

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy
Katedra Fyziologie živočichů a vývojové biologie
Oddělení Neurobiologie



bakalářská práce

OPEN FIELD

**metoda pro studium spontánního chování laboratorních
potkanů**

Vypracovala: **Kateřina Tichá**

Školitel: **Prof. MUDr. Pavel Mareš, DrSc.**, oddělení vývojové
epileptologie, Fyziologický ústav AV ČR

Praha 2006

OBSAH

OBSAH	2
PODĚKOVÁNÍ	3
ABSTRAKT	4
1.) ÚVOD	5
2.) OPEN FIELD	6
2.1.) Chování v open fieldu	7
2.2.) Příklady využití a modifikace metody „open field“	10
3.) STATUS EPILEPTICUS	13
3.1.) Možnosti chemického navození statu epilepticu	15
3.2.) Chování zvířat po statu v open fieldu	16
3.3.) Záznam sledu chování konkrétního jedince v open fieldu	18
4.) ZÁVĚR	20
Seznam literatury	21

Poděkování

Ráda bych poděkovala panu Prof. MUDr. Pavlu Marešovi, DrSc. a paní Doc. PharmDr. Haně Kubové, DrSc. za jejich čas a ochotu.

ABSTRAKT

Tato práce se věnuje moderní metodě na sledování spontánního chování laboratorních potkanů. Je v ní zahrnut popis, modifikace a případné využití. Blíže se věnuje chování v open fieldu těch potkanů, kteří prodělali v časném postnatálním období těžký dlouhotrvající epileptický záchvat (status epilepticus).

Práce je totiž literární rešerší, na kterou bude navazovat má další práce, kdy budu hodnotit záznamy již provedených pokusů a sama budu provádět sledování kontrolních zvířat uvedenou metodou.

1.) Úvod

V řadě pokusů si výzkumné týmy dávají za úkol zjistit stav poškození mozku zvířete. Může jít o poškození vrozená, kdy se zkoumá funkčnost nebo projevení určitého genu jeho záměrným pozměněním nebo pozměněním jeho transkripce. Ale mohou to být i poškození způsobena prenatálně nebo postnatálně buď mechanicky, chemicky nebo elektricky.

Projevy takto poškozeného mozku mohou být různé. Na první pohled se na zvířeti nemusí daný zásah vůbec projevit, proto je nutné využít některou z metod na určení abnormalit v chování. Pod vlivem defektu na určité části mozku může jevit známky přehnané anxiety, nebo naopak apatie, může mít poruchy v sociálním chování, v motorických a kognitivních funkcích, může se zhoršit schopnost pamatování si prostoru a učení se, nebo se může projevit zvýšená motorická aktivita. Podle toho, na jakou z těchto mozkových funkcí se chce zaměřit, si poté výzkumník vybere z řady osvědčených a všude ve světě používaných metod právě tu, která se k jeho účelům nejvíce hodí.

Na prověřování schopností pamatovat si a učit se se například používají různé varianty Morrisova vodního bludiště určené pro studium prostorové paměti (kruhová aréna naplněná vodou s utajeným ostrůvkem, který se zvíře pokouší nalézt), na sledování možných poškození motoriky se využívá například „rotorod test“ (aparát sestává z tyče – např. 10 cm v průměru a 11 cm dlouhé – přístroj je nastaven na předem definované otáčky, zvíře je umístěno na tyč a měří se doba, po kterou se udrží a nespadne) nebo „bar-holding test“ (měření doby udržení se na vodorovné tyči) a ovlivnění společenskosti zvířete mohou prokázat různé testy sociálních interakcí.

Ve své práci jsem si dala za úkol zaměřit se na metodu, která umožňuje sledovat několik mozkových funkcí zároveň a kterou je možné si podle potřeby upravit a jednoduše pozměnit

k získání hledaných poznatků o případných změnách na mozku laboratorních potkanů. Tato metoda se jmenuje „open field“.

