

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze
Katedra fyziologie



Diplomová práce

Metodologické aspekty úlohy aktivního vyhýbání se místu

Bc. Mgr. Ing. Štěpán Bahník

Praha
2013

Vedoucí práce:
Doc. RNDr. Aleš Stuchlík, PhD.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně, že jsem řádně citoval všechny použité prameny a literaturu a že práce nebyla využita v rámci jiného vysokoškolského studia či k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze, dne

.....

podpis

Poděkování:

Rád bych poděkoval Doc. Aleši Stuchlíkovi za vedení práce, Jindřichu Kalvodovi a Antonínu Zahálkovi za sestavení experimentální aparatury, Michaele Fialové za pomoc s prací se zvířaty a Mgr. Tomáši Petráskovi za rady k experimentální proceduře a komentáře ke zde popsanému programu.

Název diplomové práce:

Metodologické aspekty úlohy aktivního vyhýbání se místu

Abstrakt

Úloha aktivního vyhýbání se místu představuje jednu z metod studia animální kognice. Subjekt je v této úloze umístěn na rotující kruhovou arénu a vyhýbá se neviditelnému sektoru vymezenému v rámci místnosti. Rotace arény způsobuje, že se subjekt musí vyhýbat aktivně, neboť v opačném případě bude zanesen do trestaného sektoru, kde obdrží mírný elektrický šok. Experiment popsany v této práci zjišťoval vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na schopnost potkanů vyhýbat se trestanému sektoru. Potkani ve skupině s proměnlivou rychlostí rotace arény se učili vyhýbání se trestanému sektoru stejně rychle a na konci experimentu dosáhli stejné schopnosti vyhýbání se jako potkani ve skupině se stabilní rychlostí rotace arény. Rozdíl mezi skupinami byl zjištěn pouze v preferované pozici v rámci místnosti. Ve fázi za tmy, kdy potkani nemohli využívat orientační body v místnosti, nebyl pozorován žádný rozdíl mezi oběma skupinami. Pouze jeden z potkanů byl schopný se naučit vyhýbat se trestanému sektoru v této fázi. Výsledky experimentu naznačují, že v úloze aktivního vyhýbání se místu nejsou idiotetická orientace a intervalové časování klíčové pro naučení vyhýbání se trestanému sektoru. Idiotetická orientace je nicméně postačující k vyhýbání se trestanému sektoru za tmy. Práce dále popisuje nově vytvořený program Carousel Maze Manager, který slouží k analýze, prohlížení a kontrole záznamů z úlohy aktivního vyhýbání se místu. Program byl vytvořen v souladu s požadavky na reprodukovatelnost analýzy dat a je volně dostupný na internetu.

Klíčová slova

časová percepce, časová kognice, strategie, časování, chování

Title of the Master's Thesis:

Methodological aspects of active place avoidance task

Abstract

The active place avoidance task represents one of the methods of the study of animal cognition. In this task, a subject is put on a rotating circular arena and avoids invisible sector that is stable with respect to the room. Rotation of the arena means that the subject's avoidance must be active, otherwise the subject would be moved in the punished sector by the rotation of the arena and a slight electric shock would be administered. The experiment described in the present work explored the effect of variable arena rotation speed on the ability to avoid the punished sector. Rats in a group with a variable arena rotation speed learned to avoid the punished sector with the same speed and attained the same ability to avoid the sector as rats in a group with a stable arena rotation speed. The only difference between the two groups was found in a preferred position within the room. No difference was found between the two groups in the dark phase, where the rats could not use orientation cues in the room. Only one rat was able to learn the avoidance of the punished sector in this phase. The results of the experiment suggest that idiothetic orientation and interval timing are not crucial for learning of the avoidance of the punished sector. However, idiothetic orientation is sufficient for the avoidance of the punished sector in the dark. Next, the thesis describes newly developed software for analysis, exploration and inspection of data from the active place avoidance task – Carousel Maze Manager. The software was written in accord with requirements of data analysis reproducibility and is freely available on the internet.

Key words

time perception, time cognition, strategies, timing, behavior

Obsah

Úvod	7
Úloha aktivního alotetického vyhýbání se místu (AAPA).....	8
Varianty úlohy	10
Co měří úloha AAPA?	13
Vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na vyhýbání se v úloze AAPA.....	16
Metody	17
Subjekty	17
Design a procedura.....	18
Aparatura.....	19
Hodnocené parametry.....	20
Analýza a hypotézy	21
Výsledky.....	24
Fáze učení	24
Probe fáze	25
Fáze za tmy	28
Diskuse.....	31
Carousel Maze Manager	34
Výběr souborů	36
Načítání dat	36
Kontrola záznamů.....	37
Prohlížení záznamů.....	40
Výpočet parametrů	41
Základní parametry.....	43
Pokročilé parametry	45
Informativní parametry	46
Experimentální parametry.....	46
Využití programu	47
Budoucí vývoj	49
Závěr.....	49
Reference	52
Příloha	57
Simulace statistické analýzy korelovaných parametrů	57
Seznam použitých zkratk	61

Úvod

Klasická studie z poloviny minulého století (Scoville & Milner, 1957) popisuje několik případů pacientů, kteří podstoupili operaci, při níž jim byla odstraněna mediální část temporálního laloku – hipokampus. Resekce byla provedena u většiny případů bilaterálně a zasahovala u různých pacientů odlišně velkou část hipokampu. Důvodem operace byla u většiny pacientů snaha léčit schizofrenie, nejznámější případ – pacient H.M. podstoupil operaci z důvodu léčby epilepsie. Hlavním nálezem studie bylo výrazné zhoršení paměti u operovaných pacientů. Toto zhoršení bylo silnější u pacientů, u kterých resekce hipokampu zasahovala jeho větší část. U pacienta H.M. byla pozorována anterográdní amnézie a částečná retrográdní amnézie, jeho inteligence nicméně byla zachována. Studie, kterou provedli Scoville a Milnerová byla silným důkazem funkce hipokampu v deklarativní paměti.

Od této studie uplynulo více než půl století a důležitost hipokampu pro normální paměťové funkce je všeobecně uznávaným poznatkem (Bird & Burgess, 2008; van Strien et al., 2009). Jelikož deklarativní paměť v podobě běžné u lidí není možné studovat u zvířat, ke studiu neurofyziologických procesů důležitých pro paměť je často využíváno studia prostorové paměti. Tento postup předpokládá, že procesy využívané při funkci prostorové paměti jsou stejné či podobné procesům využívaným v paměti deklarativní a že paměťové procesy u zvířat jsou podobné či stejné jako paměťové procesy u lidí (Bird & Burgess, 2008; Burgess, Maguire et al., 2002).

Neurofyziologické poznatky již z části poodhalily neurální substrát zodpovědný za reprezentaci prostoru, který je také důležitý pro prostorovou paměť a prostorové učení. V elektrofyziologických studiích lze tak například u tzv. místních buněk (place cells) pozorovat pálení některých neuronů v hipokampu při výskytu v určitém místě. Aktivita místních buněk přitom nejspíše spočívá na syntéze informací z různých mřížkových buněk (grid cells), které jsou lokalizovány v entorhinální kůře a jejich aktivita je pozorována při výskytu v bodech, které tvoří hexagonální mřížku (Doeller et al., 2010; McNaughton et al., 2006; Moser et al., 2008). Pro tyto poznatky byly klíčové animální studie, ve kterých lze pomocí elektrofyziologických metod aktivitu buněk sledovat či pomocí farmak nebo lézí jejich aktivitu narušovat. Pro animální studie prostorové orientace a paměti jsou potřeba úlohy, ve kterých zvíře tyto kognitivní funkce využívá. Často používanou úlohou je Morrisovo vodní bludiště, ve kterém hledá zvíře skrytou platformu, která je umístěna pod vodní hladinou

v kruhovém bazénku (Morris et al., 1982; Vorhees & Williams, 2006). Úlohami, které testují prostorovou pracovní paměť jsou například radiální bludiště, určité varianty Morrisova vodního bludiště nebo úloha odložené alternace v T-bludišti (Dudchenko, 2004). Novější úlohou používanou pro testování prostorové paměti a prostorového učení je úloha alotetického¹ aktivního vyhýbání se místu (active allothetic place avoidance – dále pouze AAPA^{2,3}; pro přehled viz Stuchlik et al., n.d.). Právě úlohou AAPA se zabývá tato práce.

Práce má dva základní cíle. Prvním cílem je představení experimentu, který se zabýval vlivem proměnlivé rychlosti rotace arény na výkon a použité strategie vyhýbání se v úloze AAPA. Tento experiment měl za účel rozšířit existující poznatky o chování subjektů v úloze AAPA, a tím přispět k možnostem interpretace výsledků studií tuto úlohu využívajících. Druhým cílem práce je představit a zdokumentovat nově vytvořený open source software pro analýzu dat z úlohy AAPA. Tento software byl vytvořen jako prostředek snadné, flexibilní a transparentní analýzy dat z této úlohy, která umožní nejen možnost tázání specifických otázek pro konkrétní výzkum, ale také dovolí ostatním provedenou analýzu opakovat, a tak přispěje k její reprodukovatelnosti. Oba cíle práce se vzájemně prolínají, neboť pro analýzu popsaného experimentu byl využit vytvořený program, jenž umožnil podrobně zkoumat chování a strategie potkanů v úloze, a analýza dat z popsaného experimentu demonstruje možnosti využití prezentovaného programu a zároveň ho validuje.

Úloha aktivního alotetického vyhýbání se místu (AAPA)

Úloha AAPA byla vyvinuta koncem devadesátých let minulého století na oddělení Neurofyziologie paměti Fyziologického ústavu Akademie věd České Republiky (Bures et al., 1997, 1998; Cimadevilla et al., 2000; Fenton et al., 1998). Úloha je používána k testování kognitivních schopností potkanů; konkrétně se obvykle hovoří o prostorovém učení a navigaci, segregaci informací a kognitivní koordinaci (Stuchlik et al., n.d.). V rámci nejčastěji používané varianty úlohy je potkan umístěn na kruhovou arénu (viz obrázek 1), která se

¹ Z hlediska zdroje informací pro orientaci v prostoru lze rozlišit orientaci idiotetickou (egocentrickou) a alotetickou (alocentrickou) (Burgess, 2006; Stuchlík, 2004). U idiotetické orientace jsou zdrojem informací proprioceptivní signály a jiné signály o vlastním aktivním pohybu (substratální idioteze) a dále signály z vestibulárního ústrojí či jiné signály objevující se i při pasivním pohybu (inerciální idioteze). Alotetická orientace je závislá na signálech z vnějšího okolí – zrakových, sluchových, čichových či jiných.

² Úloha je nově někdy také nazývána jako kolotočové bludiště (Carousel Maze) – odtud pochází název programu, který je popsán dále v práci. Kolotočové bludiště je možné považovat za nadřazený pojem pro různé varianty úloh využívající aparaturu používanou standardně v úloze AAPA, nicméně toto použití není ustálené.

³ Seznam použitých zkratk lze nalézt v příloze.

v průběhu sezení otáčí⁴. Potkan se musí vyhýbat trestanému sektoru, aby neobdržel šok. Tento sektor je vymezen v rámci místnosti⁵, což znamená, že potkan se musí vyhýbat aktivně, neboť pouhé sezení na místě by vedlo k zanesení potkana do trestaného sektoru otáčením arény. Potkan se tedy musí naučit pozici trestaného sektoru v místnosti a navigací za pomoci orientačních bodů v místnosti se mu vyhýbat – nejčastěji pohybem proti směru otáčení arény. Vyhýbání se trestanému sektoru je možné i bez využití alotetické orientace za pomoci idiotetické orientace (Wallace et al., 2008) v možné kombinaci s intervalovým časováním (Buhusi & Meck, 2005). Tímto způsobem řešení úlohy se zabývá experiment popsaný dále v tomto textu.



Obrázek 1: Fotografie aparatury využívané v úloze AAPA.

Úloha AAPA ve své základní podobě nebo v různých odvozených variantách se používá pro různé účely (pro přehled viz Stuchlik et al., n.d.). Kelemen a Fenton (2010) například studovali funkci hipokampu při kognitivní kontrole více zdrojů prostorové informace za pomoci elektrofyziologických měření a reverzibilních lézí tetrodotoxinem. Ve své studii zjistili mimo jiné, že místní buňky byly preferenčně aktivní buď v rámci arény nebo v rámci místnosti. Tato aktivita byla také spjatá mezi buňkami, tj. v jeden okamžik bylo možné pozorovat převládající koaktivitu místních buněk aktivních preferenčně v rámci arény nebo v rámci místnosti. Jiná studie (Pastalkova et al., 2006) využila úlohu AAPA pro studium vlivu protein kinázy Mzeta na uchování paměťové informace. Studie ukázala, že podání

⁴ Obvykle používaná rychlost otáčení je 1 rotace za minutu (rpm) a délka sezení 20 min.

⁵ Rámec místnosti a rámec arény jsou používány pro popis relativní pozice. Pozice v rámci arény je disociována od pozice v rámci místnosti při otáčení arény.

inhibitoru protein kinázy Mzeta způsobí návrat výkonu na úroveň před učením u potkanů naučených vyhýbání se v úloze AAPA. Protein kináza Mzeta je přitom důležitá pro udržování dlouhodobé potenciace. Studie tak ukazuje na důležitost dlouhodobé potenciace při udržování paměťové informace.

Další studie využívající úlohu AAPA se zaměřují na vliv farmak na výkon v úloze. Různé studie tak zjišťovali například vliv agonisty a antagonisty D₁ receptorů (Stuchlik & Vales, 2006), agonisty GABA-B receptorů (Stuchlik & Vales, 2009) nebo koaplikace α_1 -adrenegního agonisty a antagonisty D₂ receptorů (Stuchlik et al., 2008) či koaplikace β -blokátoru a antagonisty D₂ receptorů (Prokopova et al., 2012). Rambousek et al. (2011) použili úlohu AAPA pro zjištění vlivu nově syntetizovaného steroidálního inhibitoru NMDA receptorů na zhoršení v úloze způsobeném excitotoxickým vlivem NMDA. Jiné studie pak použili úlohu AAPA na testování účinku NMDA antagonisty dizocilpinu (MK-801) na výkon v úloze (Stuchlik et al., 2004; Vales et al., 2006) a vlivu dalších farmak na tento účinek (Bubenikova-Valesova et al., 2008, 2009; Vales et al., 2010).

Kromě již zmíněných využití byla úloha AAPA použita pro studium postoperativní kognitivní dysfunkce (Carr et al., 2011) a kognitivních deficitů spjatých s traumatickým mozkovým poškozením (Abdel Baki et al., 2009). Úlohu lze také využít pro studium vlivu léze konkrétní mozkové oblasti (Cimadevilla, Wesierska, et al., 2001; Wesierska et al., 2009). Nedávný výzkum také testuje vliv knock-downu Nogo-A proteinu na výkon v úloze u potkanů (Petrasek et al., n.d.). Jak lze vidět na zmíněných příkladech, úloha AAPA má mnoho využití, a představuje tak komplementární přístup k jiným metodám testování animální kognice.

Varianty úlohy

Kromě výše popsané nejčastěji používané varianty úlohy AAPA existují také její další varianty⁶. Místo toho, aby byl trestaný sektor vymezen v rámci místnosti, může být tento sektor vymezen v rámci arény. Aréna se také nemusí otáčet. Tyto dvě alternativy lze spojit do tří možných kombinací. Rotující aréna s trestaným sektorem v rámci místnosti je již popsaná standardní podoba úlohy. Stabilní aréna s trestaným sektorem v rámci místnosti a s trestaným sektorem vymezeným v rámci arény je ekvivalentní, neboť disociace obou rámců

⁶ U některých těchto variant úlohy není název AAPA vhodný, protože se nejedná o aktivní vyhýbání či o vyhýbání za pomoci alotetické orientace. Pro jednoduchost jsou zde nicméně popisovány jako varianty úlohy AAPA, přičemž varianta popsaná v předchozí části (*Room+Arena*-; viz text dále) je nazývána jako standardní varianta.

vyplývá z otáčení arény. Jelikož se v této podobě úlohy nemusí subjekt pohybovat, jedná se o pasivní vyhýbání se místu. Tato podoba úlohy se někdy označuje jako **(Room&Arena)+**, kde „Room“ a „Arena“ označují dostupné zdroje informací a „+“ značí jejich relevanci k řešení úlohy (viz např. Wesierska et al., 2005, 2009). U zmíněné podoby je tedy dostupná informace v rámci místnosti i arény, přičemž úlohu lze řešit za pomoci informace z obou těchto rámců. Standardní podoba úlohy může být tedy dle tohoto značení popsána jako **Room+Arena-**. Poslední možnou podobou úlohy vycházející z kombinace rotace arény a specifikace sektoru je vyhýbání se sektoru v rámci arény při rotující aréně, kterou lze označit jako **Room-Arena+**. Tato varianta opět odpovídá pasivnímu vyhýbání se, nicméně informace z rámce místnosti není pro orientaci použitelná.

Úloha může být také zadána za tmy. V tomto případě nemá subjekt dostupnou informaci z rámce místnosti⁷. Pokud je trestaný sektor vymezen v rámci arény, subjekt může řešit úlohu za pomoci informací z tohoto rámce ať se aréna otáčí, nebo nikoli. V obou případech lze tedy úlohu označit jako **Arena+** a v obou případech se jedná o pasivní vyhýbání. Pokud je trestaný sektor vymezen v rámci místnosti a aréna se otáčí, má subjekt dostupnou pouze informaci z rámce místnosti, ale ta není k řešení úlohy relevantní, tj. variantu lze označit jako **Arena-**. Těto varianty je využito v experimentu popsaném v části Vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na vyhýbání se v úloze AAPA.

Dostupnost informace z rámce místnosti lze odstranit za pomoci administrace úlohy za tmy, informaci z rámce arény pak lze odstranit za pomoci aplikace úlohy v aréně s nízkou hladinou vody (Wesierska et al., 2005). Voda v tomto případě slouží k odstranění možnosti orientovat se pomocí pachových a vizuálních značek na aréně, tvořených močí a exkrementy. Pokud je trestaný sektor vymezen v rámci místnosti a aréna se neotáčí, jedná se opět o pasivní vyhýbání, které lze označit jako **Room+**. Stejně lze označit variantu s trestaným sektorem vymezeným v rámci místnosti a rotující arénou. Tato varianta je podobná standardní variantě *Room+Arena-* (tj. jedná se o aktivní vyhýbání), liší se však v tom, že subjekt nemusí ignorovat informaci z rámce arény, která mu v tomto případě není dostupná. U varianty *Room+* se tedy z tohoto důvodu předpokládají nižší kognitivní nároky (Petrasek et al., n.d.). S využitím nízké hladiny vody lze také vytvořit variantu pasivního vyhýbání, kde

⁷ Pouze zadání za tmy nemusí stačit k odstranění všech možných zdrojů informací pro alotetickou orientaci, a tak může být vhodné zabránit i alternativním způsobům alotetické orientace – tj. pomocí sluchu a čichu.

subjekt nebude mít dostupnou relevantní informaci k řešení úlohy. Jedná se o příklad, kdy je trestaný sektor vymezen v rámci arény a aréna se otáčí. Tuto variantu lze tedy označit jako **Room-**.

Různé výše popsané varianty úlohy lze kombinovat do baterií testů, které mohou napomoci rozlišit míru a povahu poškození způsobenou studovaným faktorem. Tohoto přístupu bylo využito například při studiu vlivu traumatického mozkového poškození (Abdel Baki et al., 2009), studiu vlivu knock-downu Nogo-A proteinu (Petrasek et al., n.d.) či studiu efektu léze retrosplenální kůry (Wesierska et al., 2009). Do takovéto baterie je možné také zařadit fázi, ve které je pozice sektoru pozměněna od předchozí fáze, a potkan se tak musí naučit novou pozici trestaného sektoru a ignorovat pozici starou.

Dosud zmíněné varianty úlohy obsahovaly vždy pouze jeden trestaný sektor. Úloha nicméně může obsahovat i sektory dva (či více). Kelemen a Fenton (2010) ve své studii použili dva trestané sektory, přičemž jeden byl vymezen v rámci arény a druhý v rámci místnosti (varianta označovaná někdy jako **Room+Arena+**). Potkani tak museli využívat pro vyhýbání se informaci z obou rámců, přičemž každý z rámců byl relevantní pro vyhýbání se jednomu z trestaných sektorů. Jelikož by potkan nemohl trestu uniknout, kdyby trestaný sektor dosahoval až do středu arény, v této podobě úlohy je nutné aby sektor nebyl celou výsečí kruhu, ale pouze výsečí mezikruží. Potkan tak má možnost uniknout trestu pohybem přes střed arény. Protože ve středu arény v takovém případě nemůže potkan obdržet šok, je nutné potkana motivovat jiným způsobem k pohybu po aréně, a tak také k vyhýbání se trestaným sektorům. Kelemen a Fenton tak nechali potkany sbírat potravinové peletky, které padaly v průběhu sezení do arény. Tato manipulace je někdy používána i v jiných variantách úlohy a úloze tak dodává další možnost přizpůsobení specifickým výzkumným otázkám.

Dockery a Wesierska (2010) v jiné variantě úlohy obměňovaly pozici trestaného sektoru každý den. Tato varianta tak mohla testovat spíše pracovní paměť na rozdíl od standardní varianty, kde nejspíše převládá podíl dlouhodobé paměti na výkonu v úloze (což lze vidět na případech, kdy subjekt nevstoupí během sezení do sektoru ani jednou). Kromě pracovní paměti je potenciálně možné testovat v této verzi úlohy i dlouhodobější učení, které by se projevilo postupným zlepšováním výkonu mezi dny. Ve studii, kterou provedly Dockery a Wesierska, nebylo zlepšení mezi dny viditelné, nicméně je možné, že kdyby byla úloha administrována více dnů, již by pozorovatelné bylo.

V dosud popsaných variantách úlohy AAPA se otáčí aréna, která tímto způsobem dodává inerciální stimuly subjektu řešícímu úlohu. Blahna et al. (2011) představili variantu úlohy, ve které se nepohybovala aréna, ale okolí arény. V této variantě byl trestaný sektor vymezen pozicí vůči rotujícímu okolnímu pásu, a tak se subjekt musel pohybovat, aby neobdržel šok. Jelikož se neotáčela aréna, subjekt nedostával informaci o pohybu vůči trestanému sektoru pomocí inerciálních stimulů. Většina z potkanů se tuto úlohu nedokázala naučit, pokud tuto verzi úlohy obdržela jako první. Pokud této variantě úlohy předcházela standardní varianta, většina potkanů se dokázala trestanému sektoru úspěšně vyhýbat.

