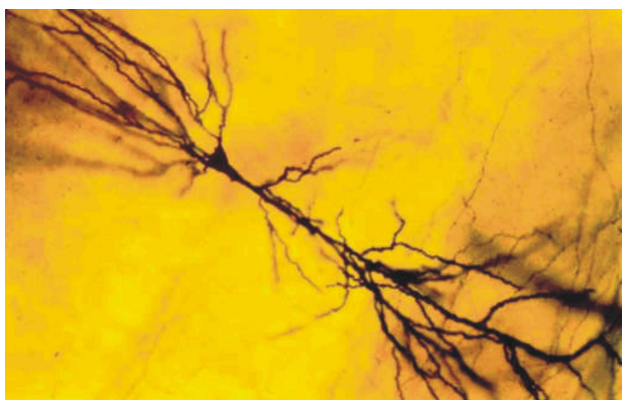

Stedcellenes fyringsmønster under påvirkning av belønning og forsøksapparatets geometri

av

Pernille Karlsen



Hovedfagsoppgave til *Candidata Scientiarum* graden i
Eksperimentell og Human Fysiologi



Universitetet i Bergen
Institutt for Biomedisin
Seksjon for Fysiologi
Bergen, januar 2004

Innhold

Figurer	vi
Tabeller	vii
Forord	i
Sammendrag	iii
1 Introduksjon	1
1.1 Hukommelse og hippocampus sin funksjon	2
1.1.1 Anatomisk inndeling av hippocampus	3
1.1.2 Pyramideceller	6
1.1.3 Stedceller – egenskaper og særtrekk	7
1.1.4 Funksjonell inndeling av hippocampus	10
1.2 Belønning	10
1.2.1 Fysiologiske aspekter ved belønning og motivasjon . . .	11
1.2.2 Hukommelse, motivasjon og oppmerksomhet kan påvirke stedcellenes aktivitet	11
1.3 Teorier	12
1.3.1 Integrering av bevegelsesbaner	12
1.3.2 Kognitivt kart	13
1.3.3 Kognitiv graf	14

1.3.4	Spatial kontekst	14
1.4	Navigasjon	14
1.4.1	Navigasjon hos rotter	15
1.4.2	“Head direction” celler	16
1.5	Formålet med denne studien	18
1.5.1	Eksperimentell design	19
2	Material og Metode	21
2.1	Forsøksdyr	21
2.2	Preparering av registreringselektrode	22
2.3	Operasjon	25
2.3.1	Bedøvelse og kirurgi	25
2.3.2	Implantasjon	26
2.4	Testing og registrering	28
2.4.1	Oppsett for registrering	28
2.4.2	Forsøksfelt	29
2.4.3	Firkantet apparat	32
2.4.4	Rundt apparat	32
2.5	Analyse	35
2.5.1	Isolering av aksjonspotensialer	35
2.5.2	Analyse av atferd og fyringsmønster	35
2.6	Histologi	37
3	Resultater	39
3.1	Data	39
3.2	Registrering, isolering og identifisering	40
3.3	Rottenes atferd	42
3.4	Stedcellenes fyringsmønster	44

3.5	Oppsummering av resultatene	46
3.6	Elektrodeplassing	47
4	Figurer til resultatdelen	49
4.1	Rottenes atferd	49
4.2	Stedcellenes fyringsmønster	53
5	Diskusjon	61
5.1	Hovedfunn	61
5.2	Diskusjon av material og metode	61
5.2.1	Valg av forsøksdyr	62
5.2.2	Registrering og analyse	63
5.3	Diskusjon av resultatene	66
5.3.1	Betydning av belønning	67
5.3.2	Betydning av landemerker	68
5.3.3	Betydning av forsøksapparatets geometri	69
5.3.4	Spatial kontekst	70
5.3.5	Karakteristiske trekk ved fyringsfeltene	71
5.3.6	Rottens oppmerksomhet til omgivelsene	71
5.4	Navigasjon hos mennesker	72
5.5	Debatt om hippocampus	73
5.6	Oppsummering og konklusjon	74
5.7	Forslag til videre arbeid	75
A	Datoprotokoll	77
B	Sess–Anal	79

Figurer

1.1	Snitt av rottehjerne med hippocampus	3
1.2	Plasseringen av hippocampus i rottehjerne	4
1.3	Ulike nervebaner i hippocampus	5
1.4	Pyramidecelle	7
1.5	“Morris water maze”	16
1.6	Oversikt over eksperimentell design	19
2.1	Augat TM -plugg med kanyler og elektroder	24
2.2	Plattform med Augat TM -plugg og skruer	24
2.3	Skjematisk oversikt over forsøksoppsett	30
2.4	Skjematisk oversikt over rommet med forsøksfeltene	31
2.5	Lysintensitet i forsøksapparatet	32
2.6	Bilde av rotte B14 i firkantet apparat uten belønning	33
2.7	Bilde av rotte B14 i rundt apparat med belønning	33
2.8	Skjerm bilde i Off-line Sorter	34
2.9	Snitt av hippocampus hos rotte med elektrode i CA1-området	38
3.1	Bilde fra oscilloskop som viser fire kanaler samtidig	41
3.2	Bilde fra oscilloskop som viser utvalgte kanaler	41
3.3	“Complex spike”-aktivitet	42
3.4	Theta-aktivitet	42

3.5	Histologisk snitt som viser elektrodens plassering	47
4.1	Rottens aktivitet når hjemburet var i midten av apparatet . . .	50
4.2	Rottens aktivitet i det runde apparatet	50
4.3	Rottens aktivitetsnivå under ulike forsøksbetingelser	51
4.4	Betydningen av apparatets geometri for rottens aktivitetsnivå	52
4.5	Betydningen av belønning for rottens aktivitetsnivå	52
4.6	Kart over fyringsfelt i firkantet apparat uten belønning	53
4.7	Kart over fyringsfelt hos rotte P3 i rundt apparat	54
4.8	Kart over fyringsfelt hos rotte B14 i rundt apparat	55
4.9	Kart over fyringsfelt hos rotte B14 i firkantet apparat med belønning	56
4.10	Kart over fyringsfelt ved rotasjon av distalt landemerke	57
4.11	Sammenlikning av fyringsfelt i rundt og firkantet apparat . . .	58
4.12	Sammenlikning av karakteristiske trekk ved fyringsmønsteret til cellene ved rotasjon	59
4.13	Sammenlikning av karakteristiske trekk ved fyringsmønsteret til cellene i rundt og firkantet apparat	60
B.1	Rapport fra sesjon fire i firkantet apparat uten belønning med rotte B14	81
B.2	Rapport fra sesjon to i rundt apparat med rotte B14	82
B.3	Rapport fra sesjon fem i firkantet apparat med belønning med rotte B14	83

Tabeller

2.1	Koordinater til elektrodens plassering	26
3.1	Antall rotter som ble brukt i laboratoriearbeidet	39
3.2	Oversikt over innsamlet data	40
3.3	Oppsummering av resultater	46
A.1	Datoprotokoll for rotter som ble brukt i laboratoriearbeidet. . .	78
B.1	Analysekriterier og parametre i Sess–Anal	80

Forord

Hovedfagsoppgaven er utført ved Institutt for Biomedisin, Seksjon for Fysiologi ved Universitetet i Bergen, i tidsrommet februar 2001 til desember 2003.

Jeg vil rette en stor takk til min tålmodige og alltid hjelpsomme veileder Bolek Srebro. Takk for at du ikke ga meg opp, men alltid oppmuntret til videre innsats de gangene motet var i ferd med å breste. En stor takk også til Eirik Thorsnes som alltid har tatt seg tid til grundige gjennomganger av de tekniske finessene, og ikke minst takk for krisehjelp når datamaskinen var usamarbeidsvillig. Takk til Heidi, Eirik og Åse-Marit for korrekturlesing og nyttige tips underveis. Takk til “PKI’s” for en kjekk studietid gjennom hovedfaget og “BBB’s” for hyggelig samvær den siste tiden av oppgaveskrivingen. Jeg vil også rette en stor takk til nære venner og min kjære familien for all støtte og oppmuntring.

Bergen 2. februar 2004

Sammendrag

I hippocampus hos rotter finner man en type nerveceller som aktiveres stedspesifikt. Dette innebærer at de kun er aktive når rotten er i et bestemt område av omgivelsene. Disse cellene kalles stedceller (eng: “place cells”) og er forskningsobjektet i denne hovedoppgaven.

Jeg har forsøkt å kartlegge noen av de fysiologiske egenskapene til stedcellene i hippocampus. Dette ble gjort gjennom elektrofysiologiske registreringer av stedcellenes aktivitet, samtidig som rottens bevegelsesmønster ble lagret. Rottene var kronisk implantert med bevegelige elektroder i CA1-området i hippocampus og ble testet under ulike forsøksbetingelser. Fyringsmønsteret til stedcellene og atferden til rottene i de ulike forsøkssituasjonene ble sammenliknet for å finne karakteristiske trekk som følge av påvirkning fra ulike faktorer i ulike forsøkssituasjoner. Dette innebar distale og proksimale landemerker, belønning og geometrien til forsøksapparatene.

Følgende funn ble gjort i denne studien:

- Belønning påvirket rottens atferd. Rotten beveget seg raskere, og besøkte flere områder i forsøksfeltet, når det ble gitt belønning enn når den ikke fikk belønning.
- Stedcellenes fyringsmønster påvirkes av belønning. Aktivitetsnivået til stedcellen var høyere i de sesjonene der rotten fikk belønning, enn når rotten ikke fikk belønning.
- Geometrien til forsøksapparatet påvirket atferden til rotten. Rotten hadde et høyere aktivitetsnivå i firkantet enn i rundt apparat.
- Stedcellenes fyringsmønster påvirkes av forsøksapparatets geometri. Stedcellene hadde høyere fyringsfrekvens i det firkantede apparatet, enn i det runde apparatet.
- Det distale landemerket kontrollerte fyringsmønsteret til stedcellene i

firkantet apparat. Dette ble vist når apparatet ble rotert 90° , og fyringsfeltene fulgte etter.

- De proximale landemerkene hadde liten, eller ingen kontroll over stedcellenes fyringsmønster i denne studien.

Kapittel 1

Introduksjon

Atferd er et resultat av samspillet mellom arv og miljø. Hos pattedyr er læring og hukommelse den viktigste mekanismen for at miljøet skal kunne påvirke atferden. Lagring og prosesseringen av hukommelse gir utslag i endret atferd, og det bidrar rett og slett til at vi er den vi er, ved at det vi opplever preger oss som individer. Læring og hukommelse spiller en viktig rolle når pattedyr skal orientere seg i sine omgivelser. Evnen til navigasjon på grunnlag av tidligere erfaringer gir dyrene en egen oppfattelse av omgivelsene, og gir de mulighet til å planlegge sine bevegelser. Dette gir pattedyr og fugler bedre muligheter til å finne mat, unngå predatorer og til å finne make. Den typen hukommelse som ligger til grunn for navigasjon kalles spatial hukommelse, og hippocampus har blitt utpekt som et hovedsete for denne typen hukommelse.

I 1971 oppdaget O'Keefe og Dostrovsky gjennom forsøk med rotter at pyramidecellene i hippocampus økte fyringsraten når rotten befant seg i spesifikke områder av omgivelsene [73]. Egenskapene til disse nevronene, som ble kalt som stedceller har senere blitt nøye studert. Stedcellen ble funnet i en tid det ble forsket mye på hippocampus gjennom kliniske observasjoner. Oppdagelsen av stedceller hos rotter ble en bekreftelse av de kliniske funnene på cellulært nivå. Derfor var oppdagelsen av stedcellene et gjennombrudd som ga eksperimentelle beviser på de tidligere kliniske observasjonene. Funnene fikk stor betydning for forståelsen av hippocampus sin funksjon i lagring og prosessering av hukommelse. Kliniske funn på femtitallet viste at hippocampus spiller en avgjørende rolle for orienteringsevnen hos mennesker. Dette ble avdekket gjennom studier av pasienter med skader i hippocampus. Det er særlig studier av en pasient som betegnes med initialene "H.M." som har bidratt til innsikt i hippocampus sin funksjon hos mennesker [87]. H.M. gjennom gikk en operasjon der deler av hippocampus, amygdala og tempo-

ral lappen ble fjernet for å redusere epileptiske plager. Etter operasjonen led H.M. av anterograd amnesi; han husket ikke nye hendelser eller mennesker han nettopp hadde møtt, men opplevelser og mennesker fra barndommen husket han godt. H.M. sin intelligens og evne til å lære nye motoriske ferdigheter var normal. Funnene fra H.M. gjorde at hippocampus ble antatt å spille en avgjørende rolle for lagring av ny informasjon. I tillegg til kliniske observasjoner hos mennesker har atferdstudier på rotter og mus også bidratt til å avdekke hippocampus sin rolle i navigasjon og spatial læring. Studier på rotter med lesjoner i hippocampus har vist at orienteringsevnen svekkes når hippocampus ikke er intakt [59, 60]. I tiden etter oppdagelsen av stedcellene i 1971 har utallige studier bidratt til at hippocampus sin sentrale rolle i prosessering av spatial informasjon har blitt akseptert.

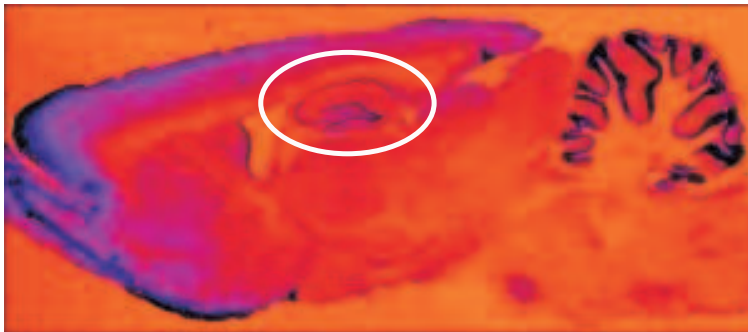
Studier på stedcellene i hippocampus hos rotter er et ledd i kartleggingen av hippocampus sin funksjon i lagring og gjenkallelse av hukommelse, også hos mennesker. Stedcellene kan gi informasjon om hvordan hukommelse fungerer på cellulært nivå. Dette er viktig i et samfunnsmedisinsk perspektiv. Det er en forutsetning å forstå hvordan normal hukommelse fungerer, før en kan avdekke mekanismene som forårsaker hukommelsessvikt som for eksempel Alzheimers sykdom og senilitet. En bedre forståelse av hippocampus sin funksjon kan på lang sikt bidra til mer effektiv behandling av hukommelsessvikt.

1.1 Hukommelse og hippocampus sin funksjon

Hos mennesker deles hukommelsen inn i deklarativ og nondeklarativ. Den nondeklarative hukommelsen hentes frem ubevisst, for eksempel innlærte motoriske ferdigheter. Den deklarativ hukommelsen krever bevissthet og omfatter blant annet ansikter, fakta, hendelser og objekter [12]. Den deklarativ hukommelse kan videre inn i semantisk og episodisk hukommelse [68, 100]. Semantisk hukommelse omfatter faktaopplysninger. Gjenkjennelse av spasielle relasjoner som hendelser, kontekst og landemerker klassifiseres under episodisk hukommelse. En av hjernens viktigste funksjoner er å lagre minnespor for personlige hendelser i hverdagen. Episodisk hukommelse er et kognitivt system som er ulikt andre hukommelsesystemer, og gjør det mulig for mennesker å huske hendelser i fortiden [101].

Hvilken rolle hippocampus spiller for de ulike typene hukommelse, hos forskjellige dyrearter, er komplisert å avdekke fordi strukturen er sterkt forbundet med omliggende hjernestrukturer som korteks, thalamus og andre lim-

biske strukturer. Lesjonsstudier gir derfor ikke utvetydig informasjon om hippocampus, siden det er stor sannsynlighet for at strukturene med forbindelse til hippocampus også blir rammet av lesjonen. Hippocampus sin rolle for hukommelse er derfor ikke helt avdekket, men det er utviklet en rekke teorier, disse omtales senere i avsnitt 1.3. Det er ikke fullstendig enighet mellom forskningsgruppene i fagmiljøet om hippocampus sin funksjon (diskuteres i avsnitt 5.5). Det foreligger imidlertid mye data som utpeker hippocampus til en nøkkelstruktur for en rekke deklarativer hukommelsesfunksjoner, spesielt episodisk og spatial hukommelse. Studier av spatial hukommelse hos rotter har vært viktig for å kartlegge hippocampus sin rolle for hukommelsen også hos mennesker.

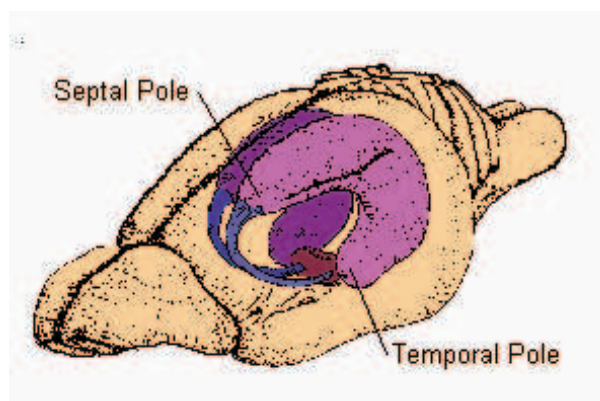


Figur 1.1: Bilde av snitt av rottehjerne. Hippocampus ligger like under hjernebarken og er merket med en sirkel. Cellelagene i hippocampus vises ved at de har en mørkere farge enn den omliggende substansen (hentet fra www.nba19.med.uth.tmc.edu/homepage/erich)

1.1.1 Anatomisk inndeling av hippocampus

Hippocampus er en bilateral struktur som ligger rett under korteks hos rotter, se figur 1.1. Strukturen er en S-formet innfoldning av korteks. Hippocampus er en del av en gruppe strukturer som utgjør den hippocampale formasjonen, se figur 1.2. Den hippocampale formasjonen inkluderer hippocampus, gyrus dentatus og subiculum og er en del av det limbiske systemet. Hippocampus er delt i subregioner på grunnlag av cellearkitektoniske forskjeller. Den mest brukte inndelingen er CA1, CA2, CA3 og CA4 (CA står for *cornu ammonis*), som ble gjort av Lorente de Nò [48]. CA2 har en uklar avgrensning til CA1 og CA3, og blir derfor ofte ikke nevnt. CA4 kalles også hilus. Andersen et al [2] har foreslått en hypotese der hippocampus har en lamellær organisering langs den dorsoventrale akse. Det innebærer at funksjonelt og morfologisk like enheter gjentas gjennom hippocampus. Hver lamella er en

uavhengig enhet som er i stand til å utføre samme funksjon, og som kan modifiseres inhibitorisk og eksitatorisk av nabo-lamella. Lopes da Silva et al. [47] deler hippocampus formasjonen i syv lag. Det første laget *stratum moleculare* består hovedsaklig av fibre og dendrittiske terminaler. Det andre laget, *stratum lacunosum* består av kollateraler og eksterne fibre. Lag nummer tre heter *stratum radiatum* og består av Schaffer–kollateraler og karakteristisk spredte cellelegemer. I *stratum pyramidale* ligger cellelegemene til pyramidecellene, og utgjør det fjerde laget av CA1. Det femte laget, *stratum oriens* består av internevroner og Schaffer–kollateraler som terminerer på de basale dendrittene til pyramidecellene. I alveus møtes afferenter fra entorhinalkorteks og aksoner fra pyramidecellene. Det siste laget utgjøres av epitellaget til ventrikkeloverflaten.



Figur 1.2: Skjematisk tegning som viser plasseringen av hippocampus i rottehjerne med omliggende strukturer.

Figuren er hentet fra <http://www.nba19.med.uth.tmc.edu/homepage/erich/place.htm>

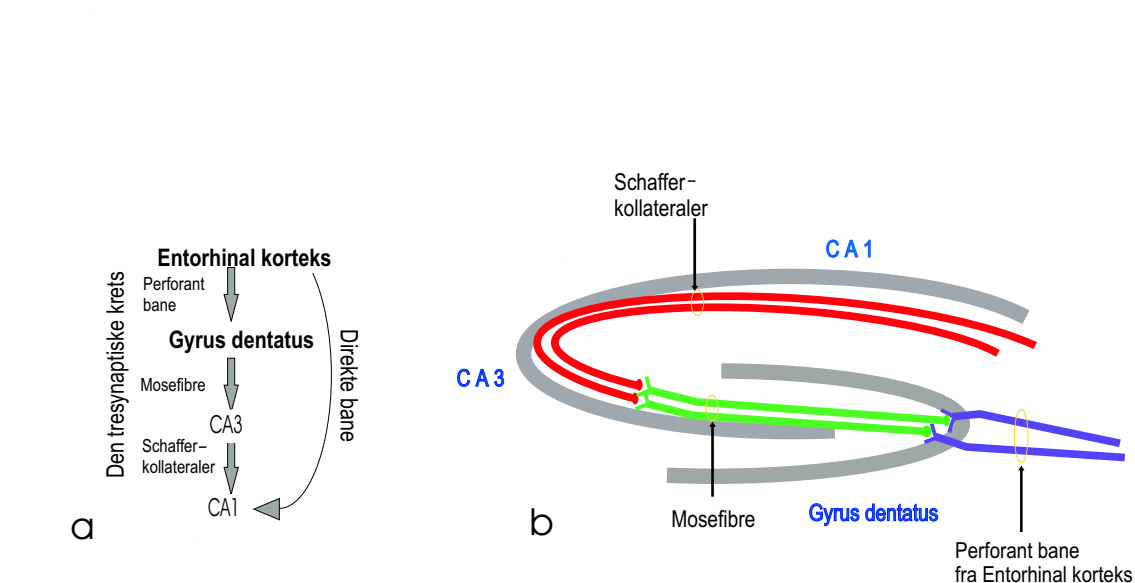
Nevronale forbindelser

Den anatomiske plasseringen til hippocampus gjør den til en sentral struktur med forbindelser til en rekke kortikale og subkortikale enheter. Afferente fibre inerverer hippocampus hovedsaklig fra entorhinalkorteks gjennom den perforante bane [48], og fra de mediale septumkjernene gjennom fornix-fibre [91]. Entorhinalkorteks mottar sanseinformasjon via afferente nerveceller i kortikale områder og projiserer tilbake til mange av de samme kortikale områdene. Informasjon som mottas av entorhinalkorteks kan dermed sendes gjennom hele det hippocampale nettverket, bearbeides og deretter sendes tilbake til de kortikale områdene hvor informasjonssignalene hadde sin opprinnelse [91]. Denne bearbeidingen av sanseinformasjon kan danne

grunnlaget for lagring av informasjon i langtids hukommelsen. Efferente fibre går tilbake til entorhinalkorteks, i tillegg til hypothalamus, presubiculum, septum og thalamus.

CA1-området sin hovedkilde til nevronal informasjon er via den såkalte tre synaptiske kretsen som går fra entorhinalkorteks til CA1 via gyrus dentatus og CA3 [30]. I tillegg går det en direkte bane fra entorhinalkorteks til CA1 [13], se figur 1.3. Studier har vist at den direkte banen mellom entorhinalkorteks og CA1-området selv kan være tilstrekkelig for gjenkjenning av minner, mens gjenkalling av minner er avhengig av CA3-området og at impulsene går via den tresynaptiske kretsen [13].

Schaffer-kollateralene er fibre som forbinder CA3 og CA1. Nevronene er eksitatoriske og bruker glutamat som transmittersubstans [11, 69]. Schaffer-kollateralene har hovedsaklig synapser på de apikale dendrittene til CA1-pyramidecellene i *stratum radiatum*. Forbindelser internt i CA1 utgjøres av et komplekst nettverk med internevrone som mottar eksitatorisk innput fra Schaffer-kollateraler og kollateraler fra pyramideceller. Internevronene kan også inhibere pyramideceller og andre internevrone.



Figur 1.3: Forbindelser mellom de forskjellige områdene i hippocampus. a viser den tresynaptiske kretsen som går fra entorhinalkorteks til CA1-området via gyrus dentatus og CA3. b viser hvordan nervebanene går gjennom de forskjellige områdene i hippocampus.

1.1.2 Pyramideceller

Pyramidecellen har navn etter formen på cellelegemet, se figur 1.4. Cellelegemene har variabel størrelse, de blir gradvis mindre fra CA3 til CA1, mens de apikale dendrittene gradvis blir lenger og tynnere fra CA3 til CA1. Cellelegemene i CA1 er ca 25–40 μm . De apikale dendrittene strekker seg 300 μm fra cellelegemene i *stratum pyramidale* til *stratum lacunosum-moleculare*. De basale dendrittene går fra cellelegemet til *stratum oriens* mot ventrikkel overflaten [91]. Begge dendritttypene har vidspredte forgreininger og høyt antall spinae.

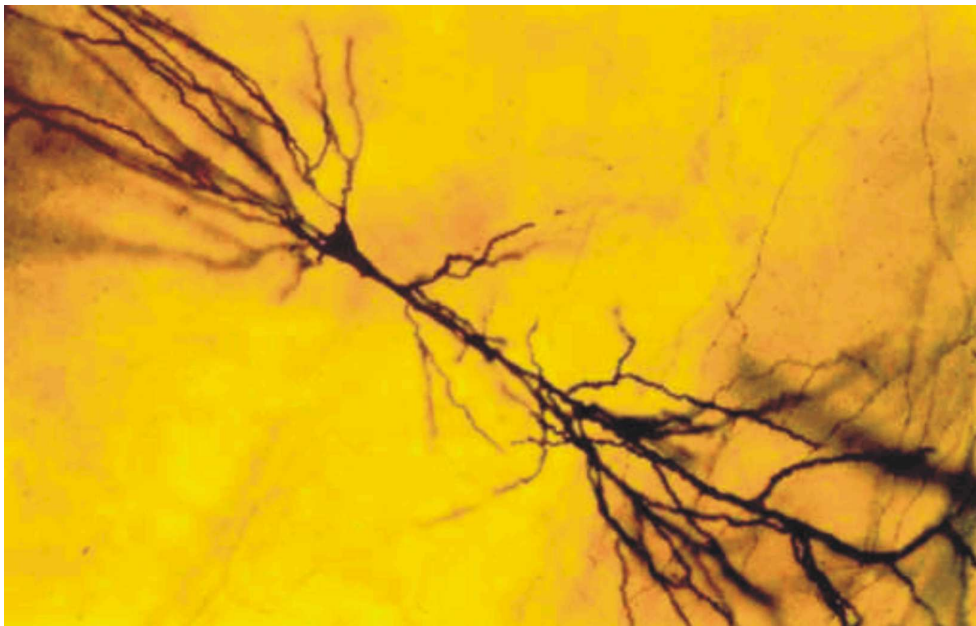
De fleste pyramidecellene genererer aksjonspotensialer i impulstog, og kalles “complex-spike” celler. Impulstogene forløper seg som tre til ti hurtige aksjonspotensialer med synkende amplitude og økende intervall [81]. Impulstogene fra “complex spike”-cellene likner stimuleringen som vanligvis blir gitt under forsøk med langtids-potensiering. Under slike forsøk er det påvist at stimuleringstogene forandrer spenningen mellom utsiden og innsiden på nevronet og kan føre til varige endringer av synapsestyrken [9]. Ut i fra det kan man postulere at “complex spike”-aktiviteten kan ha samme effekt på synapsene, som det er vist at den elektriske stimuleringen har.

Synaptisk plastisitet som nevronal modulering av cellenes egenskaper

Synapsene er hovedsete for kommunikasjon mellom nervecellene og overfører signaler fra den presynaptiske til den postsynaptiske cellen. Signaltransmisjonen kan være direkte gjennom elektrisk stimulering av den synaptiske spalten (eng: “gap junction”) eller indirekte ved hjelp av neurotransmittersubstans som stimulerer den postsynaptiske cellen kjemisk. Neurotransmittersubstansen binder seg til reseptorer på den postsynaptiske membranen og sørger for en depolarisering eller hyperpolarisering av membranen [6].

Grunnlaget for at dyr skal tilegne seg ulike typer informasjon ligger i synapsenes evne til å forandre styrken på nerveimpulsen. Det foregår ved at gjentatte stimuli kan føre til varige endringer i synapsestyrken og synapsens morfologi. Synapsen kan svekkes med LTD, langtidsdepresjon, eller styrkes med LTP, langtidspotensiering. LTP kan induseres av høyfrekvent elektrofysiologisk stimulering. N-metyl-D-aspartat (NMDA) reseptoren ser ut til å være sentral i de langvarige forandringene av synapsen, og dermed også for dyrenes evne til å lære. Studier med rotter som har fått injisert NMDA-reseptor-antagonist har vist at rottene får en svekket evne til å orientere seg

når NMDA resteptorene er blokkert [58]. Disse rottene hadde i motsetning til de normale ikke mulighet til å indusere LTP, og mistet da også muligheten til å tilegne seg spatial informasjon [14]. Disse utviklet sannsynligvis ikke mentale representasjoner og hadde ikke muligheten til å planlegge hvordan de skulle finne belønningen.



