

**Charles University**

Faculty of Science

Department of Physiology

Study program: Animal Physiology

Summary of doctoral thesis



**Hippocampal neuronal representation of a moving object in a novel spatial avoidance task**

**Hipokampální neuronální reprezentace pohybujícího se objektu v nové úloze vyhýbání se prostoru**

**Nikhil Ahuja**

Supervisor: Professor Aleš Stuchlík, Ph.D.

Consultant: Dr. Eduard Kelemen, Ph.D.

Prague, 2021

## **Abstract**

In real world environments, the animal needs to orient relative to another moving animal or objects such as during hunting a prey in a group, etc. To understand the role of the hippocampus in this ability we developed a task that would mimic important elements of this behavior in the laboratory. Three groups of rats were trained to avoid a mild foot-shock delivered in one of three positions: either in front, on the left side, or on the right side of a moving robot. Using an all-white robot without prominent visual patterns that would distinguish its different sides, we also probed whether avoidance was simply due to increased noise level or size of the retinal image or appearance of the robot. Further, we explored if the neurons in the hippocampal CA1 subfield encode the subject, the moving object and the environment in the task and how do these representations interact among themselves.

We observed that rats can recognize geometrical spatial relationships relative to a moving object. We found that rats can learn to avoid the front or either side of a moving object. This ability is not solely dependent upon visual marks on the object. By using an all-white version of the moving robot we observed that rats can perform similarly as with the black and white moving object. Recording from trained and untrained rats indicated that the animal represented both the position of the rat in the room as well as the spatial relationship between the rat and robot. We observed different responses in the recorded cells. However, they did not cluster into different classes of cells. Our analysis of spatial parameters, like coherence and spatial information revealed subtle differences between spatial activity in trained and untrained rats.

## Abstrakt

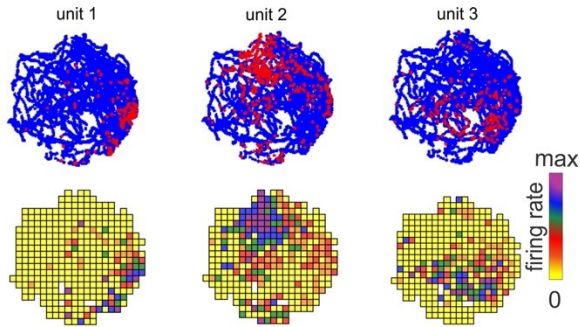
V reálném světě se zvíře musí orientovat vzhledem k jiným pohybujícím se zvířatům nebo předmětům, například při lovu kořisti ve skupině atd. Abychom pochopili roli hipokampu v této schopnosti, vyvinuli jsme úlohu, která napodobuje důležité prvky tohoto chování v laboratorním prostředí. Byly natrénovány tři skupiny potkanů, aby se vyhýbaly mírnému elektrickému šoku v jedné ze tří oblastí vzhledem k robotovi: před ním, po levé straně nebo po pravé straně pohybujícího se robota. Použitím zcela bílého robota bez prominentních vizuálních vzorů, které by odlišovaly jeho různé strany, jsme také zkoumali, zda se vyhýbání neuskutečňuje jednoduše kvůli zvýšené hladině hluku nebo velikosti sítnicového obrazu nebo vzhledu robota. Dále jsme zkoumali, zda neurony v hipokampální oblasti CA1 kódují subjekt, pohybující se objekt a okolní prostředí a jak tyto reprezentace interagují mezi sebou.

Zjistili jsme, že potkani dokážou rozpoznat geometrické prostorové vztahy vzhledem k pohybujícímu se objektu. Zjistili jsme, že potkani se mohou naučit vyhýbat se přední nebo jakékoliv boční straně pohybujícího se předmětu. Tato schopnost nezávisí pouze na vizuálních značkách na objektu. Použitím zcela bílé verze pohybujícího se robota jsme zjistili, že potkani mohou úlohu řešit podobně jako s černobílým pohybujícím se objektem. Záznamy neurálních dat z trénovaných a netrénovaných potkanů naznačily, že zvířata kódovala jak svoji vlastní polohu v místnosti, tak prostorový vztah mezi sebou a robotem. Pozorovali jsme odlišné odpovědi mezi nahrávanými buňkami. Tyto buňky se však neshlukovaly do odlišných klastrů. Naše analýza prostorových parametrů, jako jsou koherence a prostorové informace, odhalila mírné rozdíly mezi prostorovou aktivitou u trénovaných a netrénovaných potkanů.

## 1.Introduction

### *Hippocampus and place cells*

The hippocampus is a brain structure involved in many processes including spatial memory and navigation. The hippocampus and its related structures are included under the umbrella term, the hippocampal information. It includes CA1, CA2, CA3, dentate gyrus, subiculum, parasubiculum, presubiculum, entorhinal cortex (EC). Principal cells in the hippocampus have been found to encode a repertoire of variables, including spatial position (J. O'Keefe & Dostrovsky, 1971), time (MacDonald et al., 2011), the position of other moving objects (Danjo et al., 2018; Omer et al., 2018), etc. The discovery of neurons tuned to the spatial position in an environment in the rat hippocampus (J. O'Keefe & Dostrovsky, 1971) set the stage for future studies concerning the role of hippocampus in spatial navigation. These neurons were termed place cells because they fire when the animal is in a specific part of the environment (figure 1.1). The location where a place cell fires is called its place field. Place cells are complex spike cells, one of the two broad classes of cells found in the hippocampus. The other being theta cells. putative interneurons. The firing of place cells is influenced by several factors, including external sensory cues (O'Keefe & Conway, 1978), self-motion cues (McNaughton et al., 1996) boundaries of an environment (John O'Keefe & Burgess, 1996), local cues (Knierim, 2002), experience (Bostock et al., 1991).



**Figure 1.1. Three place cells recorded in a session. The upper part shows spike plots, rat's trajectory is in blue and each spike is shown as a red dot. In the lower part corresponding firing rate maps are shown. Note that the cells mostly fire in a particular place, hence called place cells. Firing rate (Hz) is coded on a color scale from yellow (silent) to magenta (maximum rate; recordings from our lab).**

### *Object representation in the hippocampus*

Rats and other animals encounter objects in real world environments and representation of these objects is an essential component of episodic memory. As the hippocampus is believed to be the anatomical site combining what and where information about an experience/episode. It has been hypothesized that what (objects or conspecific) and where (spatial information) information reaches the hippocampus primarily via lateral entorhinal cortex (LEC) and medial entorhinal cortex (MEC), respectively (Hargreaves et al., 2005). It is also known that the distal region of the hippocampal CA1 subfield primarily receives direct inputs from LEC and the proximal region receives input from MEC (Witter et al., 2000).

The predominant activity correlate of hippocampal neurons is an animal's position in the environment. However, a number of studies have shown that place fields are modulated by the presence of objects (Burke et al., 2011; Cressant et al., 1997; Deshmukh & Knierim, 2012; Gothard et al., 1996; Manns & Eichenbaum, 2009; Rivard et al., 2004).

## *Hippocampal activity in presence of another moving object*

The neural representation of stationary objects has been studied systematically in the hippocampus (Gothard et al., 1996; Rivard et al., 2004) and other brain areas, the neuronal substrate for representations of moving objects were previously assessed in only a few studies. Earlier studies reported that hippocampal neurons responded to the position of moving objects in allocentric space but they rarely assessed the responses to position of a rat relative to moving objects (for such exception see Ho et al., 2008). In these studies, the position of moving objects (inanimate or animate) in space did not influence hippocampal place cells much (Gianelli et al., 2018; Zynyuk et al., 2012), modulated place cell firing a little (Ho et al., 2008), or was represented in the firing of hippocampal cells (Danjo et al., 2018; Omer et al., 2018). The likelihood of observing influence of moving objects on neuronal firing increased when the object's position was more relevant for the rat in a particular experiment (Ahuja et al., 2020).

### **2. Aims of the study**

Our broader aim is to understand how CA1 neurons encode information about a moving object. Towards this end we aimed to developed a task where a rat was required to organize its behavior according to position (not just distance) with respect to a moving robot. Next, we aimed to determine whether hippocampal unit activity reflects position of a rat relative to a moving robot.

### **3. Material and methods**

Male Long-Evans rats aged three months (N=15) from the breeding colony of the Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague were used. Diet was restricted to maintain the rats at  $\geq 80\%$  of their free-feeding weight. All animal procedures were approved by the committee for the ethical treatment of animals and animal welfare at the Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences and by the

departmental committee of the Czech Academy of Sciences (Project of Experiments No. 136/2013), and complied with the Animal Protection Act of the Czech Republic and European Union directive 2010/63/EC.

