

Elektrofyzilogické metody a studium chování a paměti

David Levčik

Oddělení Neurofyzilogie paměti

Fyzilogický ústav AV ČR, v.v.i.

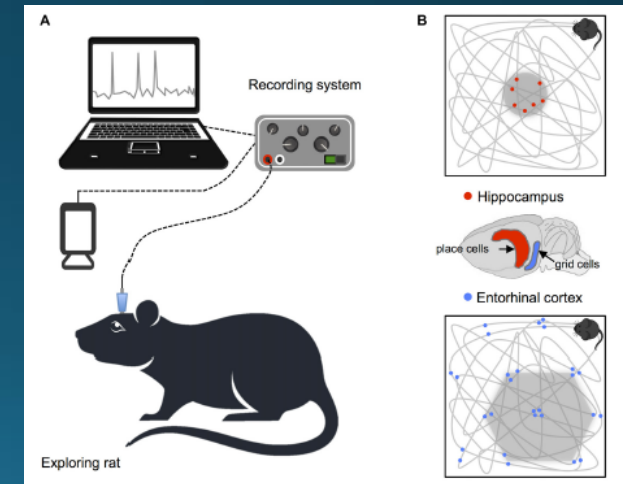
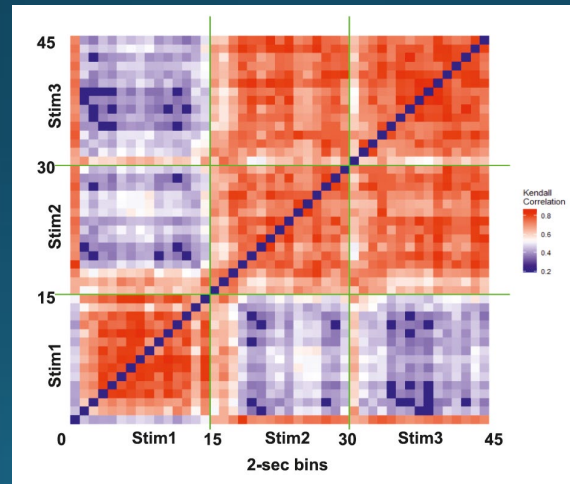
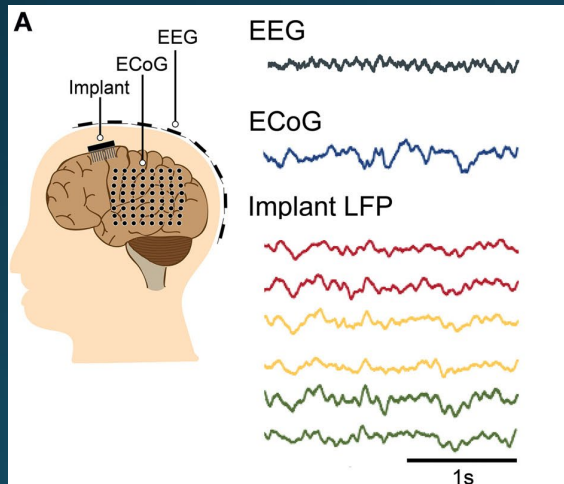
Praha 4



30/04/2026

Co bude obsahem přednášky?

- Elektrofyzilogické metody
- Analýza a interpretace elektrofyzilogických dat
- Využití elektrofyzilogie ke studiu chování a paměti

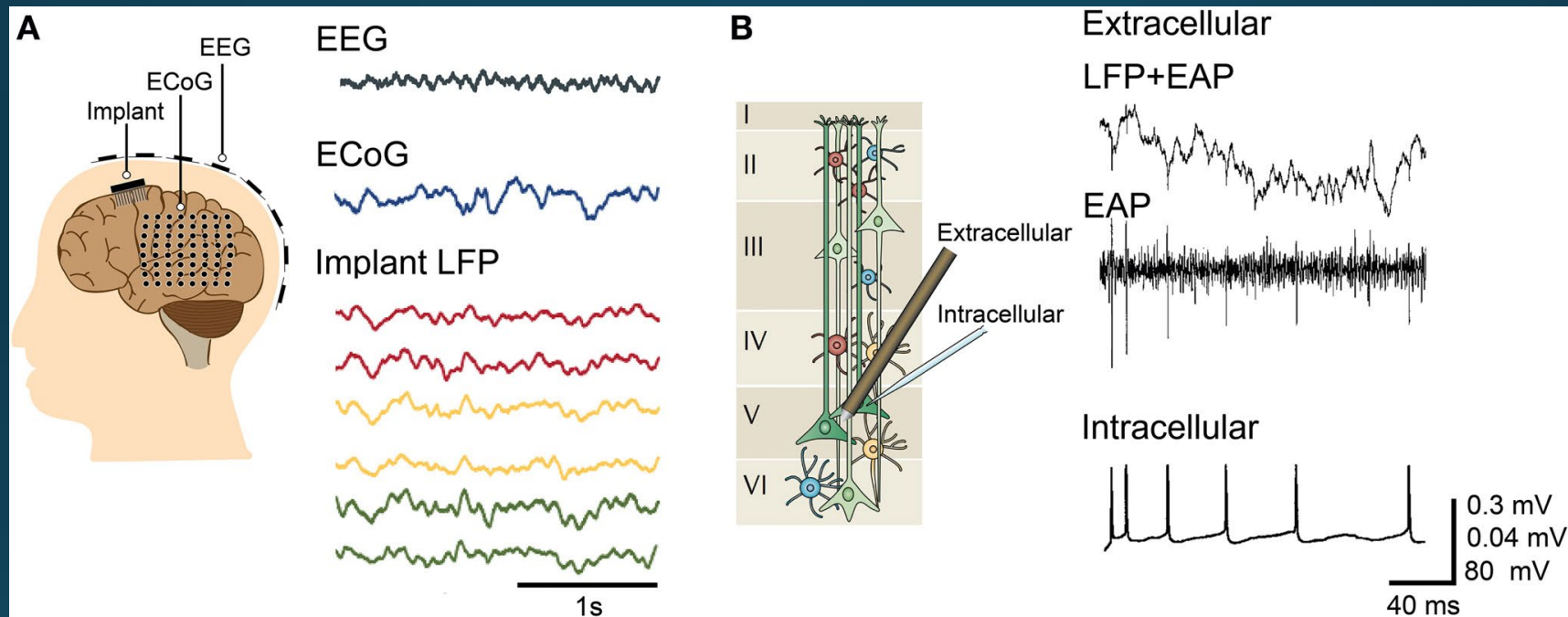


Co je elektrofyziologie?

- studium elektrických vlastností biologických buněk a tkání
- v neurovědách -> měření elektrické aktivity neuronů
- elektrická povaha neuronální aktivity umožňuje detekovat signály na elektrodách v určité vzdálenosti od zdroje



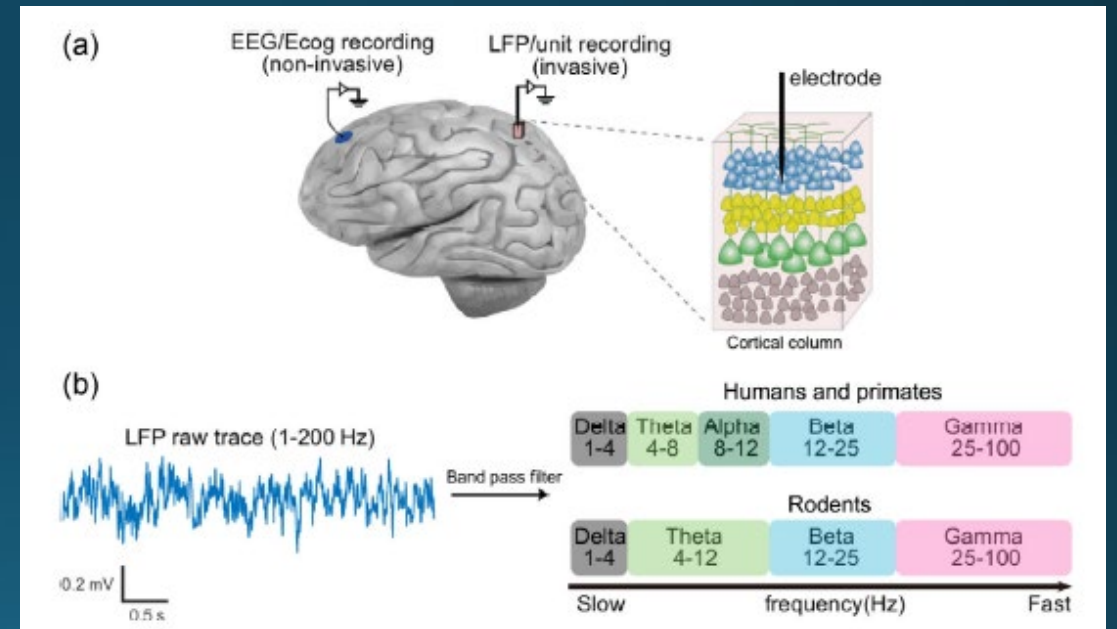
Typické elektrofyziologické metody



- makroskopické metody: skalpové EEG (> 10 ms)
- mezoskopické metody: ECoG, LFP (1-10 ms)
- mikroskopické metody: extracelulární a intracelulární nahrávání AP (< 1 ms)

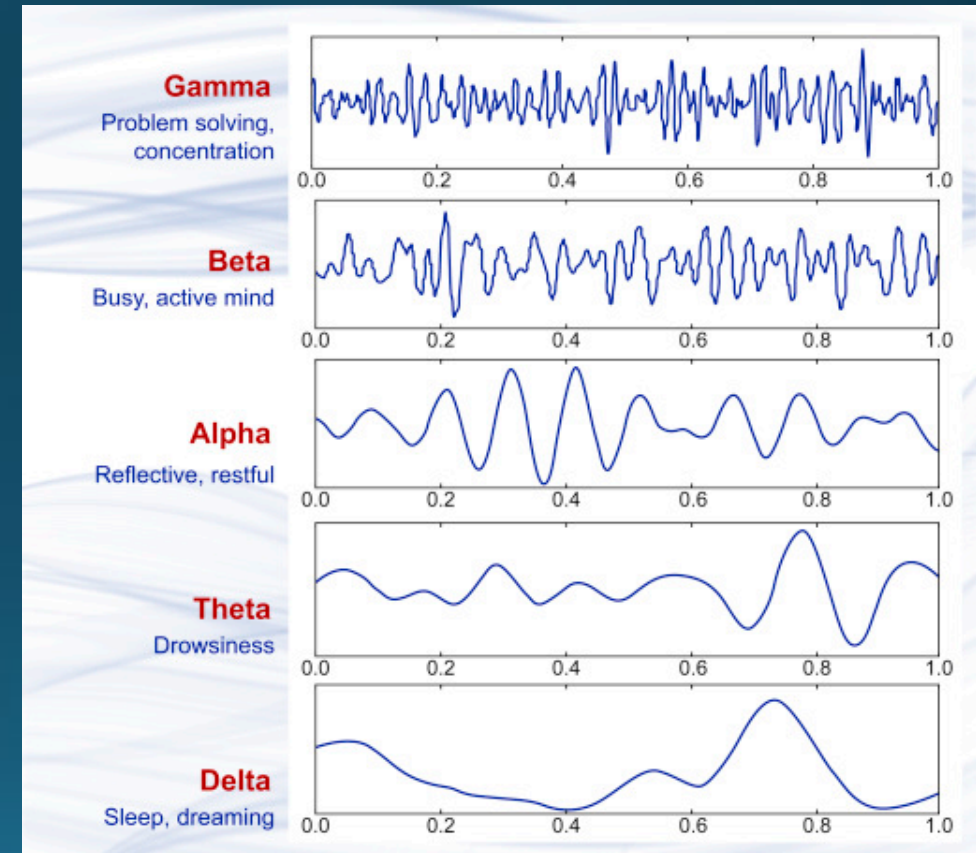
Elektroencefalogram (EEG) a potenciály blízkého pole (LFP)

- Záznam sumární změny elektrického potenciálu – v důsledku synchronizované synaptické aktivity velkého množství (až tisíců) neuronů.
- EEG – neinvazivní, elektrody na povrchu lebky
- LFP (local field potentials) – invazivní, elektrody uvnitř mozku
- mozkové vlny – rytmické vzorce aktivity s různou frekvencí



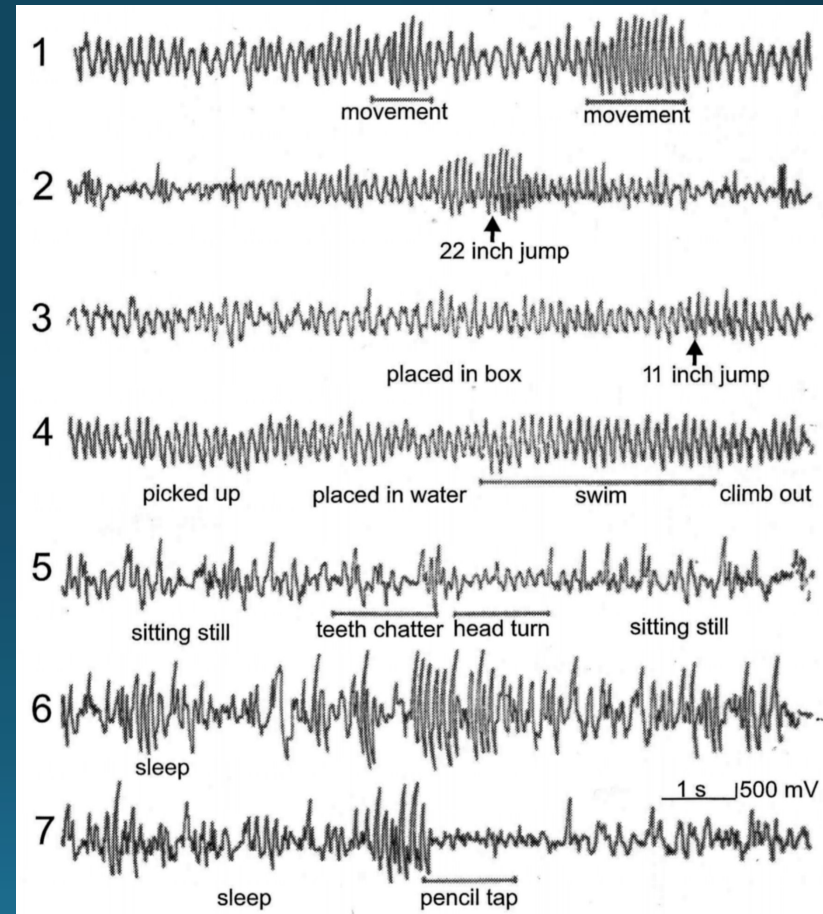
Typy mozkových vln

- individuální typy mozkových vln odpovídají například různým stavům vědomí či mysli
- rychlejším vlnám (gama) se přisuzuje role v kognitivních procesech (učení, paměť)