Figur 1.4: Golgi-preparat av pyramidecelle fra CA1-området i hippocampus. Bildet er hentet fra Synapse Web Medical College of Georgia.
<http://synapses.mcg.edu/anatomy/ca1pyrmd/ca1pyrmd.stm>

1.1.3 Stedceller – egenskaper og særtrekk

En stedcelle er en pyramidecelle i CA1 eller CA3 som fyrer steds spesifikt, den fyrer kun når rotten befinner seg i et bestemt område av omgivelsene [73]. Alle pyramideceller i hippocampus er potensielle stedceller. Stedcellene i hippocampus hos rotter utgjør et av de mest tydelige eksemplene på sammenheng mellom nevronal aktivitet og atferd hos pattedyr. De ble oppdaget av O'Keefe og Dostrovsky i 1971 [73]. O'Keefe og hans kolleger studerte hippocampus sin mnemoniske funksjon hos rotter uten lesjoner. Da de registrerte nevronal aktivitet fra nevroner i hippocampus ble det oppdaget at mange av cellene hadde steds spesifikk firing. Disse cellene var svært aktive når rotten var i et bestemt område, og nesten helt stille når rotten befant seg i de øvrige deler av omgivelsene. Stedcellenes rolle for spatial hukommelse har siden blitt kartlagt

gjennom studier på rotter, mus og mennesker med skader i hippocampus. Det området som aktiverer stedcellen til å fyre betegnes som cellens fyringsfelt.

Stedcellenes fyringsfelt

Når rotten befinner seg i fyringsfeltet øker aktiviteten til stedcellen opptil 40 Hz [64]. Utenfor fyringsfeltet fyrer stedcellen mindre enn 0,1 Hz. De ulike fyringsfeltene er jevnt fordelt utover apparatets overflate [64]. I noen studier er det vist at fyringsfeltene har en tendens til å ligge nær veggen av apparatet [28]. Fyringsfeltene er ofte plassert i nærheten av sensoriske stimuli, for eksempel visuelle, olfaktoriske eller auditive [22, 28]. Fyringsmønsteret til stedcellene kan være stabilt over flere dager [97], noe som tyder på at den mentale representasjonen gjenkalles, heller enn å dannes på nytt hver gang rotten kommer i kjente omgivelser.

Landemerker som kan kontrollere stedcellenes aktivitet

Hva aktiverer stedcellene til fyre når rotten er i fyringsfeltet til cellen?

Plassering av fyringsfelt og fyringsmønster i feltet bestemmes av de spatiale landemerkene rotten har tilgang til i omgivelsene. Studier har vist at lokaliseringen av fyringsfeltene kontrolleres både av allosentrisk [75] og ideotetisk informasjon [36]. Den allosentrisk informasjonen er informasjon som dyret henter fra sine omgivelser, mens den ideotetiske informasjonen genereres internt av likevektsorganet og det proprioceptive systemet. I de fleste situasjoner brukes allosentrisk og ideotetisk informasjon samtidig, men hvis informasjon fra den ene typen landemerke er fraværende, benytter dyret den gjenværende informasjonen. For å finne ut hvilke landemerker som kontrollerer fyringsfeltene, kan man studere hvilke manipuleringer av omgivelsene som fører til endringer i fyringsmønsteret. Endring av allosentrisk informasjon fra omgivelsene har sterk innvirkning på stedcellenes fyringsmønster. Den sensoriske informasjonen som rotten har tilgang til i omgivelsene, deles i proksimale og distale landemerker, avhengig av hvor nært rotten de er lokalisert. De proksimale landemerkene befinner seg nærmest rotten og omfatter lukt, lyd og synsinntrykk fra lokale objekter. De distale landemerkene er plassert mer perifert i omgivelsene, for eksempel et hvitt ark på apparatets vegg.

I studier der omgivelsene til rotten roteres er det vist at fyringsfeltene følger med apparatet [63, 72]. Dette tyder på at den visuelle distale informasjonen har kontroll over fyringsfeltet. Selv om det ser ut til at distale landemerker

har stor innflytelse på stedcellenes aktivitet er det også vist at proksimale landemerker kan kontrollere fyringsfeltene.

Det er en rekke studier som har vist at proksimale landemerker internt i forsøksapparatet kan utøve kontroll på stedcellenes fyringsmønster [40, 63, 88]. Hill & Best viste i 1980 [29] at stedcellene hos blinde og døve rotter dannet stabile fyringsfelt som roterte med apparatet. Det tyder på at rottene også bruker annen informasjon som er basert på ideotetiske kjennetegn fra det proprioceptive og det vestibulære systemet. I denne studien forsøkte de også å utelukke den vestibulære informasjonen ved å rotere rotten rundt så den mistet retningsansen, før den ble plassert i forsøksapparatet. Disse forsøkene viste at rotten i mangel på ideotetisk informasjon brukte proximale landemerker. I en studie av Save [86] ble det sammenliknet fyringsmønstrene hos blinde rotter med normale. Studien viste at rotter uten tilgang på visuell informasjon hadde stedceller med fyringsmønster som likner fyringsmønsteret fra de normale rottene. Begge gruppene hadde fyringsfelt som roterte med apparatet. Forskjellen mellom de to gruppene var at fyringsfeltene ble dannet raskere hos rottene som hadde synet i behold. Hos de blinde rottene utviklet stedcellene fyringsfelt først når rotten hadde utforsket objektene i apparatet.

Omorganisering av den mentale representasjonen av omgivelsene

Endringer i rottenes omgivelser kan føre til at fyringsfeltene til stedcellepopulasjonen flyttes. Denne omorganiseringen av fyringsmønsteret skyldes at cellene lager en ny representasjon av omgivelsene [10]. Dette fenomenet kalles “remapping” og er grunnlaget for at hjernen skal kunne ha en representasjon for hvert miljø. Dersom omgivelsene ikke endrer seg er fyringsmønsteret til stedcellene det samme hver gang rotten er i de bestemte omgivelsene uavhengig av tidsintervallet mellom hvert besøk [97]. Et felt som ligger i nærheten av et landemerke som blir fjernet reduserer fyringsraten og størrelsen på feltet [28]. Hvor stor påvirkning manipulering av landemerkene får på fyringsfeltene avhenger av distansen mellom fyringsfeltet og landemerket. Stedceller som blir registrert samtidig kan vise variable grader av omorganisering av det spatiale fyringsmønsteret etter heterogen modulering av rottens omgivelser [3]. Dette kan tyde på at forskjellige stedceller henter informasjon fra forskjellige kilder i omgivelsene. Hvis rotten er tilstede og observerer at det foretas endringer i omgivelsene har manipuleringene ingen innflytelse på stedcellenes fyringsmønster [45].

1.1.4 Funksjonell inndeling av hippocampus

De afferente og efferente forbindelsene endrer seg gradvis fra den dorsale til den ventrale enden av hippocampus. Det kan tyde på at den dorsale og ventrale delen har ulike funksjoner. Moser og Moser har foreslått en funksjonell differensiering av hippocampus langs den dorsoventrale akse [61]. De antyder at hippocampus kan være en funksjonelt heterogen struktur der forskjellige områder av hippocampus er spesialisert til å utføre bestemte deler av hukommelsesprosessen, eller muligens forskjellige typer hukommelse. Det er uenighet i fagmiljøet om hvorvidt hippocampus sin funksjon er begrenset til spatial hukommelse, eller om hippocampus også har en rolle i lagring av ikke-spatial hukommelse (diskuteres i avsnittet 5.5). Dersom hippocampus bidrar i lagring av forskjellige typer hukommelse, kan det være mulig at de forskjellige områdene av hippocampus prosesserer forskjellige typer hukommelse. Den ventrale og den dorsale delen av hippocampus har ulike nevronale forbindelser med korteks og subkorteks. Informasjon fra synsbarken går hovedsakelig til den dorsale delen av gyrus dentatus. Forsøk med rotter der bare en liten del av dette området er funksjonelt, har vist at rottene likevel er i stand til å løse spatiale oppgaver. Med en tilsvarende blokkering av den dorsale delen der kun den ventrale delen av hippocampus er inntakt, klarer rotten ikke å løse de spatiale oppgavene. Det er vist at den posteriore delen av hippocampus hos rotter har flere stedceller enn den ventrale delen [38]. Det tyder på at den dorsale delen har en mer fremtredende funksjon i navigasjon.

Hos mennesker er det vist at den posteriore og anteriore delen av hippocampus har forskjellige oppgaver [52]. Den posteriore delen aktiveres når gammel viten skal gjenkalles, mens den anteriore delen brukes når ny kunnskap skal tilegnes. Den posteriore delen er vist å spille en viktigere rolle for navigasjon enn den anteriore. Det er gjort liknede funn hos fugler [15] og aper [16].

1.2 Belønning kan påvirke atferd og spatial læring

Rottenes atferd kan påvirkes av belønning og rottenes oppmerksomhet for omgivelsene. Muligens kan også stedcellenes fyringsmønster påvirkes av belønning og av hvor interessante omgivelsene er for rotten.

1.2.1 Fysiologiske aspekter ved belønning og motivasjon

Motivasjon kan anses som den drivende kraften til individets atferd, der en viljestyrt prosess motiveres til å skje for å dekke et behov. Hypothalamus regulerer homeostasen i hele kroppen, og sørger for å opprettholde fysiologiske balanser som temperatur, energi og vann [6]. Reguleringen av homeostasen starter med en sensorisk transduksjon, der nivået av en regulert parameter, for eksempel glukose, estimeres av spesialiserte sensoriske nevroner. Dersom glukosenivået i blodet avviker fra normalen sørger de sensoriske nevronene for en integrert respons som består av tre komponenter, humoral respons, visceromotorisk respons og somatomotorisk respons. Samspillet mellom disse bringer glukosenivået tilbake til en normalverdi. Den somatosensoriske responsen utøves av nevroner i den laterale delen av hypothalamus. De påvirker atferden og får individet til å oppsøke mat dersom glukosenivået er lavt. Det er også sterke bevis for at basalgangliene med dopaminerge nevroner spiller en viktig rolle for motivasjonsbasert atferd. Basalgangliene styrer følelsen av nytelse og velbehag. Elektrofysiologisk stimulering av de laterale områdene av hypothalamus har vist at nevronene der setter igang “matrelatert” atferd. Studier har vist at rotter som har fått dopaminerge blokkere mister interessen for å lete etter mat. Dersom førmengden til et dyr reduseres vil hypothalamus og basalgangliene sørge for at dyrets motivasjon til å finne mat øker.

Motivasjon kan forsterke responser gjennom belønning eller straff. Forsterkninger kan bidra til mnemoniske prosesser, de kan for eksempel påvirke konsolidering av langtids hukommelse [102]. Det antas at assosiativ informasjon om belønning kommer fra basolateral amygdala [85]. Amygdala påvirker kognitive prosesser som hukommelse og motivasjon. Kliniske funn hos mennesker med skader i amygdala og lesjonstudier på aper har vist at individer uten inntakt amygdala har en forstyrret emosjonell reaksjon. De kan være apatiske til ting de vanligvis ville fryktet og overreagerer i forhold til ting de normalt ville oversett [24].

1.2.2 Hukommelse, motivasjon og oppmerksomhet kan påvirke stedcellenes aktivitet

Dersom den nevronale aktiviteten til stedcellene og rottens atferd endres selv om landemerkene i omgivelsene er uendret, kan dette skyldes endringer i rottens oppmerksomhet til omgivelsene. Rottene kan trolig veksle mellom å bruke ulike typer informasjon fra omgivelsene til å navigere. Valget av landemerke som brukes kan være basert på rottens oppmerksomhet til det

i omgivelsene som oppfattes som viktig. Effekten av landemerket ser ut til å være avhengig av atferdsituasjonen rotten befinner seg i og erfaringer rotten har gjort seg tidligere. Rotter som er blitt trent under bestemte forhold, og senere testet i samme forhold, kan reagere forskjellig på de samme omgivelsene [36, 41]. Rotten kan være selektivt oppmerksom til utvalgte landemerker som den oppfatter som viktige. Hollup et al har vist at stedceller har en tendens til å fyre i området rundt plattformen i en “Morris vannlabyrint” [31] (se avsnitt 1.4.1 og figur 1.5 for beskrivelse av Morris vannlabyrint). Dette kan tyde på at rotten er spesielt oppmerksom på dette området fordi den vurderer plattformen som viktig.

Stedcellenes rolle i spatialhukommelse er ikke direkte bevist, men observasjoner fra enkle sensoriske omgivelser antyder at deres aktivitet kan moduleres av tidligere erfaringer, og at fyringsmønsteret bestemmes av faktorer som kun er tilgjengelig i rottens hukommelse [78, 75]. Visuelt identiske omgivelser kan generere forskjellige representasjoner når oppmerksomheten rotten har til omgivelsene endres [26]. Hvis de visuelle landemerkene er ustabile, vil rottens oppmerksomhet til disse landemerkene avta og rotten vil lære seg til å følge idiothetiske landemerker i stedet [41, 36]. Dette kan indikere at rotten bruker multiple representasjoner som er knyttet til forskjellige landemerker, og at de kan veksle mellom disse representasjonene. En antar at stedcellene bruker en kombinasjon av landemerkene som er tilgjengelig i omgivelsene i tillegg til rottens tidligere erfaringer fra miljøet når de etablerer fyringsmønstre [78].

1.3 Teorier om mentale representasjoner av omgivelsene

Stedcellen blir sett på som den neurale enheten i mentale kart som lagrer en representasjon av omgivelsene. Denne representasjonen hjelper dyrene til å finne frem i miljøet sitt [83]. Det er utviklet en rekke modeller og teorier på hvordan den spatiale informasjonen organiseres i hippocampus. Disse presenteres nedenfor og diskuteres i avsnitt 5.3.4 og 5.5 i diskusjonsdelen.

1.3.1 Integrering av bevegelsesbaner

Evnen til å returnere til et utgangspunkt fra en hvilken som helst lokalisering i en bestemt omgivelse er basert på integrering av bevegelsesbaner. Integrering av bevegelsesbaner kan defineres som “prosessen med å estimere

endringen i ens posisjon ved å integrere ens hastighet med tid” [25]. Det er utviklet en rekke modeller og teorier på hvordan integrering av bevegelsesbaner kan foregå, og i hvilke deler av hjernen dette finner sted. For å integrere bevegelsesbaner må dyret vite sin posisjon, retning, fart og muligens ha en mental representasjon over omgivelsene. Stedcellene i hippocampus registrerer rottens posisjon, “Head Direction” cellene (se definisjon i avsnitt 1.4.2) i subiculum registrerer retningen til rotten, farten rotten beveger seg i blir sanset av vestibulære og proprioceptive systemer, og det antas at hippocampus står for den mentale representasjonen av omgivelsene [83]. McNaughton et al. har foreslått at hippocampus har en nøkkelrolle i dannelsen av bevegelsesbaner hos rotter [54]. Han har vist at fyringsfrekvensen til stedcellene i fyringsfeltene er relatert til farten rotten har når den beveger seg i feltet; jo fortere rotten beveger seg, jo sterkere fyrer cellene [55]. O’Keefe og Nadel mener at integrering av bevegelsesbaner kan spille en viktig rolle i hvordan kognitive kart blir dannet i hippocampus [74].

1.3.2 Kognitivt kart

Idéen om et kognitivt kart ble først presentert av Tolman i 1932 [99]. O’Keefe og Nadel utviklet denne idèen videre i 1978 [74]. De utviklet teorien om at stedcellene hos rotter og andre dyr, danner et nettverk av celler som utgjør et kognitivt kart. Dette gir dyret en mental representasjon av omgivelsene. Grunnlaget for teorien ble lagt da de fant ut at cellenes firing var nært knyttet til hvor i omgivelsene rotten befant seg. Et kognitivt kart legger grunnlaget for spatial hukommelse og evnen til fleksibel navigasjon. Plasseringen til dyret i forhold til omgivelsene blir registrert ved hjelp av fyringsmønstrene til stedcellen. Hvert miljø som rotten har vært i er representert med et kognitivt kart i hippocampus. O’Keefe og Nadel antar at det kognitive kartet genereres mens rotten utforsker omgivelsene, og at nysgjerrighet er tilstrekkelig motivasjon. Hippocampus blir et senter for hukommelsesystemet som gir dyret referansepunkter basert på landemerker og hendelser dyret har opplevd i de gitte omgivelser [74]. De kognitive kartene utgjør det nevronale substratet i denne sammenhengen. Hypotesen om det kognitive kartet har senere blitt testet mye og de fleste har kommet frem til resultater som styrker hypotesen [84].

1.3.3 Kognitiv graf

Muller et. al. [66] har utviklet en annen teori om hvordan den mentale representasjonen tar form: “Den kognitive grafen”. Denne teorien er basert på nervecellenes evne til å endre synapsenes styrke og morfologi gjennom LTP. Etableringen av den mentale representasjonen av omgivelsene er basert på at celler med tilfeldig eller overlappende fyringsfelt aktiveres samtidig, og fører til fasilisert synaptisk transmisjon gjennom LTP. Mens celler med fyringsfelt som er langt fra hverandre aldri fyrer sammen, trolig ved hjelp av LTD og nedsatt synaptisk transmisjon. Dette nettverket med forbindelser som er proporsjonalt med synaptisk motstand kan illustres med en graf, der hvert punkt i grafen er en stedcelle. Punktene er forbundet med hverandre hvis cellene punktene representerer er i synaptisk forbindelse med hverandre. Grafen skal gå mellom de punktene som har lavest mulig synaptisk motstand.

1.3.4 Spatial kontekst

I 1999 foreslo Mizumori [56] en modell der hippocampus spiller en rolle med å sammenlikne spatiale kontekster som var forventet, ut i fra erfaring, med den reelle konteksten. Denne sammenlikningen gir dyret informasjon om endringer i omgivelsene. Hun antar at gradvise endringer i fyringsmønsteret til stedceller skyldes sammenlikning av nåværende og tidligere kontekst, til forskjell fra umiddelbare endringer som er registrert fra spatielt selektive celler i basalgangliene og andre hjernestrukturer. På grunnlag av de nevronale forbindelsene antar Mizumori at kontekst-sammenlikningen finner sted i hilus/CA3-området i hippocampus og at CA1-området fungerer som midlertidig stasjon som organiserer informasjonen området har mottatt fra CA3 stedcellene.

1.4 Navigasjon

Navigasjon er prosessen der det bestemmes en bane eller en kurs som holdes for å komme seg fra en plass til en annen [25]. Navigasjon er en av de mest fundamentale kognitive prosessene som pattedyr trenger for å overleve. En egen oppfattelse av omgivelsene basert på tidligere erfaringer gir individet mulighet til å planlegge bevegelsene sine og finne korteste vei til målet [77]. Uten presis navigering ville mennesker og andre dyr være ute av stand til å finne mat og vann, og veien tilbake til reiret eller hjemmet. Evnen til

navigasjon gir dyrene et evolusjonsmessig fortrinn ved at de lettere kan unngå predatorer og letter finne en potensiell make [83].

Navigasjon blir ofte delt i to hovedkomponenter, “rute navigasjon” og “kartbasert navigasjon” [74, 83]. Rute navigasjon er enkel stimulus-respons aktivitet som en antar rotten bruker når den skal gå mot et bestemt mål eller skal gå en identisk rute hver gang [39]. Kartbasert navigasjon legger avansert landemerke konfigurasjoner til grunn, og gir mulighet for spatiale resonnement for eksempel å ta en snarvei. Rute navigasjonen er avhengig av *nucleus caudatus*, og den kartbaserte navigasjonen er knyttet til hippocampus [39, 53].

1.4.1 Navigasjon hos rotter

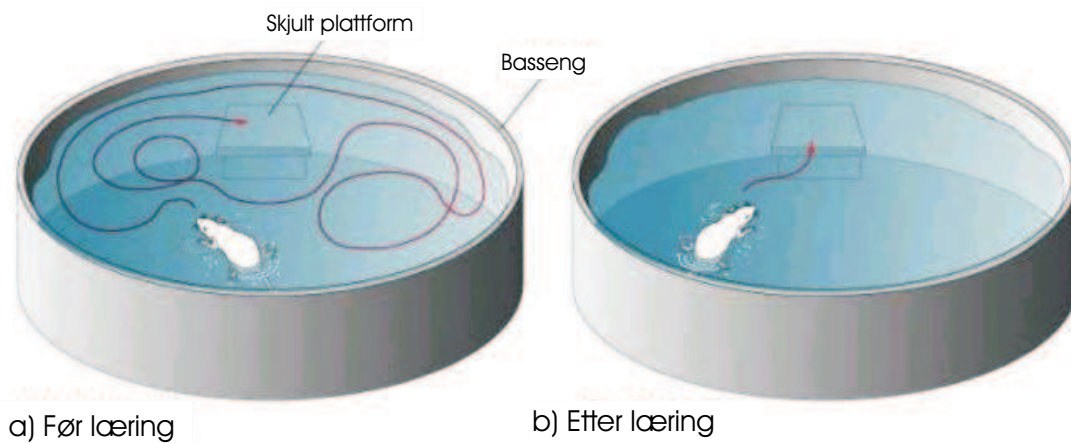
Sammenhengen mellom landemerker og integrering av bevegelsesbaner (eng: “Path integration”) gir grunnlaget for evnen til å navigere i kjente omgivelser. Forsøk med frittgående rotter som leter etter belønning har vist at de etter noen sesjoner lærer seg å benytte den korteste veien til belønningen [42].

Forsøk med rotter i vannlabyrint ble første gang publisert av Morris i 1981 [59] og har senere vært viktig for å studere kartbasert navigasjon hos rotter, og for å kartlegge hippocampus sin rolle [32]. Dette har blitt gjort gjennom lesjonstudier [20, 43], forsøk med nevrofarmakologiske manipulasjoner [103], transplantasjoner [70], genetiske mutasjoner [92] og svekkelser ved aldring [4]. I de fleste vannlabyrintene er plattformen senket ned i vannet. Vannet er melkehvitt slik at plattformen ikke er synlig for rotten på avstand. Rotten er derfor avhengig av å bruke distale landemerker for å navigere seg frem til plattformen. For å lære hvor plattformen er plassert trengs aktivisering av NMDA reseptorene i hippocampus.

Andre områder i hjernen som deltar i navigasjon

Oppdagelsen av stedceller og hippocampus sin avgjørende rolle i spatial læring, gjorde at forskere begynte å lete etter spatiale egenskaper hos celler i områder som er anatomisk forbundet med hippocampus. Hos rotter har det blitt funnet celler som fyrer spatialt selektivt i *gyrus dentatus* [37], *medial entorhinal korteks* [79], *subiculum* [90] og *parasubiculum* [94].

fMRI studier hos mennesker har vist at også andre strukturer i hjernen, i tillegg til hippocampus, aktiveres i navigasjonsoppgaver som er basert på



Figur 1.5: “Morris water maze”, a) viser svømmeruten til en rotte som er i bassenget for første gang. Etter en rekke besøk i bassenget vet rotten hvor plattformen befinner seg og svømmer direkte dit, b). Bildet er hentet fra Neuroscience–Exploring the brain [6].

mentale kart. Andre områder som aktiveres er parahippocampal gyrus, posterior cingulate, inferior parietal korteks og cerebellum [1, 51].

1.4.2 “Head direction” celler

I jakten på celler med spatiale egenskaper utenfor hippocampus er det oppdagelsen av “Head Direction” celler (HD celler) hos rotter, som har fått mest betydning. HD cellene ble første gang registrert av Ranck i 1984 [82]. HD cellenes egenskaper er komplimentære til stedcellene hos rotter. Fyringsmønsteret er knyttet til retningen rottens hode har i det horisontale plan i forhold til omgivelsene, mens stedcellen fyrer i forhold til hvor rotten befinner seg, uavhengig av orienteringen [95, 96]. HD cellene er, som stedcellene, en del av det limbiske systemet. De er hovedsaklig registrert i subkortikale områder, og noe i de laterodorsale thalamiske kjerner [8, 93]. Den første gruppen HD celler som ble oppdaget var i postsubiculum [82]. Senere er det funnet HD celler i rekke strukturer i rottehjernen: Anteriore thalamiske kjerner [8], laterale mammilare kjerner og laterale dorsale kjerner i thalamus. Mange av de områdene der det finnes HD celler er nært anatomisk bundet til hverandre. Det er mange likhetstrekk i egenskapene til de to spatiale celletypene. Begge har evnen til å bli oppdatert på endringer i kjente omgivelser, mens de etter en rekke registreringer i de samme omgivelsene ofte har stabile fyringsfelt.

Det er stor sannsynlighet for at det er kommunikasjon mellom HD cellene og stedcellene [41]. Det ser ut til at de to celletypene styres av den samme nevronale informasjonen. Både HD celler og stedceller sitt fyringsmønster påvirkes når visuelle landemerker manipuleres.

Hvordan samarbeider stedcellene og HD cellene?

Det er utviklet en rekke teoretiske modeller på hvordan samarbeidet mellom stedceller og HD celler kan integrere bevegelsesbaner, og på hvordan stedcellepopulasjonen og HD cellene er koblet sammen med hverandre. Mekanismene bak dette kan være basert på Hebbs lov der synapser mellom to celler som representerer punkter som ligger nært hverandre blir styrket ved læring. Dermed kan en HD celle som representerer en bestemt retning styrke en stedcelle som har fyringsfelt i denne retningen. For hvert steg i bevegelsesbanen sammenliknes HD cellens aktivitet med retningen på rottens hode. Dersom det ikke er samsvar mellom disse, vil rotten måtte snu seg for å redusere avstanden mellom hoderetningen og retningen rotten bør holde for å nå målet sitt. På denne måten kan HD cellenes retningsystem fungere som bindeledd mellom det kognitive kartet og omgivelsene, slik at kartet kan kontrollere bevegelsene riktig [65]. Denne teorien mangler empiriske bevis, men gir muligens en forklaring på HD cellenes oppgaver. Ragozzino har registrert stedceller og HD celler samtidig [80]. Når landemerker som rottene kjente fra tidligere ble introdusert i nye omgivelser, eller når nye landemerker ble satt i kjente omgivelser, endret retningspreferansene seg konsekvent med fyringsfeltene til stedcellene. Men når visuelle og ikke-visuelle landemerker var i konflikt med hverandre, responderte de to celletypene i uoverenstemmelse med hverandre. Dette mønsteret antyder at den gjeldende oppfatningen og forventningen av en kjent spatial kontekst kan modulere et dynamisk forhold mellom stedcellene og HD cellene.

Et nøkkelelement i dannelsen av et kognitivt kart er i følge Muller [66], at styrken til de LTP-modifiserbare synapsene mellom stedcellen representerer avstanden mellom fyringsfeltet til det pre og post synaptiske nevronet (se tidligere omtale av “Den kognitive graf” i avsnitt 1.3.3). Dette finner sted fordi stedceller med overlappende felter som fyrer samtidig vil styrke synapsen mellom disse cellene. Synapser mellom stedceller som ikke har nærtliggende fyringsfelter forblir uforandret. Bevegelsesbaner planlegges ved å velge sekvenser av stedceller som har lav synaptisk motstand. Hvis nettverket av stedceller har kraftige synapser med lav motstand, vil fyringsfeltene for den utvalgte sekvensen av stedceller være en rett linje i omgivelser uten hin-

dringer [66]. Fra registreringer stedceller ser det ut til at kognitive kart ikke inneholder retningsinformasjon. Stedceller er i følge Muller omnidireksjonelle, fyringsraten er uavhengig av rottens orientering i rommet [62]. Kognitive kart kan brukes til å planlegge en bane som fører rotten direkte til målet, men rotten er også avhengig av å vite sin egen retning. Det antas derfor at HD cellene gjør det mulig for rotten å snu seg i riktig retning som fører til målet [65]. Fyringsmønsteret til HD cellene kan sammenliknes med et kompass; nålen peker alltid mot nord uansett hvor man er lokalisert.

1.5 Formålet med denne studien

I denne studien ble det registrert nevronal aktivitet i CA1-området i hippocampus hos rotter med kronisk implanterte elektroder. Rottene ble plassert i forsøksapparat med to forskjellige geometriske former; rund og firkantet. De ble registrert under to forskjellige forsøksbetingelser; med og uten belønning. Den nevronale aktiviteten ble registrert fra stedceller i CA1-området i hippocampus mens rotten utforsket sine omgivelser. Formålet med forsøkene var å vise hvilke virkninger belønning og apparatets geometriske form kan ha på atferden til rotten, og hvordan dette påvirker fyringsmønsteret til nevronene i rottens hippocampus. I de fleste studier på stedceller og spatlallering har rottene fått belønning under registreringen. Tidligere studier i vår forskningsgruppe har forsøkt å vise at belønningen og formen på forsøksapparatet kan ha påvirket resultatene [98]. I denne studien er det sammenliknet atferdsmønstrene og nevronal fyringsaktivitet hos rottene når de har fått belønning og under fri eksplorering uten belønning. Videre er det vist forskjeller knyttet til forsøksapparatets form.

Denne studien vil derfor forsøke å besvare følgende problemstillinger:



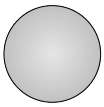

- Vil aktivitetsnivået til rotten påvirkes av belønning?
- Vil fyringsmønsteret til stedcellene påvirkes av belønning?
- Vil aktivitetsnivået til rotten påvirkes av forsøksapparatets geometri?
- Vil fyringsmønsteret til stedcellene påvirkes av belønning?
- Hvilke innvirkninger har distale og proksimale landemerker på stedcellenes fyringsmønster?
- Har rottens motivasjon, oppmerksomhet og nysgjerrighet innvirkning på stedcellenes fyringsmønster?

1.5.1 Eksperimentell design

Rottene ble registrert under fire forskjellige forsøksbetingelser:

- Firkantet apparat med hjembur i midten, med distalt landemerke, uten belønning og uten proksimale landemerker.
- Firkantet apparat uten hjembur, uten belønning, med distalt landemerke og proksimale landemerker i form av fire objekter.
- Rundt apparat med belønning, med distalt landemerke og uten proksimale landemerker.
- Firkantet apparat med belønning, med distalt landemerke og uten proksimale landemerker.