### *Animals (electrophysiology experiments)*

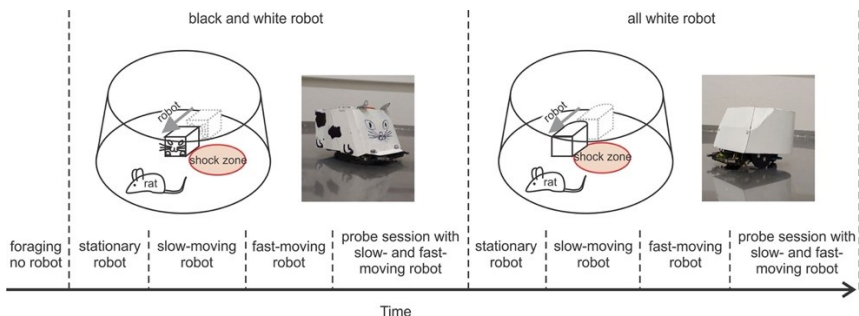
For electrophysiology experiments, rats were trained only to avoid one of the sides of the black and white robot (see below for details). This was done because side avoidance allows us to compare two zones that are more similar. Post completion of behavioral training rats were implanted with 32 channel versadrives (Neuralynx, Bozeman, MT). The data for electrophysiology analysis was used from three untrained rats and one trained rat.

### *Behavioral training procedure and testing protocol*

In Experiment 1, one group of rats (N=5) was trained to avoid a shock zone in front of the robot, and in Experiment 2 another group of rats (N=10) was trained to avoid the left or right side of the robot (figure 3.1; Ahuja et al., 2020). The position of the shock zone (front or left or right) was fixed for each rat for all the experiments. Rats in both experiments were subjected to the same four-stage training and shaping protocol, which only differed in the shock zone location. The four stages were: stage 1) rats were gradually trained to forage on the arena; stage 2) avoid stationary robot; stage 3) slow moving robot (2cm/s) and stage 4) fast moving robot (4cm/s; Ahuja et al., 2020). In each stage, rats underwent training for 3 sessions of 10 minutes, each day. The criteria for progression into the next stage was  $\leq 8$  entrances to the shock zone per session across three consecutive days. After the rats learned the task, their performance was tested in slow and fast moving robot probe sessions that were performed in the same way as the reinforced sessions except that shocks were not delivered.

After avoidance behavior was characterized in well-trained rats using the black and white (B&W) robot, we proceeded to assess whether avoidance depended on recognition of prominent visual patterns

painted on the robot, using an all-white robot (figure 3.1).The training protocol was similar as for the B&W robot.

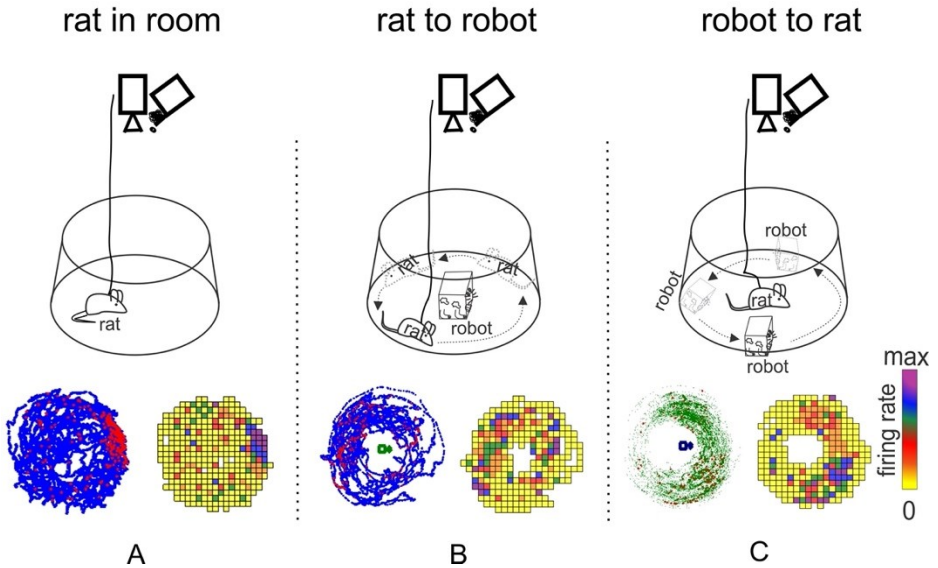


**Figure 3.1. Schematic of behavioral paradigm for avoiding left (one of the sides) zone around the robot (B) Protocol of experiment 2, where a rat avoided the shock zone on one side of the robot. The left plot shows a schematic of the arena, a rat, and B&W robot with the shock zone on the left side. In the adjacent figure, a photograph of the B&W robot is shown; right, shows a schematic of the arena, rat, and all-white robot with the shock zone on the left side, and a photograph of the all-white robot. The lower part depicts the timeline of the experiment (Ahuja et al., 2020).**

### *Electrophysiology testing protocol*

During this period, each recording day was followed by a training day, on which three sessions with the robot were conducted. These three sessions were: one stationary and two fast moving robot sessions in that order. Two important differences between these days were that on each recording day the shock was switched off and four sessions were conducted instead of three. The four sessions were: no robot (only rat foraged on the arena), stationary robot, fast moving robot (rat with the moving robot) and no robot, respectively. Analysis within the fast moving session (session 3) was performed in different reference frames as shown below (figure 3.2)





**Figure 3.2. Schematic of different reference frames used in the analysis: rat in room. (A)** In this frame rat's position on the arena was superimposed on the spiking activity for a cell across the time frame of the session; **rat to robot. (B)** In this frame the moving robot was brought to the center of the arena (post hoc) and rat's position with respect to the robot was superimposed on the spiking activity; **robot to rat (C)** In this frame the moving rat was brought to the center of the arena (post hoc) and robot's position with respect to the rat was superimposed on the spiking activity. Shown below are the spike plots and firing rate map for a place cell in different reference frames. Firing rate (Hz) is coded on a color scale from yellow (silent) to magenta (maximum rate).

## 4. Results and discussion

### *Rats can orient relative to a moving robot*

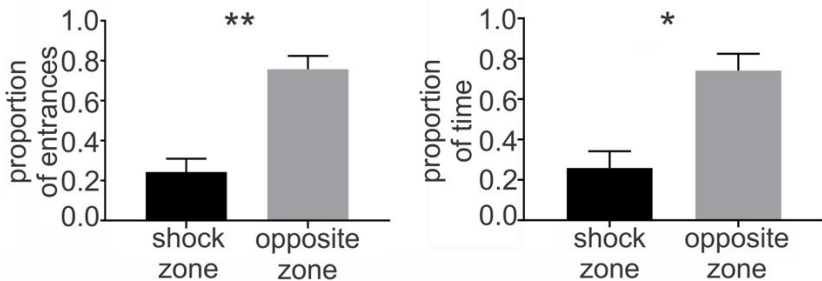
The performance of all trained rats was measured using two parameters: proportion of entrances in safe zones versus shock zone and proportion of time spent in shock zone versus safe zones in probe sessions. For rats avoiding the front zone, the performance was compared between the front zone and average of three other safe zones around the robot. In case of side avoidance, the performance was compared between the shock side and the opposite side, as the two side are mirror images of each other.

## Experiment 1

In B&W robot condition during front avoidance, we observed that there was significant difference in proportion of entrances and time spent in the shock zone versus safe zone in both slow and fast probe sessions. The shock zone values were lower. Similarly, in all-white robot condition during front avoidance condition the rats entered less into the shock zone versus the safe zones and they also spent less time in the shock zone versus the safe zone in both slow and fast probe sessions. There was significant difference between the two zones ( $p < 0.05$ ).

## Experiment 2

In side avoidance paradigm with B&W robot there was a significant difference in proportion of entrances and proportion of time spent in shock versus safe zone during slow probe sessions. However, during fast probe sessions, there was no significant difference in shock versus safe zone in both of the parameters evaluated. In the all-white robot condition, the rats entered less into the shock zone versus the safe zones and they also spent less time in the shock zone versus the safe zone in both slow and fast probe sessions (figure 4.1). The shock zone values were significantly lower.



