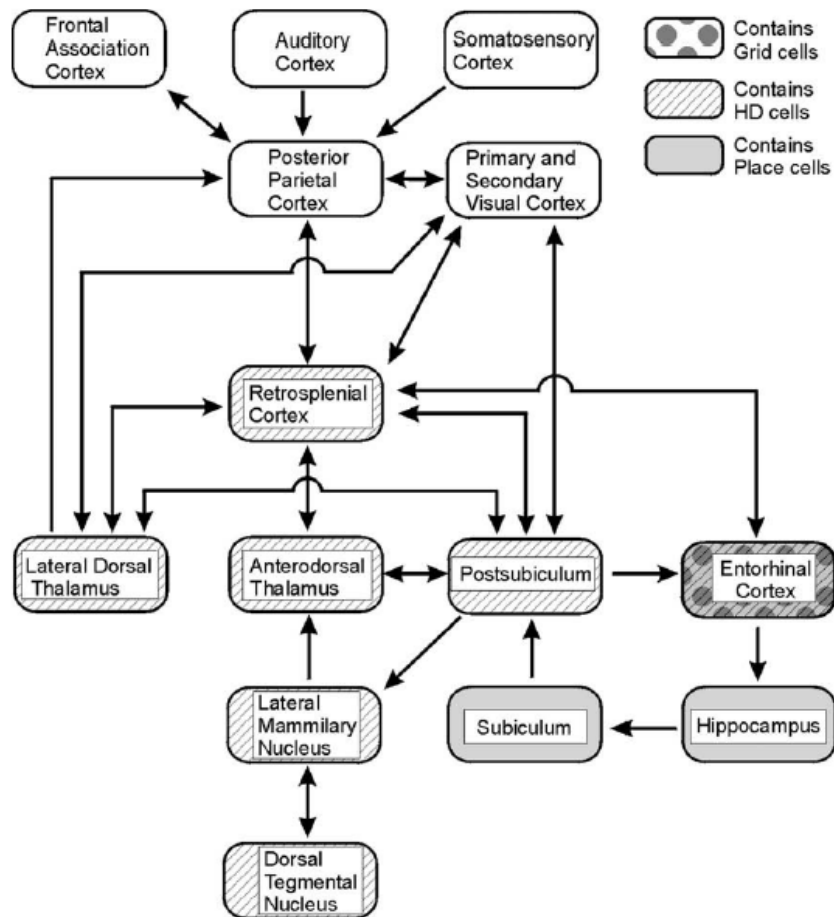
#### **2.1.4.3. Elektrofyziologické studie a PPC**

Většina elektrofyziologických pokusů prováděných na primátech probíhala za podmínek, kdy byl pokusný subjekt fixován. Naproti tomu pokusy na potkanech probíhaly na volně se pohybujících zvířatech. Díky tomu byly objeveny buňky vykazující aktivitu v určitém místě (place cells; O'Keefe, Dostrovsky, 1971). Následovaly další objevy a dnes se na základě elektrofyziologické aktivity popisují tři skupiny buněk. Buňky určující směr hlavy (head direction cells), vyskytující se zejména v subiculu, entorinální kůře a předním thalamu. Buňky reagující na místo (place cells), vyskytující se zejména v hipokampu a mřížkové buňky (grid



cells), které nalézáme v entorinální kůře (Goodridge a Taube, 1997; O'Keefe a Dostrovsky, 1971; Sargolini a kol. 2006).

PPC je přímo či nepřímo propojena se všemi uvedenými oblastmi (viz obr. 6) Proto se uvažuje, že jsou zde integrovány vstupy z různých oblastí.



**Obrázek 6:** Schéma propojení posteriorní parietální kůry s oblastmi, kde se vyskytují specializované populace buněk. Z Calton a Taube (2009).

V PPC byla elektrofyziologicky popsána aktivita neuronů jak v závislosti na směru pohybu (ve smyslu pravých a levých zatáček; McNaughton a kol., 1994), tak i malé množství buněk vykazující aktivitu v závislosti na poloze hlavy, závislých na aferentaci z vestibulárního ústrojí. (Chen a Nakamura, 1998)

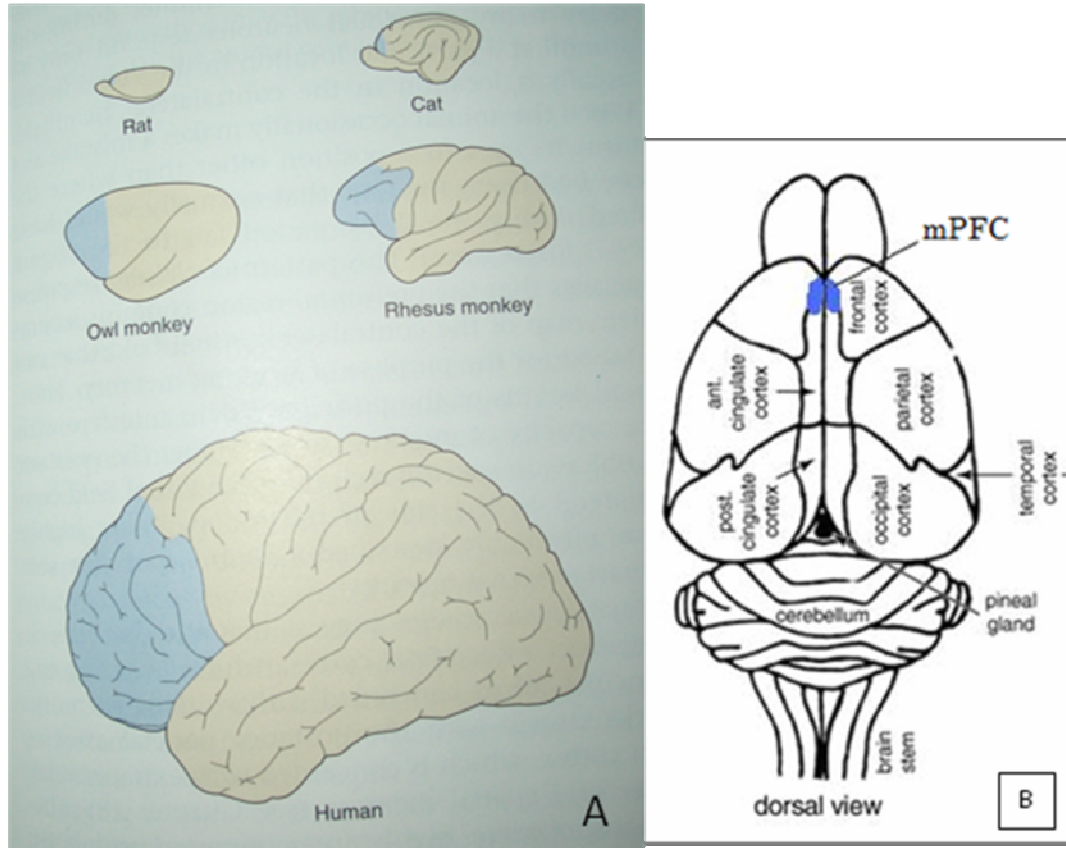
Calton a kol. (2008) uvažovali, že pokud by se PPC podílela na detekci orientačních bodů, muselo by se poškození PPC projevit v aktivitě buněk reagujících na místo (place cells) v anteriorním thalamu. Proto provedli pokus, ve kterém měřili aktivitu těchto buněk v anteriorním thalamu po lézi PPC. Léze PPC však na aktivitu těchto buněk vliv neměla, proto se lze domnívat, že se PPC významně nepodílí na detekci směru hlavy vůči orientačním bodům.

Pokud si představíme rychlý pohyb ve známém prostředí, lze ho popsat jako sérii pravých a levých zatáček. Nitz (2006) ve své práci popisuje že buňky v PPC opravdu specificky pálí tímto způsobem.

## 2.2. PREFRONTÁLNÍ KŮRA (PFC)

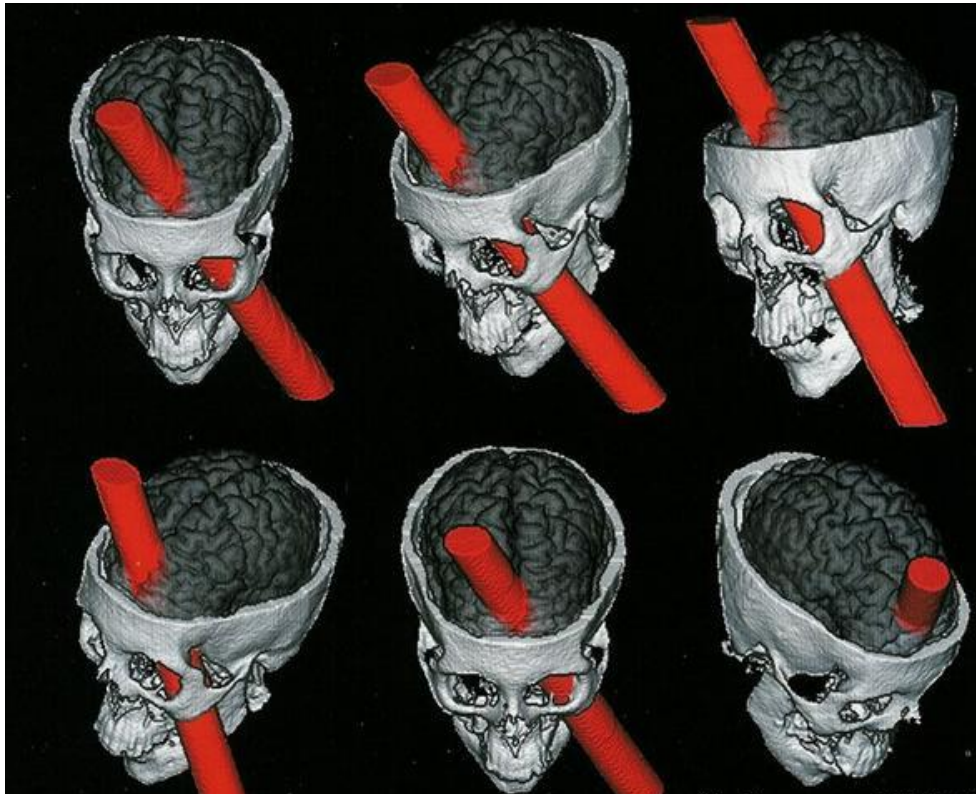
### 2.2.1. Úvod k PFC

Prefrontální nalezneme kůru v rostrální části mozku, před motorickými oblastmi. Velikost prefrontální kůry mezi jednotlivými druhy savců značně kolísá (Kandel a kol., 2007).



**Obrázek 7 A:** Porovnání poměru prefrontální kůry v poměru k neokortexu u potkana, kočky, makaky a člověka (u potkana je mPFC uložena spíše mediálně, proto z ní vidíme pouze malou část). **B:** Dorsální pohled na mozek potkana, mPFC vyznačena modře.

Maxima dosahuje u primátů a to zejména u člověka, kde zaujímá značnou část frontálního laloku (Roth a Dicke, 2005). Proto je prefrontální kůra dávana do souvislosti s typicky „lidskými“ vlastnostmi, zejména abstraktním myšlením, předvídáním důsledků vlastní činnosti, ale slouží také jako nejvyšší integrační oblast řízení pohybu (Bear a kol., 2007). Klinický dopad oboustranné destrukce prefrontální kůry u člověka se projeví zejména změnou osobnosti. Dobře to demonstruje dnes již notoricky známý příklad Phinease Gage (1823-1860). Gage pracoval na stavbě železnice a nešťastnou shodou okolností mu kovová tyč pronikla skrz orbitu do lebky a zničila převážnou část prefrontální kůry, následná infekce a zánět zlikvidovali i zbytek prefrontální tkáně. Po rekonvalescenci se Gage mohl vrátit do práce, jeho inteligence zůstala neporušena, utrpěla však jeho schopnost zvládat sociální interakce, schopnost předvídat důsledky svého jednání i plánování a uskutečňování již naplánovaných cílů (Bear a kol., 2007).



**Obrázek 8: Rekonstrukce zranění Phinease Gage. Ocelové pýchovadlo prošlo orbitou do mozkovny skrz frontální lalok a následně skrz lebku ven. Zdroj obrázku: [http://4.bp.blogspot.com/\\_xkXkWVPZEMs/TJIV7u-yREI/AAAAAAAAAB0/6MtCALkbVN4/s1600/PhineasGage.jpg](http://4.bp.blogspot.com/_xkXkWVPZEMs/TJIV7u-yREI/AAAAAAAAAB0/6MtCALkbVN4/s1600/PhineasGage.jpg)**

Souvislost prefrontální kůry s osobností si povšiml i Egas Moniz ve 40. letech 20. století a navrhl léčit některé psychiatrické nemoci pomocí chirurgického zničení prefrontální kůry tzv. lobotomie (leukotomie). Tato z dnešního pohledu kontroverzní metoda našla ve své době mnoho stoupců (např. v USA jí Dr. Walter Freeman zdokonalil tak, že se dala provádět prakticky ambulantně). I přesto, že následky této „léčby“ byly mnohokrát horší, než samotná nemoc, se tato metoda rychle rozšířila. Až nástup efektivních antipsychotik v polovině 50. let tuto metodu vytlačil (Purves, 2007). Předtím však již Moniz obdržel Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu (v roce 1949).

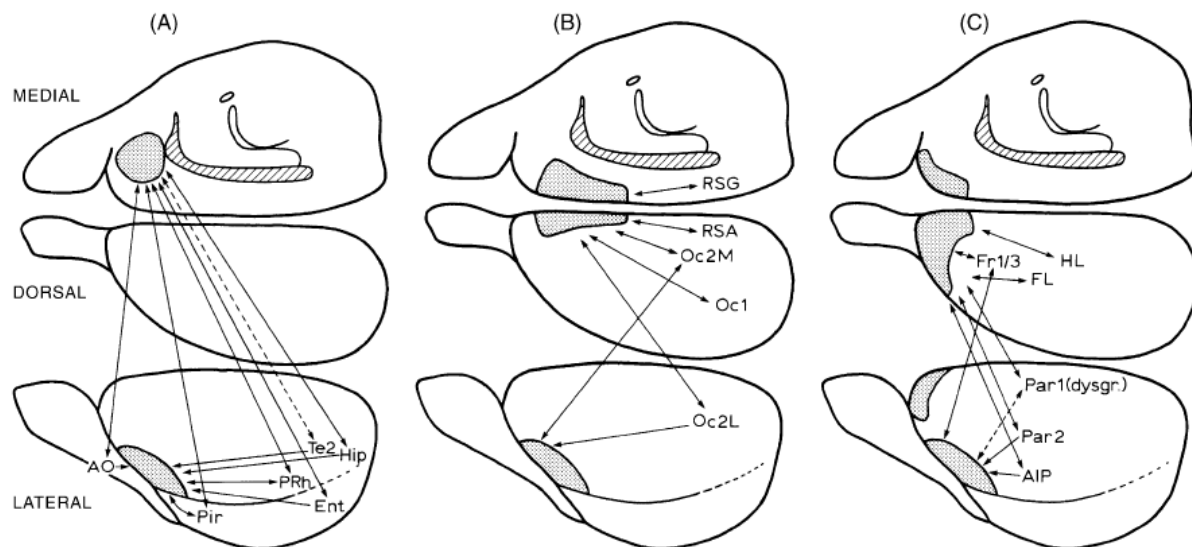
Kromě klíčové funkce pro integritu osobnosti, se v současné době mezi hlavní funkce PFC u člověka uvádí podíl na behaviorální flexibilitě, pracovní paměti, inhibici odpovědi a uvažuje se o vlivu PFC v etiologii některých nemocí, zejména schizofrenie, ADHD a unipolární deprese.

### 2.2.2. Definice PFC pomocí konektivity, homologie

Brodman (1909) se domníval, že prefrontální kůra je charakteristická pouze pro primáty. Později se ukázalo, že se vyskytuje i u dalších savců (Rose a Woolsey, 1948a; Divac a kol., 1987). Důležité pro definici PFC je reciproční propojení s mediodorsálním jádrem thalamu (MD). U potkana ho poprvé prokázal Leonard a kol. (1969). Reciprocitu spojení definitivně potvrdili Uylings a Van Eden (1990). Dále je PFC propojena s bazálními ganglii, nucleus accumbens (Groenewegen a kol., 1990) a stejně jako u primátů (Ghashghaei a Barabas, 2001) přijímá dopaminergní aferentní vlákna ze středního mozku (Zaborsky a kol., 1997). Z kortiko-kortikálních spojů jsou důležité spoje mezi PFC a premotorickou, somatosenzorickou i dalšími senzoryckými oblastmi kůry, nechybí ani spojení s limbickou oblastí, včetně olivy, a s entorhinální a perirhinální kůrou (Ongür a Price, 2000). Významná je aferentace vláken z okruhu kůra- bazální ganglia-thalamokortikálního přes amygdalu a hipokampus (Groenewegen a kol., 1994, 1997; McDonald, 1991).

Jak je z předchozího textu patrné, prefrontální kůra člověka, ostatních primátů i potkana má podobné schéma organizace a sdílí významné cytoarchitektonické i neuroanatomické charakteristiky (Holmes a Wellman, 2009, Uylings a Van Eden, 1990, Uylings a kol., 2003). Mediální prefrontální kůra potkana mPFC a dorsolaterální prefrontální kůra u primátů jsou proto považovány za homologické (Uylings a Van Eden, 1990).

