

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Fyziologie živočichů



**Bc. Ivana Oravcová**

**Neurobiologické koreláty paměti epizodického typu**

**Neurobiological Correlates of Episodic-like Memory**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: PhDr. RNDr. Tereza Nekovářová, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Mgr. et Mgr. Iveta Fajnerová, Ph.D.

Praha 2017

## Čestné prehlásenie

Čestne prehlasujem, že som záverečnú prácu na tému „*Neurobiologické koreláty pamäti epizodického typu*“ vypracovala samostatne, pod vedením školiteľky práce PhDr. RNDr. Terezy Nekovářovej, Ph.D. a konzultantky práce Mgr. et Mgr. Ivety Fajnerovej, Ph.D., a v Zozname literatúry uviedla všetky použité informačné zdroje, vedecké publikácie a literatúru. Táto práca, ani jej podstatná časť, nebola predložená k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu.

V Prahe, 15.8.2017

.....  
*Bc. Ivana Oravcová*

## **Pod'akovanie**

Veľmi pekne by som sa chcela poďakovať školiteľke diplomovej práce PhDr. RNDr. Tereze Nekovářovej, Ph.D. a konzultantke diplomovej práce Mgr. et Mgr. Ivete Fajnerovej, Ph.D. za obrovskú ochotu, trpezlivosť, pevné nervy a cenné rady. Ďakujem zároveň aj svojim kolegom za pomoc pri analýze dát, predovšetkým Dr. Antonínovi Škochovi a Mgr. Eve Kozákovej. V neposlednom rade, ďakujem svojej rodine a blízkym priateľom za obrovskú podporu.

## **Abstrakt**

Deklaratívna pamäť je definovaná ako pamäť uvedomovaná, explicitná. Jedným zo zásadných systémov deklaratívnej pamäti je okrem sémantickej pamäti aj pamäť epizodická, ktorá nám umožňuje vybaviť si konkrétnu udalosť z minulosti. Na štúdium mechanizmov epizodickej pamäti sa často využíva zjednodušený model, tzv. pamäť epizodického typu. Podľa tohto modelu je každá spomienka uložená v určitom kontextuálnom rámci, charakterizovanom tromi základnými podmienkami: identitou udalosti („Čo sa stalo?“), časom („Kedy sa to stalo?“) a priestorovou zložkou („Kde sa to stalo?“). Tento typ pamäte je testovateľný nielen u ľudí, ale aj u animálnych modelov.

Cieľom diplomovej práce je študovať neurobiologický substrát jednotlivých komponent epizodickej pamäti za pomoci funkčnej magnetickej rezonancie (fMRI) u zdravých dobrovoľníkov, za využitia ekologicky validných úloh vytvorených v prostredí virtuálnej reality.

Výsledky dát získaných prostredníctvom fMRI úlohy ukazujú, že okrem spoločného neuronálneho substrátu epizodickej pamäti, existujú do istej miery odlišné mozgové štruktúry zodpovedné za vybavenie jednotlivých komponent modelu pamäti epizodického typu. Behaviorálne dáta naznačujú, že náročnosť vybavenia jednotlivých komponent nie je rovnocenná. Doplnujúca analýza využívajúca parceláciu mozgu na jednotlivé štruktúry, s následným stanovením objemu hipokampu a jeho podoblastí ukázala, že objem hipokampu významne koreluje len s úspešnosťou vo vybavení podmienky „Čo?“, tzn. identity predmetu (udalosti).

**Kľúčové slová:** pamäť epizodického typu, neurobiologický substrát, virtuálna realita, fMRI

## **Abstract**

Declarative memory is characterized as a conscious, explicit memory. Declarative memory consists of two essential systems, semantic memory and episodic memory. Episodic memory enables us to recall specific past events. A simplified model, so called Episodic-like memory is often used to study episodic memory mechanisms. According to this model, all events are stored in a contextual framework consisting of three basic components: identity of the object ('what' happened), temporal information ('when' it occurred) and spatial information ('where' did it happen). This type of memory is testable not only in humans but also in animal models.

Aim of this diploma thesis is to study the neuronal substrate of individual components of episodic memory in healthy volunteers by means of functional magnetic resonance imaging (fMRI) and ecologically valid tasks designed in virtual reality environment.

Results obtained in the fMRI paradigm show that apart from common neuronal substrate of episodic memory, additional brain structures are responsible for recollection of individual components of the episodic-like memory. Behavioral data indicate that the demands of the recollection of individual components is not equivalent. Additional analyses with parcellation of the brain to individual structures and consecutive determination of hippocampal volume and its subfields shows that hippocampal volume significantly correlates only with successful recollection of the 'what' component – identity of the object (event).