**Figure 4.1. Entrances and time spent in shock versus opposite zone. Experiment 2 – Avoidance of a shock zone at the side of the robot. Data from fast-moving all-white robot are shown. Left figure show the proportion of entrances to the shock zone and safe zone in unreinforced probe sessions. Right figure show the proportion of time spent in the shock zone and safe zone in unreinforced probe sessions. Plots show means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$ , (Ahuja et al., 2020).**

In experiment 1, we demonstrated that the rats learned to avoid the circular shock zone in front of the moving robot. In experiment 2, we demonstrated the rats' ability to avoid the shock zone on one side (left or right) of the moving robot. Using the all-white robot, we showed that

the rats were able to perform the same tasks under the conditions when prominent visual patterns could not be used as cues controlling avoidance behavior. This set of experiments showed that avoidance behavior is based not merely on recognizing prominent simple stimuli, such as increased noise levels, the size of the retinal image of an object, or particular visual patterns characterizing the object, but is based on recognizing spatial relationships in the object's moving reference frame.

In experiment 2, when the rats had to avoid the shock zone on the side of the fast-moving B&W robot, the tendency for avoidance was not statistically significant at  $\alpha=0.05$  and was weaker than in experiment 1 with the shock zone in front of the robot (Ahuja et al., 2020). We can speculate that this difference can be attributed to the fact that avoiding the front of a dangerous object (animal or inanimate object) is an ethologically more common situation than avoiding the side of it. It is also possible that it is easier to recognize the front of the robot from the other relatively distinct-looking sides than it is to recognize the left side from the right, which looks more similar. Nevertheless, after additional training the rats were able to avoid the side of the robot as accurately as the front, as was manifested in the subsequent avoidance behavior with the all-white robot (figure 4.1).

We further looked at rats' behavior when they were within 20 cm of the shock and safe zones. In probe trials, where the behavior was not directly affected by foot shocks, we identified each entrance to the shock and safe zones and characterized every single entrance using the following parameters: time spent in a particular zone, average and minimum distance between a rat and the robot, speed of the rat, visit path and duration. We did not detect a systematic difference between shock zone and safe zone entrances in any of these parameters. The lack of a systematic pattern suggests that despite significantly lower numbers of shock zone entrances, once an animal entered the shock zone, its behavior there was not distinct from behavior in the safe zone.

Our current work extends the previous findings from our lab (Pastalkova et al., 2003; Svoboda et al., 2017; Telensky et al., 2009, 2011) by showing that the rat can assess not just the distance from a moving significant object, but also its relative position to the object.

While navigation relative to a moving beacon is a variant of *taxon* navigation, our task presents a different and more demanding cognitive problem, which requires a more complex spatial strategy: *locale* navigation (Gothard et al., 1996).

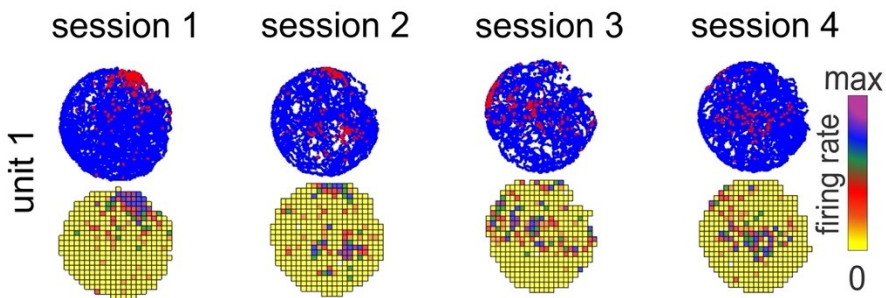
### *Activity of hippocampal units during the task*

To understand the neuronal basis of navigation relative to the moving robot and relevant representations we recorded electrophysiology data from trained and untrained animals. These data are from three untrained rats who were never shocked and a trained rat. We looked at responses of cells across sessions and representation in the moving robot session.

We recorded 42 hippocampal CA1 complex spike cells (CSCs, putative pyramidal neurons) and four theta cells from three rats in no-shock conditions and 46 CSCs and eight theta cells from one rat trained in robot avoidance task. We observed various representations both across sessions and representation in different reference frames within the fast moving robot session which could allow the rat in navigating around a moving object.

### *Effect of robot on firing pattern of cells*

We observed that some of the recorded cells changed their firing pattern with the introduction of the robot, while others remained unchanged. An example of a changed cell is given below (figure 4.2).



**Figure 4.2.** An example of cell whose firing pattern changed dramatically across four sessions. Spike plots and firing rate maps are shown for each unit. Spike plot shows rats trajectory in blue and a single spike as red dot. Unit 1 is from a untrained rat.  $C_{14_1}=0.1751$  is correlation values (for smoothed map) between first and fourth sessions. Firing rate (Hz) is coded on a color scale from yellow (silent) to magenta (maximum rate).

## Representation of rat and robot in various frames

To explore if the information about the moving robot is encoded in the firing of hippocampal cells. We made firing rate maps in robot to rata and rat to robot reference frames from moving robot sessions as discussed in the methods section. In the recorded sample of cells, besides place cells and theta cells, we also observed cells that represented the position of the rat in the room as well as its position relative to the robot or robot relative to the rat.

We observed the following type of units: 1) units that represented only position of rat in the room; 2) units that represented the position of rat relative to the robot and robot relative to the rat (unit 1, figure 4.3); 3) units that represented the position of rat in room as well as rat relative to the robot and robot relative to the rat (unit 2, figure 4.3); 4) units which conjunctively represented the position of rat in the room, rat relative to the robot and robot relative to the rat (unit 2, figure 4.3); 5) units which were not organized in any of the reference frames.

The presence of these type of units in the hippocampus is in line with the increasing evidence that the hippocampus is also involved in social

information processing (Omer et al., 2018; Danjo et al., 2018; von Heimendahl et al., 2012; Sutherland & Bilkey, 2020; Mou & Ji, 2016; Leroy et al., 2018; Meira et al., 2018; Hitti & Siegelbaum, 2014)

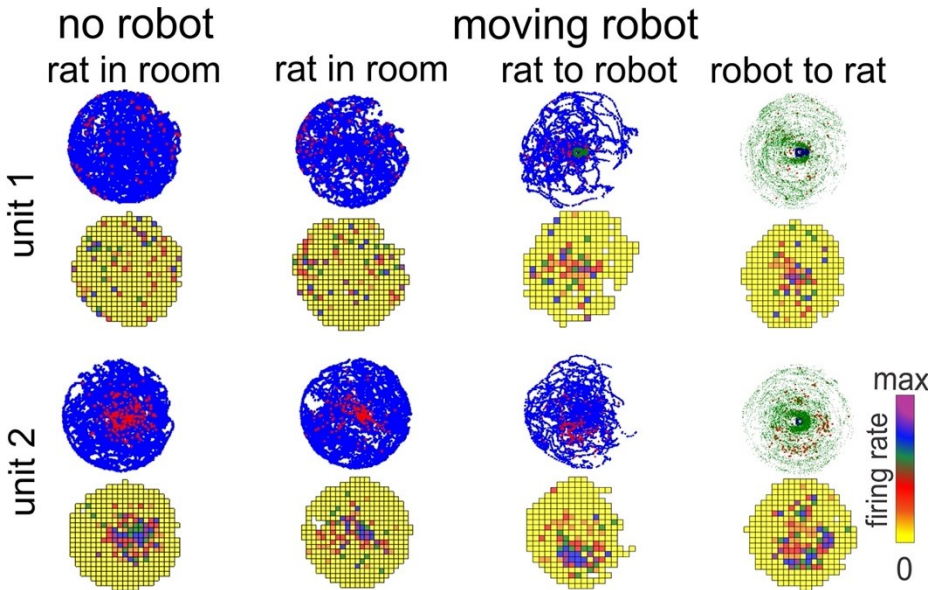


Figure 4.3. Two example units showing representation in various reference frames. Spike plots and firing rate maps are shown for each unit. Spike plot shows rats trajectory in blue and a single spike as red dot. The colors on rate maps corresponds to the color bar. Only the no robot (session 1) and moving robot (session 3) sessions are shown. For moving robot, representation has been constructed for three reference frames: rat in room, rat relative to the robot and robot relative to the rat (see figure 3.2). For no robot session, only rat in room representation is possible which is shown on the left. Firing rate (Hz) is coded on a color scale from yellow (silent) to magenta (maximum rate).

### Absence of distinct cell types in the task

We made distribution of recorded cells based on their coherence and spatial information from both trained and untrained groups. The distribution were continuous for both theta and complex spike cells, pointing towards absence of different cell types in the sample.