Někteří autoři ještě dále dělí mPFC do čtyř pododdílů. Dorzálně mPFC zasahuje do některých částí agranulární mediální oblasti (AGm), anteriorního cingula (AC). Ventrálně jsou umístěny oblasti prelimbické (PL) a infralimbické (IL) kůry (Berendse a Groenewegen, 1991; Vertes 2004, 2006). I funkce těchto oblastí se liší, dorsální oblasti (AGm a AC) se dávají do souvislosti s motorickými funkcemi, naproti tomu ventrální části (IL a PL) jsou spojovány spíše s kognitivními, emočními a paměťovými procesy (Heidbreder a Groenewegen, 2003).



**Obrázek 9:**Schéma kortiko-kortikálních spojů u potkana. AO-přední čichové jádro; Pir-prepiriformní kortex; PRh-perirhinální kortex; Te2-oblast 2 temporálního kortexu, Hip-hipokampus, Ent-entorhinální oblast, RSG-granulární retrospleniální kortex; RSA-agranulární retrospleniální kortex; Oc2L-laterální část okcipitální kůry, oblast 2; Oc2M-mediální část okcipitální kůry, oblast 2; Oc1-primární zrakový kortex; HL-oblast zadní končetiny; FL-oblast přední končetiny; Fr1/3-frontální oblasti 1 a 3; Par 1(dysgr)-dysgranulární část parietální kůry; Par 2-Parietální kůra, oblast 2; Aip-posteriorní agranulární insulární oblast; z Uylings a kol., 2003.

### 2.2.3. Význam PFC pro behaviorální flexibilitu

Behaviorální flexibilita je schopnost opustit dříve úspěšnou strategii a nahradit jí strategií jinou, potenciálně úspěšnější. U člověka se testuje Wiscovským testem třídění karet. Pokusná osoba má za úkol třídit karty podle nějakého znaku (například barva), dostává však pouze informaci o tom, zda postupuje správně, či nikoliv. V okamžiku, kdy kritérium, podle kterého má postupovat, zjistí a roztřídí určitý počet karet bez chyby (většinou 10), kritérium se změní. Pokusná osoba nyní musí třídit karty například podle čísel. Poškození PFC se odrazí v neschopnosti tuto změnu provést a tito lidé pokračují ve třídění podle prvního pravidla (Bear a kol., 2007, )

Je nutno poznamenat, že Wiscovský test třídění karet není specifickým indikátorem poškození PFC. Zhoršení v tomto testu vykazují i pacienti s poškozením jiných korových oblastí. Také funkční zobrazovací metody ukázaly zvýšenou aktivitu i v jiných oblastech neokortexu, než je PPC (Nyhus a Barceló, 2009).

U potkana se testuje behaviorální flexibilita analogickými testy. V principu se využívá kognitivních úloh založených na různých modalitách. Zvíře se může naučit řešit úlohu podle pachových, prostorových, nebo jiných sensorických značek. Zvíře můžeme tedy testovat

dvojím způsobem: 1. přeučování (zpětné/reversní učení - reversal task) v dané sensorické modalitě (například změním polohu odměňovaného cíle v prostoru) nebo 2. diskriminace mezi modalitami (extradimensional shift), kdy v případě, že je zvíře naučeno například orientovat se podle pachové značky, začne být relevantní umístění v prostoru či naopak. V praxi si tento model lze představit tak, že je potkan umístěn ve Skinnerově boxu a má k dispozici dvě páčky, nad každou z nich je umístěno světlo. Potkan je naučen buď na páčku na jedné straně (prostorová informace) nebo na páčku, nad kterou je rozsvíceno světlo (vizuální úloha). Pro potkany s poškozením prefrontální kůry je změna strategie v tomto testu téměř nemožná (Floresco a kol., 2008). Podobně Birrell a Brown (2000) trénovali potkany s různými kalíšky lišícími se vůní, náplní a texturou podkladu. Potkani s poškozenou PFC byli zhoršeni pouze v testu kdy se měnila modalita (extradimensional shift), nikoliv v reversním učení. Ragozzino (2007) testoval potkany s lézí PL (část mPFC) na diskriminaci mezi pachovou a prostorovou informací. V testu na přeučování v rámci jedné modality (intradimensional shift) nebyl mezi lézovanými a kontrolními zvířaty rozdíl, v testu, při němž se měnila modalita (extradimensional shift) byli potkani s lézí zhoršeni. Autor si ještě položil otázku, zda tento výsledek není ovlivněn pouze nižší obtížností testu převráceného učení. Proto pokus provedl ve ztížené verzi přeučovacího testu (intradimensional shift), ale původní výsledek se nezměnil. Ragozzino (2007) je toho názoru, že se PL podílí na inhibici staré odpovědi. Opírá se i o data Diase a Aggletona (2000), kteří popisují rozdíl mezi výkonem potkanů s lézí PL a kontrol v testech alternace na T bludišti. Potkani mají přirozenou tendenci alternovat (střídat strany), ale pokud jsou naučeni na pravé rameno, nejsou schopni ani při odměňování vrátit se k alternační strategii.

#### **2.2.4. Úloha PFC v pracovní paměti**

Pracovní paměť můžeme definovat jako kapacitu pro krátkodobé uložení informace využívané při komplexních kognitivních procesech jako je například řešení nějaké úlohy, porozumění řeči a pod.

U primátů se k testování pracovní paměti využívá „test opožděné odpovědi“ (delayed match to sample/non match to sample task). V tomto typu úlohy je nejprve prezentován vzorový podnět (sample stimulus). Poté následuje pauza v trvání obvykle v řádu desítek sekund (delay period), po níž následuje prezentace vzorového podnětu současně s novým. Odměňovanou odpovědí může být výběr (označení, ukázání, uchopení a pod.) vzorového stimulu (match-to-sample task) nebo naopak výběr nového stimulu (non-match-to-sample task). Tento test je

citlivý k lézím v prefrontální oblasti u makaků. Elektrofyziologicky bylo prokázáno, že neurony PFC jsou aktivní v průběhu pauzy (delay period).

Ani potkan jako experimentální tvor nezůstal testů na pracovní paměť ušetřen. Zablokování acetylcholinové aferentace muskarinem má za následek zhoršení pracovní paměti v radiálním bludišti (Ragozzino a Kesner, 1998). V další práci Ragozzino a Kesner (2001) ukazují test pracovní paměti při egocentrickém testu opožděné odpovědi (potkan si musí pamatovat zatáčku o 90°). Potkani s lézí PFC byli v úloze zhoršeni proti výkonům před operací. Jako deficit pracovní paměti můžeme interpretovat i test shromažďování potravy (tzv. food hoarding test). V tomto testu má hladový potkan určitý čas na to, aby nashromáždil co nejvíce pelet do své domácí klece. Léze PFC se negativně podepsala na výkonech potkanů v tomto testu (Lacroix a kol., 2002)

Na elektrofyziologickou charakteristiku PFC při pracovní paměti se zaměřili de Saint Blanquat a kol. (2010), kteří snímali aktivitu neuronů v PFC v testu potkana v osmiramenném radiálním bludišti. Čtyři z osmi ramen byly odměňovány. Autoři zaznamenali specifickou aktivitu neuronů před prvním, či druhým vstupem do ramene, bez ohledu na to, zda obsahovalo odměnu. Autoři vysvětlují aktivitu tím, že si neurony „označují“ již navštívená ramena.

### **2.2.5. Význam PFC pro prostorovou navigaci**

Lacroix a kol. (2002) podrobil potkany s lézí PFC sérii testů: 1. Test shromažďování potravy (food hoarding test); 2. „Three panel runway“; 3. Lokomoční aktivita v openfieldu; 4. Morrisovo vodní bludiště (MVB). Již zmíněný test shromažďování potravy prokázal statisticky významné zhoršení potkanů s poškozením mPFC. U three panel runway testu byli sice potkani s lézí mírně zhoršení, nikoliv však na statisticky významné hladině. V testu openfield vykazovali lézovaní potkani vyšší motorickou aktivitu. V Morrisově vodním bludišti (při allocentrické verzi), nebyl při hledání ostrůvku mezi skupinami žádný rozdíl. V egocentrické verzi MVB, tedy v úloze kde se sice mění startovní pozice, ale ostrůvek je ve stejném směru vzhledem ke startovní pozici, byli potkani s lézí PFC výrazně zhoršeni oproti kontrolám (DeBruin a kol., 1997; 2001; Ethier, 2001).

Základem dalšího pokusu se stala aréna, ve které byla pokusnému zvířeti hozena peleta ve chvíli, kdy se ocitlo v předem definovaném (ale neoznačeném) prostoru, spouštěcí zóně (trigger zone), a zůstalo tam po dobu alespoň 2 vteřin. Vzhledem k tomu, že pelety padaly z výšky, nedopadaly přesně na jedno definované místo, ale do většího sektoru arény,



dopadové zóny (landing zone), proto byla zvířata nucena opustit vymezený prostor, aby sebrala peletu. Další peleta byla vhozena, dostavilo-li se zvíře do vymezeného prostoru, poté co strávilo alespoň 3 vteřiny mimo něj. Po habituaci na tuto arénu byly zvířatům implantovány elektrody, které snímaly aktivitu neuronů v oblasti mPFC během testu s peletami. Přibližně 25% neuronů mělo jasnou korelaci s prostorem. Autoři předpokládají, že tyto neurony se podílejí na kódování prostorového cíle (Hok a kol., 2005). V podobné studii se Burton a kol. (2009) věnovali spolupráci mPFC s hipokampem při kódování prostorového cíle. Pozorovali, že ve shodě s předešlou prací, část neuronů kóduje prostorový cíl, další početná skupina neuronů je aktivní při očekávání potravy. Po lézi hipokampu, s níž mPFC sdílí četné spoje, tato aktivita zmizela.

### 3. CÍLE PRÁCE

Cílem této práce bylo přispět k rozšíření znalostí o korových oblastech mozku, zejména o posteriorní parietální a prefrontální oblasti neokortexu.

V experimentu I jsme zkoumali, zda má léze PPC vliv na chování potkana v kolotočovém bludišti. Kolotočové bludiště umožňuje disociaci orientačních rámců (vnitroarénového rámce a rámce místnosti). Zajímalo nás, jakým způsobem si potkan vybírá relevantní rámec pro orientaci a zda léze PPC má na tuto volbu vliv. Na kolotočovém bludišti lze měnit podmínky úlohy jednak přesunutím sektoru do jiné oblasti v rámci stejného referenčního rámce, druhak definováním zakázaného sektoru v jiném referenčním rámci. Toho jsme využili v dalších experimentech k testování schopnosti potkanů flexibilně měnit behaviorální strategii v závislosti na měnících se podmínkách.

V experimentu II, který na experiment I navazoval, jsme chtěli ověřit, zda léze posteriorní parietální kůry ovlivní využití vnitrobludišťového či mimobludišťového rámce v Morrisově vodním bludišti stejným způsobem jako na suché aréně (v kolotočovém bludišti).

Experiment III také souvisel s experimentem I. Cílem bylo otestovat, zda se potkani s lézí PPC liší od kontrol v úloze dvojitého vyhýbání, při níž potkan musí využívat jak rámec místnosti, tak rámec arény.

Cílem experimentu IV bylo zjistit jakým způsobem ovlivní bilaterální léze mPFC výkon potkana při přeučování a navigaci ve tmě v kolotočovém bludišti.

## 4. MATERIÁL A METODIKA

### 4.1. POUŽITÁ ZVÍŘATA

Pro experimenty bylo použito celkem 80 (48 pro experiment I, 16 pro experiment III, 16 pro experiment IV, pro experiment č. II byli využiti potkani z experimentu I) potkanů kmene Long-Evans z chovné stanice Fyziologického ústavu Akademie věd ČR, v.v.i.

Zvířata byla v době pokusů stará 3 měsíce, jejich hmotnost se pohybovala mezi 300-400g. Potkani byli chováni v plastových klecích po 2-3, s dvanáctihodinovým světelným cyklem, se zapnutím světel v 7:00. Behaviorální testy probíhaly ve světlé fázi cyklu mezi 10-18 hod. Zvířata měla přístup k vodě a potravě *ad libitum* s výjimkou období, kdy byli testováni v kolotočovém bludišti (experimenty I, III, a IV), v tomto období měli omezený přístup k potravě tak, aby se jejich hmotnost pohybovala mezi 80-90% váhy kterou měli při neomezeném přístupu k potravě. Přístup k vodě byl neomezený po celou dobu experimentů.

Všechny experimenty probíhaly v souladu se zákonem č. 246/1992 na ochranu zvířat proti týrání a vyhláškou o ochraně, chovu a využití pokusných zvířat č. 207/2004

### 4.2. POPIS OPEARAČNÍCH VÝKONŮ

#### 4.2.1. Ablace posteriorní parietální kůry termokoagulací

Potkani byli náhodně rozděleni na dvě skupiny, kontrolně operovaná zvířata (celkem 32; 24 pro experiment I, 8 pro experiment III) a na zvířata s lézí PPC (celkem 32; 24 pro experiment I, 8 pro experiment III.). Zvířatům byla podána anestézie v kombinaci Narketan (účinná látka ketamin; 50 mg/kg, intraperitoneálně) a Xylapan (účinná látka xylazin; 40 mg/kg i.p.). Před a po operaci byl, rovněž intraperitoneálně, aplikován atropin (0,5 mg; 0,5 ml). Po navození anestézie byla zvířata umístěna do stereotaktického aparátu (Kopf instruments), poté co jim byla oholena srst v místě operačního pole, byl proveden řez kůží. Po odstranění měkkých tkání byla odhalena lebka. Nad oběma hemisférami jsme provedli trepanaci lebky v souřadnicích 2 – 6 mm posteriorně a 1,5 – 5,5 mm laterálně od bregmy. Opatrně jsme odstranili lebeční kost. Poté byla vytvořena termoléze pomocí rozžhaveného hrotu (180°C) o průměru asi 0,5 mm po dobu 0,5 s na několik míst exponované dura mater. Kontrolně operovaným potkanům byla pouze odhalena dura, bez termokoagulačního zásahu. Po provedení léze byly rány zašity a aplikováno lokální antiseptikum (Septonex) a antibiotikum (Framykoin). Po probuzení z narkózy byl potkan přemístěn do domácí klece. V průběhu

prvních tří (z celkových 14) dnů rekonvalescence byl potkanům podáván roztok anestetika (Nurofen) ve vodě.

#### 4.2.2. Excitotoxická léze mediální prefrontální kůry

Potkani byli rozděleni do skupin (8 léze mPFC, 8 kontrol). Narkóza a odhalení lebky probíhalo stejně jako v bodě 4.2.1. Při lézi mPFC jsme do lebky 2 mm anteriorně od bregmy opatrně vyvrtali otvor procházející přes střední čáru o velikosti 4,5 x 4,5 mm. Poté jsme do otvoru aplikovali 0,09 M NMDA v souřadnicích 0,7 mm laterálně a 3 mm a 4 mm anteriorně od bregmy. NMDA jsme aplikovali ve dvou hloubkách 3 a 4 mm pod povrchem lebky, vždy v dávce 0,4 µl (viz tabulka). Jehlu jsme po zasunutí do místa aplikace nechali v klidu po dobu 30 s, po aplikaci jsme jehlu vytáhli až po uplynutí 2 min. NMDA jsme aplikovali pomocí 1 µl Hamiltonovy stříkačky (vnější průměr jehly 0,47mm), rychlost injikace byla 0,2 µl/min.

**Tabulka 1: Místa aplikace NMDA. AP-anterioposteriorně, ML-mediolaterálně od bregmy, DV-Dorsoventrálně od povrchu lebky.**

Souřadnice								
AP	+3 mm	+3 mm	+3 mm	+3 mm	+4 mm	+4 mm	+4 mm	+4 mm
ML	-0,7 mm	-0,7 mm	+0,7 mm	+0,7 mm	-0,7 mm	-0,7 mm	+0,7 mm	+0,7 mm
DV	-3 mm	-4 mm	-3 mm	-4 mm	-3 mm	-4 mm	-3 mm	-4 mm
dávka	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl

S kontrolně operovanými potkany bylo zacházeno stejně, jen místo NMDA, dostávali injekce fyziologického roztoku. Šití a rekonvalescence probíhala tak jak je popsáno v kap. 4.2.1

### 4.3. APARATURA PRO BEHAVIORÁLNÍ EXPERIMENTY

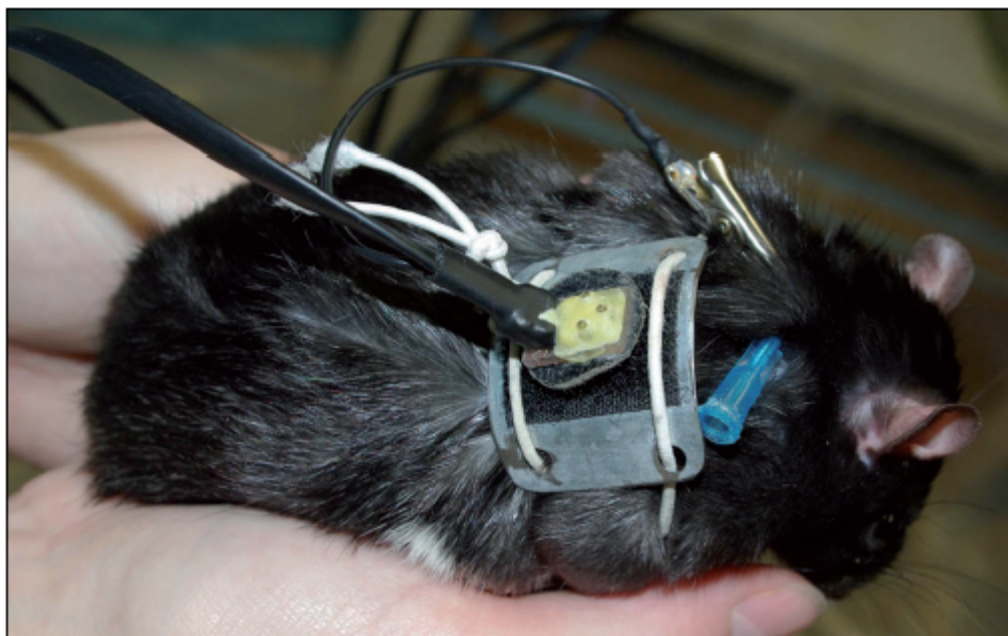
Experimenty I, III a IV probíhaly na kolotočovém bludišti. Experiment II probíhal v Morrisově vodním bludišti.