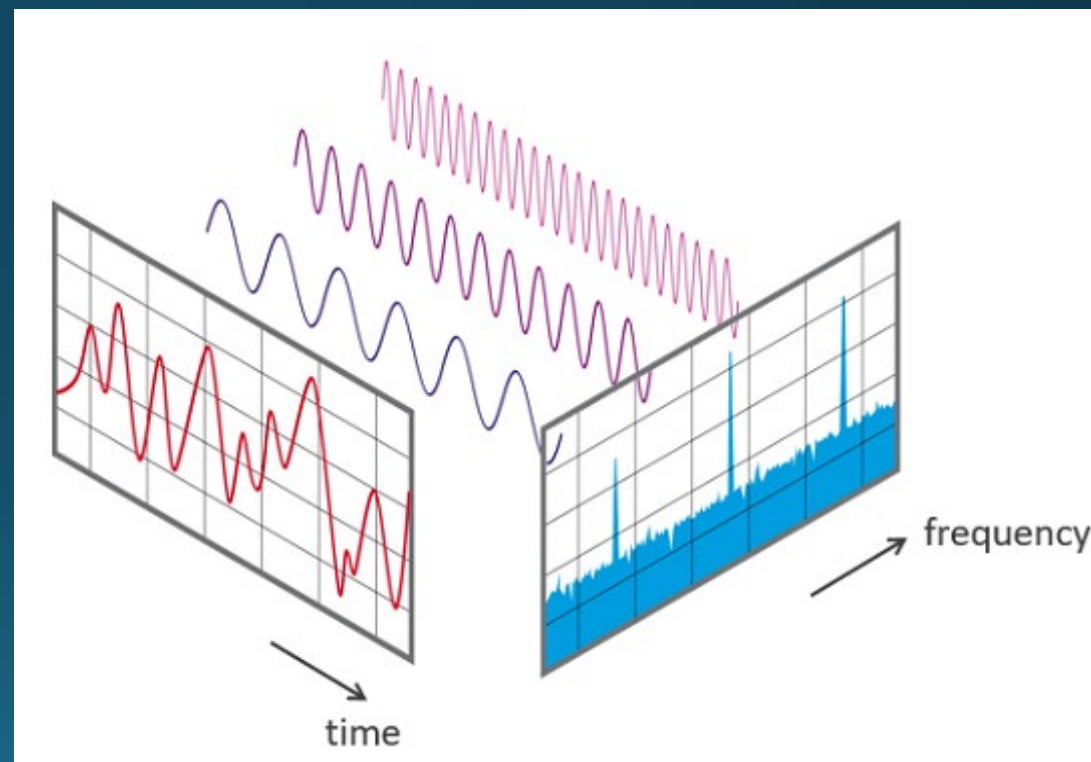
Hipokampální LFP koreláty pohybu u potkanů

- změny amplitudy a frekvence LFP signálu spojené se spontánními a naučenými pohybovými vzory u potkanů



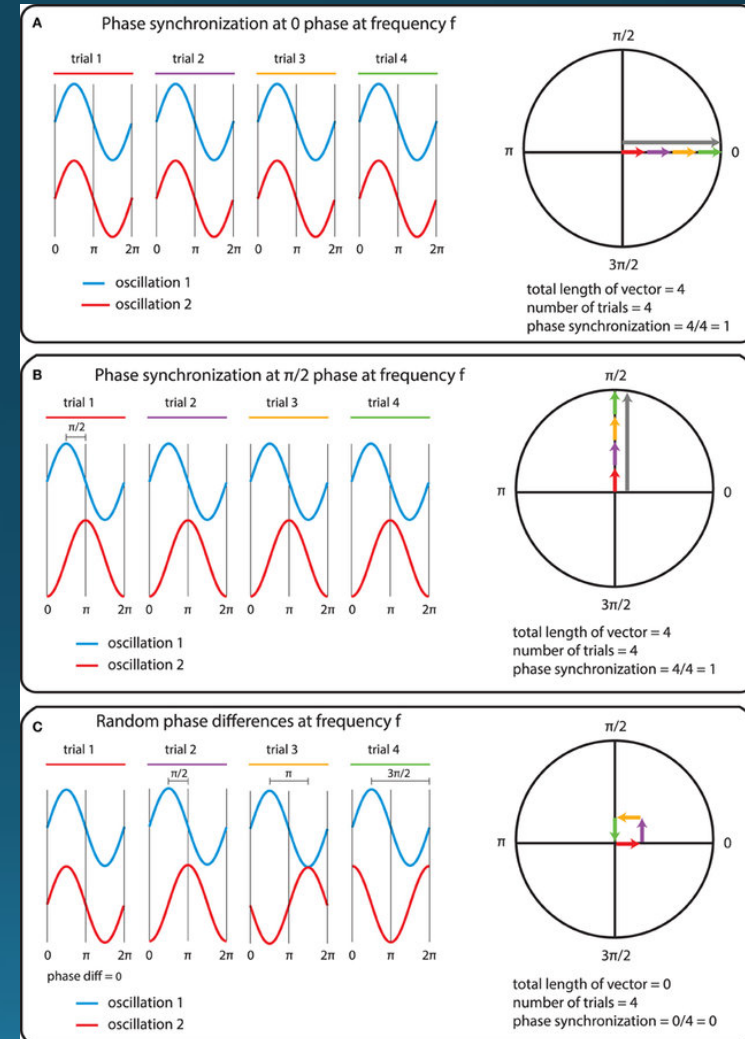
Fourierova transformace

- Fourierova transformace umožní rozložit nepravidelný signál (červený) na komponenty o různých konkrétních frekvencích (odstíny fialové).
- Vyjadřuje tedy rozložení a zastoupení různých frekvencí v analyzovaném signálu.
- Frekvencím je přiřazena hodnota podle jejich zastoupení v původním signálu.
- Zastoupení jednotlivých frekvencí pak lze zobrazit pomocí výkonového spektra (modrý histogram).
- To umožňuje identifikovat zastoupení individuálních typů mozkových vln v analyzovaném neuronálním signálu.



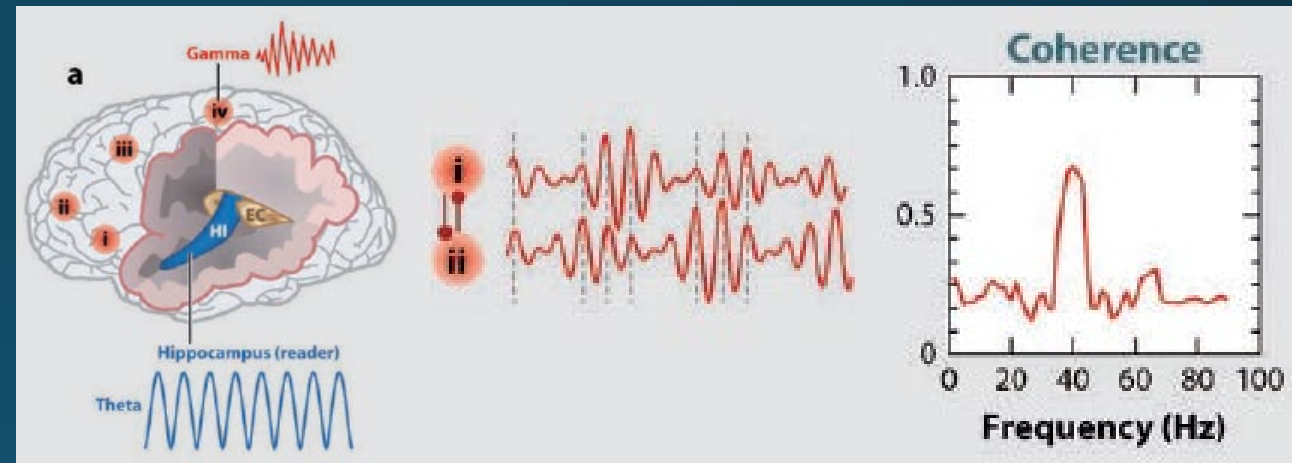
Synchronizace a koherence

- synchronizace = dva signály oscilují se stejnou frekvencí a identickou fází
- koherence = relativní fáze mezi dvěma signály je konstantní
- Synchronizace je koherence při stejné fázi. Synchronizace je tedy vždy koherentní, ale koherence nemusí být synchronní.



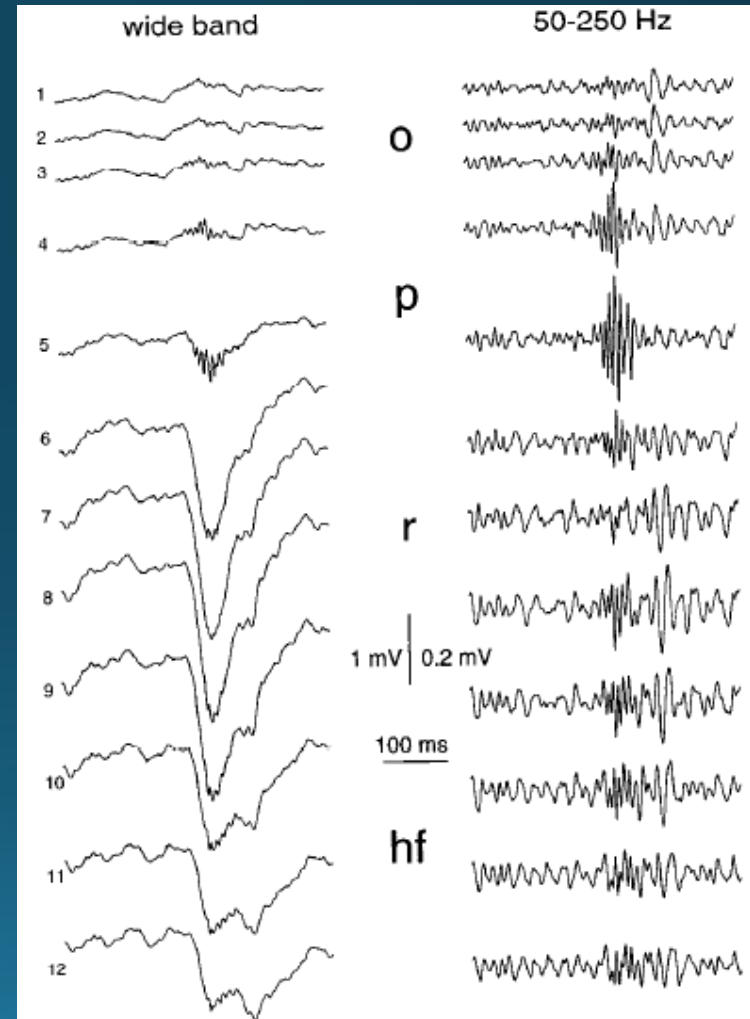
Komunikace mezi strukturami a hemisférami mozku

- komunikace přes koherenci = meziregionální komunikace je navázána, když je oscilační aktivita mezi těmito oblastmi koherentní (oscilují na stejné frekvenci se stabilním fázovým rozdílem)
- marker schizofrenie - narušená γ synchronizace mezi hemisférami nebo jinými velkými anatomickými vzdálenostmi



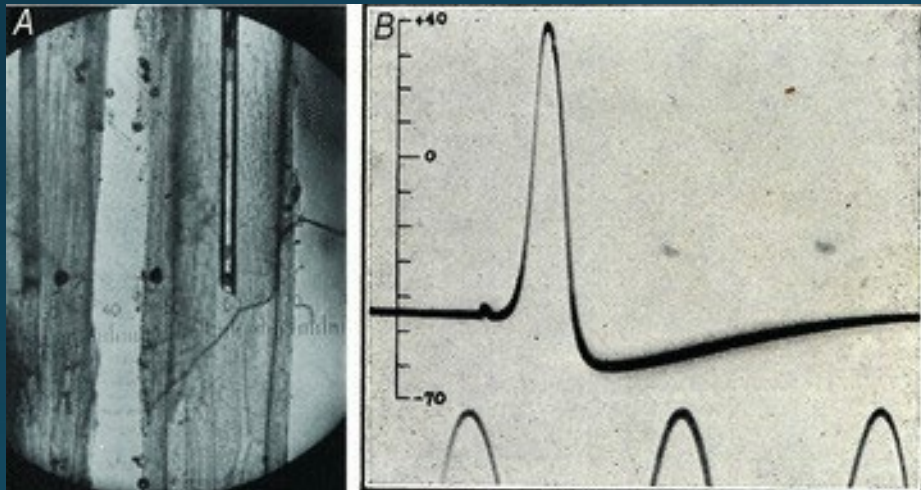
Ostré vlny a vlnky (SWRs)

- SWRs (sharp wave ripples) = oscilační vzorce (150-250 Hz) v hipokampu savců - během imobility a spánku
- role v konzolidaci paměťových stop
- vysoce organizovaná aktivita neuronů, koordinovaná inhibičními interneurony

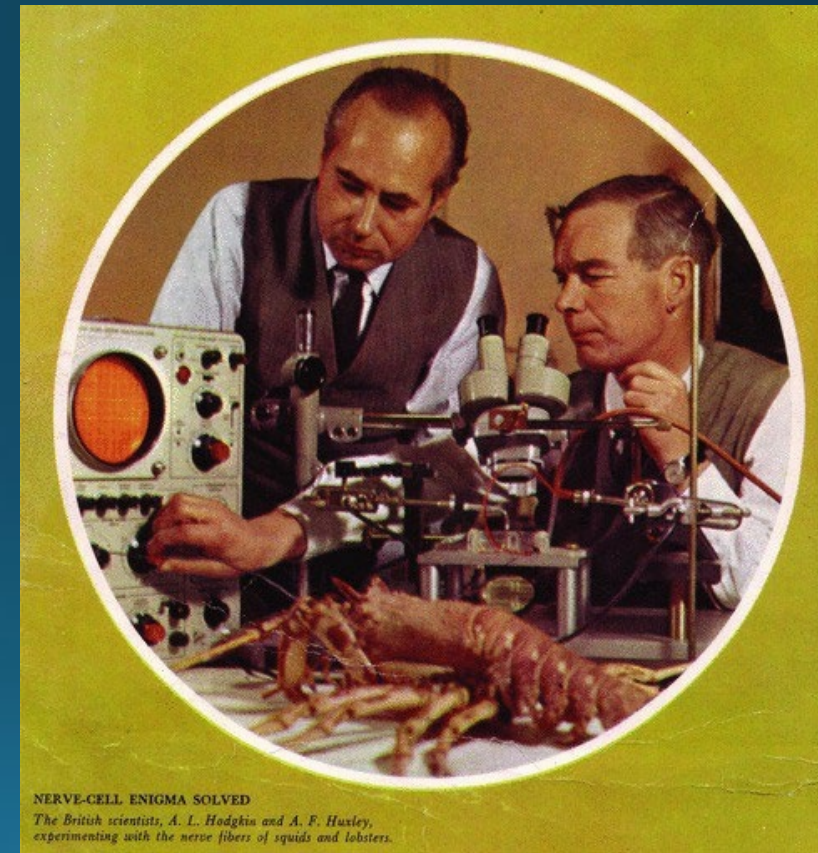


Aktivita jednotlivých neuronů (akční potenciály)

První zdokumentovaný akční potenciál nahraný (intracelulárně) z obřího axonu (průměr 0.5 mm) sépie.