Next, we looked at how coherence, spatial information and information per spike changed across reference frames in trained and untrained groups.

We found significant difference in spatial information (bits/sec; denotes rate at which spike train conveys information) and information per spike (bits/spike; denotes specificity of firing) across reference frames in CSCs from trained rat. Thus CSCs from trained rat had different spatial specificity and rate of conveying information across reference frames.

## **5. Conclusion**

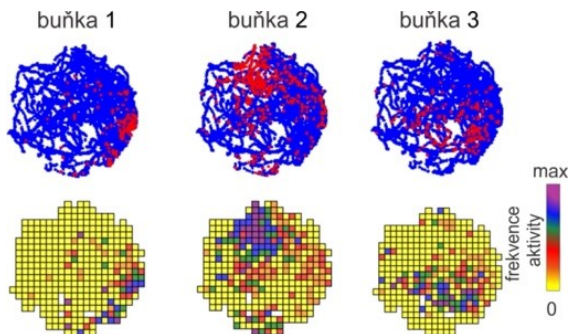
In summary, we behaviorally characterized and analyzed the rats' ability to navigate with respect to a moving object. In our experiments, the rats avoided specific positions defined in relation to a moving robot, either the front of the robot or one side of the robot. The avoidance did not depend on prominent visual patterns (drawings) on the robot, as the geometry of the all-white robot was sufficient to guide the avoidance behavior. Robot movement was not necessary as the avoidance behavior was preserved also in the presence of a stationary robot. This important and cognitively challenging aspect of navigation deserves a further study on the level of behavior as well as underlying neuronal mechanisms required for coordination of own position and position of an object. Electrophysiology recording from trained and untrained rats indicated that the animal represented both the position of the rat in the room as well as a spatial relationship between the rat and robot, we observed different responses in the recorded cells. However, they did not cluster into different classes of cells.

## 1. Úvod

### *Hipokampus a místní buňky (place cells)*

Hipokampus je mozková struktura účastnící se mnoha procesů včetně prostorové paměti a navigace. Hipokampus a související struktury jsou zahrnuty pod zastřešujícím termínem hipokampální formace. Hipokampální formace zahrnuje oblasti CA1, CA2, CA3, gyrus dentatus, subiculum, parasubikulum, presubikulum a entorinální kůru (EC). Bylo zjištěno, že principiální buňky (tzv. principal cells) v hipokampu kódují repertoár proměnných, včetně pozice subjektu v prostoru (J. O'Keefe & Dostrovsky, 1971), času (MacDonald et al., 2011), polohy dalších pohybujících se objektů (Danjo et al., 2018; Omer et al., 2018) atd. Objev neuronů reflektujících pozici subjektu v prostoru v potkaním hipokampu (J. O'Keefe & Dostrovsky, 1971) byl základem pro budoucí studie týkající se role hipokampu v prostorové navigaci. Tyto neurony byly nazvány místní buňky (place cells), protože jsou aktivní, když se zvíře nachází na určitém místě v prostoru (obrázek 1.1). Místo v prostoru, ve kterém je místní buňka aktivní, se nazývá pole místa (place field). Místní buňky představují tzv. "complex spike" buňky, jednu ze dvou hlavních tříd buněk nacházejících se v hipokampu. Druhou třídu tvoří theta buňky, pravděpodobně interneurony. Aktivita místních buněk je ovlivněna několika faktory včetně vnějších sensorických podnětů (O'Keefe & Conway, 1978), vnímáním vlastního pohybu (McNaughton et al., 1996), hranic prostředí (John O'Keefe & Burgess, 1996), místních podnětů (Knierim, 2002) a zkušenosti (Bostock et al., 1991).





**Obrázek 1.1.** Tři místní buňky nahrané během sezení (session). V horní části jsou zobrazeny akční potenciály, trajektorie potkana je modrá a každý akční potenciál je zobrazen jako červená tečka. Ve spodní části jsou zobrazeny odpovídající frekvenční mapy aktivity jednotlivých buněk. Všimněte si, že buňky jsou většinou aktivní na určitém místě v prostoru, proto se nazývají místní buňky. Frekvence aktivity (Hz) je kódována na barevné stupnici od žluté (neaktivní) po purpurovou (maximální frekvence; záznamy z naší laboratoře).

### *Reprezentace objektů v hipokampu*

Potkani a jiná zvířata se v reálném prostředí setkávají s objekty a reprezentace těchto objektů je podstatnou součástí epizodické paměti. Hipokampus je považován za anatomickou strukturu kombinující informace “co” a “kde” u konkrétního zážitku/epizody. Předpokládá se, že informace “co” (objekty apod.) a “kde” (prostorové informace) se do hipokampu dostávají primárně prostřednictvím laterální entorinální kůry (LEC), resp. mediální entorinální kůry (MEC) (Hargreaves et al., 2005). Je také známo, že distální část hipokampální oblasti CA1 primárně přijímá přímé vstupy z LEC, a proximální oblast přijímá vstupy z MEC (Witter et al., 2000).

Převládajícím korelátém aktivity hipokampálních neuronů je pozice zvířete v prostředí. Řada studií však ukázala, že pole místa (place fields) jsou modulována přítomností objektů (Burke et al., 2011; Cressant et al., 1997; Deshmukh & Knierim, 2012; Gothard et al., 1996; Manns & Eichenbaum, 2009; Rivard et al., 2004).

## *Hipokampální aktivita v přítomnosti jiného pohybujícího se objektu*

Neurální reprezentace stacionárních objektů byla systematicky studována v hipokampu (Gothard et al., 1996; Rivard et al., 2004) i dalších oblastech mozku. Neuronálním substrátem reprezentace pohybujících se objektů se zabývalo pouze několik studií. Dřívější studie uvádějí, že hipokampální neurony reagují na polohu pohybujících se objektů v alocentrickém prostoru, ale jen zřídka se zabývaly reakcemi na polohu potkana vzhledem k pohybujícím se objektům (výjimky viz Ho et al., 2008). V těchto studiích pozice pohybujících se objektů (neživých nebo živých) v prostoru neměla zásadní vliv na hipokampální místní buňky (Gianelli et al., 2018; Zynyuk et al., 2012), mírně modulovala jejich aktivitu (Ho et al., 2008), nebo dokonce byla reprezentována aktivitou hipokampálních buněk (Danjo et al., 2018; Omer et al., 2018). Pravděpodobnost vlivu pohybujících se objektů na aktivitu neuronů se zvýšila, když byla poloha objektu pro potkana v konkrétním experimentu více relevantní (Ahuja et al., 2020).

## **2. Cíle práce**

Naším hlavním cílem je porozumět tomu, jak neurony v oblasti CA1 kódují informace o pohybujícím se objektu. Za tímto účelem jsme vyvinuli úlohu, při které potkan musel přizpůsobovat své chování vzhledem ke své poloze (nejen vzdálenosti) k pohybujícímu se robotovi. Dále bylo naším cílem zjistit, zda hipokampální aktivita odráží polohu potkana vzhledem k pohybujícímu se robotovi.

## **3. Materiál a metody**

Byli použiti potkanní samci kmene Long-Evans ve věku tří měsíců (N = 15) z chovné kolonie Fyziologického ústavu Akademie věd v Praze. Podávání krmiva bylo omezeno, aby se hmotnost potkanů udržovala na > 80% jejich hmotnosti při neomezeném přístupu k potravě. Všechny experimentální postupy byly schváleny etickou komisí Fyziologického

ústavu Akademie věd ČR a oborovou komisí Akademie věd ČR (Projekt pokusu č. 136/2013) a byly v souladu se zákonem na ochranu zvířat České republiky a směrnicí Evropské unie 2010/63/EU.