#### 4.3.1. Kolotočové bludiště

Úkolem zvířete v této úloze je vyhýbat se sektoru, který není na aréně přímo vyznačen, ale je prostorově definován, buď orientačními body v rámci místnosti (RM), nebo rámcem arény (RA).

##### 4.3.1.1. Aparatura kolotočového bludiště

Aparatura používaná pro kolotočové bludiště má podobu kruhové arény ohraničené průhlednou stěnou z plexiskla. Průměr arény je 82 cm. Elektromotor umístěný na spodní straně arény zajišťuje rotaci. Nad arénou je umístěna kamera, snímající pohyb zvířete i arény. Zdrojem signálu je infračervená dioda umístěná na těle zvířete. Pro uchycení diody se používá speciální postroj (viz obrázek 10), který se připevní na hřbet zvířete. Součástí postroje je i kabel, jímž je přiváděn proud pro elektrické impulzy. Ten je vodivě spojen s jehlou, procházející kožním záhybem volné kůže za krkem potkana. Jehla je po propíchnutí kůže zbavena hrotu a zakroucena, aby se zabránilo jejímu vysmeknutí. Aplikace jehly je jednoduchá, pro zvíře prakticky bezbolestná a provádí se bez nutnosti zvíře uspat.



**Obrázek10:** Postroj používaný pro uchycení diody na těle potkana. Na obrázku je patrný i kabel, vodivě spojený s jehlou procházející kůží na hřbetě potkana, pomocí kterého jsou potkanovi udělovány elektrické ranky. Podle Petráska a kol. (2009)

Elektrickou ranku potkani nepocítují v místě vpichu jehly, ale v místě, kde je proud uzemněn, tedy na dotyku tlapek s kovovou podložkou arény. Velikost elektrické ranky se volí individuálně pro každé zvíře v rozmezí 0,2-0,8 mA tak, aby jej motivovala k vyhýbání se zakázanému sektoru, ale zároveň u něj nevyvolávala stresovou reakci v podobě „zamrznutí“. Když zvíře vstoupí do sektoru, následuje po 300 ms první elektrický impulz (trvá 500 ms). Pokud zvíře sektor neopustí, přichází další ranky po 900 ms. Nad arénou je umístěno také krmítko, z něhož může v pravidelných intervalech (každých 10s) na náhodná místa na aréně vypadávat potrava (ječné kroupy) motivující potkana k pohybu po aréně.

#### **4.3.1.2. Habituace na kolotočovém bludišti**

Pět dní před začátkem experimentu byli potkani přivykáni na manipulaci a kontakt s experimentátorem (handling) alespoň 5 min denně. Poslední den před začátkem experimentů jim byla aplikována podkožní jehla pro aplikaci elektrických impulzů. První 2 dny byli potkani habituováni na arénu (bez šoku a bez otáčení) a učili se sbírat potravu (ječné kroupy).

### **4.3.1.3. Úlohy v kolotočovém bludišti**

#### **4.3.1.3.1. Vyhýbání se zakázanému sektoru v rámci místnosti (RM)**

Tato úloha byla použita v experimentech Ia, Ib, Ic a IV. Její modifikace bez otáčení posloužila v první fázi experimentu III. Úloha probíhala za světla, za pomalého otáčení arény (1 otáčka za minutu, po směru hodinových ručiček). Zakázaný sektor ve tvaru výseče kruhu o velikosti  $60^\circ$  zůstával nehybný vzhledem k místnosti. Tato verze je označovaná jako aktivní allotetické vyhýbání se místu (AAPA), protože potkan musí vyvíjet aktivitu, aby nebyl rotací arény dopraven do trestaného sektoru. Z principu úlohy tedy vyplývá, že by potkan nemusel být motivován k pohybu potravou. My jsme však tuto motivaci přesto použili, aby byli potkani zvyklí se po aréně pohybovat, což nám umožnilo navázat testem na vyhýbání se v rámci arény (RA).

#### **4.3.1.3.2. Vyhýbání se zakázanému sektoru v rámci arény (RA)**

Tato úloha probíhala za světla (kromě experimentu IV, kdy probíhala za tmy), za pomalého otáčení arény (1 otáčka za minutu, po směru hodinových ručiček). Zakázaný sektor o šířce 60 stupňů se otáčí spolu s arénkou. Teoreticky lze říci, že klíčem pro řešení této úlohy je pasivita (nehybný potkan se otáčí spolu s arénkou a nikdy se nedostane do trestaného sektoru). Proto je při této úloze nutné, aby byl potkan k pohybu po aréně motivován potravou.

#### **4.3.2. Aparatura Morrisova vodního bludiště**

V této úloze si potkan musí zapamatovat pozici ostrůvku skrytého pod hladinou. Využívá k tomu zejména vizuální orientační body. Jedná se tedy o allotetickou navigaci.

Ve vodním bludišti probíhaly experimenty IIa a IIb.

V kruhovém bazénku ( $d=190$  cm) naplněném zakalenou vodou je těsně (cca 2 cm) pod hladinou umístěn ostrůvek z průhledného plexiskla ( $d=10$ cm). Úkolem testovaného potkana je tento ostrůvek najít. Pokud se mu to nepodaří do 60 s, je na ostrůvek doveden experimentátorem. Potkan je k hledání ostrůvku motivován jednak averzí k vodě, později během úlohy pochopí, že nalezení ostrůvku je vstupenkou ven z pokusu. Jedno sezení sestává ze 4 plaveb, z nichž každá začíná pro potkana v jiném sektoru bazénku. Poloha ostrůvku zůstává konstantní v průběhu plaveb a nemění se ani mezi jednotlivými sezeními. Hodnotí se čas, za který potkan ostrůvku dosáhne. Pozice a pohyb potkana v bazénku jsou zaznamenány pomocí kamery a příslušného softwaru.



#### **4.4. BEHAVIORÁLNÍ EXPERIMENTY**

##### **4.4.1. Experiment I**

V tomto pokusu jsme testovali, zda se potkani s lézí posteriorní parietální kůry liší od kontrol při zvládání prostorových úloh a přeučování mezi jednotlivými rámci na kolotočovém bludišti. Ve všech případech byli potkani vystaveni restriktivní dietě a jejich hmotnost se pohybovala na 80-90 %.

##### **4.4.1.1. Experiment Ia**

Celkem bylo použito 16 potkanů, (8 s lézí, 8 kontrol). První 2 dny se potkani habituovali na arénu. Zvířata se pohybovala na stabilní (neotáčející se) aréně, bez šoku a sbírala potravu. Poté následovalo 5 sezení na otáčející se aréně, každé trvající 20 min se sektorem definovaným v rámci místnosti (RM), po nichž následovalo 5 sezení se sektorem definovaným v rámci arény (RA).

##### **4.4.1.2. Experiment Ib**

8 potkanů s lézí PPC a 7 kontrolně operovaných (osmý potkan vyřazen pro špatný zdravotní stav) bylo po implantaci jehly 2 dny habituováno na arénu (stejně jako v 4.4.1.1.). Následovalo 5 sezení po 20 minutách na verzi RA (sektor na „severu“), po nichž následovalo 5 sezení RA se sektorem otočeným o 180°, tedy na „jihu“.

##### **4.4.1.3. Experiment Ic**

Bylo použito 16 potkanů, (8 s lézí PPC, 8 kontrolních). Po 2 dnech habituace následovalo 5 sezení (každé trvalo 20 min) se zakázaným sektorem definovaným arénou (RA), po nichž následovalo 5 sezení RM.

#### 4.4.2. Experiment II

V tomto experimentu byli použiti potkani z předešlé úlohy (z Ia pro IIa a z Ic pro IIb). Obě skupiny byly testovány v Morrisově vodním bludišti. Přístup k potravě byl neomezen.

##### 4.4.2.1. Experiment IIa

V tomto experimentu figurovali potkani použití v experimentu Ia. Byli testováni v Morrisově vodním bludišti (MVB) se vzdálenými body. Mohli se tedy orientovat podle výrazných objektů v místnosti. Uvnitř bludiště se žádné výrazné orientační body nenacházely. Ostrůvek zůstával pod celou dobu pokusu stále na stejném místě. Experiment zahrnoval šest sezení, každé se čtyřmi plavbami. Místa, ze kterých byli potkani vypouštěni se pseudonáhodně měnila a byla definována jako „sever“, „východ“, „západ“ a „jih“.

##### 4.4.2.2. Experiment IIb

V této úloze byli použiti potkani z experimentu Ic. Jednalo se o úlohu Morrisova vodního bludiště, avšak upravenou tak, aby byli potkani nuceni se orientovat podle třech blízkých orientačních bodů umístěných přímo v bazénku (viz. obrázek 11).

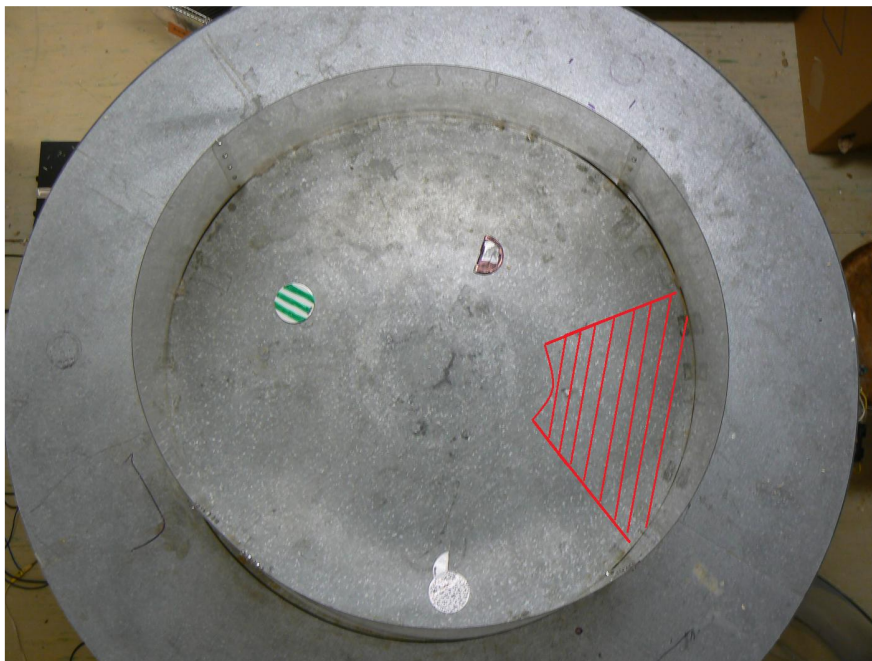


Obrázek11: Fotografie zachycující rozmístění jednotlivých orientačních objektů a ostrůvku (vlevo dole) v rámci bazénku u verze vodního bludiště s blízkými orientačními body.

Bazének byl obklopen černým závěsem, čímž bylo potkanům zabráněno orientovat se podle vnějších orientačních bodů. Pro jistotu byla navíc každý den měněna poloha ostrůvku a orientačních bodů vůči místnosti, ale vzájemná konfigurace ostrůvku a orientačních bodů zůstávala konstantní. Celkem proběhlo 8 sezení, každé s 4 plavbami, při nichž byli potkani pseudonáhodně vypouštěni ze 4 světových stran.

#### 4.4.3. Experiment III

Experiment probíhal na kolotočovém bludišti v úloze dvojitého vyhýbání. Celkem bylo použito 16 potkanů (8 s lézí PPC, 8 kontrolních). Operace proběhly stejně jako u experimentu I. V tomto typu úlohy byla rovněž nezbytná restrikce potravy, hmotnost potkanů klesla na 80-90 % původní hmotnosti. Následovaly nejprve 2 dny habituace na arénu. Aréna byla pro tuto úlohu vybavena třemi značkami uvnitř arény (ploché magnety různých tvarů a povrchových vlastností), které sloužily jako lokální (vnitroarénové) orientační body (obr. 12)



Obrázek 12: Umístění značek v úloze dvojitého vyhýbání, s vyznačenou pozicí trestaného sektoru. Pohled shora.

Po habituaci následovalo 8 sezení na stabilní (nerotující) aréně , ale s trestaným sektorem definovaným rámcem místnosti, každé sezení trvalo 20 min.

Od sezení č. 9 probíhala první polovina sezení stejně jako v sezeních 1 - 8 (stabilní aréna, sektor definován místností), po 10 minutách se ale aréna začala otáčet. Trestán byl sektor definovaný rámcem místnosti i sektor definovaný arénkou (sektory měly do středu arény vykrojený tvar, aby bylo možno uniknout při setkání sektorů středem arénky). Tato verze

dvojitého vyhýbání trvala také 10 min. Takto byli potkani testováni po dalších 8 sezeních. (sezení 9-16). Do statistiky se započítávaly hodnoty pouze z druhé desetiminutovky.

#### 4.4.4. Experiment IV

Experiment probíhal opět na kolotočovém bludišti. Celkem 16 potkanů, 8 s lézí mPFC, 8 kontrolně odoperovaných. Operace viz 4.2.2.

Nejprve 2 dny habituace na arénu. V tomto případě nebyli potkani omezeni v potravě. Po habituaci následovala 4 sezení, každé 20 min. v kolotočovém bludišti, kdy byl trestaný sektor na „severu“, po nichž následovaly 4 sezení RM se sektorem na „jihu“.

Po této fázi experimentů byli potkani omezeni ve stravě, aby snížili hmotnost na 80-90% své výchozí hmotnosti. Potravně motivovaní potkani byli 2 dny habituováni na arénu s možností sbírat kuličky potravy, ale za tmy. Následovalo 5 sezení RA ve tmě.

#### 4.4.5. Schéma experimentů

**Tabulka 2: Schéma experimentů popisuje jakým způsobem na navazovaly jednotlivé části pokusů. V závorkách je uveden počet sezení. RM – rámeček místnosti, RA – rámeček arény, MVB – Morrisovo vodní bludiště, sez. – sezení, PPC posteriorní parietální kůra, mPFC – mediální prefrontální kůra**

Číslo experimentu	Schéma experimentu	Počet kont. potkanů	Počet potkanů s lézí	Druh léze
<b>I.</b>	<b>a</b> RM (5 sez.) > RA (5 sez.)	8	8	PPC
	<b>b</b> RM (5 sez.) > RM (otočený) (5 sez.)	8	7	PPC
	<b>c</b> RA (5) > RM (5)	8	8	PPC
<b>II.</b>	<b>a</b> MVB – vzdálené body (6 sez.)	8 (z Ia)	8 (z Ia)	PPC
	<b>b</b> MVB – blízké body (8 sez.)	8 (z Ic)	8 (z Ic)	PPC
<b>III.</b>	stabilní aréna (20min) (8 sez.) > stabilní aréna (10min) + dvojitě vyhýbání (10min) (8 sez.)	8	8	PPC
<b>IV.</b>	RM (4 sez.) > RM otočený (4 sez.) > RA (za tmy) (4 sez.)	8	8	mPFC

#### 4.5. STATISTIKA A ANALÝZA DAT

U Morrisova vodního bludiště jsme sledovali pouze čas do nalezení ostrůvku.

V úlohách kolotočového bludiště je poloha potkana snímána kamerou a zaznamenávána softwarem pro další analýzu. Mezi nejdůležitější parametry, které se hodnotí, patří počet vstupů do zakázaného sektoru, čas do prvního vstupu, maximální doba vyhýbání, tedy nejdelší čas, po který potkan nevstoupil do zakázaného sektoru. K důležitým parametrům patří dráha, kterou potkan během pokusu urazil, protože vypovídá jednak o motivaci potkana a zároveň může odhalit defekt, který přímo nesouvisí s kognicí (sedace, motorická porucha). Ta slouží zejména jako ukazatel aktivity a motivace potkana.

Výsledky ze všech experimentů (I-IV) byly vyhodnoceny v programu *Statistica* pomocí dvojnásobné ANOVY, s faktorem SKUPINA a opakujícím se faktorem SEZENÍ. *Post-hoc* testy byly provedeny Newmann-Keulsovým testem. V některých případech byl efekt skupiny hodnocen dvouvýběrovým t-testem.

## **4.6. HISTOLOGIE**

### **4.6.1. Usmrcení zvířat**

Po skončení pokusů byla zvířata usmrcena vysokou dávkou barbiturátů (i.p.), transkardiálně perfundována fyziologickým roztokem a následně fixována 4% roztokem formaldehydu. Po fixaci byla zvířata dekapitována, mozky vyjmuty z dutiny lební a uloženy do formaldehydu pro další zpracování.