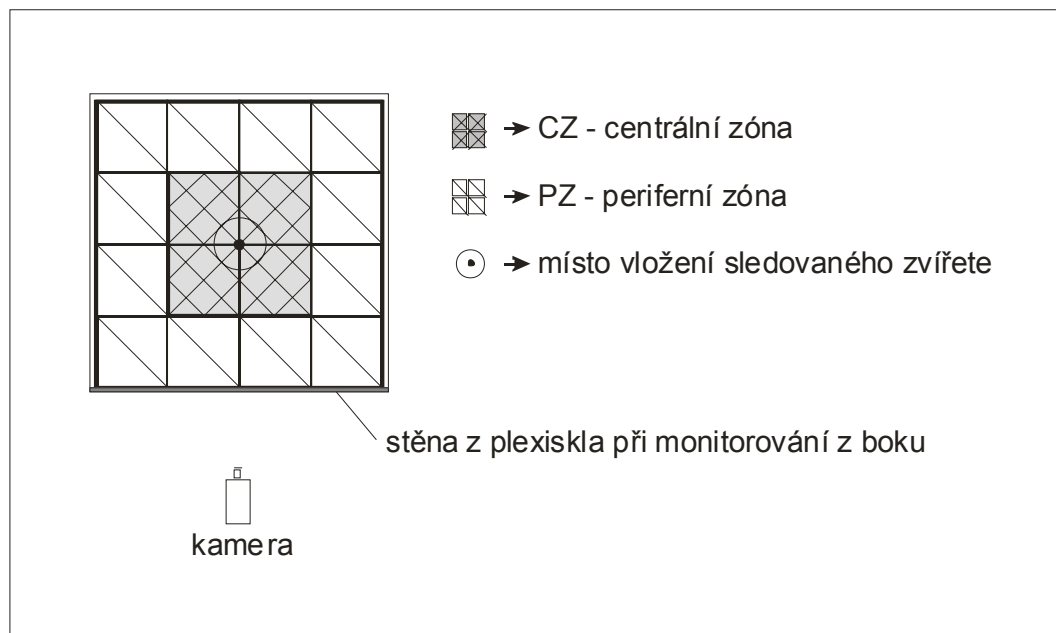
2.) Open field

Open field, neboli „otevřené pole“, je termín, který asi nejlépe pojmenovává situaci, kdy je sledovaný objekt vystaven volnému prostředí bez možnosti úkrytu, což je pro zvíře, jakým je potkan, stresový okamžik a chová se většinou specifickým způsobem, který je popsán níže (každý jedinec je ovšem individualita, a proto se musí při pokusech pracovat se skupinou o více členech, aby se daly výsledky všeobecně interpretovat jako průměrné standardní chování a stanovit rozptyl). Jakékoli odchylky od tohoto „standardního“ chování jsou sledovány a mohou být považovány za důsledek daného poškození.

Většinou se jedná o čtvercovou arénu se čtyřmi stěnami, dost vysokými, aby zvíře nemělo možnost uniknout nebo lehce vyskočit (např. 45cm x 45cm x 30cm), nad arénu je umístěno světlo (spíše ztlumené, protože obzvlášť potkani albíni jsou velmi citliví na ostré světlo a bylo by to tudíž pro ně dalším stresovým faktorem) a kamera. Případně je jedna stěna z průhledného plexiskla a druhá kamera může být umístěna z boku pro lepší pozorování a přesnější určení daného chování zvířete.

Tato aréna samozřejmě není jediným příkladem této metody, v kapitole 2.2.) se zmiňují o dalších modifikacích v závislosti na druhu pokusu.

Obr. 1) Základní model arény pro open field



2.1.) Chování v open fieldu

Plocha podlahy je rozdělena do čtyř sloupců a čtyř řad, které tak vytvoří šestnáct čtverců, aby se mohla odlišit centrální oblast a periferní oblast arény. Na začátku monitorování je každé zvíře vloženo do centrální oblasti arény. To je pro sledovaný objekt nejvíce nebezpečné místo, protože není kryt ani z jedné strany stěnou. Normální první projev aktivity je tedy co nejrychlejší opuštění tohoto nejvíce nechráněného centrálního místa, které je vymezeno čtyřmi prostředními čtverci.

Všimáme si tedy především, po jaké době se potkan rozhodne střed opustit (pokud to není okamžitě) a případně i jakou rychlostí se přesune ke stěně nebo do rohu. Typicky si zvíře vybere nejtmaší kout (pokud je rozdíl v osvětlení) a daleko od plexiskla (pokud je jedna stěna upravena pro monitorování z boku). Posadí se tak, že čenich směřuje do arény a má tak

ze dvou stran krytá záda. Toto místo bere jako své útočiště a důkladně si ho čenicháním a případným vztyčováním na zadní prověřuje.