### *Zvířata (elektrofyzilogické experimenty)*

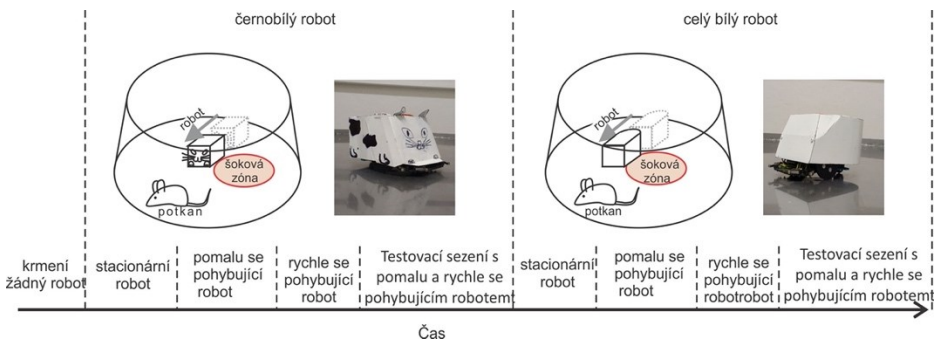
Pro účely elektrofyziologických experimentů byli potkani trénováni, aby se vyhýbali pouze jedné ze stran černobílého robota (podrobnosti viz níže). Tento postup byl zvolen, protože vyhýbání se bočními stranám nám umožňuje porovnat dvě zóny, které jsou si více podobné. Po dokončení behaviorálního tréninku byly potkanům implantovány 32-kanálové versadrivy (Neuralynx, Bozeman, MT). Data pro elektrofyziologickou analýzu pocházela od tří netrénovaných a jednoho trénovaného potkana.

### *Postup behaviorálního tréninku a testovací protokol*

V Experimentu 1 byla jedna skupina potkanů (N = 5) trénována, aby se vyhýbali trestané zóně lokalizované před robotem, kde jim byl udělen slabý elektrický impuls. V Experimentu 2 byla trénována další skupina potkanů (N = 10), aby se vyhýbali levé nebo pravé straně robota (obrázek 2.1; Ahuja et al., 2020). Poloha trestané zóny (vpředu, vlevo nebo vpravo) byla pro každého potkana pro všechny experimenty neměnná. Potkani v obou experimentech byli podrobeni stejnému čtyřfázovému tréninkovému protokolu, který se lišil pouze v umístění trestané zóny. Čtyři fáze byly: 1) potkani byli postupně trénováni, aby se pohybovali po aréně a přijímali potravu; 2) vyhýbání se stacionárnímu robotovi; 3) vyhýbání se robotovi s pomalým pohybem (2 cm/s) a 4) robotovi s rychlým pohybem (4 cm/s; Ahuja et al., 2020). V každé fázi potkani podstoupili každý den 3 tréninková sezení po 10 minutách. Kritéria pro postup do další fáze byla  $\leq 8$  vstupů do trestané zóny za jedno sezení po dobu tří po sobě následujících dnů. Poté, co se potkani tuto úlohu naučili, byli testováni v testovacích sezeních s pomalu a rychle se pohybujícím robotem, která byla prováděna stejným způsobem, avšak nebyl aplikován elektrický impuls.

Poté, co byla charakterizována schopnost vyhýbání se objektu u natrénovaných potkanů s použitím černobílého robota, použili jsme

bílého robota za účelem posouzení, zda vyhýbání záviselo na rozpoznání výrazných vizuálních značek namalovaných na robotovi (obrázek 3.1). Tréninkový protokol byl podobný jako u černobílého robota.



**Obrázek 3.1.** Schéma behaviorálního paradigmatu pro vyhýbání se levé (jedné ze stran) zóně kolem robota. Protokol z experimentu 2, kdy se potkan vyhýbal šokové zóně na jedné straně robota. Levý obrázek ukazuje schéma arény, potkana a černobílého robota se šokovou zónou na levé straně. Na vedlejším obrázku je fotografie černobílého robota; obrázek vpravo ukazuje schéma arény, potkana a bílého robota se šokovou zónou na levé straně a fotografii bílého robota. Spodní část zobrazuje časovou osu experimentu (Ahuja et al., 2020).

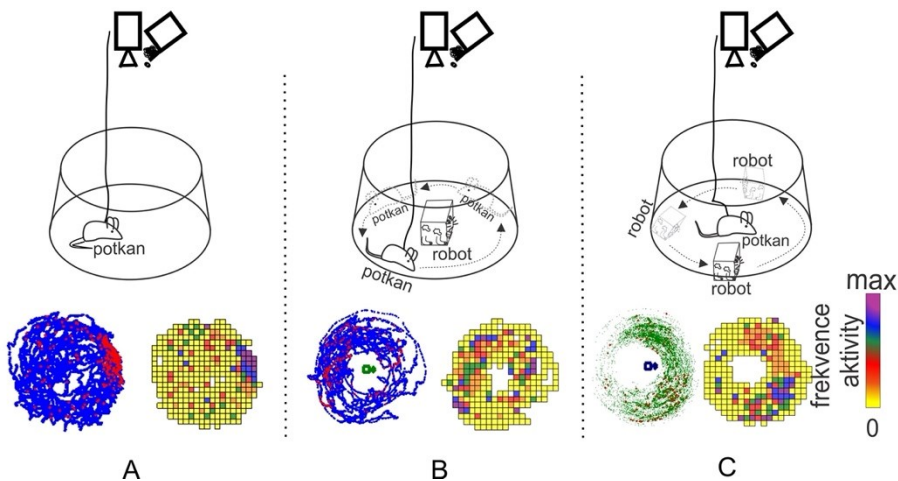
### *Protokol elektrofyziologického testování*

Během tohoto období po každém dnu, kdy probíhalo nahrávání elektrofyziologických dat, následoval tréninkový den, ve kterém byla provedena tři sezení s robotem. Jednalo se o tato tři sezení: jedno stacionární a dvě sezení s rychle se pohybujícím robotem, v tomto pořadí. Dva důležité rozdíly mezi těmito dny spočívaly v tom, že v každý nahrávací den byl šok vypnut a místo tří byla provedena čtyři sezení. Tato čtyři sezení byla: bez robota (pouze potkan krmený na aréně), stacionární robot, rychle se pohybující robot (potkan s pohybujícím se robotem) a sezení bez robota. Analýza v rámci sezení s rychle se pohybujícím robotem (3. sezení) byla provedena v různých referenčních rámcích, jak je znázorněno níže (obrázek 3.2).

potkan vůči místnosti

potkan vůči robotovi

robot vůči potkanovi



**Obrázek 3.2.** Schéma různých referenčních rámců použitých při analýze: potkan vůči místnosti. (A) V tomto rámci byla pozice potkana v aréně superponována na aktivitu buňky během sezení; potkan vůči robotovi. (B) V tomto rámci byl pohybující se robot znázorněn do středu arény (post hoc) a poloha potkana vzhledem k robotovi byla superponována na aktivitu buňky; robot vůči potkanovi (C) V tomto rámci byl pohybující se potkan znázorněn do středu arény (post hoc) a poloha robota vzhledem k potkanovi byla superponována na aktivitu buňky. Níže je zobrazena aktivita místních buněk v různých referenčních rámcích. Frekvence aktivity (Hz) je kódována na barevné stupnici od žluté (neaktivní) po purpurovou (maximální frekvence).

## 4. Výsledky a diskuse

*Potkani se mohou orientovat vzhledem k pohybujícímu se robotovi*

Výkon všech trénovaných potkanů byl kvantifikován pomocí dvou parametrů: poměr vstupů do bezpečných zón vs. do šokové zóny, a poměr času stráveného v šokové zóně vs. v bezpečné zóně v testovacích sezeních. U potkanů vyhýbajících se zóně před robotem byl porovnán výkon mezi přední zónou a průměrem ze tří dalších bezpečných zón kolem robota. V případě vyhýbání se stranám robota

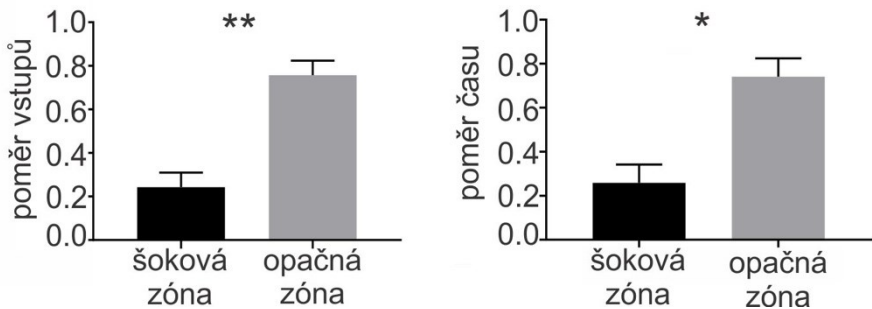
byl porovnáván výkon mezi trestanou stranou a opačnou stranou, protože obě strany jsou vzájemně zrcadlovými obrazy.