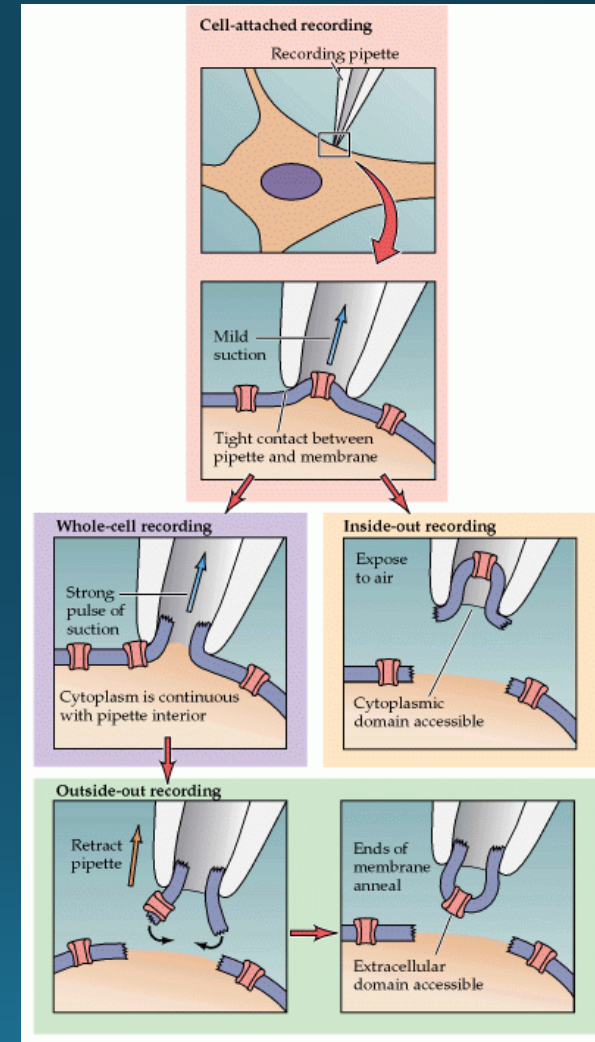
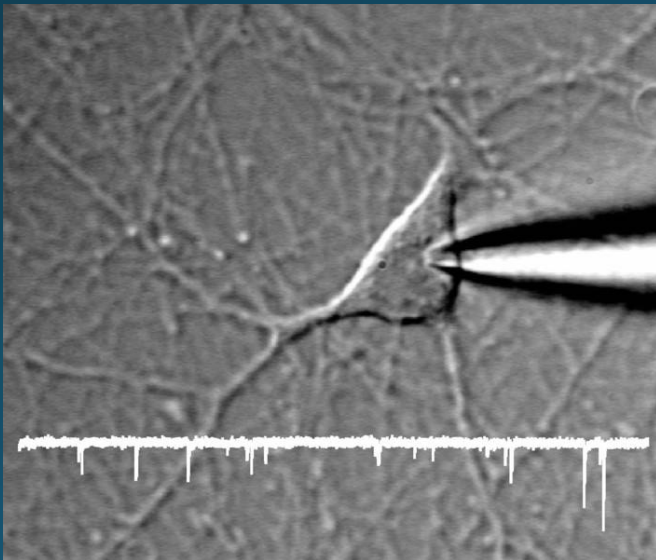
Hodgkin and Huxley 1939, Nature



zdroj: Nobel Prize Programme, 1963

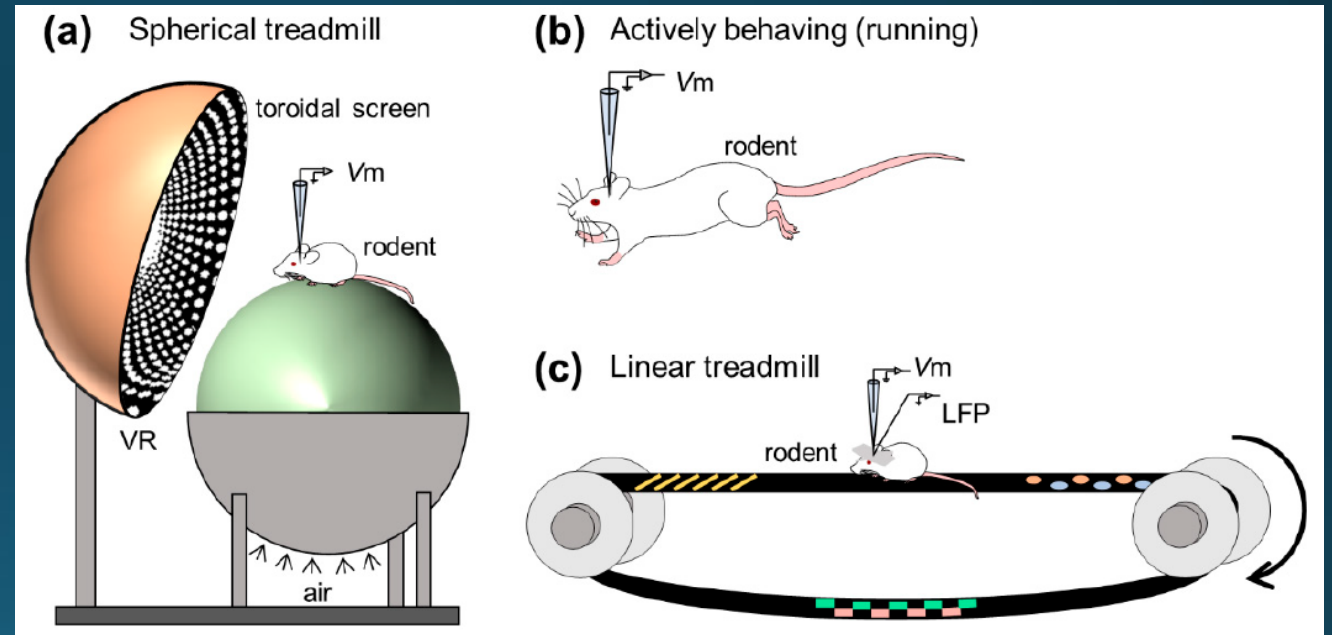
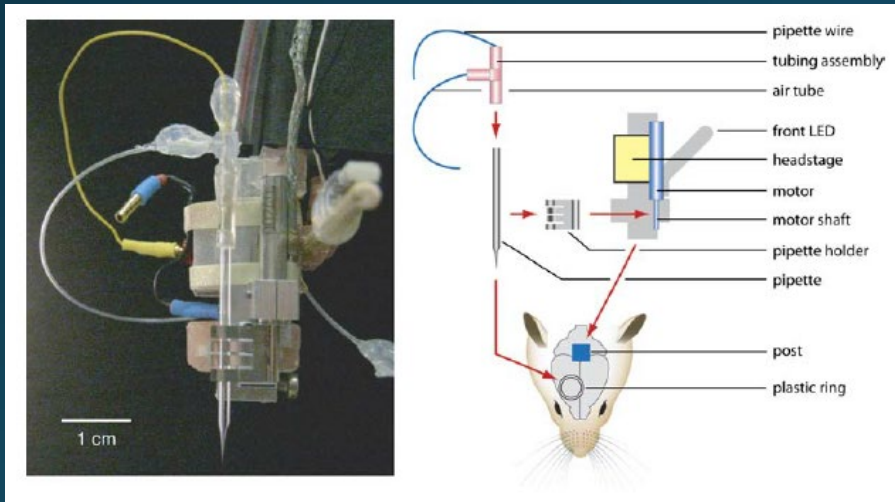
Intracelulární nahrávání - terčíkový zámek (patch clamp)

- elektrofyziologické snímání aktivity z jednoho neuronu, z části buněčné membrány, nebo dokonce z jednoho membránového kanálu
- pomocí přisání skleněné mikropipety (invazivní metoda)
- nepříliš využívaná metoda u volně pohyblivých zvířat (pohyb může způsobit mechanické narušení kontaktu s buňkou či poškození pipety)



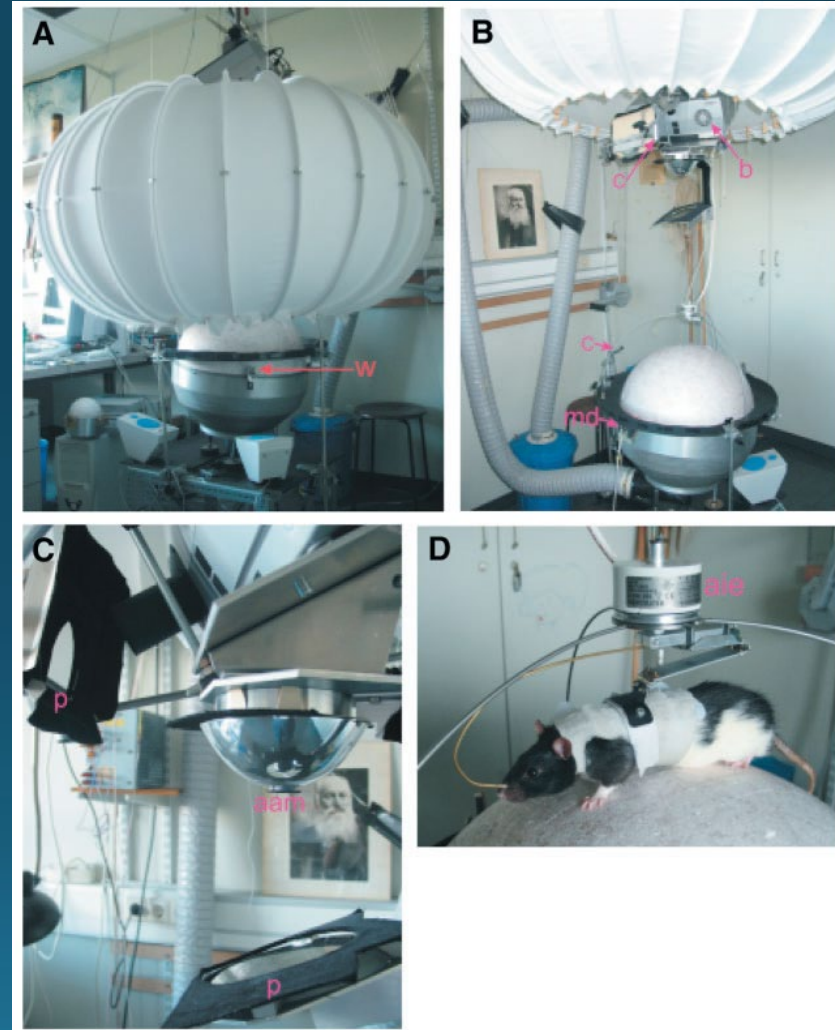
Intracelulární nahrávání *in vivo*

- fixace hlavy zvířete
- extrémní stabilizace mikropipety



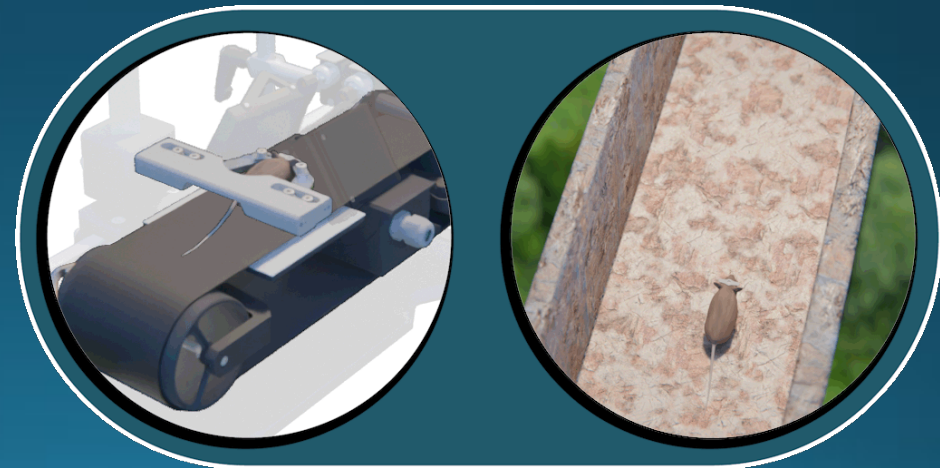
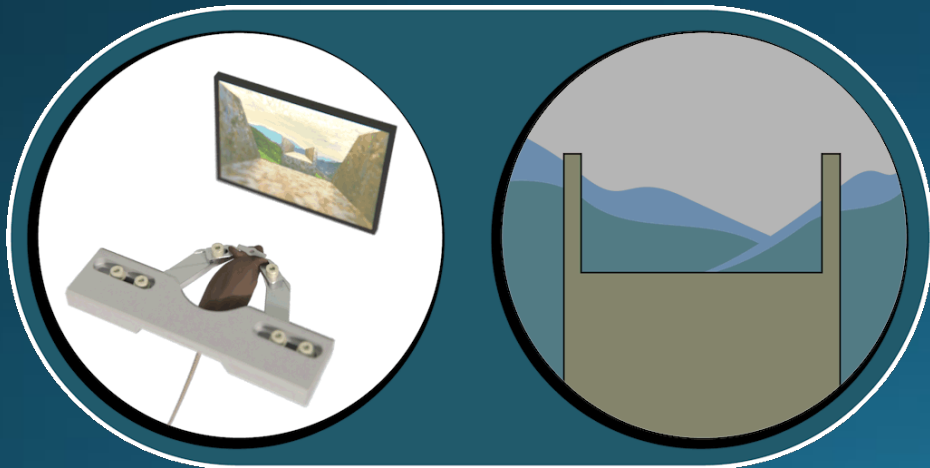
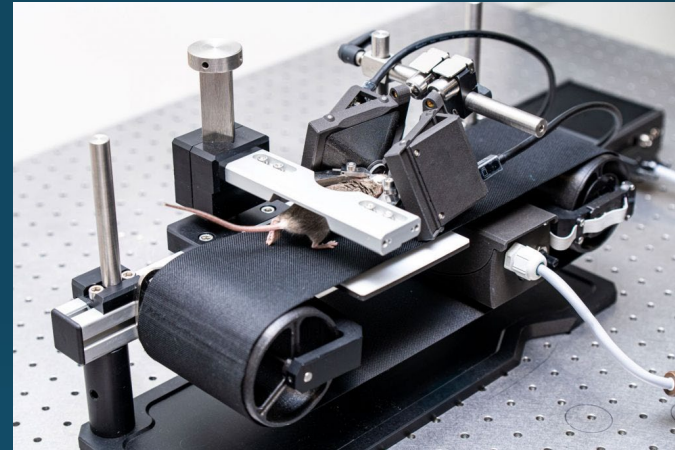
Virtuální realita pro hlodavce