To ho pochopitelně „nebaví“ moc dlouho a po chvíli, když se zdá, že žádné nebezpečí nehrozí, osmělí se, podlehne přirozené zvědavosti a rozhodne se začít prozkoumávat okolí. Začne obvykle podél stěn, případně se několikrát pro jistotu vrátí do bezpečného rohu, ale po chvíli už prozkoumává periferní oblast bez velkého strachu, zvedá se na zadní a čenichá. Zprvu se ovšem buď naprosto vyhýbá centrální zóně nebo přes prostřední čtverce jen velmi rychle proběhne (všímáme si, po jaké době vůbec do tohoto místa vstoupil a případně, jestli výrazně změnil svou rychlost).

Dalším parametrem, který experimentátor musí sledovat, je také počet a množství defekace a urinace, což můžeme považovat za určitý projev emotivity, ale na druhou stranu to nemůžeme takto stoprocentně interpretovat, protože tato spontánní aktivita může být prostě jen náhodně spouštěna v průběhu pokusu a s emotivitou nemusí souviset.

Po určitém čase můžeme pozorovat určitý druh stereotypního chování, kdy zvíře už dosáhlo pocitu, že mu nic nehrozí a nebojácně se „prochází“ po aréně, rozhlíží se na zadních i v centrální oblasti a chvílemi se věnuje komfortnímu chování, jako je čištění a úprava srsti. Jako komfortní chování ovšem označujeme až situaci, kdy jedinec s čištěním začíná na čenichu, pokračuje přes celý obličej, uši, dále na hrudník a postupně i na zadní část těla. Pokud si jen otře čenich a dále nepokračuje, neoznačujeme to jako komfortní chování, ale spíše jde jen o rychlé očištění po přílišném a intenzivním čenichání, případně se může jednat o tzv. automatické chování, nebo přeskokové chování, kdy se jedinec snaží vyhnout stresové situaci tím, že se věnuje naprosto odlišnému a v tu chvíli neadekvátnímu chování.

Dalším důležitým prvkem aktivity je „rearing“ – zvedání na zadní končetiny. Zvíře se tak buď snaží okolí řádně prohledat, případně hledá únikový východ, nebo zkoumá výšku stěny, jestli by snad někde nebylo možné z tohoto pro něj stresujícího prostředí vyskočit. V

tomto okamžiku si musíme všimnout, jestli je to zvednutí s oporou, nebo motoricky mnohem náročnější zvedání bez opření se předníma nohama o stěnu arény. Také si musíme uvědomit, o jak starého jedince se jedná. Pokud totiž sledujeme skupinu mladších objektů (např. kolem 12. dne) musíme počítat s přirozeně nedokonale vyvinutými motorickými schopnostmi a případné „nešikovné“ pokusy o zdvihání na zadní bez opory nemůžeme tedy přikládat nějakému námi navozenému poškození motorických center mozku.

Pokud se nic nemění, potkan se po nějakém čase uvelebí v nejpříjemnějším koutě, občas se věnuje komfortnímu chování a jednou za čas jde na jakousi kontrolní obchůzku, jestli se někde něco nezměnilo.

Míra aktivity se měří jako množství překročených čtverců, po jaké době a za jaký čas je zvíře překročilo. Také musíme měřit čas, po kterém se objekt v open fieldu odváží vstoupit do centrálního prostoru - tato doba je nepřímo úměrná anxietě (úzkostnosti) zvířete. Dále je možné sledovat habituaci jako úbytek orientační aktivity v průběhu pobytu v aréně. Existují i speciální počítačové programy, které kromě času změří i délku trasy, popřípadě i trajektorii, po které se sledovaný potkan pohyboval.

V kapitole 3.3.) je popsán přesný záznam chování kontrolního objektu v open fieldu po dobu pěti minut.

2.2.) Příklady využití a modifikace metody „open field“

Jak bylo již zmíněno výše, tato metoda je velmi variabilní a dá se proto využít na sledování různých parametrů chování.

a) opakované vkládání

Pokus, kdy je zvíře do open fieldu vkládáno opakovaně několikrát za sebou, je určen především pro sledování neasociativního učení. Potkan si může nové prostředí pamatovat i několik dní a mi potom můžeme na jeho chování pozorovat charakteristické změny.