#### Experiment 1

V případě vyhýbání se zóně před černobílým robotem jsme prokázali signifikantní rozdíl v poměru vstupů i času stráveného v šokové zóně oproti bezpečné zóně, a to u pomalu i rychle se pohybujícího robota. Hodnoty pro šokovou zónu byly nižší. Podobně v případě zcela bílého robota při vyhýbání se jeho přední straně, potkání vstupovali méně do šokové zóny oproti bezpečným zónám a také strávili méně času v šokové zóně oproti bezpečné zóně jak v sezeních s pomalým, tak s rychlým robotem. Mezi oběma zónami byl významný rozdíl ( $p < 0,05$ ).

#### Experiment 2

V paradigmatu bočního vyhýbání s černobílým robotem byl signifikantní rozdíl v poměru vstupů i času stráveného v šokové zóně oproti bezpečné zóně během sezení s pomalým robotem. Během sezení s rychlým robotem však nebyl v obou hodnocených parametrech významný rozdíl mezi šokovou a bezpečnou zónou. V případě zcela bílého robota vstupovali potkání méně do šokové zóny oproti bezpečným zónám a také strávili méně času v šokové zóně oproti bezpečné zóně v sezeních s rychlým i pomalým robotem (obrázek 4.1). Hodnoty pro šokové zóny byly signifikantně nižší.



**Obrázek 4.1. Vstupy a čas strávený v šokové vs. v opačné zóně. Experiment 2 – Vyhýbání šokové zóně na boku robota. Jsou zobrazena data ze sezení s rychle se pohybujícím celobílým robotem. Obrázek vlevo ukazuje podíl vstupů do šokové zóny a bezpečné zóny v testovacích sezeních bez šoku. Pravý obrázek ukazuje podíl času stráveného v šokové zóně a bezpečné zóně v testovacích sezeních bez šoku. Grafy ukazují průměr  $\pm$  SEM. \*  $p < 0,05$  a \*\*  $p < 0,01$ , (Ahuja et al., 2020).**

V Experimentu 1 jsme prokázali, že potkani jsou schopni se naučit vyhýbat se kruhové šokové zóně před pohybujícím se robotem. V Experimentu 2 jsme prokázali schopnost potkanů vyhnout se šokové zóně po jedné ze stran (vlevo nebo vpravo) pohybujícího se robota. Pomocí zcela bílého robota jsme ukázali, že potkani byli schopni provádět stejné úkoly i za podmínek, kdy se nemohli při vyhýbání řídit výraznými vizuálními značkami na robotovi. Tato sada experimentů ukázala, že schopnost vyhýbání se není založena pouze na vnímání výrazných jednoduchých podnětů jako jsou zvýšená hladina hluku, velikost obrazu objektu na sítnici nebo konkrétní vizuální vzorce charakterizující objekt, ale je založena na rozpoznávání prostorových vztahů v pohyblivém referenčním rámci objektu.

V Experimentu 2, kdy se potkani museli vyhýbat šokové zóně na straně rychle se pohybujícího černobílého robota, nebyla tendence vyhýbání se statisticky významná při  $\alpha = 0,05$  a byla slabší než v Experimentu 1 s šokovou zónou před robotem (Ahuja et al., 2020). Můžeme spekulovat, že tento rozdíl lze připsat skutečnosti, že vyhýbání se přední části nebezpečného předmětu (zvíře nebo neživý předmět) je etologicky častější situace než vyhýbání se jeho straně. Je také možné,

že je snazší rozeznat přední část robota od ostatních relativně odlišně vypadajících stran, než rozeznat levou stranu od pravé, které si jsou podobné. Po dalším tréninku se však potkani dokázali vyhýbat boční straně robota stejně přesně jako přední straně, jak se projevilo v následném chování u zcela bílého robota (obrázek 4.1).

Dále jsme zkoumali chování potkanů, když se nacházely do vzdálenosti 20 cm od šokové a bezpečné zóny. Ve testovacích sezeních, kde chování potkanů nebylo přímo ovlivněno elektrickým stimulem, jsme identifikovali každý vstup do šokové a bezpečné zóny a charakterizovali pomocí následujících parametrů: čas strávený v konkrétní zóně, průměrná a minimální vzdálenost mezi potkanem a robotem, rychlost potkana, délka trajektorie uvnitř zóny a doba jejího trvání. V žádném z těchto parametrů jsme nenašli systematický rozdíl mezi vstupy do šokové zóny a bezpečné zóny. Nepřítomnost systematického vzorce chování naznačuje, že i přes výrazně nižší počet vstupů do šokové zóny, se chování zvířete v šokové zóně nelišilo od chování v bezpečné zóně, jakmile zvíře vstoupilo do šokové zóny.

Naše současná práce rozšiřuje předchozí zjištění z naší laboratoře (Pastalkova et al., 2003; Svoboda et al., 2017; Telensky et al., 2009, 2011) zjištěním, že potkan dokáže posoudit nejen vzdálenost od pohybujiícího se významného objektu, ale také svoji relativní polohu k tomuto objektu. Zatímco navigace ve vztahu k pohybujiícímu se objektu je variantou navigace trasou (taxon navigation), naše úloha představuje odlišný a náročnější kognitivní problém, který vyžaduje složitější prostorovou strategii: navigaci pomocí mapy (locale navigation) (Gothard et al., 1996).

### *Aktivita hipokampálních buněk během úlohy*

Abychom porozuměli neuronálním podkladům navigace vzhledem k pohybujiícímu se robotovi a příslušným reprezentacím, nahrávali jsme elektrofyziologická data z trénovaných a netrénovaných zvířat. Naše data pocházejí ze tří netrénovaných potkanů, kterým nebyly nikdy aplikovány elektrické stimuly, a jednoho trénovaného potkana.

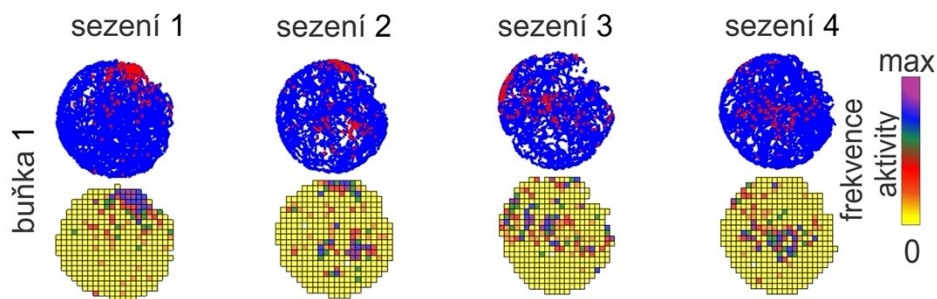


Sledovali jsme odpovědi buněk napříč sezeními a reprezentaci v sezení s pohybujícím se robotem.

Nahráli jsme 42 hipokampálních “complex spike” buněk v oblasti CA1 (CSC, předpokládané pyramidové neurony) a čtyři buňky theta od tří potkanů v podmínkách bez šoku a 46 CSC a osm buněk theta od jednoho potkana trénovaného v úloze vyhýbání se robotovi. Pozorovali jsme různé reprezentace napříč sezeními i reprezentace v různých referenčních rámcích během sezení s rychle se pohybujícím robotem, které by mohly potkanovi umožňovat navigaci kolem pohybujícího se objektu.

### *Vliv robota na typ aktivity buněk*

Pozorovali jsme, že některé nahrávané buňky změny svůj vzorec aktivity po dosažení robota do arény, zatímco jiné zůstaly nezměněny. Níže je uveden příklad buňky se změněnou aktivitou.



**Obrázek 4.2.** Příklad buňky, jejíž vzorec aktivity se dramaticky změnil během čtyř sezení. Pro každou buňku jsou zobrazeny akční potenciály a frekvenční mapy aktivity. Horní graf ukazuje trajektorii potkana modře a každý akční potenciál jako červenou tečku. Buňka 1 je od netrénovaného potkana.  $C14\_1 = 0,1751$  jsou korelační hodnoty (pro vyhlazenou mapu) mezi prvním a čtvrtým sezením. Frekvence aktivity (Hz) je kódována na barevné stupnici od žluté (neaktivní) po purpurovou (maximální frekvence).