Planen var å ha et balansert design der rottene også ble registrert i det runde apparatet uten belønning og med proksimale landemerker.

Forsøks- betingelser Apparatets geometri	 Med belønning, uten objekter som proksimale landemerker.	 Uten belønning, med proksimale landemerker.
	Rundt apparat med belønning, uten proksimale landemerker.	Rundt apparat uten belønning, med proksimale landemerker.
	Firkantet apparat med belønning, uten proksimale landemerker.	Firkantet apparat uten belønning, med proksimale landemerker.

Figur 1.6: Oversikt over eksperimentell design. Forsøkssituasjonene som ble gjennomført er skrevet med blått, mens den forsøkssituasjonen som det ble registrert i er skrevet med rødt.

Kapittel 2

Material og Metode

Kartlegging av stedcellenes fyringsmønster hos frittbevegelige rotter ble gjort gjennom følgende prosedyre:

- Bearbeiding av forsøksdyr gjennom håndtering og eksplorering i aktivitetskasse.
- Preparering av mikroelektroder for registrering av stedcellenes aktivitet.
- Implantasjon av registreringselektrode i rottehjernens korteks.
- Nedskruing av registreringselektroden til CA1-området i hippocampus, samtidig med testing av nevronal aktivitet.
- Registrering av nevroner i CA1-området i de forskjellige forsøksitasjonene.
- Sortering av den registrerte nevronale aktiviteten og isolering av aksjonspotensialer som kommer fra samme nevron.
- Identifisering av nevronet det ble registrert fra.
- Korrelering av stedcellens fyringsmønster med atferden til rotten.
- Lokalisering av hvor i hjernen registreringene var blitt foretatt.

2.1 Forsøksdyr

Registreringene av de hippocampale stedcellene, ble utført på Long Evans hannrotter (Taconic M&B AS, Møllegaard Avlssenter, Danmark). Etter ankomst ble de, i en hvileperiode på opptil en måned, oppbevart på dyrestallen i felles

bur med fire rotter i hvert bur. Sagflisene (fra Beekay Bedding, Quality Controlled Aspen Wood Chips, B&K Universal AS, Nederland) i burene ble skiftet en gang i uken. Rottene veide mellom 175 og 225g ved ankomst. De fikk mat (fra Beekay Bedding) og vann *ad libitum* til de hadde en vekt på ca 300 g. Deretter fikk de nok mat til å holde vekten på 300–350 g, ca 20g per dag. En måned før operasjonen ble rottene flyttet til laboratoriet og oppstallet i individuelle plastbur med størrelse $42,5 \times 26,6 \times 18$ cm (Scanbur B&K AS, Norge). De ble matet en gang om dagen, vann hadde de fri tilgang til. Rottene hadde en døgnsyklus på 12 timer dag og 12 timer natt. Lyset i oppstallingsrommet ble regulert av en klokke som slo lyset på klokken 1800 og av 0600. Den relative luftfuktigheten var rundt 30–45% og temperaturen var $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

Rottene ble håndtert i en måned før operasjonen. De ble jevnlig plassert i en aktivitetskasse (1×1 m) med små objekter. Denne kassen var plassert i et annet rom enn registreringsapparatene.

2.2 Preparering av registreringselektrode

Metoden for elektrodelaing er innført fra Kubie og Müller laboratoriet i SUNY, Brooklyn, New York [44].

Elektrodene ble trødd gjennom en guidekanyle og loddet til en plugg med 10 pinner. Rundt hver pinne ble en elektrodetråd snurret og dekket med sølvmaling. Plugg med elektrode ble deretter festet til en bevegelig plattform. Plattformen var trekantet med tre skruer som sto vinkelrett på flaten. Det ble satt et teflonbein på hver av tre skruene.

De forskjellige komponentene som inngikk i implantasjons plattformen:

- Guidekanyle.
- Mikroelektroder.
- Augatplugg.
- Plattform.

Guidekanyle

Guidekanylen besto av en indre tynn kanyle (29 gauge) og en ytre kanyle med bredere diameter (20 gauge). Begge kanylene var laget av rustfritt stål. Først

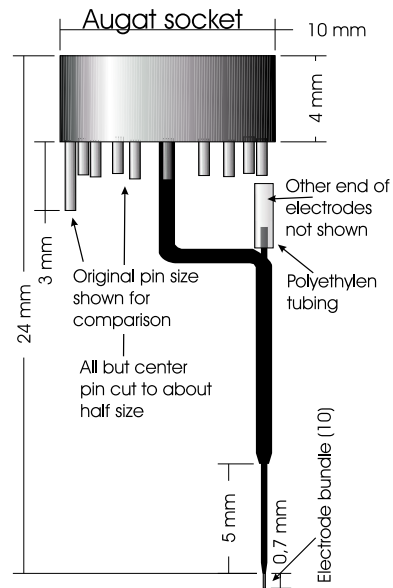
kuttes en 20 gauge kanylen til et 18 mm langt stykke. Den ene enden ble slipt og pusset før kanylen ble bøyd 90° 5 mm ned fra den enden som ikke er slipt (se illustrasjon). Kanylen ble bøyd en gang til i motsatt retning 3 mm fra den første bøyningen. I den siste vinkelen ble det laget hull til den tynne kanylen med dremmelen. Den indre kanylen ble kuttet til et 18 mm langt stykke og slipt rundt i den enden som skulle gå ned i hjernebarken. Den tynne kanylen ble ført gjennom den tykkere og loddet fast. Det var viktig at kanylen ikke hadde skarpe kanter og at loddingen er jevn. Til slutt ble kanylen rengjort i en sonicator (Bandelin, Sonorex TK-20).

Mikroelektrode

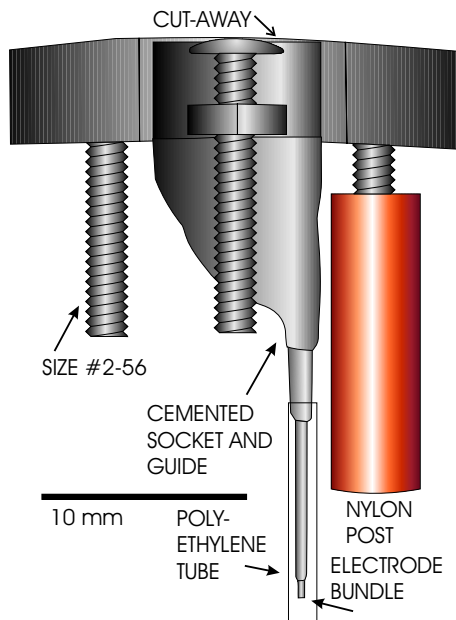
Mikroelektrodene ble laget av Formvard TM isolerte Stablohm 675 tråder (FormvarTM, California). Hver tråd var 25 μm tykke og ble kuttet til 4 cm lengde. Bunter på ti elektrodetråder ble ført gjennom den indre kanylen, omtrent 2 mm av mikroelektrodene stakk ut gjennom den slipte enden. For å beskytte elektrodene ble det festet et polytylen rør både på elektrodens tupp og på den bakre enden. Isolasjonen rundt den delen av elektrodene som skulle snurres rundt pinnene på pluggen måtte fjernes for at det elektriske signalet skulle kunne videreføres til pinnene på pluggen. Det ble gjort ved kort brenning med lighterflamme. Elektrodene ble deretter vasket blanke med aceton. Det var viktig at bunten med elektroder var våt og samlet for at de ikke skulle smelte sammen i flammen.

Augat TM-plugg

Guidekanylen med mikroelektrodene ble festet på en Augat TM-plugg laget av teflon. Augat TM-pluggen var 10 mm i diameter og hadde ti pinner i sirkel, i sentrum av pluggen ble det satt inn en ekstra pinne. På den sentrale pinnen ble guide-kanylen med elektrodene festet, se figur 2.2. Rundt hver av de ti pinnene ble det tvunnet en mikroelektrode. For å gjøre det enklere og tvinne, ble pinnene kuttet til halv lengde. Da de ti elektrodene var på plass ble kanylen loddet fast til sentralpinnen. Det ble sjekket at ingen av elektrodene var i kontakt med hverandre, noe som ville gitt kortslutning. Impedansen i elektrodene ble målt, og hvis verdien var tilfredsstillende, mellom 300–900 $\text{k}\Omega$, ble hver pinne isolert med sølvmaling. Dette tørket et døgn før luftrommet mellom pinnene ble fylt med dentalsement.



Figur 2.1: Augat TM -plugg med kanyler og elektroder. Figuren er hentet fra Eirik Thorsnes sin hovedoppgave 2001 [98].



Figur 2.2: Teflon plattformen med tre skruer som Augat TM -pluggen med elektrodene ble festet til. Figuren er hentet fra Eirik Thorsnes sin hovedoppgave 2001 [98].

Plattform

Etter at sementen var tørr ble åpningen i plattformen tilpasset pluggen med skalpell og pluggen ble limt fast til plattformen. Tre skruer (størrelse #2-56) ble festet i hver av de tre hjørnene til plattformen og en mutter ble limt fast på skruene. Utenpå ble det skrudd teflonhylser (4 mm i diameter) som på forhånd var kuttet til 1,5 cm lengde og uthult med drill. Teflonhylsene ble først skrudd helt inn for å lage gjenger og deretter skrudd ut slik at det var igjen fem rotasjoner. Dette ble gjort for at det senere skulle være mulig å senke elektrodene ned til hippocampus. Utsiden av teflonhylsen ble gjort ru med Dremmel® for at implanteringssementen skulle gripe og sitte skikkelig rundt skruene.

2.3 Operasjon

2.3.1 Bedøvelse og kirurgi

Operasjonsprosedyren som ble brukt var etablert ved laboratoriet. For en mer detaljert beskrivelse av metoden, se Eirik Thorsnes sin hovedfagsoppgave [98] appendix B. Alle rottene som inngikk i eksperimentdelen av hovedfaget ble implantert med samme prosedyre.

Rotten ble anestesert med Equithesin (Svaneapoteket, Bergen), dosen var 0,4 ml per 100 g kroppsvekt. Da rotten var dypt anestesert ble den barberet på hodet, lagt på en varmepute med termostat på 36°C og plassert i et stereotaksisk apparat (David Kopf Instruments, USA). Øynene ble dryppet med øyegel, Viscotears® (Novartis, Norge), for å hindre uttørking og irritasjon fra kjemikaliene som ble benyttet under operasjonen. Alt utstyr ble sterilisert med sprit og varmesterilisator (model 250, FST Inc.) før og under operasjonen. Huden på hodet ble vasket med alkoholfri jodinløsning før den ble snittet med skalpel. Åpningen startet rett bak øynene og gikk 4 cm caudalt. Huden ble brettet til side ved hjelp av fire kroker med lodd på for at skallen skulle bli helt synlig. Skallen ble vasket med gassbind duppet i H₂O₂ (3%), og hinner og vevsrester ble fjernet. Vevet ble holdt fuktig under hele operasjonen med temperert steril saltløsning. Under store deler av operasjonen ble det brukt operasjonsmikroskop. Musklene rundt skalletaket ble forsiktig løsnet ved å kutte i bindevevet. Musklene ble deretter dyttet utover og holdt borte fra skallen ved hjelp av tuppene på bomullspinner som var presset ned i kløften mellom skallen og muskelen. Bomullspinnene holdt

også musklene fuktige under hele operasjonen og hindret vevsdød. Tinningbeinet ble rengjort for vev med bomullspinner og saltløsning. Det var viktig at skallen var tørr og helt fri for vevsrester for at sementen rundt implantatet skulle gripe skikkelig. Skallen ble også gjort ruere med drillen både på sidene og oppå for å øke festeevnen til sementen.

2.3.2 Implantasjon

Det ble merket av tre punkt på skalletaket, ett foran til venstre og to bak for skruer som skulle gi støtte til implantatet. Det ble boret små fordypninger til skruene, slik at de skulle bli lettere å skru de ned. Stereotaksiske koordinatene for elektrodeplassering ble regnet ut med hensyn til Bregma og Lamda, i henhold til beregninger fra hjerneatlas [76]. Avstanden mellom Bregma og Lamda var mellom 7,5 og 8,0 mm. Skallen lå plant i stereotaksen når den dorso-ventrale koordinaten var lik for Bregma og Lambda.

Tabell 2.1: Koordinater på skallen for boring av hull til elektroden.

Anterior-Posterior	+ 3,7
Medio-Lateralt	- 2,4

Punktet for boring ble funnet ved hjelp av målepinne og det stereotaksiske apparatet og merket av med blyant. Skallen ble åpnet med et 1,8 mm bor. Boringen ble gjort under mikroskop for å hindre at boret gikk for langt ned og skadet hjernen. Beinrester i hullet ble fjernet med en dentalpirk før det ble tettet med koaguleringskum, Spongostan® (Ferrosan, Danmark), som var dyppet i saltløsning.

Deretter ble de tre støtteskruene skrudd såvidt ned i skallen foran og bak. Skruene var på forhånd kuttet med tang til 0,5 cm lengde og slipt. Blod og beinrester rundt skruene ble fjernet med små veker laget av tørkepapir. Skruene ble dekket med et tynt lag sement, Grip® Cement (fra Dentsply Inc., USA) og bindevæske Grip® Cement Solution (fra Dentsply Inc., USA). Sementpulveret og bindevæsken kunne blandes slik at sementen ble i ønsket tykkelse.

Elektrodene ble kuttet med en skarp saks (FST, Tyskland) og desinfisert med sprit like før de ble ført inn i hjernen. For å ikke bøye de tynne elektrodene ble dura snittet med en bøyd sprøytespiss. Elektroden ble så ført ned i hullets sentrum. Da elektroden var akkurat ved dura (“touch down”), ble koordinatene for elektroden notert. Elektrodens plassering i hjernen ble

beregnet ut fra den dorso–ventrale koordinaten, “touch down” + 1,3 mm. Hullet rundt kanylen ble dekket med koaguleringskum. Kanylen ble dekket med steril vaselin (Nycomed Pharma, Oslo, Norge) som var smeltet i vannbad og påført med en tynn sprøyte. Dette ble gjort for å hindre at sementen skulle feste seg til kanylen og gjøre elektroden ubevegelig.

Beina på plattformen ble dekket med tynn sement, da det var tørket ble tykkere sement lagt fra beina til skallen. Det var viktig at sementen var lagt jevnt uten luftbobler der det kunne oppstå betennelse. Da beina hadde sement på alle sidene og var godt festet til skallen med sement, ble det bygget opp vegger mellom beina for å beskytte elektroden og hullet inn til hjernen. Rotten ble tatt ut av stereotaksen for å avslutte sementeringen. Da var det lettere å se om det var noen små hull i sementen. Utsiden av implantatet måtte være helt glatt slik at huden og musklene kunne gro fint til rundt. Sementlagene mellom de tre beina dannet en brønn rundt elektroden og hullet inn til hjernen. Denne brønnen ble tilslutt fylt med silikon (fra Bostik Findley, Sverige) for å dekke og beskytte området rundt elektroden.

Da sementeringen var ferdig ble huden vasket med sterilt saltvann og alle sementrester fjernet. Huden bak implantatet ble sydd sammen igjen med sutur, Supramid® 1,5 4–0 (Resorba, Tyskland). Det ble sydd ca 4–5 sting, avhengig av hvor stor åpningen var. Når anestesiens begynte å gå ut ble huden smurt inn med lokalbedøvende gele, Xylocain® 2% (AstraZeneca, Norge). Rotten ble overvåket under oppvåkningen. I tre dager etter operasjonen ble området rundt implantatet smurt med Xylocain. For å unngå innflamasjon ble rotten behandlet med antiseptisk salve, Fucidin® 2% (LEO Pharma, Danmark), i en tid etter operasjonen.

Etter 10–14 dager med rekonvalesens ble rottene testet daglig i hjemburet. Dette foregikk mens buret var plassert på et bord i laboratoriet der registreringsutstyret var installert. Plattformen med elektroden ble gradvis senket nedover i hjernen ved at de tre skruene ble rotert. Det ble skrudd omtrent 50 μ m hver dag. I denne perioden ble rottene trent til å spise pellets (Bio-Serv®) og utforske omgivelsene i aktivitetskassen. Når en av elektrodene fanget opp signaler fra celler med “complex spike”-aktivitet og lokalspesifikk firing, ble aktiviteten registrert.

2.4 Testing og registrering

2.4.1 Oppsett for registrering

Registreringsutstyret besto av en datamaskin med programvare (Enhanced Discovery, DataWave.inc), videomonitor, videospiller, bryterpanel, oscilloskop (Tektronix TDS 224) og en forforsterker, se figur 2.3.

De elektriske signalene som elektrodene fanget opp ble sendt gjennom FET forforsterkeren med ti kanaler (laget i SUNY, Brooklyn). FET forforsterkeren minimaliserte artifakter fra muskler og bevegelser, og senker impedansen, slik at signalet lettere går videre. Denne var festet på en fleksibel ledning og plagget til rottens implantat. På forforsterkeren var det festet to grønne lys (LED) som ble brukt til å spore hvor rotten befant seg i forsøksfeltet. I tillegg ble rottens atferd tatt opp på video (Panasonic model WV-BP510/G) for senere kontroll av atferd.

Ved hjelp av bryterpanelet var det mulig å velge hvilke kanaler som var interessante å se nærmere på. På hver kanal ble to valgfrie elektroder vist i forhold til hverandre. Signalene ble forsterket $10000\times$ ved hjelp av Lynx-8 forsterker (Neuralynx, Arizona). Lynx-8 forsterkeren ble konfigurert med et passeringsfilter på 300–9000Hz (Butterworth, 12dB per Octave). Dataprogrammet Enhanced Discovery (DataWave Technologies, USA) registrerte aksjonspotensialene og lagret disse sammen med koordinatene for trackingsystemet i datamaskinen i en fil i "UFF" format. Signalene overført til oscilloskopet fra forsterkeren for monitorering av alle fire kanalene eller utvalgte kanaler. Fra oscilloskopet kunne utvalgte aksjonspotensialer overføres til en annen datamaskin og lagres. Dataprogrammet benyttet "generic one spot tracker" til å registrere rottens posisjon ved hjelp av kontrasten mellom den svarte overflaten og de to LEDene som var plassert på forforsterkeren koblet til rottens hode. Rottens posisjon ble registrert med en frekvens på 50 Hz. Et rutenett med 256×256 piksler ble lagt over videobildet og brukt til å beregne x og y koordinater for hvor rotten befant seg. Disse koordinatene ble overført og lagret i datamaskinen.

For kontroll ble rottene alltid registrert i hjemburet før de ble satt i registreringsapparatet. Dette ble gjort i samme rom som registrerings utstyret og laboratoriepersonellet var i. Ved hjelp av en bryterboks var det mulig å bruke det samme registreingsutstyret ved testing og registrering i hjemburet som ble brukt til registrering i forsøksfeltene. Over hjemburet ble det plassert en svartmalt trekasse for å forhøye veggene i buret. Dette ble gjort for å hin-

dre at rottene hoppet ut av buret under registreringen. Et videokamera ble montert 1 m over hjemburet og gjorde det mulig å følge med rottens posisjon under registreringen.

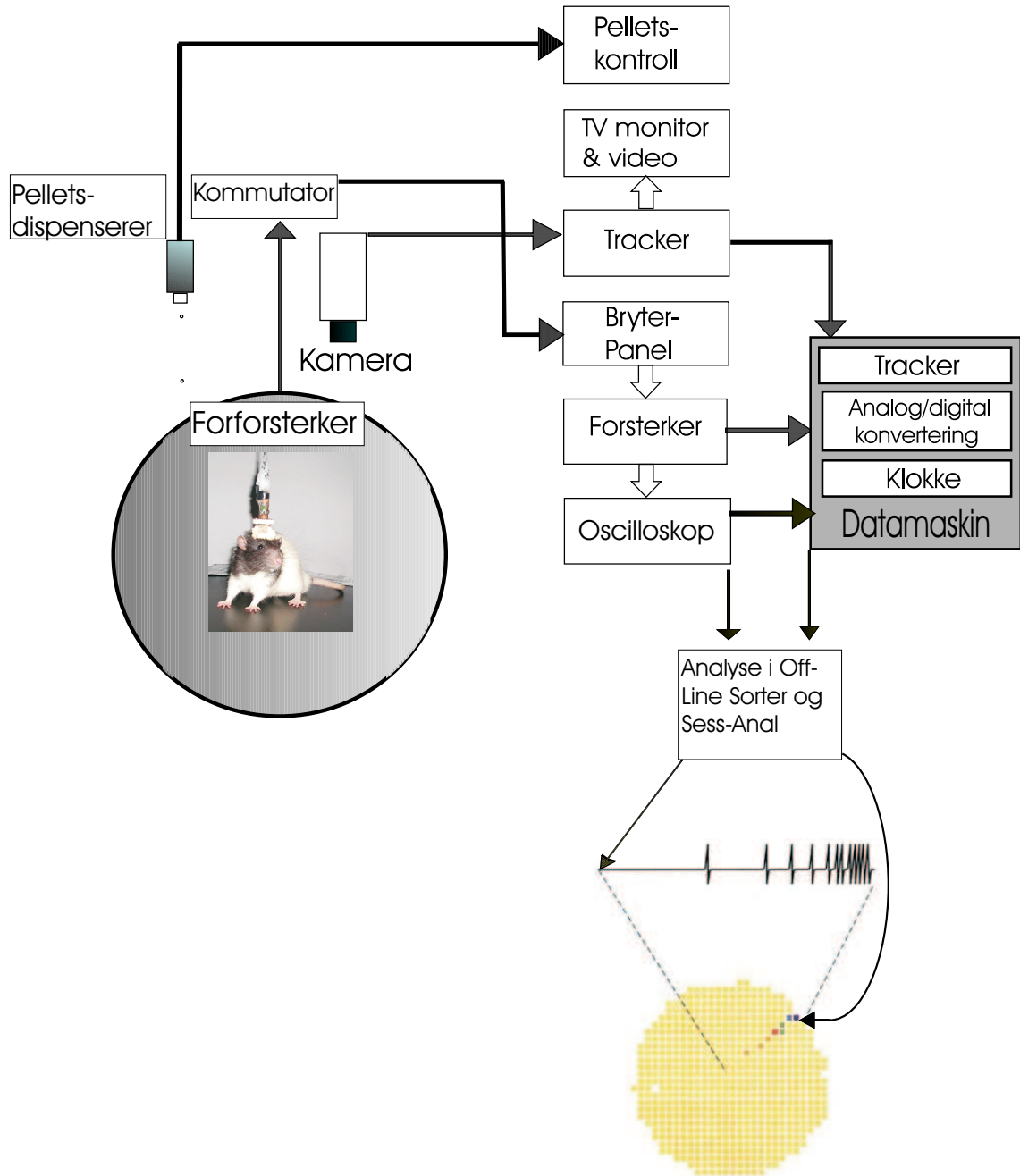
2.4.2 Forsøksfelt

Registreringene ble gjort i to forskjellige forsøksapparat. Det ene var rundt, se figur 2.7 og det andre var firkantet 2.6. Begge forsøksapparatene var plassert i et eget rom som var 2,20 × 2,20 m og 3,20 m høyt. Rundt forsøksapparatene skjermet svarte bomullsgardiner forsøksfeltet mest mulig fra rommet forøvrig. Hver gardinlengde var 2,10 m lang, det var derfor ca 1 m av veggen over gardinene som var udekket. Dette området var itillegg til taket malt svart. Begge forsøksapparatene hadde et distalt landemerke i form av et 70 cm langt og 50 cm høyt hvitt ark limt på den ene veggen. Forsøksapparatene sto på bein, 20 cm over gulvet. I de sesjonene der hjemburet til rotten var i apparatet ble dette plassert i et firkantet hull i apparatets gulv. I de øvrige forsøkssituasjonene ble det plassert en svartmalt plate over den opprinnelige bunnen for å dekke det firkantete hullet. Når rotten ble registrert i det runde apparatet ble sylindere plassert i det firkantede apparatet. Gulvet i de to forsøksapparatene var derfor det samme.

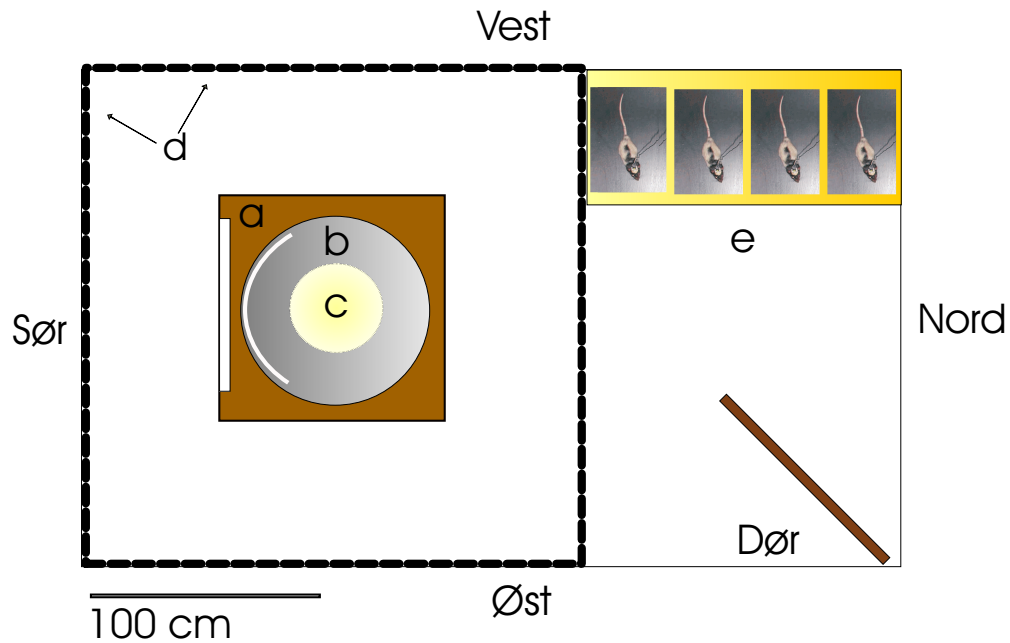
180 cm over forsøksfeltet var det montert en svart plastplate der det var festet seks halogen lamper (20 W). Disse var montert med dimmer, slik at lysstyrken kunne reguleres. På den samme plastplaten var det også montert et videokamera (Panasonic, modell WV-BP510/G). Videokameraet ble stilt inn slik at det dekket hele forsøksfeltet. Med denne avstanden mellom videokameraet og forsøksapparatets gulv tilsvarer hver piksel i trackingsystemet 0,4 cm i forsøksfeltet. Lysintensiteten ble regulert og målt, den varierte litt i de forskjellige delene av forsøksfeltet (se figur 4.6). Over forsøksfeltet var det også montert en pellets dispenser (BRS/LVE, modifisert av Brooklyn Biomedical Engineering) automatisk styrt til å slippe ned pellets (Bio-Serv®) med et bestemt intervall eller manuelt når det var ønskelig.

For at rotten skulle kunne bevege seg usjenert av ledningen som gikk fra elektrodene til datamaskinen, var ledningen montert i et motvektssystem. En gjennomsiktig plastplate roterte i forhold til rotten, slik at rotten lett kunne dra med seg ledningen uten at den var i veien. Kameraet var plassert over platen.

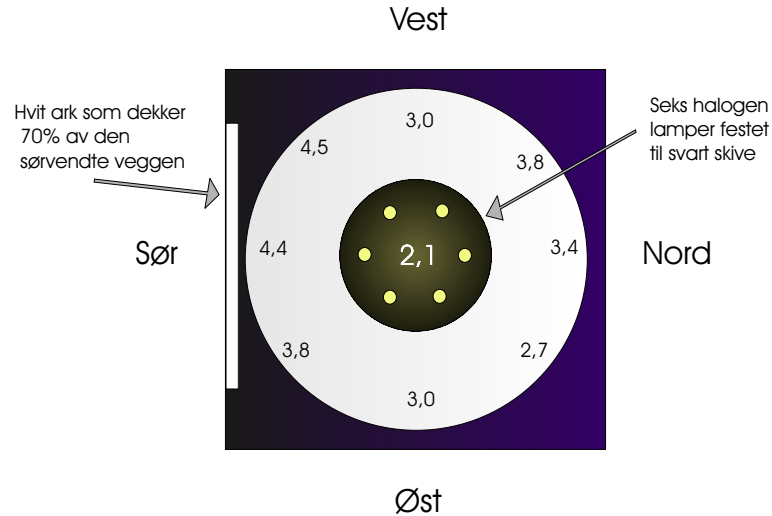
Forsøksfeltene ble vasket med såpevann før hver registrering for å redusere muligheten for at lukter ble brukt som landemerker.



Figur 2.3: Skjematisk oversikt over forsøksoppsettet. Signalet som elektroden registrer i rottens hippocampus går gjennom en forforsterker, en strømfordeler og bryterpanelet før det forsterkes og presenteres i oscilloskopet. I tillegg lagres det elektriske signalet i data-maskinen og sammenfattes med klokken og trackingsystemet. Trackingsystemet er basert på informasjonen fra videokameraet som er montert over forsøksfeltet og registrerer rottens posisjon ved hjelp av LEDene. Informasjon fra trackingen og det registrerte signalet sammenfattes og analyseres før resultatene kan presenteres i form av fyringskart, hastighetskart eller tidskart.