- hlodavci jsou schopni prostorové navigace ve virtuálním prostředí
- potkan může běhat po polystyrénové kouli, která se v důsledku toho otáčí
- pohyb potkana generuje změny v promítaném prostředí
- kontrola nad promítaným prostředím, variabilita designu, nulová interakce s experimentátorem



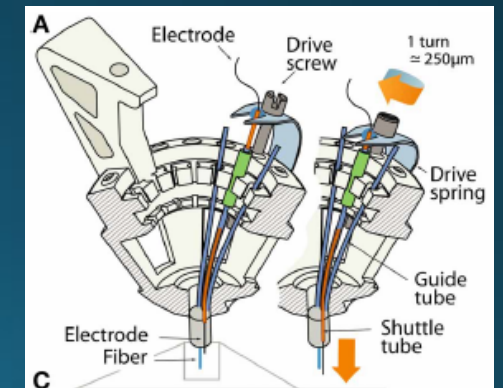
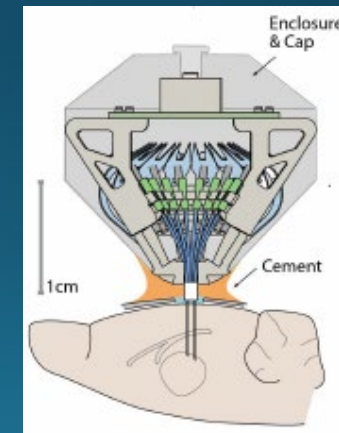
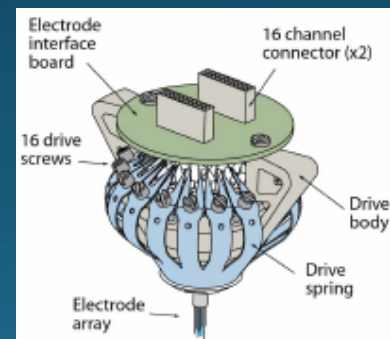
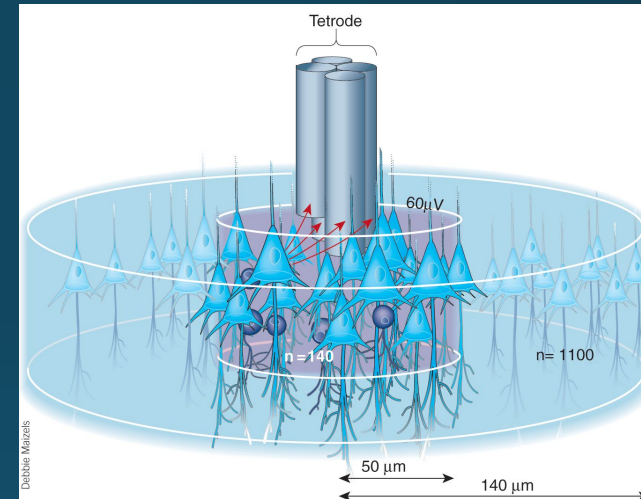
Virtuální realita pro hlodavce - Moccus

- plná imerze (3D)
- vyšší rychlost učení ve srovnání se systémy s 2D monitory



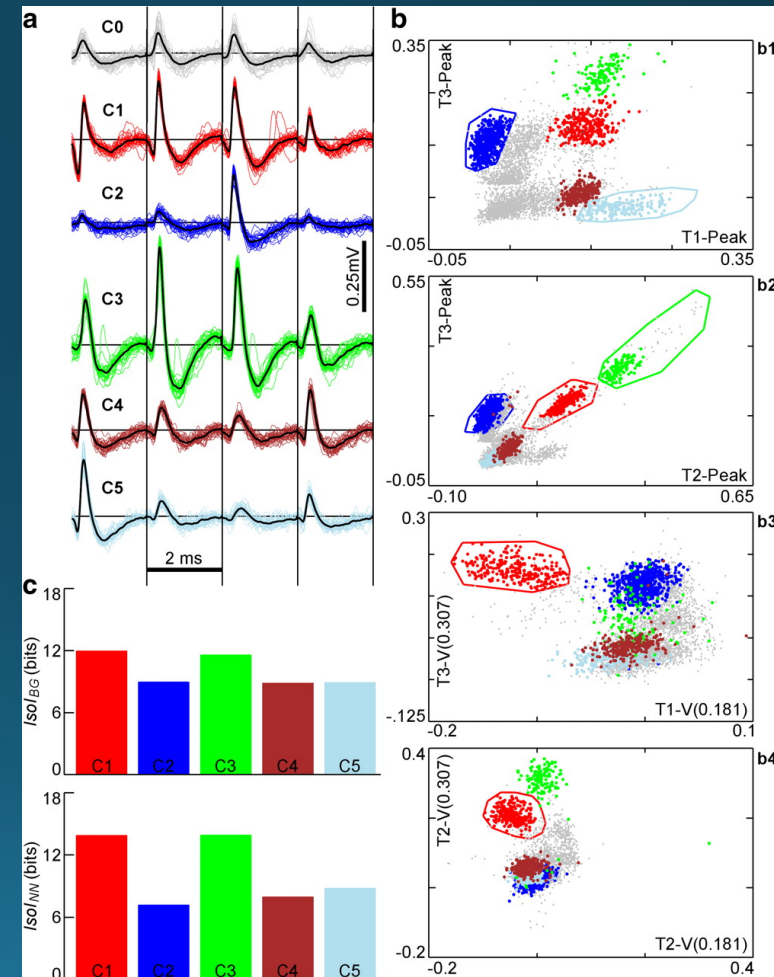
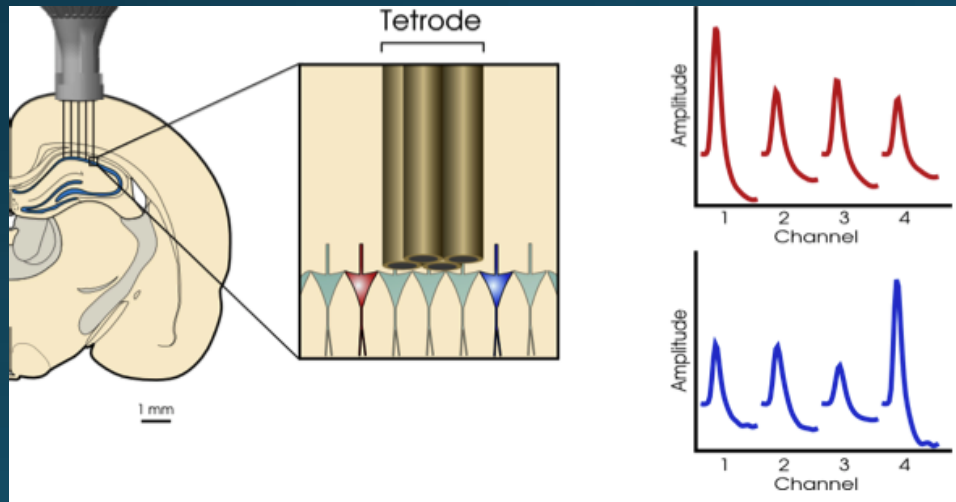
Extracelulární nahrávání - tetrody

- kovové elektrody 12-25 μm – k izolaci aktivity jednotlivých neuronů
- elektrická aktivita generovaná neurony v blízkosti špičky elektrody
- tetrody – čtveřice elektrod spletených dohromady
- mikromanipulátory – pro přesné zavedení nahrávacích elektrod do cílové oblasti mozku



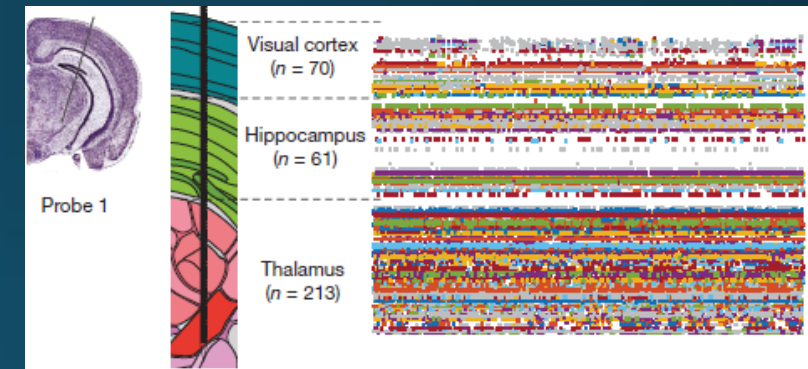
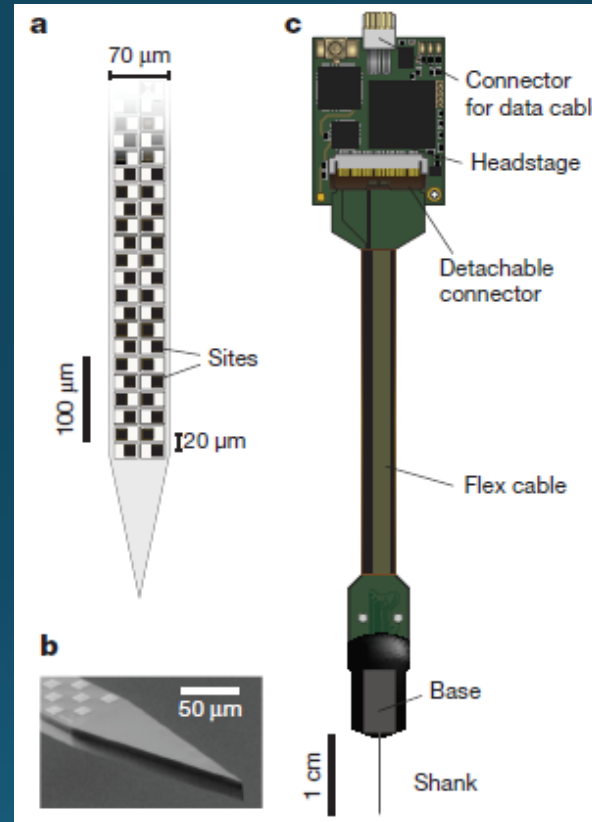
Tetrody – klastrování akčních potenciálů

- přiřazení jednotlivých akčních potenciálů k jednotlivým neuronům (klastrům)



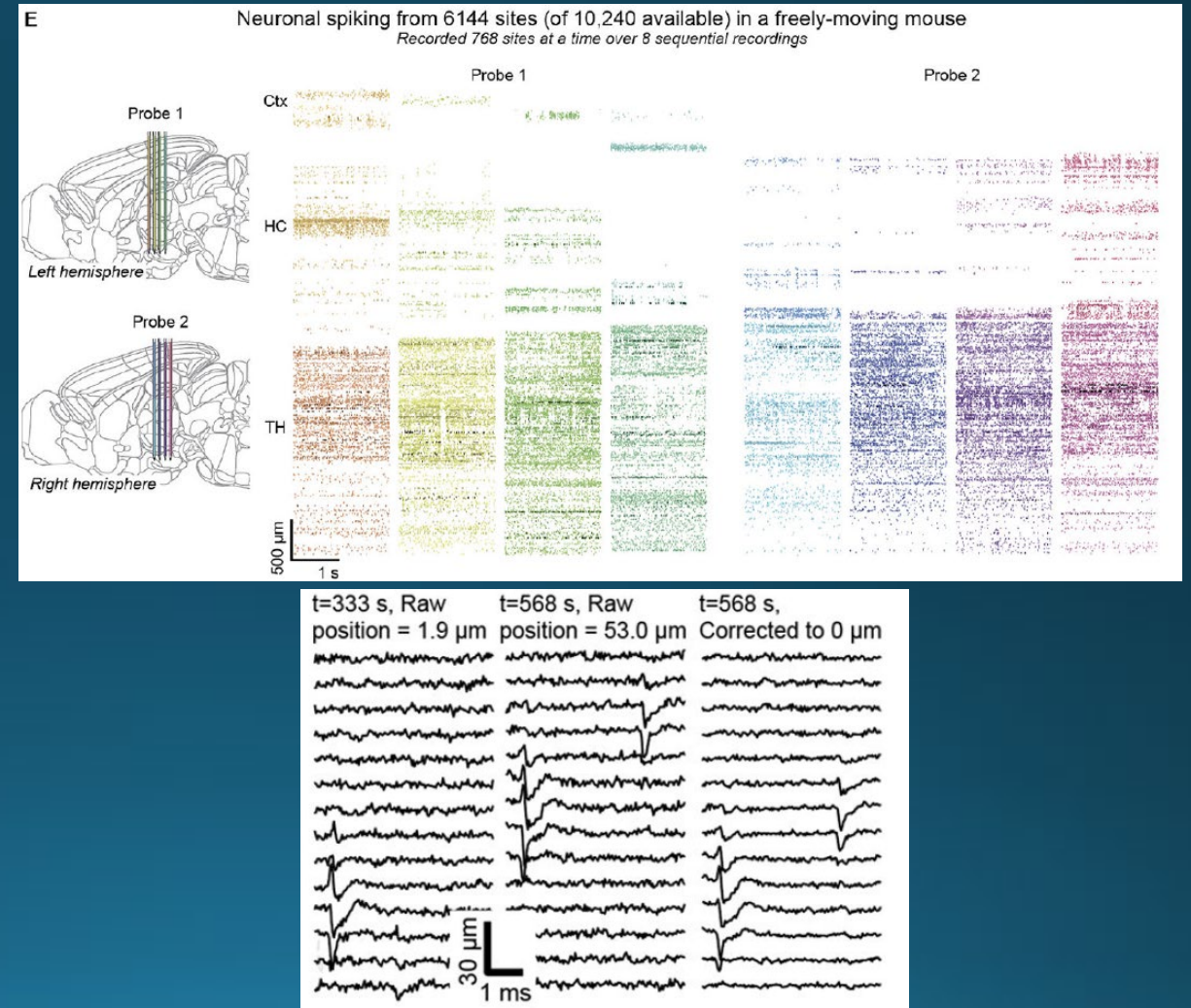
Silikonové próby

- elektrody rozmístěny v pravidelných intervalech na jemné sondě
- ~1000 elektrod po délce 1 cm
- možnost současně nahrávat až stovky buněk napříč strukturami