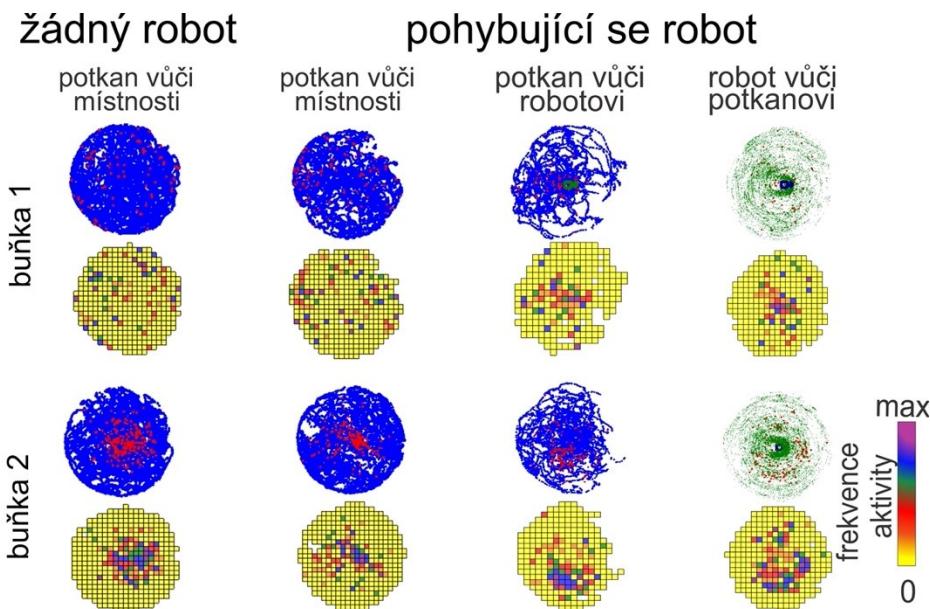
### *Reprezentace potkana a robota v různých rámcích*

Abychom prozkoumali, zda jsou informace o pohybujícím se robotovi zakódovány aktivitou hipokampálních buněk, vytvořili jsme mapy frekvence aktivity v referenčních rámcích robota vůči potkanovi a

potkana vůči robotovi ze sezení s pohybujícím se robotem, jak je popsáno v části Metody. V zaznamenaném vzorku buněk jsme kromě místních buněk a buněk theta pozorovali také buňky, které reprezentovaly polohu potkana v místnosti a také jeho polohu vzhledem k robotovi nebo polohu robota vzhledem k potkanovi.

Pozorovali jsme následující typy buněk: 1) buňky, které reprezentovaly pouze polohu potkana v místnosti; 2) buňky, které reprezentovaly polohu potkana vzhledem k robotovi a robota vzhledem k potkanovi (buňka 1, obrázek 4.3); 3) buňky, které reprezentovaly polohu potkana v místnosti i potkana vzhledem k robotovi a robota vzhledem k potkanovi (buňka 2, obrázek 4.3); 4) buňky, které konjunktivně reprezentovaly polohu potkana v místnosti, potkana vzhledem k robotovi a robota vzhledem k potkanovi (buňka 2, obrázek 4.3); 5) buňky, které nebyly uspořádány v žádném z referenčních rámců.

Přítomnost těchto typů jednotek v hipokampu je v souladu s rostoucím množstvím výsledků ukazujících, že hipokampus se podílí také na zpracování sociálních informací (Omer et al., 2018; Danjo et al., 2018; von Heimendahl et al., 2012; Sutherland & Bilkey, 2020; Mou & Ji, 2016; Leroy et al., 2018; Meira et al., 2018; Hitti & Siegelbaum, 2014).



Obrázek 4.3. Dvě ukázky buněk vykazujících reprezentaci v různých referenčních rámcích. Pro každou buňku jsou zobrazeny akční potenciály a frekvenční mapy aktivity. Graf s akčními potenciály ukazuje trajektorii potkana modře a každý akční potenciál jako červenou tečku. Zobrazeny jsou pouze hodnoty ze sezení bez robota (sezení 1) a sezení s pohybujícím se robotem (sezení 3). Pro pohybujícího se robota byla vytvořena reprezentace pro tři referenční rámce: potkan v místnosti, potkan vzhledem k robotovi a robot vzhledem k potkanovi (viz obrázek 3.2). Pro sezení bez robota je relevantní pouze reprezentace potkana vůči místnosti, která je zobrazena vlevo. Frekvence aktivity (Hz) je kódována na barevné stupnici od žluté (neaktivní) po purpurovou (maximální frekvence).

#### *Absence odlišných typů buněk při řešení úlohy*

Analyzovali jsme distribuci nahrávaných buněk na základě jejich koherence a prostorové informace od trénovaných i netrénovaných potkanů. Distribuce byla kontinuální jak pro theta, tak pro “complex spike” buňky, což naznačuje nepřítomnost odlišných typů buněk v získaném vzorku.

Dále jsme sledovali jak se koherence, prostorová informace a informace na akční potenciál měnily napříč referenčními rámci u trénovaných a netrénovaných skupin potkanů.

Zjistili jsme významný rozdíl v prostorové informaci (bity/s; označuje rychlost, při které sled akčních potenciálů přenáší informace) a informaci na akční potenciál (bity/akční potenciál; označuje specifitu aktivity neuronů) napříč referenčními rámci u “complex spike” buněk u trénovaných a netrénovaných potkanů. “Complex spike” buňky u trénovaného potkana tedy měly odlišnou prostorovou specifitu a rychlost přenosu informací napříč referenčními rámci.

## 5. Závěry

Provedli jsme behaviorální charakterizaci a analýzu schopnosti potkanů navigovat se vzhledem k pohybujícímu se objektu. V našich experimentech se potkani vyhýbali konkrétním oblastem definovaným vůči pohybujícímu se robotovi, buď před robotem nebo po jedné straně robota. Schopnost vyhýbání nezávisela na výrazných vizuálních značkách umístěných na robotovi, jelikož schopnost vyhýbání nebyla narušena ani při použití zcela bílého robota bez značek. Pohyb robota nebyl nutný, protože schopnost vyhýbání se byla zachována i za přítomnosti stacionárního robota. Tento důležitý a kognitivně náročný aspekt navigace si zaslouží další studium na behaviorální úrovni i na úrovni neuronálních mechanismů potřebných pro koordinaci vlastní polohy a polohy objektu. Nahrávání neurálních dat u trénovaných a netrénovaných potkanů naznačilo, že zvíře si utvořilo reprezentaci jak své vlastní polohy v místnosti, tak prostorového vztahu mezi sebou a robotem. Pozorovali jsme odlišné odpovědi mezi nahrávanými buňkami. Tyto buňky se však neshlukovaly do odlišných klastrů.

## 6. Použitá literatura

- Ahuja, N., Lobellová, V., Stuchlík, A., & Kelemen, E. (2020). Navigation in a Space With Moving Objects: Rats Can Avoid Specific Locations Defined With Respect to a Moving Robot. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.576350>
- Bostock, E., Muller, R. U., & Kubie, J. L. (1991). Experience-dependent modifications of hippocampal place cell firing. *Hippocampus*, 1(2), 193–205. <https://doi.org/10.1002/hipo.450010207>
- Burke, S. N., Maurer, A. P., Nematollahi, S., Uprety, A. R., Wallace, J. L., & Barnes, C. A. (2011). The influence of objects on place field expression and size in distal hippocampal CA1. *Hippocampus*, 21(7), 783–801. <https://doi.org/10.1002/hipo.20929>
- Cressant, A., Muller, R. U., & Poucet, B. (1997). Failure of Centrally Placed Objects to Control the Firing Fields of Hippocampal Place Cells. *The Journal of Neuroscience*, 17(7), 2531–2542. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-07-02531.1997>
- Danjo, T., Toyoizumi, T., & Fujisawa, S. (2018). Spatial representations of self and other in the hippocampus. *Science*, 359(6372), 213–218. <https://doi.org/10.1126/science.aao3898>
- Deshmukh, S. S., & Knierim, J. J. (2012). Hippocampus. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, 3(2), 231–251. <https://doi.org/10.1002/wcs.1164>
- Gianelli, S., Harland, B., & Fellous, J.-M. (2018). A new rat-compatible robotic framework for spatial navigation behavioral experiments. *Journal of Neuroscience Methods*, 294, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.10.021>
- Gothard, K., Skaggs, W., Moore, K., & McNaughton, B. (1996). Binding of hippocampal CA1 neural activity to multiple reference frames in a landmark-based navigation task. *The Journal of Neuroscience*, 16(2), 823–835. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-02-00823.1996>
- Hargreaves, Eric L., Rao, G., Lee, I., Knierim, J. (2005). Major Dissociation Between Medial and Lateral Entorhinal Input to Dorsal Hippocampus. *Science*, 308(5729), 1792–1794. <https://doi.org/10.1126/science.1110449>
- Hitti, F. L., & Siegelbaum, S. A. (2014). The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*, 508(7494), 88–92. <https://doi.org/10.1038/nature13028>
- Ho, S. A., Hori, E., Kobayashi, T., Umeno, K., Tran, A. H., Ono, T., & Nishijo, H. (2008). Hippocampal place cell activity during chasing of a moving object associated with reward in rats. *Neuroscience*, 157(1), 254–270. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.09.004>
- Knierim, J. J. (2002). Dynamic Interactions between Local Surface Cues, Distal Landmarks, and Intrinsic Circuitry in Hippocampal Place Cells. *The Journal of Neuroscience*, 22(14), 6254–6264. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-14-06254.2002>
- Leroy, F., Park, J., Asok, A., Brann, D. H., Meira, T., Boyle, L. M., Buss, E. W., Kandel, E. R., & Siegelbaum, S. A. (2018). A circuit from hippocampal CA2 to lateral septum disinhibits social aggression. *Nature*, 564(7735), 213–218. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0772-0>
- MacDonald, C. J., Lepage, K. Q., Eden, U. T., & Eichenbaum, H. (2011). Hippocampal “Time Cells” Bridge the Gap in Memory for Discontiguous Events. *Neuron*, 71(4), 737–749. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.07.012>
- Manns, J. R., & Eichenbaum, H. (2009). A cognitive map for object memory in the hippocampus. *Learning & Memory*, 16(10), 616–624. <https://doi.org/10.1101/lm.1484509>
- McNaughton, B. L., Barnes, C. A., Gerrard, J. L., Gothard, K., Jung, M. W., Knierim, J. J.,