Figur 2.4: Skjematisk oversikt over rommet der forsøksfeltene var plassert. Dette rommet var adskilt fra resten av laboratoriet. a viser det firkantede apparatet. Over denne skiven var det montert kamera og halogen lamper. b viser det runde apparatet med det distale landemerket. c merker den transparente plastskiven der ledningen til pluggen som rotten skulle kobles til var festet. d viser de svarte gardinene som dekket veggene rundt forsøksapparatene og skilte forsøksfeltet fra rommet forøvrig, og e merker plasseringen av hjemburene til rottene. Det var her rottene ble oppstallet i periodene testingen og registreringen foregikk.



Figur 2.5: Tegningen viser lysintensitet i lux i de forskjellige områdene av forsøksapparatet. Lampene var montert med dimmer, slik at lysstyrken kunne reguleres. Det lot seg ikke gjøre å opplyse alle områdene av forsøksfeltet likt.

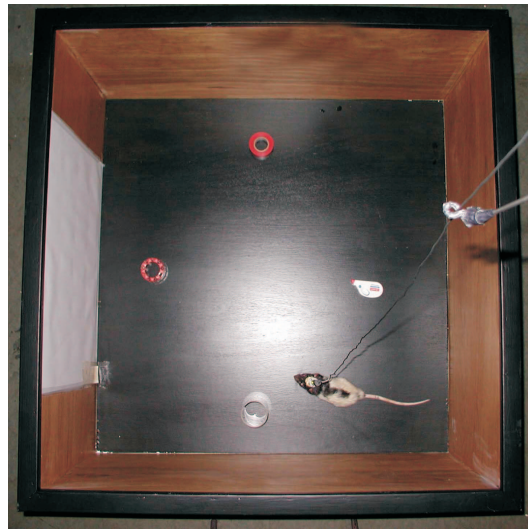
2.4.3 Firkantet apparat

Det firkantede apparatet var 100×100 cm og 50 cm høyt. Apparatet var laget av tre og gulvet var malt med matt svart maling. For å unngå reflekser fra LED lysene ble gulvet i tillegg mattet ned med sandpapir. Veggene i apparatet var lakkert og mattet. I dette forsøksfeltet ble rottene testet både med og uten belønning.

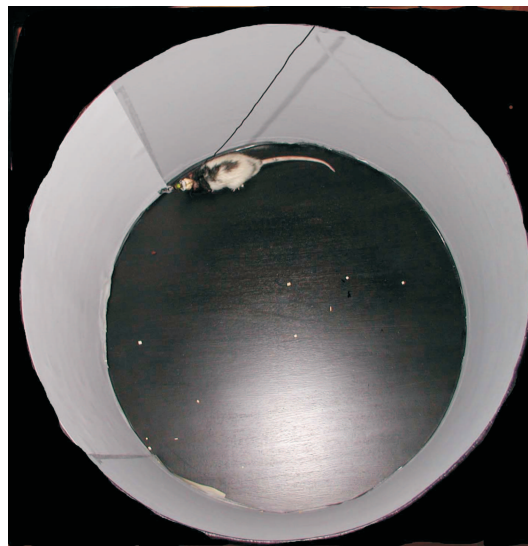
I forsøksesjoner uten belønning var det plassert fire objekter i feltet som skulle stimulere nysgjerrigheten og hindre at rotten sto mye stille. Disse var plassert midt på hver vegg med lik avstand fra veggen (10 cm). Objektene ble variert, alt fra skruebokser, tape, skåler til plastfigurer. Det ble først forsøkt å ha hjemburet til rotten i midten av firkanten, men da var rotten lite aktiv og vi gikk over til oppsett uten hjembur med objekter.

2.4.4 Rundt apparat

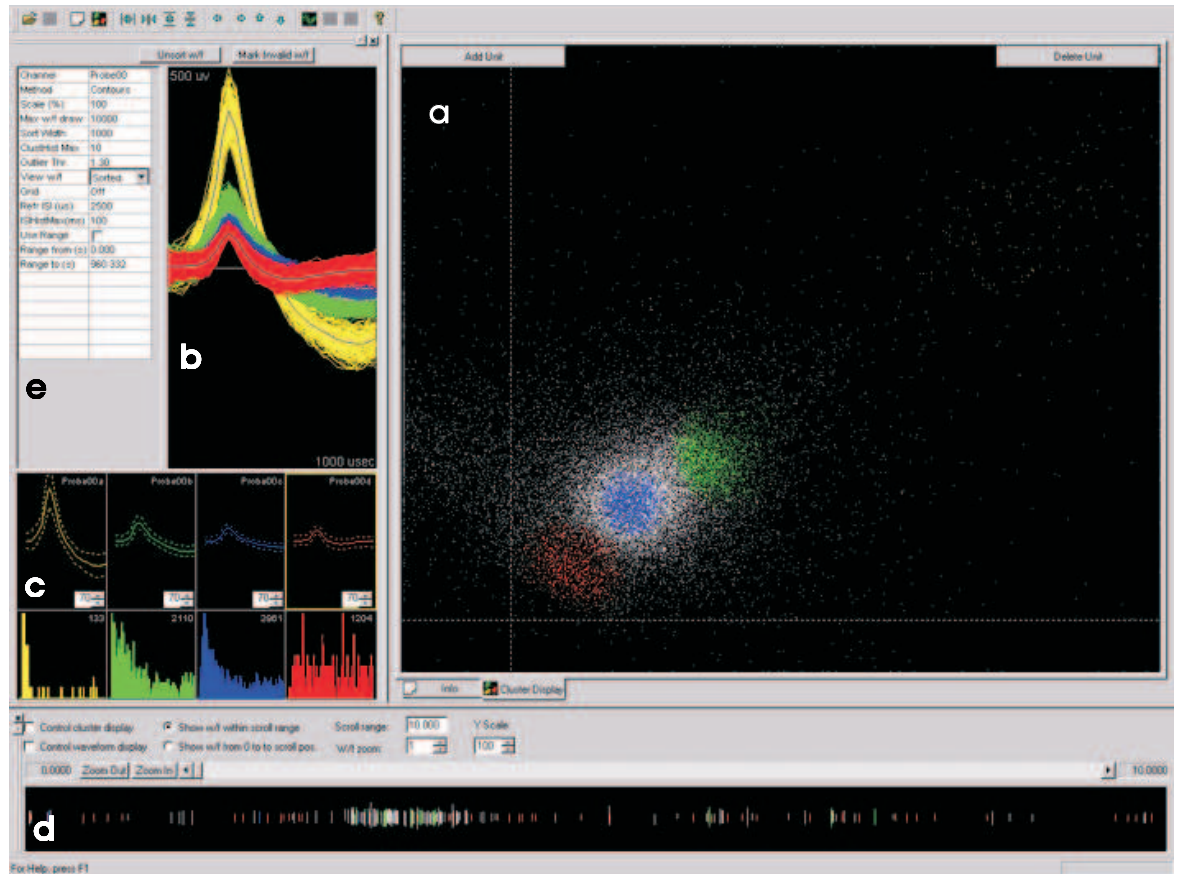
Det runde apparatet var laget av glassfiber og var 85 cm i diameter. Veggene hadde en gråmalt homogen overflate med et distalt landemerke i den sørvendte delen av apparatet. Det distale landemerket besto av et hvitt ark som var 70 cm bredt og 50 cm høyt. Rotten ble belønnet med små sukkerkuler på 20 mg (Bio-Serv®) som ble sluppet ned hvert tiende sekund. I dette apparatet var det proksimale landemerker i form av objekter.



Figur 2.6: Bildet viser rotte B14 i det firkantede apparatet med objeketer som proksimale landemerker og et hvitt ark som distalt landemerke på apparatets sørvendte vegg. Rotten fikk ikke belønning under disse betingelsene. Det var imidlertid samme apparat som ble benyttet når rottene ble testet og registrert i frikantet apparat med belønning og uten proksimale landemerker.



Figur 2.7: Bildet viser rotte B14 i det runde apparatet med et hvitt ark som distalt landemerke på den sørvendte delen apparatet. I dette apparatet fikk rottene belønning i form av sukkerkuler.



Figur 2.8: Skjerm bilde i Off-line Sorter. I vinduet som er merket med a vises datapunktene som representerer de registrerte potensialene. Datapunktene som er farget viser de utvalgte skyene, eller “clustrene”, som er samlinger av datapunkter som representerer registrerte potensial med like egenskaper. Formen på aksjonspotensialene til de fire “clustrene” som er valgt ut, vises i vindu b, i de respektive fargene. Vindu c viser den gjennomsnittlige formen på hver av de fire “clustrene”, samt fyringsmønstrene til disse. Vindu d viser hvordan datapunktene er plassert i tid. Tabellen som er merket med e viser analysekriteriene som er satt i programmet.

2.5 Analyse

Rådataene ble i første trinn analysert med dataprogrammet “Off-line Sorter” (Plexon® Inc.), som isolerte signalene som kom fra ett nevron. For videre analyse ble det linuxbaserte programmet “Sess-Anal” benyttet. Dette programmet ble først utviklet av Dr. Matt Stead (New York), og deretter videreutviklet og tilpasset av Eirik Thorsnes ved vårt laboratorium.

2.5.1 Isolering av aksjonspotensialer

Rådatafiler i UFF-format fra Discovery (DataWave.inc) ble overført og analysert i Off-line Sorter (versjon 2.0). Analyseprogrammet skiller ut de aksjonspotensialene som kommer fra samme nevron. Dette skjer ved at de registrerte aksjonspotensialene blir representert av datapunkter. Sorteringen skjer på grunnlag av utseende og fyringsfrekvens på det registrerte signalet. Aksjonspotensialer med lik form får datapunkter som er lokalisert nært hverandre og danner skyer, se figur 2.8. Kriteriene for å bli sortert i samme sky som andre aksjonspotensialer er basert på karakteristiske trekk ved det registrerte aksjonspotensialet. Hvor datapunktene som representerer det aktuelle aksjonspotensialet lokaliseres i koordinatsystemet, bestemmes av blant annet høyden og bredden på amplituden, samt avstanden mellom amplitudene. Skyer kan velges ut ved å tegne en sirkel rundt det ønskede området. Når datapunktene er valgt ut vises gjennomsnittet av kurvene på de registrerte aksjonspotensialene $\pm 10\%$ avvik, som datapunktene representerte. Avviket gir en indikasjon på hvilken type celle som er isolert. Histogram som viser fyringsfrekvensen til de isolerte aksjonspotensialene er også karakteristisk for thetaceller og “complex spike”-celler, se figur 3.3 og 3.4 i resultatdelen, side 42.

For videre separering brukes “template matching”, der programmet velger ut en rekke aksjonspotensialer som defineres som en mal. Aksjonspotensialer med sammen form og amplitude som malen velges ut, de aksjonspotensialene som ikke innfrir kravene i malen forkastes.

2.5.2 Analyse av atferd og fyringsmønster

Data fra Off-line Sorter ble videre analysert i Sess-anal, et program som utarbeider kart og histogrammer over rottens bevegelser, samt fyringsmønstre til

de aktuelle cellene. Tidskartene og hastighetskartene gir informasjon om rottens atferd under forskjellige forsøksbetingelser. Kartene over fyringsfeltene viser hvor i forsøksapparatet rotten befant seg når stedcellene var aktive. Histogrammene gir informasjon om fyringsfrekvensen til den registrerte cellen, noe som kan avgjøre om den registrerte cellen er en stedcelle. Kartene viser forsøksfeltene oppdelt i piksler. Fordelingen av aktivitet og fyringsmønster i forsøksapparatene grupperes i seks nivåer som illustreres med korresponderende farger. Minimum fyringsfrekvens i pikslene var $3\times$ den gjennomsnittlige fyringsfrekvensen i forsøksfeltet forøvrig. Analysekriteriene som ble brukt i analyseprogrammet Sess-anal er listet opp i B.1.

Atferd

I tidskart og hastighetskart farges pikslene på grunnlag av hvor lenge rotten har befunnet seg i en gitt piksel, eller hvor fort rotten har beveget seg gjennom en gitt piksel. Fargene representerer seks nivåer av tid eller fart. Den lilla fargen representerer gruppen av piksler som rotten oppholdt seg mest i, eller beveget seg fortest i. De neste gruppene representerer en synkende grad av tid eller fart med blå, grønn, rød, orange og gul. Områder som rotten ikke har vært i er hvite.

Fyringsmønster

Sess-anal programmet beregnet den totale tiden rotten befant seg i hver piksel og totale antall aksjonspotensial fra en celle, i hver piksel for hele sesjonen. Raten i hver piksel ble beregnet ut i fra antall aksjonspotensial som kom fra den bestemte cellen delt på tiden rotten oppholdt seg i en gitt piksel. På grunnlag av fyringskartet kan programmet lage kart over fyringsfeltet til cellen. Hvor mange sammenhengende piksler som skal til for at en samling piksler med en bestemt fyringsaktivitet skal kalles et fyringsfelt defineres på forhånd. I denne oppgaven ble det i utgangspunktet brukt ni piksler som minimum feltstørrelse. Dette kriterie måtte imidlertid modifieres fordi fyringsfeltene under enkelte forsøksbetingelser var for små. For aksjonspotensialene som ble registrert i firkantet apparat uten belønning og med proksimale landemerker ble det brukt fem piksler som minimum feltstørrelsen.

Interspikere-intervall histogram brukes for å sjekke kvaliteten på isoleringen av de registrerte aksjonspotensialene. Det kan være vanskelig å klassifisere aksjonspotensialene fra nerveceller som genererer impulstog fordi amplituden og fyringsfrekvensen endrer seg gjennom skuren av aksjonspotensialer. Da

kan interspike-intervall histogram avsløre hvorvidt de registrerte signalene kan tilhøre samme celle. Hvis de registrerte aksjonspotensialene er fra ett nevron, skal det ikke være interspike-intervall mindre enn refraktær perioden, som for de fleste celler er under 1 millisekund.

Autokorrelering histogram lages ved at avstanden mellom det første aksjonspotensialene og de påfølgende aksjonspotensialene i toget beregnes.

Trackingsystemet, videokamera og piksler

Trackingsystemet som ble benyttet var tilpasset amerikansk NTSC kamera, mens det ble brukt et europeisk PAL kamera. De to kamerasystemene har forskjellige antall linjer i videobildet og oppdaterer skjermbilde med ulike frekvenser. NTSC oppdaterer med 60 Hz, som er tilpasset amerikansk strømnnett og PAL er tilpasset europeisk strømnnett og oppdaterer med 50 Hz. Som følge av dette blir antallet piksler i hver retning forskjellig og formen på hver piksel rektangulær. Analyseprogrammet Sess-anal går ut i fra kvadratiske piksler. Dermed ble kartene ovale og rektangulære i stedet for runde og kvadratiske.

Rutenettet med 256×256 piksler som ble lagt over videobildet dekket forsøksapparatene og noe av området rundt disse. Det firkantede apparatet hadde 178×204 piksler i trackingsystemet. Hver piksel var $0,57 \times 0,48$ cm. Det runde apparatet hadde et areal på $5671,62 \text{ cm}^2$ og var dekket av ca 21006 piksler i trackingsystemet. Pikslene ble organisert med en såkalt kollapsfaktor på fire. Dette innebærer at fire piksler og aktiviteten i disse ble slått sammen til én piksel av Sess-anal. Dette ble gjort fordi aktiviteten i de forskjellige pikselen kunne være svært lav. Det var nødvendig og jevne ut antall observasjoner per piksel for å øke mulighet for å få et materiale med høyere statistiskverdi.

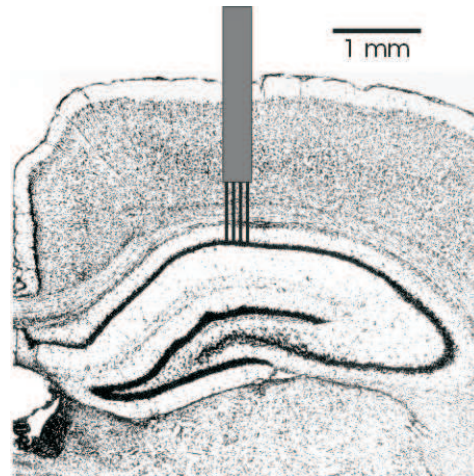
2.6 Histologi

Ved avslutningen av eksperimentene ble det kartlagt hvor i hippocampus registreringene var gjort. Det ble laget lesjon i området som elektroden var i når registreringene ble avsluttet. $20 \mu\text{A}$ strøm ble sendt gjennom to av elektrodene i ca 15 sekund når rotten var i dyp anestesi. Deretter ble rotten perfundert med formalinløsning og fargeløsning, Prussian blue (4%). Fargeløsningen gjorde området rundt elektroden mer synlig fordi den binder seg til jernioner

som elektroden avgir når strøm sendes gjennom. Hjernen ble dissekert ut og lagt i sukrose og formalinløsning (10%).

Når hjernen skulle snittes ble den først dekket av lim (Tissue Tek®) og festet til skruskiven, deretter fryst ned ved hjelp av CO₂. Hjernen ble kuttet i 40 µm tykke skiver med en fryse-microtome (Leica CM 1800) som holdt ca -20°C. Snittene ble lagt på romtempererte glassplater innsatt med gelatin (Polysine microslides) for å holde snittet festet til platen.

Snittene ble oppbevart i kjøleskap over natten før de ble farget med Cresyl Violet og dekket med dekkglass. Elektrodens posisjon ble så kartlagt ved å sammenlikne snittet i lysmikroskop med hjerneatlasen.



Figur 2.9: Histologisk snitt av hippocampus hos rotte som viser hvor elektroden ideelt sett bør være plassert i CA1-området, når det skal registreres stedcelle-aktivitet. Bildet er hentet fra “The stereotaxic coordinates” [76].

Kapittel 3

Resultater

3.1 Data

Tabell 3.1: Antall rotter som ble brukt i laboratoriearbeidet.

Rotter	Antall
Implanterte rotter	28
Rotter med vellykket registrering	2
Rotter som mistet implantat	4
Rotter uten registrert nevronal aktivitet	22

I løpet av laboratoriearbeidet ble det implantert 28 rotter. Av disse var det tre rotter som hadde stedceller med stabil aktivitet. Fire rotter mistet implantatet før det ble funnet nevroner å registrere. 21 rotter ble testet daglig uten at det ble funnet stabil nevronal aktivitet som det lot seg gjøre og registrere. Det ble samlet inn data fra rottene P3 og B14. Rottene ble registrert gjennom 5–28 sesjoner. Antallet sesjoner de forskjellige rotte ble registrert var avhengig av hvor lenge det lot seg gjøre og registrere de aktive stedcellene. Hos fem rotter P1, B5, K4, K6, K9, ble det funnet nevronal aktivitet under testing, men denne aktiviteten var ikke stabil og ble derfor ikke registrert i forsøksapparatene. Rotten B14 ble registrert i 28 sesjoner og utgjør hovedgrunlaget for resultatene. Denne rotten ble registrert i rundt og firkantet apparat med og uten belønning. P3 ble registrert i rundt apparat under samme betingelser som B14. B11 ble registrert i firkantet apparat med belønning. Signalene fra cellene som ble registrert hos rotte P3 forsvant før den ble

testet i alle forsøksituasjonene. Data fra P3 er derfor bare brukt til å underbygge resultatene fra B14.

B14 ble først testet i firkantet apparat med hjemburet i midten av apparatet. Under denne forsøksituasjonen oppholdt rotten seg i hjemburet under store deler av registreringsperioden, som var på 16 minutter, se figur 4.1a. For at rotten skulle bli mer aktiv og utforske omgivelsene, ble hjemburet fjernet. B14 ble deretter registrert i det firkantede apparatet uten hjemburet, men med fire objekter som proksimale landemerker i apparatet. Rotten fikk ikke belønning i denne forsøksituasjonen. Etter fem sesjoner i firkantet apparat uten belønning ble B14 registrert i det runde apparatet med belønning, der ble rotten registrert i fem sesjoner. Deretter ble den registrert i 16 sesjoner i firkantet apparat med belønning. Etter 13 sesjoner ble apparatet rotert 90° og de tre siste sesjonene ble registrert med apparatet rotert. Ideelt sett skulle B14 også blitt registrert i det runde apparatet uten belønning og med proksimale landemerker, men siden stedcellens aktiviteten ikke lenger kunne registreres, lot det seg ikke gjøre å gjennomføre den eksperimentelle designen.

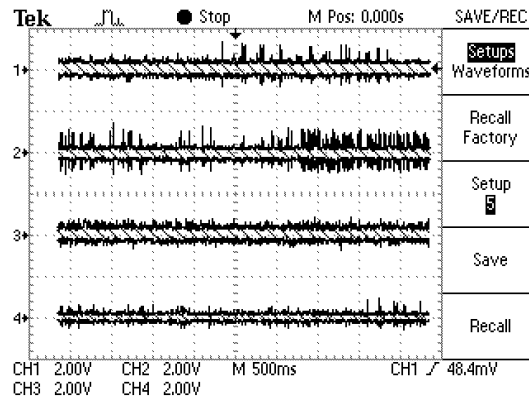
Tabell 3.2: Oversikt over innsamlet data. Antall sesjoner hver rotte ble registrert i de forskjellige forsøksbetingelsene.

Rotte nummer	Firkantet apparat u/belønning	Firkantet apparat m/belønning	Rundt apparat m/belønning
B14	5 sesjoner	16 sesjoner	5 sesjoner
P3	-ingen-	-ingen-	6 sesjoner

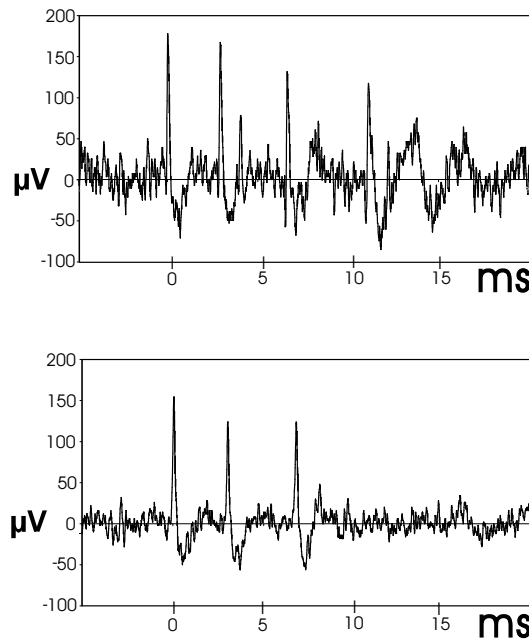
3.2 Registrering, isolering og identifisering av nevronene

Aktiviteten fra de ti ekstracellulære elektrodene ble først observert ved hjelp av oscilloskopet, eksempel er vist i figur 3.1. Når fyringsmønsteret til noen av de cellene som ble registrert viste “complex spike”-aktivitet, se definisjon i avsnitt 1.1.2, var det mulig å velge ut kanalen og studere aksjonspotensialene til den bestemte cellen. Figur 3.2 viser utvalgte kanaler som viser registrert aktivitet fra en celle med “complex spike”-aktivitet.

For å skille mellom registreringer fra internevron og pyramideceller legges det til grunn karakteristiske trekk ved fyringsmønsteret og kurveformen på

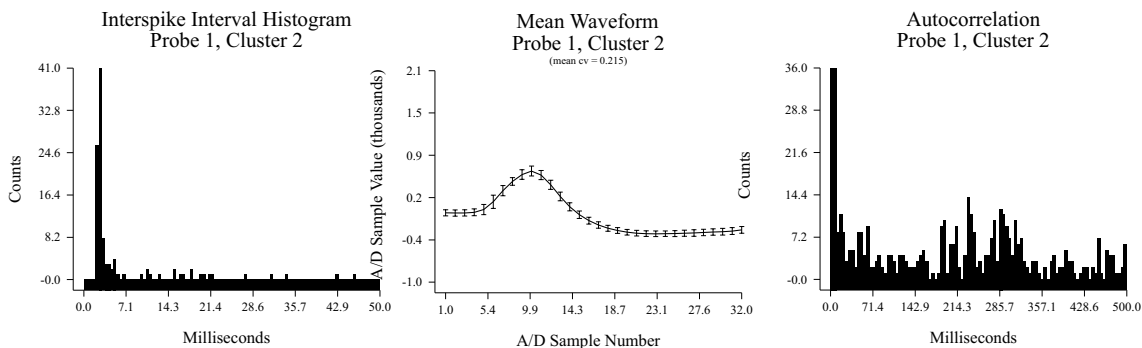


Figur 3.1: Bilde fra oscilloskopet som viser nevronal aktivitet fra fire kanaler samtidig. Kanal nummer to viser aktivitet fra en celle med “complex spike”-aktivitet.

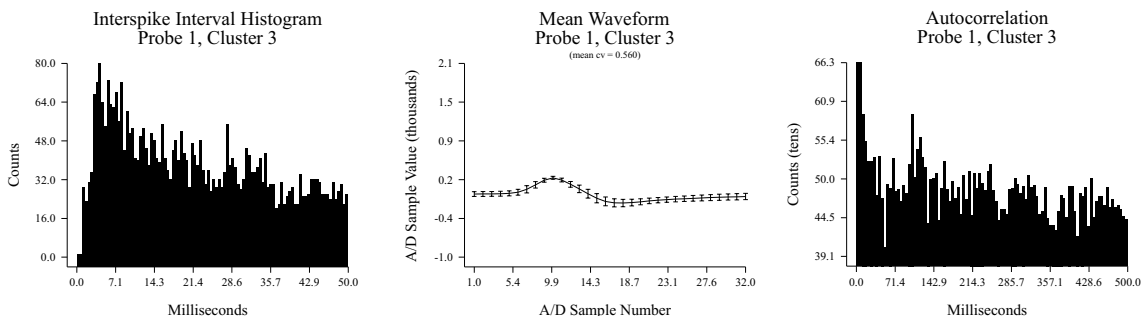


Figur 3.2: Bildet viser utvalgte kanaler fra oscilloskopet med to fyringsmønstre fra celler med “complex spike”-aktivitet som genererer impulstog med aksjonspotensialer. De er hentet fra første registrering av B14 i rundt apparat med belønning.

aksjonspotensialet til de to typene celler som finnes i CA1-området [23]. Figuren 3.3 viser interspike interval histogram for en celle med “complex spike”-aktivitet. Denne har typisk mange interspike interval som ligger mellom 1 og 7 ms. Interspike interval histogrammet for thetacellen viser at de har en mer spredt firing enn pyramidecellene, se figur 3.4. Aksjonspotensialene til pyramidecellene har en bred amplitude og slakk dal sammenliknet med internevronene med theta aktivitet.



Figur 3.3: Eksempel på "complex spike"-aktivitet. Denne registreringen er fra celle nummer tre hos rotte B14 i 11. sesjon i firkantet apparat med belønning.



Figur 3.4: Eksempel på theta-aktivitet. Cellen er fra rotte P3 i tredje sesjon i rundt apparat med belønning.

3.3 Rottenes atferd i de forskjellige forsøksapparatene

Rottenes bevegelsesmønster kunne studeres på videoopptakene og sammenliknes med fyringskartene fra Sess-anal. Aktivitetsnivået til rotten økte når den ble mer kjent med omgivelsene. Fra og med andre sesjon dekket rottene

feltet bedre enn i den foregående sesjonen. Fyringskartene og videoopptakene viser at rottenes atferd ble påvirket av formen på forsøksapparatet, og om den fikk belønning under registreringen. Rottens dekning av området påvirker muligheten for å registre stedcellenes firing fordi sannsynligheten for at rotten oppholder seg i en celles fyringsfelt er høyest hvis rotten har eksplorert i hele forsøksfeltet.

Aktivitetsmønster i firkantet apparat med hjemburet i midten

Figur 4.1 viser hvor rotten har oppholdt seg og hvor hurtig den har beveget seg i forsøksfeltet. I denne forsøkssituasjonen oppholdt rotten seg mye i hjemburet. I de første sesjonene i denne forsøkssituasjonen var rotten nesten ikke ute av hjemburet sitt. Fordi aktivitetsnivået til rotten var så lavt, ble det kun registrert to sesjoner under disse forsøksbetingelsene.

Aktivitetsmønster i firkantet apparat uten belønning med objekter

I figur 4.3a kan man se at rotten befant seg mye i sentrum av apparatet der de fire objektene var lokalisert. Rotten brukte mye tid rundt disse, mens de mer perifere delene av forsøksfeltet var lite besøkt. Rotten beveget seg sakte når den var rundt objektene og utforsket disse, i øvrige deler av apparatet var bevegelsene hurtige, se figur 4.3b.

Aktivitetsmønster i rundt apparat med belønning

Figurene 4.2 og 4.3e og f viser atferden til rottene P3 og B14 i det runde apparatet. De to rottene hadde forholdsvis lik atferd i dette apparatet. Begge gikk mye langs veggene og beveget seg sakte mens den snuste og lette etter pellets, se figur 4.2a og 4.3e. I sentrum av forsøksfeltet beveget rottene seg hurtig, se figur 4.2b og 4.3f. I de fleste sesjonene ble hele forsøksfeltet besøkt av rotten. Dette var tilfellet for både B14 og P3.

Aktivitetsmønster i firkantet apparat med belønning

Rotten var aktiv og dekket hele forsøksfeltet under disse forsøksbetingelsene, se figur 4.3c og d. Rotten befant seg mye i krokene og langs veggene i apparatet. Figur 4.3d viser at rotten beveget seg sakte i nærheten av veggene, og hurtig i sentrum av apparatet.