### **4.6.2. Způsob vytvoření řezů, barvení**

Mozky byly 3 dny před zmražením uloženy do 30% roztoku sacharózy ve formalínu. Poté byly zmraženy na -80°C a nakrájeny na 50 µm řezy. Ty byly obarveny kresylovou violetí. Následně byl vyhodnocen rozsah lézí.

Řezy byly provedeny ve spolupráci s MUDr. Petrem Zachem na 3. lékařské fakultě UK, v Praze.

## 5. VÝSLEDKY

### 5.1. EXPERIMENT I

#### 5.1.1. Experiment Ia

Rotující aréna, sektor definován rámcem místnosti; 5 sezení, následovalo 5 sezení se sektorem definovaným arénou:

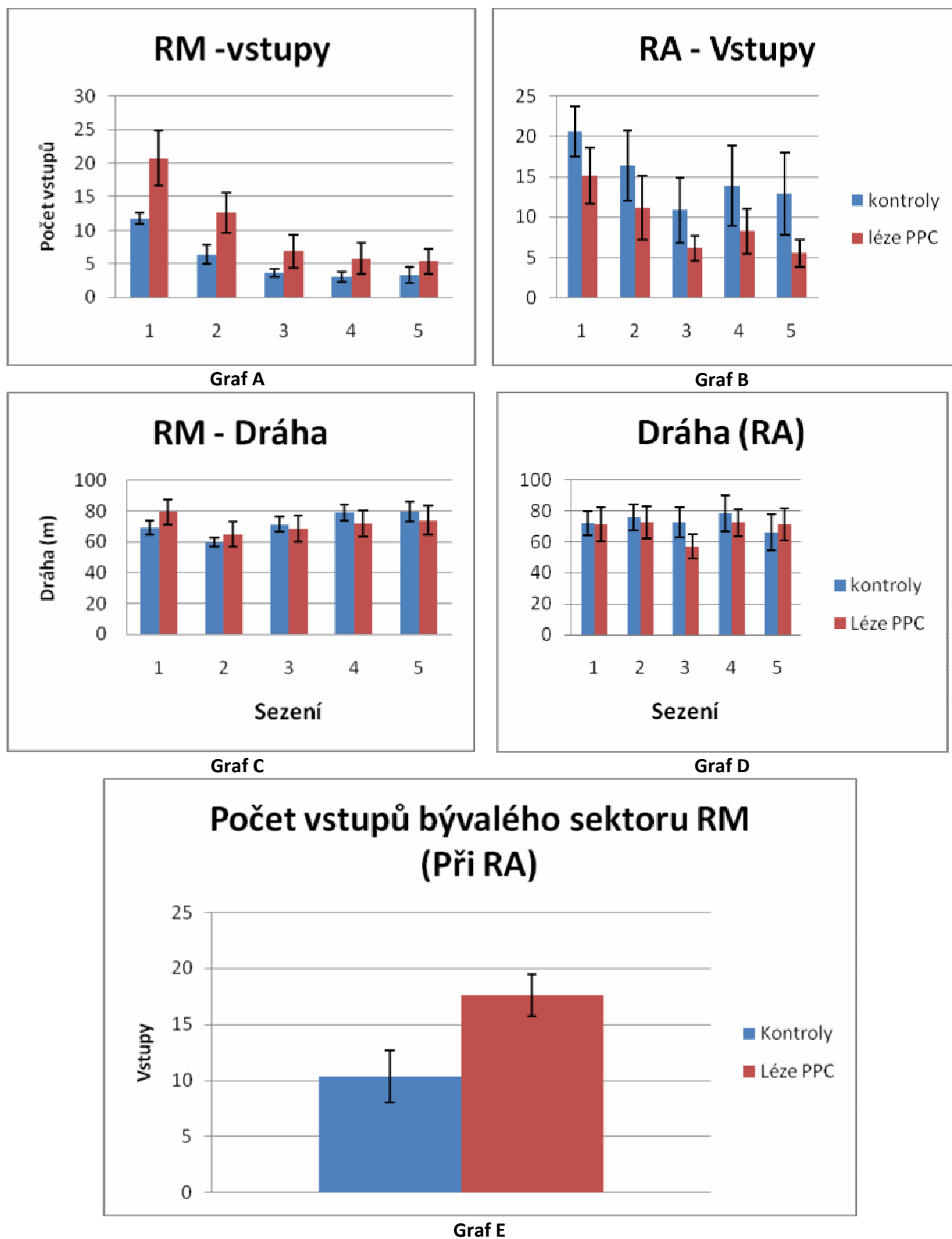
##### Rámec místnosti

Analýza dvojnou ANOVOU ukázala, že parietálně lézovaní potkani byli při učení se na zakázaný sektor definovaný místností mírně zhoršení, těsně nad hranicí signifikance ( $F(1,14)=4,087$ ;  $p=0,063$ ). V čase do prvního vstupu se skupiny mezi sebou nelišily, nejdelší doba vyhýbání se zakázanému sektoru vykazovala podobnou charakteristiku jako vstupy, tedy těsně nad hranicí signifikance ( $F(1,14)=3,44$ ;  $p=0,085$ ). ANOVA však odhalila interakce mezi faktorem Skupina a faktorem Sezení. Je to důsledek kolísání dráhy mezi jednotlivými sezeními.

Rámec arény (RA): Mezi skupinami nebyl nalezen rozdíl v žádném ze sledovaných parametrů (počet vstupů, dráha, dráha do 1. vstupu, max dráha mezi dvěma vstupy). Lézovaní potkani se učí vyhýbání sektoru definovanému rámcem místnosti stejně jako kontroly.

Po ukončení pokusu jsme analyzovali, jakým způsobem potkani zareagovali na změnu podmínek úlohy. Snažili jsme se zjistit, nakolik potkani vstupovali do sektoru, který byl trestaný v minulém sezení (RM). Teoreticky mohou totiž zvířata buď okamžitě opustit vyhýbání se v původním referenčním rámci a učit se v rámci novém, nebo mohou určitou dobu ve vyhýbání se původnímu sektoru vytrvat, při současném učení se novému.

Vyhodnocení trajektorií ukázalo, že parietálně lézovaní potkani vícekrát vstoupili (17,6) do původního sektoru oproti potkanům kontrolním (10,3). Potvrdila to i analýza dvouvýběrovým t-testem  $t(14)=-2,41$ ,  $p=0,03$ . Kontrolní potkani rychle opustili navigaci v RM, se kterou beztak měli potíže a rychle se přeorientovali na navigaci v RA. Kontrolní potkani měli tendenci vyhýbat se oběma sektorům.



Obrázek 13: Grafy - Experiment Ia - Srovnání počtu vstupů (A, B) a dráhy (C, D) v sektoru definovaném místností (RM) a v sektoru definovaném arénou (AR) v experimentu Ia, graf E – porovnání počtu vstupů do bývalého sektoru



### 5.1.2. Experiment Ib

Rotující aréna, sektor definován rámcem místnosti; 5 sezení, následovalo 5 sezení se sektorem otočeným o 180°.

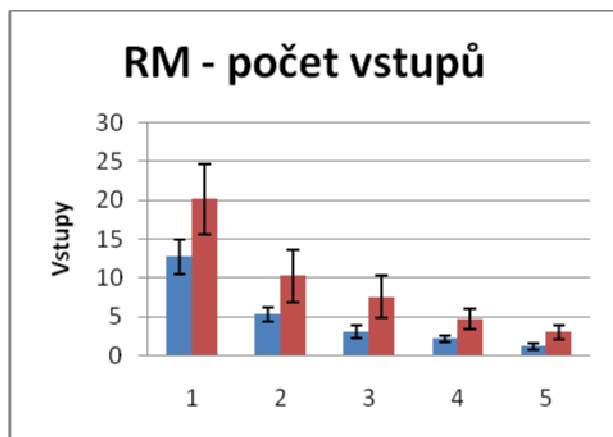
#### Rámec místnosti (RM)

ANOVA neodhalila rozdíl mezi skupinami na základě vstupů ( $F(1,13)=2,81$ ;  $p=0,12$ ). Z grafu je vidět trend k tomu, že jsou potkani s parietální lézí mírně zhoršení. To podporuje i výsledek ANOVY při analýze maximálního času vyhýbání, kde byli parietálně lézovaní potkani signifikantně horší kontrolních ( $F(1,13)=6,21$ ;  $p=0,027$ ). *Post-hoc* test (Neumann-Keuls) nenalezl významný vliv některého sezení. Nebyly nalezeny rozdíly v dráze. Tyto skutečnosti jsou ve shodě s výsledky první části experimentu Ia., kde se jednalo o totožnou úlohu. Rozdíl mezi skupinami se v obou případech pohybuje kolem hranice významnosti a je spíše dílem náhody, zda se hodnota  $p$  bude pohybovat nad, či pod hodnotou 0,05.

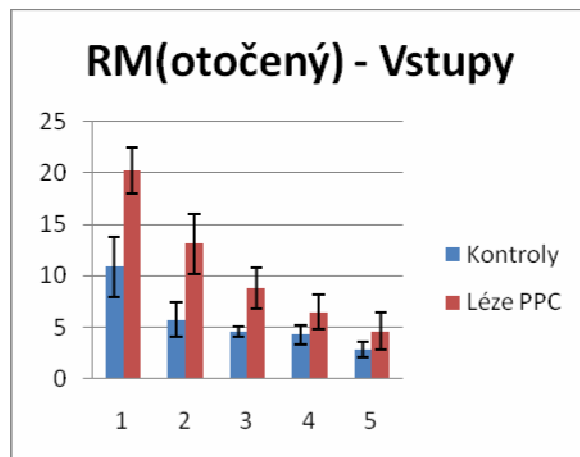
#### Rámec místnosti (RM) otočený o 180°

Jak lze vidět z grafu (B na obrázku 14) tento typ úlohy ještě zvýraznil deficit potkanů s lézí PPC. To odhalil i test dvojnou ANOVOU ( $F(1,13)=6,86$ ;  $p=0,021$ ). *Post-hoc* test odhalil významný rozdíl v sezení 1 ( $p=0,043$ ). Maximální čas vyhýbání se pohyboval na hranici významnosti ( $F(1,13)=4,42$ ;  $p=0,056$ ). Čas do 1. vstupu ani dráha nevykazovaly statisticky významné rozdíly. Potkani s parietální lézí mají potíže při orientaci pomocí vzdálených orientačních bodů (viz Ia (RM) a Ib (RM)). Otočení sektoru jim úlohu ještě ztížilo, což se projevilo na množství vstupů do sektoru, zejména v prvním sezení.

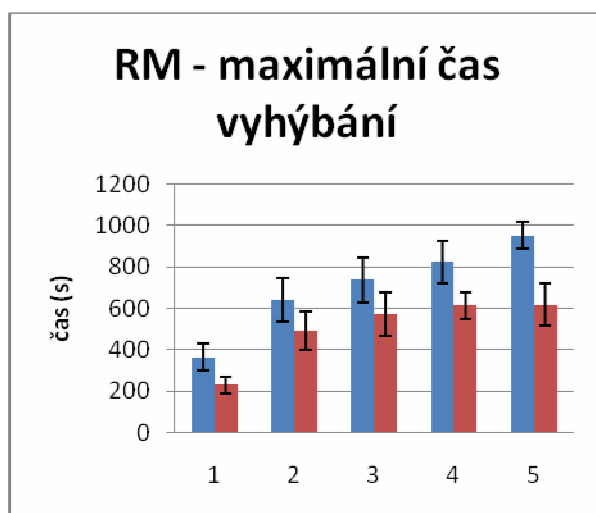
I v tomto případě jsme porovnali počet vstupů do bývalého zakázaného sektoru. Analýzou dvouvýběrovým t-testem jsme nezjistili v počtu vstupů do bývalé zakázané oblasti rozdíl mezi skupinami ( $t(13)=0,14$ ,  $p=0,89$ ). Kontrolní potkani i potkani s lézí PPC opustili vyhýbání v bývalém sektoru stejně rychle.



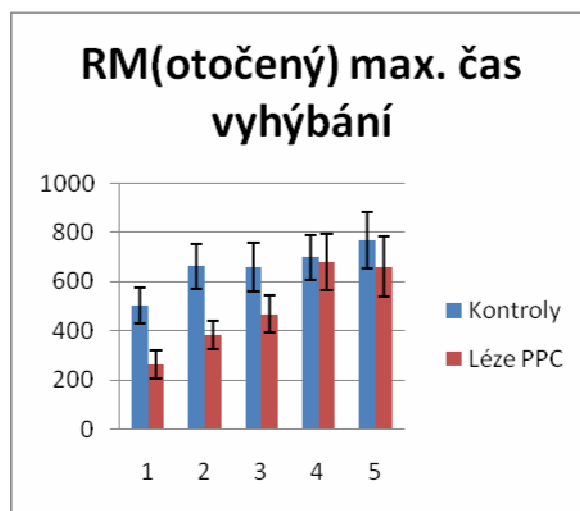
Graf A



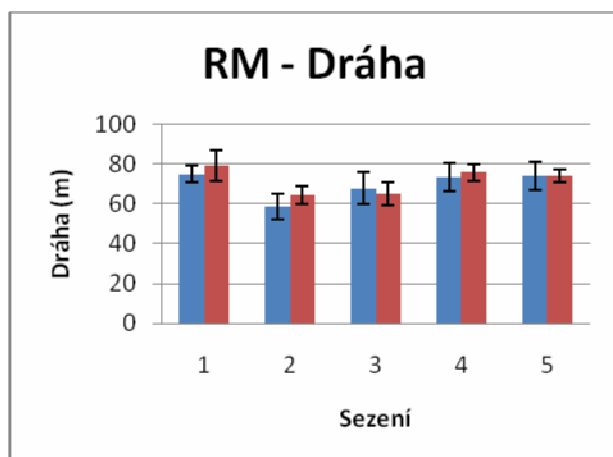
Graf B



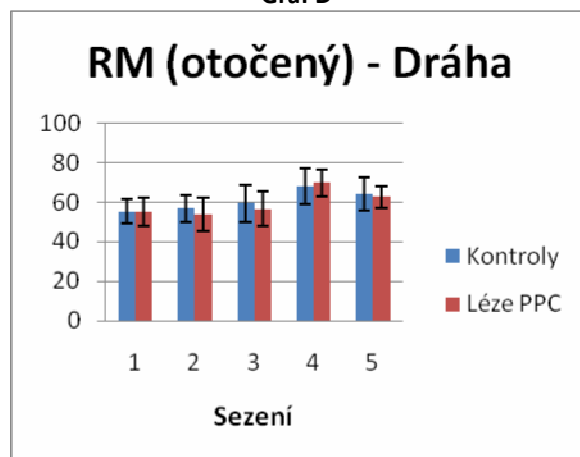
Graf C



Graf D



Graf E



Graf F

Obr 14: Grafy k experimentu Ib - Srovnání počtu vstupů, maximálního času vyhýbání a dráhy v sektoru definovaném místností (RM) a v sektoru otočeném.

### 5.1.3. Experiment Ic

Rotující aréna, nejprve vyhýbání sektoru definovanému arénou (RA; 5 sezení), poté sektoru definovanému rámcem místnosti (RM; 5 sezení).

#### Rámec arény

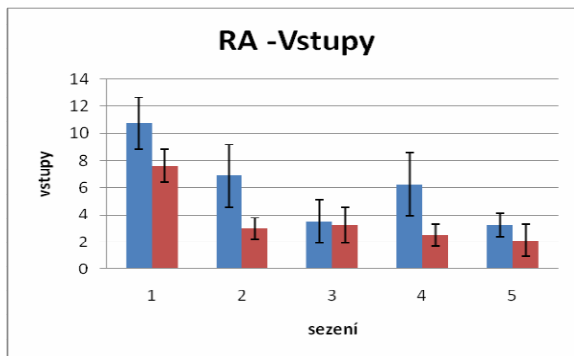
Obě skupiny zvládají tuto úlohu srovnatelně dobře, nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi skupinami. Dráha zvládnutá během sezení však výrazně kolísala, statistická analýza pomocí testu dvojnou ANOVOU odhalila interakce mezi faktorem Skupina a faktorem Sezení  $F(4,56)=2,73$ ;  $p=0,038$ , proto jsme pro jistotu přepočítali počet vstupů na dráhu. Ani po tomto zásahu neodhalila ANOVA žádný rozdíl mezi skupinami. Rozdíl mezi nimi nebyl nalezen ani v případě dráhy do 1. vstupu a maximální dráhy vyhýbání.

#### Rámec místnosti

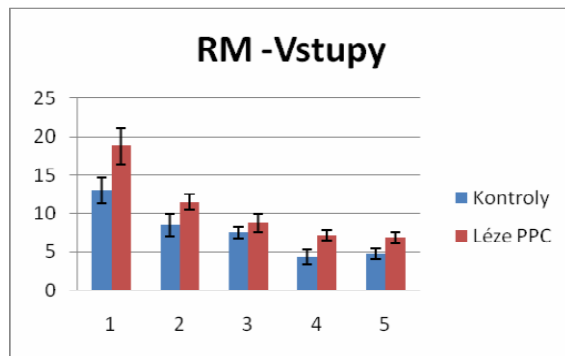
Dvojnou ANOVOU jsme zjistili statisticky významný rozdíl mezi skupinami jak u počtu vstupů ( $F(1,14)=11,61$ ;  $p=0,0042$ ), tak u maximálního času vyhýbání se ( $F(1,14)=8,05$ ;  $p=0,013$ ). *Post-hoc* test navíc u počtu vstupů odhalil statisticky významný podíl 1. sezení. U maximálního času vyhýbání však nikoliv. Další sledované parametry (dráha, čas do prvního vstupu) nevykazovaly rozdíly.