**Key words:** episodic-like memory, neurobiological substrate, virtual reality, fMRI

# Obsah

1 Úvod	9
<u>I. TEORETICKÁ ČASŤ DIPLOMOVEJ PRÁCE</u>	10
2 Literárny prehľad	11
<b>2.1 Deklaratívna pamäť – epizodická</b>	<b>11</b>
2.1.1 Epizodická pamäť	11
2.1.2 Pamäť epizodického typu	13
2.1.3 Epizodická pamäť, autobiografická pamäť	13
<b>2.2 Neuronálny substrát epizodickej pamäti</b>	<b>14</b>
2.2.1 Neuronálne štruktúry epizodickej pamäti	14
2.2.2 Integračné mechanizmy neuronálnych oblastí pamäti epizodického typu	18
<b>2.3 Metódy skúmania epizodickej pamäte</b>	<b>19</b>
2.3.1 Psychologické metódy	19
2.3.2 Behaviorálne metódy	20
2.3.3 Neurozobrazovacie metódy	21
2.3.3.1 Funkčná magnetická rezonancia	21
2.3.4 Počítačové technológie využívané vo výskume pamäti - virtuálna realita	29
<u>II. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ DIPLOMOVEJ PRÁCE</u>	31
3 Ciele diplomovej práce	32
<b>4 Pilotná štúdia 1</b>	<b>33</b>
4.1 Úvod, ciele a výskumné hypotézy	33
4.2 Design experimentu	34
4.3 Technické vybavenie	36
4.4 Výskumný súbor	36
4.5 Spracovanie a analýza dát	37
4.6 Výsledky	37
4.7 Diskusia	38
<b>5 Pilotná štúdia 2</b>	<b>39</b>

5.1 Úvod, ciele a výskumné hypotézy	39
5.2 Design experimentu	39
5.3 Technické vybavenie	41
5.4 Výskumný súbor	41
5.5 Spracovanie a analýza dát	41
5.6 Výsledky	42
5.7 Diskusia	43
<b>6 fMRI štúdia</b>	<b>45</b>
6.1 Úvod, ciele a výskumné hypotézy	45
6.2 Design experimentu	46
6.3 Výskumný súbor	56
6.4 Spracovanie a analýza dát	56
6.5 Výsledky	60
6.6 Diskusia	70
7 Záver	72
8 Literatúra	74
9 Prílohy	82

## Zoznam skratiek

angl.	anglicky
a pod.	a podobne
napr.	napríklad
tzn.	to znamená

---

AD	Alzheimerova choroba (angl. Alzheimer disease)
AMPA	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-izoxazol-propionátová kyselina (angl. $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid)
er-fMRI	event-related funkčná magnetická rezonancia (angl. event-related fMRI)
fMRI	Funkčná magnetická rezonancia (angl. functional magnetic resonance imaging)
EP	Epizodická pamäť (angl. Episodic Memory)
ELM	Pamäť epizodického typu (angl. Episodic-Like Memory)
FDG	Fluórdeoxyglukóza (angl. fludeoxyglucose)
HS	Hipokampálny systém (angl. hippocampal system)
MCI	Mierna kognitívna porucha (angl. Mild cognitive impairment)
MTL	Mediálny temporálny lalok (angl. Medial Temporal Lobe)
NMDA	N-metyl-D-aspartát (angl. N-methyl-D-aspartate)
NMR	Nukleárna magnetická rezonancia (angl. Nuclear Magnetic Resonance)
PET	Pozitronová emisná tomografia (angl. Positron Emission Tomography)
RBANS	(angl. Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status)
rs-fMRI	fMRI v pokojovom stave (angl. resting state functional magnetic resonance)
VR	Virtuálna realita (angl. virtual reality)



# 1 Úvod

Epizodická pamäť, ktorá sa podieľa na tvorbe identity človeka, patrí medzi kľúčové neurokognitívne funkcie, ktoré každý z nás denno denne využíva. Vďaka nej sa môžeme vždy späť vrátiť do minulosti a mentálne prežiť konkrétnu spomienku. Je dôležitá aj z hľadiska predikcií do budúcnosti, ktoré si vytvárame na základe minulých skúseností a zažitých situácií. Hoci epizodická pamäť je samozrejmom súčasťou každodenného života, jej skúmanie je veľmi obtiažne. Ide o komplikovaný proces, ale v konečnom dôsledku, výsledok prináša mnoho zaujímavých zistení.