Etter ti sesjoner ble rotten mindre interessert i å eksplorere i hele apparatet. Den oppholdt seg da uforholdsmessig mye i nærheten av apparatets nordvendte vegg der det hvite arket, som rotten forsøkte å ødelegge, var tapet fast. For at rotten skulle bli mer interessert i å lete etter pellets, ble matmengden i hjemburet halvert dagen før registrering. Rotten fikk 10 g mot normalt 20 g se avsnitt 2.1 i material og metode-delen, side 21. Rotten ble mer aktiv under registreringene når den var sulten og lette etter pellets.

Sammenlikninger av aktivitetsnivå

Figur 4.4 og 4.5 illustrerer forskjellene i aktivitetsnivået til rotte B14 under ulike forsøksbetingelser. I figur 4.4 ser en at rotten beveget seg med høyere hastighet i firkantet apparat enn i rundt. I begge apparatene var det et distalt landemerke, og rotten fikk belønning. I figur 4.5 kan man se at rotten beveget seg hurtigere når det ble gitt belønning i firkantet apparat, enn når den ikke ble belønnet.

3.4 Stedcellenes fyringsmønster

Fyringsmønster i firkantet apparat uten belønning

Cellene som ble registrert i det firkantete apparatet uten belønning hadde mange små fyringsfelt som hadde forskjellig plassering fra sesjon til sesjon, se figur 4.6. Stedcellenes fyringsfelt var lokalisert rundt de proksimale landemerkene. I analysen av cellene som ble registrert i denne forsøkssituasjonen var definisjonen for fyringsfelt justert ned. Fem piksler sammenhengende piksler var minimumskravet for å definere et fyringsfelt i denne forsøkssituasjonen. I de øvrige forsøkssituasjonene blir det brukt ni piksler som minimum for at en samling aksjonspotensial skulle kunne defineres som et fyringsfelt. Nedjusteringen ble gjort fordi feltene var så små at de ikke falt inn under definisjonen for ett fyringsfelt når kriteriene var strengere.

Fyringsmønster i rundt apparat med belønning

Resultater fra dette apparatet er basert på to rotter, P3 og B14. Fyringsfeltene til cellene som ble registrert i det runde apparatet var store, men av variabel stabilitet, se figur 4.7 og 4.8. Cellene som ble funnet fra rotte P3 hadde mer stabile felt, se figur 4.7a, b og c, enn det som var tilfellet for

cellene fra rotte B14, se 4.8a–d. Stedcellene til B14 hadde store fyringsfelt som alle var lokalisert langs apparatets vegg. Dette var også tilfellet for rotte P3 i de tre første sesjonene, men i de påfølgende registreringene i sesjon 4 og 6 dukket det opp fyringsfelter som var lokalisert mer sentralt i apparatet. Disse feltene var mindre og mer ujevne enn de store stabile feltene som ble registrert i de tre første sesjonene. Plasseringen av fyringsfeltene langs apparatets vegg kan være et resultat av at rotten befant seg mer langs veggen enn i sentrum av apparatet, se figur 4.2 og 4.3e og f. B14 hadde tidligere blitt registrert i firkantet apparat i de samme omgivelsene. Dette kan ha innvirket på fyringsmønsteret.

Fyringsmønster i firkantet apparat med belønning

I denne forsøkssituasjonen ble det registrert celler som hadde stabile felt over mange dager. Feltene er større, men færre, enn i sesjonene i firkantet apparat uten belønning. Kriteriet for hvor stort et fyringsfelt måtte være for at det skulle kalles et stedsfelt var i denne forsøkssituasjonen ni piksler.

Det ene stedsfeltet som ble registrert i det runde apparatet beholdt, relativt sett, samme plassering når forsøksapparatet ble endret til firkantet, se figur 4.11. Dette stedsfeltet flyttet seg i andre sesjon i firkantet apparat til lokaliseringer som feltet tidligere hadde hatt i det runde apparatet.

Etter 12 dager med registrering av stabile fyringsfelt ble apparatet rotert 90° mot høyre. I sesjon 13 fulgte fyringsfeltene etter og roterer tilsvarende 90° (se figur 4.9 for sammenlikning). I de neste sesjonene ble fyringsmønsteret ustabil, og feltene ble mindre, figur 4.10.

Sammenlikning av fyringsmønster i rundt og firkantet apparat

Rotte B14 ble registrert i fem sesjoner i det runde apparatet før den ble registrert i firkantet apparat med belønning. I figur 4.11c kan man se at et fyringsfelt er lokalisert nær veggen i det runde apparatets vestre del. Figur 4.11d viser at stedcellenes fyringsfelt også er lokalisert nær den vestre veggen i det firkantede apparatet i den første sesjonen som ble gjort i firkantet apparat med belønning, etter rotten var blitt testet i det runde apparatet. I tredje sesjon i firkantet apparat flytter fyringsfeltene seg, se figur 4.11e. Den nye plasseringen til fyringsfeltene i firkantet apparat likner plasseringen fyringsfeltene hadde i første (a) og fjerde (b) sesjon i det runde apparatet.

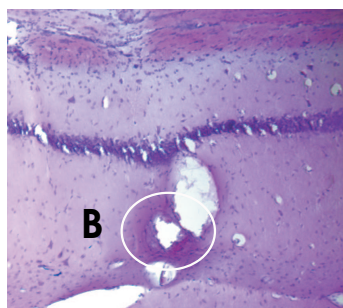
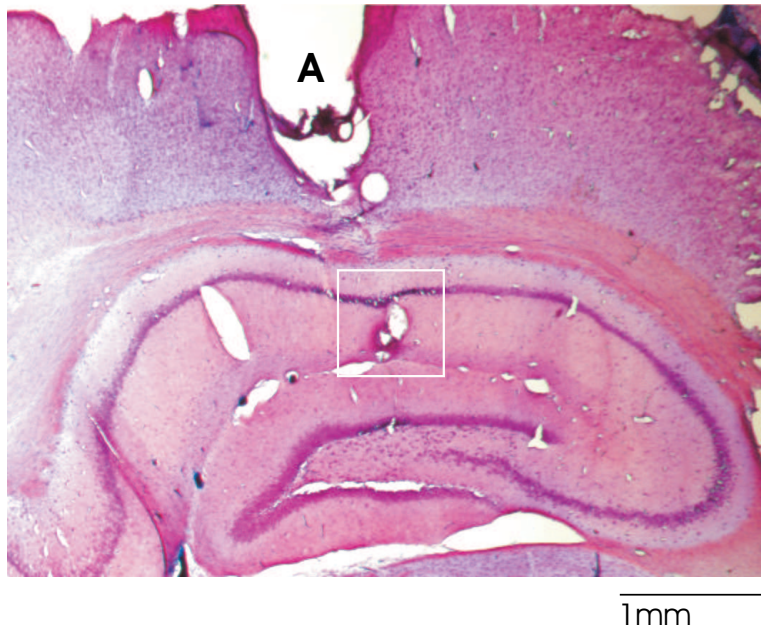
3.5 Oppsummering av resultatene

Tabell 3.3: Oppsummering av observasjonene som ble gjort av rottene B14 og P3 sin atferd og stedcellenes fyringsmønster under de ulike forsøksbetingelsene.

Rotte	Forsøksbetingelser	Atferdsobservasjoner	Fyringsmønster
B14	Firkantet m/hjembur u/ belønning 2 sesjoner.	Lite aktiv rotte	Ingen klare fyringsfelter
	Firkantet u/ hjembur u/ belønning 5 sesjoner.	Mer aktiv, men dekket ikke hele forsøksfeltet.	Tydelige fyringsfelt, men små og ustabil.
	Rundt m/ belønning 7 sesjoner.	Aktiv, dekket hele området.	Store fyringsfelt, men ustabil plassering.
	Firkantet m/ belønning 12 sesjoner.	Aktiv, dekket store deler av området.	Fyringsfeltene endret form og størrelse.
	Firkantet rotert 90° m/belønning 3 sesjoner.	Oppholdt seg mest langs veggene og i hjørnene.	En celle roterte feltet sitt 90°, den andre mistet feltet.
P3	Rundt m/belønning 6 sesjoner.	Aktiv og dekket hele apparatet.	Store stabile fyringsfelt.

3.6 Elektrodeplassering

Lesjonen som ble laget i hjernevevet merket området elektrodene befant seg i når registreringene ble avsluttet. Området har absorbert mye fargestoff og har en noe mørkere farge en det omliggende vevet.



Figur 3.5: Histologisk snitt som viser elektrodens plassering i hippocampus hos rotte B11. Området der kanylen med elektroden går gjennom korteks er merket med A på figuren. Området som ble merket av lesjonen er forstørret i bildet under og merket med B.

Kapittel 4

Figurer til resultatdelen

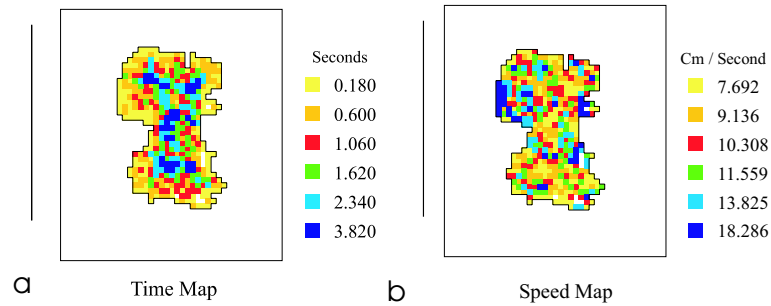
Presentasjon av data som illustrerer:

- Atferden til rottene i de forskjellige apparatene og under de forskjellige forsøksbetingelsene.
- Fyringsmønsteret til stedcellen i de forskjellige forsøkssituasjonene.
- Elektrodeposisjon i rottens hjerne.

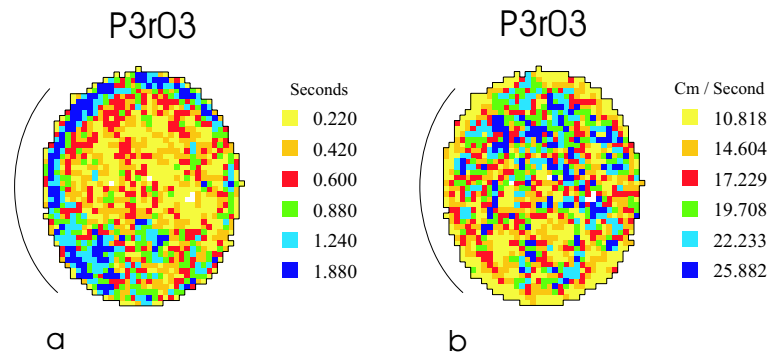
Forsøksapparatene som kartene representerer er strukket i den ene retningen som følge av kamerasystemet (se avsnitt 2.5.2, side 37 i material og metodedelen). Derfor er kartene som representerer det runde apparatet ovalt, og kartene som representerer det firkantede er rektangulært i stedet for kvadratisk.

4.1 Rottenes atferd

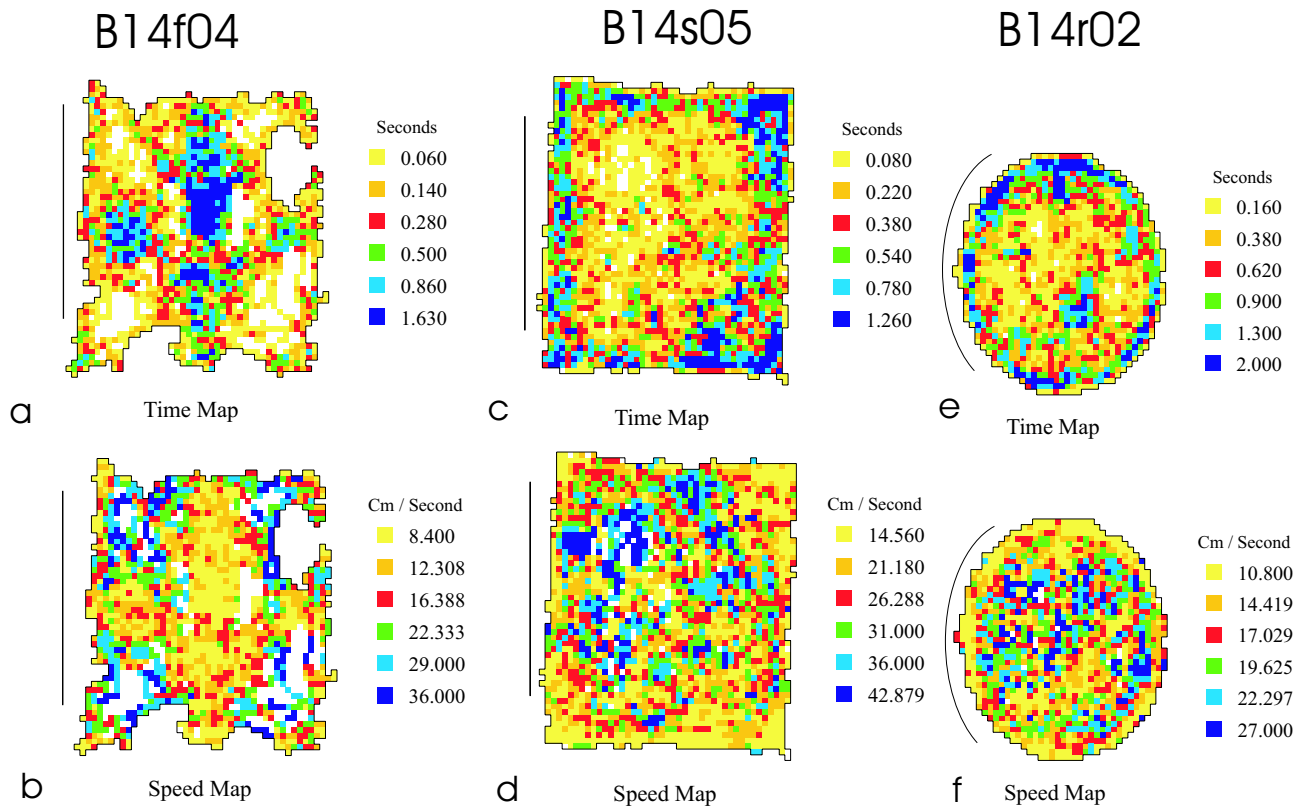
De hvite områdene representerer de plassene rottene ikke har besøkt i løpet av registreringsperioden. De lilla feltene representerer de områdene rottene var mest i. De gule feltene representerer de områdene rottene beveget seg sakte i, mens de lilla feltene viser hvor rotten beveget seg fortest. Alle apparatene som vises i denne seksjonen inneholdt et distalt landemerke i form av et hvitt ark som var tapet på apparatets sørvendte vegg. I figurene er dette representert som en stripe eller bue ved siden av tids-og hastighetskartene.



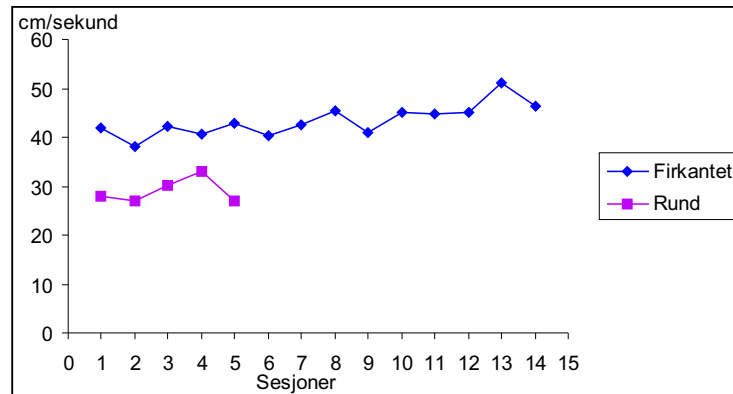
Figur 4.1: Kart som viser aktiviteten til rotte B14 når hjemburet var i midten av det firkantete apparatet. Her var det ingen proksimale landemerker i apparatet og rotten fikk ikke belønning. Den firkantete rammen rundt viser veggene på apparatet. a viser hvor lenge rotten oppholdt seg i de forskjellige delene av apparatet. b viser hvor fort rotten beveget seg i de forskjellige områdene. Figurene omtales i avsnitt 3.3, side 43.



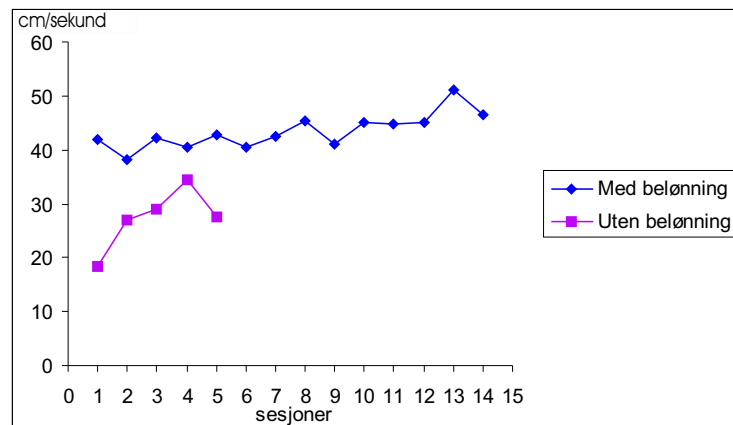
Figur 4.2: Tidskart og hastighetskart fra det runde apparatet med belønning. Registreringene er fra rotte P3, tredje sesjon i rundt apparat med belønning. I apparatets sørvendte vegg var det et distalt landemerke i form av et hvitt ark. På denne figurene er det distale landemerket presentert med en bue til venstre for apparatet. Kommentarer til figurene er i avsnitt 3.3, side 43.



Figur 4.3: Kart som viser hvor lenge rotte B14 har oppholdt seg i de forskjellige områdene av apparatene, og hvor stor fart rotten har hatt når den har beveget seg gjennom området. a og b viser fjerde sesjon i firkantet apparat uten belønning, med proksimale landemerker. c og d viser femte sesjon i firkantet med belønning, uten proksimale landemerker. e og f viser andre sesjon i rundt apparat med belønning, uten proksimale landemerker. Figurene kommenteres i avsnitt 3.3, side 42.



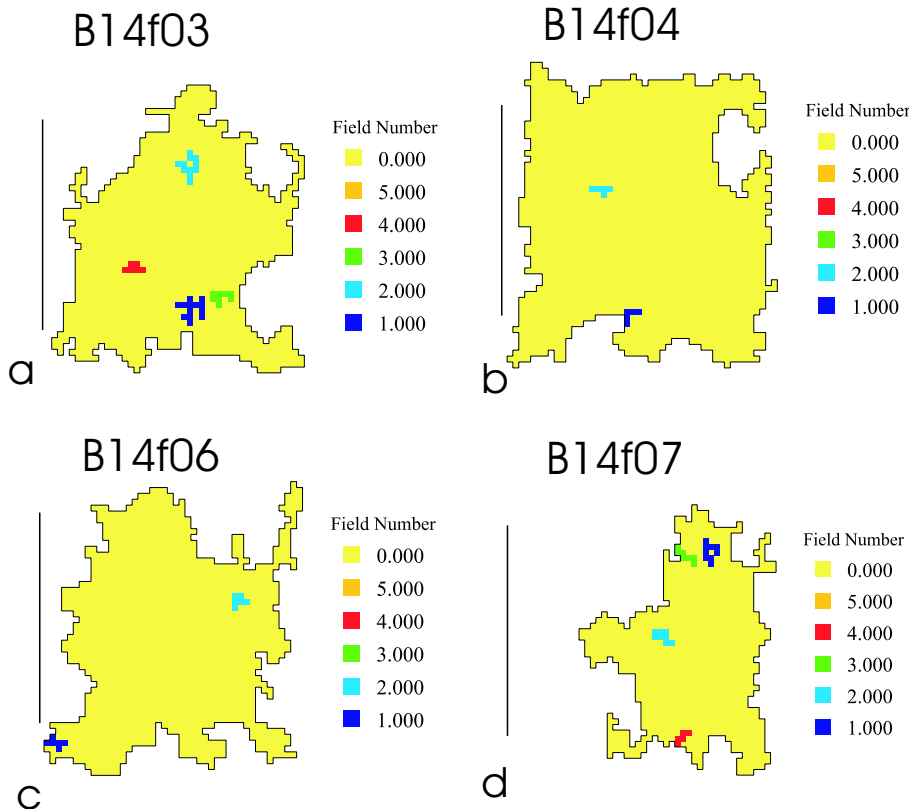
Figur 4.4: Sammenlikning av aktivitetsnivået i rund og firkantet apparat. Registreringer fra rotte B14. Rotten fikk belønning i begge apparatene. I firkantet apparat med belønning ble det registrert i 16 sesjoner, mens det i det runde apparatet ble registrert i 5 sesjoner. Tallene til disse grafene er basert på rottens maksimale bevegelseshastighet i hver sesjon, bergeninger gjort i programmet Sess-anal. Grafene kommenteres i avsnitt 3.3, side 44.



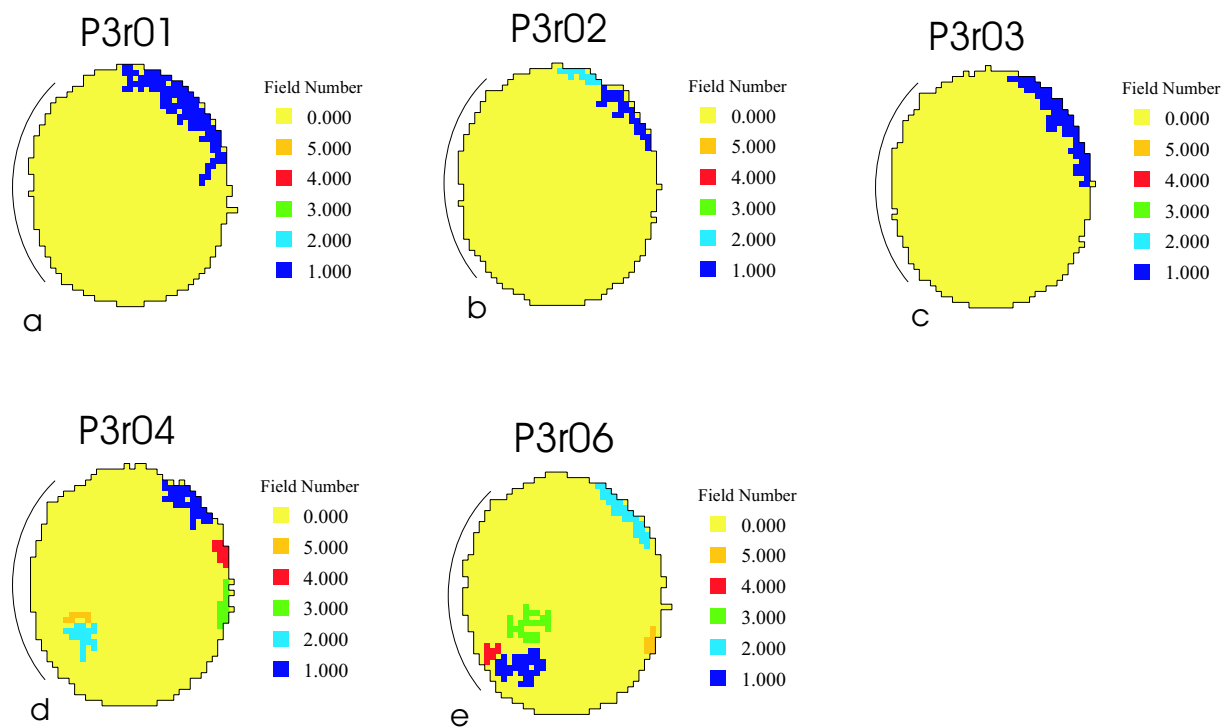
Figur 4.5: Sammenlikning av aktivitetsnivået med og uten belønning. Registreringer fra rotte B14 i firkantet apparat. Rotte B14 ble registrert i 16 sesjoner med belønning, uten proksimale landemerker, og i 5 sesjoner uten belønning. Tallene til grafene er basert på rottens maksimale bevegelseshastighet i hver sesjon, bergeninger gjort i programmet Sess-anal. Grafene omtales i avsnitt 3.3, side 44.

4.2 Stedcellenes fyringsmønster

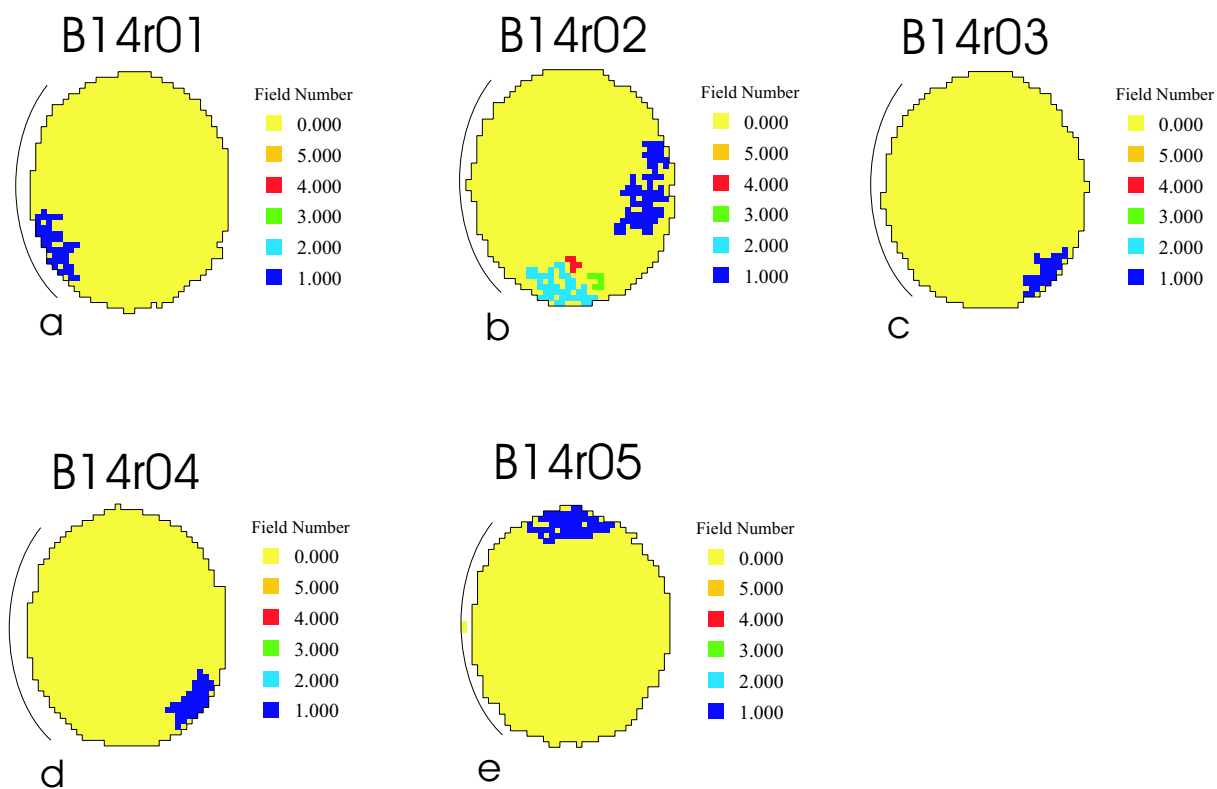
For alle kartene i denne seksjonen gjelder følgende fargekoder: De lilla feltene representerer fyringsfeltene med høyest fyringsfrekvens. De blå, grønne, røde og orange representerer fyringsfelt med synkende fyringsfrekvens. De gule områdene representerer områdene i apparatet uten fyringsfelter. I alle forsøkssituasjonene var det et distalt landemerke i form av et hvitt ark som var tapet på apparatets vegg.