Opět jsme analyzovali počet vstupů do sektoru trestaného v minulé fázi. Analýzu jsme provedli dvouvýběrovým t-testem. V počtu vstupů do bývalé zakázané oblasti nebyl pozorován rozdíl mezi skupinami ( $t(14)=0,89$ ,  $p=0,39$ ).

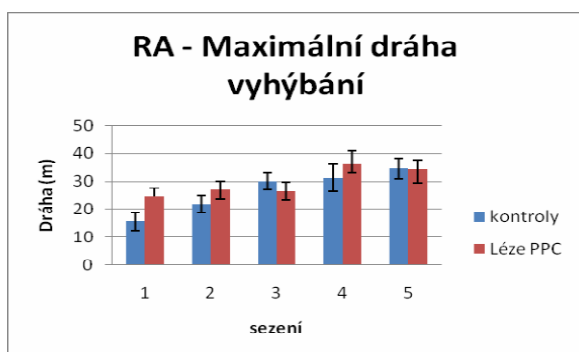
Lze říci, že pokud se potkani s lézí parietální kůry učí nejprve vyhýbat v sektoru definovanému arénou, ještě to prohloubí a zvýrazní jejich deficit při navigaci pomocí vzdálenějších bodů. Zvířata s lézí PPC mají v tomto typu úlohy tendenci preferovat blízké body.



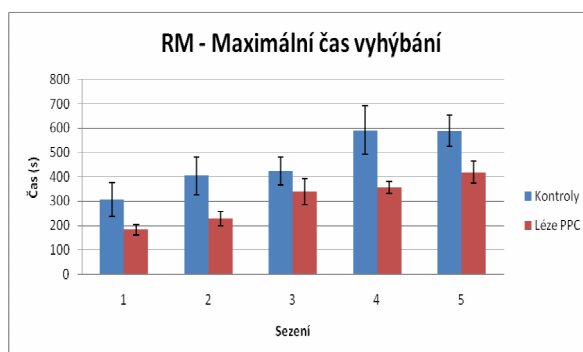
Graf A



Graf B



Graf C



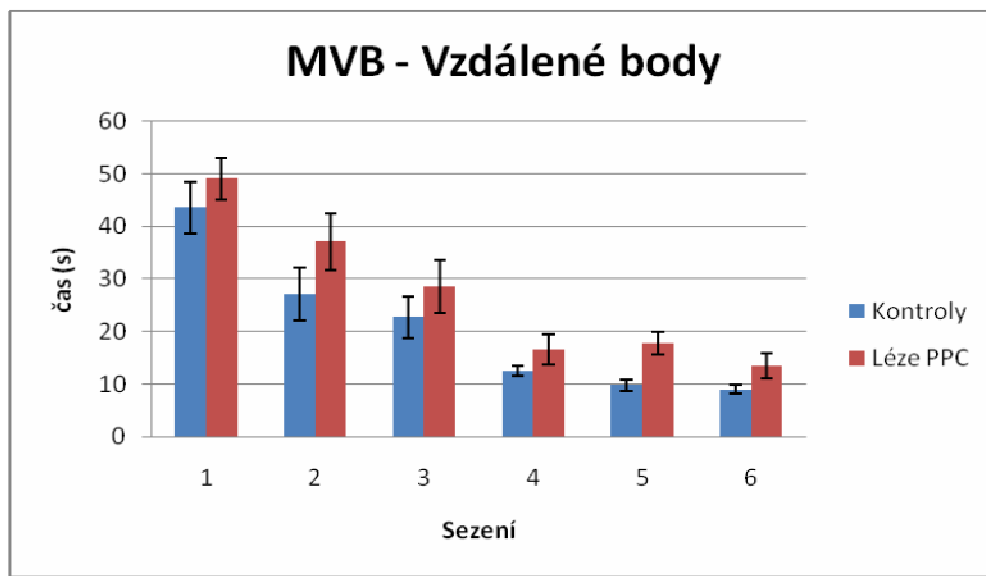
Graf D

**Obrázek 15: Grafy z experimentu Ic - Srovnání počtu vstupů u sektoru definovaného arénou (RA) a počtu vstupů a maximálního času vyhýbání v sektoru definovaném místností (RM) a maximální dráhy vyhýbání v RA.**

## 5.2. EXPERIMENT II

### 5.2.1. Experiment IIa

V Morrisově vodním bludišti (klasická verze se vzdálenými orientačními body) se potkani s lézí PPC při hledání ostrůvku signifikantně nelišili od kontrolních ( $F(1,14)=3,57$ ;  $p=0,08$ ), přestože byli mírně zhoršení. (Zhoršení odpovídá výsledku z kolotočového bludiště).



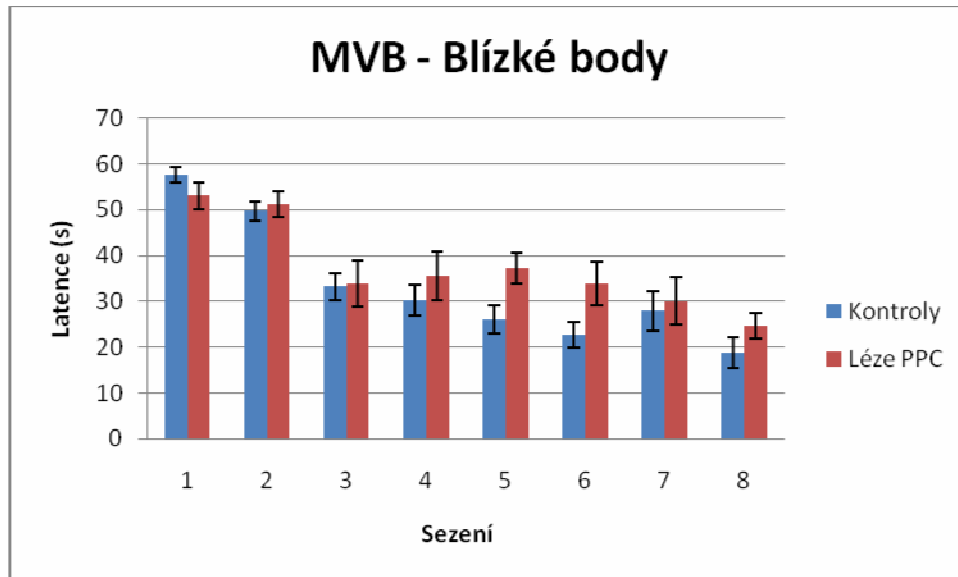
Obrázek 16: Graf k experimentu IIa - Allotetická verze Morrisova vodního bludiště

### 5.2.2. Experiment IIb

V úloze v Morrisově vodním bludišti závislé na blízkých bodech však potkani s lézí PPC vykazovali při hledání ostrůvku mírné, avšak signifikantní zhoršení vůči kontrolním.

ANOVA:  $F(1,14)=7,48$ ;  $p=0,016$ . *Post-hoc* test neodhalil významný podíl žádného sezení.

Tyto výsledky jsou v rozporu s výsledkem na kolotočovém bludišti (experiment I).



Obrázek17: Graf k experimentu IIb - Morrisovo vodní bludiště, blízké body.

### 5.3. EXPERIMENT III

Pokus probíhal na kolotočové aréně v úloze dvojitého vyhýbání. Potkani se (10 min) vyhýbali ve dvou sektorech (8 sezení). Data z obou sektorů byla analyzována zvlášť.

#### Rámec místnosti

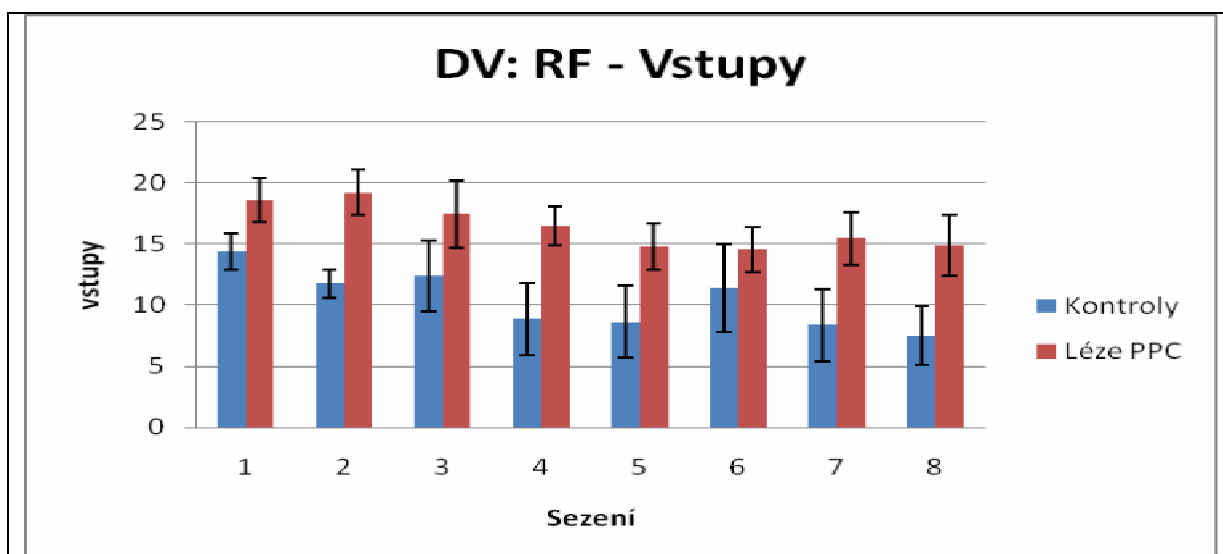
Potkani s parietální lézí PPC byli mírně (ale statisticky významně) zhoršeni oproti kontrolním v počtu vstupů ( $F(1,15)=6,54$ ;  $p=0,022$ ), v času do prvního vstupu ( $F(1,15)=5,29$ ;  $p=0,036$ ) i v maximálním čase vyhýbání ( $F(1,15)=7,22$ ;  $p=0,016$ ). *Post-hoc* testy neodhalily ani v jednom z případů žádný konkrétní rozdíl v určitém sezení.

#### Rámec arény

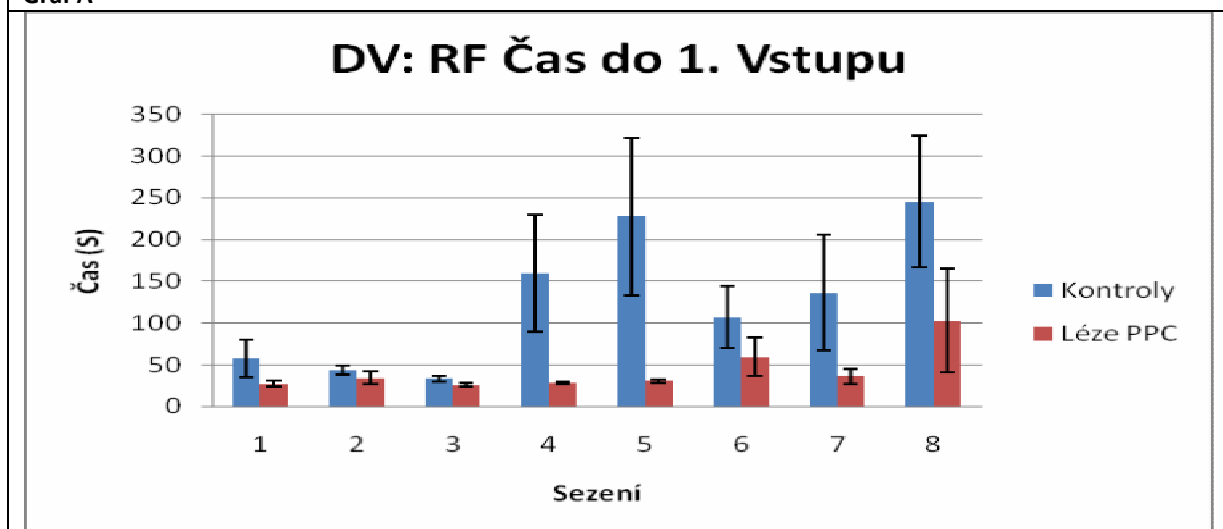
Potkani s lézí PPC i kontrolně operovaní se vyhýbali tomuto sektoru stejně dobře, ať šlo o počet vstupů, maximální dobu vyhýbání se, i čas do prvního vstupu. Ani statistická analýza dráhy neukázala na rozdíly mezi skupinami.

#### Oba rámce najednou

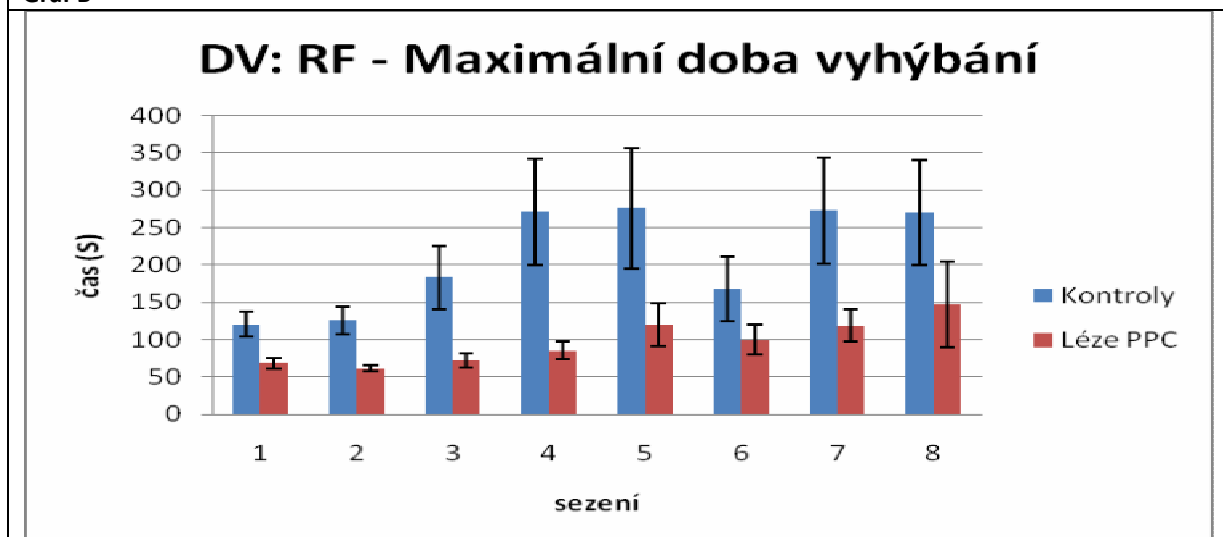
Pokud vezmeme v úvahu celkový počet vstupů, v průběhu celého sezení, nenajdeme při použití metody ANOVA mezi potkany s lézí a kontrolními rozdíl.



Graf A



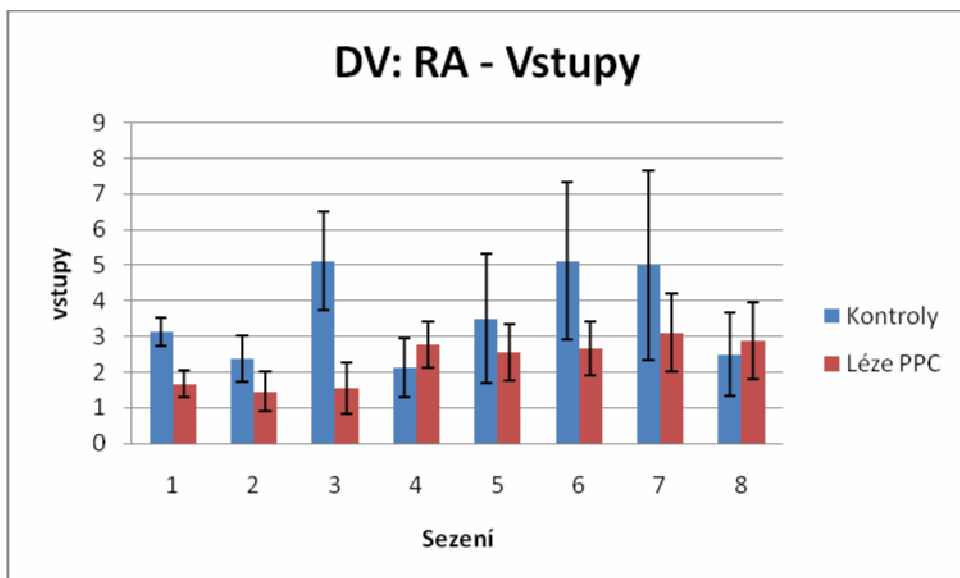
Graf B



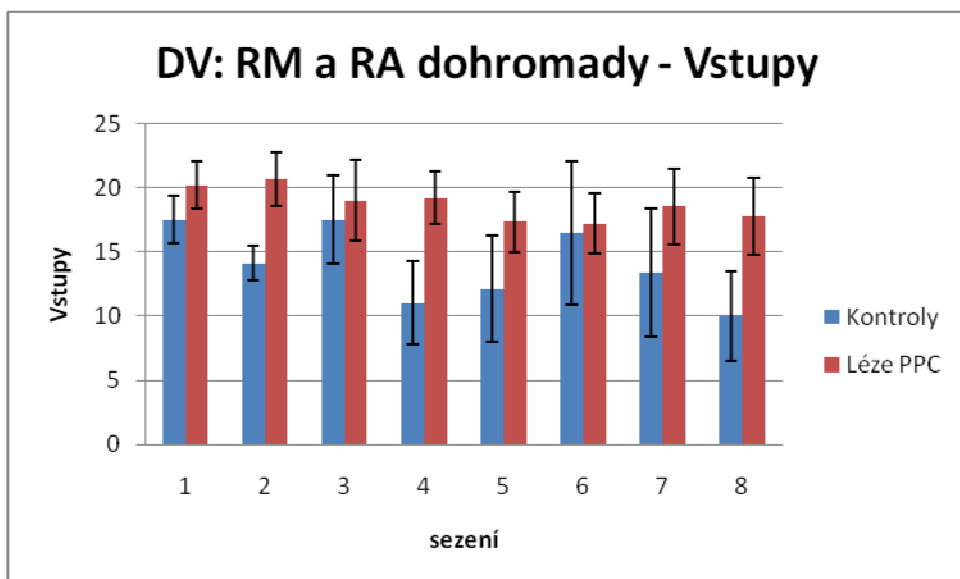
Graf C

Obrázek 18: Grafy k experimentu III - Úloha dvojitého vyhýbání, sektor definovaný místností: počet vstupů, čas do 1. vstupu a maximální doba vyhýbání.