Nakonec lze zmínit, že byla vyvinuta alternativní varianta úlohy pro myši, kde subjekty nedostávaly elektrický šok, ale trest byl administrován pomocí proudu stlačeného vzduchu (Cimadevilla, Fenton, & Bures, 2001).

Co měří úloha AAPA?

Z hlediska interpretace výsledků ze studií používajících úlohu AAPA je klíčové vědět, co tato úloha měří. Pro zodpovězení této otázky může napomoci znalost rozdílů ve výkonu⁸ vlivem různých manipulací, vztahů mezi výkonem v této úloze a jiných behaviorálních úlohách a také vztahů mezi parametry v rámci úlohy. Co úloha AAPA měří, lze také vysuzovat z neurálních poškození či farmakologických vlivů, která vedou ke zhoršení výkonu v úloze, nicméně tyto úsudky jsou nutně omezeny problémy spjatými s reverzní inferencí (Poldrack, 2006).

Rozdíly mezi variantami úlohy AAPA ve schopnosti vyhýbat se trestanému sektoru nám mohou naznačit, na jakých kognitivních procesech úspěšné vyhýbání se závisí. Ze zhoršení vlivem zadání úlohy za tmy (tj. z rozdílu ve vyhýbání se mezi variantou *Room+Arena-* a *Arena-*; viz např. část *Vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na vyhýbání se v úloze AAPA*) lze například vidět, že k vyhýbání se trestanému sektoru používají subjekty vizuální orientační body v prostředí. Potkani tedy neřeší úlohu pouze za pomoci idiotetické orientace či kombinace idiotetické orientace a intervalového časování. To neznamena, že tyto faktory nepřispívají k úspěšnému výkonu v úloze. Jak ukázal výše popsaný výzkum, který provedli

⁸ Z každého sezení je možné vypočítat mnoho možných ukazatelů (podrobněji viz část *Causal Maze Manager*). Jako výkon v úloze je v této části považována schopnost vyhýbat se trestanému sektoru měřená počtem vstupu do trestného sektoru nebo maximálním časem vyhýbání se (oba parametry spolu silně korelují a nejspíše tedy měří stejný konstrukt; viz také příloha *Simulace statistické analýzy korelovaných parametrů*).

Blahna et al. (2011), inerciální stimuly jsou využívány při učení úloze. Minimálně v počátečních sezeních je tedy inerciální idioteze důležitá pro úspěšný výkon v úloze.

U standardní varianty úlohy musí subjekt využívat pro navigaci orientační body v rámci místnosti a ignorovat orientační body v rámci arény. Z toho důvodu se tedy uvažuje, že úloha vyžaduje schopnost segregace informací a kognitivní koordinace. Varianta úlohy s hladinou vody (*Room+*) omezuje dostupnost informace z rámce arény, a tak by měla také snižovat či eliminovat potřebu využití segregace informací a kognitivní koordinace. V protikladu s tímto předpokladem nebylo ve studii, kde na tuto variantu úlohy navazovala standardní varianta úlohy, pozorováno zhoršení výkonu (Petrasek et al., n.d.). Naopak jiná studie (Wesierska et al., 2005) zjišťovala vliv unilaterální aplikace tetrodotoxinu do hipokampu na výkon ve variantách *Room+Arena-* a *Room+*. Autoři pozorovali statisticky signifikantní zhoršení po aplikaci tetrodotoxinu ve variantě *Room+Arena-*, ale nikoli ve variantě *Room+*. To vysvětlují právě tím, že varianta *Room+Arena-* má vyšší kognitivní nároky než varianta *Room+*. Nicméně tato interpretace je problematická z několika důvodů. Autoři testovali vliv tetrodotoxinu v obou variantách v odlišných experimentech s jiným designem. Není tedy jasné, že rozdíl nebyl způsoben jinou odlišností v obou experimentech. Autoři také neporovnali velikosti efektů obou manipulací přímo. Jejich interpretace tedy nemusí být platná, neboť rozdíl mezi statisticky signifikantním a nesignifikantním není nezbytně sám statisticky signifikantní (Gelman & Stern, 2006; Nieuwenhuis et al., 2011). Zhoršení po podání tetrodotoxinu bylo navíc vidět i u fáze *Room+*. To že nebylo toto zhoršení statisticky signifikantní, mohlo být dáno pouze malou statistickou silou. Autoři také neuvádějí, jaký použili statistický test. Ve studii porovnávali výkon po podání solného roztoku s následným výkonem ve třech dnech, kdy byl podáván tetrodotoxin. Ačkoli by měla nulová hypotéza spočívat v rovnosti výkonu v den, kdy byl podáván solný roztok, a v průměrném výkonu ze tří dnů, kdy byl podáván tetrodotoxin, autoři nejspíše použili analýzu variance s opakovanými měřeními bez plánovaných kontrastů, čímž testovali hypotézu o rovnosti všech čtyř dnů, která neodpovídá výzkumné otázce. P-hodnota pro maximální čas vyhýbání se je i tak uvedena jako $p > .07$, což obvykle značí p-hodnotu mezi .07 a .08, z čehož je zřejmě obtížné tvrdit, že podání tetrodotoxinu nemělo žádný vliv. Ačkoli se tedy tato studie uvádí jako důkaz využití kognitivní koordinace v úloze AAPA (např. Kelemen & Fenton, 2010; Prokopova et al., 2012), k tomuto závěru nelze z této studie dospět.

Jelikož je u zdravých zvířat vidět mezi následnými sezeními zlepšení výkonu, je zřejmé, že v úloze hraje roli učení a paměť. Na druhou stranu není jasné, do jaké míry se jedná o naučení strategie nutné k řešení úlohy, a do jaké míry lze zlepšení přisoudit pouze zapamatování pozice trestaného sektoru. Dockery a Wesierska (2010) ve své studii měnily polohu sektoru každý den, zlepšení mezi dny tedy bylo možné přisoudit naučení procedurálních aspektů úlohy. Autorky nicméně žádné zlepšení vyhýbání se mezi dny nepozorovaly. Na druhou stranu bylo v jejich studii možné vidět určité zlepšení vyjádřené průměrným počtem šoků na jeden vstup do trestaného sektoru. To značí, že potkani se naučili, že se musí vyhýbat určitému místu, a v trestaném sektoru tak po obdržení šoku dále nesetrvávali. Rychlost učení se pozice tohoto místa se nicméně nezlepšovala. Podobně Petrsek et al. (n.d.) po otočení pozice trestaného sektoru nepozorovali další zlepšení výkonu potkanů na úroveň lepší než jaká byla pozorována před otočením pozice sektoru. Problémem interpretace těchto výzkumů jako absence procedurálního učení samozřejmě je, že znalost staré pozice trestaného sektoru může interferovat s vyhýbáním se novému sektoru. Tyto výsledky nicméně jsou v protikladu s nálezy v delayed matching-to-place úloze v Morrisově vodním bludišti, kde lze pozorovat mezi dny snižování času potřebnému k nalezení skryté platformy, přestože pozice platformy se mezi dny mění (O'Carroll et al., 2006; Steele & Morris, 1999). I v této úloze je možné očekávat interferenci staré pozice sektoru s novou, nicméně zlepšování v průběhu dnů je přesto viditelné.

Jaké faktory mají vliv na výkon v úloze AAPA lze zjišťovat dále pomocí vztahu výkonu v úloze AAPA s výkonem v jiných behaviorálních úlohách. V zatím nepublikované studii (Hatalova et al., n.d.) byla zadána úloha AAPA spolu s open-field testem a beam-walking testem skupinám 30 rekombinantně inbredních kmenů pocházejících z SHR/*Ola* a BN-Lx/*Cub* kmenů. Vztahy mezi naměřenými parametry byly analyzovány s využitím průměrů těchto kmenů. Ukázalo se, že maximální čas vyhýbání se v úloze AAPA měl pozitivní vztah k celkové vzdálenosti v této úloze. Nicméně pozitivní vztah mezi maximálním časem vyhýbání se a výkonem v beam-walking testu, který je závislý na lokomočních schopnostech, naznačuje, že důvodem tohoto vztahu nebylo motorické poškození u potkanů, kteří měli nižší maximální čas vyhýbání se. Jelikož pro úspěšné vyhýbání se trestanému sektoru je potřeba aktivní pohyb, je možné, že důvodem vztahu mezi maximálním časem vyhýbání se a celkovou vzdáleností mohly spíše být motivační faktory, které vedly u některých potkanů k pasivitě, a

tak také horší schopnosti vyhýbání se. Tuto interpretaci také podporuje absence tohoto vztahu v jiných studiích (např. Entlerova et al., n.d.). Kromě výše zmíněných vztahů byl také pozorován vztah mezi celkovou drahou v open-field testu a úloze AAPA, není nicméně jasné, zda je tento vztah dán explorační aktivitou, nebo vlivem jiného konstruktů.

Popsané studie ukazují, že pro výkon v úloze AAPA je důležitá alotetická orientace a výraznou roli hraje také učení se místu trestaného sektoru. Obvykle menší roli může mít také naučení se procedurálních aspektů úlohy. Ačkoli se obvykle uvádí, že pro výkon v úloze AAPA je důležitá kognitivní koordinace a schopnost segregace informací, studie, která se obvykle uvádí jako důkaz využití těchto schopností (Wesierska et al., 2005), tento závěr učinit nedovoluje. I když pro toto tvrzení existují jiné nepřímé důkazy (např. Kelemen & Fenton, 2010; Kubík & Fenton, 2005; viz také Fenton et al., 2010), je třeba tento požadavek na kognitivní schopnosti zvířete interpretovat s opatrností. Výsledky studie Hatalové et al. (n.d.) naznačují, že mírné motorické poškození, běžné u kmenů studovaných v této studii, nemusí výkon v úloze výrazně ovlivňovat. Ačkoli lze z existujících studií usuzovat na schopnosti nutné pro úspěšné vyhýbání se trestanému sektoru, problematika konstruktů či konstruktů měřených úlohou AAPA (Borsboom et al., 2004) a strategií subjekty k vyhýbání využívaných (cf. Garthe et al., 2009) je zásadní pro možnosti interpretace studií tuto úlohu využívajících, a tak je vhodné tuto otázku dále zkoumat v budoucích experimentech. Jeden takový experiment popisuje následující část práce.

Vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na vyhýbání se v úloze AAPA

Ve standardní variantě úlohy AAPA se aréna se subjektem otáčí se stabilní rychlostí – obvykle 1 rpm. Jedním ze způsobů, jak se může subjekt trestanému sektoru vyhýbat, tedy je pohybovat se se stejnou průměrnou rychlostí proti směru otáčení arény. K tomuto způsobu vyhýbání subjekt nepotřebuje využívat alotetické orientace, ale stačí mu využít idiotetickou orientaci (Wallace et al., 2008), případně idiotetickou orientaci a intervalové časování (Buhusi & Meck, 2005; Mauk & Buonomano, 2004; cf. Klement et al., 2010). Subjekt se tedy může kontinuálně pohybovat proti směru rotace s průměrnou rychlostí stejnou, jako je rychlost otáčení arény, nebo pohybovat se proti směru rotace s určitou periodicitou o vzdálenost, která reguluje pozici subjektu v rámci místnosti. Pokud by subjekty alespoň z části takovéto strategie vyhýbání se používaly, interpretace výsledků studií využívající úlohu AAPA by musely vzít v potaz, že případné zhoršení výkonu může být dáno narušením

idiotetické orientace nebo intervalového časování. Intervalové časování může být ovlivněno farmaky (Coull et al., 2011) a jeho deficity jsou pozorovány při neuropatologii (Balci et al., 2009), což jsou důležité oblasti studované pomocí úlohy AAPA. Je tedy žádoucí se vlivem idiotetické orientace a intervalového časování na výkon v úloze zabývat.

Zde popsaná studie využívá manipulace rychlosti otáčení arény k ovlivnění validity časové informace pro řešení úlohy. Je předpokládáno, že proměnlivá rychlost rotace arény ovlivní možnost využívat inerciální idiotezi a intervalové časování při vyhýbání se trestanému sektoru. Zatímco při stabilní rychlosti rotace arény se může pohybovat subjekt s určitou frekvencí o vzdálenost nutnou k regulaci své pozice, při proměnlivé rychlosti rotace tuto možnost subjekt nemá, protože vzdálenost a frekvence pohybu potřebná pro regulaci pozice v rámci místnosti se nutně liší podle rychlosti rotace arény. Využití inerciální idioteze samotné může být taktéž ovlivněno, protože rychlost arény se ve studii mění nejen v rámci sezení, ale i mezi sezeními. Subjekt se tak nemůže jednoduše naučit nutnou rychlost pohybu pro kompenzaci pozice v rámci místnosti. Na druhou stranu může proměnlivá rychlost rotace arény ovlivnit pozornost přikládanou inerciálním stimulům tím, že rychlost arény učiní důležitým aspektem pro vyhýbání se trestanému sektoru.

Ve studii byl sledován vliv proměnlivé rychlosti arény na vyhýbání se trestanému sektoru, na učení se vyhýbání, na použitou strategii vyhýbání se a nakonec na schopnost naučit se vyhýbat trestanému sektoru ve variantě úlohy aktivního vyhýbání se místu za tmy (varianta *Arena*-).

Metody

Subjekty

Experiment byl proveden s 16 potkany kmene Long-Evans získanými z chovné kolonie Institutu Fyziologie Akademie věd České republiky. Potkani byli na začátku experimentu ve věku 16-17 týdnů. Přečovávaní byli v průhledných plastových boxech po čtyřech v místnosti se stabilním 12/12 cyklem světla a tmy. Všechny části experimentu probíhaly ve světelné fázi denního cyklu. Voda a potrava byly potkanům volně dostupné. Potkanům byla za vědomí implantována skrz kůži mezi rameny injekční jehla sloužící k připojení úchytu kabelu umožňujícího administraci elektrického proudu v průběhu experimentu. Jehla byla na konci ohnuta z důvodu stability jehly v kůži potkana. Průměrná hmotnost potkanů na počátku

experimentu byla 415 g (SD = 27 g), při posledním vážení 19 dnů po začátku experimentu pak byla průměrná hmotnost 424 g (SD = 27 g).

Design a procedura

Experiment sestával z fáze handlování a čtyř fází s využitím aparatury pro úlohu AAPA. Potkani byli nejprve tři dny po dobu 5 min handlováni, aby si přivykli na experimentátora. Po pauze dvou dnů následovala **fáze habituace**, která trvala 5 dnů a v níž byli potkani habituováni na experimentální aparaturu každý den po dobu 10 minut. V průběhu fáze habituace se aréna neotáčela. Na základě celkového pohybu v průběhu fáze habituace byli následně potkani rozděleni do dvou skupin. Rozdělení proběhlo tak, aby dva potkani z každého boxu byli v experimentální skupině a dva potkani v kontrolní skupině. V rámci každého boxu byli potkani rozděleni tak, aby potkani, kteří ušli nejdelší a nejkratší dráhu byli v jedné skupině. Zbylí dva potkani byli ve skupině druhé. Rozdělení dvojic do skupin bylo náhodné. V experimentální i kontrolní skupině tak bylo totožně 8 potkanů.

Po fázi habituace následovala pauza dvou dnů a poté **učicí fáze** úlohy AAPA (standardní varianta *Room+Arena*-). Tato fáze trvala 9 dnů a v průběhu každého dne proběhlo jedno 20 minut trvající sezení u každého potkana. Sezení probíhalo vždy ve stejnou fázi dne z důvodu potenciálního zkreslení daného vlivem fáze cirkadiálního cyklu na kognitivní schopnosti (Agostino et al., 2011; Kyriacou & Hastings, 2010). U obou skupin potkanů se lišila pouze rychlost otáčení arény. Zatímco u kontrolní skupiny byla rychlost otáčení arény vždy 1 rpm a byla stabilní po celé sezení, u experimentální skupiny byla rychlost otáčení arény proměnlivá od 0.60 po 1.34 rpm, přičemž tato rychlost se střídala po jedné minutě, po dvou minutách či střídavě po třech a dvou minutách v závislosti na konkrétním dnu. Střídání rychlostí bylo zvoleno tak, aby průměrná rychlost otáčení arény byla každé sezení stejná, a to vždy 1 rpm. Maximálně dva dny po sobě se střídala rychlost otáčení po jedné minutě, aby se potkani nemohli snadno naučit používat střídání rychlosti rotace jako informaci o čase. Rychlosti otáčení arény nebyly žádné dva po sobě jdoucí dny stejné, aby bylo zábráněno naučení se časové strategie vyhýbání se trestanému sektoru.

Následující fáze (označována dále jako **probe fáze**) obsahovala jedno 20 minutové sezení úlohy AAPA a trvala jeden den. V této fázi probíhalo sezení u obou skupin se stabilní rychlostí rotace arény 1 rpm. Účelem této fáze bylo srovnání strategií obou skupin potkanů pomocí parametrů, které mohou být závislé na rychlosti rotace arény.

Poslední fáze experimentu (**fáze za tmy**) trvala tři dny a v rámci této fáze proběhlo každý den jedno 20 minutové sezení úlohy AAPA (varianta *Arena*-) se stabilní rychlostí otáčení arény (1 rpm) u obou skupin. Toto sezení probíhalo celé za tmy. Potkani tak nemohli využívat žádné orientační body v místnosti. Alotetická orientace potkanů nemusí spočívat pouze na zraku (Burn, 2008), a tak možnosti orientace pomocí čichu bylo kromě stěny z plexiskla bráněno umístěním 3 osvěžovačů vzduchu (W5 Air Fresheners – Exotic) na stěnu arény, tak aby byly zastřeny případné čichové orientační body mimo arénu. V této fázi také byli potkani přenášeni do místnosti s experimentální aparaturou po jednom, tak aby nemohli ostatní potkani ze stejného boxu sloužit jako zdroj sluchových podnětů, které by mohly být využity jako orientační body. Motor arény při otáčení byl sám o sobě dostatečně hlasitý, aby sloužil jako další zábrana potenciální alotetické orientace pomocí sluchu.

Na konec poslední fáze byl přidán jeden den, ve kterém 6 zvolených potkanů, kteří projevili určitou schopnost vyhýbání se cílovému sektoru za tmy, mělo další sezení úlohy AAPA za tmy, které sloužilo pro objasnění nalezených výsledků. Procedura v rámci sezení se mírně lišila podle konkrétního potkana, a tak je popsána až ve výsledcích.

Aparatura

Aparatura pro úlohu AAPA (viz obrázek 1) se skládala z hladké kovové kruhové arény o průměru 82 cm s nízkým kovovým okrajem. Nad tímto okrajem bylo umístěné 30 cm vysoké průhledné hrazení z plexiskla umožňující snadný výhled mimo arénu. Aréna byla vyvýšena 1 m nad zemí v místnosti s dostatkem podnětů (barevné značky na stěně, dveře atd.), které mohli sloužit jako orientační body při behaviorálním testování. Na okraji arény byla umístěna LED dioda umožňující automatické zaznamenávání pohybu arény v průběhu pokusu. Další LED dioda byla umístěna na malé kovové destičce, která byla v průběhu sezení pomocí gumových popruhů nasazená potkanovi na záda. Tato LED dioda sloužila k zaznamenávání pohybu potkana. K destičce byl také připevněn kabel, který sloužil k administraci elektrických šoků a který byl na začátku sezení připojen k injekční jehle implantované v kůži potkana. Po nasazení destičky nesoucí LED diodu byl potkan umístěn do středu arény do oblasti na opačné straně od neviditelného trestaného sektoru. Ve všech fázích kromě fáze habituace byla následně spuštěna rotace arény. Pozice potkana v průběhu sezení byla zaznamenávána se vzorkovací frekvencí 25 Hz pomocí počítače umístěného v sousední místnosti. Software zaznamenávající pozici potkana (Tracker 2.33; Biosignal Group, USA) zároveň on-line

vyhodnocuje, zda potkan nevstoupil do trestaného sektoru a případně administruje elektrický šok. Data byla uchovávána pro off-line analýzu, která byla provedena pomocí softwaru Carousel Maze Manager 0.3.3, který je podrobněji popsán v další části tohoto textu. Elektrický šok (AC, 50 Hz, 0.5 s) byl administrován v případě, že potkan vstoupil do trestaného sektoru po dobu delší než 300 ms. Administrovaný proud byl zpočátku přizpůsoben reakci potkana tak, aby vyvolal odpověď, ale nezpůsobil „freezing“. Všichni potkani s výjimkou dvou reagovali dostatečně na proud o síle 0.4 mA, která byla následně použita po zbytek pokusu. Zmínění dva potkani nereagovali na proud o žádné síle a byli z analýzy vyřazení, jak je popsáno podrobněji dále. Pokud potkan neopustil trestaný sektor do 900 ms od konce předchozího šoku, obdržel šok další.

Hodnocené parametry

Pro další analýzu byly použity následující parametry: **Celková vzdálenost** byla vypočítána jako součet vzdáleností mezi body sbíranými se vzorkovací frekvencí 1 Hz a hodnotila lokomoci potkanů. **Maximální čas vyhýbání se** byl vypočítán jako maximální čas mezi dvěma následujícími výskyty potkana v trestaném sektoru. Jedná se o jediný použitý parametr, který přímo ukazuje na schopnost potkana vyhýbat se cílovému sektoru. Pokud potkan nevstoupí do trestaného sektoru během sezení jedinkrát, nabývá maximální čas vyhýbání se hodnoty 1200 s. **Cirkulární průměr** označuje průměrný směr vektorů od středu arény k pozicím potkana. Cirkulární průměr může naznačovat strategii vyhýbání se cílovému sektoru. **Cirkulární variance** označuje variabilitu směrů vektorů od středu arény k pozicím potkana. Cirkulární variance ukazuje, nakolik se pohybuje potkan blízko konkrétního místa v rámci místnosti. **Periodicita pohybu** je počítána jako medián délky intervalů, v nichž se potkan kontinuálně nepohybuje. Periodicita pohybu může opět naznačovat strategii potkana. Dalším použitým ukazatelem strategie potkana je **Čas v sousedním sektoru**, který ukazuje podíl času, který potkan strávil v sektoru sousedním k trestanému sektoru. Sousední sektor byl brán jako výřez kruhu o velikosti 60°, tj. stejně široký jako trestaný sektor. Jednalo se o sektor, jehož střed ležel o 60° proti směru otáčení arény od středu trestaného sektoru, tj. o sektor, z něhož je potkan zanesen do trestaného sektoru v případě své nehybnosti. **Mediánová rychlost po šoku** je počítána jako medián úhlových rychlostí 1 s po šoku, pokud po tomto šoku nenásleduje do 1 s šok další. Kladná úhlová rychlost značí pohyb proti směru hodinových ručiček, tj. v tomto experimentu proti směru otáčení arény. Mediánová rychlost po šoku ukazuje, zda se po šoku potkan pohybuje preferenčně proti směru či po směru

otáčení arény a s jakou rychlostí. Podrobnější popis výpočtu všech parametrů je uveden v části Carousel Maze Manager.