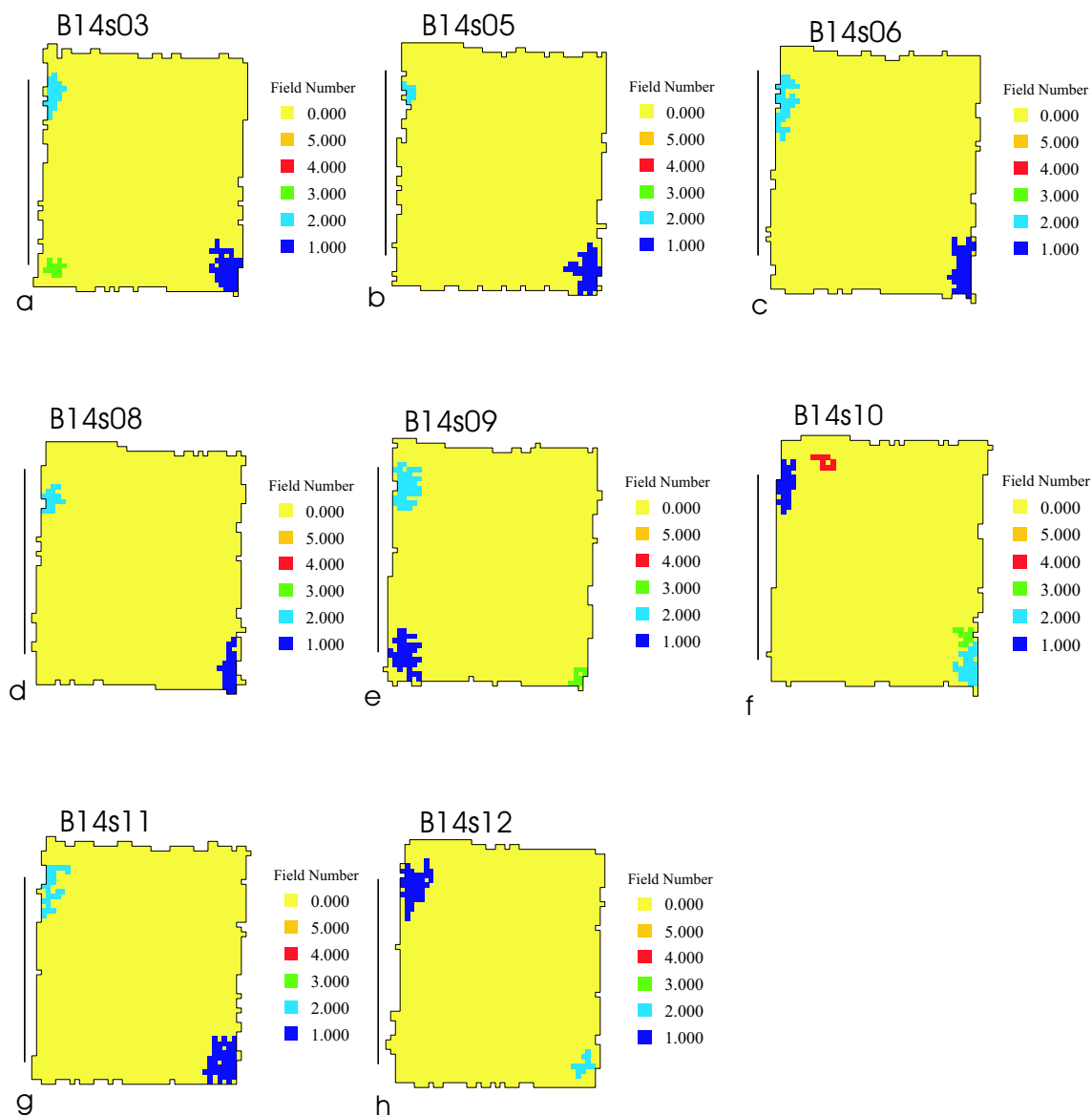
Figur 4.6: Kart som viser fyringsfelt. Stedcellene er registrert fra rotte B14 i firkantet apparat uten belønning over fire sesjoner. Fyringsfeltene i denne forsøkssituasjonen var så små at det ble nødvendig å benytte andre kriterier i analysen. Definisjonen på et fyringsfelt ble justert ned til å gjelde for minimum fem piksler. a viser stedcellens fyringsmønster i tredje sesjon, b, viser fjerde sesjon, c viser sjette sesjon og d viser sjuende sesjon. Disse kartene kommenteres i avsnitt 3.4, side 44.



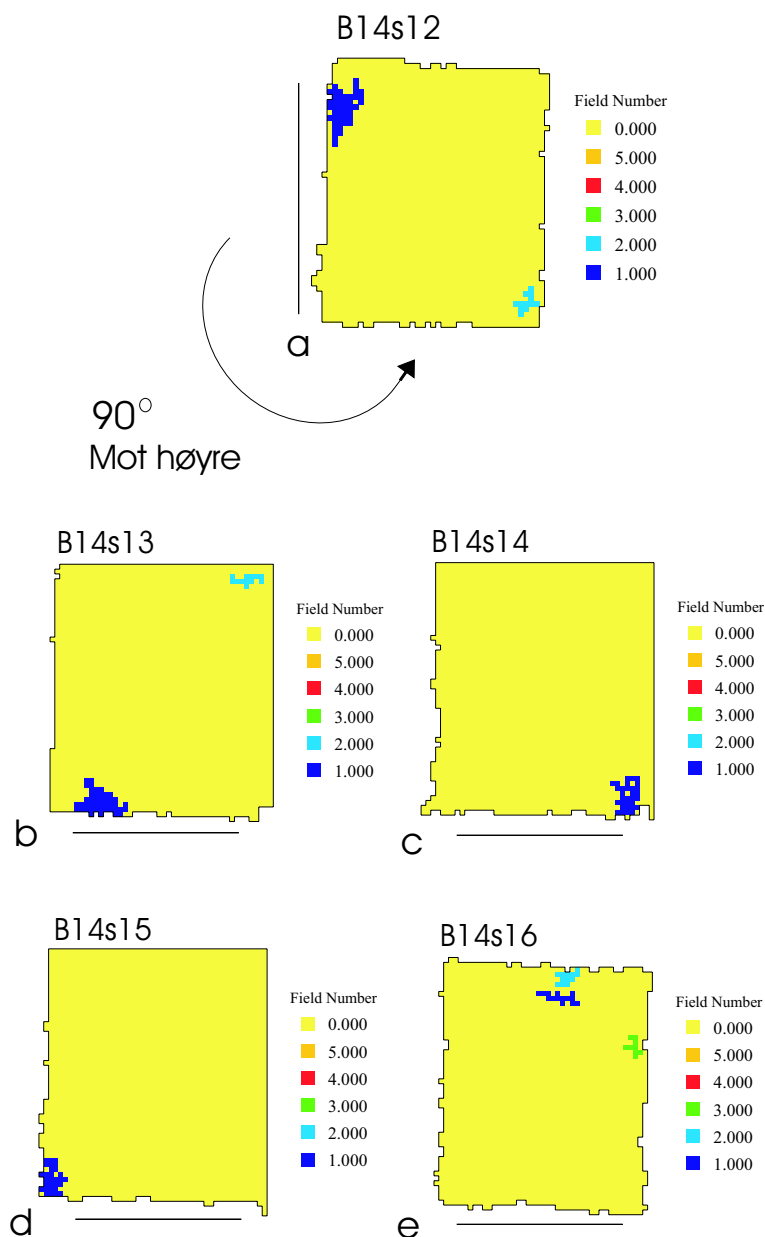
Figur 4.7: Kart som viser plassering av fyringsfelt i det runde apparatet der rotten fikk belønning. Registreringene er gjort av rotte P3. a viser fyringsmønster i første sesjon, b viser andre sesjon, c viser tredje sesjon, d viser fjerde sesjon og e viser sjette sesjon. Kartene omtales i avsnitt 3.4, side 44.



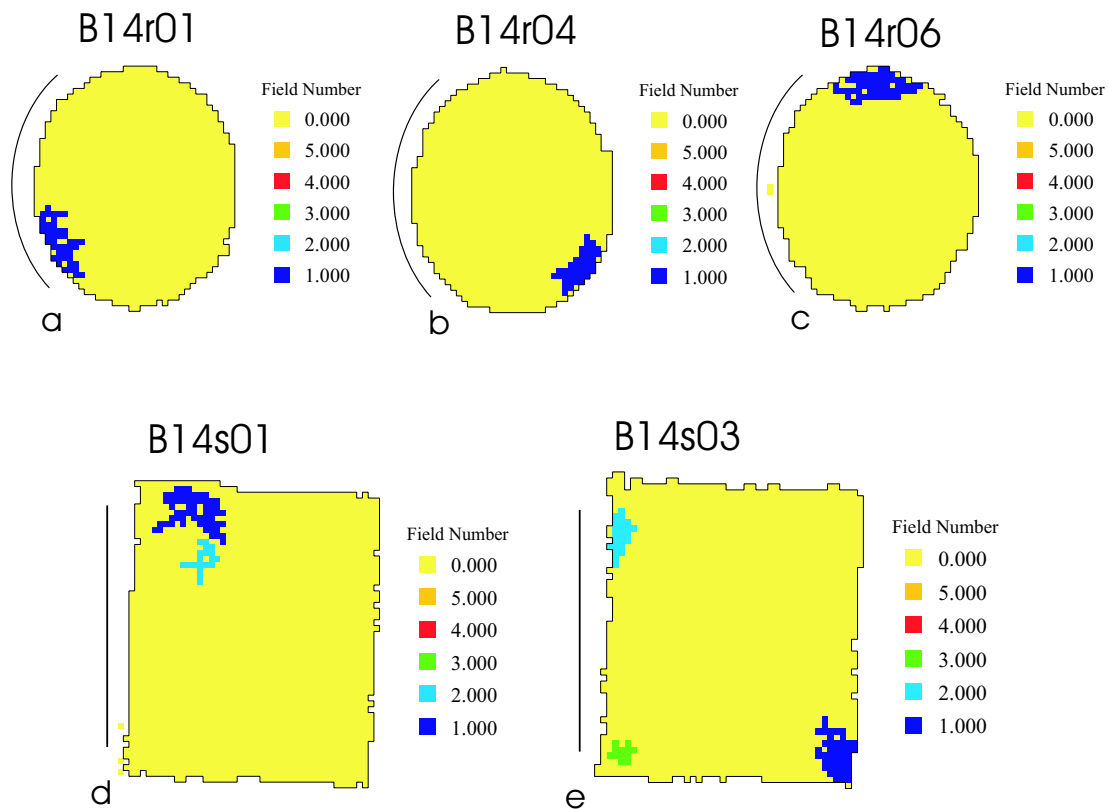
Figur 4.8: Kart som viser fyringsfelt registrert fra rotte B14 i rundt apparat med belønning over fem sesjoner. Denne figuren kommenteres i avsnitt 3.4, side 44.



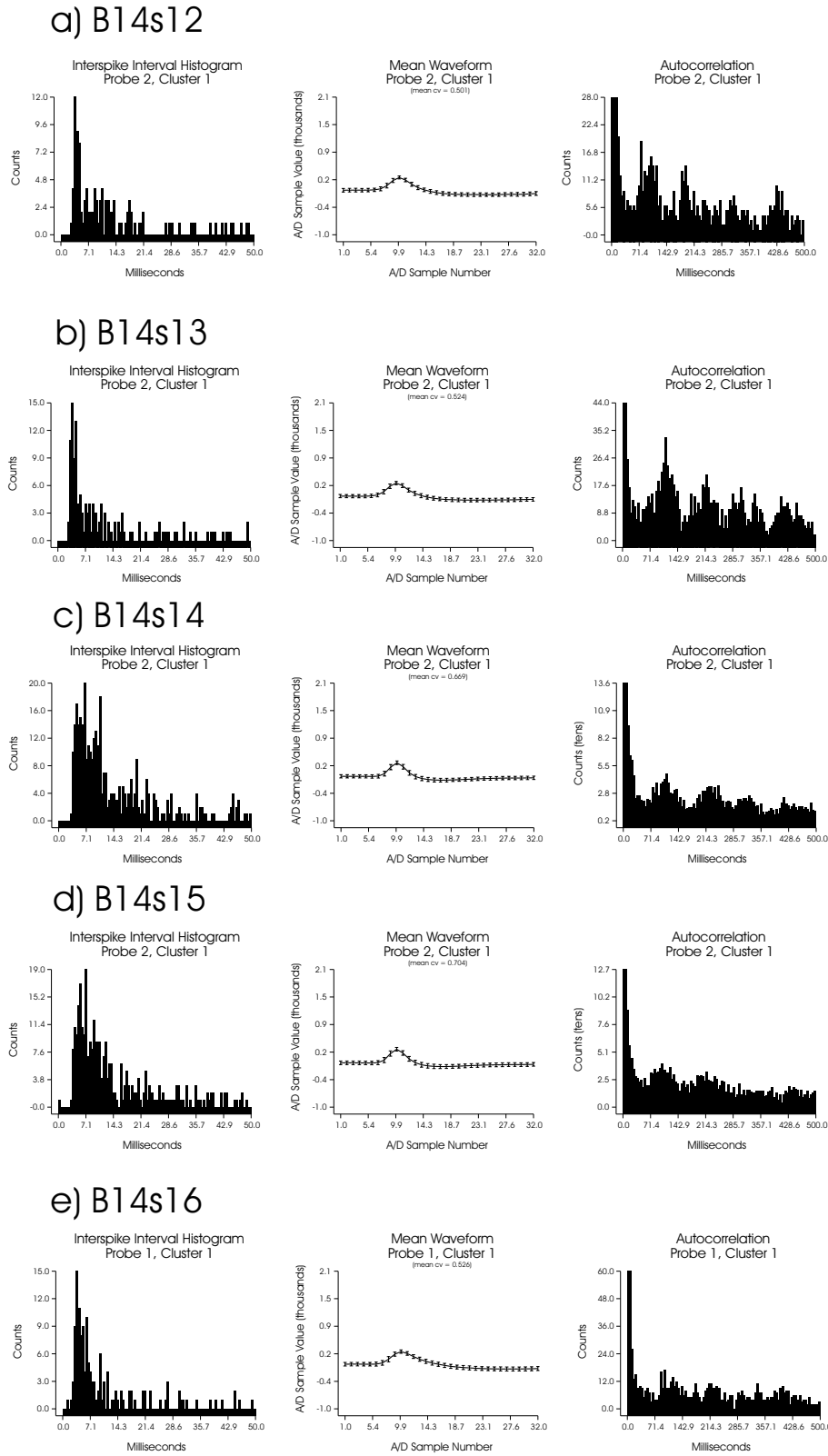
Figur 4.9: Fyringsfelt i firkantet apparat med belønning. Registrert fra rotte B14 over 12 sesjoner. a viser kart fra tredje sesjon, b viser fra femte, c fra sjette, d fra åttende, e fra niende, f fra tiende, g fra ellevte og h viser kart fra tolvte sesjon. Kartene omtales i avsnitt 3.4, side 45.



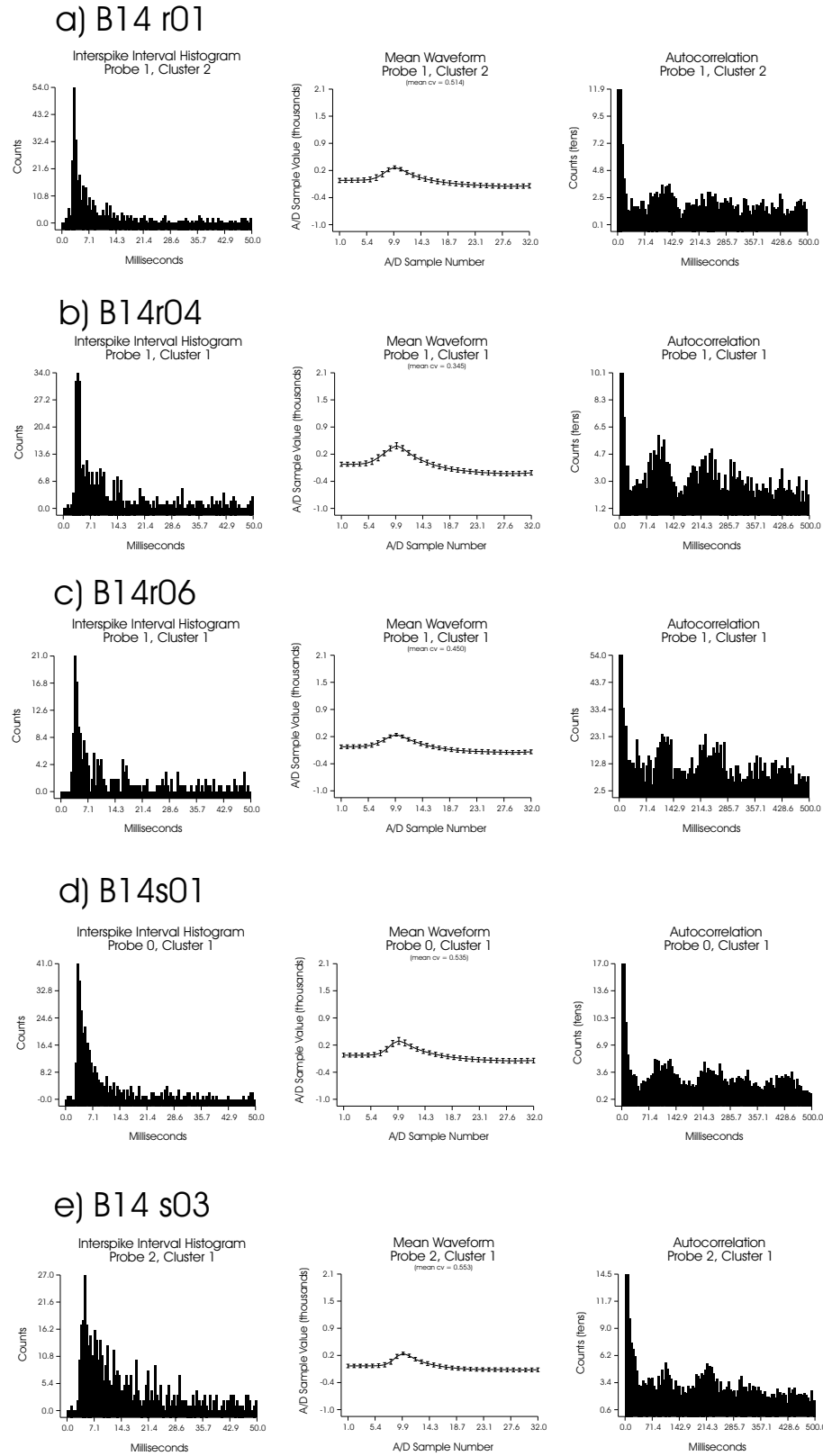
Figur 4.10: Kart over stedcellenes fyringsfelt ved rotasjon av distalt landemerke. Apparatet ble rotert 90° mot høyre. a viser hvor fyringsfeltene var plassert i 12., før rotasjonen av apparatet. I 13. sesjon var apparatet rotert og det distale landemerket var nå på den østre veggen i apparatet. c viser fyringsfeltene i 14. sesjon, d i 15. sesjon og e i 16. sesjon. Kartene omtales i avsnitt 3.4, side 45.



Figur 4.11: Sammenlikning av fyringsfelt i rundt og firkantet apparat. Rotten fikk belønning i begge disse forsøksapparatene. Kartene omtales i avsnitt 3.4, side 45.



Figur 4.12: Sammenlikning av karakteristiske trekk ved fyringsmønsteret til cellene som ble registrert i før og etter rotasjon av apparatet.



Figur 4.13: Sammenlikning av karakteristiske trekk ved fyringsmønsteret til cellene som ble registrert i det runde og det firkantede apparatet.

Kapittel 5

Diskusjon

5.1 Hovedfunn

I denne studien er det vist at stedcellene endrer fyringsmønsteret sitt når omgivelsene forandres. Det vises at geometrien til forsøksapparatet påvirker rottens atferd og stedcellenes fyringsmønster. De fleste studier i dette forskningsfeltet er gjort i runde apparat. Vi har forsøkt å vise at atferd og fyringsmønster endres som følge av formen på forsøksapparatet, og at det kan ha påvirket resultatene i tidligere studier.

Det andre hovedfunnet er at rotnenes aktivitet og stedcellenes fyringsmønster er påvirket av belønning. Fra tidligere publikasjoner er det kjent at belønning forsterker nevronal aktivitet. Derfor er de fleste studier på stedceller gjort med forsterkning i form av belønning. Vi tror belønningen i seg selv kan ha påvirket resultatene og har forsøkt å vise hvilken betydning belønning har hatt på atferd og fyringsmønster.

5.2 Diskusjon av material og metode

De fleste resultatene i denne studien kommer fra én rotte. Resultatene må derfor betraktes som preeliminære observasjoner. Det ble implantert 28 rotter og av disse var det kun tre med stabil aktivitet over lengre tid. Det kan være flere grunner til den lave suksessprosenten. Noen av årsakene ligger sannsynligvis i at metoden er komplisert og tidkrevende, siden det arbeides med levende rotter. Et viktig moment er at det krevde mye tid og arbeid før

rottene kunnet testes og eventuelle feil kunne oppdages.

De viktigste svakhetene ved metoden og gjennomføringen av denne som kan ha ført til lav suksessrate er følgende:

- Håndteringen av rottene tok lang tid. Når en gruppe rotter ikke ga resultater var det tidkrevende å starte med nye rotter.
- Elektrodelingen var komplisert og krevde høy grad av nøyaktighet. Elektrodene var svært skjøre og sårbare for berøring. De var spesielt utsatt under implantasjonen når de skulle føres ned i hjernevevet.
- Rottene kunne få innflamasjon i vevet rundt plattformen som kunne spre seg til elektrodene og forstyrre den elektriske konduktansen.
- Problemer med anestesi. Styrken på equithesin var svært variabel. Det gjorde det vanskelig å beregne riktig mengde og fire rotter døde som følge av equithesin-overdose.
- Plasseringen av elektroden under registreringen kan ha vært feil.

5.2.1 Valg av forsøksdyr

Hippocampus er en fylogenetisk gammel struktur, funn fra rotter kan derfor gi kunnskap om hippocampus sin funksjon også hos mennesker. Rotter er ideelle forsøksdyr fordi anatomen og atferden er velstudert [5]. Hippocampus hos rotter er relativt stor i forhold til den totale størrelsen på rottehjernen. I denne oppgaven ble Long Evans rotter brukt som forsøksdyr. De har godt syn og god hørsel sammenliknet med vanlige albino laboratorierotter. Long Evans rottene er svært omgjengelige og lett å håndtere. Hannrotter ble fortrukket fremfor hunrotter på grunn av de hormonelle variasjonene hos hunrotter.

Alle rottene ble håndtert før de ble implantert med elektroder. En leveransene av forsøksdyr inneholdt imidlertid seks rotter som var svært vanskelig å håndtere. Disse rottene var svært skremt og urolige, og de ga ingen resultater. Det skyldes kanskje at problemene som oppsto når de urolige rottene skulle kobles til registreringledningen kan ha forskjøvet elektroden i hjernen. En annen gruppe på fem rotter var for unge når de ble implantert. Skallen til disse rottene var ikke ferdig kalsifisert og var for myke til å holde den fastsementerte plattformen med elektrodene. Dette ble først oppdaget da plattformene løsnet sammen med deler av skallen, noe som skjedde med hele denne gruppen.

5.2.2 Registrering og analyse

Noen av årsakene til at 21 rotter ble implantert uten å gi resultater kan være knyttet til elektrodene. Mangel på registrert nevronal aktivitet kan blant annet skyldes høy impedanse i elektrodene. Penetreringen av elektroden i hippocampus kan ha forårsaket skader på nevronene i området det ble registrert fra. Elektroden kan ha endret posisjon som følge av rottens hodebevegelser eller på grunn av pulseringer i hjernen. Hos enkelte rotter oppsto det tekniske problemer når elektroden skulle føres videre ned i hjernen. Det kan ha endret elektrodens posisjon. Ni av rottene som ikke ga resultater hadde innflamasjon rundt elektroden. Disse ble implantert i august da temperaturen og luftfuktigheten var høy, det ga gode vekstforhold for bakterier, og innflamasjon var spesielt vanskelig å unngå denne tiden. Innflamasjon kan påvirke den elektriske konduktansen til den ekstracellulære væsken og formen på det registrerte potensialet påvirkes av de elektriske egenskapene til nervecellen og vevet rundt cellen. Rundt innflamasjonen kan det også ha blitt dannet arrvev som følge av celledød.

Registrering av enkelt nevroner ekstracellulært har en rekke fordeler, den viktigste er at registreringen kan gjøres på våkne dyr. Registreringen kan derfor gjøres uten påvirkninger fra anestesi og man får muligheten til å korrelere nevronal aktivitet med atferd. Likevel er det en del komplikasjoner knyttet til ekstracellulær registrering av enkelt nevroner. Metoden setter høye krav til analysen og sorteringen på grunn av bakgrunnstøy og signal fra andre nevroner. Det er komplisert å finne ut hvordan nevronet som det registreres fra ser ut eller hvordan elektroden er plassert i forhold til cellen. Formen på det registrerte signalet påvirkes av disse to forholdene. Sortering og identifisering av signaler fra et nevron er basert på at nevronene genererer aksjonspotensialer som har en karakteristisk form og frekvens [46, 81]. En elektrode som registrerer signal fra to celler med forskjellige avstander til elektroden vil registrere potensialer med to forskjellige karakteristiske former. Amplituden på det registrerte potensialet er gjerne et fremtredende kjennetegn. I denne studien ble det ikke registrert EEG, det var uheldig fordi det dermed ikke var mulig å korrelere stedcelleaktiviteten med theta-aktivitet. Det ble imidlertid forsøkt å registrere EEG, men rottene var ikke implantert med egen EEG-elektrode, og registreringer av EEG med en av de ti elektrodene i bunten ga mye støy. EEG registreringen ble derfor koblet ut.

Stedcellene genererer aksjonspotensialer i impulstog (se figur 1.1.2) der aksjonspotensialene endrer amplitude og frekvens i impulstoget gjør isoler-

ingen mer komplisert og kan føre til at aksjonspotensialer feilaktig blir sortert bort [27].

De vanligste elektrodene i denne typen eksperiment er enkeltelektroder i bunter eller multiple elektroder; stereotrode eller tetrode. Hvilken elektrodetype som er mest egnet avhenger av anatomien til den hjernedelen som skal studeres. Stereotroder og tetroder har klare fordeler når det skal registreres fra hjerneområder som har en homogenstruktur med homogent orienterte celler og høy celletetthet [17]. Enkeltelektroder er effektive dersom cellen som skal registreres er stor og befinner seg i cellelag med lav tetthet. CA1-området i hippocampus består av pyramideceller som har en homogen orientering og som forekommer med høy tetthet. Det hadde derfor vært fordelaktig å benytte multiple elektroder i mine eksperimenter. Enkeltelektroder har en tendens til å registrere aktivitet fra flere nevron samtidig. Derfor setter registrering med enkeltelektroder større krav til sortering og analyse enn registreringene ville gjort med multiple elektroder. En fordel med enkeltelektroder er at man kan isolere aksjonspotensialer on-line, på grunnlag av at det kun er en elektrode som registrerer fra det aktuelle nevronet. Selv om registreringer med stereotrode og tetrode har klare fordeler sammenliknet med enkeltelektroder som er laget av bunter med ti enkeltråder, ble det i denne studien lagt vekt på hva som var lett tilgjengelig og hvilke metoder som var etablert ved laboratoriet, da det skulle velges elektrode.

Før implantasjon ble elektrodens impedanse målt og nøye vurdert. En ideell elektrode hadde impedanse mellom 0,5–1 M Ω . Da var impedansen lav nok til å registrere utladningene til nervecellen i mikrovolt, men ikke så lav at elektrisk støy overskygget den nevronale aktivitet fra stedcellene som man ville registrere. Impedansen til elektrodene er høyere desto tynnere elektrodetrådene er. I valget av mikroelektroder ble tykkelsen på elektrodetrådene vurdert. Diameteren på mikroelektrodene bør være mindre enn eller like stor som cellelegemet til den nervecellen som elektroden skal registrere for å ikke skade cellen. Ulempen med tynne elektroder er at de vanskeligere holder en stabil posisjon i nærheten av cellelegemet. Tykke elektroder kan være mer stabile i plasseringen, men gjør større skade på vevet. Pyramidecellene i CA1-området har cellelegemer som er ca 25–40 μm . I denne studien ble det brukt mikroelektroder der hver tråd hadde en diameter på 25 mikroner. Ved å bruke elektroder som består av bunter på ti elektrodetråder, ble det mulig å føre hårstrå-tynne elektroder ned i hjernen uten at elektrodetrådene ble ødelagt av motstanden i vevet. Samtidig var hver elektrodetråd tynn nok til at skadene de utførte på cellen den registrerer fra ble minimal. Impedansen til elektrodene påvirkes også av hvordan elektrodens tupp blir kuttet. Dersom de kuttet rett av blir overflaten på elektrodens tupp minst, en skrå-kutting

gir større overflate og dermed også høyere impedanse.

Plasseringene av elektrodene i hippocampus ble forsøkt kartlagt etter at registreringsseriene var ferdige eller ble avbrutt. Figur 3.5 viser elektrodoplasseringen hos rotte B11. Hos denne rotten har elektroden vært for dyp og lesjonen vises noe forbi cellelaget i CA1-området. Dette kan forklare hvorfor det ikke lot seg gjøre og registrere stedcelleaktivitet over tid hos rotte B11. Etter tre sesjoner forsvant den registrerte aktiviteten. I forsøk på å finne igjen stedcelleaktiviteten har elektroden blitt skrudd for langt ned. Elektrodens plassering ved avliving forklarer hvorfor det ikke ble funnet mer stedcelleaktivitet. På grunnlag av notatene i forsøksprotokollen er det imidlertid grunn til å tro at elektrodene har vært i riktig posisjon under registreringene av de andre rottene. Noen av registreringsseriene ble avbrutt fordi rotten mistet implantatet på grunn av innflamasjon eller ukalsifisert skalle (se avsnitt 3.1 i resultatdelen). Hos disse rottene var det ikke mulig å lokalisere elektrodens plassering ved hjelp av lesjon.

Isoleringen av aksjonspotensialene fra pyramidecellene ble gjort med hjelp av dataprogrammet “Off-line Sorter” (Plexon® Inc) og Sess-anal. Programmene er tidligere omtalt i avsnitt 2.5.