Na štúdium epizodickej pamäti sa práve kvôli svojej komplexnosti častokrát využíva zjednodušený model, nazývaný pamäť epizodického typu. Tento model nám umožňuje študovať spätné vybavovanie spomienky - epizódy, a tým opätovné prežitie konkrétnej udalosti z minulosti. Model je založený na uložení a následnom vybavení v kontexte obsahujúcom tri základné parametre - čo, kde a kedy sa udialo. Tento model nám navyše umožňuje testovanie epizodickej pamäte v ľahko kvantifikovateľných úlohách, ktoré je možné testovať na rôznych úrovniach ontogenetického vývoja - počnúc deťmi v predškolskom veku, adolescentmi, dospelými a staršími ľuďmi. Zároveň nám poskytuje možnosť testovať zdravých dobrovoľníkov aj pacientov s diagnózou psychiatrického alebo neurologického ochorenia. Ďalšou zásadnou výhodou tohoto zjednodušeného modelu je, že nám umožňuje študovať epizodickú pamäť aj u zvierat a v animálnych modeloch neuropsychiatrických ochorení. V tom spočíva aj jej následné využitie v neuropsychiatrii, ktorej účelom je nielen výskum, ale aj klinická prax - diagnostika a remediácia príznakov ochorenia.

Diplomová práca si kladie za cieľ študovať neurobiologický substrát pamäti epizodického typu prostredníctvom úlohy vo funkčnej magnetickej rezonancii. Tomuto hlavnému cieľu však predchádza navrhnutie, vývoj a testovanie ekologicky validných úloh testujúcich epizodickú pamäť vytvorených v prostredí virtuálnej reality. Princípom úlohy je zbieranie predmetov rozmiestnených v komplexnom virtuálnom priestore vo vopred stanovenom poradí. Úlohou participanta je pamätať si "čo, kde a kedy" zbieral.

Súčasťou práce je okrem štandardnej analýzy mozgovej aktivácie v fMRI paradiogmate aj analýza morfológických dát pomocou novej metódy parcelácie mozgovej kôry a hipokampu s následným určením objemu vybraných oblastí.