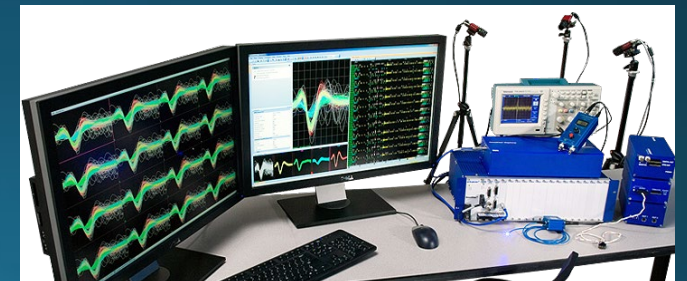
Silikonové próby druhé generace

- 4 sondy na jedné próbě
- možnost nahrávat až tisíce buněk současně
- větší miniaturizace a sloupcové uspořádání elektrod - různé elektrody podél vertikální sondy mohou pokračovat v záznamu ze stejného neuronu (i po několik týdnů)
- kompenzace vertikálního pohybu mozku



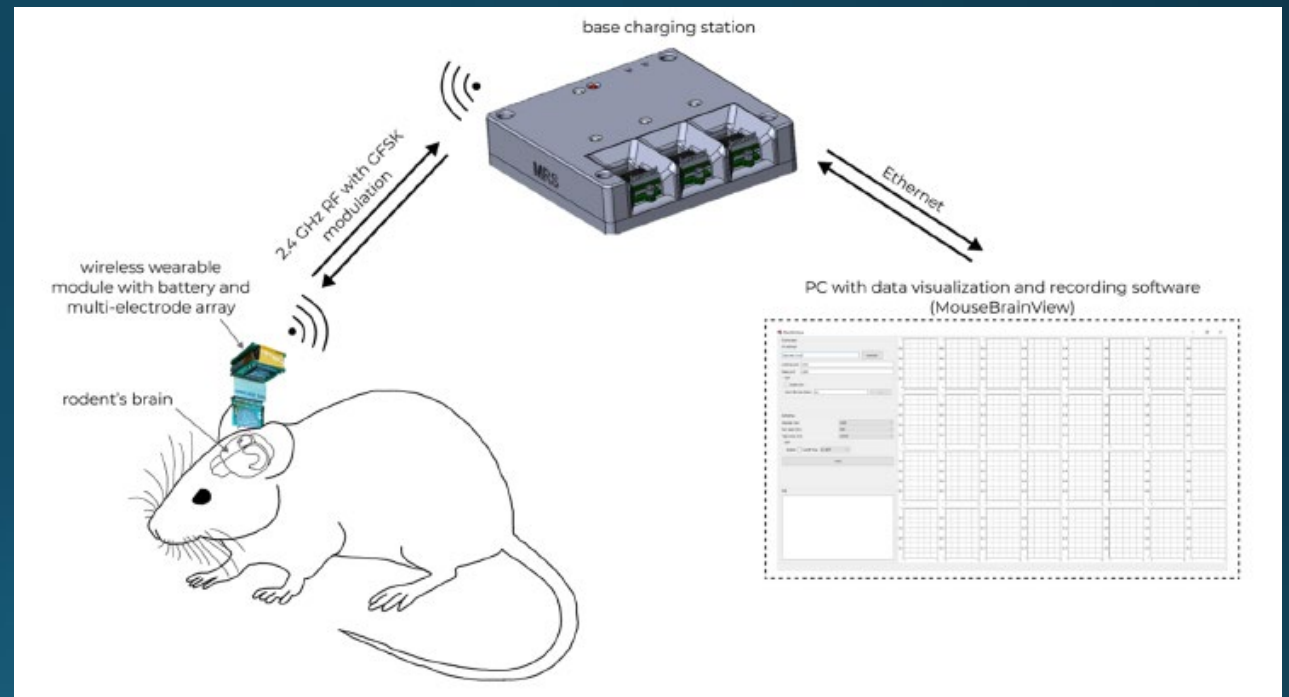
Elektrofyzilogická aparatura

- předzesilovač (headstage)
- komutátor
- A/D převodník
- jednotka pro zpracování dat (možnost synchronizace se vstupy z periferií)
- počítač a SW pro vizualizaci dat

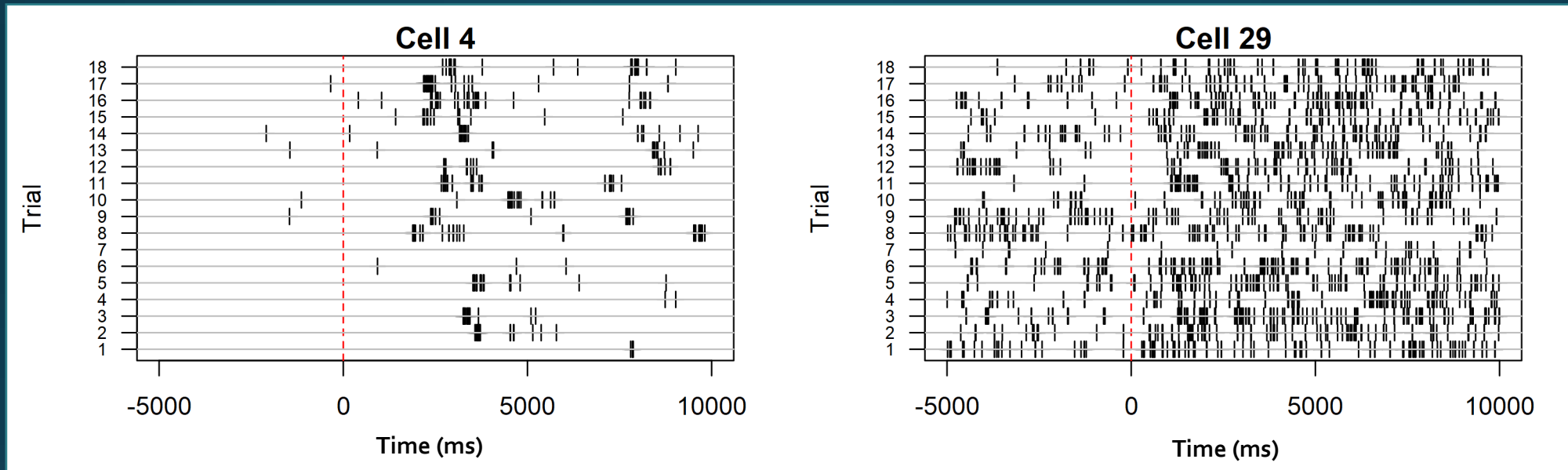


Bezdrátové nahrávání

- nepřítomnost kabelu výhodou pro některé experimenty (specifická bludiště, sociální experimenty, atd.)
- transfer dat pomocí WiFi (energeticky náročné – délka nahrávání limitována velikostí/hmotností baterie)



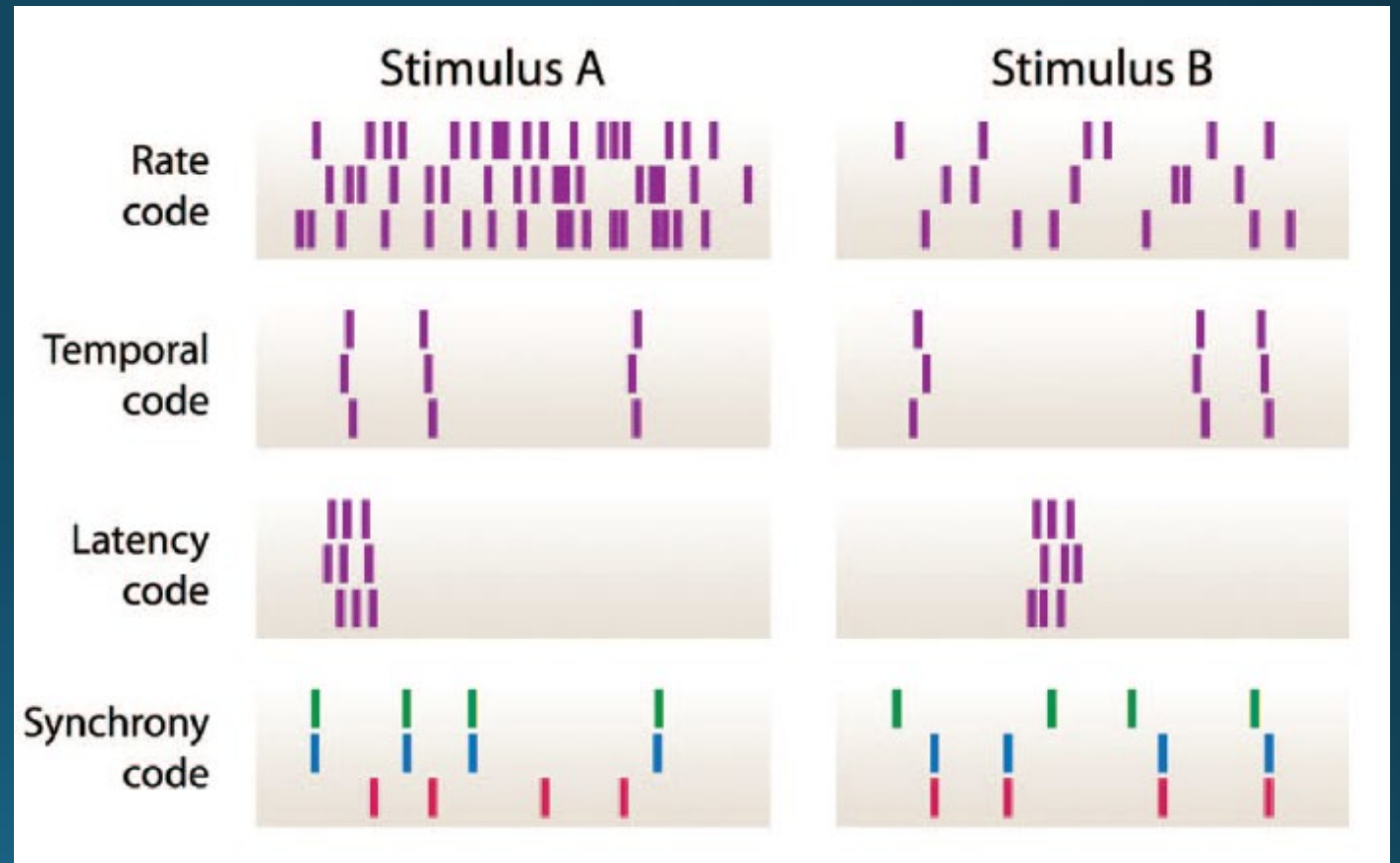
Analýza jednotkové aktivity



- aktivita neuronu = časová sekvence akčních potenciálů neuronu
- černé vertikální markery odpovídají jednotlivým akčním potenciálům

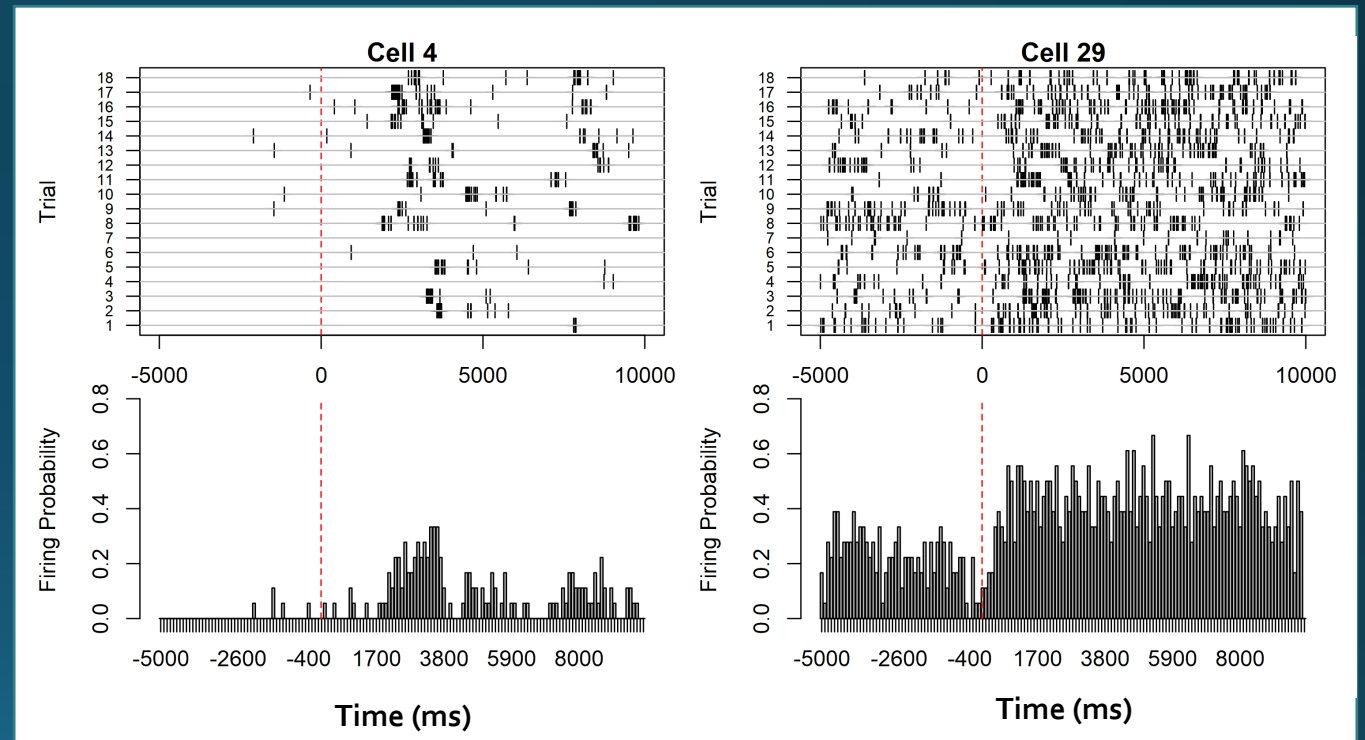
Neurální kód

- = soubor pravidel a syntaxe, které transformují elektrické impulsy vysílané neurony na vjemy, vzpomínky, znalosti, rozhodnutí a činy
- Frekvenční
- Časový
- Latenční
- Synchronní