Přestože je časté používat jako ukazatele vyhýbání se i další parametry, jako je počet vstupů do trestaného sektoru a čas prvního vstupu do trestaného sektoru, tyto parametry nebyly při analýze využity, neboť maximální čas vyhýbání se silně koreluje s počtem vstupů do trestaného sektoru (viz příloha Simulace statistické analýzy korelovaných parametrů) a čas do prvního vstupu do trestaného sektoru není obvykle dostatečně reliabilní (Prokopova et al., 2012).

Analýza a hypotézy⁹

Fáze učení

V rámci fáze učení byla provedena statistická analýza pouze pro celkovou vzdálenost a maximální čas vyhýbání se. Analýza byla provedena pomocí smíšené analýzy variance (ANOVA), u které den sloužil jako vnitro-subjektový faktor a skupina sloužila jako mezi-subjektový faktor. Pro den byly použity polynomiální kontrasty, přičemž výsledky jsou popsány pouze pro lineární, kvadratický a kubický kontrast, neboť kontrasty vyšších řádů nemají jasný biologický význam a jsou těžko interpretovatelné.

Do analýzy nebyly zahrnuty výsledky dvou potkanů, kteří se nedokázali úlohu naučit. Tito potkani byli vyřazeni z experimentu po sedmém dni učící fáze. Na obrázcích 2 a 3 lze vidět, jejich výrazně nižší lokomoce a maximální čas vyhýbání se. Maximální čas vyhýbání se byl na úrovni odpovídající absenci lokomoce – blízko 50 s odpovídajícím intervalu mezi dvěma výskyty subjektu v trestaném sektoru při jeho nehybnosti (délka tohoto intervalu odpovídá pohybu subjektu pomocí rotace arény o rychlosti 1 rpm).

Ve fázi učení byl primárně zjišťován vliv experimentální manipulace na schopnost vyhýbání se trestanému sektoru. Případný rozdíl byl zjišťován pomocí faktoru skupiny u parametru maximální čas vyhýbání se. Jelikož se rozdíl nemusel projevit v odlišné úrovni výkonu po celou fázi, ale mohl mít vliv pouze na rychlost učení, interakce mezi skupinou a dnem sloužila k odhalení potenciálních rozdílů v rychlosti učení. U celkové vzdálenosti nebyl očekáván žádný rozdíl mezi skupinami a tento parametr tedy sloužil primárně k ověření podobnosti lokomočních požadavků úlohy pro experimentální a kontrolní skupinu. Absence

⁹ Veškerá statistická analýza byla provedena v R 2.14.1 (R Development Core Team, 2011).

rozdílu v lokomoci by měla vycházet ze stejné průměrné rychlosti rotace arény pro obě skupiny v rámci všech sezení.

Probe fáze

V probe fázi byl předpokládán stabilní výkon u obou skupin, a tak nebyly celková vzdálenost a maximální čas vyhýbání se statisticky porovnávány. Výsledky jsou pro úplnost zobrazeny na obrázku 2 a 3.

Z výsledků probe fáze byly analyzovány parametry naznačující využitou strategii vyhýbání se trestanému sektoru. Rozdíl v cirkulárním průměru skupin byl předpokládán na základě toho, že v případě střídavé aktivity a neaktivity potkana (chování, které je v úloze obvyklé) zanesení potkana vyšší rychlost rotace arény do trestaného sektoru rychleji než v případě nižší rychlosti rotace. Pro subjekty v experimentální skupině zajišťuje delší průměrná vzdálenost od trestaného sektoru větší jistotu, že při pasivitě nebudou zaneseny rotací arény do trestaného sektoru¹⁰. Rozdíl mezi průměrnými cirkulárními průměry byl testován pomocí Watsonova testu homogenity pro dva výběry, který je implementován v balíčku 'circular' v rámci programu R (Lund & Agostinelli, 2013). Watsonův test homogenity ověřuje pouze rovnost průměrů hodnot, pro ověření hypotézy o větší průměrné vzdálenosti experimentální skupiny od trestaného sektoru byl tedy použit Wilcoxonův test.

U času v sousedním sektoru byly předpokládány nižší hodnoty pro experimentální skupinu. Důvod byl podobný jako u cirkulárních průměrů. Vyšší vzdálenost od trestaného sektoru by měla vyústit v nižší hodnoty času v sousedním sektoru. Čas v sousedním sektoru byl porovnáván mezi skupinami pomocí Wilcoxonova testu.

Rovnost cirkulární variance a periodicity pohybu mezi skupinami byly testovány pomocí Wilcoxonova testu. Bylo předpokládáno, že cirkulární variance a periodicitu pohybu experimentální skupiny budou nižší než cirkulární variance a periodicitu pohybu kontrolní skupiny. Tento předpoklad vycházel z odhadované bezpečné strategie, v rámci které by se měli potkani z experimentální skupiny pohybovat častěji, aby nebyli zaneseni pomocí potenciálně větší rychlosti rotace do trestaného sektoru. Tato častější korekce pozice v rámci

¹⁰ Například pokud se bude potkan pohybovat proti směru otáčení každých 20 s, rychlost otáčení 1 rpm vyžaduje na začátku periody pasivity minimální vzdálenost 120° od trestaného sektoru k tomu, aby se potkan trestanému sektoru vyhnul následným pohybem proti směru rotace. Při rychlosti otáčení 1.34 rpm je potřeba za jinak stejných podmínek minimální vzdálenost od trestaného sektoru 161°. Na základě této úvahy byla očekávána u experimentální skupiny vyšší průměrná úhlová vzdálenost od trestaného sektoru (proti směru otáčení arény).

místnosti by měla vyústit v menší cirkulární varianci a také v nižší periodicitu pohybu experimentální skupiny¹¹.

Fáze za tmy

Fáze za tmy byla v rámci experimentu zařazena, neboť úloha za tmy nelze řešit využitím alotetické orientace, ale vyžaduje jinou strategii vyhýbání se. Jednou z možností, jak úlohu za tmy řešit je využít časové strategie a substrátové idioteze. Potkan využívající této strategie by se pohyboval vždy po určité stabilní době o vzdálenost, která by korigovala přesun v rámci místnosti daný rotací arény. Jelikož se u subjektů v experimentální skupině v učící fázi měnila rychlost rotace, doba, kterou trvalo zanesení do trestaného sektoru otáčením arény, byla také proměnlivá a pohyb potkana nemohl vykazovat stabilní periodicitu, která by sloužila k naučení této strategie. U potkanů v kontrolní skupině tato strategie byla využitelná i v učící fázi, a tak se tato skupina mohla tuto strategii naučit. V takovém případě bychom očekávali lepší výkon kontrolní skupiny ve fázi za tmy. Alternativní strategií je využití kombinace inerciální a substrátové idioteze. Potkan využívající takové strategie se nepohybuje po určité stabilní době jako v případě první strategie, ale pomocí inerciální idioteze odhaduje vzdálenost, přes kterou se pohyboval při své neaktivitě. V tomto případě bychom nemuseli očekávat výrazné zhoršení experimentální skupiny, neboť tuto strategii je možné se naučit i v případě proměnlivé rychlosti rotace arény. Naopak je možné, že experimentální skupina se mohla naučit využívat inerciální idioteze lépe než kontrolní skupina, neboť v učící fázi byla rychlosti otáčení arény důležitou informací pro vyhýbání se trestanému sektoru – potkan musel přizpůsobovat rychlost či dobu svého pohybu rychlosti otáčení arény. Inerciální stimuly tak mohly být v učící fázi důležitějším vodítkem pro experimentální skupinu než pro skupinu kontrolní. Pokud by potkani využívali druhou strategii, bylo by možné, že vyhýbání se za tmy bude lépe schopna experimentální skupina.

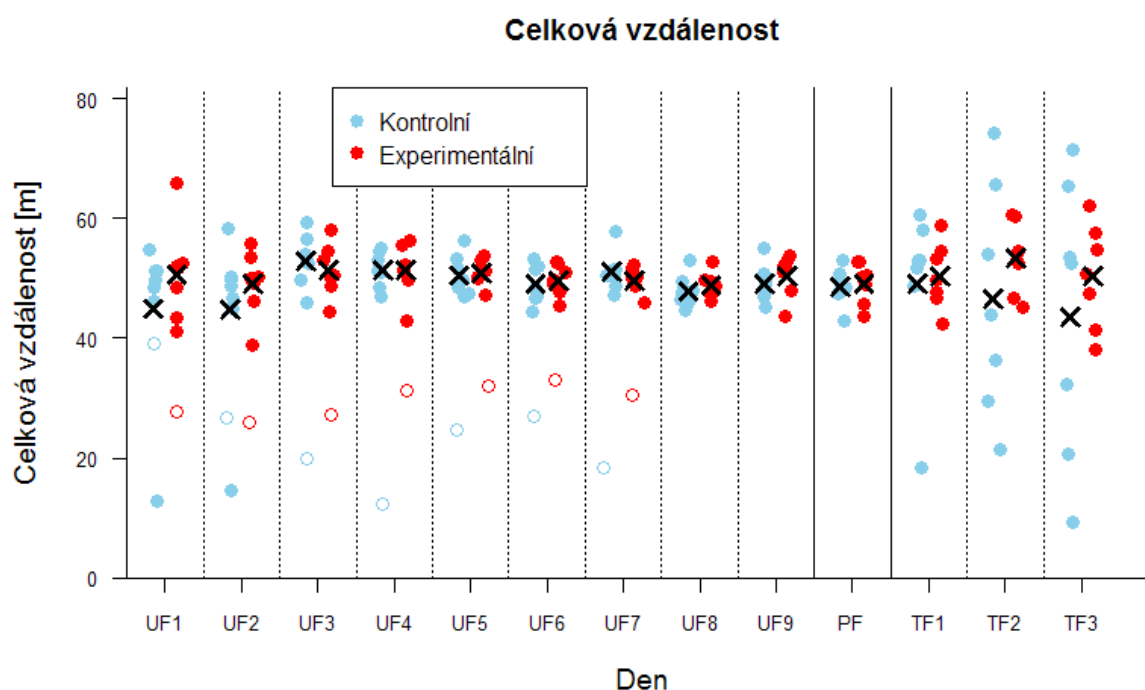
Vyhýbání se trestanému sektoru bylo hodnoceno pomocí průměrného maximálního času vyhýbání se ze všech tří dnů fáze za tmy. Průměrný maximální čas vyhýbání se obou skupin byl srovnán pomocí Wilcoxonova testu.

¹¹ Při rychlosti otáčení arény 1 rpm a vzdálenosti potkana od trestaného sektoru 120° se může začít potkan vyhýbat trestanému sektoru pohybem proti směru otáčení po 20 s nečinnosti. Při rychlosti 1.34 rpm se musí potkan při stejné vzdálenosti od trestaného sektoru začít pohybovat proti směru arény již po 15 s nečinnosti. Při předpokladu stejné vzdálenosti, při které začíná nečinnost potkana, lze tedy u experimentální skupiny očekávat nižší periodicitu a z podobného důvodu také nižší cirkulární varianci.

Výsledky

Fáze učení

Smíšená ANOVA pro celkovou vzdálenost nenaznačila žádný vliv skupiny, $t(12) = 0.58$, $p = .57$ ¹². Pro faktor dne byl pouze kvadratický faktor signifikantní, $t(96) = -2.69$, $p = .009$ ¹³. Interakce dne a skupiny se blížila hladině významnosti pro kvadratický faktor, $t(96) = 1.70$, $p = .09$. Interakce pro lineární a kubický faktor nebyla signifikantní, $|t|s(96) < 1.31$, $p > .19$. Data tedy neukázala výrazný vliv experimentální manipulace na lokomoci. Výsledky pro celkovou vzdálenost jsou zobrazeny na obrázku 2.



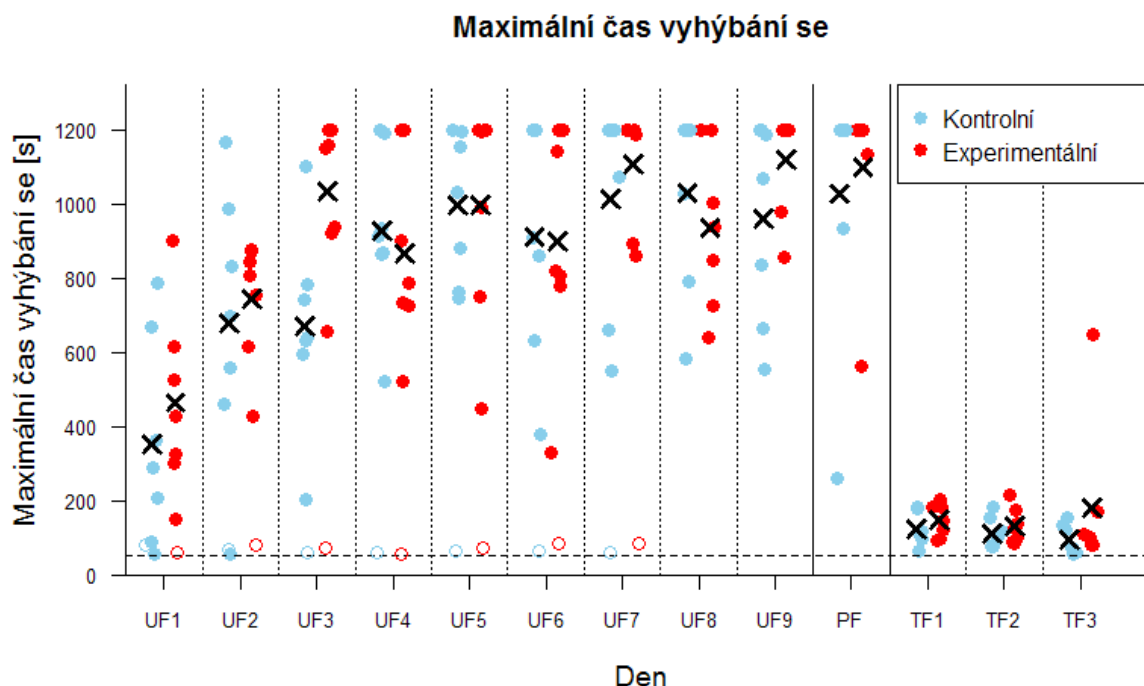
Obrázek 2: Celková vzdálenost v metrech. Křížky označují průměrné hodnoty pro danou skupinu a sezení (do průměrů nejsou zařazení dva vyřazení potkání, kteří jsou na grafu zobrazení prázdnými body). V grafu lze vidět, že v rámci učicí a probe fáze nevykazovali obě skupiny žádné rozdíly v lokomoci. Pouze první dva dny je možné pozorovat sníženou lokomoci u jednoho potkana z kontrolní skupiny. Ta se nicméně dostala na úroveň ostatních během třetího sezení. Absence rozdílů v celkové vzdálenosti mezi skupinami naznačuje, že experimentální manipulace nevyžadovala vyšší nároky na lokomoci u experimentální skupiny. Zkratky: UF - učicí fáze, PF - probe fáze, TF - fáze za tmy

Smíšená ANOVA pro maximální čas vyhýbání se neukázala žádný vliv skupiny, $t(12) = 1.00$, $p = .34$. Změna výkonu mezi dny byla vidět u lineárního, $t(96) = 6.10$, $p < .0001$, a

¹² Pokud není vyznačeno jinak, jsou všechny p-hodnoty pro dvoustranné testy hypotéz.

¹³ Model určený signifikantními nezávislými proměnnými (průřez s osou y a kvadratický kontrast pro den) naznačuje vztah mezi sezeními a celkovou vzdáleností ve tvaru obráceného „U“. Rozdíl mezi minimem a maximem hodnot predikovaných modelem je nicméně malý – predikované minimum první a devátý den 46.4 m, maximum pátý den 51.0 m.

kvadratického kontrastu, $t(96) = -3.46$, $p = .0008^{14}$. Žádná interakce mezi kontrastem pro den a skupinou nebyla signifikantní, $|t|s(96) < 1.24$, $ps > .21$. Obě skupiny tedy prokázali zlepšení výkonu v průběhu času. Rozdíl mezi skupinami nebyl nicméně pozorován ani ve výkonu, ani rychlosti učení. Výsledky pro maximální čas vyhýbání se jsou zobrazeny na obrázku 3.

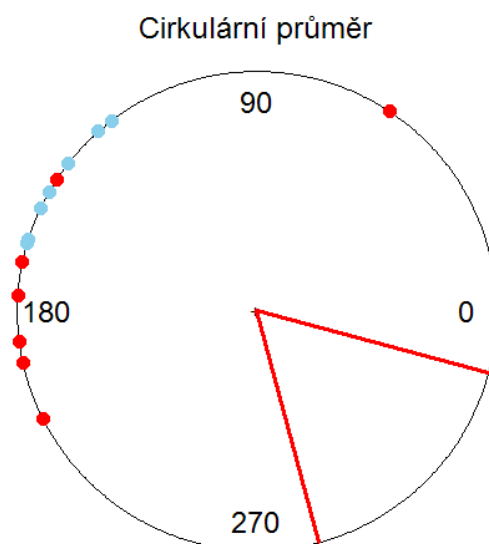


Obrázek 3: Maximální čas vyhýbání se v sekundách. Křížky označují průměrné hodnoty pro danou skupinu a sezení (do průměrů nejsou zařazeni dva vyřazení potkani, kteří jsou na grafu zobrazeni prázdnými body). Maximální možný čas vyhýbání se byl roven délce sezení, tj. 1200 s, jenž odpovídá absenci vstupů do trestaného sektoru. Tohoto času dosáhlo v probe fázi 5 potkanů z každé skupiny, což ukazuje, že potkani se během učicí fáze úlohu dobře naučili. V grafu lze vidět, že v rámci učicí a probe fáze nevykazovali obě skupiny žádné spolehlivé rozdíly v maximálním čase vyhýbání se. Horizontální přerušovaná linie zobrazuje čas 50 s, který odpovídá maximálnímu času vyhýbání se, který by byl naměřen u potkana, který by se nijak nepohyboval (při rychlosti rotace arény 1 rpm). Z tohoto obrázku lze dobře vidět, že dva potkani, kteří byli z analýzy vyřazení se nebyli schopni trestanému sektoru nijak vyhýbat. Ve fázi za tmy lze pozorovat výrazné zhoršení výkonu u všech potkanů. Ve třetím dnu fáze za tmy je vidět, že jeden potkan z experimentální skupiny byl schopen vyhýbat se trestanému sektoru po dobu 646 s. Zkratky: UF - učicí fáze, PF - probe fáze, TF - fáze za tmy

¹⁴ Model určený signifikantními nezávislými proměnnými (průsečík s osou y, lineární a kvadratický kontrast pro den) ukazuje zlepšení výkonu v průběhu času, které je zpočátku rychlejší, postupně se zpomaluje a dosáhne vrcholu sedmý den (predikce modelu 1021 s). Od pátého do posledního dne je nicméně dle tohoto modelu očekávaný maximální čas vyhýbání se v úzkém rozmezí 951 s - 1021 s. Dosáhnutí této relativně stabilní úrovně lze pozorovat na obrázku 3.

Probe fáze

Analýza cirkulárních průměrů pomocí Watsonova testu homogenity ukázala signifikantní rozdíl mezi experimentální ($\bar{X}_0 = 170.5^\circ$, $S_0 = .26$)¹⁵ a kontrolní skupinou ($\bar{X}_0 = 147.4^\circ$, $S_0 = .03$), $U^2 = 0.198$, $.01 < p < .05$. Wilcoxonův test pak potvrdil větší vzdálenost kontrolní skupiny od trestaného sektoru, $W = 11$, $p = .05$ (jednostranné), $n_1 = n_2 = 7$. Hodnoty cirkulárních průměrů pro jednotlivé subjekty lze vidět na obrázku 4.

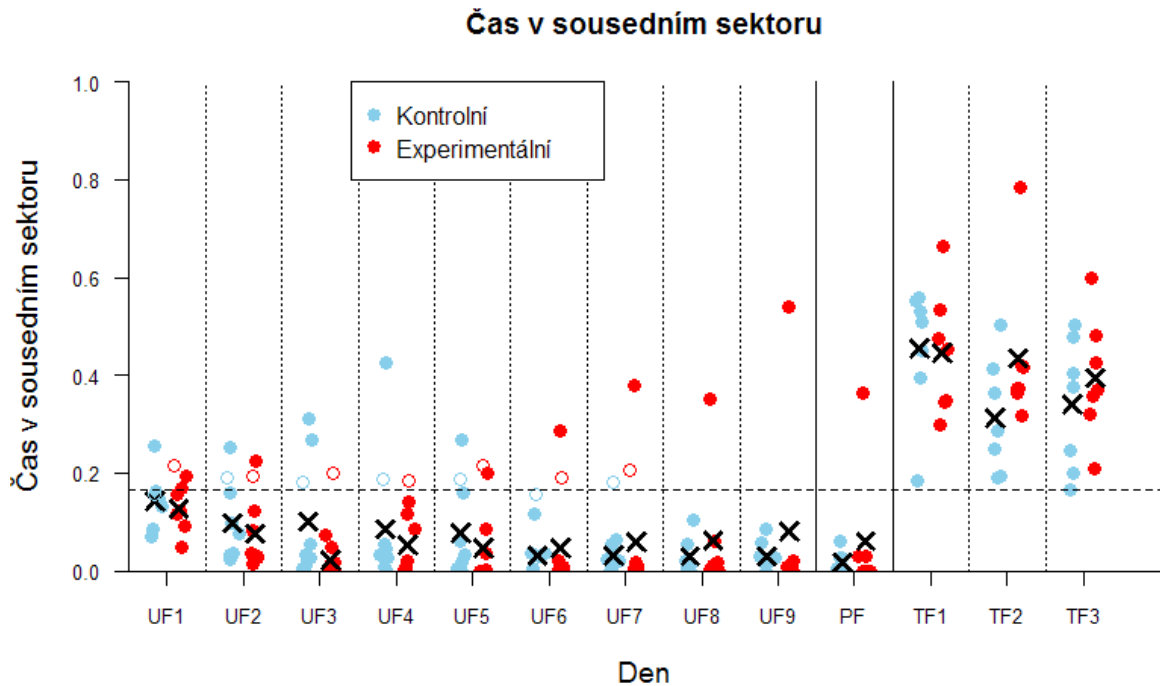


Obrázek 4: Cirkulární průměry pro probe fázi. Na obrázku lze pozorovat vyšší průměrné cirkulární průměry u experimentální skupiny (červená) než u kontrolní skupiny (modrá). Pět potkanů s nejvyššími hodnotami cirkulárních průměrů pocházelo z experimentální skupiny. Směr otáčení arény byl po směru hodinových ručiček. Vyšší cirkulární průměry experimentální skupiny tedy naznačují, že potkani v této skupině využívali bezpečné strategie, která spočívá v preferenci místa vzdálenějšího od trestaného sektoru z hlediska času, který je nezbytný k zanesení potkana do trestaného sektoru rotační arény. Trestaný sektor je vyznačen jako červená výseč.