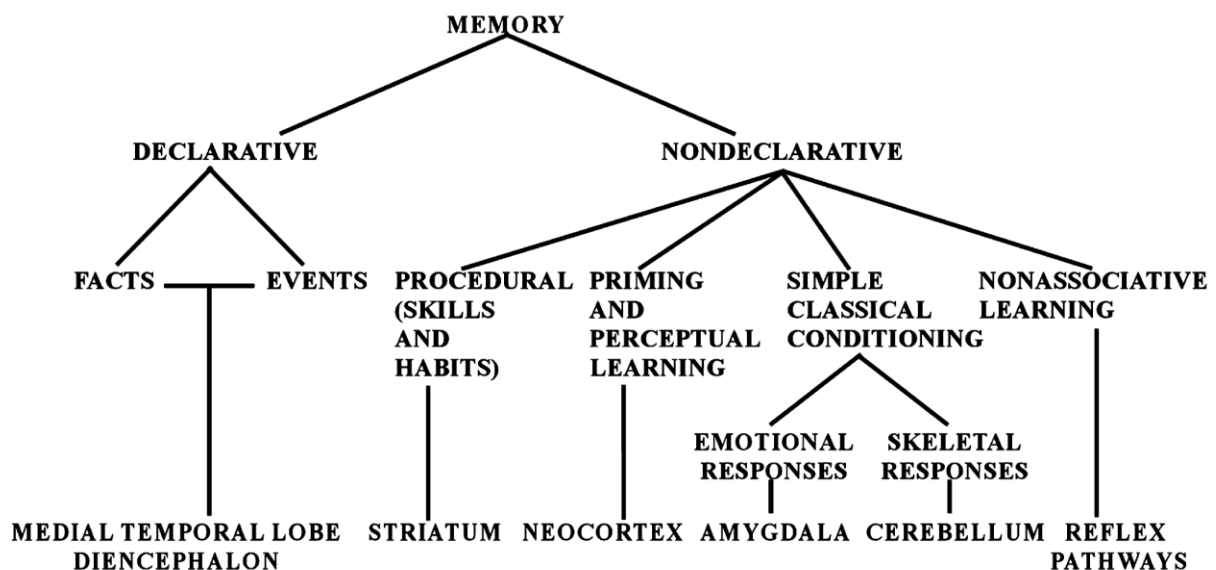
# I. TEORETICKÁ ČASŤ

## DIPLOMOVEJ PRÁCE

## 2 Literárny prehľad

### 2.1 Deklaratívna pamäť - epizodická

Dlhodobú pamäť rozdeľujeme podľa spôsobu vybavenia a podľa pamäťového obsahu na explicitnú, nazývanú aj ako deklaratívna pamäť, a pamäť implicitnú (nedeklaratívnu) (Obr. 1). V deklaratívnej pamäti prevláda vedomé vybavenie znalostí a udalostí, zatiaľ čo k pamäti nedeklaratívnej patrí motorické učenie, podmieňovanie, habituácia a priming (Squire, 2004). Deklaratívna pamäť je tradične rozdeľovaná na pamäť sémantickú a epizodickú. Sémantická pamäť je pamäťou pre fakty a všeobecné znalosti o svete (napr. „Kodaň je hlavným mestom Dánska.“), zatiaľ čo epizodická pamäť je pamäťou pre udalosti (napr. „Ráno som spadla z bicykla.“). V odbornej literatúre presná definícia epizodickej pamäti častokrát splýva s definíciou pamäti autobiografickej (Allen a Fortin, 2013). Niektorí autori však tieto pamäti rozlišujú, ako bude uvedené ďalej v texte.



Obr. 1 | Taxonomické rozdelenie pamäťového systému. (upravené podľa Squire, 2004).

#### 2.1.1 Epizodická pamäť

Epizodická pamäť (EP) je považovaná za neurokognitívny systém, ktorý nám umožňuje spätne spomínať na udalosti z minulosti. Ide o konkrétne o kódovanie, konsolidáciu a uchovávanie pamäťových stôp (engram), v tomto prípade kontextuálnych informácií dočasne trvajúcich epizód a popis ich časovo-priestorových vzťahov (Crystal, 2010; Dudai, 2012). Endel Tulving (1993) pri

porovnávaní pamäti sémantickej a pamäti epizodickej, poznamenal, že EP nám umožňuje spätne spomínať na získané osobné skúsenosti a zážitky. To znamená, že si daná osoba musí byť vedomá nielen získanej skúsenosti, jej charakteristiky a rozlíšenia, ale aj časového a priestorového diania udalosti. Ide o tzv. mentálne cestovanie časom, ktoré nám umožňuje znovuprežitie určitej osobnej skúsenosti. Tento proces si vyžaduje uvedomovanie si samého seba a tvorbu mentálnej reprezentácie v minulosti, prítomnosti, budúcnosti; k čomu je nevyhnuté autoetické vedomie.

K tomu, aby bola spomienka požadovaná epizodickú musí spĺňať nasledujúce vlastnosti (Conway, 2009):

- obsahujú súhrnné záznamy o senzorickej, perceptuálnej, konceptuálnej a afektívnej spracovaní,
- zachovávajú vzory aktivácie/inhibície počas dlhého časovej periódy,
- sú často ukladané vo forme (vizuálnych) reprezentácií,
- majú vždy perspektívu poľa alebo pozorovateľa,
- reprezentujú časovo obmedzené udalosti,
- sú zastúpené časovou sekvenciou najmä v poradí epizód,
- podliehajú rýchlemu zabudnutiu,
- tvoria jedinečné autobiografických spomienky,
- spätným vybavením sú epizódy prežité znova.

Epizodická pamäť môže byť narušená u rôznych neurologických a neuropsychiatrických ochorení. Typickým príkladom je amnestická forma miernej kognitívnej poruchy a Alzheimerova demencia, kde práve deficit epizodickej pamäti spôsobený úbytkom hmoty v oblasti stredného spánkového laloku predstavuje jeden z najzávažnejších príznakov (Pozueta et al, 2011; Fromholt a Larsen, 1991; Ballard et al, 2015). K poruchám epizodickej pamäti ale typicky dochádza aj u iných ochorení neurologického pôvodu, napr. u vaskulárnej demencie, frontotemporálnej demencie, Korsakoffovho syndrómu, epilepsie, či herpetickej encefalitíde, ale tiež pri závažnej hypoxii alebo traumatických úrazoch hlavy (Kopelman, 2002). Epizodická pamäť však býva narušená aj u niektorých neuropsychiatrických ochorení, typickým príkladom je schizofrénia (Leavitt a Goldberg, 2009).