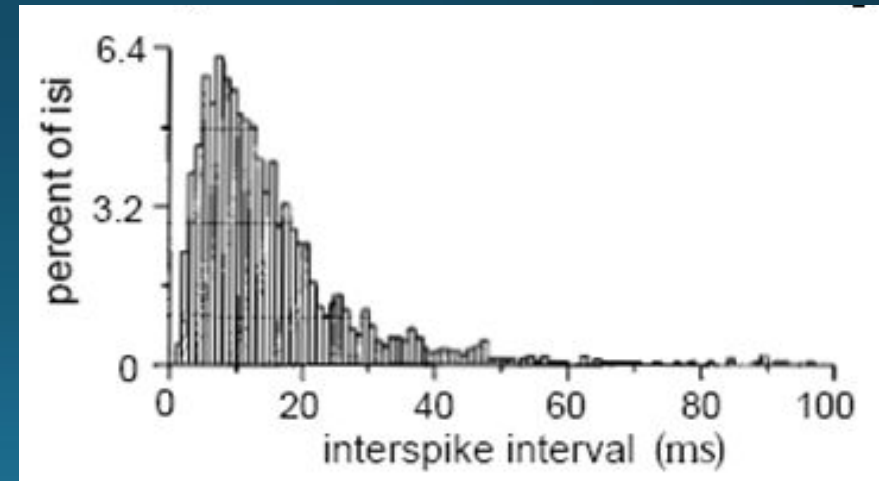
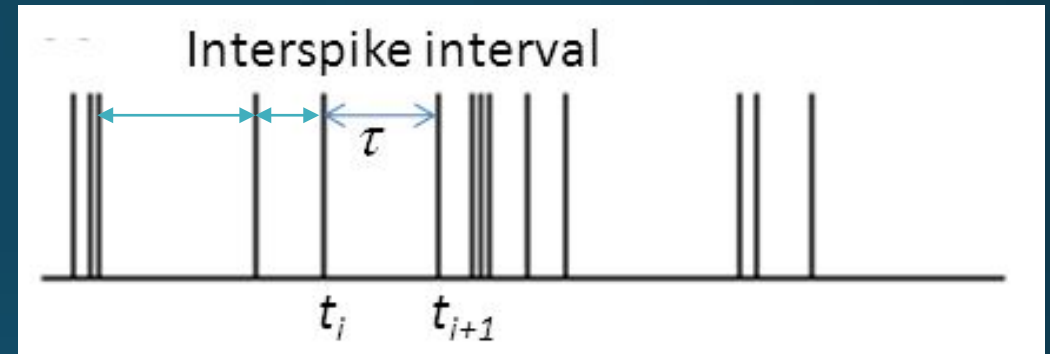
Raster plot a histogram

- raster plot = umožňuje vizuálně prozkoumat variabilitu odpovědí mezi jednotlivými opakováními
- histogram = umožňuje zjistit jaké vlastnosti mají tyto odpovědi společně pomocí zprůměrování všech odpovědí
- peri-event = vztahující se ke konkrétní události (např. začátek prezentace stimulu)



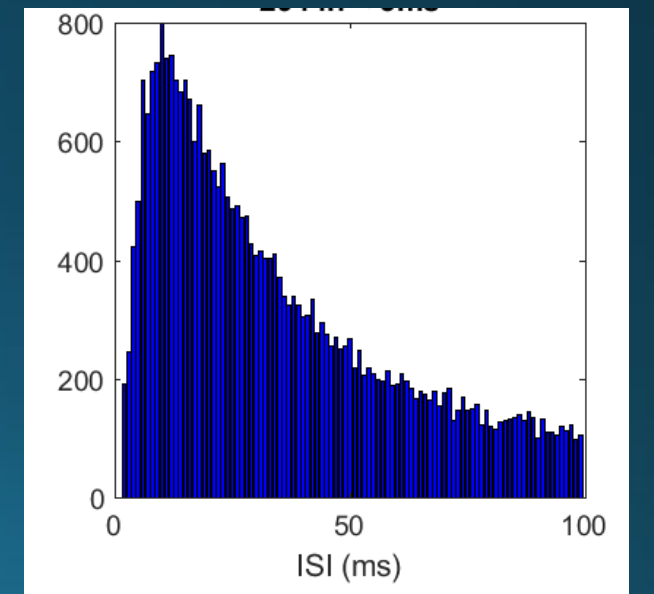
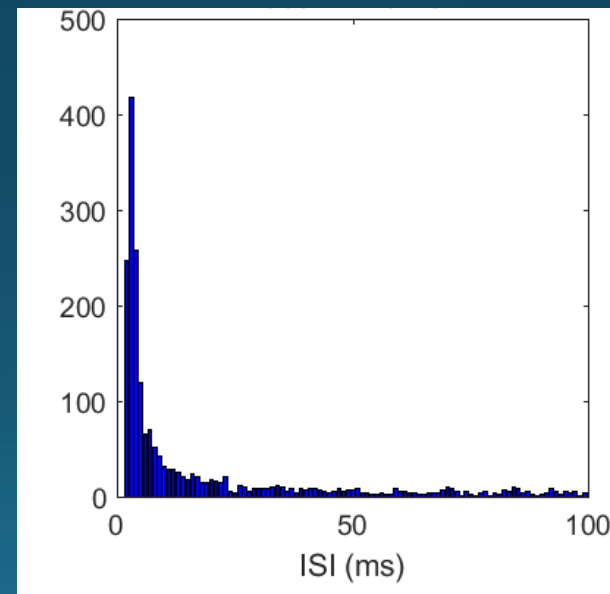
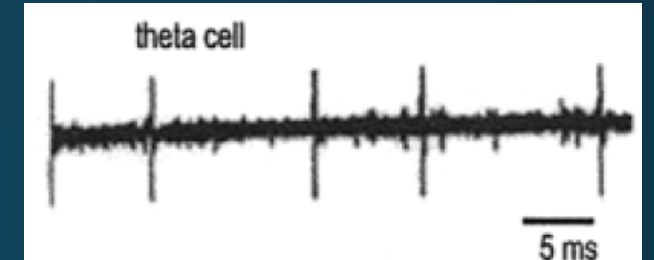
Histogram intervalů mezi akčními potenciály (ISI)

- ISI (inter-spike interval) histogram = popisuje délku intervalů mezi následujícími akčními potenciály



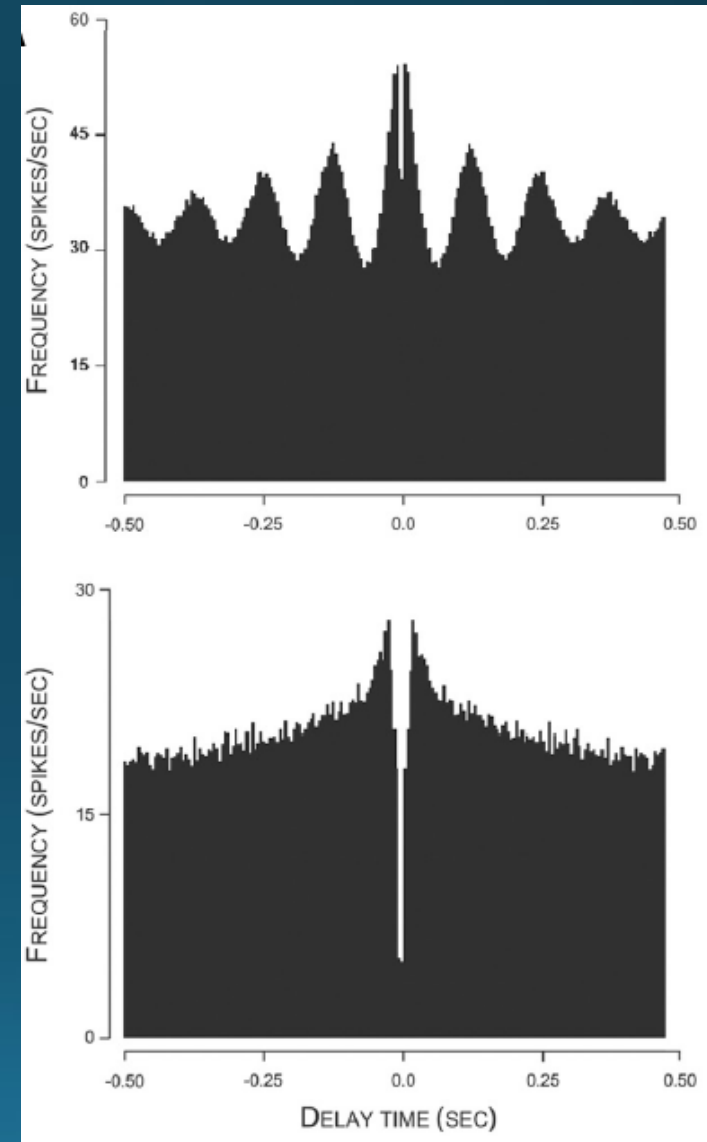
Histogram intervalů mezi akčními potenciály (ISI)

- pyramidové buňky – pájí ve shlucích (komplexní spiky), více akčních potenciálů v rozmezí několika ms
- interneurony – často vykazují rytmickou aktivitu (např. v hipokampu vzhledem k théta rytmu)
- klastrování – kontrola četnosti "akčních potenciálů" v refrakterní periodě



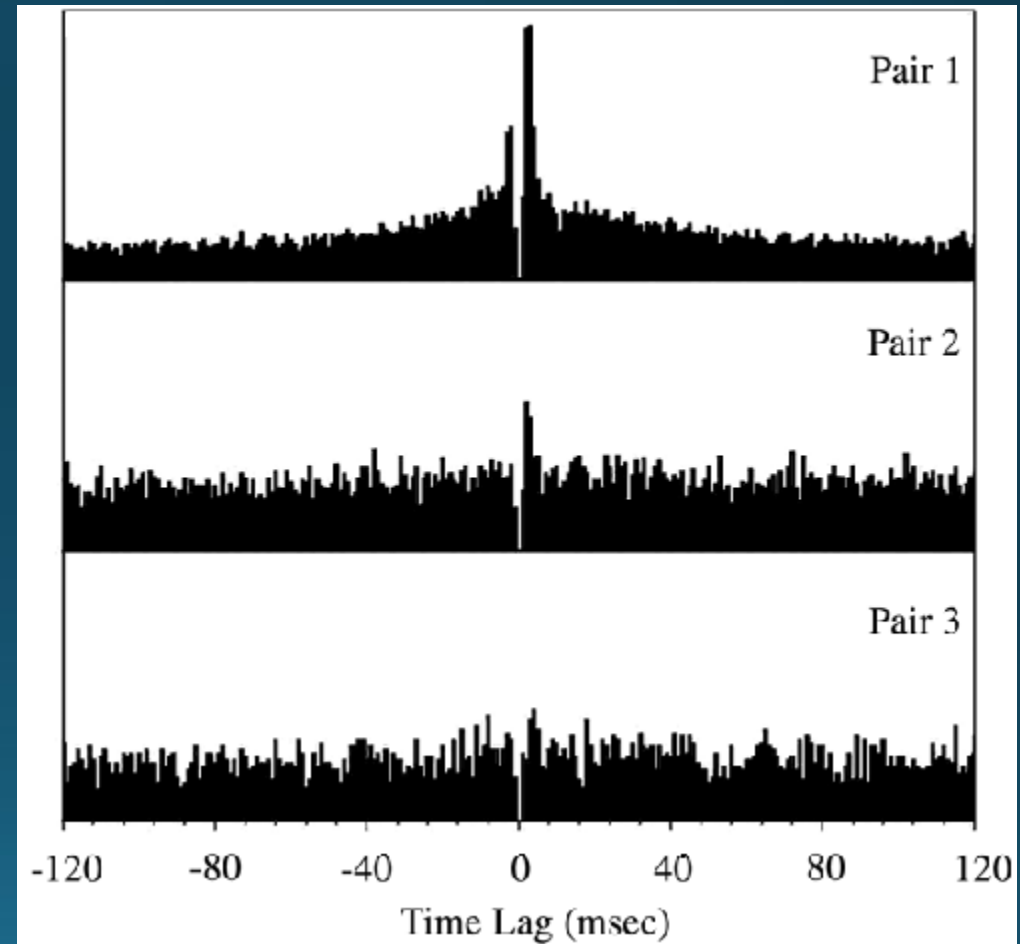
Autokorelace

- rozložení intervalů mezi všemi akčními potenciály (nejenom těsně po sobě následujícími)
- ukazuje pravděpodobnost, že po akčním potenciálu bude neuron znovu aktivní v různých časových intervalech
- detekce vzorců v aktivitě neuronů (např. modulace théta rytmem)



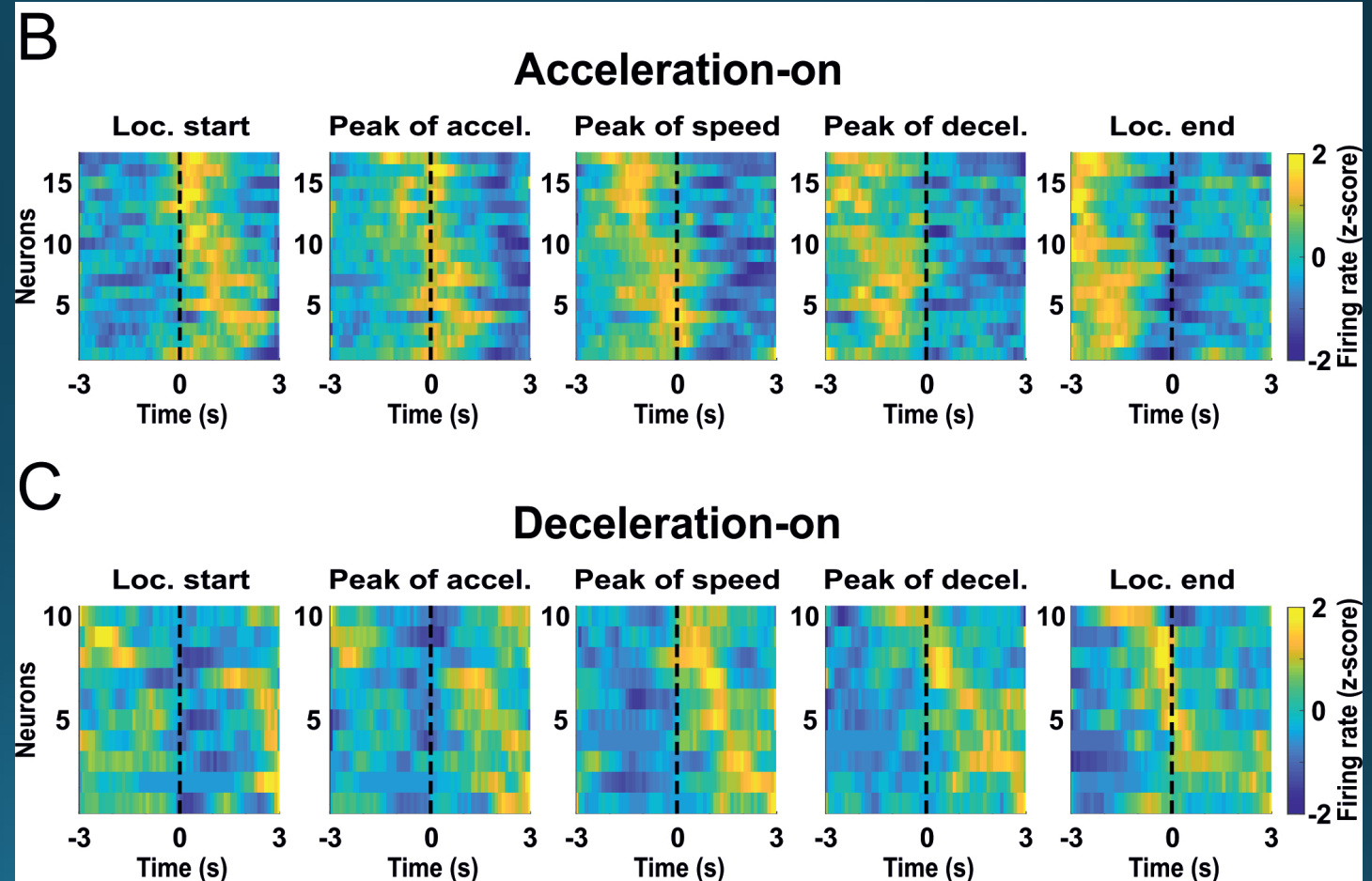
Vzájemná korelace (cross-correlation)