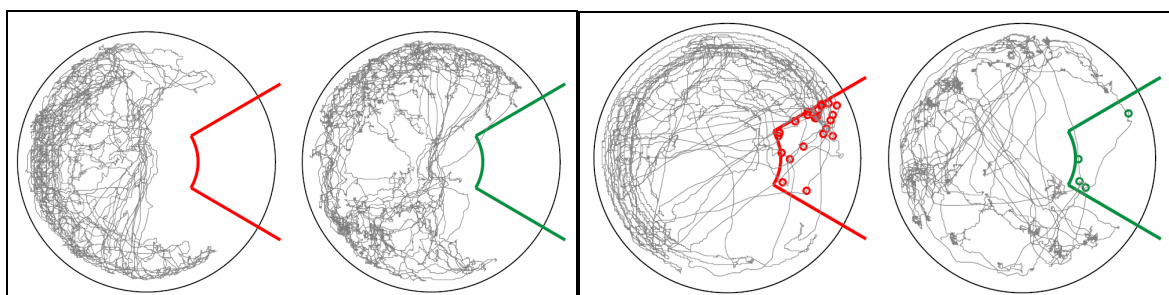




Obrázek 19: Graf znázorňuje počet vstupů v sektoru definovaném arénou.



Obrázek 20: Graf znázorňuje celkový počet vstupů do obou sektorů.



Obrázek 21: Srovnání trajektorií kontrolně operovaného potkana (vlevo) a potkana s lézí PPC (vpravo) při dvojitém vyhýbání. Oba diagramy pocházejí z 8. sezení. Červeně sektor vymezený místností (RM), zeleně sektor vymezený arénou. Z diagramu je vidět, že úlohu dvojitého vyhýbání se místu může zdravý potkan zvládnout. U potkana s lézí je charakteristický vysoký počet šoků (kroužky) do RM.

#### 5.4. EXPERIMENT IV

Potkani s lézí mPFC a kontrolně operovaní v kolotočovém bludišti. Rotující aréna. Nejprve se učili na sektor místnosti (4 sezení), poté na otočený sektor místnosti (4 sezení). Po habituaci na potravu a tmavou arénu, proběhlo 5 sezení na sektoru definovaném arénou za tmy.

##### Sektor definován místností,

ANOVA neprokázala významný rozdíl mezi skupinami u vstupů ani u dráhy, nicméně odhalila rozdíl v čase do prvního vstupu ( $F(1,15)=5,24$ ;  $p=0,03$ ) a v maximálním čase vyhýbání ( $F(1,15)=6,07$ ;  $p=0,026$ ). V obou případech byli potkani s lézí mPFC zhoršeni. Následný *post-hoc* test odhalil, že rozdíl je zapříčiněn rozdílem ve 3. sezení.

Stalo se to nejspíše proto, že léze mPFC má vliv na krátkodobou pracovní paměť. Díky tomu mají lézovaní potkani problém zapamatovat si minulé sezení.

##### Sektor definován místností-otočený

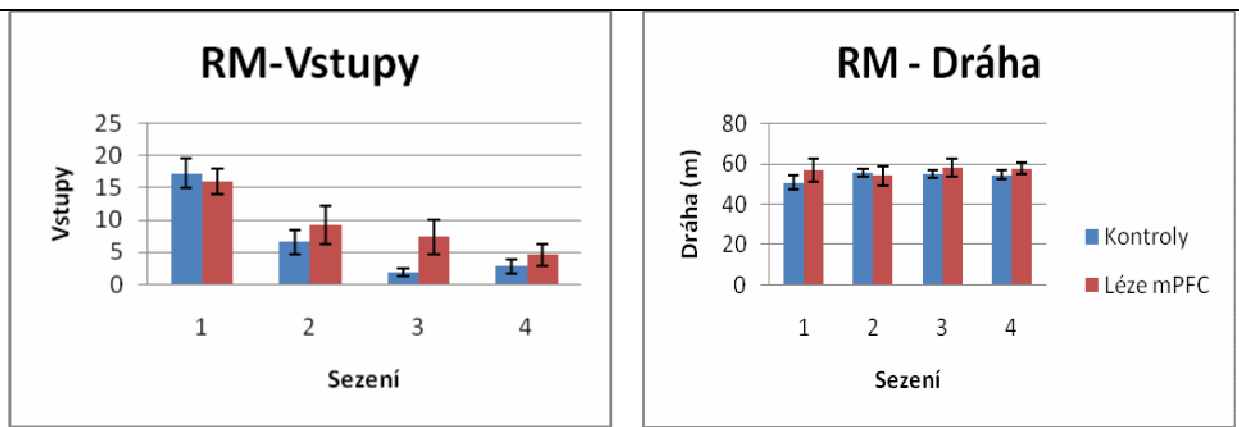
Dvojná ANOVA s nenašla rozdíl mezi skupinami v žádném ze sledovaných parametrů (Počet vstupů, dráha, čas do 1. vstupu, Maximální doba vyhýbání se)

I v tomto případě jsme provedli analýzu vstupů do sektoru trestaného v předchozím bloku sezení. Pomocí dvouvýběrového t-testu jsme zjistili, že v počtu vstupů do bývalé zakázané oblasti nebyl pozorován rozdíl mezi skupinami ( $t(15)=0,76$ ,  $p=0,46$ ).

##### Sektor definován arénou, za tmy

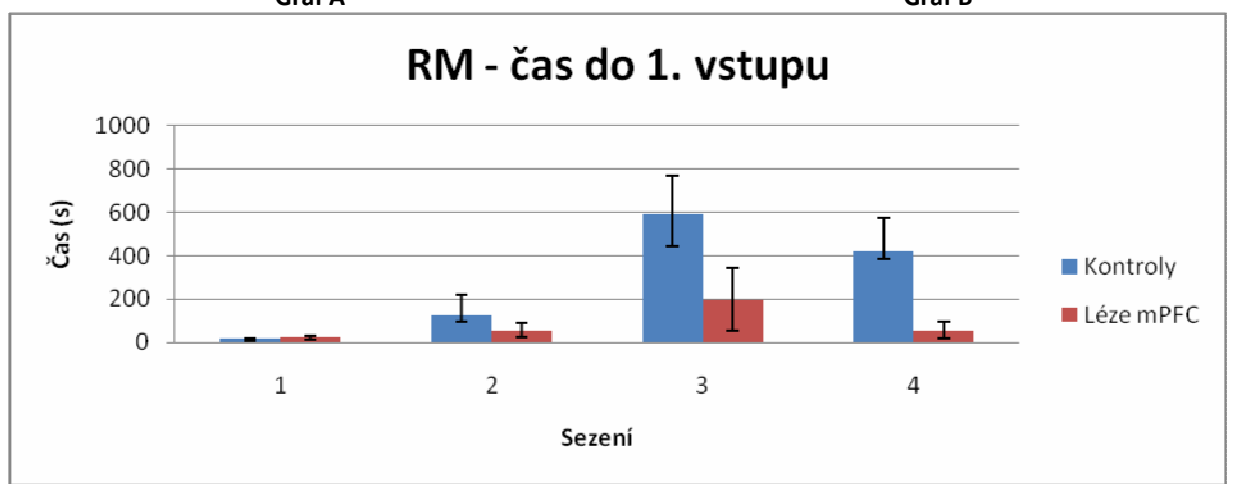
Pomocí statistiky dvoucestnou ANOVOU s opakovanými měřeními jsme nenašli rozdíl mezi skupinami v žádném ze sledovaných parametrů (Počet vstupů, dráha, čas do 1. vstupu, Maximální doba vyhýbání se).

Potkanům s lézí mPFC jde vyhýbání se arénou definovanému sektoru dobře. Nejedná se o přeučování, neboť pokus probíhá za jiných podmínek, navíc před tím proběhla habituace.

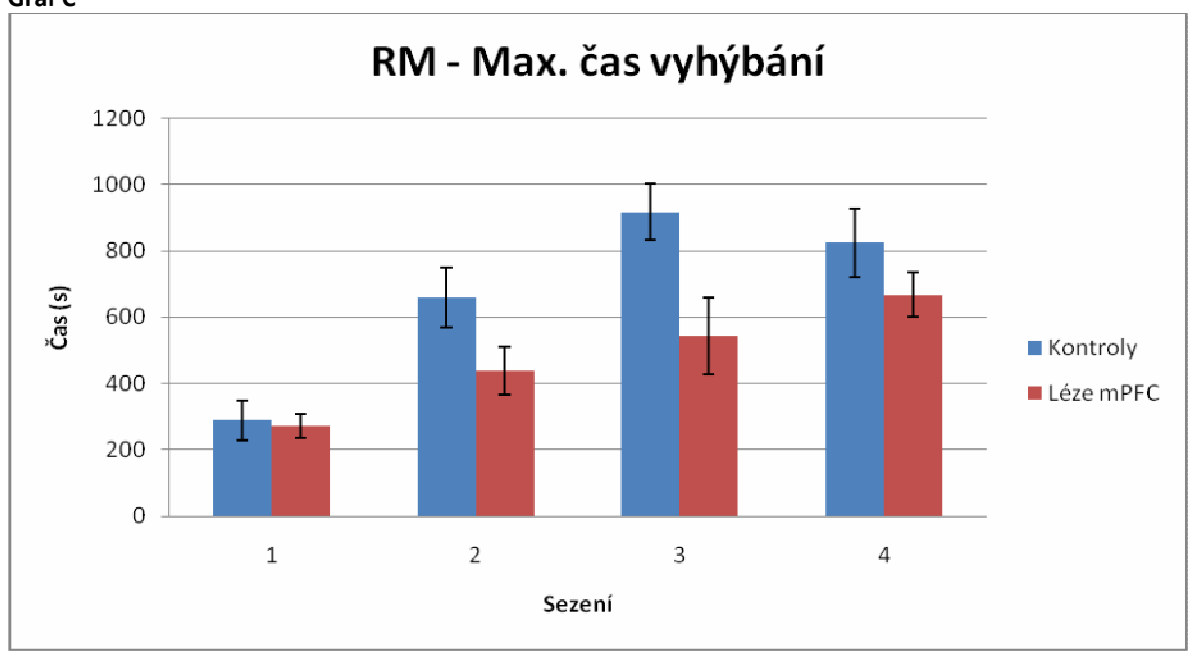


Graf A

Graf B

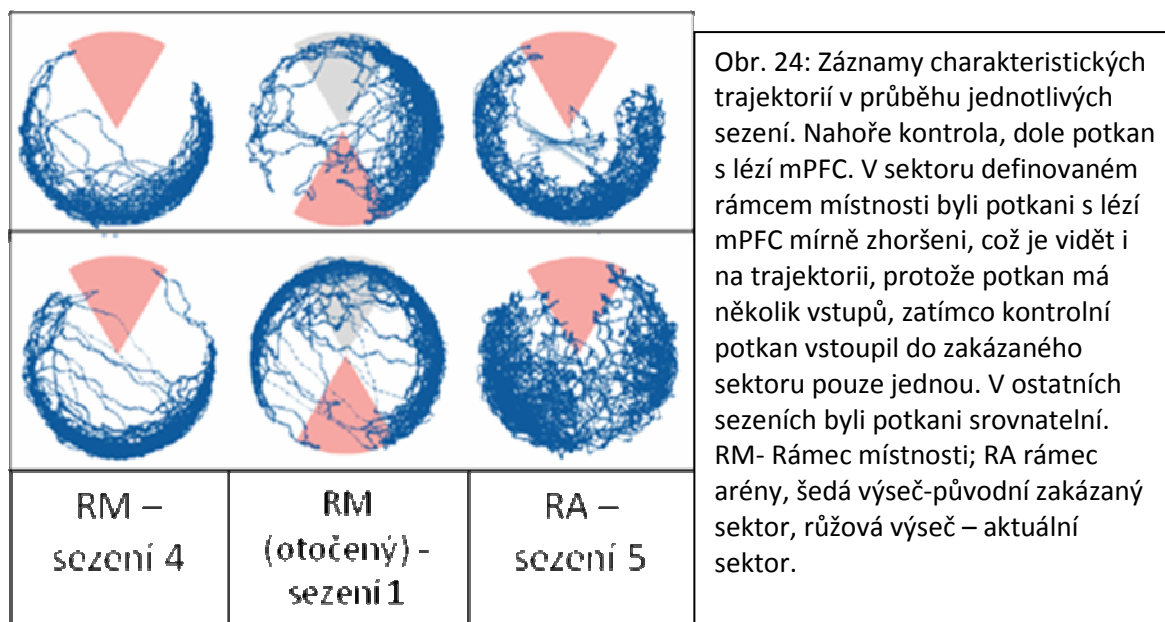
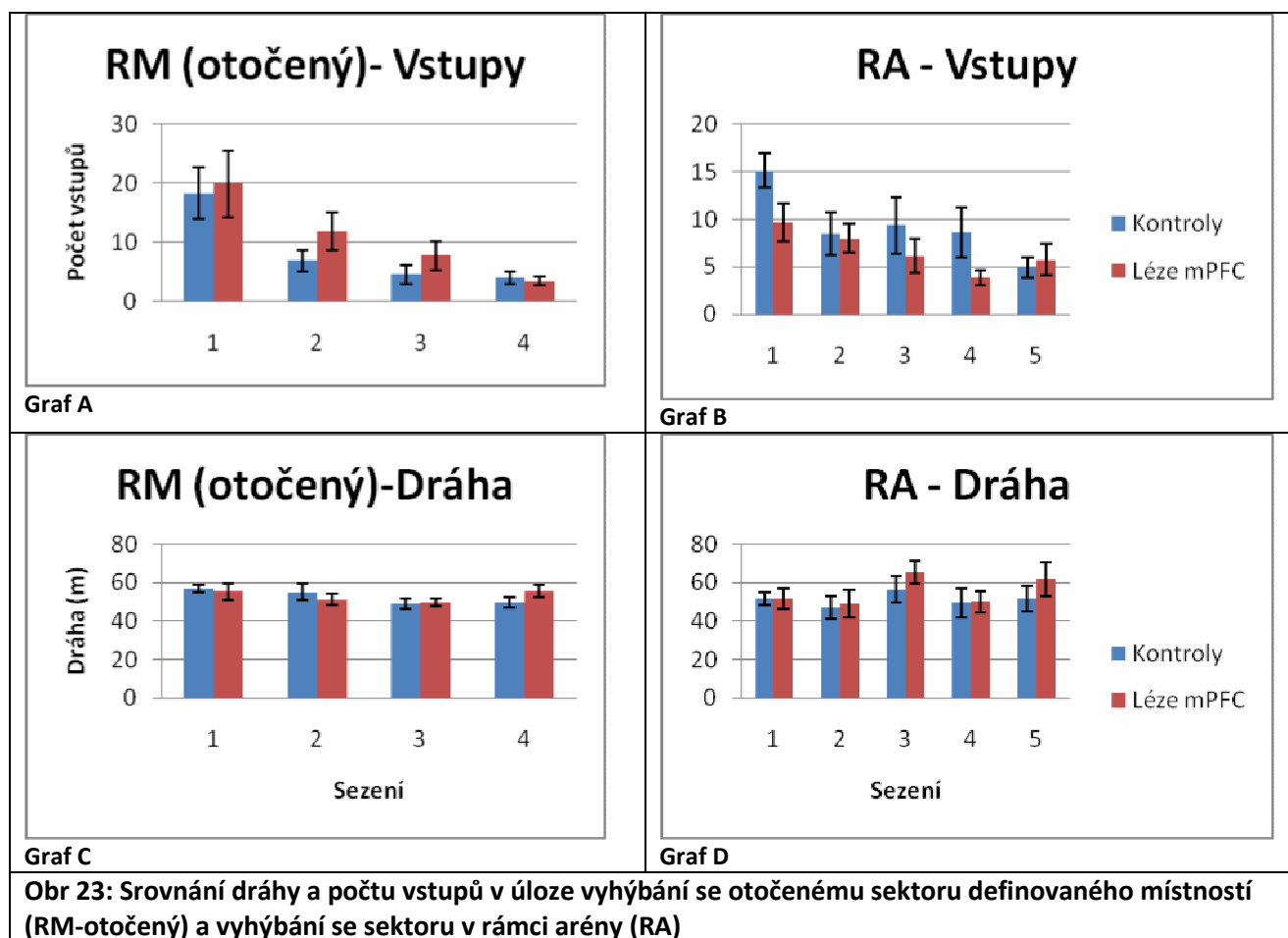


Graf C



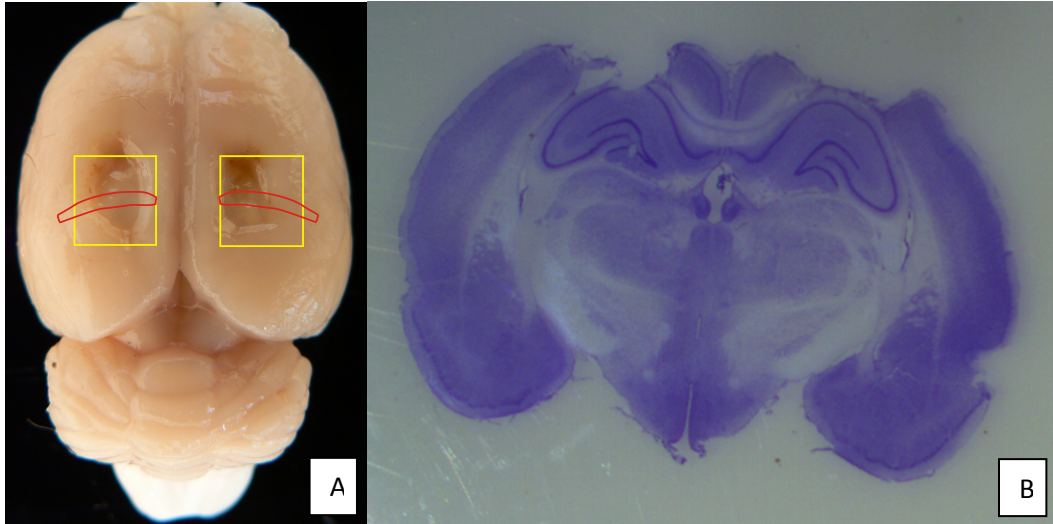
Graf D

Obr. 22: Grafy k experimentu IV – v sektoru určeném místností. Počet vstupů, dráha, čas do 1. vstupu a maximální čas vyhýbání u sektoru definovaného rámcem místnosti.