- Kudrimoti, H., Qin, Y., Skaggs, W. E., Suster, M., & Weaver, K. L. (1996). Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system. *The Journal of Experimental Biology*, 199(Pt 1), 173–185. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8576689>
- Meira, T., Leroy, F., Buss, E. W., Oliva, A., Park, J., & Siegelbaum, S. A. (2018). A hippocampal circuit linking dorsal CA2 to ventral CA1 critical for social memory dynamics. *Nature Communications*, 9(1), 4163. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06501-w>
- Mou, X., & Ji, D. (2016). Social observation enhances cross-environment activation of hippocampal place cell patterns. *eLife*, 5, e18022. <https://doi.org/10.7554/eLife.18022>
- O'Keefe, J., & Conway, D. H. (1978). Hippocampal place units in the freely moving rat: Why they fire where they fire. *Experimental Brain Research*, 31(4), 573–590. <https://doi.org/10.1007/BF00239813>
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1), 171–175. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90358-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90358-1)
- O'Keefe, John, & Burgess, N. (1996). Geometric determinants of the place fields of hippocampal neurons. *Nature*, 381(6581), 425–428. <https://doi.org/10.1038/381425a0>
- Omer, D. B., Maimon, S. R., Las, L., & Ulanovsky, N. (2018). Social place-cells in the bat hippocampus. *Science*, 359(6372), 218–224. <https://doi.org/10.1126/science.aao3474>
- Pastalkova, E., Kelemen, E., & Bures, J. (2003). Operant behavior can be triggered by the position of the rat relative to objects rotating on an inaccessible platform. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 2094–2099. <https://doi.org/10.1073/pnas.0438002100>
- Rivard, B., Li, Y., Lenck-Santini, P.-P., Poucet, B., & Muller, R. U. (2004). Representation of Objects in Space by Two Classes of Hippocampal Pyramidal Cells. *Journal of General Physiology*, 124(1), 9–25. <https://doi.org/10.1085/jgp.200409015>
- Sutherland, C. J., & Bilkey, D. K. (2020). Hippocampal coding of conspecific position. *Brain Research*, 1745, 146920. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.146920>
- Svoboda, J., Lobellová, V., Popelíková, A., Ahuja, N., Kelemen, E., & Stuchlík, A. (2017). Transient inactivation of the anterior cingulate cortex in rats disrupts avoidance of a dynamic object. *Neurobiology of Learning and Memory*, 139, 144–148. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.01.003>
- Telensky, P., Svoboda, J., Blahna, K., Bures, J., Kubik, S., & Stuchlík, A. (2011). Functional inactivation of the rat hippocampus disrupts avoidance of a moving object. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(13), 5414–5418. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102525108>
- Telensky, P., Svoboda, J., Pastalkova, E., Blahna, K., Bures, J., & Stuchlík, A. (2009). Enemy avoidance task: A novel behavioral paradigm for assessing spatial avoidance of a moving subject. *Journal of Neuroscience Methods*, 180(1), 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.02.010>
- von Heimendahl, M., Rao, R. P., & Brecht, M. (2012). Weak and Nondiscriminative Responses to Conspecifics in the Rat Hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 32(6), 2129–2141. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3812-11.2012>
- WITTER, M. P., WOUTERLOOD, F. G., NABER, P. A., & VAN HAEFTEN, T. (2006). Anatomical Organization of the Parahippocampal-Hippocampal Network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 911(1), 1–24. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06716.x>

Zynyuk, L., Huxter, J., Muller, R. U., & Fox, S. E. (2012). The presence of a second rat has only subtle effects on the location-specific firing of hippocampal place cells. *Hippocampus*, 22(6), 1405–1416. <https://doi.org/10.1002/hipo.20977>

## **Nikhil Ahuja, M.Sc.**

### **Educational Qualifications:**

2015 – to date – Faculty of Science, Charles University, Ph.D. program in Animal physiology thesis carried out at the Department of Neurophysiology of Memory, Institute of Physiology, CAS

2008 – 2010 – M.Sc. Biomedical Science, University of Delhi, India

2005 – 2008 – B.Sc. Biotechnology, Jamia Millia Islamia, Delhi, India

### **Research experience:**

2010 - 2012\* – Project assistant, National Brain Research Center, Manesar, India

### **Courses and summer school**

2018 – Tubingen international summer school (TISS), Germany

2018 – The Elements of Science (Institute of Molecular Genetics, CAS)

2017 – Management of science and innovation, (Charles University, Prague)

### **Laboratory skills:**

EEG/multi-unit recordings, tetrode and microdrive preparation, animal behaviour paradigm development, stereotactic surgery, cryosectioning, Nissl staining, primary cell culture, immunohistochemistry, hippocampal slicing and western blotting

### **Conferences:**

i) Presented poster titled, 'Hippocampal neuronal responses in rats during avoidance behaviour relative to a moving robot' at SfN annual meeting 2019, Chicago, USA

ii) Presented poster titled, 'Hippocampal neuronal responses in rats during avoidance behaviour relative to a moving robot' at Czech Neuroscience Society Conference, 2019, Prague, Czech Republic

iii) Presented poster titled, 'Neuronal activity in the hippocampus of a rat during avoidance behaviour relative to a moving object' at EBBS 2019 meeting, Prague, Czech republic

iv) Presented poster titled, 'Processing spatial information relative to a moving object in an enemy avoidance task in rats' at FENS Forum 2018, Berlin, Germany

\*worked as a scientific writer in the industry from 2012-2014



## Publications

- i) **Ahuja, N.**, Lobellová, V., Stuchlík, A., Kelemen, E., Navigation in space with moving objects: Rat can avoid specific location defined with respect to a moving robot. *Front. Behav. Neurosci.* Nov 12;14:576350. doi: 10.3389/fnbeh.2020.576350. eCollection 2020.
- ii) Szczurowska, E., **Ahuja, N.\***, Jiruska, P., Kelemen, E., Stuchlík, A., Impairment of neural coordination in hippocampal neuronal ensembles after a psychotomimetic dose of dizocilpine. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2018 Feb 2;81:275-283. doi: 10.1016/j.pnpbp.2017.09.013. Epub 2017 Sep 19.
- iii) Svoboda, J., Lobellová, V., Popelíková, A., **Ahuja, N.**, Kelemen, E., Stuchlík, A., Transient inactivation of the anterior cingulate cortex in rats disrupts avoidance of a dynamic object. *Neurobiology of Learning and Memory.* 2017 Mar;139:144-148. doi: 10.1016/j.nlm.2017.01.003. Epub 2017 Jan 6.
- iv) Pundir, AS., Singh, UA., **Ahuja, N.**, Dikshit, PC., Radotra, B., Kumar, P., Shankar, SK., Mahadevan A., Roy TS., Iyengar S., Growth and refinement of excitatory synapses in the human auditory cortex. *Brain Struct. Funct.* 2016 Sep;221(7):3641-74. doi: 10.1007/s00429-015-1124-6. Epub 2015 Oct 5.

\*shared first author