Především se čím dál více ztrácí ostych a zvědavost. Také doba, za jakou zvíře vykazuje určitou stereotypickou aktivitu, se značně zkrátí. Pozorovatel tak může zaznamenávat nejen čas, po který si zvíře dané prostředí pamatuje, ale může zjišťovat i rozdíly ve schopnostech učení se mezi kontrolami a jím sledovanými zvířaty.

b) open field s vloženými objekty

Tato metoda navazuje vlastně na postup v bodě a). Nejprve se sleduje, za jak dlouho si zvíře v dané aréně zvykne a poté se přejde k dalšímu experimentování. Jako příklad si můžeme uvést práci Ricceriho et al. (1), v tomto experimentu byla použita černá aréna (45-45-35 cm) na 18, 28 a 46 dní stará zvířata. Tato aréna byla umístěna do nehlukného prostředí a nerušícího vizuálního okolí. Celý aparát byl osvětlen červeným světlem (80 W) umístěným na stropě. Současně byly v aréně umístěny čtyři různé plastové objekty, zabezpečené na šedé plastové základně (hranol, zeď tvaru „L“, krychle a těleso tvaru „H“).

Další podobný pokus provedli Mikulecká et al. (2), kdy použili plexisklovou arénu (45 cm x 45 cm x 30 cm) a pokus zahrnoval tři pozorování. Každé pozorování trvalo deset minut a první z nich bylo provedeno ještě před podáním pilokarpinu (chemické navození statu

epilepticu, viz kapitola 3.1.), aby bylo zvíře na arénu adaptováno. Okamžitě po tomto prvním sledování byla zvířeti podána nízká dávka pilokarpinu a další pozorování bylo provedeno po zaznamenané nepochybně epileptické EEG aktivitě asi po 45 minutách. Třetí test začal 150 minut po dávce pilokarpinu, kdy už žádná epileptické EEG aktivita nebyla přítomna. V průběhu druhého a třetího pokusu byl v centru arény přítomen pevný objekt (4 cm x 4 cm x 2 cm).

V obou příkladech se sledovalo, jak zvíře na nový objekt reaguje a v druhém případě byla epileptická zvířata i porovnávána s kontrolami. I v práci Daie et al. (3) byl do centrální zóny umístěn malý objekt na sledování modulace investigativní odpovědi zvířete., ale zvíře nebylo předem habituováno na prázdný open field. Při první expozici v aréně přítomnost objektu nijak zvlášť dobu strávenou v centrální zóně neovlivnila. Pokud bylo zvíře do open fieldu vloženo znova na deset minut, přítomnost objektu dobu v centrální zóně značně prodloužila.

c) vliv farmak

Pod vlivem různých chemických látek se chování zvířat v open fieldu značně mění. Například Zagon et al. (4) sledovali chování 21, 45 a 60 dní starých mláďat, která byla v době těhotenství a laktace vystavena dávám methadonu (5 mg/kg). Ve 21. dni byla methadonu vystavovaná mláďata méně aktivní ve 45. a 60. dni více aktivní než kontroly. Schiorring (5) zase sledoval stereotypickou lokomoční aktivitu u amfetaminem ovlivněných potkanů. Furlan et al. (6) zkoumal vliv dopaminergních látek na chování v open fieldu. Sledoval, zda zvýšená dopaminergní mozková aktivita brání zvířeti v habituaci na nové prostředí a tento efekt může být odpovědný za podmíněnou hyperaktivitu naměřenou v době, kdy zvíře už není pod vlivem farmaka.

d) sociální interakce

Další modifikací open fieldu je vložení dvou zvířat do arény najednou. Výsledek potom záleží na mnoha faktorech. Jestli bylo zvíře nejprve navyknuo na arénu o samotě, jestli je druhé zvíře stejného nebo opačného pohlaví, jestli je mladší nebo starší a také, které ze zvířat je dominantnější. Pokud jsou zvířata do arény vkládána opakovaně, chování je různé také podle toho, zda jsou spolu vždy stejní jedinci, nebo jsou pokaždé testováni zároveň s jiným zvířetem, na jehož pach nejsou zvyklí.