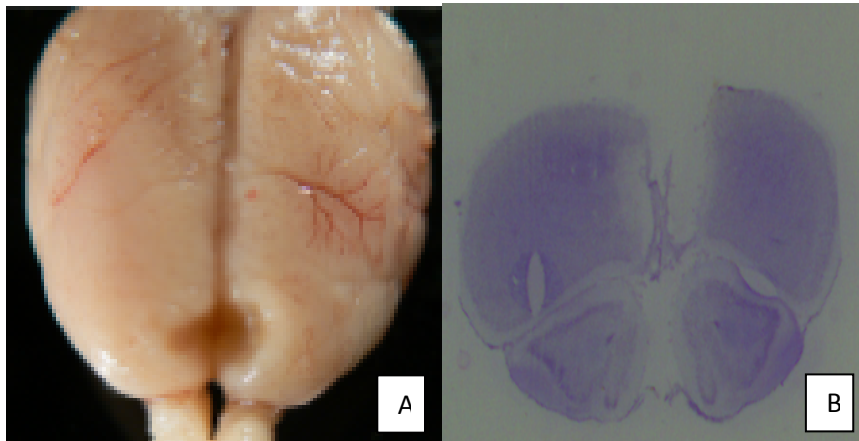


## 5.5. HISTOLOGIE

Vyhodnocení lézí bylo provedeno jednak makroskopicky ihned po vyjmutí mozku, následně také na histologických řezech obarvených kresyl violetí. Rozsah lézí odpovídal příslušným oblastem, tedy posteriorní parietální kůře nebo mediální prefrontální kůře.



Obrázek 25, A: Fotografie typické léze, žlutě rozsah PPC podle Kolb a Walkey (1987), červeně rozsah podle Corwin a Reep (2009). B: Mikrofotografie řezu zachycující typickou lézi PPC.



Obrázek 26, A: Makroskopický pohled na typickou lézi mPFC. B: Mikrofotografie řezu demonstrující typickou lézi mPFC.

## 6. DISKUSE

### 6.1. PARIETÁLNÍ LÉZE

V experimentu I se ukázalo, že potkani s lézí PPC mají potíže zvládat vyhýbání se sektoru definovanému v rámci místnosti. V úloze vyhýbání bez přečování se deficit pohyboval na hranici významnosti. Mnoho autorů popisuje mírné zhoršení díky lézi PPC v testech založených na navigaci pomocí vzdálených bodů (Kolb a Walkey, 1987; Thinus-Blanc a kol., 1996). Na kolotočové aréně ale Svoboda a kol. (2008) deficit potkanů při vyhýbání se jak v rámci místnosti, tak v rámci arény nepozoroval.

Naše úloha byla ztížena přečováním na sektor otočený o 180 °, deficit lézovaných potkanů dosáhl v počtu vstupů statisticky významné hodnoty ( $p=0,029$ ). V experimentu, kdy se lézovaní potkani nejprve učili verzi se sektorem definovaným arénou, jejich zhoršení již bylo statisticky významné, jak u počtu vstupů ( $p=0,0042$ ), tak v čase maximálního vyhýbání ( $p=0,013$ ).

Proto by se mohlo na první pohled zdát, že tento deficit je způsoben přečováním. PPC má četná spojení s frontálním lalokem, který je dáván do souvislostí se změnami strategie. Například Fox a kol. (2003) popisují zhoršení potkanů s parietální lézí v testu na behaviorální flexibilitu (změnu strategie). V popisované studii byli potkani s lézí PPC zhoršení v rozlišování mezi vůní a taktilními podněty. Zdá se, že deficit našich potkanů tímto způsobem vysvětlit nelze, protože potkani s lézí PPC jsou schopni se přečít ze sektoru definovaného místností na sektor definovaný arénou bez potíží (Experiment Ia). Navíc, pokud by šlo o defekt behaviorální flexibility, pramenily by chyby z toho, že se potkani snaží vyhýbat v sektoru, který byl trestaný v první fázi tréninku. Analýza vstupů do bývalých sektorů toto nepotvrdila. Naopak v experimentu Ia mají lézovaní potkani výrazně více vstupů, než kontrolní a data spíše indikují to, že potkani s lézí PPC preferují orientační body uvnitř arény. Řada autorů však popisuje zhoršení parietálně lézovaných potkanů v bludištích závislých na blízkých bodech, což je pravý opak toho, co jsme pozorovali my. Například Rogers a Kesner (2006) zabránili potkanům s lézí PPC využívat vzdálené orientační body v Hebb-Williamsově bludišti a jejich výkon se oproti kontrolám zhoršil. Zde se však nejspíše jedná o egocentrickou navigaci (sekvence zatáček a pohybů těla), aniž by se zvířata musela orientovat alloteticky. Save a Poucet (2000) testovali parietálně lézované potkany ve vodním bludišti s ostrůvkem definovaným orientačními body uvnitř bludiště, kde tito potkani byli výrazně zhoršení oproti kontrolám. My jsme tento pokus zopakovali s potkany z pokusu Ia (experiment IIb). Výsledek potvrdil nález Saveho a Pouceta (2000). Potkani s lézí PPC byli při navigaci pomocí

blízkých bodů signifikantně zhoršení. Na kolotočovém bludišti jsme tedy došli k odlišným závěrům, než v Morrisově vodním bludišti. Jedním z možných vysvětlení je rozdílný charakter obou úloh. V principu úlohy v Morrisově vodním bludišti musí potkan najít ostrůvek o velikosti pouze 5% velikosti arény, naproti tomu v kolotočové aréně se musí vyhýbat sektoru, který zabírá asi 17 % rozlohy arény. K dispozici pro správné řešení tedy zůstává 83% plochy arény (oproti 5% u MVB). Obě úlohy se také liší v informačních vstupech, se kterými může zvíře pracovat. V Morrisově vodním bludišti je odkázáno téměř výhradně na vizuální podněty, zatímco na suché aréně si potkan může vytvořit vlastní pachové značky, podle kterých se orientuje. Pravděpodobně není v silách potkana během jednoho sezení označovat celý zakázaný sektor, ale stačí, aby označil „bezpečná místa“ ke kterým se může neustále vracet.

Další podstatný rozdíl mezi arénami je ten, že se kolotočové bludiště otáčí stále jedním směrem. To usnadňuje navigaci, protože k úniku stačí znát směr, který zvolit.

V neposlední řadě je třeba poukázat na to, že navigace v Morrisově vodním bludišti pomocí blízkých bodů je poměrně náročná. Zatímco vzdálené body jsou vzhledem k pohybu potkana stabilní, blízké body mění svou prostorovou konfiguraci v závislosti na pohybu pozorovatele. Potíže při využití vzdálených navigačních bodů, spolu s výrazným deficitem při využití blízkých vizuálních bodů vyvolávají dojem, že by se mohlo jednat o spíše o sensorický deficit (zrakový). Zrakový i jakýkoliv jiný procedurální deficit se dá nejjednodušeji otestovat plavbou na viditelný ostrůvek v Morrisově vodním bludišti. V literatuře dostupné výsledky konzistentně ukazují, že potkani s lézí PPC nemají potíže s nalezením viditelného ostrůvku, ačkoliv jsou zhoršeni v jiných prostorových úlohách např. Kolb a Walkey. (1987), Save a Poucet (2000). Proto jsme se touto možností v experimentu nezabývali.

Save a Poucet (2000) v rámci svého pokusu testovali potkany i ve verzi s možností využívat vzdálených bodů k navigaci. V tomto uspořádání nenalezli rozdíl mezi skupinou s lézí PPC a kontrolními potkany. My jsme tento pokus zopakovali (se zvířaty z experimentu Ic) se stejným výsledkem (experiment IIb).

V úloze, kdy se potkani museli vyhýbat oběma sektorům najednou (jeden definovaný rámcem místnosti, druhý rámcem arény), se kontrolní potkani snažili vyhýbat sektoru definovanému v rámci místnosti, což mělo za následek více vstupů do sektoru definovaného arénou.

Postupně se ale i vstupy v arénovém sektoru snižovaly. Potkani s parietální lézí se snažili také vyhýbat v rámci místnosti. To jim činilo potíže a pokud bychom brali pouze sektor definovaný místností, tak byli statisticky zhoršeni v počtu vstupů, čase do 1. vstupu i

v maximálním čase vyhýbání. V sektoru definovaném arénou jsme s pomocí statistiky nenalezli žádné rozdíly. Stejně je tomu i v případě, když analyzujeme společně vstupy z obou sektorů. Významný je tedy rozdíl pouze v sektoru definovaném místností. V kontextu s výsledky z experimentu I to není až tak překvapivé. Potkani opět demonstrují potíže s vyhýbáním se v sektoru místností. Proto preferují k vyhýbání sektor arény. Tento efekt se projeví i díky tomu, že úloha dvojitého vyhýbání klade na navigaci vysoké nároky. Tím, že potkan s parietální lézí musí kombinovat oba rámce, projeví se jeho deficit při vyhýbání se v sektoru místností výrazněji. Jinými slovy by se dalo říci, že na rozdíl od kontrolního potkana není schopen úhybný manévr naplánovat tak, aby se sektoru místností efektivně vyhnul. Je pravděpodobné, že kdyby experiment trval déle (více sezení) postupně by se rozdíl mezi potkany s lézí PPC a kontrolami prohluboval právě díky tomuto nedostatku.



## 6.2. PREFRONTÁLNÍ LÉZE

Při učení na sektor daný místností byli potkani s lézí mPFC zhoršení v parametrech čas do 1. vstupu a maximální čas vyhýbání oproti kontrolně operovaným. Nejvýraznější efekt se projevil ve 3. sezení. DeBruin a kol. (1997) ukázal, že léze mPFC má vliv na pracovní paměť. To může vysvětlit, proč jsou potkani s lézí mPFC zhoršení. Díky deficitu pracovní paměti mají problém si zapamatovat události z předchozího sezení. Pokud sektor otočíme o 180°, prefrontálně lézovaní potkani zhoršení nejsou.

Otázkou zůstává, proč byli lézovaní potkani horší v prvním bloku sezení a v druhém (při otočeném sektoru) již horší nebyli. Jedno z možných vysvětlení je založeno na tom, že potkani s lézí mPFC zvládají úlohu v Morrisově vodním bludišti bez potíží (Lacroix a kol. 2002). Je možné, že během první fáze experimentu se naučili (byť s počátečními obtížemi) strategii, jak úlohu řešit a v další fázi experimentu tuto strategii pouze aplikovali na danou úlohu.

Poškození mPFC je také často dáváno do souvislosti s neschopností změnit strategii (behaviorální flexibilitou). Tento defekt by se mohl projevit právě v úloze přeučování (otočený sektor). Dias a Aggleton (2000) například popisují neschopnost potkanů s lézí mediální prefrontální kůry změnit strategii při alternaci v T-bludišti. Většina autorů se, ale shoduje na tom, že aby se projevil efekt léze mPFC musí se měnit strategie z jedné modality do druhé (z vizuální na hmatovou a podobně). To, že se defekt mPFC neprojevil je ve shodě s dosavadní literaturou.

Při verzi se sektorem definovaným arénou ve tmě nebyli mezi potkany s lézí mPFC a kontrolně operovanými statisticky významné rozdíly ani v jednom z parametrů. Nejedná se o přeučování, neboť mu předchází nová habituace, navíc experiment probíhal za tmy

## 7. ZÁVĚR

V této práci jsme se snažili přispět k rozšíření znalostí o korových oblastech mozku, zejména posteriorní parietální a prefrontální oblasti neokortexu.

V experimentu I jsme zjistili, že potkan s lézí PPC má v kolotočovém bludišti deficit v orientaci podle rámce místnosti, proto se snaží preferovat vnitroarénový orientační rámec. Největší potíže dělalo potkanům přeučování ve chvíli, kdy se přeučovali z rámce arény na rámec místnosti.

V experimentu II byli potkani testováni v úloze v Morrisově vodním bludišti. Potkani s lézí PPC zvládali úlohu s orientačními body v rámci místnosti dobře, ale potíže jim činila úloha s orientačními body uvnitř arény.

V experimentu III jsme potkany testovali v úloze dvojitého vyhýbání. Potkani s lézí parietální kůry problémy s vyhýbat se sektoru definovanému rámcem místnosti. V celkovém počtu vstupů však oproti kontrolám zhoršení nebyli.

V experimentu IV jsme testovali potkany s poškozením mPFC v kolotočovém bludišti. Poškození mělo za následek zhoršení při učení první úlohy, v následných testech (otočený rámec místnosti a rámec arény ve tmě) se od kontrolních potkanů nelišili.

Myslím si, že tato práce přispěla k rozšíření našich znalostí o funkci zkoumaných struktur, zejména PPC. Důležitým objevem je fakt, že se potkani s lézí PPC dokáží v kolotočovém bludišti bez problémů vyhýbat s využitím blízkých bodů. To je v rozporu s dosavadním poznáním. To vyvolává otázku jaké orientační body (soustavy bodů) jsou pro lézovaného potkana relevantní a proč? Tedy zda by bylo možné změnou některých parametrů v kolotočovém bludišti dosáhnout podobných výsledků jako v MVB.

## 8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Balint R. (1909) Seelenlähmung des “Schauens,” optische Ataxie, räumliche Störung der Aufmerksamkeit. *Monatsschrift. Psychiatrie, Neurologie*, 25, 51–81.
2. Bear MF. (2007): *Neuroscience: Exploring the Brain*, Lippincot Williams & Wilkins
3. Berendse HW, Groenewegen HJ. (1991) Restricted cortical terminal fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neuroscience* 42:73–102.
4. Birrell JM, Brown VJ. (2000) Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *J Neurosci*. 20(11):4320-4
5. Brodmann K. (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde*. Leipzig: Barth
6. Broussard JI, Karelina K, Sarter M, Givens B. (2009) Cholinergic optimization of cue-evoked parietal activity during challenged attentional performance. *Eur J Neurosci*. 29(8):1711-22
7. Bucci DJ, Holland PC, Gallagher M.(1998) Removal of cholinergic input to rat posterior parietal cortex disrupts incremental processing of conditioned stimuli. *J Neurosci*. 18(19):8038-46.
8. Bucci DJ, Chess AC. (2005) Specific changes in conditioned responding following neurotoxic damage to the posterior parietal cortex. *Behav Neurosci*. 119(6):1580-7.
9. Bucci DJ, Macleod JE. (2007) Changes in neural activity associated with a surprising change in the predictive validity of a conditioned stimulus. *Eur J Neurosci*. 26(9):2669-76
10. Burcham K.J., Corwin J.V., Stoll M.L., Reep R.L. (1997). Disconnection of medial agranular and posterior parietal cortex produces multimodal neglect in rats. *Behav Brain Res*. 86(1):41-7.
11. Burton BG, Hok V, Save E, Poucet B. (2009) Lesion of the ventral and intermediate hippocampus abolishes anticipatory activity in the medial prefrontal cortex of the rat. *Behav Brain Res*. 199(2):222-34.
12. Calton J.L., Taube J.S.(2009). Where am I and how will I get there from here? A role for posterior parietal cortex in the integration of spatial information and route planning. *Neurobiol Learn Mem*.91(2):186-96.