- znázorňuje časový rozdíl mezi každým akčním potenciálem emitovaným neuronem 1 a každým akčním potenciálem emitovaným neuronem 2
- vyjadřuje, s jakou pravděpodobností pájí jeden neuron v různých časových intervalech po aktivaci druhého neuronu
- peak v čase 0 – synchronní aktivita



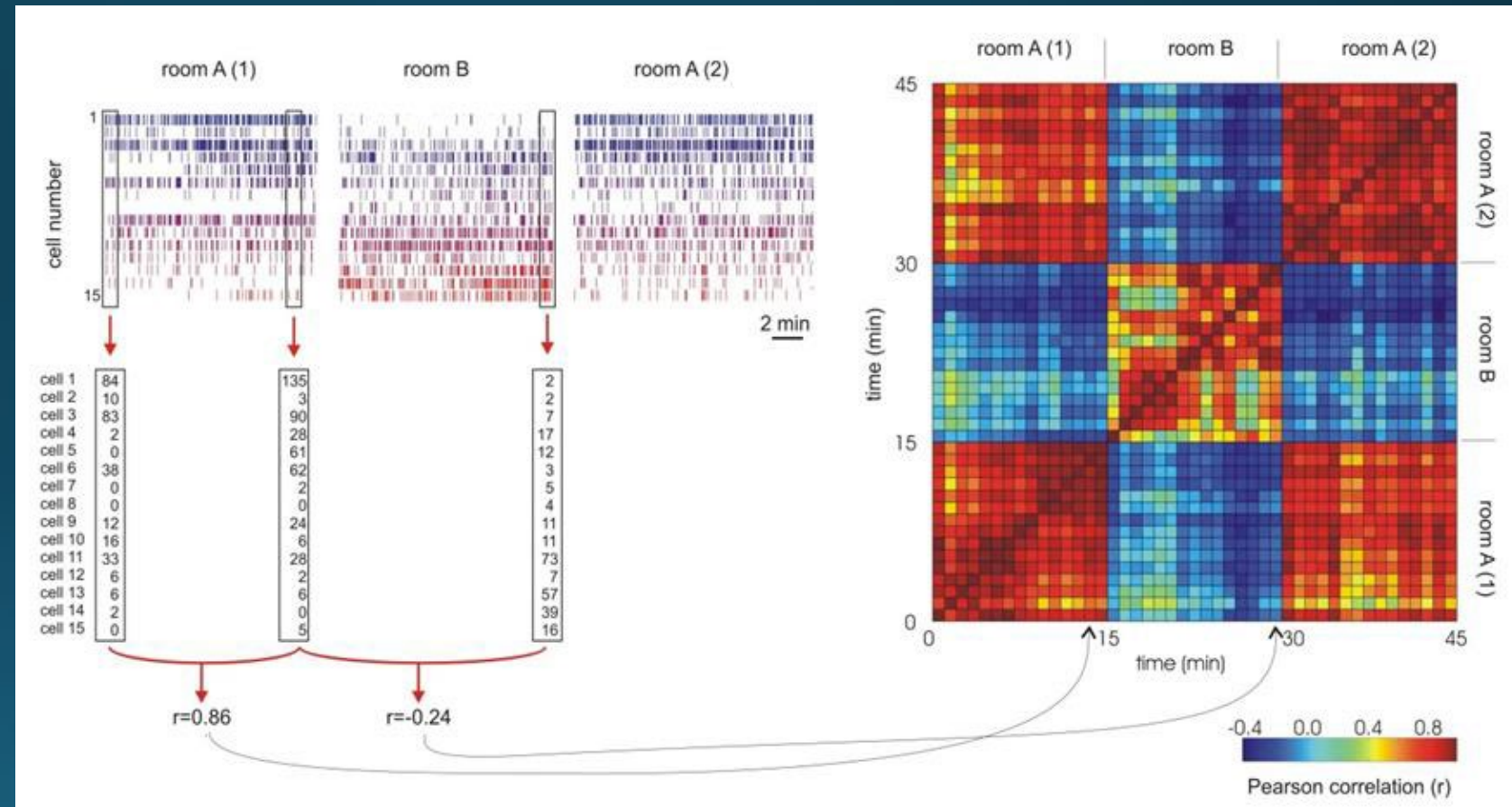
Teplotní mapy (heatmaps)

- grafické zobrazení dat, ve kterém je každá hodnota reprezentována barvou určitého spojitého barevného spektra
- z-skóre = počet standardních odchylek, o které je hodnota hrubého skóre (tj. pozorovaná hodnota) nad nebo pod střední hodnotou

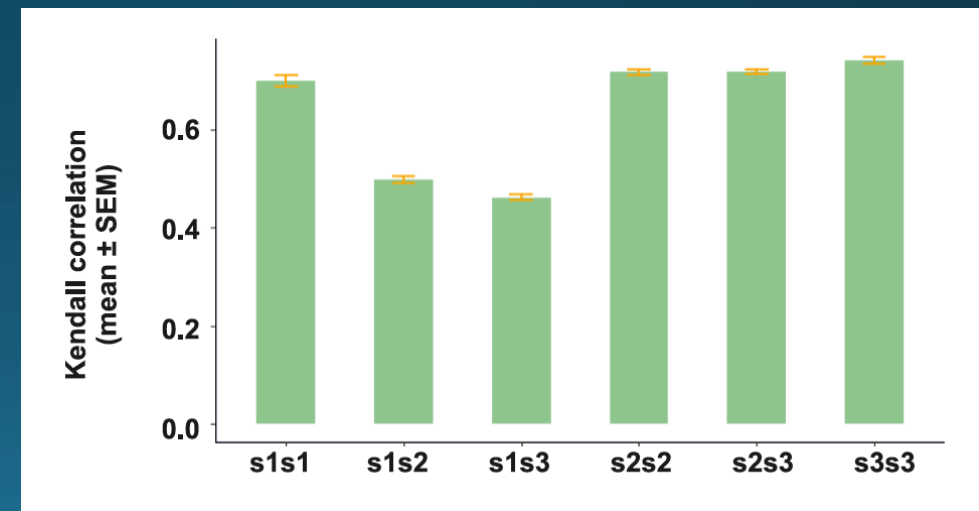
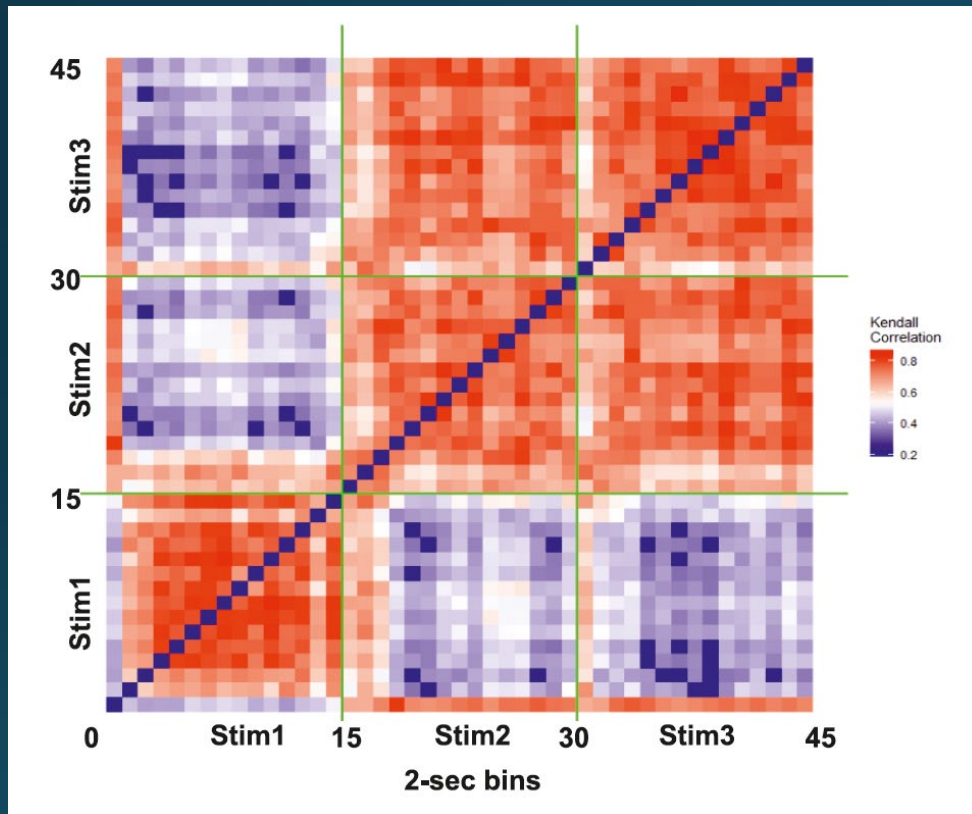


Populační vektory a korelační matice

- vektor aktivity – znázorňuje aktivitu každého neuronu během daného intervalu
- korelační matice – znázorňuje korelace mezi všemi páry časových intervalů