Ačkoli silná korelace mezi časem v sousedním sektoru a cirkulárními průměry naznačovala, že oba parametry měří podobný konstrukt, $\rho(12) = -.57$, $p = .03$, u času v sousedním sektoru nebyl nalezen rozdíl mezi oběma skupinami, $W = 24$, $p = .55$ (jednostranné), $n_1 = n_2 = 7$. Důvodem nicméně mohl být nízký čas v sousedním sektoru u obou skupin. Čtyři potkani z experimentální skupiny a tři z kontrolní skupiny se v sousedním sektoru vyskytovali méně než 0.5% času¹⁶. Absence rozdílu tedy mohla být snadno důsledkem "floor" efektu. Hodnoty času v sousedním sektoru jsou vidět na obrázku 5.

¹⁵ \bar{X}_0 značí cirkulární průměr a S_0 označuje cirkulární varianci. Trestaný sektor má střed v 315° (viz obrázek 4). Směr otáčení arény byl proti směru hodinových ručiček, tj. vyšší hodnota cirkulárního průměru značí větší vzdálenost od trestaného sektoru (v případě, že tato hodnota je menší než 285°).

¹⁶ Carousel Maze Manager automaticky zaokrouhluje hodnoty tohoto parametru na 3 desetinná místa. Nižší výskyt byl tedy zaokrouhlen na 0.000.

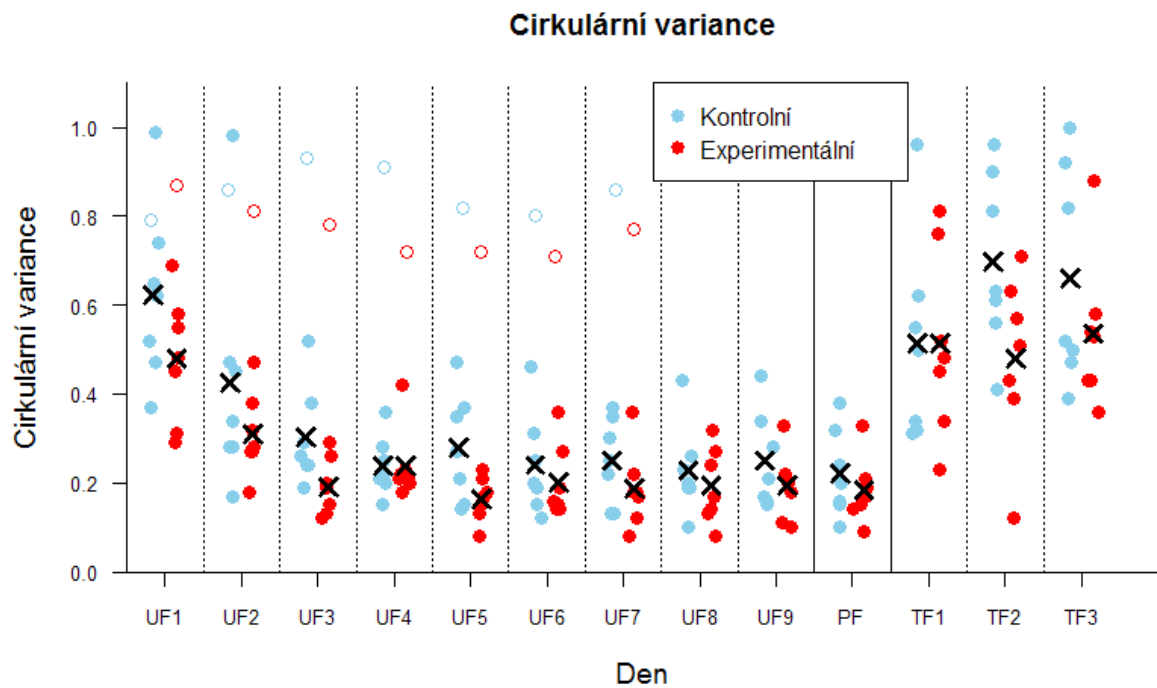


Obrázek 5: Čas v sousedním sektoru jako podíl na délce sezení. Křížky označují průměrné hodnoty pro danou skupinu a sezení (do průměrů nejsou zařazení dva vyřazení potkani, kteří jsou na grafu zobrazení prázdnými body). Horizontální linie zobrazuje podíl odpovídající homogennímu rozložení výskytu potkana ve všech sektorech arény, které lze očekávat například při úplně pasivitě potkana. Lze vidět, že hodnoty času v sousedním sektoru vyřazených potkanů ležely blízko této linie. Z grafu lze pozorovat, že čas v sousedním sektoru se v rámci učící fáze snižuje, přičemž na konci učící fáze je pro většinu potkanů blízko nule. Potkani se tedy neučí pouze vyhýbat se trestanému sektoru, ale postupně se vyskytují také méně v sektoru sousedícím s trestaným sektorem. Toto chování může být vhodné, například pokud si subjekty nevytvoří přesnou reprezentaci trestaného sektoru v rámci místnosti. Vyhýbání se širšímu sektoru může vést k lepšímu výkonu v úloze. U fáze za tmy lze vidět výrazné zvýšení času v sousedním sektoru. Hodnoty času v sousedním sektoru často převyšují hodnotu očekávanou při homogenním rozložení výskytu potkana ve všech sektorech arény. Důvodem je, že potkani se obvykle trestanému sektoru vyhýbali pohybem proti směru arény, nicméně tento pohyb prováděli často až při obdržení šoku. *Zkratky:* UF - učící fáze, PF - probe fáze, TF - fáze za tmy

Wilcoxonův test neukázal také žádný rozdíl v cirkulárních variancích obou skupin, $W = 30.5$, $p = .24$ (jednostranné), $n_1 = n_2 = 7$. Cirkulární variance obou skupin jsou vidět na obrázku 6.

Wilcoxonův test pro periodicitu pohybu neukázal žádný vliv experimentální manipulace, $W = 23.5$, $p = .58$ (jednostranné), $n_1 = n_2 = 7$. Periodicita pohybu v probe fázi korelovala signifikantně s cirkulární variancí, $\rho(12) = .71$, $p = .005$. To potvrzuje, že periodicitu pohybu i cirkulární variance měří podobnou charakteristiku chování potkana v úloze. Vyšší periodicitu pohybu znamená delší dráhu, kterou se potkan pohybuje pomocí rotace arény při své nehybnosti. Jelikož se potkan obvykle pohybuje pouze v určitém výseku prostoru z hlediska rámce místnosti, koriguje potkan svůj pohyb způsobený rotací arény navrácením na původní

polohu, ve které započal svou nečinnost. Vyšší periodicitu pohybu touto cestou způsobuje výskyt potkana ve větším výseku arény z hlediska rámce místnosti, a tak vede také k vyšší variabilitě. Vztah mezi periodicitou pohybu a cirkulární variancí naznačuje validitu obou těchto měřítek a podporuje jejich využitelnost pro testování specifických hypotéz v budoucích výzkumech.



Obrázek 6: Cirkulární variance. Křížky označují průměrné hodnoty pro danou skupinu a sezení (do průměrů nejsou zařazení dva vyřazení potkani, kteří jsou na grafu zobrazení prázdnými body). Cirkulární variance nabývá hodnot od 0 (subjekt se vyskytuje pouze v jednom směru vzhledem ke středu) do 1 (homogenní výskyt potkana ve všech úhlech ku středu – této hodnoty nabývá cirkulární variance v případně nehybného potkana). V textu je analyzována cirkulární variance pouze pro probe fázi, kde lze vidět podobné hodnoty obou skupin. Na hodnotách z učící fáze lze pozorovat snižování cirkulární variance v rámci prvních dnů. Tento vývoj ukazuje, že pokusné subjekty se naučí v průběhu prvních dnů pohybovat v omezeném místě z hlediska rámce místnosti. Ačkoli obrázek naznačuje rozdíly mezi experimentální a kontrolní skupinou v učící fázi, tyto rozdíly jsou těžko interpretovatelné, neboť mohou být způsobené přímo odlišnou rychlostí rotace arény, a nikoli jejím vlivem na chování potkana. U vyřazených potkanů lze pozorovat vysokou cirkulární varianci vyplývající z absence vyhýbání se trestanému sektoru. Nízká cirkulární variance potkana z experimentální skupiny ve druhém dnu fáze za tmy lze přičíst jeho reakci na zanesení do trestaného sektoru, která spočívala v krátkém pohybu proti směru otáčení arény. Jelikož takto urazil pouze krátkou vzdálenost, pohyboval se v úzkém výseku arény sousedícím s trestaným sektorem, z čehož vyplývá jeho 68 vstupů do trestaného sektoru a 78.3% času v sousedním sektoru (viz také obrázek 5). *Zkratky:* UF - učící fáze, PF - probe fáze, TF - fáze za tmy

Fáze za tmy

Výsledky pro maximální čas vyhýbání se lze vidět na obrázku 3. Wilcoxonův test neukázal signifikantní rozdíl v průměrném maximálním času vyhýbání se mezi experimentální (M =

153 s, SD = 90 s) a kontrolní (M = 110 s, SD = 25 s) skupinou, $W = 18$, $p = .44$, $n_1 = n_2 = 7$. Vyšší průměr a variabilita hodnot experimentální skupiny je dána především výsledkem jednoho potkana (dále označován jako potkan č. 15), jehož průměrný maximální čas vyhýbání se byl 354 s¹⁷. Výsledky tedy nenaznačily lepší výkon v úloze za tmy u žádné z obou skupin.

Přestože se potkani v úloze za tmy výrazně zhoršili oproti učící fázi a probe fázi, schopnost vyhýbat se trestanému sektoru do určité míry přetrvávala i za tmy. Polovina potkanů tak například měla alespoň jednu hodnotu maximálního času vyhýbání se vyšší než 175 s, tj. takřka tři minuty. Jelikož absence lokomoce vede k maximálnímu času vyhýbání se 50 s, značí tyto hodnoty, že se potkan musel aktivně trestanému sektoru vyhýbat alespoň dvě minuty. Nejvyšší naměřená hodnota maximálního času vyhýbání se byla u potkana č. 15, který se dokázal třetí den fáze za tmy trestanému sektoru vyhýbat po 646 s.

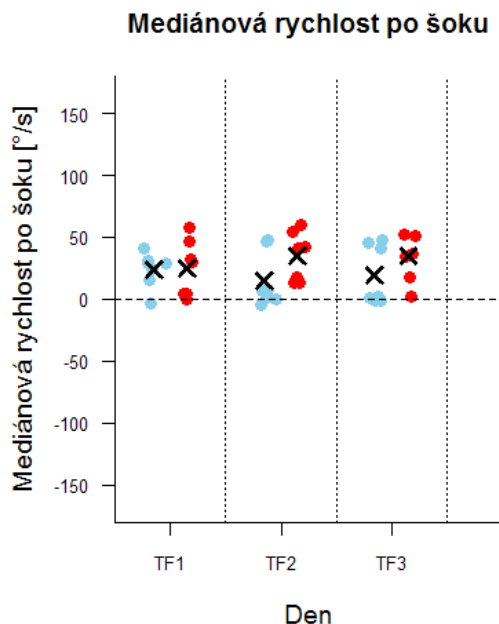
Ačkoli byli potkani schopni se do určité míry trestanému sektoru vyhýbat, jejich výkon se v průběhu času nezlepšoval. Při odečtení maximálního času vyhýbání se pro třetí a první den pouze u 5 potkanů z 14 byla výsledná hodnota kladná. Průměrná hodnota těchto rozdílů byla 3 s, což ukazuje, že s výjimkou potkana č. 15, který se zlepšil mezi prvním a třetím dnem o 444 s, se potkani v úloze za tmy v průběhu dnů nezlepšovali.

I když se potkani nedokázali ve tmě obvykle vyhýbat po delší dobu trestanému sektoru, základní únikové chování zůstalo zachováno i v této fázi. To lze pozorovat na kladných hodnotách mediánové rychlosti po šoku, která je zobrazená na obrázku 7. Ve všech třech dnech byla průměrná mediánová rychlost po šoku (pro obě skupiny dohromady) větší než nula, $t_s(13) > 4.11$, $p_s < .002$, $24^\circ/s < MS < 28^\circ/s$. Potkani se tedy vyhýbali šoku přednostně pohybem proti směru rotace arény, tj. stejně, jak obvykle řeší úlohu za světla.

Potkan č. 15 absolvoval úlohu ještě jeden den s tím, že v tento den probíhalo sezení opět s proměnlivou rychlostí rotace arény. Rychlost rotace arény se v tomto sezení střídala po třech minutách mezi 0.71 rpm a 1.23 rpm. Jelikož z fáze za tmy se stabilní rychlostí rotace arény byly naměřeny pro tohoto potkana pouze tři hodnoty, nebylo možné vliv proměnlivé rychlosti rotace statisticky porovnat. Nicméně výkon potkana – 166 s maximální čas vyhýbání se a 23 vstupů byl horší než výkon v předchozích dnech (202 s, 214 s, 646 s pro maximální čas vyhýbání se a 57, 13, 11 pro počet vstupů). Zhoršení pozorované při variabilní rychlosti

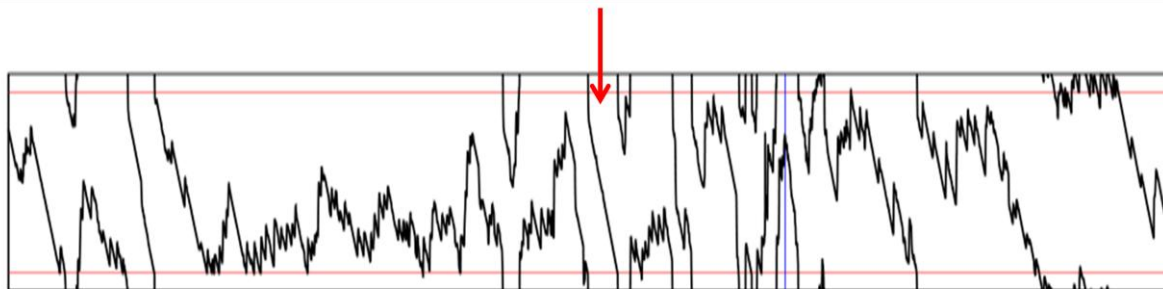
¹⁷ Bez tohoto potkana jsou hodnoty průměru a směrodatné odchylky pro experimentální skupinu 120 s, resp. 19 s.

rotace by naznačovalo využití časové strategie při vyhýbání se trestanému sektoru, ale nižší maximální čas vyhýbání se může být také dán pouze větší složitostí vyhýbání se při vyšší rychlosti rotace arény. Tato data je tedy nutné interpretovat s obezřetností.



Obrázek 7: Mediánová rychlost po šoku ve fázi za tmy (TF). Kladná rychlost po šoku ukazuje na pohyb proti směru rotace arény bezprostředně po obdržení šoku. Nulová rychlost po šoku značí absenci reakce pohybem na obdržení šoku. Z grafu lze pozorovat, že i za tmy se standardně pohybovali potkani z obou skupin (červená – experimentální, modrá – kontrolní) proti směru otáčení arény. Naučené vyhýbání se trestanému sektoru tedy bylo možné pozorovat i v úloze za tmy.

Pět dalších potkanů také absolvovalo další den úlohy. U těchto potkanů však rychlost rotace arény zůstala stabilní podobně jako předchozí dny. Potkani byli vybráni na základě průměrného maximálního času vyhýbání se ve fázi za tmy a maximálního času vyhýbání se ve třetí den fáze za tmy. Ačkoli byli vybráni potkani, kteří vykazovali určitou schopnost vyhýbání se trestanému sektoru za tmy, jejich výkon čtvrtý den nebyl nikterak lepší než ve dny předchozí (průměrný maximální čas vyhýbání se pro tyto vybrané potkany byl ve čtyřech dnech za tmy postupně 112 s, 150 s, 137 s, 137 s). Po 20 minutách úlohy ve čtvrtý den byl na 10 minut vypnut šok a bylo pozorováno chování potkanů dále. Ačkoli se většina z potkanů pohybovala proti směru otáčení arény dále, absence šoku odstranila informaci o pozici potkana v rámci místnosti a u potkanů tak převážil pasivní pohyb daný rotací arény nad aktivním pohybem proti směru otáčení arény (viz např. obrázek 8).



Obrázek 8: Úhel pozice vybraného potkana vůči středu trestaného sektoru v průběhu času ve čtvrtém sezení fáze za tmy. Trestaný sektor je na obrázku vymezen červenými horizontálními liniemi (30° a 330° od středu trestaného sektoru). Modrá vertikální linie ukazuje 20 minut od počátku 30 minutového sezení. V tento čas byl vypnut šok. Na obrázku lze pozorovat, že potkan se i po vypnutí šoku pohyboval proti směru otáčení arény (při pasivitě potkana by se úhel potkana vůči středu trestaného sektoru snižoval, tak jak je vidět na místě vyznačeném červenou šipkou. Ačkoli se potkan i po vypnutí šoku pohyboval proti směru rotace arény, tento pohyb byl nedostatečný k tomu, aby korigoval pohyb v rámci místnosti daný otáčením arény. Úhel pozice potkana vůči středu sektoru se tak po vypnutí šoku snižoval (na rozdíl např. od intervalu od 5 do 12 minut, kde lze vidět, že se potkan v trestaném sektoru takřka nevyskytoval, a v rámci něhož také byl schopný se vyhýbat trestanému sektoru po nejdelší dobu – 178 s).

Diskuse

Výsledky experimentu neukázaly v učící fázi vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na lokomoci a schopnost vyhýbat se trestanému sektoru. Potkani z obou skupin se dokázali úlohu úspěšně naučit a jejich výkon byl relativně stabilní od pátého dne. Experiment tedy nenaznačuje, že stabilní rychlost rotace arény pomáhá potkanům v naučení se úlohy. Kdyby potkani využívali při vyhýbání se sektoru časovou strategii, mohli bychom očekávat, že tato časová strategie povede k lepším výsledkům potkanů, kteří tuto strategii mohou použít, a tak k rozdílům mezi experimentální a kontrolní skupinou. Jelikož žádný rozdíl nebyl pozorován, lze tvrdit, že časová strategie není klíčová pro řešení úlohy. Alternativně je však možné, že časovou strategii lze kompenzovat využitím jiné stejně úspěšné strategie. Z výsledků tedy nelze spolehlivě usuzovat, že potkani v kontrolní skupině časovou strategii nepoužívali, je možné ale tvrdit, že ta není pro naučení úlohy nezbytná. Tento výsledek je také důležitý, neboť ukazuje, že deficit intervalového časování by sám o sobě neměl způsobit zhoršení výkonu v úloze. Pokud je tedy například známo, že určité farmakum způsobuje deficity intervalového časování, výsledky tohoto experimentu naznačují, že jeho případný vliv na výkon v úloze AAPA nelze připsat pouze tomuto efektu farmaka.

V probe fázi byly porovnávány skupiny z hlediska parametrů, které mohly naznačovat strategii, kterou potkani využívali k vyhýbání se trestanému sektoru. U experimentální skupiny byly pozorovány vyšší cirkulární průměry než u kontrolní skupiny, což ukazuje, že

potkani se pohybovali v prostoru, který byl vzdálenější od trestaného sektoru z hlediska času, který byl potřeba k zanesení potkana do trestaného sektoru otáčením arény. Ačkoli byl nalezen rozdíl v cirkulárních průměrech obou skupin, ostatní parametry naznačující využitou strategii se mezi skupinami nelišili. Jelikož cirkulární variance a periodicitu měří jinou strategii, než cirkulární průměr, je možné, že potkani z experimentální skupiny využívali strategii indikovanou vyšším cirkulárním průměrem, tj. rychlejšímu zanesení do trestaného sektoru při vyšší rychlosti otáčení arény se bránili delší vzdáleností od trestaného sektoru, a nikoli užším výsekem arény, ve kterém se pohybovali. Obě strategie nejsou vzájemně se vylučující, ale využití jedné z těchto strategií může postačit k úspěšnému vyhýbání se trestanému sektoru i při vyšší rychlosti rotace arény. Rozdíl v periodicitě obou skupin by mohl naznačovat využití časové strategie při vyhýbání se trestanému sektoru a jeho absence tedy naznačuje, že potkani při řešení úlohy časovou strategii nepoužívají. Přestože cirkulární průměr a čas v sousedním sektoru měří podobný konstrukt, absence rozdílu mezi skupinami v čase v sousedním sektoru mohla být dána floor efektem daným nízkou hodnotou tohoto parametru u většiny potkanů v experimentu.

Kromě naznačení strategie využívané potkany pro vyhýbání se trestanému sektoru ukázaly výsledky probe fáze na možnosti využití nových parametrů pro testování specifických hypotéz o vlivu experimentální manipulace na chování potkanů v úloze. Z pozitivní korelace mezi cirkulární variancí a periodicitou lze vidět, že oba parametry měří podobný konstrukt, a tyto výsledky tedy částečně validují oba parametry. Stejně tak negativní korelace mezi cirkulárním průměrem a časem v sousedním sektoru naznačuje konvergentní validitu obou těchto parametrů.