13. Calton JL, Turner CS, Cyrenne DL, Lee BR, Taube JS. (2008) Landmark control and updating of self-movement cues are largely maintained in head direction cells after lesions of the posterior parietal cortex. *Behav Neurosci.* 122(4):827-40.
14. Commins S, Gemmell C, Anderson M, Gigg J, O'Mara SM. (1999) Disorientation combined with bilateral parietal cortex lesions causes path integration deficits in the water maze. *Behav Brain Res.* 104(1-2):197-200
15. Compton DM, McDaniel WF, Dietrich KL. (1994) Non-spatial learning following posterior parietal or hippocampal lesions. *Neuroreport.* 5(16):2189-92.
16. Corwin J. V., Reep R. L. (1998): Rodent posterior parietal cortex as a component of a cortical network mediating directed spatial attention, *Psychobiology*, vol. 26, no 2 (82 p.) (2 p.1/2), pp. 87-102
17. Crowne D.P., Richardson C.M., Dawson K.A. (1986). Parietal and frontal eye field neglect in the rat. *Behav Brain Res.* 22(3):227-31.
18. Curtis CE (2006) Prefrontal and parietal contributions to spatial working memory. *Neuroscience.* 139(1):173-80.
19. Damasio AR, Damasio H, Chui HC. (1980) Damasio AR, Damasio H, Chui HC. *Neuropsychologia.* 18(2):123-32.
20. de Bruin JP, Moita MP, de Brabander HM, Joosten RN. (2001) Place and response learning of rats in a Morris water maze: differential effects of fimbria fornix and medial prefrontal cortex lesions. *Neurobiol Learn Mem.* 75(2):164-78.
21. de Bruin JP, Swinkels WA, de Brabander JM. (1997) Response learning of rats in a Morris water maze: involvement of the medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res.* 85(1):47-55.
22. de Saint Blanquat P, Hok V, Alvernhe A, Save E, Poucet B. (2010) Tagging items in spatial working memory: a unit-recording study in the rat medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res.* 209(2):267-73.
23. Dias R, Aggleton JP. (2000) Effects of selective excitotoxic prefrontal lesions on acquisition of nonmatching- and matching-to-place in the T-maze in the rat: differential involvement of the prelimbic-infralimbic and anterior cingulate cortices in providing behavioural flexibility. *Eur J Neurosci.* 12(12):4457-66.
24. Divac I, Pettigrew JD, Holst MC, McKenzie JS. (1987) Efferent connections of the prefrontal cortex of echidna (*Tachyglossus aculeatus*). *Brain Behav Evol.* 30(5-6):328-41

25. Espina-Marchant P, Pinto-Hamuy T, Bustamante D, Morales P, Robles L, Herrera-Marschitz M. (2006) Spatial cognition and memory: a reversible lesion with lidocaine into the anteromedial/posterior parietal cortex (AM/PPC) affects differently working and long-term memory on two foraging tasks. *Biol Res.* 39(4):601-9.
26. Ethier K, Le Marec N, Rompré PP, Godbout R. (2001) Spatial strategy elaboration in egocentric and allocentric tasks following medial prefrontal cortex lesions in the rat. *Brain Cogn.* 46(1-2):134-5.
27. Floresco SB, Block AE, Tse MTL (2008): Inactivation of the medial prefrontal cortex of rat impairs strategy set-shifting, but not reversal learning, using a novel, automated procedure. *Behaviour Brain Res.* 190: 85-96
28. Fox MT, Barense MD, Baxter MG. (2003) Perceptual attentional set-shifting is impaired in rats with neurotoxic lesions of posterior parietal cortex. *J Neurosci.* 23(2):676-81
29. Frankland P.W., Bontempi B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci.* 6(2):119-30.
30. Gallistel CR. (1990) Representations in animal cognition: an introduction. *Cognition.* 37(1-2):1-22.
31. Ghashghaei HT, Barbas H. (2002) Pathways for emotion: interactions of prefrontal and anterior temporal pathways in the amygdala of the rhesus monkey. *Neuroscience.* 115(4):1261-79.
32. Goodridge, J. P., & Taube, J. S. (1997). Interaction between postsubiculum and anterior thalamus in the generation of head direction cell activity. *Journal of Neuroscience*, 17, 9315–9330.
33. Goodrich-Hunsaker NJ, Hunsaker MR, Kesner RP. (2005) Dissociating the role of the parietal cortex and dorsal hippocampus for spatial information processing. *Behav Neurosci.* 119(5):1307-15.
34. Groenewegen HJ, Berendse HW, Wolters JG, Lohman AHM. (1990) The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. In: Uylings HBM, Van Eden CG, De Bruin JPC, Feenstra MPG, editors. *The prefrontal cortex: its structure, function and pathology.* Progress in brain research, vol. 85. Amsterdam: Elsevier; 1990. p. 95–118.

35. Groenewegen HJ, Berendse HW. (1994) The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends Neurosci.* 17(2):52-7.
36. Groenewegen HJ, Wright CI, Uylings HB. (1997) The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol.* 11(2):99-106.
37. Harting JK, Hall WC, Diamond IT. (1972) Evolution of the pulvinar. *Brain Behav Evol.* 1972;6(1):424-52.
38. Heidbreder CA, Groenewegen HJ. (2003) The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev.* 27(6):555-79.
39. Heilman KM, Bowers D, Valenstein E, Watson RT. (1993) Disorders of visual attention. *Baillieres Clin Neurol.* Aug;2(2):389-413.
40. Hoh TE, Kolb B, Eppel A, Vanderwolf CH, Cain DP. (2003) Role of the neocortex in the water maze task in the rat: a detailed behavioral and Golgi-Cox analysis. *Behav Brain Res.* 138(1):81-94.
41. Hok V, Save E, Lenck-Santini PP, Poucet B. (2005) Coding for spatial goals in the prelimbic/infralimbic area of the rat frontal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(12):4602-7
42. Holmes A, Wellman CL. (2009) Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neurosci Biobehav Rev.* 33(6):773-83.
43. Husain M., Nachev P. (2007). Space and the parietal cortex. *Trends Cogn Sci.* 11(1):30-6.
44. Champod AS, Petrides M. (2007) Dissociable roles of the posterior parietal and the prefrontal cortex in manipulation and monitoring processes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104(37):14837-42.
45. Chandler HC, King V, Corwin JV, Reep RL. (1992) Thalamocortical connections of rat posterior parietal cortex. *Neurosci Lett.* Aug 31;143(1-2):237-42.
46. Chen LL, Nakamura K. (1998) Head-centered representation and spatial memory in rat posterior parietal cortex. *Psychobiology.* 26 (2), 119-127
47. Cho, Y. H., & Kesner, R. P. (1996). Involvement of entorhinal cortex or parietal cortex in long-term spatial discrimination memory in rats: Retrograde amnesia *Behavioral Neuroscience*, 110, 436–442.

48. Cho, Y. H., Kesner, R. P., & Brodale, S. (1995). Retrograde and anterograde amnesia for spatial discrimination in rats: Role of hippocampus, entorhinal cortex and parietal cortex. *Psychobiology*, 23, 185–194.
49. Kandel ER, Jessell TM (1996) *Essentials of Neural Science and Behavior*. McGraw-Hill/Appleton & Lange.
50. Karnath HO, Himmelbach M, Rorden C. (2002) The subcortical anatomy of human spatial neglect: putamen, caudate nucleus and pulvinar. *Brain*. 125(Pt 2):350-60.
51. Kerkhoff G. (2001) Spatial hemineglect in humans. *Prog Neurobiol*. 2001 Jan;63(1):1-27. Review.
52. Kesner R.P. (2009). The posterior parietal cortex and long-term memory representation of spatial information. *Neurobiol Learn Mem*. 91(2):197-206.
53. King V.R., Corwin J.V. (1992) Spatial deficits and hemispheric asymmetries in the rat following unilateral and bilateral lesions of posterior parietal or medial agranular cortex. *Behav Brain Res*. 50(1-2):53-68.
54. Kolb B, Buhrmann K, McDonald R and Sutherland RJ (1994). Dissociation of the Medial Prefrontal, Posterior Parietal, and Posterior Temporal Cortex for Spatial Navigation and Recognition Memory in the Rat. *Cereb. Cortex* 4, 664-680.
55. Kolb B., Walkey J.(1987). Behavioural and anatomical studies of the posterior parietal cortex in the rat. *Behav Brain Res*.23(2):127-45.
56. Krieg WJS (1946) Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. B. Structure of the cortical areas. *J. Comp. Neurol*. 84: 277–323
57. Lacroix L, White I, Feldon J. (2002) Effect of excitotoxic lesions of rat medial prefrontal cortex on spatial memory. *Behav Brain Res*. 133(1):69-81.
58. Leonard CM. (1969) The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connections. *Brain Res*. 12:321–43.
59. Long JM, Kesner RP. (1998) Effects of hippocampal and parietal cortex lesions on memory for egocentric distance and spatial location information in rats. *Behav Neurosci*. 112(3):480-95.
60. Long JM, Kesner RP.(1996) The effects of dorsal versus ventral hippocampal, total hippocampal, and parietal cortex lesions on memory for allocentric distance in rats. *Behav Neurosci*. 110(5):922-32.
61. Maddux JM, Kerfoot EC, Chatterjee S, Holland PC. (2007) Dissociation of attention in learning and action: effects of lesions of the amygdala central nucleus,

- medial prefrontal cortex, and posterior parietal cortex. *Behav Neurosci.* 121(1):63-79.
62. Maviel, T., Durkin, T. P., Menzaghi, F., & Bontempi, B. (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science*, 305, 96–99.
  63. McClelland, JL, McNaughton, BL, & O'Reilly, RC. (1995). Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: Insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychological Review*, 102, 419–457.
  64. McDonald AJ. (1991) Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience* 44:1–14
  65. McNaughton BL, Mizumori SJ, Barnes CA, Leonard BJ, Marquis M, Green EJ. (1994) Cortical representation of motion during unrestrained spatial navigation in the rat. *Cereb Cortex.* 4(1):27-39.
  66. Mittelstaedt, M. L., & Mittelstaedt, H. (1980). Homing by path integration in a mammal. *Naturwissenschaften*, 67, 566–567
  67. Nitz DA. (2006) Tracking route progression in the posterior parietal cortex. *Neuron.* 49(5):747-56.
  68. Nyhus E, Barceló F. (2009) The Wisconsin Card Sorting Test and the cognitive assessment of prefrontal executive functions: a critical update. *Brain Cogn.* 71(3):437-51.
  69. Ogden JA. (1985) Contralesional neglect of constructed visual images in right and left brain-damaged patients. *Neuropsychologia.* 23(2):273-7.
  70. O'Keefe J, Dostrovsky J. (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res.* 34(1):171-5.
  71. Ongür D, Price JL. (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex.* 10(3):206-19.
  72. Oztekin I, McElree B, Staresina BP, Davachi L. (2009) Working memory retrieval: contributions of the left prefrontal cortex, the left posterior parietal cortex, and the hippocampus. *J Cogn Neurosci.* 21(3):581-93.
  73. Parron C, Save E. (2004) Entorhinal cortex lesions impair the use of distal but not proximal landmarks during place navigation in the rat. *Exp Brain Res.* 159(3):349-59.



74. Petrášek T, Benkovičová K, Valeš K, Stuchlík A. (2009) Navigační úloha aktivního alotetického vyhýbání se místu (AAPA): užitečná metoda pro hodnocení prostorové kognice a chování laboratorních zvířat. *Psychiatrie* 13(4): 195–200.
75. Posner MI. (1994) Attention: the mechanisms of consciousness. *Proc Natl Acad Sci U S A*.91(16):7398-403.
76. Purves D. (2007) *Neuroscience, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc.
77. Ragozzino ME (2007). The contribution of the medial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex, and dorsomedial striatum to behavioral flexibility. *Ann N Y Acad Sci*. 1121, 355-75.
78. Ragozzino ME, Kesner RP. (1998) The effects of muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat anterior cingulate and Prelimbic/Infralimbic cortices on spatial working memory. *Neurobiol Learn Mem*. 69(3):241-57
79. Ragozzino ME, Kesner RP. (2001) The role of rat dorsomedial prefrontal cortex in working memory for egocentric responses. *Neurosci Lett*. 308(3):145-8.
80. Ravizza SM, Delgado MR, Chein JM, Becker JT, Fiez JA. (2004) Functional dissociations within the inferior parietal cortex in verbal working memory. *Neuroimage*. 22(2):562-73.
81. Reep RL, Corwin JV, Cheatwood JL, Van Vleet TM, Heilman KM, Watson RT. (2004) A rodent model for investigating the neurobiology of contralateral neglect. *Cogn Behav Neurol*. 17(4):191-4.
82. Reep RL, Corwin JV. (2009) Posterior parietal cortex as part of a neural network for directed attention in rats. *Neurobiol Learn Mem*. 91(2):104-13.
83. Reep RL, Chandler HC, King V, Corwin JV. (1994) Rat posterior parietal cortex: topography of corticocortical and thalamic connections. *Brain Behav Evol*. 43(6):319-47.
84. Rogers J.L., Kesner R.P. (2006) Lesions of the dorsal hippocampus or parietal cortex differentially affect spatial information processing. *Behav Neurosci*. 120(4):852-60.
85. Rose, J.E. and Woolsey, C.N., (1948) The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat, *Res. Publ. Ass. Nert~. Ment. Dis.*, 27 (1948) 210-232.
86. Roth G., Dicke U., (2005) Evolution of the brain and intelligence. *Trends in Cognitive science* 250-257

87. Sargolini F, Fyhn M, Hafting T, McNaughton BL, Witter MP, Moser MB, Moser EI. (2006) Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex. *Science*. 312(5774):758-62.
88. Save E, Moghaddam M. (1996) Effects of lesions of the associative parietal cortex on the acquisition and use of spatial memory in egocentric and allocentric navigation tasks in the rat. *Q J Exp Psychol B*. 49(2):134-47
89. Save E, Poucet B. (2000) Involvement of the hippocampus and associative parietal cortex in the use of proximal and distal landmarks for navigation. *Behav Brain Res*. 109(2):195-206.
90. Schmahmann JD, Pandya DN.(1990) Anatomical investigation of projections from thalamus to posterior parietal cortex in the rhesus monkey: a WGA-HRP and fluorescent tracer study. *J Comp Neurol*. 295(2):299-326.
91. Schnider A, Blanche Durbec V, Ptak R. (2011) Absence of visual feedback abolishes expression of hemispatial neglect in self-guided spatial completion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011 Jul 11. [Epub ahead of print]
92. Stone SP, Wilson B, Wroot A, Halligan PW, Lange LS, Marshall JC, Greenwood RJ. (1991) The assessment of visuo-spatial neglect after acute stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 54(4):345-50.
93. Svoboda J, Telensky P, Blahna K, Zach P, Bures J, Stuchlik A. (2008) Lesion of posterior parietal cortex in rats does not disrupt place avoidance based on either distal or proximal orienting cues. *Neurosci Lett*. 445(1):73-7.
94. Tees RC. (1999) The effects of posterior parietal and posterior temporal cortical lesions on multimodal spatial and nonspatial competencies in rats. *Behav Brain Res*. 106(1-2):55-73.
95. Thinus-Blanc C, Save E, Poucet B, Foreman N. (1996) Effects of parietal cortex lesions on spatial problem solving in the rat. *Behav Brain Res*. 81(1-2):115-21.
96. Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B. (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res*. 146(1-2):3-17.
97. Uylings HB, van Eden CG. (1990) Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog Brain Res*. 85:31-62
98. Vallar G (2007) Spatial neglect, Balint-Homes' and Gerstmann's syndrome, and other spatial disorders. *CNS Spectr*. 12(7):527-36.

99. van Asselen M, Kessels RP, Neggers SF, Kappelle LJ, Frijns CJ, Postma A. (2006) Brain areas involved in spatial working memory. *Neuropsychologia*. 44(7):1185-94.
100. Vandavelde I.L., Duckworth E., Reep R.L.(1996). Layer VII and the gray matter trajectories of corticocortical axons in rats. *Anat Embryol (Berl)*.194(6):581-93.
101. Vertes RP. (2004) Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*. 51(1):32-58.
102. Vertes RP. (2006) Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience*. 142(1):1-20.
103. Voeller KK, Heilman KM. (1988) Attention deficit disorder in children: a neglect syndrome? *Neurology*. 38(5):806-8.
104. Ward N.M. & Brown V.J. (1997).Deficits in response initiation, but not attention, following excitotoxic lesions of posterior parietal cortex in the rat.*Brain Res*.775(1-2):81-90.
105. Wenk GL, Stoehr JD, Quintana G, Mobley S, Wiley RG. (1994) Behavioral, biochemical, histological, and electrophysiological effects of 192 IgG-saporin injections into the basal forebrain of rats. *J Neurosci*. 14(10):5986-95.
106. Zaborszky L, Gaykema RP, Swanson DJ, Cullinan WE. (1997) Cortical input to the basal forebrain. *Exp Neurol*. 146(1):212-29.
107. Zilles K (1985) *The Cortex Of The Rat*, Springer, Berlin