V práci Mikulecká et al. (2) byla sledována sociální interakce mezi dospělými samci a 22 denními mláděty. Nejprve byl do arény vložen na pět minut dospělý jedinec, aby se adaptoval na nové prostředí. Poté byl polovině ze sledované skupiny dospělců podán pilokarpin (15 mg/kg) k vyvolání nekonvulsivního SE (druhá polovina sloužila jako kontroly). Následující sledování začalo 45 minut po prokazatelném nekonvulsivním záchvatu. Opět byl do arény nejprve vložen dospělý potkan a po dvou minutách bylo k němu vloženo mládě. Další pozorování následovalo po 105 minutách a v obou případech trvala interakce 5 minut. Výsledky ukázaly, že zvířata po nekonvulsivním statu trávila prozkoumáváním mláďete mnohem více času než kontroly.

e) možnost útěku

Jednou z možností zbavit se stresu z nepříjemného prostředí bez úkrytu je pro zvíře nalézt únikovou cestu a dostat se tak do bezpečí. Proto také zvíře pečlivě prozkoumává stěny a zvedá se i na zadní, aby se přesvědčilo, zda někde není cesta ven z arény.

Pokud mu experimentátor takovou únikovou cestu umožní, vznikají tak další parametry, které můžeme posuzovat (např. za jakou dobu únikovou cestu najde, jestli se do ní odváží okamžitě a pokud je do open fieldu vkládáno opakovaně, jestli si pamatuje její umístění).

f) vliv pohlaví

Rozdíly mezi chováním v závislosti na pohlaví jsou dalším zajímavým parametrem sledování potkanů v open fieldu. Práce Bronsteina et al. (7) je zaměřena přímo jen na tuto problematiku, Seliger (8) si dokonce zároveň všímá i vlivu věku a osvětlení, kdy zjistil, že samičky jsou na osvětlení více citlivé než stejně staří samečci.

Slob et al. (9) sledovali vliv přítomnosti gonád na chování samečků i samic. Porovnávali potkany, kteří prodělali kastraci v různém věku.

Masur et al. (10) sledovali samečky a samičky potkanů ve věku 30, 45, 60, 90 a 120 dní. Třiceti a čtyřiceti pěti denní skupiny se v množství defekace ani v intenzitě motorické aktivity nijak výrazně v závislosti na pohlaví nelišily. Od 60. dne vykazovali samečci větší emotivitu množstvím defekace a menší aktivitu než samičky. U dospělých samic se snižovalo množství defekace a u dospělých samečků se snižovala aktivita oproti mláďatům.

3.) Status epilepticus

Zatím co epileptický záchvat představuje pro pacienta krátkodobou příhodu, z níž se často před příchodem lékaře zotaví, je status epilepticus (SE) stavem, který ohrožuje život a může vést k ireverzibilnímu poškození na neuronech v důsledku excitotoxických mechanismů, zhoršovaných faktory, jako jsou hypertermie, acidóza, hypoxie aj.

Podle mezinárodních zvyklostí se za SE považuje stav, trvající dosti dlouho nebo přicházející jako řada záchvatů, které jdou po sobě tak rychle, že se mezi nimi pacient nestačí probírat k vědomí a k normálnímu pohybu. Definice umožňuje velmi volnou interpretaci

(hranice je různými autory stanovována v rozmezí 10-30 minut), a za dlouhou dobu považují někteří i hodinový stav. Protože lékař přijde často k nemocnému, u něhož začátek záchvatu přesně nezná a nemůže se spolehnout na výpověď svědků, je vhodné z opatrnosti považovat za SE každý epileptický záchvat, který přetrvává asi dalších deset minut.

Schwarz et al. (11) třídí SE pro potřeby rychlé zdravotnické pomoci takto: Generalizovaný konvulsivní SE je nejčastější a prognosticky nejzávažnější forma, provázená klonickými a/nebo tonickými křečemi a bezvědomím. Je zapotřebí jej odlišit od série záchvatů, při nichž pacient nabývá v pauzách vědomí. Autoři upozorňují na zprávy z literatury, které dokládají, že případy SE s malými konvulzemi, omezenými např. jen na záškuby některých svalů, neznamenaají, že jde o lehký případ SE. K diagnóze je nezbytné EEG vyšetření, a to zejména u případů s vymizelými motorickými symptomy.

Zvláštní formou může být perzistující generalizovaný SE s myoklonem (status myoclonicus), přicházející zvláště po déle trvající hypoxii mozku u resuscitovaných.

Jinou formou je fokální SE s jednotlivými záchvaty, projevujícími se v parciálních skupinách svalů bez ztráty vědomí. Mohou přetrvávat beze změny nebo se rozvinout do generalizované formy.