Výsledky fáze za tmy nenaznačily žádný rozdíl mezi experimentální a kontrolní skupinou. Obě skupiny se výrazně zhoršily oproti probe fázi, nicméně maximální čas vyhýbání se a mediánová rychlost po šoku ukázaly, že potkani byly stále schopni úlohu do určité míry řešit. U většiny subjektů přetrvával pohyb proti směru otáčení arény, který udržuje potkana mimo trestaný sektor pomocí korekce pozice v rámci místnosti. Délka tohoto pohybu nicméně nemohla být upravována dle vnějších orientačních bodů a potkani byly z tohoto důvodu často zaneseny otáčením arény do trestaného sektoru. S výjimkou jednoho z potkanů nebyl pozorován žádný důkaz zlepšení v úloze za tmy v průběhu času. Tato absence zlepšení nicméně nelze vysvětlit pomocí limitů přesnosti idiotetické orientace, neboť jeden z potkanů

byl schopný se vyhýbat trestanému sektoru po více než deset minut. Idiotetická orientace je tedy dostačující k řešení úlohy za tmy, nicméně není pravděpodobně klíčová pro řešení úlohy za světla, a tak znemožnění alotetické orientace vede k výraznému zhoršení výkonu. Jelikož potkan, který byl do určité míry schopen se naučit vyhýbat se trestanému sektoru za tmy, byl z experimentální skupiny, zdá se, že řešení úlohy za tmy je spíše možné pomocí kombinace inerciální a substrátové idioteze než pomocí intervalového časování a substrátové idioteze. Informace o tom, kdy má být potkan aktivní tak spíše vyplývá z informace o pasivním pohybu v prostoru než z času, který uplynul od minulého pohybu. Samozřejmě nelze vyloučit, že oba tyto zdroje informací mohou být při řešení úlohy za tmy kombinovány. Je také možné, že se mohl potkan naučit časové strategii během probe fáze či během fáze za tmy, kdy byla rychlost rotace arény i v jeho případě stabilní. Experimentální manipulace nemusela být také dostatečně silná k tomu, aby zabránila alternativní časové strategii, jako je například průměrování časových intervalů (Swanton et al., 2009; viz také Buhusi & Meck, 2009). V takovém případě by se mohl naučit časovou strategii i subjekt z experimentální skupiny. Možné závěry zde prezentované studie jsou nezbytně omezené tím, že pouze jeden z potkanů byl schopen se spolehlivě vyhýbat trestanému sektoru ve fázi za tmy.

Na závěr diskuse je nutné zmínit některá omezení popsané studie. Nejdůležitějším omezením, které značně limituje spolehlivost závěrů, které ze studie vyplývají, je relativně nízký počet pokusných subjektů. Je možné, že absence rozdílů mezi skupinami byla způsobena malou statistickou silou danou nízkým počtem potkanů v každé ze skupin (cf. Button et al., 2013). Některé výsledky tímto omezením nejsou nicméně postiženy. Například lze vidět, že potkani z experimentální skupiny byly schopni se úlohu za světla rychle naučit. Ačkoli je tedy možné, že při větší statistické síle by byl nalezen rozdíl mezi skupinami, je zřejmé, že stabilní rychlost otáčení není nezbytná pro naučení se úlohy. Stejně tak je vidět, že potkani se mohou naučit úlohu za tmy, ačkoli se spolehlivě úlohu naučil pouze jeden z potkanů. Budoucí využitelnost některých z nově prezentovaných měřených parametrů je také zřejmá ze vztahů, které bylo mezi nimi možné v této studii pozorovat.

Dalším možným omezením je relativně nízké rozmezí rychlostí otáčení arény u experimentální skupiny. Největší rychlost otáčení byla pouze o třetinu rychlejší než rychlost použitá u kontrolní skupiny. Tento omezený rozsah rychlostí byl dán technickými možnostmi experimentální aparatury. Ačkoli je možné, že větší rozsah využitých rychlostí by mohl vést

k rozdílu mezi skupinami, není jasné, zda by vyšší rychlost otáčení arény nemohla vést k jiným efektům, než které byly v tomto experimentu studovány. Cílem studie nebylo zjistit vliv samotné rychlosti otáčení na výkon v úloze, ale zjistit vliv variability rychlosti otáčení arény na výkon v úloze a použité strategie řešení úlohy. Použité rychlosti otáčení arény se lišily každé sezení a rozdíl mezi maximální a minimální rychlostí otáčení arény byl 0.5 rpm. Obojí by mělo být dostatečnou manipulací k tomu, aby uplynulý čas nebyl validním ukazatelem toho, kdy se má subjekt pohybovat.

Vzhledem k tomu, že bylo měřeno více parametrů během více fází, použitá hladina významnosti neodpovídá pravděpodobnosti, že některý z nalezených výsledků bude falešně pozitivní v případě nulových efektů. Toto omezení je třeba mít na paměti při interpretaci výsledků. Korekce pro mnohonásobná srovnávání nebyla použita z důvodu snížení statistické síly z ní vyplývající. Při použitém množství subjektů by snížení statistické síly mělo pravděpodobně horší následky než vyšší pravděpodobnost výskytu falešně pozitivního výsledku v experimentu. Pro ověření zde nalezených výsledků je samozřejmě možné provést replikaci, který by mohla ukázat, které z objevených výsledků jsou spolehlivé a které lze přičíst falešně pozitivnímu zamítnutí nulové hypotézy.

Nakonec je třeba zmínit, že ne všichni potkani se byli schopni úlohu naučit. Vzhledem k tomu, že v každé skupině se vyskytoval jeden potkan, který se nedokázal úlohu naučit, lze předpokládat, že jejich vyřazení nemělo výrazný vliv na spolehlivost závěrů z této studie. Přesto, je nutné výsledky interpretovat v rámci toho, že z analýzy byli tito potkani vyřazení. To například znamená, že interpretace výsledků týkajících se použité strategie lze generalizovat na potkany, kteří se úlohu naučili, a nikoli na všechny potkany v experimentu. Rozdíl mezi vyřazenými potkany a ostatními byl nicméně zřejmý a z výsledků těchto potkanů u celkové vzdálenosti, maximálního času vyhýbání se, cirkulární variance i času v sousedním sektoru je jasné vidět, že se jednalo o odlehlé hodnoty, a že potkani nevykazovali aktivitu, kterou lze očekávat u subjektů úlohu aktivně řešících.

Carousel Maze Manager

S růstem významu počítačích metod ve vědě se začala v posledních letech prosazovat reprodukovatelnost výsledků obdržných využitím těchto metod (Mesirov, 2010; Peng, 2011; Stodden, 2009). K doporučením sdílení dat (Simonsohn, in press) tak přibyl důraz na sdílení softwaru využitého ve výzkumu a skriptů s kódem pro zpracování dat. Bez těchto

dodatečných materiálů často není možné původní výzkum replikovat, což je v rozporu s jedním z hlavních rysů vědy. Software, jehož zdrojový kód není volně dostupný, je navíc z vědeckého hlediska problematický v tom, že nelze zkontrolovat jeho správnost. V případě takového softwaru lze tedy těžko odhalit možné chyby v použitých algoritmech. Ukazuje se také, že pouhý popis využitých algoritmů, který může být součástí manuálu či dokumentace programu, je často nedostatečný k odhalení chyb v programu (Ince et al., 2012). Otevřenost zdrojového kódu naopak umožňuje kontrolu využitých algoritmů, snadnou úpravu kódu pro specifické účely a využití celého kódu nebo jeho částí pro jiné než zamýšlené účely (Morin et al., 2012). V úloze AAPA je používán specializovaný software pro tři hlavní úlohy. První úlohou je on-line zaznamenání polohy subjektu v průběhu sezení a aplikování šoků v případě vstupu do trestaného sektoru. Druhou úlohou je (obvykle off-line) zpracování dat získaných ze záznamů poloh v průběhu sezení. Třetí úlohou je statistická analýza takto zpracovaných dat. Zatímco pro první dvě úlohy se standardně používá specializovaný software pro úlohu AAPA či behaviorální metody obecně, třetí úlohu může plnit jakýkoli statistický software. V souladu s požadavky na software používaný ve vědě, byl pro druhou úlohu nově vytvořen dále popsáný program – Carousel Maze Manager (dále pouze CM Manager). Dosud se pro tuto úlohu běžně používal komerční program Track Analysis (Biosignal Group, USA).

CM Manager je software pro kontrolu, prohlížení a zpracování záznamů z úlohy aktivního vyhýbání se místu a kolotočového bludiště¹⁸ obecně. CM Manager je napsáný v programovacím jazyku Python (verze 3.2.3, www.python.org). Python je dynamický objektově orientovaný jazyk, který je volně dostupný pro většinu běžných operačních systémů. Jelikož je Python interpretovaný jazyk, CM Manager vyžaduje ke spuštění předchozí instalaci Pythonu 3¹⁹. CM Manager samotný není potřeba instalovat. Současná verze CM Manageru ke dni 28.4. 2013 je 0.3.4²⁰, která je volně na stažení na odkazu https://github.com/bahniks/CM_Manager_0_3_4 a je dostupná pod licencí GNU General Public License, version 3 (<http://www.gnu.org/licenses/gpl-3.0.html>; viz také Stodden, 2009).

¹⁸ Záznamy mohou pocházet z jakékoli úlohy používající kruhovou arénu (za předpokladu správného vstupního formátu), a tak je v této části používán pojem kolotočové bludiště spíše než úloha AAPA.

¹⁹ Spuštění CM Manageru taktéž vyžaduje nainstalovanou knihovnu tkinter pro spuštění grafického uživatelského rozhraní. Ta je nicméně součástí standardní distribuce Pythonu.

²⁰ Obrázky, které jsou dále zobrazené jsou z verze 0.3.3, obrázek z verze 0.3.4 je použit pouze v jednom případě, kde se obě verze v grafickém rozhraní mírně liší.

Dále jsou shrnuty základní funkce CM Manageru, jeho možné využití a plánovaný budoucí vývoj.

Výběr souborů

CM Manager slouží k off-line zpracování souborů obsahujících záznamy sezení z kolotočového bludiště. Vstupem pro CM Manager jsou tedy výstupy z programu zaznamenávajícího pozice v průběhu takového sezení. V současné době je možné v CM Manageru pracovat se soubory získanými z programů iTrack a Tracker (obojí Biosignal Group, USA)²¹. Soubory je možné vybrat po jednotlivých souborech, načtením všech souborů ve složce (a podsložkách), načtením souborů dříve zpracovaných v CM Manageru a nakonec načtením uložených souborů z dřívější práce²². Tento výběr souborů vede pouze k uložení do „skladu souborů“ – nenačítají se data obsažené v těchto souborech, a tak je tento výběr časově nenáročný. Výběr souborů je možný ve všech částech programu – „Process“ (výpočet parametrů), „Explore“ (prohlížení záznamů), „Control“ (kontrola záznamů). Všechny tyto části sdílejí stejný sklad souborů, a tak přidání souborů do skladu v jedné části programu se projeví i v ostatních částech. Jelikož v kolotočovém bludišti je zaznamenávána poloha subjektu jak v rámci arény, tak v rámci místnosti, pro každé sezení připadají dva soubory²³ – každý se záznamem polohy v jednom z rámců. CM Manager oba soubory automaticky spáruje za předpokladu, že jsou nazvané způsobem, který vzájemné přiřazení dovoluje²⁴, a oba soubory jsou ve stejné složce²⁵. Ve skladu souborů, výsledcích a dalších částech programu se poté zobrazuje pouze název souboru pro rámec arény.

Načítání dat

Veškerá další práce se soubory v CM Manageru vyžaduje načtení dat, která obsahují. Soubory z iTracku a Trackeru obsahují v hlavičce informace o pozici sektoru, jeho šířce, rozměru arény, atd. Následně jsou v souboru zaznamenány informace o pozici subjektu

²¹ Tyto soubory jsou ukládány s příponou .dat a pouze soubory s touto příponou je možné načítat do CM Manageru. Jedná se však o prosté textové soubory, které lze otevřít v jakémkoli programu k tomu sloužícím.

²² Načtení souborů posledními dvěma způsoby vyžaduje, aby se cesta k souboru nijak nezměnila (načítají se pouze cesty k souborům, nikoli celé soubory).

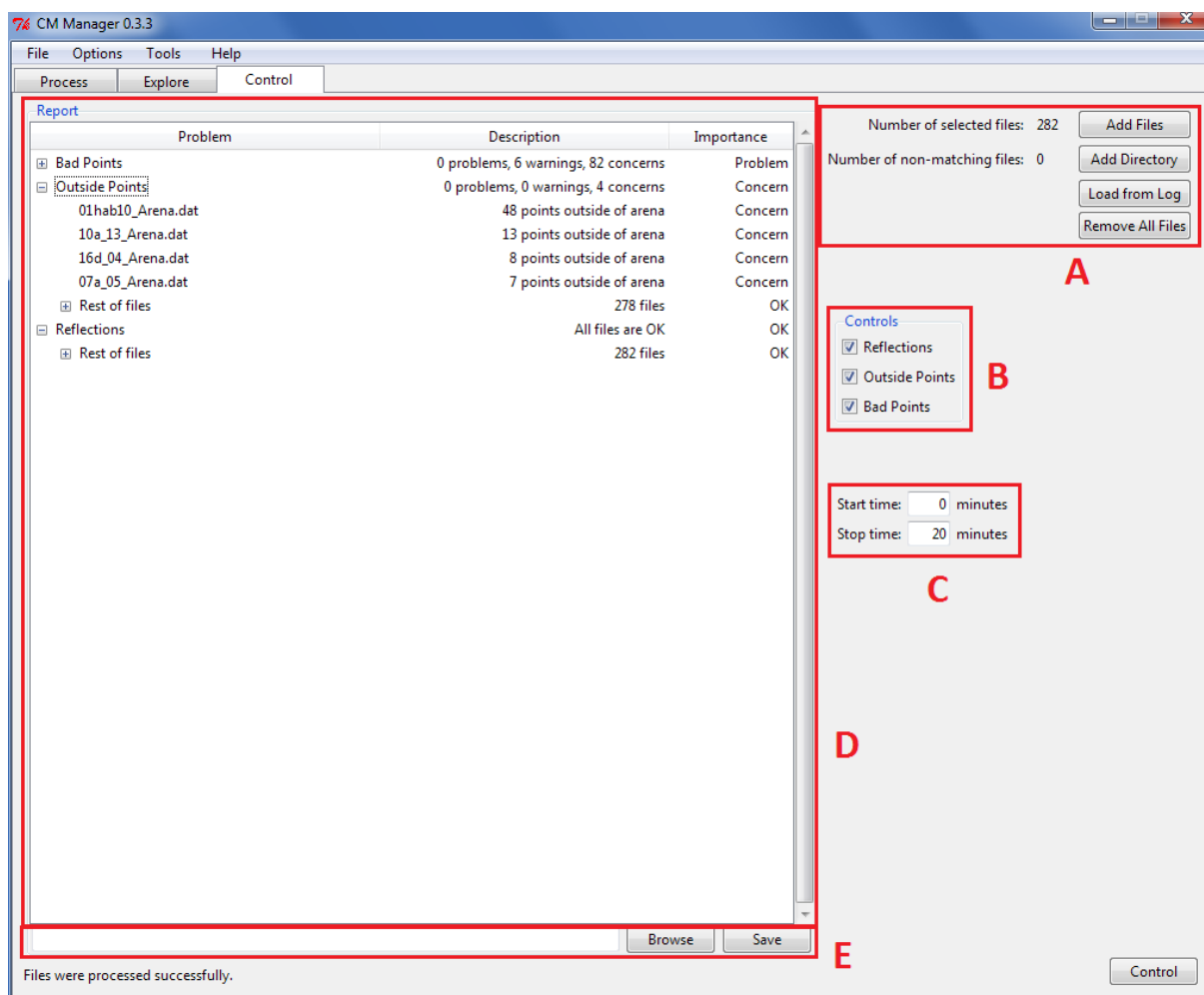
²³ Ačkoli poloha z obou rámců může být zaznamenána pouze v jednom souboru, ani v iTracku, ani v Trackeru tato možnost není.

²⁴ Soubory musí v názvu obsahovat „arena“ či „Arena“ v případě rámce arény a „room“ či „Room“ v případě rámce místnosti.

²⁵ Soubory je možné spárovat i pokud se nevyskytují ve stejné složce podle času vytvoření či manuálně.

v rámci času spolu s informacemi o tom, zda obdržel v daném času šok, zda se vyskytoval v trestaném sektoru atd. Všechna tato data jsou při načtení dat uložena do operační paměti a CM Manager s těmito daty může dále pracovat. V záznamech mohou být chybějící datové body a chybějící pozice. CM Manager automaticky chybějící pozice a datové body doplňuje pomocí lineární aproximace z předchozí a následující dostupné pozice. Pokud jsou chybějící pozice na konci souboru, CM Manager je nahradí poslední dostupnou pozicí. Chybějící pozice na začátku souboru jsou vyřazeny.

Kontrola záznamů



Obrázek 9: Kontrola souborů v CM Manageru. A) Načítání souborů do skladu souborů. B) Výběr kontrolovaných parametrů. C) Nastavení času sezení, pro který má být kontrola provedena. D) Report výsledků kontroly. E) Uložení výsledků kontroly.

První z částí CM Manageru slouží ke kontrole souborů a záznamů z kolotočového bludiště. V rámci kontroly souborů (obrázek 9) lze zkontrolovat u všech souborů výskyt odlesků, pozic mimo definovanou arénu a špatných bodů (tj. chybějících datových bodů a chybějících pozic). Výsledek z kontroly souborů se zobrazuje v rámečku „Report“, který obsahuje

souhrnné informace o celkovém množství odhalených problémů pro každý vybraný kontrolovaný parametr a informace pro každý jednotlivý soubor spolu s množstvím problematických datových bodů. Výsledek kontroly jde uložit do TXT nebo CSV souboru.

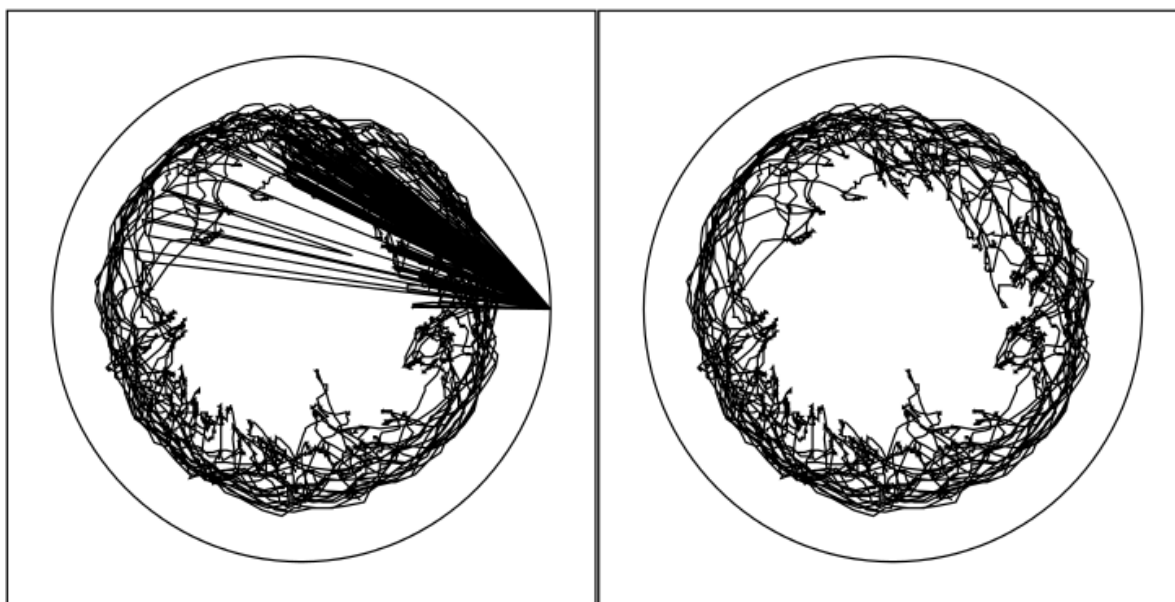


Obrázek 10: Kontrola záznamů v CM Manageru. A) Zobrazení souborů ve skladu souborů, informací o nalezených problémech a označení souborů. **B)** Označování souborů, výběr zobrazeného rámce, nastavení zobrazeného času, nastavení odstraňování odlesků. **C)** Zobrazená dráha z jednoho souboru a rámce. Data z nastaveného času jsou rozdělena mezi všechna plátna tak, že na každém je zobrazen stejně dlouhý časový interval (v sekvenci po řadách, zleva doprava). Toto zobrazení umožňuje snadnější identifikaci odlesků či jiných problémů.