Off-line Sorter og Sess-anal

“Cluster cutting” er den mest brukte teknikken for å skille ut aksjonspotensialer som kommer fra samme nevron. De ble sortert ut på grunnlag av amplitude, form, varighet og frekvens. Aksjonspotensialer fra samme nevron deler gjerne disse særtrekkene, og vil derfor danne skyer, eller “cluster”, med høy tetthet når de plottes i et koordinat system. Datapunktene som representerer aksjonspotensialene blir sortert på grunnlag av “principal components analysis” (PCA). Det er en algoritme der det antas at formen på aksjonspotensialene kan representeres som en lineær kombinasjon av to prinsipielle vektorer. I algoritmen antas det videre at aksjonspotensialer som kommer fra samme nevron vil utgjøre en samling av datapunkter som representerer korrelasjonen mellom aksjonspotensialene og de prinsipielle vektorene. PCA reduserer datamengden ved å velge ut datapunktene som skiller seg mest ut av datasettet. Dette er basert på en rekke orthogonale vektorer som beskriver den største variasjonen i de innsamlede data. PCA gjør det enkelt å skille generell støy fra data som kommer fra nevroner [46]. Datapunktene som samler seg i en sky grupperes før det ble utført “Template matching”. Da brukes et utvalg av representable aksjonspotensialer som mal og aksjonspotensialene sammenliknes opp mot denne. Avviksmarginen ble satt til 10%. De aksjonspotensialene

som ikke var tilstrekkelig lik malen blir forkastet. Isolering ved hjelp av mal er ikke alltid ideelt når signalene som skal analyseres kommer i impulstog fra “complex spike”-celler. Da endres høyden på amplituden under impulstog noe som kan gi falske negative resultater. Likevel var det et nyttig verktøy så lenge man var obsrvant på den mulige feilkilden. Kombinasjonen av PCA og bruk av mal, sorterte aksjonspotensial fra samme nevron effektivt og nøyaktig. Off-line Sorter-programmet var dessuten enkelt å bruke og lett tilgjengelig. Kvaliteten på isoleringen av enkeltnevronene kunne sjekkes etter analyse ved hjelp av “Session analysis” programmet.

Dataprogrammet Sess-anal analyserte resultatene videre og sammenfattet informasjonen fra tracker systemet med data analysert med Off-line Sorter. Dette viste hvor rotten var når den bestemte cellen var aktiv. Sess-anal ga informasjon om hvilken type celle det var registrert fra gjennom fyringskartene, og ved å vise gjennomsnittelig form på aksjonspotensialene og fyringsmønstre. Dersom analysen fra Off-line Sorter var av dårlig kvalitet ble dette avslørt ved å studere histogrammene og kartene fra Sess-anal. Interspikintervall histogram viser frekvensen mellom hvert aksjonspotensial fra samme nevron. Interspikintervaller på under 1 ms som tilsvarer refraktærperioden for de fleste nevron, indikerer det at aksjonspotensialene kommer fra mer enn et nevron [46]. En annen viktig analyse som viser karakteristiske trekk ved fyringsmønsteret er autokorrelering. Den presenteres i et frekvens-histogram som følger hvert enkelt aksjonspotensial fra cellen det registreres fra. Hvert aksjonspotensial fungerer som en referanse som de andre sammenliknes med. Autokorrelasjonshistogrammet kan enkelte ganger vise rytmiske fyringsmønstre og impulstog som ikke kommer frem i interspikintervall histogrammet [17].

Metoden som ble brukt i denne studien var tilstrekkelig for registrering og isolering av enkelt nevroner. Selv om vi med fordel kunne ha benyttet tetroder istedet for enkelt elektroder, var analysen ved hjelp av Off-line Sorter og Sess-anal, så grundlig at vi likevel kunne føle oss relativt sikre på at de registrerte potensialene stammet fra en enkelt celle.

5.3 Diskusjon av resultatene

Hovedanalysen av resultatene gikk ut på å sammenlikne rottens atferd med stedcellenes fyringsmønstre når rotten var i de forskjellige omgivelsene og eksplorerte under de ulike betingelsene. For på denne måten å finne ut om stedcellene har forskjellige fyringsegenskaper i ulike omgivelser. Det ble forsøkt

å finne ut hvordan forskjellige faktorer i omgivelsene påvirket atferden til rottene og fyringsmønsteret til stedcellene.

Faktorene som kan ha påvirket rottenes atferd og stedcellenes fyringsmønster i forsøksapparatene er følgende:

- Belønning.
- Forsøksapparatets geometri.
- Proksimale og distale landemerker.
- Tidligere erfaringer.
- Spatial kontekst.

5.3.1 Betydning av belønning

Figur 4.5 viser rotte B14 sitt aktivitetsnivå med og uten belønning i det firkantede apparatet. Rottens aktivitetsnivå var noe høyere når rotten ble gitt belønning under eksploreringen i det firkantede apparatet. Rotten dekket mer av området med belønning. Når rotten ikke ble gitt belønning sto den mye stille og hadde lavere bevegelseshastighet enn i samme apparat når den fikk belønning. De to forskjellige forsøksituasjonene kunne ikke direkte sammenliknes fordi det var proksimale landemerker i apparatet når rotten ikke fikk belønning. Rotten brukte mye tid rundt objektene og beveget seg lite når den utforsket disse. Men det kan se ut til at belønningen motiverte rotten til å gå mer rundt i omgivelsene både i det runde og det firkantede apparatet.

Den økte aktiviteten til rotten påvirket den nevronale aktiviteten og fyringsmønsteret til stedcellene. Det postuleres at endringer av atferd og spatiale parametre induserer plastiske endringer i stedcellenes fyringsmønster og stedcellene endrer fyringsmønster basert på erfaringer [10, 104]. Det er tidligere vist at farten til rotten påvirker fyringsfrekvensen til stedcellen [18]. Hvis rotten har høy fart når den springer gjennom fyringsfeltet fyrer stedcellen med høyere frekvens. Figur 4.4 og 4.5 viser at rotten beveget seg med en høyere hastighet når rotten fikk belønning, samt når den var i det firkantede apparatet, sammenliknet med det hastigheten i det runde apparatet.

I sammenlikningen av stedcellenes fyringsmønster under de forskjellige forsøksbetingelsene fant vi at stedcellene hadde et mer stabilt fyringsmønster når rottene fikk belønning enn i de sesjonene hvor belønning ikke ble gitt. Fyringsfeltene til cellene var større og mer stabile med belønning i form av pellets. Det ser ut til at stedcellenes fyring var mer stabil i det runde apparatet

enn i det firkantete. Fyringsfeltene er en anelse mindre i det firkantete apparatet. Dette skyldes kanskje at rotten dekket et større område av omgivelsene. Det er tidligere vist at belønning modulerer den nevronale aktiviteten i hippocampus hos rotter [33]. Sensorisk stimulering øker amplituden i theta rytmen i hippocampus. Det antas dermed at hippocampal aktivitet moduleres av oppmerksomheten til informasjonen. Betydningen et landemerke har på den spatiale fyringen kan påvirkes av tidligere erfaringer og hvilken oppmerksomhet rotten knytter til landemerket [35]. Det er vanskelig å vite om belønningen påvirker fyringsmønsteret direkte, eller om påvirkningen er indirekte via betydningen som belønningen har på atferden til rotten. Resultatene fra denne studien kan imidlertid tyde på at belønningen kan påvirke stedcellenes fyringsmønster direkte.

5.3.2 Betydning av landemerker

Tidligere forskning har vist at rotasjon av distale landemerker får fyringsfeltene til å rotere med de distale landemerkene og ignorere de lokale landemerkene på overflaten av forsøksapparatet. [63, 72]. Mine resultater er i tråd med den etablerte oppfatningen om at distale landemerker kontrollerer stedcellenes fyringsmønster [74], fyringsfeltene følger rotasjonen av forsøksapparatet, se figur 4.10. I sesjonene etter rotasjonen endret imidlertid fyringsmønsteret seg, noe som kan tyde på at rotten ikke lenger stolte på de distale landemerkene siden de hadde vist seg å være ustabile. Det er tidligere vist at landemerker som flyttes på har mindre effekt på stedcellefyringen enn landemerker som rotten vurderer som stabile [35]. I forsøk der rotten er tilstede når landemerkene blir manipulert, har fyringsfeltene vært stabile etter rotasjon. Når manipulasjonen ble foretatt uten at rotten var tilstede, roterte fyringsfeltene med apparatet [45]. I denne studien var rotten ikke tilstedet når forsøksapparatet ble rotert og fyringsfeltene roterte 90° med apparatet. Formen på fyringsfelt nummer 1 i 12. sesjon, 4.10a, og fyringsfelt 1 i 13. sesjon, 4.10b, var svært like. Det indikerer at rotten har brukt det samme kognitive kartet før og etter rotasjon. I 4.10c–e endrer fyringsfeltene form i tillegg til plassering. Dette tyder på at rotten har omorganisert den mentale representasjonen, og det har dannet seg et nytt kognitivt kart, såkalt “remapping”.

I de sesjonene det var proximale landemerker i form av objekter i apparatet, brukte rottene mye tid rundt disse, se figur 4.3a. Rotten beveget seg med lav hastighet rundt objektene, se figur 4.3b. Fyringsfeltene i denne forsøksituasjonen var svært små og utstabile, se figur 4.6a–d. Ut fra disse resultatene

er det vanskelig å vise hvilken betydning de proksimale landmerkene har hatt på stedcellens fyringsmønster. Deler av forsøksapparatet var ubesøkt av rotten og sannsynligheten for at rotten oppholder seg i fyringsfeltet til en stedcelle er lavere når rotten ikke dekker hele forsøksfeltet. Grunnlaget for å studere stabile fyringsfelt er derfor dårligere i de sesjonene der rotten beveget seg lite rundt, sammenliknet med sesjonene i firkantet apparat med belønning og uten proksimale landmerker, der rotten var mer aktiv og dekket hele forsøksfeltet.

5.3.3 Betydning av forsøksapparatets geometri

Det er gjort sammenlikninger av atferden til rotten og fyringsmønsteret til stedcellene i rundt og firkantet apparat. Fordi de fleste tidligere studier er blitt gjort i rundt apparat, er det interessant å se hvilken betydning geometrien på forsøksapparatet har på resultatene. Landmerkene som styrer stedcellenes fyringsmønster er sammensatt, og kan være basert på både geometrisk og ikke-geometrisk informasjon [3]. Den geometriske informasjonen manipuleres når formen på forsøksapparatet endres fra firkantet til rundt. Sammenlikningene av atferd i firkantet og rundt apparat viser at rotten har en tendens til å oppholde seg mest i de perifere delen av det firkantede apparatet, se figur 4.4. I det runde apparatet ser det ut til at rotten har gått mer på kryss og tvers. Aktivitetsnivået var høyere i det firkantede forsøksapparatet, se figur 4.4. Det kan skyldes at de homogene omgivelsene i det runde forsøksapparatet var mindre interessant for rotten enn det firkantede forsøksapparatet. Fyringsfeltene er mer stabile i det firkantede forsøksapparatet enn det runde, se figurene 4.9, 4.8. I figur 4.11 sammenliknes fyringsfeltene stedcellene hadde i det runde og firkantede apparatet. Histogrammene og den gjennomsnittlige formen på det registrerte potensialet, i det runde og firkantede apparatet, ble sammenliknet i figur 4.13. Det kan se ut som at fyringsfeltet i den første sesjonen i rundt apparat, 4.13a og fyringsfeltene i den første sesjonen i firkantet apparat, 4.13d, er fra samme stedcelle. Formen på det registrerte aksjonspotensialet i tredje sesjon i firkantet apparat, 4.13e, er relativt lik det potensialet som ble registrert i første sesjon i samme apparat. Dette kan tyde på at det ikke ble dannet et nytt kognitivt kart da rotten som tidligere hadde blitt testet og registrert i det runde apparatet ble plassert i det firkantede apparatet. Selv om geometrien i de to ulike apparatene var forskjellig kan det se ut som at rotten oppfattet omgivelsene som de samme. Dette kan være basert på at omgivelsene som de to apparatene var plassert i var en del av den samme spatiale kontekst.

5.3.4 Spatial kontekst

Det er svært sannsynlig at det kognitive kartet i hippocampus er sentralt i representasjonen av en spatial kontekst [56, 89]. I følge Sharp omorganiserer hippocampus den mentale representasjonen når ikke-spatiale momenter i konteksten endres. Dermed må hippocampus også lagre ikke-spatiale aspekter ved en situasjon [89]. Hun mener videre at stedcellene i hippocampus har en mer omfattende rolle enn den rollen de har blitt tilsett via hippocampus sin funksjon i læring og hukommelse. Mizumori et al [56] antar at hippocampus og stedcellene hjelper organismen til å lære nye spatiale kontekster, mens lokalitetene kodes i andre hjernestrukturer som for eksempel striatum. Videre postulerer hun at striatum og HD cellene brukes når rotten skal tilpasse atferden til omgivelsene. Mizumori mener at gunnen til at hippocampus representerer spatial kontekst er at dyret skal kunne lære seg forandringer som skjer i omgivelsene. Og at dyret kan endre betydningen av, eller oppmerksomheten til disse i takt med endringene av den spatiale konteksten, selv om landemerkene er stabile. En antar at hippocampus gjennomfører dette ved å sammenlikne den forventede konteksten med den som oppleves nå. Den forventede konteksten refererer til en "informasjonspakke" som reflekterer hukommelsen av landemerkene i kjente omgivelser.

I mine resultater ser det ut til at den spatiale konteksten har en stor påvirkning på fyringsmønsteret til stedcellene. I de forsøkene hvor rottene fikk belønning var fyringsfrekvensen høyere enn uten belønning, se avsnitt 5.3.1. Det er mulig at forandringen i den spatiale konteksten som belønningen utgjorde sørget for at rotten ble mer oppmerksom og interessert i omgivelsene. Andre faktorer som kan være en del av den spatiale konteksten i forsøksapparatene i denne studien er lys, lyd, lukt og farger. Lysintensiteten i de forskjellige områdene av apparatene var forholdsvis jevn, se figur 2.5. Det er tidligere vist at rottens aktivitetsnivå er høyere når det er lyst og rotten har tilgang til mange synsinntrykk enn i tilsvarende omgivelser uten lys [5]. Dette ser ikke ut til å innvirke på rottens aktivitetsmønster. Apparatene ble vasket før hver registrering for å eliminere eventuelle olfaktoriske landemerker. Døren mellom rommet med forsøksapparatene og resten av laboratoriet var alltid lukket under registreringene for å minimere muligheten for at lyder fra laboratoriet skulle påvirke rotten. Det kan like vel ha vært en del lyder i forsøksfeltet da rommet med forsøksapparatene ikke var lydtett.

Den spatial konteksten har, i følge Jeffery [3, 34], en mer omfattende påvirkning på stedcellenes firing enn geometrien. Dette er i tråd med mine resultater der belønningen hadde større innvirkning på fyringsmønsteret enn formen på

forsøksapparatet. Moita et al har registrert stedceller i hippocampus når rottene ble utsatt for fryktbetinging [57]. Deres funn bidrar til å underbygge antagelsene om at hippocampus lagrer kontekst-spesifikk hukommelse under assosiativ læring. Hippocampus ser ut til å være under kontinuerlig reorganisering når dyrene navigerer rundt i omgivelsene sine. Denne reorganiseringen av representasjonene skjer på grunnlag av endringene i stedcellenes fyringsmønster og fyringsfelt. En rekke studier støtter teoriene om at hippocampus spiller en viktig rolle i forhold til påvirkningen en bestemt spatial kontekst har. Men hva påvirkningen innebærer og hvilken effekt den har på læring generelt, og på forskjellige typer hukommelse spesielt, er fremdeles usikkert [67].

5.3.5 Karakteristiske trekk ved fyringsfeltene

Når rotten ikke fikk belønning i firkantet apparat var fyringsfeltenes størrelse mindre. De var også mindre stabile, og hadde en mer sentral plassering sammenliknet med fyringsfeltene til stedcellene som ble registrert i firkantet apparat med belønning. Når rotten fikk belønning var feltene både i rundt og firkantet apparat lokalisert langs veggene. Fyringsfeltene var større og mer stabile i begge apparatene når rotten ble gitt belønning. I håp om å få store og stabile fyringsfelt har det i tidligere studier blitt gitt belønning. Mine resultater antyder imidlertid at dette kan ha påvirket stedcellenes fyringsmønster og at stedcellene har karakteristiske egenskaper avhengig av omgivelsene rotten befinner seg i.

5.3.6 Rottens oppmerksomhet til omgivelsene

Hvis man antar at rottens spatiale hukommelse gjenspeiles i stedcellens fyringsmønster, kan høy fyringsfrekvens og stabile fyringsfelt indikere at rotten har ansett omgivelsene for å være interessante og viktige.

I mine resultater kan det se ut til at den nevronale aktiviteten endres i forhold til rottens oppmerksomhet til omgivelsene. Hos mennesker kreves det bevissthet for å rekonsolidere deklarativ hukommelse. Derfor er oppgaver som er basert på deklarativ hukommelse avhengig av individets oppmerksomhet. En hypotese om tilsvarende hukommelse hos rotter der stedcellene kanskje er en del av den mulige deklarative hukommelsen. Og der stedcellenes fyringsmønster kan være avhengig av rottens bevissthet og oppmerksomhet til omgivelsene. Belønningen bidro i denne studien sannsynligvis til at rottens

oppmerksomhet økte, dermed økte også stedcellenes fyringsfrekvens. Det er mulig at det ikke dannes stabile kognitive representasjoner av omgivelser som rotten ikke interesserer seg for.

Det er sannsynlig å anta at fyringsmønsteret til stedcellene reflekterer hva rotten har forsøkt å huske. Dette kan bety at rottens interesse for omgivelsene er med på å styre den spatiale hukommelsen hos rotter.

5.4 Navigasjon hos mennesker

Det er foreløpig noe uklart om modellene for steds coding og kognitive kart er overførbart til mennesker, eller om human navigasjon drives av andre visuelt baserte mekanismer. Det nevronale grunnlaget for navigasjon hos mennesker kan undersøkes gjennom fMRI (“functional Magnetic Resonans Imaging”) og PET (“Positron Emission Tomography”). Forsøkskandidaten får en virtuell navigasjonsoppgave der de skal orientere seg i kjente omgivelser ved å bruke sin interne representasjon av omgivelsene. Den mentale representasjonen bygges opp ved at kandidaten gjentatte ganger har utforsket de aktuelle omgivelsene. Ekstrøm et. al [21] har nylig presentert resultater som viser at det finnes en nevronal coding for navigasjon hos mennesker som er basert på nevroner som responderer ved synet av landemerker.

I en studie av Maguire et al [49] ble forsøkskandidatene delt i to grupper som fikk ulike navigasjonsoppgaver. Den ene fikk en rute-basert oppgave (definisjon og beskrivelse i avsnitt 1.4, side 14 i introduksjonsdelen), mens den andre gruppen fikk en kart-basert oppgave. Aktiviteten i hjernen til de to gruppene ble sammenliknet. Resultatene viste at høyre hippocampus og ble aktivert når kandidatene skulle løse den kart-baserte navigasjonsoppgaven. Mens høyre *caudatus nucleus* ble aktivert hos de som skulle løse den rute-baserte oppgaven. Venstre hippocampus og venstre frontal korteks blir antatt å være involvert i den ikke-spatiale delen av navigasjonen. Dette viser en nær sammenheng i den nevronale utførelsen av navigasjon mellom mennesker og andre pattedyr.

Maguire har også gjort liknede studier av drosjesjåfører i London. [50, 52]. Resultater fra disse viste en markant aktivering av høyre hippocampus under den kart-baserte navigasjonsoppgaven. Det ble også vist at drosjesjåførene hadde en mer utviklet posterior hippocampus og mindre utviklet anterior hippocampus, enn kontrollgruppen. De navigasjonsrelaterte strukturelle endingene i hippocampus var størst hos sjåførene som hadde vært lengst i yrket.

Disse funnene støtter ideen om at den posteriore delen av hippocampus lagrer den mentale representasjonen av omgivelsene (se avsnitt 1.1.4, side 10 i introduksjonsdelen). Mens den anteriore delen muligens er mer involvert ved tilegnelse av nye navigasjonsoppgaver. Funnene indikerer muligheten for lokal plastisitet i hippocampus som følge av økt stimulering. Det kan være samme mekanismene som ligger bak spatial hukommelse hos mennesker og rotter. I en studie er det sammenliknet NMDA-reseptor-avhengig LTP i gyrus dentatus hos mennesker og rotter, og resultater fra denne viser klare likeheter mellom de to artene [7]. Det er påvist en funksjonell inndeling av hippocampus hos både mennesker [52], aper [16], rotter [61] og fugler [15]. Dette indikerer at funn fra forsøksdyrene kan overføres til mennesker.

5.5 Debatt om hippocampus sin rolle i hukommelsen

Det er generelt akseptert at hippocampus hos rotter er involvert i spatial hukommelse. Det er imidlertid uenighet om hvorvidt prosessering av spatial informasjon er hippocampus sin eneste rolle eller bare en komponent i en mer omfattende funksjon [19, 71]. Det er sannsynligvis noen artsmessige forskjeller, og det kompliserer debatten. Stedcellene er uansett et tydelig bevis for at spatial representasjon er en viktig oppgave for hippocampus. Det har lenge vært en utbredt mening at hippocampus hos gnagere utelukkende er for spatial representasjon. Eichenbaum har vist at en rekke oppgaver basert på spatial hukommelse lar seg løse uavhengig av hippocampus. Representasjonen som dannes mens rotten løser oppgaven er mer avgjørende for hippocampus sin rolle enn om oppgaven er spatial eller ikke-spatial [19]. Videre har Eichenbaum vist at hippocampus er involvert når rottene skal løse ikke-spatiale oppgaver, som for eksempel er basert på lukt [105]. Eichenbaum har konkludert med at O'Keefe og Nadels [74] opprinnelige oppfatning om hippocampus sin rolle i å danne kart basert på spatiale landemerker bør utvides, og har foreslått at hippocampus er viktig for å etablere relasjoner mellom alle typer landemerker, både spatiale og ikke-spatiale. O'Keefe hevder på sin side at tankene om hippocampus sin rolle i ikke-spatial hukommelse beror på en misforståelse [71]. Stedcellene har en rekke egenskaper som feilaktig kan ha blitt oppfattet som ikke-spatiale når rottene skal løse ikke-spatiale oppgaver. Forskjellige stedceller fyrer i forskjellige omgivelser, så når dyret beveger seg rundt i en strukturert og repetert løype, vil forskjellige stedceller være knyttet til forskjellige aspekter ved omgivelsene. Under slike omstendigheter vil

fyringsmønsteret til noen “complex spike”-celler være knyttet til retningen rotten kommer fra når den går inn i fyringsfeltet. Dette kan gi inntrykk av at cellens aktivitet er knyttet til atferdsmessige sammenhenger ved å nå et mål. Noen stedceller har et fyringsmønster som er knyttet til sekundære sammenhenger som for eksempel at variasjoner i fyringsraten i fyringsfeltet er avhengig av farten til rotten i fyringsfeltet. En annen type stedcelle som O’Keefe mener blir mistolket er såkalte “misplace” celler, disse fyrer kun når rotten lukter i en bestemt lokalitet. O’Keefe konkluderer med at teorien om det kognitive kartet er den modellen av hippocampus sin funksjon som er best spesifisert og har flest eksperimentelle bevis.

5.6 Oppsummering og konklusjon

Resultatene i denne studien er basert på registreringer fra bare to rotter, med hovedvekt på den ene rotten. Det er derfor ikke mulig å trekke noen konkrete slutninger, men resultatene fra de to rottene gir antydninger om karakteristiske trekk hos stedcellene som også er vist i tidligere studier. Resultatene hentet fra rotte B14 og P3 antyder at både formen på forsøksapparatet og belønningen innvirket på stedcellenes fyringsmønster. Fyringsfeltene var mest stabile når rotten fikk belønning i det firkantede forsøksapparatet. Belønningen ga større og mer stabile fyringsfelter. Geometrien til det firkantede forsøksapparatet kan ha stimulert nysgjerrigheten til rotten og motivert til mer aktivitet. Det ser ut til at dyrets oppmerksomhet medvirker til og styrker aktiviteten til stedcellene. Mine resultater antyder at rottene viser omgivelsene størst oppmerksomheten i firkantet forsøksapparat med belønning.

- Rottens aktivitetsnivå var høyere når den fikk belønning sammenliknet med samme forsøksapparat uten belønning.
- Stedcellenes fyringsfelt var større og mer stabile over tid når rotten fikk belønning.
- Rotten var mer aktiv i det firkantede apparatet enn i det runde.
- Fyringsfelten til stedcellene var stabile over flere sesjoner når de ble registrert i firkantet apparat enn i rundt apparat.
- Det distale landemerket kontrollerte stedcellenes fyringsmønster.
- Det ble i denne studien ikke vist at de proksimale landemerkene hadde innvikling på stedcellens fyringsmønster.

- Det ble postulert at belønningen og geometrien til forsøksapparatet stimulerte rottens interesse for omgivelsene, og dermed økte den nevronale aktiviteten til stedcellen.

5.7 Forslag til videre arbeid

Det er gjort få studier på rotter som utforsker omgivelsene fritt, uten spatiale oppgaver. Funnene i denne studien har antydnet at belønning og geometrisk form kan motivere rotten til å utforske forsøksfeltet, og at dette igjen påvirker stedcellenes fyringsmønster. Stedcellene er dermed aktive fordi rotten finner omgivelsene interessante og fyringsmønsteret kan være drevet av rottens oppmerksomhet, eventuelt av hva rotten har forsøkt å huske. Dermed vil stedcellene kunne være mer aktive i omgivelser rotten synes er spennende, enn i omgivelser som kjeder den. Videre studier med samme eksperimentelle design kan underbygge, eller alternativt motbevise, en slik stedcelleaktivitet.

Tillegg A

Datoprotokoll

Dato for ankomst, implantasjon, testing, registrering og avliving av rotter som ble brukt i laboratoriearbeidet.

Tabell A.1: Datoprotokoll for rotter som ble brukt i laboratoriearbeidet.

Rotte	Ankomst	Implantert	Testing	Registrering	Perforert	Avlivet
P1	02.11.00	16.02.01	26.02.01	17.04.01	22.06.01	22.06.01
P2	02.11.00	15.02.01				15.02.01
P3	02.11.00	09.02.01	26.02.01	20.04.01	11.10.01	11.10.01
P4	02.11.00	14.02.01	26.02.01			21.06.01
B1	20.06.01	06.09.01	28.09.01			05.12.01
B2	20.06.01	24.08.01	26.09.01			01.11.01
B3	20.06.01	17.08.01	05.09.01			14.12.01
B4	20.06.01	19.09.01	03.10.01	11.10.01		14.12.01
B5	20.06.01	16.08.01	05.09.01			14.12.01
B6	20.06.01	10.08.01	05.09.01			05.01.02
B7	20.06.01	15.08.01	05.09.01			14.12.01
B8	20.06.01	17.08.01	05.09.01			09.11.01
B9	20.06.01	16.08.01	05.09.01			28.02.02
B10	20.06.01	26.11.01				26.11.01
B11	20.06.01	26.11.01	10.12.01	14.01.02	28.02.02	28.02.02
B12	20.06.01	27.11.01	10.12.01		20.02.02	20.02.02
B13	20.06.01	28.11.01	10.12.01	19.02.02	19.02.02	19.02.02
B14	20.06.01	22.11.01	10.12.01	15.01.02	18.03.02	18.03.02
B15	20.06.01	29.11.01	14.12.01		28.02.02	28.02.02
K1	13.12.01	27.02.02				27.02.02
K2	13.12.01	05.03.02	11.04.02			19.04.02
K3	13.12.01	08.03.02	11.04.02	21.06.02		04.07.02
K4	13.12.01	12.03.02	11.04.02			25.04.02
K5	13.12.01	14.03.02	11.04.02			15.04.02
K6	13.12.01	13.05.02	27.05.02	07.06.02		24.10.02
K7	13.12.01	14.05.02	27.05.02		29.10.02	29.10.02
K8	13.12.01	30.05.02	05.07.02		30.10.02	30.10.02
K9	13.12.01	31.05.02	05.07.02		30.10.02	30.10.02

Tillegg B

Sess–Anal

Analysekriterier og parametre som ble brukt i Sess-anal i denne studien:

CMp – Kartene ble laget i farger.

FldThrM – Gjennomsnittlig fyringsfrekvens i forsøksfeltet ble beregnet.

FldThrF 3 – Fyringsfrekvensen i hver piksel i fyringsfeltet var minimum $3\times$ høyere enn gjennomsnittlig fyringsfrekvens i forsøksfeltet forøvrig.

FldMp – Kart over fyringsfelt.

ISIPIt – Det ble laget interspike-intervall histogram.

MnWkSp 4 – Minimum bevegelseshastighet på fire cm/s. Aksjonspotensialene som ble registrert mens rotten beveget seg saktere enn fire cm/s ble sortert bort.

MnFldSz – Feltstørrelse ble satt til 9 piksler og endret til 5 piksler for registreringen gjort i firkantet apparat uten belønning, med proksimale landemerker.

OAsRpt – Det ble laget rapporter som innhold informasjon om den registrerte cellen.

WkO – Walking only. Aksjonspotensialene som ble registrert mens rotten ikke beveget seg ble sortert bort.

Tabell B.1: Analysekr terier og parametre som var tilgjengelig i dataprogrammet Sess-
Anal.