Nekonvulsivní epileptický záchvat má dva typy. Jeden z nich se vyznačuje změnou chování pacienta po dobu několika minut, kdy není schopen srozumitelně a adekvátně reagovat na danou situaci. Na celou dobu tohoto záchvatu má pak amnézii. Druhý typ se objevuje většinou v dětském věku. Je to tzv. absence, která je charakterizována krátkým zahleděním a „výpadkem“. Po chvíli se dítě vrátí k předešlé činnosti a na záchvat si nepamatuje. Oba tyto typy záchvatů mohou přejít ve status epilepticus.

3.1.) Možnosti chemického navození statu epilepticu

a) kainová kyselina (kainic acid - KA)

příklad použití v práci Kubová et al. (12)

KA je prototypický ligand jednoho typu excitačních aminokyselinových receptorů, u kterého byla zjištěna schopnost vyvolat nekřečový epileptický záchvat srovnatelný s částečným (temporálním) záchvatem u lidí. Pokud je dávka KA dostatečně vysoká, tyto limbické záchvaty sekundárně přecházely v záchvaty generalizované charakterizované křečemi. (13,14)

Morfologický následek způsobený velkými dávkami kainové kyseliny u dospělých potkanů je degenerace pyramidových buněk v hipokampu. U mláďat se časná degenerace v hipokampu neprojeví, pokud byla kainová kyselina injikována před 18. postnatálním dnem. Chang a Baram (15) popisují dočasné zbarvení hipokampálních pyramidových buněk kyselým fuchsinem (marker poškozených neuronů u dospělých zvířat) dva dny po KA-indukovaných záchvatech u mláďat 12 dní starých. Stejně tak i funkční následky KA-indukovaných záchvatů, které byly zaznamenány u dospělých jedinců, nebyly pozorovány u mláďat. (16, 17) Tyto vývojové rozdíly jsou popírány částí autorů: Babb et al. (18) prokázali morfologické poškození v mozku dospělých potkanů, kterým byl kainát podán 7.den po narození. Podobně de Feo et al. (19) našli behaviorální změny u mláďat, kterým byla dávka kainátu podána v 10. postnatálním dni.

b) lithium-pilokarpinový model

příklad použití v práci Mikulecká et al. (2)

Pilokarpinový model epilepsie (s nebo bez předchozího podání lithium chloridu) byl původně zaveden pro studium konvulsivního limbického epileptického statu, který způsobuje rozsáhlé poškození mozku spojené s vysokou mortalitou potkanů a vyvolává chronickou epilepsii. Malá dávka pilokarpinu (15 mg/kg) způsobí u potkanů, kterým byl předem podán lithium chlorid nekonvulsivní status epilepticus (NCSE). Sledované změny v chování nápadně připomínají lidské chování během komplexního parciálního SE. NCSE vzniká přibližně 10 min a končí 90 min po podání pilokarpinu. Spolu s behaviorálními změnami byl na hipokampálním i korovém EEG zaznamenán dlouhý průběh theta aktivity a občasné delší úseky delta vln. Týden po podání pilokarpinu byla znatelná poškození některých mozkových struktur.

U lithium-pilokarpinového modelu vede konvulsivní SE trvající alespoň 1 hodinu u dospělých potkanů stoprocentně ke vzniku spontánních záchvatů, které jsou přítomny do konce života zvířete, jde tu už o epilepsii jako onemocnění a nejen o jednotlivý epileptický záchvat.

3.2.) Chování zvířat po statu v open fieldu

Chování potkana po statu je viditelně jiné, než jak bylo popsáno v kapitole 2.1.). Jako příklad si uveďme práci Kubové et al.(20). V této studii byly sledovány dvě skupiny potkanů Wistar po pilokarpinem vyvolaném SE –P12 (12 dní stará mláďata, tento věk se u člověka dá přirovnat k novorozeneckému období) a P25 (25 dní stará mláďata, věk korespondující s ranným školním věkem u člověka). Ve skupině P12 bylo 44 zvířat (18 kontrol a 26

experimentálních potkanů) a ve skupině P25 bylo 30 potkanů (14 kontrol a 16 experimentálních potkanů). 6 dní po statu epilepticu začalo testování obou skupin v open fieldu a to pětkrát u P12 skupiny (v P18, P25, P38, P68 a P98) a čtyřikrát u P25 skupiny (v P31, P38, P68 a P98). Open field byla čtvercová aréna s plastovými stěnami (50 cm x 50 cm x 30 cm), podlaha byla rozdělena na 16 čtverců a zvíře bylo umístěno do centrální oblasti. Měřil se čas, za který zvíře tuto oblast opustilo a motorická aktivita byla vyjádřena jako počet překročených čtverců za minutu a počet překročených čtverců po celou dobu testování, tedy pět minut.