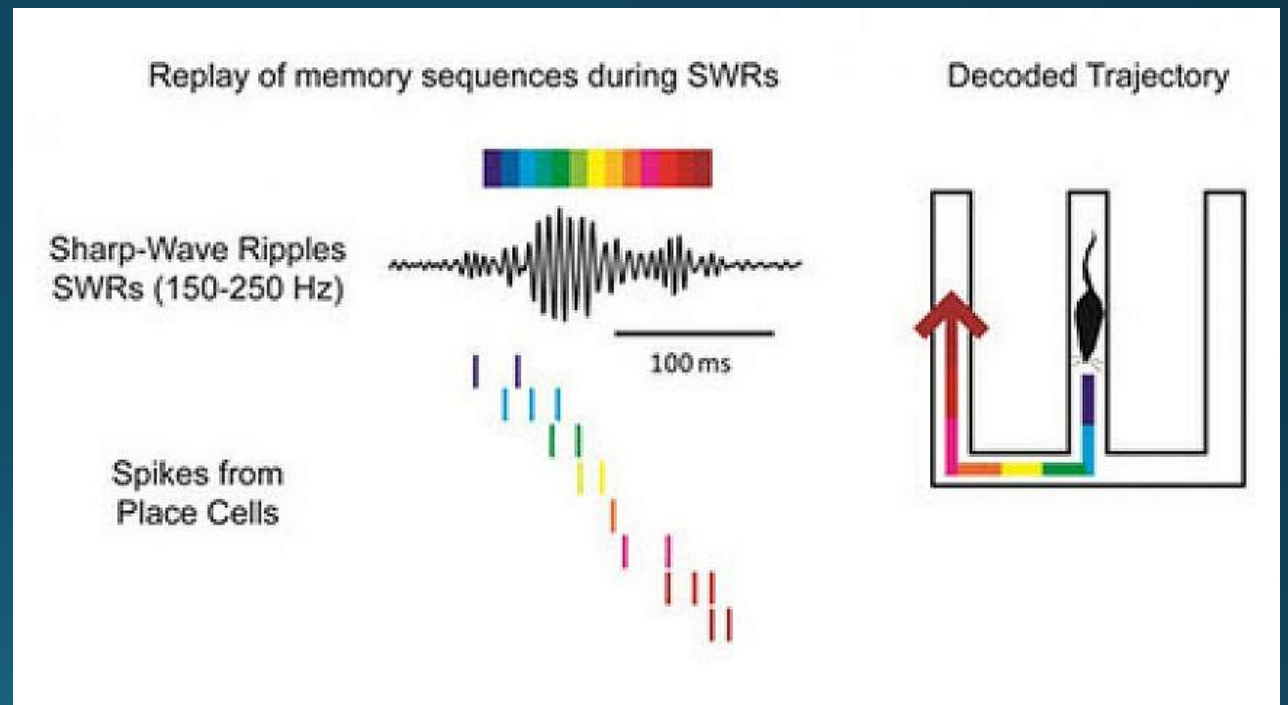


Korelační matice zobracující dynamické změny aktivity populace neuronů



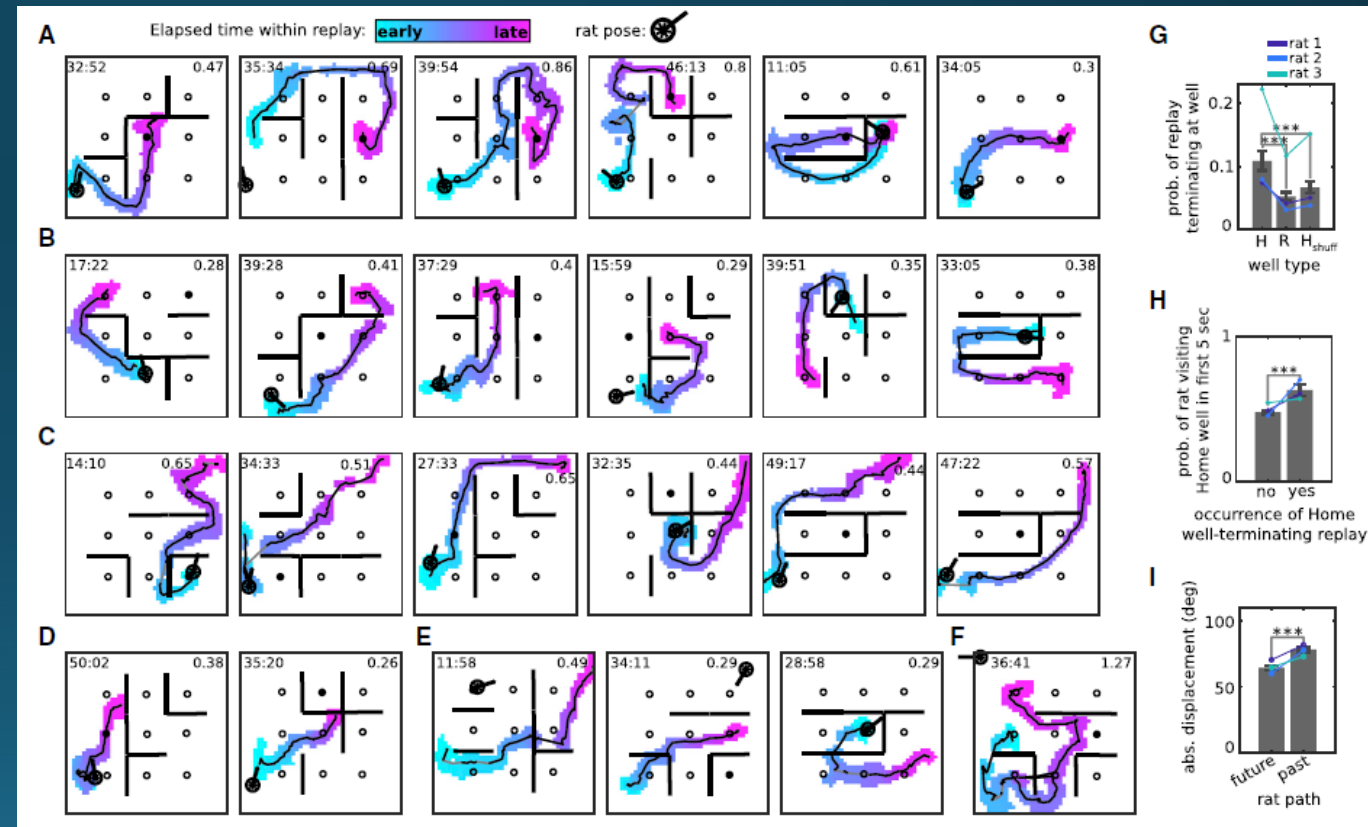
Přehrání aktivity (replay)

- opakovaný výskyt sekvence aktivací buněk, ke kterým také došlo během aktivity, ale v mnohem rychlejším časovém měřítku
- přehrání trajektorie - buňky místa jsou aktivovány jako v reakci na stejnou prostorovou cestu
- přehrání během SWRs
- během spánku nebo bdělého odpočinku
- role v konzolidaci paměti



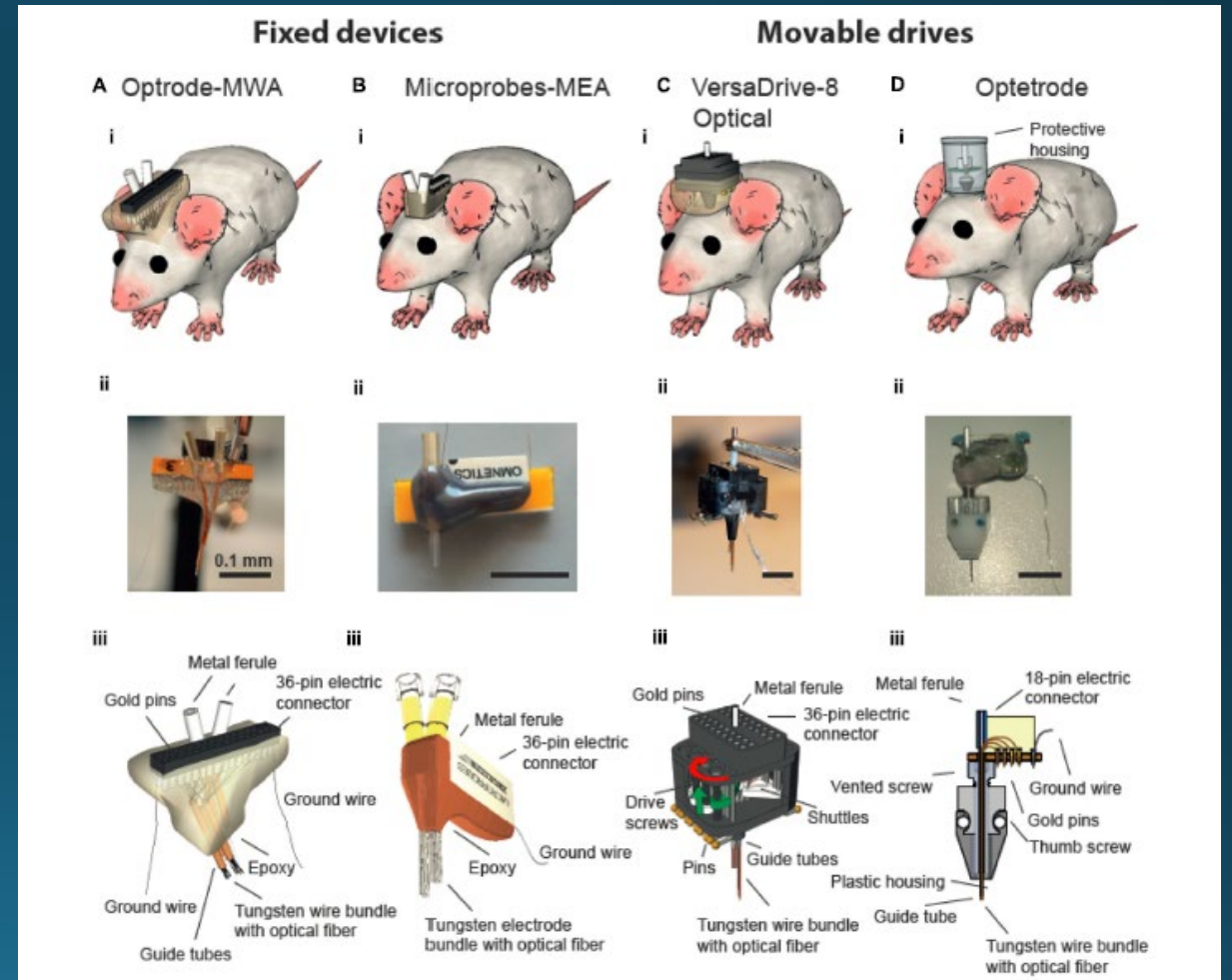
Přehrání aktivity může predikovat okamžité budoucí chování

- dekódování trajektorie založené na sekvenci buněk místa, které byly aktivní během přehrávání
- pravděpodobnost, že potkan navštíví konkrétní místo, byla vyšší, pokud cestě předcházelo přehrání aktivity končící v tomto místě



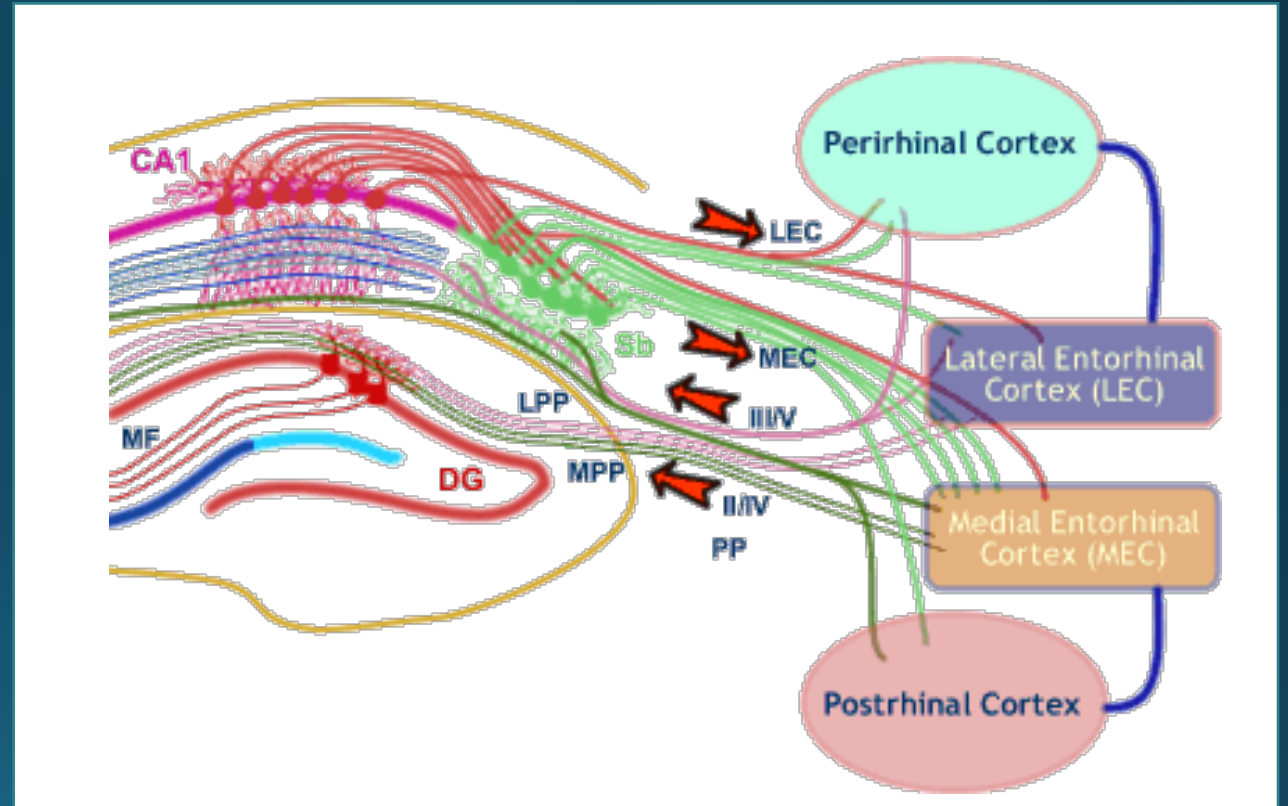
Elektrofyzologie a optogenetika

- manipulace se specifickými neurony v místě nahrávání (např. inhibice interneuronů a zkoumání tohoto efektu na aktivitu pyramidových buněk či na LFP)



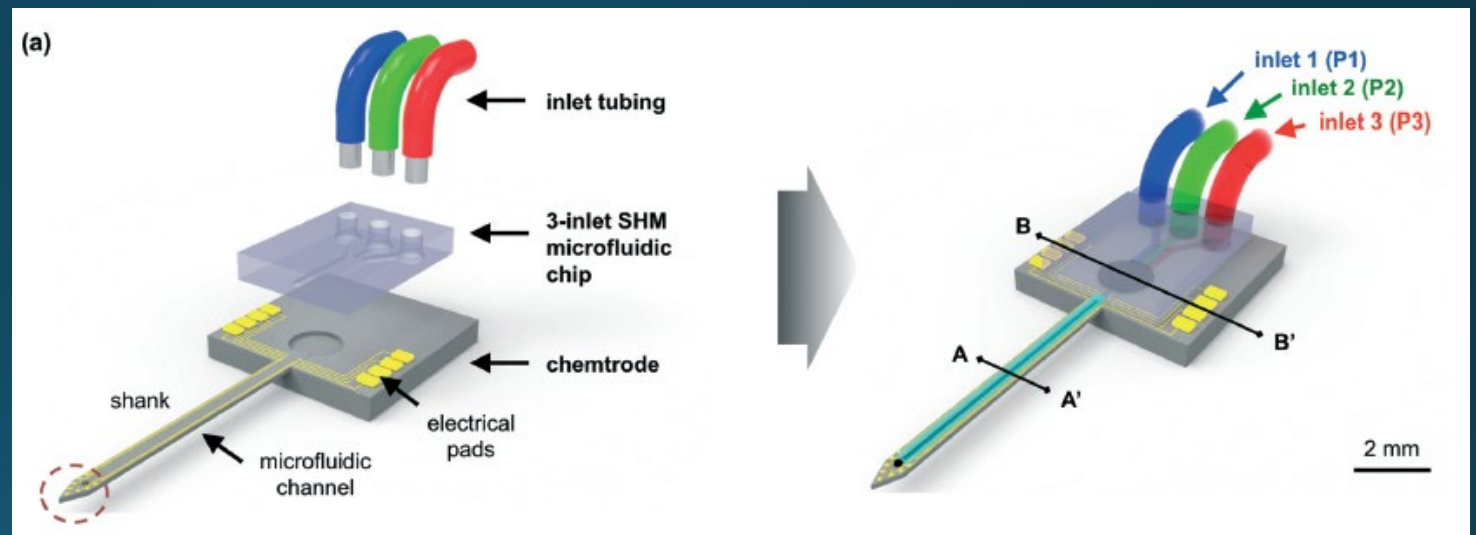
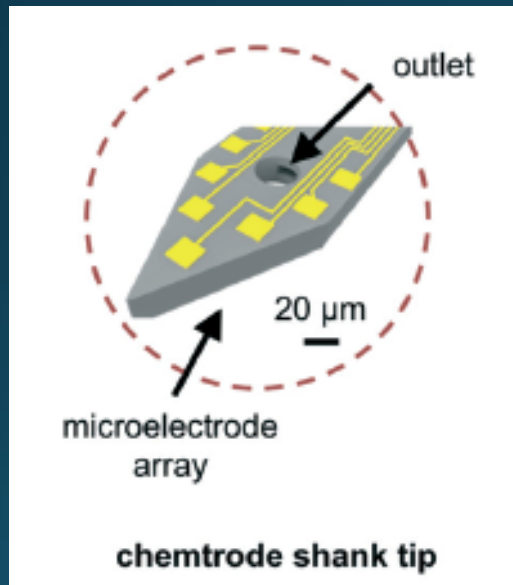
Elektrofyzologie a optogenetika

- manipulace s neurony v jedné struktuře a nahrávání v jiné struktuře (např. inhibice projekcí z konkrétního vstupu a zkoumání tohoto efektu na aktivitu buněk v cílové struktuře)



Elektrofyzologie a lokální farmakologie

- lokální administrace farmaka přímo do místa nahrávání



Děkuji za pozornost!