Kontrola záznamů zobrazuje dráhy subjektu v rámci jednoho sezení (obrázek 10). Pomocí této funkce lze zjišťovat například výskyt potkana mimo definovanou arénu, která může být dána vyskočením potkana z arény, nebo výskyt odlesků v záznamu. Odlesky jsou artefakty záznamu dané chybným zaznamenáním pozice bodu jiného, než je subjekt. Odlesky lze rozpoznat vizuálně (viz obrázek 11) nebo automaticky pomocí funkce v CM Manageru. CM Manager umí odlesky nejen rozpoznat, ale také automaticky odstranit. Rozpoznání odlesků probíhá pomocí rychlosti, která by byla nutná pro přesun mezi dvěma následujícími body, a úhlu mezi třemi po sobě jdoucími body. Odlesky se obvykle vyznačují vysokou rychlostí, která by byla nutná pro přesun subjektu mezi dvěma po sobě následujícími body, a úhlem blízkým 180°, který svírají tři po sobě následující body. Takovýto úhel přitom není obvyklý pro běžný pohyb potkana, který se pohybuje povětšinou po lineární trajektorii či trajektorii lineární se blížíci. CM Manager jako odlesky označí body, které se vyznačují kombinací rychlosti a úhlu, jež není v záznamu bez odlesků běžná. Navíc jako odlesky označí datové body, které mají

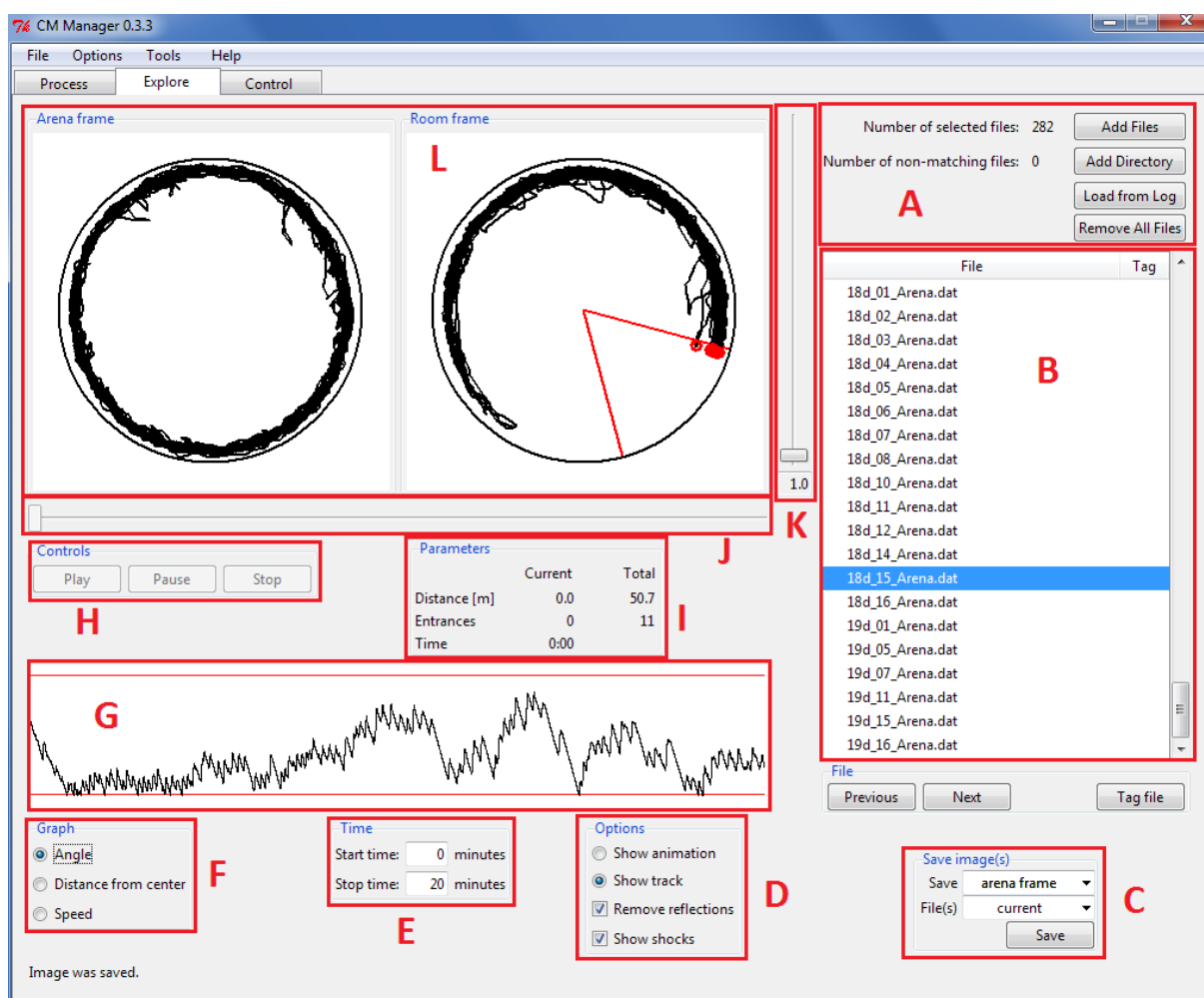
koordináty shodné s více body, jež byly označené jako odlesky pomocí předchozího způsobu. Automatické odstraňování odlesků lze využít i při prohlížení záznamů a výpočtu parametrů. Body označené jako odlesky jsou při automatickém odstraňování odlesků nahrazeny lineární aproximací pomocí předchozí a následné dostupné pozice. Výsledek odstraňování odlesků lze pozorovat v kontrole záznamů či prohlížení záznamů (viz obrázek 11). Automatické odstraňování odlesků nemá žádný vliv, pokud CM Manager nenalezne žádné odlesky. Protože automatické odstranění odlesků nemusí odhalit všechny datové body se zaznamenanými odlesky, lze odstraňovat odlesky také manuálně v rámci kontroly záznamů. Manuálně odstraněné odlesky se projeví i v dalších částech programu (např. při analýze parametrů). Manuálně odstraněné odlesky lze také uložit spolu s uložením vybraných souborů a znovu je načíst při další práci s těmito soubory.

Kontrola záznamů také umožňuje označování souborů. Označování může sloužit například k selekci souborů, které jsou poškozené (neodstranitelné odlesky, příliš mnoho špatných bodů atd.), k výběru souborů pro zvláštní zpracování atd. Značky se u souborů zobrazují a lze podle nich soubory řadit. Značky lze přidávat k souborům i v dalších částech programu, kde se také zobrazují, a lze je uložit společně s vybranými soubory.



Obrázek 11: Ukázka záznamu sezení s odlesky (vlevo) a záznamu stejného sezení po automatickém odstranění odlesků pomocí CM Manageru (vpravo). Odlesky mohou zkreslovat některé parametry – např. celkovou vzdálenost, cirkulární průměr, výskyt v trestaném sektoru atd.

Prohlížení záznamů

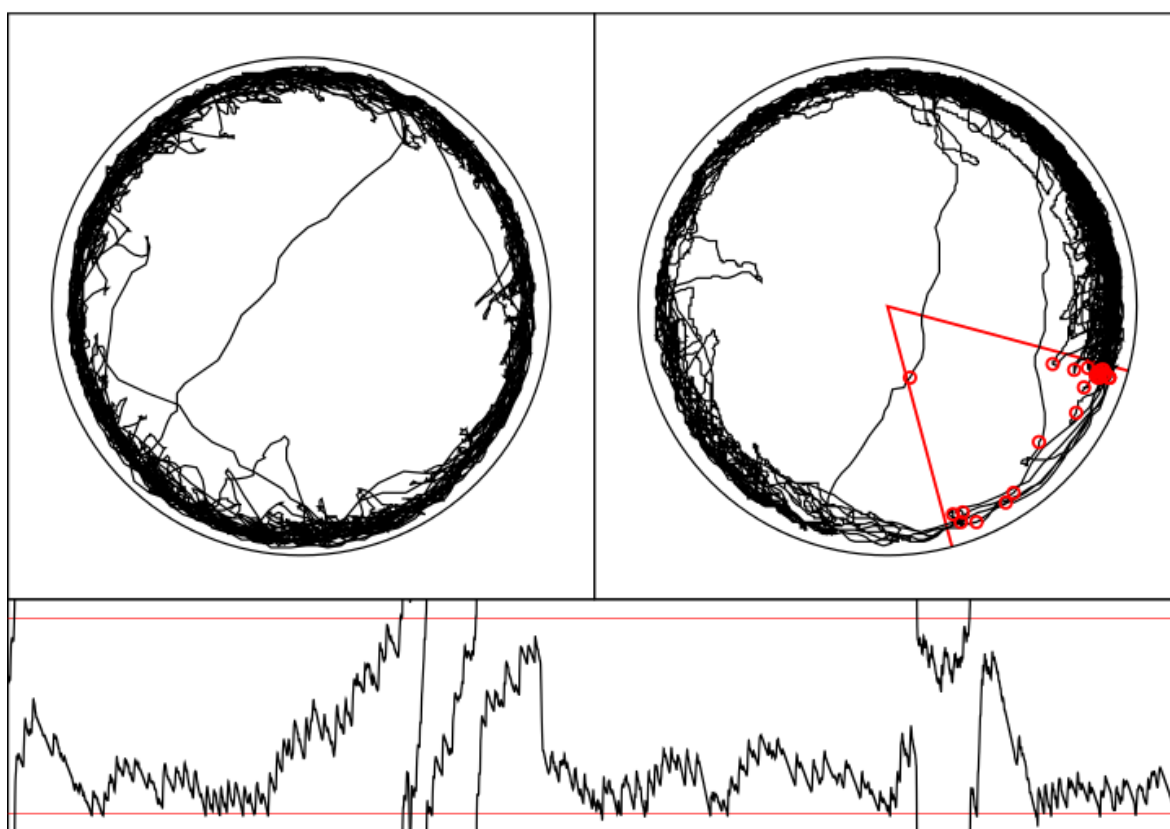


Obrázek 12: Prohlížení záznamů. **A)** Načítání souborů do skladu souborů. **B)** Obsah skladu souborů a výběr zobrazovaného souboru. **C)** Ukládání obrázků. **D)** Možnost přepínání mezi animací a zobrazením záznamu dráhy. Nastavení zobrazení šoků a odstraňování odlesků. **E)** Časový interval záznamu, který má být zobrazen. **F)** Výběr zobrazeného grafu (možnosti: úhel vůči trestanému sektoru, rychlost, vzdálenost od středu arény). **G)** Vybraný graf. **H)** Spouštění, pozastavování a zastavování animace. **I)** Celková dráha a počet vstupů do trestaného sektoru v daném sezení. V případě animace také kumulativní dráha v zobrazený čas, kumulativní počet vstupů a aktuální čas animace. **J)** Posouvání času v případě animace. **K)** Nastavení rychlosti animace. **L)** Zobrazení záznamu dráhy či aktuální polohy potkana v případě animace (rámeček arény i místnosti). *Poznámka:* V prohlížení záznamu je načten souboru ze sezení potkana č. 15 ve třetí den fáze za tmy, které je zmíněno v části Vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na vyhýbání se v úloze AAPA.

Další z částí CM Manageru je prohlížení záznamů (obrázek 12), v němž lze sledovat záznamy celých sezení nebo pouštět animaci sezení. Ve stejném okně je také zobrazen jeden ze tří možných grafů zobrazující vývoj určitého ukazatele v čase – úhlu vůči trestanému sektoru, rychlosti nebo vzdálenosti od středu arény. U tohoto grafu lze také zobrazit čas šoků, vstupů do trestaného sektoru, intervaly thigmotaxe atd. Pomocí těchto nástrojů lze vymýšlet hypotézy, kontrolovat data, sledovat vývoj chování subjektu v průběhu sezení apod. Animaci je možné pouštět v různých rychlostech, což dává možnost zrychleného

shlédnutí celého sezení. U prohlížení záznamů lze nastavit odstraňování odlesků, zobrazování pozic šoků a je možné přidávat k souborům značky.

Kromě prohlížení záznamů lze v této části CM Manageru ukládat obrázky drah v rámci arény, místnosti, v obou rámcích, obrázky grafů či obrázky grafů spolu s drahami v obou rámcích (ukázka takového obrázku je na obrázku 13). Obrázky lze ukládat ve vektorovém formátu SVG, který lze snadno dále upravovat, je možné ho spustit v moderních internetových prohlížečích a je vhodný pro tvorbu obrázků do publikací. Ukládat obrázky lze buď z aktuálního souboru či ze všech souborů ve skladu souborů.

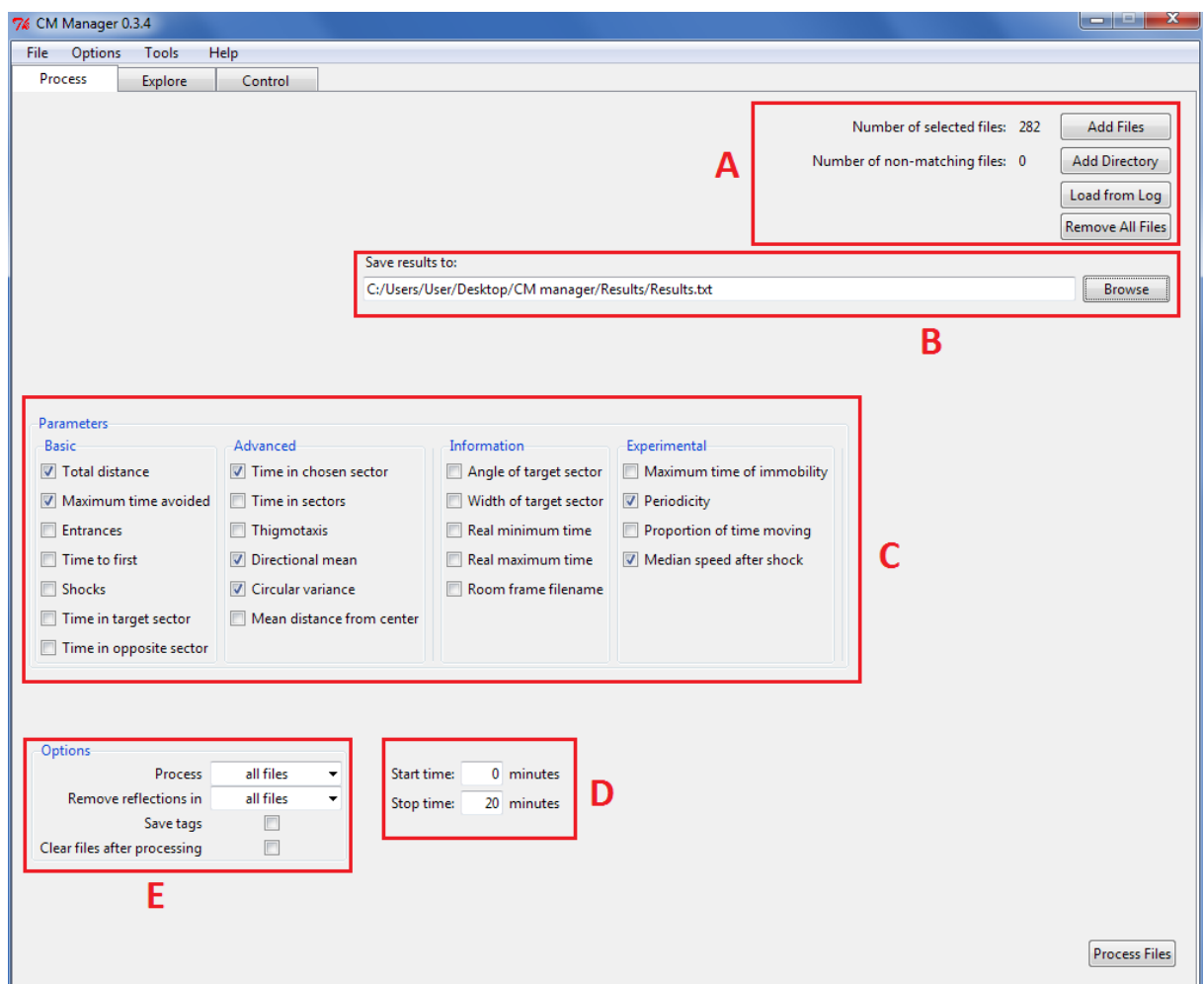


Obrázek 13: Ukázka obrázku vytvořeného pomocí CM Manageru. Dráha v rámci arény vlevo, v rámci místnosti vpravo a graf úhlu pozice potkana vzhledem ke středu trestaného sektoru v průběhu sezení dole. *Poznámka:* Obrázek je vytvořen ze sezení potkana č. 15 ve čtvrtý den fáze za tmy, které je zmíněno v části Vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na vyhýbání se v úloze AAPA.

Výpočet parametrů

Výpočet parametrů je základní funkcí CM Manageru (obrázek 14). Slouží k zpracování dat z výzkumu pro další statistickou analýzu. V CM Manageru je možné vybrat z mnoha různých parametrů, a to jak již dříve používaných, tak zcela nových. Některé z těchto parametrů byly již stručně popsány v části Vliv proměnlivé rychlosti rotace arény na vyhýbání se v úloze AAPA. Výsledky jsou ukládány do vybraného souboru ve formátu CSV nebo TXT. Výsledky

jsou uloženy v podobě vhodné pro další analýzu – jako tabulka, kde každá řádka odpovídá jednomu souboru, a ve sloupcích jsou jednotlivé parametry. V nastavení lze zvolit, jakým znakem budou hodnoty od sebe oddělovány. V případě, že není vybrán žádný parametr pro výpočet, CM Manager nenačítá data ze souborů a uloží tak pouze názvy vybraných souborů. To může být vhodné pro rychlé vytvoření seznamu datových souborů. Před zpracováním lze nastavit, zda odstraňovat odlesky u všech souborů, pouze u označených souborů, neoznačených souborů či je neodstraňovat u žádných souborů. Podobným způsobem lze vybrat, zda počítat parametry u všech souborů, označených souborů nebo neoznačených souborů. Značky tak mohou sloužit ke snadnému výběru souborů pro výpočet parametrů.



Obrázek 14: Výpočet parametrů. A) Načítání souborů do skladu souborů. B) Cesta pro uložení výsledků. C) Výběr parametrů pro výpočet. D) Nastavení času, ze kterého se mají parametry počítat. E) Nastavení odstraňování odlesků, ukládání značek a souborů, které mají být zpracovány.

Pokud z nějakého důvodu nelze vypočítat některý z parametrů, hodnota pro tento parametr je uložena jako „NA“. Stejně tak, pokud nelze načíst data z určitého souboru, hodnoty všech parametrů u tohoto souboru budou nabývat hodnot „NA“. Kromě toho

budou tyto případy uloženy v záznamu, který je automaticky uložen ve formátu TXT při každém výpočtu parametrů. V tomto záznamu jsou uloženy kromě chyb také verze CM Manageru, použité parametry a jejich nastavení, datum a čas zpracování, nastavený čas pro výpočet parametrů, soubor, ve kterém byly výsledky uloženy, v jakých souborech byly odstraňovány odlesky a seznam souborů, které byly zpracovávány spolu se značkou, pokud byly označeny. Záznam slouží k načítání souborů do skladu souborů a k umožnění budoucí reprodukce analýzy. Záznam tak může sloužit jako vhodný doplněk k výsledkům výpočtu parametrů v případě, že ty jsou zveřejněny.

Kromě parametrů, které jsou standardně v programu dostupné, lze snadno definovat v CM Manageru vlastní parametry. K vytvoření vlastního parametru stačí vložit soubor s kódem do jedné ze složek, které jsou s CM Managerem standardně distribuované. V této složce je také dostupný ukázkový soubor s kódem spolu s postupem, jak vytvořit vlastní parametr. Parametr se následně automaticky načte při dalším spuštění programu a lze ho využít při zpracování dat. Tato funkce CM Manageru je výrazně usnadněna open source distribucí CM Manageru a zvoleným programovacím jazykem.

Parametry jsou v CM Manageru děleny do čtyř kategorií. Základní parametry jsou standardní parametry, se kterými se lze běžně setkat v publikacích využívajících úlohu AAPA. Pokročilé parametry jsou nové parametry nebo parametry, které nejsou v publikacích běžné. Informativní parametry se netýkají chování subjektu, ale dávají pouze informaci o nastavení trestaného sektoru či začátku a konci načtených dat. Experimentální parametry jsou nové parametry, které jsou výrazně závislé na nastavení a jsou často vhodné pouze pro specifické výzkumné otázky. Všechny parametry počítané CM Managerem jsou popsány dále.

Základní parametry

Celková vzdálenost je počítána jako součet vzdáleností mezi datovými body, které jsou od sebe vzdálené nastavitelný počet datových bodů. Přednastavený počet bodů je 25, což znamená, že při vzorkovací frekvenci 25 Hz je celková vzdálenost dána jako součet vzdáleností 1 s od sebe vzdálených datových bodů. Kromě toho, že lze nastavit vzdálenost datových bodů, ze kterých má být celková vzdálenost počítána, je také možné nastavit minimální vzdálenost v pixelech, kterou musí subjekt urazit, aby tato vzdálenost byla do součtu započítána. Přednastavená minimální vzdálenost je 0 pixelů. Obě tyto možnosti

nastavení dovolují odfiltrovat z vypočítaného parametru šum a nepřesnosti způsobené třesem, drobnými pohyby, pohyby ocasu potkana, lehkými odchylkami v osvětlení atd.

Maximální čas vyhýbání se vyjadřuje maximální dobu intervalu, který byl subjekt schopen vyhýbat se trestanému sektoru. Tento interval začíná začátkem nastaveného času nebo okamžikem, kdy se subjekt přemístí mimo trestaný sektor a končí koncem nastaveného času nebo začátkem šoku. Jelikož interval nekončí výskytem v trestaném sektoru, ale šokem, není jako konec intervalu započítán vstup do trestaného sektoru kratší, než byla nastavená latence vstupu. Pokud subjekt neobdrží žádný šok, jeho maximální čas vyhýbání se je roven rozdílu mezi nastaveným koncem a začátkem. Tento výpočet se liší od výpočtu, jenž využívá software Track Analysis, který začátek a konec intervalu vyhýbání se v tomto případě počítá z dat. Výhodou postupu použitého v CM Manager je, že každý subjekt, který neobdržel žádný šok, má stejnou hodnotu maximálního času vyhýbání se, což není pravda u Track Analysis. To je vhodné například při využití statistických postupů pracujících s pořadím hodnot (např. Spearmanův korelační koeficient, Wilcoxonův test atd.). Nevýhodou tohoto postupu je, že při chybném nastavení konce trvání sezení může vést výpočet k výraznému nadhodnocení maximálního času vyhýbání se. Kromě tohoto rozdílu mezi CM Managerem a Track Analysis je vhodné zmínit další rozdíl ve výpočtu tohoto parametru. Track Analysis počítá maximální čas vyhýbání se jako maximální dobu intervalu mezi dvěma následujícími vstupy do trestaného sektoru. To znamená, že pokud tento interval například začíná minutovým výskytem subjektu v trestaném sektoru, maximální čas vyhýbání se bude o minutu nadhodnocen. Tento výpočet nemá logické opodstatnění a v určitých případech může vést k zavádějícím výsledkům.

Počet vstupů a počet šoků ukazují celkové množství šoků během vybraného časového intervalu. Rozdíl mezi parametry je v tom, že počet vstupů započítá v rámci každého vstupu do trestaného sektoru pouze jeden šok. Další šok je započítán u počtu vstupů až pokud subjekt mezi tímto a předchozím šokem opustil trestaný sektor na dobu delší než je nastavená refrakterní perioda. V rámci počtu šoků je započítán každý šok.

Čas do prvního vstupu je počítán jako doba od nastaveného začátku vybraného časového intervalu do prvního šoku. Podobně jako u maximálního času vyhýbání se je v případě absence šoku čas do prvního šoku počítán z nastaveného konce vybraného časového

intervalu, a nikoli z koncového času zjištěného z dat. Důsledkem jsou stejné výhody a nevýhody jako u maximálního času vyhýbání se.

Čas v trestaném sektoru a čas v opačném sektoru ukazují podíl času, který subjekt strávil v trestaném sektoru, respektive v sektoru na opačné straně arény o stejné šířce jako má trestaný sektor. Na rozdíl od času do prvního vstupu a maximálního času vyhýbání se tyto parametry nejsou citlivé k chybnému nastavení konce vybraného časového intervalu (tj. podíl je závislý pouze na dostupných datech náležejících do vybraného časového intervalu).