Výsledky u P12

Rozdíl v latenci do opuštění centrální zóny mezi experimentálními zvířaty a kontrolami nebyl nalezen v žádném testovaném věku, u testu v P18 byl ale čas k opuštění této zóny delší než v dalších testech a experimentální zvířata P18 byla znatelně méně aktivní než kontroly. Po 25. dni ale začínala být experimentální zvířata hyperaktivní a překračovala více čtverců než kontroly. Tato tendence byla patrná až do testu v P98, kdy byla pokusná zvířata opět znatelně méně aktivní. Stejný průběh byl pozorován i u explorační aktivity.

Výsledky u P25

Ve třetím testu (P68) strávila experimentální zvířata v centrální zóně prokazatelně více času než kontroly. Počet překročených čtverců u kontrol postupně s každou minutou klesá, zatímco u pokusných potkanů byla lokomoční aktivita po celou dobu experimentu neměnná.

Z tohoto pokusu vyplývá, že vývoj motoriky není potlačen bezprostředně po statu. Změny chování v open fieldu nalezené brzy po SE souvisejí s poškozením schopnosti učit se

nebo reagovat na nové prostředí spíše než s přímým poškozením motorického systému. Pozdější následky mohou být způsobeny spontánní epileptickou aktivitou.

3.3.) Záznam sledu chování konkrétního jedince v open fieldu

Pro uvedení příkladu chování konkrétního zvířete jsem raději než kontrolu (chovala by se téměř stejně podle popisu ve 2.1.) vybrala jedince P12, záznam byl pořízen 26. den po statu epilepticu.

1. minuta

- běží z centrální zóny (CZ) ke stěně, čenichá, běhá u stěny, natahuje se do CZ, zvedá se na zadní v periferní zóně (PZ), čenichá, nehybně sedí, zvedá se na zadní v PZ, běhá u stěny, zvedá se na zadní v PZ, zůstává v CZ, čenichá, čenichá, zvedá se na zadní v PZ, přeběhne CZ

počet překročených čtverců: 11

2. minuta

- čenichá, zvedá se na zadní v PZ, zvedá se na zadní v PZ, čenichá, běhá u stěny, zvedá se na zadní v PZ, čenichá, zvedá se na zadní v PZ, běhá u stěny, čenichá, zvedá se na zadní v PZ, čenichá, zvedá se na zadní v PZ

počet překročených čtverců: 18

3. minuta

- natahuje se do CZ, běhá dokola v PZ, nehybně sedí, čenichá, zůstává v CZ, zvedá se na zadní v PZ, čenichá, zůstává v CZ, čenichá, zvedá se na zadní v PZ, nehybně sedí, čenichá

počet překročených čtverců: 22

4. minuta

- zvedá se na zadní v PZ, zvedá se na zadní v PZ, natahuje se do CZ, zůstává v CZ, přebíhá CZ, zvedá se na zadní v PZ, běhá u stěny, zvedá se na zadní v PZ, čenichá, čenichá

počet překročených čtverců: 19

5. minuta

face washing, zvedá se na zadní v PZ, face washing, komfortní chování

počet překročených čtverců: 1

Toto zvíře, ačkoli zažilo SE, se chovalo v open fieldu téměř jako zdravý jedinec s typicky nejaktivnější 2. a 3. minutou a poklesem aktivity v minutě poslední (ten by se u kontrolního zvířete projevilo nejméně o minutu dříve). Nápadné by mohlo být celkem rychlé osmělení se a občasnou nehybnost bychom mohli považovat za projev automacie, příp. nekonvulsivního SE.

4.) Závěr

Open field je metoda používaná na sledování motorických schopností zvířete, na studium lokomoční a explorační aktivity, na zaznamenávání změn v behaviorálních odpovědích na nové prostředí a pozorování průběhu habituace jako jednoduché formy učení.