Kriterier	Parametre	Kriterier	Parametre	Kriterier	Parametre
-AcBn	100,0	-GlSpThr	0(cm/s)	-PhPlt	FALSE
-AcEnTm	500,0(ms)	-GlTmThr	0,0(ms)	-PltDrBn	36
-AcPlt	FALSE	-ISIBn	100	-PltPhBn	36
-AcStTm	0,0(ms)	-ISIEntm	50,0(ms)	-PxClF	4
-AnPr	FALSE	-ISIPlt	FALSE	-RdApMp	” “
-AnZCl	FALSE	-ISISstTm	0,0(ms)	-RdBkpt	” “
-BtEvFIO	FALSE	-KpCl	FALSE	-RtDrDvRtMp	FALSE
-ChRtThr	FALSE	-MnFldSz	9(cm)	-RtMp	TRUE
-ChSmRtThr	FALSE	-MnLtDst	2,5(cm)	-SmF	0,5
-ClRpt	TRUE	-MnThSc	40	-SpMp	TRUE
-DrDvRtMp	FALSE	-MnWkSp	9(cm/s)	-StO	FALSE
-ElCl	FLASE	-MnWvPlt	TRUE	-ThO	FALSE
-ErBrWv	TRUE	-MpDrBn	8	-TmDvDur	3,0(min)
-EvBgFl	”b”	-MpPhBn	8	-TmDvRtMp	FALSE
-FIApHl	”e”	-MpPxSz	2,5(pt)	-TmMp	TRUE
-FldMp	FALSE	-MxLtDst	10,0(cm)	-U2KM	FALSE
-FldThr	1,0(sp�k/s)	-MnxNThSc	3	-WkO	FALSE
-FldThrF	1	-NthO	FALSE	-WtApMp	FALSE
-FldThrM	FALSE	-OAsRpt	FALSE	-WtAsMp	FALSE
-FldThrSD	FALSE	-OPr	FALSE	-WtAsSmFl	FALSE
-GlRtThr	0,0(sp�k/s)	-OPs	TRUE	-WtAsSmMp	FALSE
-GlSmRtThr	0,1(sp�k/s)	-PhDvRtMp	FALSE	-WtBkpt	” “

Cell Report for Session b14v2/B14f0416-01p.cut

General Information:

Session Date: Friday, January 18, 2002

Session Time: 1:10 pm

Session Description: el_8,7,6,4,9,109 tr>275 4.reg i felt

Cells Analyzed: 1

Probes Analyzed: 0

Session Duration (minutes): 10.7

Detected Time (minutes): 10.6

Good Detects (%): 99.7

Apparatus Size (pixels): 1776

Apparatus Center (x, y): (38, 25)

Apparatus Borders:

Left: 16Right: 61

Top: 0Bottom: 51

Options:

Filter Data for Time Between Event Flags Only: false

Filter Data for Non-theta Only: false

Filter Data for Theta Only: false

Filter Data for Non-movement Only: false

Filter Data for Walking Only: true

Read Breakpoints from a File: false

Write Breakpoints to a File: false

Read Apparatus Map from a File: false

Write Apparatus Map to a File: false

Parameters:

Time Threshold (seconds): 0.000001

Speed Threshold (cm/second): 0

Position Sampling Frequency (Hz): 50.0

Maximum Non-theta Score: 25

Minimum Theta Score: 40

Maximum Still Speed (cm/second): 3

Minimum Walking Speed (cm/second): 4

Pixel Collapse Factor: 4.0

Breakpoints Read from File:

Breakpoints Written to File:

Apparatus Map Read from File:

Apparatus Map Written to File:

Event Begin Flag: b

Event End Flag: e

Minimum Inter-LED distance (cm): 2.5

Maximum Inter-LED distance (cm): 10.0

Tracker Pixel Collapse Factor: 4.0

Smoothed Map Smoothing Factor: 0.500

Probe 0, Cluster 1

Grand Rate (spikes/second): 1.153

Rate Threshold (spikes/second): 0.000001

Smoothed Rate Threshold (spikes/second): 0.100000

Rate/Time Map Correlation: 0.022

Rate/Time Map Correlation Statistics: $z = 0.871$, $p = 0.384$

Rate Map Coherence: 0.052

Rate Map Coherence Statistics: $z = 2.034$, $p = 0.042$

Total Spikes: 737

Detected Spikes: 735

Good Spikes (%): 99.7

Number of Fields: 2

Field Number:	1	2
---------------	---	---

Grand Rate (spikes/second):	6.2	8.1
-----------------------------	-----	-----

Center Rate (spikes/second):	8.9	12.5
------------------------------	-----	------

Center (x, y):	(36, 43)	(30, 21)
----------------	----------	----------

Total Pixels:	5	5
---------------	---	---

Field size (% of apparatus):	0.3	0.3
------------------------------	-----	-----

Total Spikes:	20	6
---------------	----	---

Total Time (minutes):	0.1	0.0
-----------------------	-----	-----

Spatial selectivity:	7.9	11.2
----------------------	-----	------

Out of Field Rate (spikes/second): 1.119

Out of Field Pixels: 1509

Out of Field Spikes: 709

Out of Field Time (minutes): 10.6

Wednesday, April 2, 2003 - 7:58:34 pm (CST)

Figur B.1: Rapport fra registrering av rotte B14 i fjerde sesjon i firkantet apparat uten belønning, med proksimale landemerker.

Cell Report for Session b14v2/B14r0216-01p.cut

General Information:

Session Date: Monday, January 21, 2002
 Session Time: 12:56 am
 Session Description: reg. 3, 8, 5, 78, 9, 109, tr250

Cells Analyzed: 2
 Probes Analyzed: 0

Session Duration (minutes): 14.0
 Detected Time (minutes): 13.9
 Good Detects (%): 99.8

Apparatus Size (pixels): 1255
 Apparatus Center (x, y): (37, 26)
 Apparatus Borders:

Left: 19Right: 56
 Top: 5Bottom: 47

Options:

Filter Data for Time Between Event Flags Only: false
 Filter Data for Non-theta Only: false
 Filter Data for Theta Only: false
 Filter Data for Non-movement Only: false
 Filter Data for Walking Only: true
 Read Breakpoints from a File: false
 Write Breakpoints to a File: false
 Read Apparatus Map from a File: false
 Write Apparatus Map to a File: false

Parameters:

Time Threshold (seconds): 0.000001
 Speed Threshold (cm/second): 0
 Position Sampling Frequency (Hz): 50.0
 Maximum Non-theta Score: 25
 Minimum Theta Score: 40
 Maximum Still Speed (cm/second): 3
 Minimum Walking Speed (cm/second): 4
 Pixel Collapse Factor: 4.0
 Breakpoints Read from File:
 Breakpoints Written to File:
 Apparatus Map Read from File:
 Apparatus Map Written to File:
 Event Begin Flag: b
 Event End Flag: e
 Minimum Inter-LED distance (cm): 2.5
 Maximum Inter-LED distance (cm): 10.0
 Tracker Pixel Collapse Factor: 4.0
 Smoothed Map Smoothing Factor: 0.500

Probe 0, Cluster 1

Grand Rate (spikes/second): 4.571
 Rate Threshold (spikes/second): 0.000001
 Smoothed Rate Threshold (spikes/second): 0.100000
 Rate/Time Map Correlation: -0.028
 Rate/Time Map Correlation Statistics: $z = -1.001$, $p = 0.317$
 Rate Map Coherence: 0.789
 Rate Map Coherence Statistics: $z = 37.603$, $p = 0.000$

Total Spikes: 3829
 Detected Spikes: 3824
 Good Spikes (%): 99.9

Number of Fields: 2

Field Number:	1	2
Grand Rate (spikes/second):	24.7	18.9
Center Rate (spikes/second):	40.6	27.0
Center (x, y):	(51, 31)	(36, 40)
Total Pixels:	78	45
Field size (% of apparatus):	6.2	3.6
Total Spikes:	938	833
Total Time (minutes):	0.6	0.7
Spatial selectivity:	14.9	9.9

Out of Field Rate (spikes/second): 2.722
 Out of Field Pixels: 1117
 Out of Field Spikes: 2053
 Out of Field Time (minutes): 12.6

Tuesday, April 1, 2003 - 11:43:36 am (CST)

Figur B.2: Rapport fra registrering av rotte B14 i andre sesjon i rundt apparat med belønning.

Cell Report for Session b14v2/B14S0516-01p.cut

General Information:

Session Date: Thursday, February 14, 2002
 Session Time: 2:35 pm
 Session Description: el: 2,8,5,7,3,9 tr>250. 5.reg med mat

Cells Analyzed: 1
 Probes Analyzed: 0

Session Duration (minutes): 14.3
 Detected Time (minutes): 14.2
 Good Detects (%): 99.2

Apparatus Size (pixels): 2150
 Apparatus Center (x, y): (39, 26)
 Apparatus Borders: Left: 17Right: 61
 Top: 0Bottom: 52

Options: Filter Data for Time Between Event Flags Only: false
 Filter Data for Non-theta Only: false
 Filter Data for Theta Only: false
 Filter Data for Non-movement Only: false
 Filter Data for Walking Only: true
 Read Breakpoints from a File: false
 Write Breakpoints to a File: false
 Read Apparatus Map from a File: false
 Write Apparatus Map to a File: false

Parameters: Time Threshold (seconds): 0.000001
 Speed Threshold (cm/second): 0
 Position Sampling Frequency (Hz): 50.0
 Maximum Non-theta Score: 25
 Minimum Theta Score: 40
 Maximum Still Speed (cm/second): 3
 Minimum Walking Speed (cm/second): 4
 Pixel Collapse Factor: 4.0
 Breakpoints Read from File:
 Breakpoints Written to File:
 Apparatus Map Read from File:
 Apparatus Map Written to File:
 Event Begin Flag: b
 Event End Flag: e
 Minimum Inter-LED distance (cm): 2.5
 Maximum Inter-LED distance (cm): 10.0
 Tracker Pixel Collapse Factor: 4.0
 Smoothed Map Smoothing Factor: 0.500

Probe 2, Cluster 1

Grand Rate (spikes/second): 0.865
 Rate Threshold (spikes/second): 0.000001
 Smoothed Rate Threshold (spikes/second): 0.100000
 Rate/Time Map Correlation: 0.069
 Rate/Time Map Correlation Statistics: $z = 2.958$, $p = 0.003$
 Rate Map Coherence: nan
 Rate Map Coherence Statistics: $z = \text{nan}$, $p = \text{nan}$

Total Spikes: 743
 Detected Spikes: 726
 Good Spikes (%): 97.7

Number of Fields: 2

Field Number:	1	2
Grand Rate (spikes/second):	9.6	8.3
Center Rate (spikes/second):	17.1	12.1
Center (x, y):	(60, 47)	(19, 8)
Total Pixels:	42	9
Field size (% of apparatus):	2.0	0.4
Total Spikes:	447	30
Total Time (minutes):	0.8	0.1
Spatial selectivity:	55.0	38.9

Out of Field Rate (spikes/second): 0.311
 Out of Field Pixels: 1771
 Out of Field Spikes: 249
 Out of Field Time (minutes): 13.4

Tuesday April 1, 2003 - 11:43:21 am (CST)

Figur B.3: Rapport fra registrering av rotte B14 i femte sesjon i firkantet apparat med belønning.

Referanser

- [1] Aguirre, G. K., Detre, J. A., Alsup, D. C. og D'Esposito, M. 1996, The parahippocampus subserves topographical learning in man. *Cereb-Cortex* 6(6):823–9.
- [2] Andersen, P., Bliss, T. V., Lomo, T., Olsen, L. I. og Skrede, K. K. 1969, Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Acta-Physiol-Scand* 76(1):4A–5A.
- [3] Anderson, M. I. og Jeffery, K. J. 2003, Heterogeneous modulation of place cell firing by changes in context. *J Neurosci* 23(26):8827–35.
- [4] Barnes, C. A., Suster, M. S., Shen, J. og McNaughton, B. L. 1997, Multistability of cognitive maps in the hippocampus of old rats. *Nature* 388(6639):272–5.
- [5] Barnett, S. A. 1967, *A Study in Behaviour*. Methuen& Co, LTD, Science paperbacks.
- [6] Bear, M. F., Connors, B. W. og Paradiso, M. A. 2001, *Neuroscience—Exploring the Brain*.
- [7] Beck, H., Goussakov, I. V. og Helmstaedter, C. E., Christophand Elger 2000, Synaptic plasticity in the human dentate gyrus. *J-Neuroscience* 20:7080–7086.
- [8] Blair, H. T. og Sharp, P. E. 1995, Anticipatory head direction signals in anterior thalamus: evidence for a thalamocortical circuit that integrates angular head motion to compute head direction. *J-Neurosci* 15(9):6260–70.
- [9] Bliss, T. V. P. og Collingridge, G. L. 1993, A synaptic model for memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31–3.

- [10] Bostock, E., Muller, R. U. og Kubie, J. L. 1991, Experience-dependent modifications of hippocampal place cell firing. *Hippocampus* 1(2):193–205.
- [11] Bramham, C. R., Torp, R., Zhang, N., Storm-Mathisen, J. og Ottersen, O. P. 1990, Distribution of glutamate-like immunoreactivity in excitatory hippocampal pathways: a semiquantitative electron microscopic study in rats. *Neuroscience* 39(2):405–17.
- [12] Brodal, P. 2001, *Sentral Nervesystemet*. TANO AS.
- [13] Brun, V. H., Otnass, M. K., Molden, S., Steffenach, H. A., Witter, M. P., Moser, M. B. og Moser, E. I. 2002, Place cells and place recognition maintained by direct entorhinal-hippocampal circuitry. *Science* 296(5576):2243–6.
- [14] Buresova, O., Bolhuis, J. J. og Bures, J. 1986, Differential effects of cholinergic blockade on performance of rats in the water tank navigation task and in a radial water maze. *Behav-Neurosci* 100(4):476–82.
- [15] Clayton, N. S. 1998, Memory and the hippocampus in food-storing birds: a comparative approach. *Neuropharmacology* 37(4-5):441–52.
- [16] Colombo, M., Fernandez, T., Nakamura, K. og Gross, C. G. 1998, Functional differentiation along the anterior-posterior axis of the hippocampus in monkeys. *J-Neurophysiol* 80(2):1002–5.
- [17] Crawley, J. 2003, Chronic recording of extracellular neuronal activity in behaving animals. I: *Current protocols in neuroscience*, kapittel 6.16, Wiley interscience, on-line.
- [18] Czurko, A., Hirase, H., Csicsvari, J. og Buzsaki, G. 1999, Sustained activation of hippocampal pyramidal cells by 'space clamping' in a running wheel. *Eur-J-Neurosci* 11(1):344–52.
- [19] Eichenbaum, H. 1996, Is the rodent hippocampus just for 'place'? *Curr-Opin-Neurobiol* 6(2):187–95.
- [20] Eichenbaum, H., Stewart, C. og Morris, R. G. 1990, Hippocampal representation in place learning. *J-Neurosci* 10(11):3531–42.
- [21] Ekstrom, A. D., Kahana, M. J., Caplan, J. B., Fields, T. A., Isham, E. A., Newman, E. L. og Fried, I. 2003, Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature* 425(6954):184–8.

- [22] Fenton, A. A. og Muller, R. U. 1996, Using digital video techniques to identify correlations between behavior and the activity of single neurons. *J-Neurosci-Methods* 70(2):211–27.
- [23] Fox, S. E. og Ranck, J., J. B. 1981, Electrophysiological characteristics of hippocampal complex-spike cells and theta cells. *Exp-Brain-Res* 41(3-4):399–410.
- [24] Gallagher, M. og Chiba, A. A. 1996, The amygdala and emotion. *Curr Opin Neurobiol* 6(2):221–7.
- [25] Gallistel, C. R. 1990, *The Organization of Learning*, kapittel 3, side 35–56. MIT Press, Cambridge.
- [26] Gothard, K. M., Skaggs, W. E. og McNaughton, B. L. 1996, Dynamics of mismatch correction in the hippocampal ensemble code for space: interaction between path integration and environmental cues. *J-Neurosci* 16(24):8027–40.
- [27] Harris, K. D., Henze, D. A., Csicsvari, J., Hirase, H. og Buzsaki, G. 2000, Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular and extracellular measurements. *J-Neurophysiol* 84(1):401–14.
- [28] Hetherington, P. A. og Shapiro, M. L. 1997, Hippocampal place fields are altered by the removal of single visual cues in a distance-dependent manner. *Behav-Neurosci* 111(1):20–34.
- [29] Hill, A. J. og Best, P. J. 1981, Effects of deafness and blindness on the spatial correlates of hippocampal unit activity in the rat. *Exp-Neurol* 74(1):204–17.
- [30] Hjorth-Simonsen, A. 1973, Some intrinsic connections of the hippocampus in the rat: an experimental analysis. *J Comp Neurol* 147(2):145–61.
- [31] Hollup, S. A., Molden, S., Donnett, J. G., Moser, M. B. og Moser, E. I. 2001, Accumulation of hippocampal place fields at the goal location in an annular watermaze task. *J-Neurosci* 21(5):1635–44.
- [32] Hollup, S. A., Molden, S., Donnett, J. G., Moser, M. B. og Moser, E. I. 2001, Place fields of rat hippocampal pyramidal cells and spatial learning in the watermaze. *Eur-J-Neurosci* 13(6):1197–208.
- [33] Holscher, C., Jacob, W. og Mallot, H. A. 2003, Reward modulates neuronal activity in the hippocampus of the rat. *Behav Brain Res* 142(1-2):181–91.

- [34] Jeffery, K. og Anderson, M. I. 2003, Dissociation of the geometric and contextual influences om place cells. *Hippocampus* 13.
- [35] Jeffery, K. J. 1998, Learning of landmark stability and instability by hippocampal place cells. *Neuropharmacology* 37(4-5):677–87.
- [36] Jeffery, K. J. og O’Keefe, J. M. 1999, Learned interaction of visual and idiothetic cues in the control of place field orientation. *Exp-Brain-Res* 127(2):151–61.
- [37] Jung, M. W. og McNaughton, B. L. 1993, Spatial selectivity of unit activity in the hippocampal granular layer. *Hippocampus* 3(2):165–82.
- [38] Jung, M. W., Wiener, S. I. og McNaughton, B. L. 1994, Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat. *J-Neurosci* 14(12):7347–56.
- [39] Kesner, R. P., Bolland, B. L. og Dakis, M. 1993, Memory for spatial locations, motor responses, and objects: triple dissociation among the hippocampus, caudate nucleus, and extrastriate visual cortex. *Exp Brain Res* 93(3):462–70.
- [40] Knierim, J. J. 2002, Dynamic interactions between local surface cues, distal landmarks, and intrinsic circuitry in hippocampal place cells. *J Neurosci* 22(14):6254–64.
- [41] Knierim, J. J., Kudrimoti, H. S. og McNaughton, B. L. 1995, Place cells, head direction cells, and the learning of landmark stability. *J-Neurosci* 15(3 Pt 1):1648–59.
- [42] Kobayashi, T., Tran, A. H., Nishijo, H., Ono, T. og Matsumoto, G. 2003, Contribution of hippocampal place cell activity to learning and formation of goal-directed navigation in rats. *Neuroscience* 117(4):1025–35.
- [43] Kolb, B., Buhrmann, K., McDonald, R. og Sutherland, R. J. 1994, Dissociation of the medial prefrontal, posterior parietal, and posterior temporal cortex for spatial navigation and recognition memory in the rat. *Cereb-Cortex* 4(6):664–80.
- [44] Kubie, J. L. 1984, A driveable bundle of microwires for collecting single-unit data from freely-moving rats. *Physiol-Behav* 32(1):115–8.
- [45] Lenck-Santini, P. P., Muller, R. U., Save, E. og Poucet, B. 2002, Relationships between place cell firing fields and navigational decisions by rats. *J Neurosci* 22(20):9035–47.

- [46] Lewicki, M. S. 1998, A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Network* 9(4):R53–78.
- [47] Lopes da Silva, F. H., Witter, M. P., Boeijinga, P. H. og Lohman, A. H. 1990, Anatomic organization and physiology of the limbic cortex. *Physiol-Rev* 70(2):453–511.
- [48] Lorente de No, R. 1934, Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *J-Psychol-Neurol* 46:113–177.
- [49] Maguire, E. A., Burgess, N., Donnett, J. G., Frackowiak, R. S., Frith, C. D. og O’Keefe, J. 1998, Knowing where and getting there: a human navigation network [see comments]. *Science* 280(5365):921–4, comment in: *Science* 1998 Dec 18;282(5397):2151.
- [50] Maguire, E. A., Frackowiak, R. S. J. og Frith, C. D. 1997, Recalling routes around london: activation of the right hippocampus in taxi drivers. *J-Neurosci* 17(18):7103–10.
- [51] Maguire, E. A., Frith, C. D., Burgess, N., Donnett, J. G. og O’Keefe, J. 1998, Knowing where things are parahippocampal involvement in encoding object locations in virtual large-scale space. *J-Cogn-Neurosci* 10(1):61–76.
- [52] Maguire, E. A., Gadian, D. G., Johnsrude, I. S., Good, C. D., Ashburner, J., Frackowiak, R. S. og Frith, C. D. 2000, Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A* 97(8):4398–403.
- [53] McDonald, R. J. og White, N. M. 1994, Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav-Neural-Biol* 61(3):260–70.
- [54] McNaughton, B. L., Barnes, C. A., Gerrard, J. L., Gothard, K., Jung, M. W., Knierim, J. J., Kudrimoti, H., Qin, Y., Skaggs, W. E., Suster, M. og Weaver, K. L. 1996, Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system. *J-Exp-Biol* 199(Pt 1):173–85.
- [55] McNaughton, B. L., Barnes, C. A. og O’Keefe, J. 1983, The contributions of position, direction, and velocity to single unit activity in the hippocampus of freely-moving rats. *Exp-Brain-Res* 52(1):41–9.

- [56] Mizumori, S. J., Ragozzino, K. E., Cooper, B. G. og Leutgeb, S. 1999, Hippocampal representational organization and spatial context. *Hippocampus* 9(4):444–51.
- [57] Moita, M. A., Rosis, S., Zhou, Y., E., L. J. og Blair, H. T. 2003, Hippocampal place cells acquire location-specific responses to the conditioned stimulus during auditory fear conditioning. *Neuron* 37:485–497.
- [58] Morris, R. G., Anderson, E., Lynch, G. S. og Baudry, M. 1986, Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319(6056):774–6.
- [59] Morris, R. G., Garrud, P., Rawlins, J. N. og O’Keefe, J. 1982, Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297(5868):681–3.
- [60] Morris, R. G., Schenk, F., Tweedie, F. og Jarrard, L. E. 1990, Ibotenate Lesions of Hippocampus and/or Subiculum: Dissociating Components of Allocentric Spatial Learning. *Eur J Neurosci* 2(12):1016–1028.
- [61] Moser, M. B. og Moser, E. I. 1998, Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* 8(6):608–19.
- [62] Muller, R. U., Bostock, E., Taube, J. S. og Kubie, J. L. 1994, On the directional firing properties of hippocampal place cells. *J-Neurosci* 14(12):7235–51.
- [63] Muller, R. U. og Kubie, J. L. 1987, The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *J-Neurosci* 7(7):1951–68.
- [64] Muller, R. U., Kubie, J. L. og Ranck, J., J. B. 1987, Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. *J-Neurosci* 7(7):1935–50.
- [65] Muller, R. U., Ranck, J., J. B. og Taube, J. S. 1996, Head direction cells: properties and functional significance. *Curr-Opin-Neurobiol* 6(2):196–206.
- [66] Muller, R. U., Stead, M. og Pach, J. 1996, The hippocampus as a cognitive graph. *J-Gen-Physiol* 107(6):663–94.
- [67] Nadel, L. og Eichenbaum, H. 1999, Introduction to the special issue on place cells. *Hippocampus* 9(4):341–5.

- [68] Nadel, L. og Moscovitch, M. 1997, Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr-Opin-Neurobiol* 7(2):217–27.
- [69] Nadler, J. V., Vaca, K. W., White, W. F., Lynch, G. S. og Cotman, C. W. 1976, Aspartate and glutamate as possible transmitters of excitatory hippocampal afferents. *Nature* 260(5551):538–40.
- [70] Nilsson, O. G., Shapiro, M. L., Gage, F. H., Olton, D. S. og Bjorklund, A. 1987, Spatial learning and memory following fimbria-fornix transection and grafting of fetal septal neurons to the hippocampus. *Exp-Brain-Res* 67(1):195–215.
- [71] O’Keefe, J. 1999, Do hippocampal pyramidal cells signal non-spatial as well as spatial information? *Hippocampus* 9(4):352–64.
- [72] O’Keefe, J. og Conway, D. H. 1978, Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Exp-Brain-Res* 31(4):573–90.
- [73] O’Keefe, J. og Dostrovsky, J. 1971, The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain-Res* 34(1):171–5.
- [74] O’Keefe, J. og Nadel, L. 1978, *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Clarendon Press, Oxford, UK.
- [75] O’Keefe, J. og Speakman, A. 1987, Single unit activity in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Exp-Brain-Res* 68(1):1–27.
- [76] Paxinos, G. og Watson, C. 1982, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press.
- [77] Poucet, B. 1993, Spatial cognitive maps in animals: new hypotheses on their structure and neural mechanisms. *Psychol-Rev* 100(2):163–82.
- [78] Quirk, G. J., Muller, R. U. og Kubie, J. L. 1990, The firing of hippocampal place cells in the dark depends on the rat’s recent experience. *J-Neurosci* 10(6):2008–17.
- [79] Quirk, G. J., Muller, R. U., Kubie, J. L. og Ranck, J., J. B. 1992, The positional firing properties of medial entorhinal neurons: description and comparison with hippocampal place cells. *J-Neurosci* 12(5):1945–63.

- [80] Ragozzino, K. E., Leutgeb, S. og Mizumori, S. J. 2001, Dorsal striatal head direction and hippocampal place representations during spatial navigation. *Exp-Brain-Res* 139(3):372–6.
- [81] Ranck, J., J. B. 1973, Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp-Neurol* 41(2):461–531.
- [82] Ranck, J. B. J. 1985, *Electrical Activity of Archicortex*, kapittel Head direction cells in the deep cell layer of dorsal presubiculum in freely moving rats, side 217–220. Akademi Kiado, Budapest.
- [83] Redish, A. D. 1999, *Beyond the cognitive map: from place cells to episodic memory*. The MIT Press, Cambridge, Mass.
- [84] Redish, A. D. og Touretzky, D. S. 1997, Cognitive maps beyond the hippocampus. *Hippocampus* 7(1):15–35.
- [85] Robbins, T. W., Cador, M., Taylor, J. R. og Everitt, B. J. 1989, Limbic-striatal interactions in reward-related processes. *Neurosci Biobehav Rev* 13(2-3):155–62.
- [86] Save, E., Cressant, A., Thinus Blanc, C. og Poucet, B. 1998, Spatial firing of hippocampal place cells in blind rats. *J-Neurosci* 18(5):1818–26.
- [87] Scoville, W. B. og Milner, B. 1957, Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J-Neurol-Neurosurg-Psychiatry* 20:11–21.
- [88] Shapiro, M. L., Tanila, H. og Eichenbaum, H. 1997, Cues that hippocampal place cells encode: dynamic and hierarchical representation of local and distal stimuli. *Hippocampus* 7(6):624–42.
- [89] Sharp, P. E. 1999, Complimentary roles for hippocampal versus subicular/entorhinal place cells in coding place, context, and events. *Hippocampus* 9(4):432–43.
- [90] Sharp, P. E. og Green, C. 1994, Spatial correlates of firing patterns of single cells in the subiculum of the freely moving rat. *J-Neurosci* 14(4):2339–56.
- [91] Shepherd, G. M. 1979, *The Synaptic Organization of the Brain*, kapittel 14, side 308–337. Oxford University Press, second edition utgave.
- [92] Silva, A. J., Paylor, R., Wehner, J. M. og Tonegawa, S. 1992, Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice [see comments]. *Science* 257(5067):206–11, comment in: *Science* 1992 Jul

- 10;257(5067):162-3. Comment in: *Science* 1992 Oct 29;262(5134):760-3.
- [93] Taube, J. S. 1995, Head direction cells recorded in the anterior thalamic nuclei of freely moving rats. *J-Neurosci* 15(1 Pt 1):70–86.
- [94] Taube, J. S. 1995, Place cells recorded in the parasubiculum of freely moving rats [published erratum appears in *Hippocampus* 1996;6(5):561]. *Hippocampus* 5(6):569–83.
- [95] Taube, J. S., Muller, R. U. og Ranck, J., J. B. 1990, Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *J-Neurosci* 10(2):420–35.
- [96] Taube, J. S., Muller, R. U. og Ranck, J., J. B. 1990, Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. II. Effects of environmental manipulations. *J-Neurosci* 10(2):436–47.
- [97] Thompson, L. T. og Best, P. J. 1989, Place cells and silent cells in the hippocampus of freely-behaving rats. *J-Neurosci* 9(7):2382–90.
- [98] Thorsnes, E. 2001, *Emergence and stability of the hippocampal place cells activity in a new environment*. Master's thesis, Department of Physiology, University of Bergen.
- [99] Tolman, E. C. 1948, Cognitive maps in rats and man. *Psychol Rev* 55(4):189–208.
- [100] Tulving, E. 1985, How many memory systems are there? *Am-Psychol* 40:385–98.
- [101] Tulving, E. 2002, Episodic memory: from mind to brain. *Annual review of psychology* 53:1–25.
- [102] White, N. M. 1989, Reward or reinforcement: what's the difference? *Neurosci Biobehav Rev* 13(2-3):181–6.
- [103] White, N. M., Packard, M. G. og Hiroi, N. 1991, Place conditioning with dopamine D1 and D2 agonists injected peripherally or into nucleus accumbens. *Psychopharmacology-Berl* 103(2):271–6.
- [104] Wilson, M. A. og McNaughton, B. L. 1993, Dynamics of the hippocampal ensemble code for space [see comments] [published erratum appears in *Science* 1994 Apr 1;264(5155):16]. *Science* 261(5124):1055–8, comment in: *Science* 1993 Aug 20;261(5124):993-4.

- [105] Wood, E. R., Dudchenko, P. A. og Eichenbaum, H. 1999, The global record of memory in hippocampal neuronal activity [see comments]. *Nature* 397(6720):613–6, comment in: *Nature* 1999 Feb 18;397(6720):561, 563.