Pokročilé parametry

Čas ve vybraném sektoru ukazuje podíl času, který subjekt strávil ve vybraném sektoru. Sektor lze vybrat v nastavení a jeho střed je specifikován úhlem relativně ke středu trestaného sektoru (proti směru hodinových ručiček). Kromě úhlu sektoru lze zvolit i jeho šíři. Tento parametr může sloužit například k hodnocení času v sousedním sektoru, jak ho bylo využito v experimentu popsáném v této práci.

Čas v sektorech vypočítá podíl času stráveného ve všech sektorech o nastavitelné šířce. Přednastavená šířka sektorů je rovná šířce trestaného sektoru. Počet sektorů je roven $360 /$ šířka sektoru (zaokrouhлено nahoru). Pokud není šířka sektorů dělitelem 360, poslední ze sektorů ukazuje podíl času stráveného v sektoru, jehož šířka je dána dopočtem součtu šířek ostatních sektorů do 360. První sektor má střed vždy ve středu trestaného sektoru a následující sektory jsou uloženy po směru hodinových ručiček od prvního sektoru.

Thigmotaxe značí podíl času stráveného v mezikruží o nastavitelné šířce, jehož vnější hranici tvoří okraj arény.

Cirkulární průměr je počítán jako (Gaile & Burt, 1980):

$$\bar{X}_0 = \arctan \frac{\sum_{i=1}^n \sin \theta_i}{\sum_{i=1}^n \cos \theta_i}$$

Úhel θ je úhel pozice subjektu vůči středu arény s využitím standardního úhlového značení, kde bod (1, 0) odpovídá 0° při použití středu arény jako počátku souřadnic, tj. bodu (0, 0). Cirkulární průměr si lze představit jako směr vektoru vzniklým součtem jednotkových vektorů se směry určenými pozicemi potkana.

Cirkulární variance je počítána jako (Gaile & Burt, 1980):

$$S_0 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \cos(\theta_i - \bar{X}_0)}{n}$$

Interpretace úhlu θ a úhlu \bar{X}_0 je stejná jako u popisu cirkulárního průměru výše. Cirkulární variance ukazuje na rozptýlení směrů pozic subjektu vůči středu. Nabývá hodnot od 0 do 1, kde 0 vychází v případě, že subjekt je v celý vybraný interval v jednom směru vůči středu, a 1 vychází v případě, že směry vektorů jsou si sobě navzájem dokonale oponující. Cirkulární varianci si lze představit lépe jako délku vektoru vzniklého součtem jednotkových vektorů pozic subjektu vůči středu vydělenou počtem těchto jednotkových vektorů (tj. počtem pozic či jinak také počtem datových bodů) a odečtenou od jedné.

Průměrná vzdálenost od středu je počítána jako průměr vzdáleností pozic subjektu od středu arény. Tento parametr ukazuje na podobný konstrukt jako thigmotaxe, ale na rozdíl od thigmotaxe není tento parametr závislý na nastavení šíře mezikruží.

Informativní parametry

Úhel trestaného sektoru a **šíře trestaného sektoru** vrátí hodnoty odpovídající svému názvu. Úhel trestaného sektoru je počítán podobně jako bylo popsáno u cirkulárního průměru.

Reálný minimální čas a **reálný maximální čas** vrátí čas prvního a posledního načteného datového bodu v milisekundách. Reálný minimální čas nemusí odpovídat prvnímu datovému bodu v souboru, neboť tento může být z načtených dat odstraněn, pokud neobsahuje pozici subjektu.

Experimentální parametry

Maximální čas imobility je počítán jako doba maximálního intervalu během něhož rychlost potkana nepřekročila určitou hodnotu. Přednastavená hodnota je 10 cm/s a je počítána jako průměr z dvou rychlostí pro následující intervaly překračující 12 datových bodů. Při vzorkovací frekvenci 25 Hz to tedy znamená, že tato rychlost je počítána jako průměr ze dvou rychlostí počítaných z krajních datových bodů 480 sekundových intervalů.

Periodicita pohybu značí mediánovou délku intervalu mezi dvěma následujícími časy, ve kterých se subjekt pohyboval větší rychlostí než 10 cm/s. Tato rychlost je přitom počítána stejně jako u maximálního času imobility. Interval, z nichž je medián počítán, musí být

alespoň 9 s dlouhé, jinak nejsou do mediánu započítány. Periodicita pohybu vrátí hodnotu „NA“ pokud nejsou takové intervaly alespoň dva. Jelikož je periodicita pohybu silně závislá na nastavené rychlosti a minimálním času intervalu, vyžaduje interpretovatelnost tohoto parametru nekontinuální pohyb o rychlosti větší než minimální. Tento předpoklad není často splněn při prvních sezení úlohy, a tak má tento parametr smysl pouze u pozdějších sezení, kdy vyhýbání se subjektu splňuje požadované předpoklady. Periodicita pohybu může také vést k zavádějícím závěrům, pokud se potkan nepohybuje proti směru otáčení arény, a není využitelná v některých variantách úlohy – např. při úloze se sběrem potravy.

Čas pohybu je počítán jako podíl času, ve kterém rychlost subjektu překračovala 5 cm/s, přičemž rychlost je opět počítána způsobem stejným jako u maximálního času imobility.

Mediánová rychlost po šoku je vypočítána jako medián úhlů, které svírají pozice v poslední okamžik šoku a 25 datových bodů po šoku (při vzorkovací frekvenci 25 Hz tedy po 1 s). Šoky, které jsou zahrnuty do výpočtu musí být stejný počet datových bodů vzdálené od předchozího šoku. To znamená, že při dalším výskytu v trestaném sektoru se do tohoto parametru započítá obvykle pouze rychlost úniku z trestaného sektoru pro poslední šok. Úhly jsou počítány ve vztahu ke středu arény a kladný úhel značí pohyb proti směru hodinových ručiček. Úhly mohou nabývat hodnot od -180° do 180° . CM Manager nerozpoznává přesný pohyb subjektu, ale počítá úhel pouze z výsledné pozice. Tj. pohyb o $+270^\circ$ bude počítán jako pohyb o -90° ²⁶. Tento fakt nutně omezuje využitelnost tohoto parametru pro případy, kdy je rozumný předpoklad, že se subjekt pohybuje méně než o 180° během sledovaného intervalu úniku. Pokud subjekt neobdržel v průběhu vybraného časového intervalu žádný šok, mediánová rychlost po šoku vrátí výsledek „NA“. Mediánová rychlost po šoku může být nereliabilní v případech, kdy subjekt obdrží v průběhu sezení malý počet šoků.

Využití programu

CM Manager je specifický integrováním kontroly záznamů, jejich prohlížení a výpočtu parametrů. Tato integrace dovoluje snadno pozorovat chyby v záznamech a umožňuje znalost těchto chyb využít při výpočtu parametrů a případné opravě dat. Důležitým aspektem CM Manageru je transparentnost veškerých výpočtů a postupů v něm použitých.

²⁶ Pokud se nicméně pohybuje subjekt po okraji arény, jak je velmi časté, pohyb o 180° na aréně o průměru 82 cm během 1 s by vyžadoval rychlost 129 cm/s, která je výjimečná.

Ta je umožněna veřejnou dostupností zdrojového kódu, která je v rámci podobného typu softwaru vzácná. Transparentnosti napomáhá také již zmíněné integrování prohlížení dat a výpočtu parametrů. Mnoho parametrů lze snadno vyčíst přímo z grafu v části prohlížení záznamů, a tak lze snadno posoudit jejich význam.

Transparentnost pomáhá také reprodukovatelnosti výsledků analýzy. Ta je přitom dále podpořena v CM Manageru pomocí záznamů analýzy automaticky vytvářených při každém výpočtu parametrů. V záznamu je kromě verze CM Manageru uvedeno také nastavení použitých parametrů a informace o odstraňování odlesků, a tak záznam obsahuje všechny informace, které jsou potřeba k reprodukci analýzy dat²⁷. Spolu se statistickým softwarem, který umožňuje snadnou reprodukovatelnost statistické analýzy dat (jako je například open source software R; R Development Core Team, 2011), lze tedy za pomoci CM Manageru docílit transparentnosti a reprodukovatelnosti celého procesu analýzy, pokud se k publikaci spolu s daty přiloží záznam výpočtu parametrů z CM Manageru a R skript obsahující postup statistické analýzy.

Další výhodou, která je dána open source povahou CM Manageru je jeho snadné přizpůsobení specifickým požadavkům konkrétní analýzy. Toto přizpůsobení je dále usnadněno možností tvorby vlastních parametrů mimo zdrojový kód samotného programu. CM Manager tak lze snadno rozšířit o vlastní požadovanou funkcionalitu.

Jelikož kolotočové bludiště není stále široce rozšířenou metodou studia chování u zvířat, softwarová podpora této behaviorální metody není rozsáhlá. Ačkoli tedy existují zdarma dostupné programy pro analýzu dat z behaviorálních úloh (např. Crispim et al., 2012), podobně rozsáhlý program pro analýzu dat z kolotočového bludiště neexistuje. CM Manager je také analýze dat z kolotočového bludiště přizpůsoben. Například párování souborů z rámců arény a místnosti umožňuje nejen snadnější orientaci ve výsledcích z výpočtu parametrů, ale také dovoluje najednou sledovat pohyb v rámci arény a místnosti pomocí animace, sledovat záznamy z obou rámců či ukládat obrázky vytvořené pro oba rámce.

²⁷ Jedinou výjimku tvoří manuálně odstraněné odlesky, které v záznamu nejsou uloženy. Určitá forma ukládání manuálně odstraněných odlesků je plánována v příštích verzích programu.

Budoucí vývoj

Ačkoli je současná verze CM Manageru funkční, některé možné funkce zatím chybí. V této části jsou tedy popsány některé změny, které lze očekávat v rámci budoucího vývoje programu.

Z menších změn je plánováno do příštích verzí přidání dalších parametrů a umožnění specifikace vlastností obrázků při jejich ukládání. V plánu je také umožnit ukládání komentářů k souborům a vytvořit nástroj pro shlukování dat stejného subjektu, který by usnadňoval další statistickou analýzu.

Nejpodstatnějším omezením současné verze CM Manageru je jeho závislost na datech ve formátu výstupu z programů iTrack a Tracker. Ačkoli v jiných programech zaznamenávajících pozici subjektu není standardně implementována podpora kolotočového bludiště, je možné, že takový program se v budoucnu objeví. Z tohoto důvodu je plánováno umožnění jiných formátů vstupních souborů, než jsou nyní podporovány. Za tímto účelem bude vytvořena specifikace formátu, který bude podporován a z nějž bude možné načítat data. Dále je plánována podpora vnějšího kódu, který umožní transformovat data z jiného formátu do formátu specifikovaného. CM Manager tak bude možné jednoduše použít i s jinými programy pro zaznamenávání pozice zvířete.

Kromě kolotočového bludiště existují jiné behaviorální úlohy, které mají data v obdobné podobě. Dvěma hlavními příklady jsou open-field test a Morrisovo vodní bludiště. V budoucích verzích je tedy plánována podpora těchto dvou úloh. V rámci kolotočového bludiště zatím nejsou implementovány funkce pro analýzu a prohlížení úlohy typu dvojitého vyhýbání (*Room+Arena+*), které jsou také plánovány.

CM Manager je zatím ve fázi testování, a tak lze v budoucnu očekávat odstranění chyb, které se mohly v programu objevit. Některé využití algoritmy nejsou efektivní, a tak lze také očekávat změnu vybraných algoritmů a s ní spjaté zrychlení některých funkcí programu. Nakonec je také plánováno vytvoření nápovědy v programu, která umožní snadnou orientaci při práci s CM Managerem.

Závěr

Úloha AAPA se v mnoha výzkumech ukázala jako užitečný test animální kognice. Jako u každého jiného testu, i u této úlohy je klíčové vědět, co měří. Studie popsaná v této práci se

snažila k odpovědi na tuto otázku přispět pomocí zjištění vlivu stability rychlosti rotace arény na výkon a strategii vyhýbání se subjektů. Experimentální skupina s rychlostí rotace arény měnící se v průběhu sezení i mezi sezeními se dokázala naučit úlohu stejně rychle jako kontrolní skupina se stabilní rychlostí rotace arény. Stejně tak konečná schopnost vyhýbání se trestanému sektoru byla totožná u obou skupin. Jediný objevený rozdíl mezi oběma skupinami byl pozorován v cirkulárním průměru, který ukazuje preferovanou pozici subjektu vzhledem k trestanému sektoru. Potkani z experimentální skupiny se vyskytovali dále od trestaného sektoru z hlediska času potřebného k zanesení do trestaného sektoru rotací arény. Tento rozdíl mohl vycházet ze strategie naučené potkany v experimentální skupině, která vedla k delšímu časovému intervalu, během něhož byl potkan v bezpečí v případě, že se nepohyboval. Rozdíl v jiných měřítkách naznačujících použitou strategii potkanů nebyl pozorován. Ve fázi úlohy za tmy nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi oběma skupinami. Neukázalo se tedy, že by proměnlivá rychlost arény zhoršila schopnost vyhýbat se trestanému sektoru ve variantě úlohy, kde se subjekt musí vyhýbat trestanému sektoru pouze pomocí idiotetické orientace a případně časové percepce. Výsledky tedy celkově neukázaly rozdíly mezi oběma skupinami, které by vedly k závěru, že stabilita rychlosti otáčení arény je důležitá pro vyhýbání se nebo učení se vyhýbání trestanému sektoru. Nalezený rozdíl v cirkulárním průměru poukazuje na to, že potkani dokážou kompenzovat zvýšenou obtížnost úlohy danou proměnlivou rychlostí rotace arény pomocí změny preferované pozice v rámci místnosti. To, že se potkani neučí vyhýbat trestanému sektoru využitím idiotetické orientace a intervalového časování naznačuje také, že se i přes dlouhé učení úloze za světla nedokázaly naučit vyhýbat trestanému sektoru za tmy. Schopnost vyhýbat se trestanému sektoru se navíc nezlepšovala v průběhu fáze za tmy, což dále naznačuje, že idiotetická orientace nehraje v úloze důležitou roli.

Jednou z výhod úlohy AAPA je její flexibilita při tvorbě různých odvozených variant za účelem tázání specifických výzkumných otázek. Tuto flexibilitu umožňuje mimo jiné široké spektrum různých parametrů, které mohou naznačovat poruchy lokomoce, hyperaktivitu, schopnost orientace v prostoru, učení v rámci sezení a mezi sezeními, naučení se procedurálním aspektům úlohy, motivaci vyhýbání se apod. Výběr vhodných parametrů je značně usnadněn programem, který umožňuje snadné definování vlastních parametrů, což je jeden z účelů zde popsaného programu CM Manager. CM Manager také slouží k integrování

kontroly a zpracování dat, která usnadňuje zjištění problému s daty před samotnou statistickou analýzou, a tak vede k větší spolehlivosti výsledků analýzy. V posledních letech je kladen stále větší důraz na transparentnost analýzy a celého výzkumného procesu a reprodukovatelnost analytických postupů. CM Manager je vytvořen v souladu s těmito cíly a lze ho snadno zařadit do transparentního a reprodukovatelného výzkumného procesu. Za tímto účelem je také jeho zdrojový kód volně dostupný, a tak lze snadno zkontrolovat jeho správnost. Spolu s popsanou studií tento program slouží ke stávajícímu a budoucímu rozšiřování poznatků o prostorové orientaci a prostorovém učení u zvířat, jejichž další uplatnění může vést mimo jiné k různým biologickým a medicínským aplikacím.

Reference

- Abdel Baki, S. G., Kao, H.-Y., Kelemen, E., Fenton, A. A., & Bergold, P. J. (2009). A hierarchy of neurobehavioral tasks discriminates between mild and moderate brain injury in rats. *Brain Research, 1280*, 98-106.
- Agostino, P. V., do Nascimento, N., Bussi, I. L., Eguía, M. C., & Golombek, D. A. (2011). Circadian modulation of interval timing in mice. *Brain Research, 1370*, 154-163.
- Balci, F., Meck, W. H., Moore, H., & Brunner, D. (2009). Timing deficits in aging and neuropathology. In J. L. Bizon & A. Wood (Eds.). *Animal models of human cognitive aging* (pp. 161–201). Totowa, NJ: Humana Press.
- Bird, C. M., & Burgess, N. (2008). The hippocampus and memory: Insights from spatial processing. *Nature Reviews Neuroscience, 9*, 182-194.
- Blahna, K., Svoboda, J., Telensky, P., & Klement, D. (2011). Inertial stimuli generated by arena rotation are important for acquisition of the active place avoidance task. *Behavioural Brain Research, 216*, 207-213.
- Borsboom, D., Mellenberg, G. J., & van Heerden, J. (2004). The Concept of Validity. *Psychological Review, 111*, 1061-1071.
- Bubenikova-Valesova, V., Stuchlik, A., Svoboda, J., Bures, J., & Vales, K. (2008). Risperidone and ritaserin but not haloperidol block effect of dizocilpine on the active allothetic place avoidance task. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105*, 1061-1066.
- Bubenikova-Valesova, V., Svoboda, J., Horacek, J., & Vales, K. (2009). The effect of a full agonist/antagonist of the D₁ receptor on locomotor activity, sensorimotor gating and cognitive function in dizocilpine-treated rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology, 12*, 873-883.
- Buhusi, C. V., & Meck, W. H. (2005). What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nature Reviews Neuroscience, 6*, 755-65.
- Buhusi, C. V., & Meck, W. H. (2009). Relativity theory and time perception: Single or multiple clocks? *PLoS ONE, 4*, e6268.
- Bures, J., Fenton, A. A., Kaminsky, Yu., Rossier, J., Sacchetti, B., & Zinyuk, L. (1997). Dissociation of exteroceptive and idiothetic orientation cues: Effect on hippocampal place cells and place navigation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, 352*, 1515-1524.
- Bures, J., Fenton, A. A., Kaminsky, Yu., Wesierska, M., & Zahalka, A. (1998). Rodent navigation after dissociation of the allocentric and idiothetic representations of space. *Neuropharmacology, 37*, 689-699.
- Burgess, N. (2006). Spatial memory: How egocentric and allocentric combine. *Trends in Cognitive Sciences, 10*, 551-557.
- Burgess, N., Maguire, E. A., & O'Keefe, J. (2002). The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron, 35*, 625-641.
- Burn, C. C. (2008). What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare. *Applied Animal Behaviour Science, 112*, 1-32.
- Button, K. S., Ioannidis, J. P. A., Mokrysz, C., Nosek, B. A., Flint, J., Robinson, E. S. J., & Munafò, M. R. (2013). Power failure: Why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience.*

- Carr, Z. J., Torjman, M. C., Manu, K., Dy, G., & Goldberg, M. E. (2011). Spatial memory using Active Allothetic Place Avoidance in adult rats after isoflurane anesthesia: A potential model for postoperative cognitive dysfunction. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, *23*, 138-145.
- Cimadevilla, J. M., Fenton, A. A., & Bures, J. (2001). New spatial cognition tests for mice: Passive place avoidance on stable and active place avoidance on rotating arenas. *Brain Research Bulletin*, *54*, 559-563.
- Cimadevilla, J. M., Kaminsky, Yu., Fenton, A. A., & Bures, J. (2000). Passive and active place avoidance as a tool of spatial memory research in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, *102*, 155-164.
- Cimadevilla, J. M., Wesierska, M., Fenton, A. A., & Bures, J. (2001). Inactivating one hippocampus impairs avoidance of a stable room-defined place during dissociation of arena cues from room cues by rotation of the arena. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*, 3531-3536.
- Cohen, J. (1992). A Power Primer. *Psychological Bulletin*, *112*, 155-159.
- Coull, J. T., Cheng, R.-K., & Meck, W. H. (2011). Neuroanatomical and neurochemical substrates of timing. *Neuropsychopharmacology*, *36*, 3-25.
- Crispim-Junior, C. F., Pederiva, C. N., Bose, R. C., Garcia, V. A., Lino-de-Oliveira, C., & Marino-Neto, J. (2012). ETHOWATCHER: Validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals. *Computers in Biology and Medicine*, *42*, 257-264.
- Dockery, C. A., & Wesierska, M. J. (2010). A spatial paradigm, the allothetic place avoidance alternation task, for testing visuospatial working memory and skill learning in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, *191*, 215-221.
- Doeller, C. F., Barry, C., & Burgess, N. (2010). Evidence for grid cells in a human memory network. *Nature*, *463*, 657-661.
- Dudchenko, P. A. (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *28*, 699-709.
- Entlerova, M., Bahník, S., Lobellova, V., Zemanova, A., Vales, K., & Stuchlik, A. (n.d.). *Between-strain comparison of Long-Evans and Wistar rats in sensitivity to central cholinergic blockade with higher doses of scopolamine: Differential effects in active place avoidance task and the Morris water maze*. Manuscript submitted for publication.
- Fenton, A. A., Lytton, W. W., Barry, J. M., Lenck-Santini, P.-P., Zinyuk, L. E., Kubík, Š., ... Olypher, A. V. (2010). Attention-like modulation of hippocampus place cell discharge. *Journal of Neuroscience*, *30*, 4613-4625.
- Fenton, A. A., Wesierska, M., Kaminsky, Yu., & Bures, J. (1998). Both here and there: Simultaneous expressions of autonomous spatial memories in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*, 11493-11498.
- Gaile, G. L., & Burt, J. E. (1980). Directional Statistics. In *Concepts and Techniques in Modern Geography*, No. 25. Geo Abstracts, Norwich.
- Garthe, A., Behr, J., & Kempermann, G. (2009). Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies. *PLoS ONE*, *4*, e5464.
- Gelman, A., & Stern, H. (2006). The difference between „significant“ and „not significant“ is not itself statistically significant. *The American Statistician*, *60*, 328-331.
- Hatalova, H., Grzyb, A. N., Bahník, S., Overall, R., Vales, K., Kempermann, G., ... Stuchlik, A. (n.d.). *Genetic and correlation analysis of the rat HXB/BXH recombinant inbred strains in spatial learning, spontaneous behavior and motor coordination*. Manuscript in preparation.