Zároveň je to metoda velmi variabilní, dá se využít pro mnoho pokusů a je velmi snadno modifikovatelná. Některé výsledky ovšem můžeme obtížně interpretovat, protože jednoznačné spojení nalezené změny chování s předpokládaným poškozením mozku je spíše výjimečné.

V dnešní době je navíc mnoho nových možností co se týče využití video techniky, osvětlení a hlavně počítačových vyhodnocovacích programů, ty ale stále nejsou schopné zcela nahradit oko a zkušenosti experimentátora. Proto je nejlepší kombinovat při vyhodnocování výsledky vlastního pozorování experimentátora s výsledky pořízenými počítačově.

Je zřejmé, že i tato metoda do budoucna napomůže vyřešení mnohých problémů nejen v epileptologii, ale i v jiných oblastech přírodních věd.

Seznam literatury

- 1.) Ricceri L, Colozza C, Calmandrei G. Ontogeny of spatial discrimination in mice: a longitudinal analysis in the modified open field with objects. *Dev Psychobiol.* 2000;37:109-18.
- 2.) Mikulecká A, Kršek P, Hliňák Z, Druga R, Mareš P. Nonconvulsive status epilepticus in rats: Impaired response to exteroceptive stimuli. *Behav Brain Res* 2000;117:29-39.
- 3.) Dai H, Krost M, Carey RJ. A new methodological approach to the study of habituation: the use of positive and negative behavioral indices of habituation. *Neurosci Methods* 1995;62:169-74.
- 4.) Zagon IS, McLaughlin PJ, Thompson CI. Development of motor activity in young rats following perinatal methadone exposure. *Pharmacol Biochem Behav* 1979;10:743-9.
- 5.) Schiorring E. An open field study of stereotyped locomotor activity in amphetamine-treated rats. *Psychopharmacology* 1979;66:281-7.
- 6.) Furlan SM, Branda O. Dopaminergic agents and habituation in rats in an open field test. *Neuropsychobiology* 2001;43:83-90.
- 7.) Bronstein PM, Wolkoff FD, Levine WJ. Sex-related differences in rats open-field activity. *Behav Biol* 1975;13:133-8.
- 8.) Seliger DL. Effects of age, sex, and brightness of field on open-field behaviors of rats. *Percept Mot Skills* 1977;45:1059-67.
- 9.) Slob AK, Huizer T, Van der Werff ten Bosch JJ. Ontogeny of sex differences in open-field ambulation in the rat. *Physiol Behav* 1986;37:313-5.

- 10.) Masur J, Schutz MT, Boerngen R. Gender differences in open-field behavior as a function of age. *Dev Psychobiol* 1980;13:107-10.
- 11.) Schwarz S, Schwab S, Hacke W. Status epilepticus. Rational diagnosis and current therapeutic concepts. *Anesthesist* 1999;48:455-64.
- 12.) Kubová H, Mikulecká A, Haugvicová R, Langmeier M, Mareš P. Nonconvulsive seizures results in behavioral but not electrophysiological changes in developing rats. *Epilepsy Behav* 2001;2:473-480.
- 13.) Ben – Ari Y. Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 1985;14:375-403
- 14.) Olney JW. Excitatory transmitters and epilepsy-related brain damage. *Int Rev Neurobiol* 1985;27:337-62
- 15.) Chang D, Baram TZ. Status epilepticus results in reversible neuronal injury in infant rat hippocampus: novel use of a marker. *Dev Brain Res* 1994;77:133-6
- 16.) Holmes GL, Thompson JL. Effects of kainic acid on seizure susceptibility in the developing brain. *Brain Res* 1988;467:51-9
- 17.) Stafstrom CE, Thompson JL, Holmes GL. Kainic acid seizures in the developing brain: status epilepticus and spontaneous recurrent seizures. *Dev Brain Res* 1992;65:227-36.
- 18.) Babb TL, Pereira-Leite J, Mathern GW, Pretorius JK. Kainic acid induced hippocampal seizures using intrahippocampal versus systemic injections. *Int J Neurol Sci* 1995;16:39-44.
- 19.) de Feo MR, Mecarelli O, Palladini G, Ricci GF. Long-term effects of early status epilepticus on the acquisition of conditioned avoidance behavior in rats. *Epilepsia* 1986;27:476-82.

20.) Kubová H, Haugvicová R, Suchomelová L, Mareš P. Does status epilepticus influence the motor development of immature rats? *Epilepsia* 2000;41:64-69.