- Ince, D. C., Hatton, L., & Graham-Cumming, J. (2012). The case for open computer programs. *Nature*, *482*, 485-488.
- Kelemen, E., & Fenton, A. A. (2010). Dynamic Grouping of Hippocampal Neural Activity During Cognitive Control of two Spatial Frames. *PLoS Biology*, *8*, e1000403.
- Klement, D., Levčík, D., Dusková, L., & Nekovarova, T. (2010). Spatial task for rats testing position recognition of an object displayed on a computer screen. *Behavioural Brain Research*, *207*, 480-489.
- Kubík, Š., & Fenton, A. A. (2005). Behavioral evidence that segregation and representation are dissociable hippocampal functions. *Journal of Neuroscience*, *25*, 9205-9212.
- Kyriacou, C. P., & Hastings, M. H. (2010). Circadian clocks: Genes, sleep, and cognition. *Trends in Cognitive Sciences*, *14*, 259-267.
- Lund, U., & Agostinelli, C. (2013). *Package 'circular'*. Retrieved from The R Comprehensive Archive Network: <http://cran.r-project.org/web/packages/circular/index.html>
- Mauk, M. D., & Buonomano, D. V. (2004). The neural basis of temporal processing. *Annual Review of Neuroscience*, *27*, 307-40.
- McNaughton, B. L., Battaglia, F. P., Jensen, O., Moser, E. I., & Moser, M.-B. (2006). Path integration and the neural basis of the 'cognitive map'. *Nature Reviews Neuroscience*, *7*, 663-678.
- Mesirov, J. P. (2010). Accessible reproducible research. *Science*, *327*, 415-416.
- Morin, A., Urban, J., Adams, P. D., Foster, I., Sali, A., Baker, D., & Sliz, P. (2012). Shining Light into Black Boxes. *Science*, *336*, 159-160.
- Morris, R. G. M., Garrud, P., Rawlins, J. N. P., & O'Keefe, J. (1983). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, *297*, 681-683.
- Moser, E. I., Kropff, E., & Moser, M.-B. (2008). Place cells, grid cells, and the brain's spatial representational system. *Annual Reviews Neuroscience*, *31*, 69-89.
- Nieuwenhuis, S., Forstmann, B. U., & Wagenmakers, E.-J. (2011). Erroneous analyses of interactions in neuroscience: A problem of significance. *Nature Neuroscience*, *14*, 1105-1107.
- O'Carroll, C. M., Martin, S. J., Sandin, J., Frenguelli, B., & Morris, R. G. M. (2006). Dopaminergic modulation of the persistence of one-trial hippocampus-dependent memory. *Learning & Memory*, *13*, 760-769.
- Pastalkova, E., Serrano, P., Pinkhasova, D., Wallace, E., Fenton, A. A., & Sacktor, T. C. (2006). Storage of Spatial Information by the Maintenance Mechanism of LTP. *Science*, *313*, 1141-1144.
- Peng, R. D. (2011). Reproducible research in computational science. *Science*, *334*, 1226-1227.
- Petrásek, T., Prokopová, I., Bahník, S., Schönig, K., Berger, S., Vales, K., ... Stuchlík, A. (n.d.). *Nogo-A downregulation impairs place avoidance in the Carousel maze but not spatial memory in the Morris water maze*. Manuscript in preparation.
- Poldrack, R. A. (2006). Can cognitive processes be inferred from neuroimaging data? *Trends in Cognitive Sciences*, *10*, 59-63.
- Prokopová, I., Bahník, S., Doulames, V., Vales, K., Petrásek, T., Svoboda, J., & Stuchlík, A. (2012). Synergistic effects of dopamine D2-like receptor antagonist sulpiride and beta-blocker propranolol on learning in the Carousel maze, a dry-land spatial navigation task. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *102*, 151-156.
- R Development Core Team (2011). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- Rambousek, L., Bubenikova-Valesova, V., Kacer, P., Syslova, K., Kenney, J., Holubova, K., ... Vales, K. (2011). Cellular and behavioural effects of a new steroidal inhibitor of the N-methyl-D-aspartate receptor 3 α 5 β -pregnanolone glutamate. *Neuropharmacology*, *61*, 61-68.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *20*, 11-21.
- Simonsohn, U. (in press). Just post it: The lesson from two cases of fabricated data detected by statistics alone. *Psychological Science*.
- Steele, R. J., & Morris, R. G. M. (1999). Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. *Hippocampus*, *9*, 118-136.
- Stodden, V. (2009). Enabling reproducible research: Licensing for scientific innovation. *International Journal of Communications Law & Policy*, *13*, 1-25.
- Stuchlík, A. (2004). Úlohy aktivního a pasivního vyhýbání se místu: Slibné nástroje v kognitivních neurověděch. *Psychiatrie*, *8*, 15-18.
- Stuchlik, A., Petrasek, T., & Vales, K. (2008). Dopamine D2 receptors and alpha1-adrenoceptors synergistically modulate locomotion and behavior of rats in a place avoidance task. *Behavioural Brain Research*, *189*, 139-144.
- Stuchlik, A., Petrasek, T., Prokopova, I., Benkovicova, K., Hatalova, H., Kubik, S., ... Wesierska, M. (n.d.). *The Carousel Maze as a behavioral test of spatial learning and navigation: An overview of past and current research*. Manuscript in preparation.
- Stuchlik, A., Rezacova, L., Vales, K., Bubenikova, V., & Kubik, S. (2004). Application of a novel Active Allothetic Place Avoidance task (AAPA) in testing a pharmacological model of psychosis in rats: Comparison with the Morris Water Maze. *Neuroscience Letters*, *366*, 162-166.
- Stuchlik, A., & Vales, K. (2006). Effect of dopamine D1 receptor antagonist SCH23390 and D1 agonist A77636 on active allothetic place avoidance, a spatial cognition task. *Behavioural Brain Research*, *172*, 250-255.
- Stuchlik, A., & Vales, K. (2009). Baclofen dose-dependently disrupts learning in a place avoidance task requiring cognitive coordination. *Physiology & Behavior*, *97*, 507-511.
- Swanton, D. N., Gooch, C. M., & Matell, M. S. (2009). Averaging of Temporal Memories by Rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, *35*, 434-439.
- Vales, K., Bubenikova-Valesova, V., Klement, D., & Stuchlik, A. (2006). Analysis of sensitivity to MK-801 treatment in a novel active allothetic place avoidance task and in the working memory version of the Morris water maze reveals differences between Long-Evans and Wistar rats. *Neuroscience Research*, *55*, 383-388.
- Vales, K., Svoboda, J., Benkovicova, K., Bubenikova-Valesova, V., & Stuchlik, A. (2010). The difference in effect of mGlu2/3 and mGlu5 receptor agonists on cognitive impairment induced by MK-801. *European Journal of Pharmacology*, *639*, 91-98.
- van Strien, N. M., Cappaert, N. L. M., & Witter, M. P. (2009). The anatomy of memory: An interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*, 272-282.
- Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2006). Morris water maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, *1*, 848-858.

- Wallace, D. G., Marting, M. M., & Winter, S. S. (2008). Fractioning dead reckoning: Role of the compass, odometer, logbook, and home base establishment in spatial orientation. *Naturwissenschaften, 95*, 1011-1026.
- Wesierska, M., Adamska, I., & Malinowska, M. (2009). Retrosplenial cortex lesion affected segregation of spatial information in place avoidance task in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory, 91*, 41-49.
- Wesierska, M., Dockery, C., & Fenton, A. A. (2005). Beyond memory, navigation, and inhibition: Behavioral evidence for hippocampus-dependent cognitive coordination in the rat. *Journal of Neuroscience, 25*, 2413-2419.

Příloha

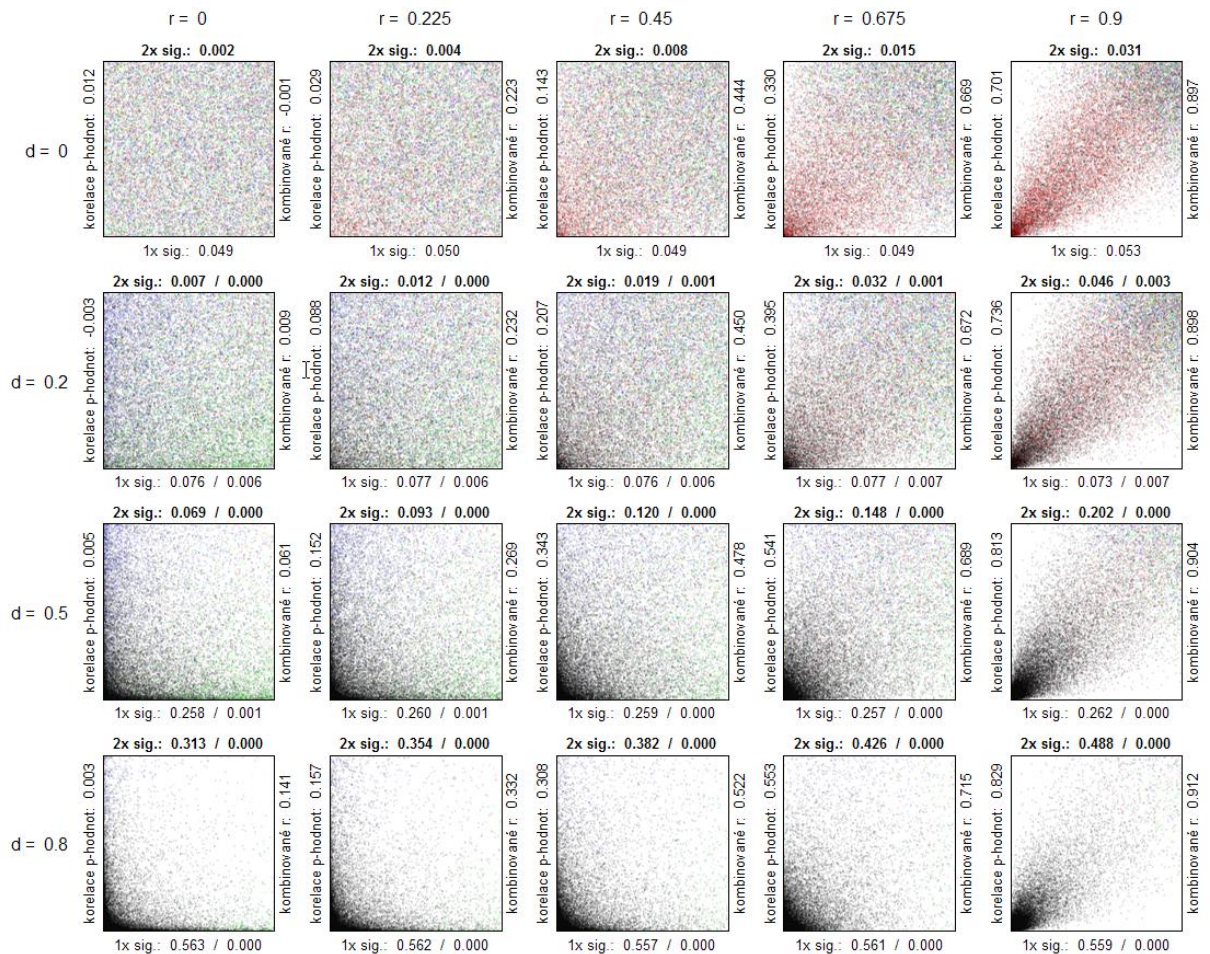
Simulace statistické analýzy korelovaných parametrů

V úloze AAPA lze porovnávat mnoho různých parametrů (viz část Carousel Maze Manager). Pro zhodnocení schopnosti vyhýbat se trestanému sektoru se nejčastěji používají maximální čas vyhýbání se a množství vstupů do trestaného sektoru. Oba tyto parametry spolu silně korelují. Ve výzkumu, který provedli Prokopova et al. (2012) spolu například tyto parametry – počítané jako průměr z třetího a čtvrtého dne – korelují se silou $-.92$. V jiných výzkumech síla korelace těchto parametrů nebývá popisována, což může zkreslovat vnímanou sílu důkazů pro rozdíl či absenci rozdílu mezi skupinami v experimentu. Je zřejmé, že tyto parametry na sobě nejsou nezávislé, a tak objevení rozdílu mezi skupinami v obou parametrech neodpovídá dvěma nezávislým důkazům o tomto rozdílu. V tomto kontextu je vhodné zmínit, že síla korelace mezi oběma parametry závisí na konkrétní studii. Při malé variabilitě výkonu pokusných subjektů lze například očekávat nižší korelaci obou parametrů, než při výpočtu korelace z dat pro subjekty, které se výkonem značně liší.

Pro zhodnocení vlivu korelace parametrů na výsledky statistické analýzy provedené s těmito parametry byla provedena simulace. V rámci ní bylo simulováno 20 tisíc datových souborů pro různé velikosti efektu měřené Cohenovým d^{28} a pro různé velikosti korelací mezi parametry. Simulovaný datový soubor obsahoval data 30 subjektů – 15 pro obě skupiny²⁹. Pro každý subjekt byla vytvořena data pro dva parametry z normovaného normálního rozložení. Korelace mezi parametry v rámci jedné skupiny byla nastavena na požadovanou úroveň. Se simulovanými daty byla provedena statistická analýza pomocí t-testu. Závislost zjištěných p-hodnot z obou testů byla zanesena do grafu a je zobrazena na obrázku 15. Na obrázku jsou dále zobrazeny pro každou kombinaci velikosti efektu a korelace mezi parametry: hodnoty korelace mezi p-hodnotami, podíl p-hodnot signifikantních na hladině významnosti $.05$, podíl datových souborů, u nichž byla statisticky signifikantní p-hodnota nalezena u obou parametrů, a nakonec korelace mezi parametry v případě, kdy je korelace počítána z dat obou skupin.

²⁸ Vybrané hodnoty Cohena d odpovídají postupně žádnému efektu ($d = 0$) a běžně udávaným hodnotám pro malý ($d = 0.2$), střední ($d = 0.5$) a velký ($d = 0.8$) efekt (viz např. Cohen, 1992).

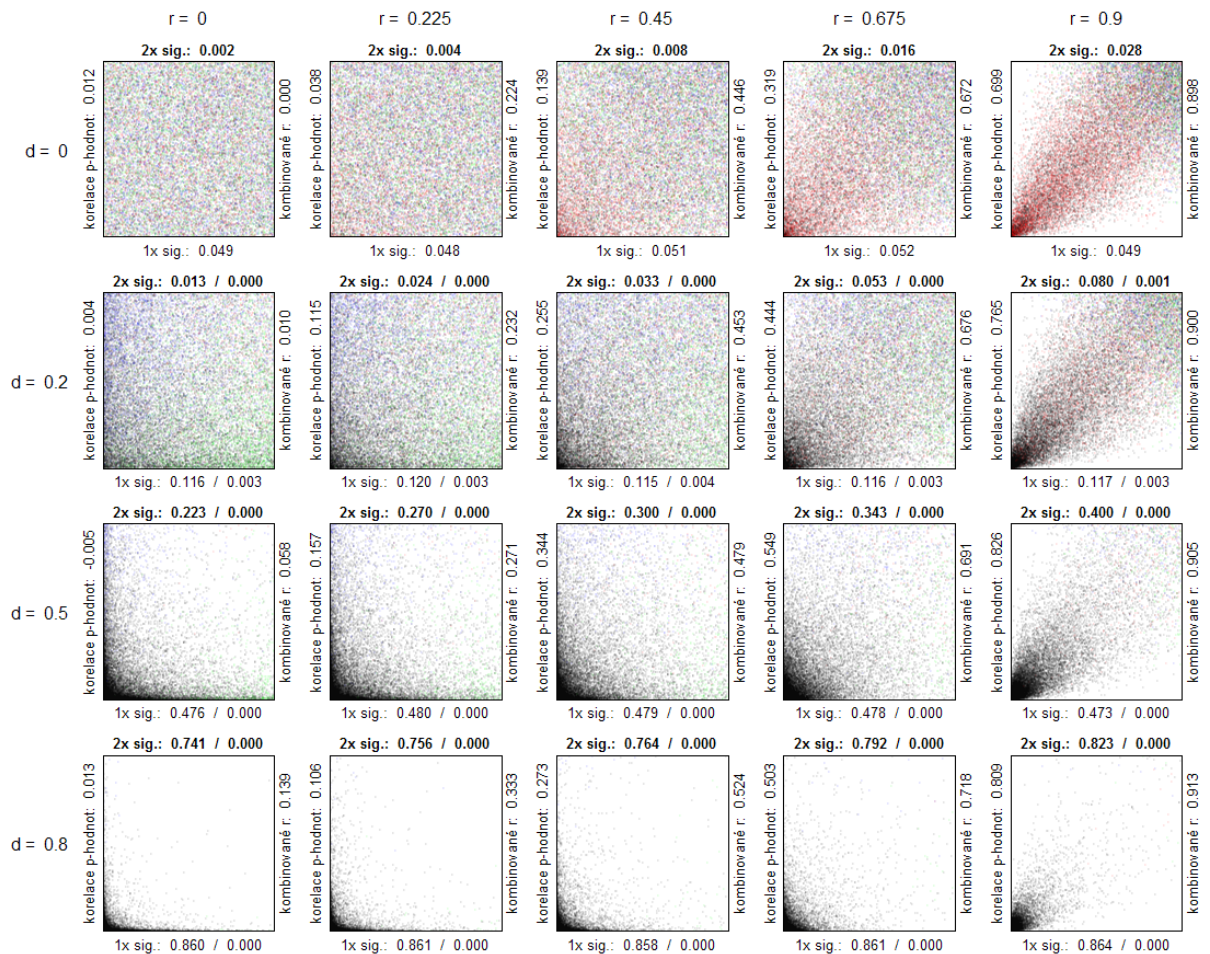
²⁹ Výsledky stejné simulace pro skupiny o 30 subjektech lze vidět na obrázku 16. Výsledky obou simulací se neliší ve svých závěrech. Jediným výraznějším rozdílem je vyšší síla testů a nižší pravděpodobnost výsledku v opačném směru než skutečném pro simulaci analýz s více subjekty.



Obrázek 15: Výsledek simulace analýzy provedené s dvěma korelovanými parametry. Grafy ukazují rozložení 20 tisíc kombinací p-hodnot získaných z dvou t-testů provedených pro analýzu dvou korelovaných parametrů. Na každé ose je zobrazena jedna p-hodnota a osy mají tedy rozsah od 0 do 1. Korelace parametrů se liší ve sloupcích a nabývá hodnot od 0 do .9. Velikost efektu je shodná u obou testů a roste po řádcích od $d = 0$ po $d = 0.8$. Popisek nad grafem ukazuje, v jakém podílu simulovaných analýz vycházely oba parametry signifikantně odlišně (při $\alpha = .05$) mezi skupinami ve stejném směru. V případě nulového efektu se tedy jedná o falešně pozitivní výsledek u obou parametrů. V případě nenulového efektu se jedná o objevení efektu ve správném směru u obou parametrů (před lomítkem) a o chybné objevení efektu v opačném směru u obou parametrů (za lomítkem). Popisek pod grafem ukazuje před lomítkem sílu testu a za lomítkem podíl testů se signifikantním výsledkem v opačném směru. Teoretické hodnoty tohoto ukazatele se v rámci každého řádku rovnají. V případě nezávislosti obou parametrů jsou teoretické hodnoty nad grafem rovny mocnině hodnot pod grafem, což lze přibližně vidět ve sloupci zcela nalevo. U nulového efektu se teoretická hodnota pod grafem rovná hladině významnosti a je vskutku vidět, že simulované hodnoty se blíží .05. Korelace p-hodnot z levé strany grafu ukazuje sílu korelace výsledných p-hodnot z analýzy obou parametrů. Na pravé straně grafu je vidět síla korelace parametrů počítaná z výsledků sloučených pro obě skupiny. Lze vidět, že nadhodnocení korelace parametrů dané tímto výpočtem roste se zvyšující se silou efektu. U nulového efektu teoretická hodnota této korelace odpovídá nastavené korelaci parametrů. Tečka má černou barvu, pokud vychází výsledek ve správném směru pro oba parametry, červenou barvu, pokud vychází v opačném směru pro oba parametry, zelenou barvu, pokud vychází v opačném směru pro parametr zobrazený na ose x, a modrou barvu, pokud vychází v opačném směru pro parametr zobrazený na ose y. U nulového efektu jsou černá a červená barva významově totožné (stejně tak modrá a zelená). Z obrázku lze (pokračování na další straně)

vidět, že při vysoké korelaci parametrů lze očekávat podobné p-hodnoty u obou testů. Podobný výsledek analýzy korelovaných parametrů tak nemůže příliš zvyšovat důvěru v nalezený efekt.

Výsledky simulace ukázaly, že v případě vysoké korelace mezi parametry lze očekávat velice podobné výsledky analýz obou parametrů. Například v případě korelace mezi parametry .9, která byla zjištěna ve výzkumu Prokopova et al. (2012), sahala korelace p-hodnot od .70 po .83 podle velikosti efektu. U velikosti efektu $d = 0.8$ pak pravděpodobnost, že výsledek u jednoho z parametrů bude signifikantní, pokud je signifikantní výsledek u druhého parametru, byla .87, což jasně ukazuje závislost výsledků obou analýz. U této síly korelace si lze také povšimnout, že analýza vede často k podobným závěrům pro oba parametry, i když žádný rozdíl mezi skupinami není. V případě nulového efektu tak analýza pro oba parametry vyjde signifikantní cca ve 3% případů, přičemž signifikantní výsledek u každého parametru lze očekávat s pravděpodobností odpovídající hladině významnosti, tj. .05. Podobně v případě malého efektu ($d = 0.2$) lze očekávat výsledek analýzy signifikantní v opačném než skutečném směru cca v 0.7% případů a výsledek obou analýz signifikantní v chybném směru v 0.3% případů. Při analýze dvou korelovaných parametrů je tedy nutné interpretovat výsledky se zřetelem na závislost výsledků obou analýz.



Obrázek 16: Výsledek simulace analýzy provedené s dvěma korelovanými parametry pro 30 subjektů v každé skupině. Pro význam grafů viz popisek obrázku 15. Závěry ze simulace pro 30 subjektů v každé skupině nejsou výrazně odlišné od závěrů analýzy pro polovinu subjektů. Z hodnot pravděpodobností odhalení efektu lze nicméně vidět, že analýza pro 30 subjektů v každé skupině má vyšší statistickou sílu a menší pravděpodobnost výsledků v opačném než skutečném směru.

Seznam použitých zkratek

Zkratka	Anglicky	Česky
AAPA	active allothetic place avoidance	aktivní alotetické vyhýbání se místu
ANOVA	analysis of variance	analýza variance
BN-Lx	Brown Norway with polydactyly-luxate	Brown Norway s polydaktylií a luxací
CM Manager	Carousel Maze Manager	Carousel Maze Manager
GABA	γ -aminobutyric acid	kyselina γ -aminomáselná
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartate	<i>N</i> -methyl-D-aspartát
rpm	rotations per minute	otáčky za minutu
SHR	Spontaneously hypertensive rat	spontánně hypertenzní potkan