### 2.1.2 Pamäť epizodického typu

Pamäť epizodického typu (ELM, angl. Episodic-like memory), považovaná za zjednodušený model epizodickej pamäti. Ide o pamäť pre udalosti uložené v určitom kontexte, predstavujúce prepojenie kontextuálnych informácií:

- identifikácie udalosti: ‚Čo sa stalo?‘
- priestorovej podmienky: ‚Kedy sa udalosť odohrala?‘
- časovej podmienky: ‚Kde sa udalosť odohrala?‘

Tento model je extenzívne využívaný i v animálnych experimentoch, v ktorých je obtiažne preukázať autoetické vedomie. Prvýkrát bol tento zjednodušený model epizodickej pamäti u zvierat demonštrovaný v roku 1998 na sojkách *Aphelocoma coerulescens*, ktoré patria k druhu tzv. „food-storming birds“ majúcu špecifickú potravnú stratégiu. Potravu si schovávajú v stovkách oddelených skrýší, ktorých pozície si môžu pamätať týždne až mesiace. Vtáky preukázali schopnosť pamätať si nielen, aký typ potravy si schovali (červíky/oriešky), kde a zároveň aj kedy bola potrava zahrabávaná. Tento experiment preukázal schopnosť vtákov pamätať si spomienku v určitom kontexte (‚Čo?‘ - ‚Kde?‘ - ‚Kedy?‘) (Clayton a Dickinson, 1998).

Tento zjednodušený model sa ovšem môže úspešne využívať aj v humánnych experimentoch, ako demonštroval napr. K. Vlček s kolegami, keď vyvinuli počítačovú verziu testu pamäti epizodického typu študovali výkon u pacientov trpiacich miernou kognitívnou poruchou (MCI) a Alzheimerovou chorobou AD (Vlček, 2009).

### 2.1.3 Epizodická pamäť, autobiografická pamäť

Rada autorov používa oba termíny ako zameniteľné, vrátane originálnej definície zavedenej Endelom Tulvingom, ktorý epizodickú pamäť chápal ako mentálne cestovanie časom (Tulving, 1972). Avšak, v odbornej literatúre sa môžeme stretnúť s odlišnými definíciami epizodickej a autobiografickej pamäti.

Conway napríklad predpokladá existenciu jednoduchej epizodickej pamäti (SEM, angl. simple episodic memory), ktorá sa skladá z jednotlivých epizodických elementov a určitého konceptuálneho rámca. Niekoľko epizodických elementov SEM tvorí komplex epizodickej pamäti, nazývaný CEM (angl. complex of episodic memory) (Conway, 2005). Autobiografická pamäť potom tvorí určitý nadriadený rámec pre takto charakterizovanú epizodickú pamäť. Autobiografická a epizodická pamäť následne tvoria základ pre tzv. ‚konceptuálne sebaaprezentovanie‘ (angl. conceptual self) zahrňujúce uvedomenie si samého seba, svojich spomienok, cieľov aj motivácií (Conway, 2005).

Iný pohľad na autobiografickú pamäť má Sara Newcombe, ktorá rozdeľuje epizodické i sémantické spomienky na spomienky osobné („self-related“) a neosobné (angl. impersonal), podľa toho, na koľko sa vzťahujú k subjektu a jeho skúsenosti (Newcombe et al, 2007).

Gilboa (2004) sumarizuje štúdie porovnávajúce autobiografickú a epizodickú pamäť v rozsiahom článku. Gilboa chápe autobiografickú pamäť predovšetkým ako „schopnosť mentálneho cestovania v čase, tzn. schopnosť vedome znovu prežiť určité udalosti, zatiaľčo pamäť epizodickú chápe ako schopnosť vedome si vybaviť určitú udalosť v danom kontexte. Štúdiu triedi podľa použitej metodológie (fMRI, PET), podľa typu úlohy - rozpoznávanie („recognition“), spätné vybavenie pomocou nápovedy („cue recall“); podľa typu kontrastov (experimentálna podmienka je kontrastovaná podľa sémantickej úlohy, podľa epizodickej úlohy), podľa obsahu pamäti (kontext vs. obsah). Podľa tejto metaštúdie je epizodická pamäť spojovaná s aktiváciou stredného dorsolaterálneho prefrontálneho kortexu, zatiaľčo táto aktivácia sa neobjavuje u autobiografickej pamäti.

## **2.2 Neuronálny substrát epizodickej pamäti**

Epizodická pamäť je sprostredkovaná veľkou sieťou neuronálnych oblastí v mozgu. Zahrňuje širokú asociáciu neokortikálnych oblastí a komponenty mediálneho temporálneho laloku (MTL, angl. Medial temporal lobe) (Dickenson a Eichenbaum, 2010). Táto kapitola sa venuje popisu jednotlivých neuronálnych štruktúr v mozgu, ktoré sa podieľajú na kódovaní a spätnom vybavovaní informácií súvisiacich s epizodickou pamäťou

### **2.2.1 Neuronálne štruktúry epizodickej pamäti**

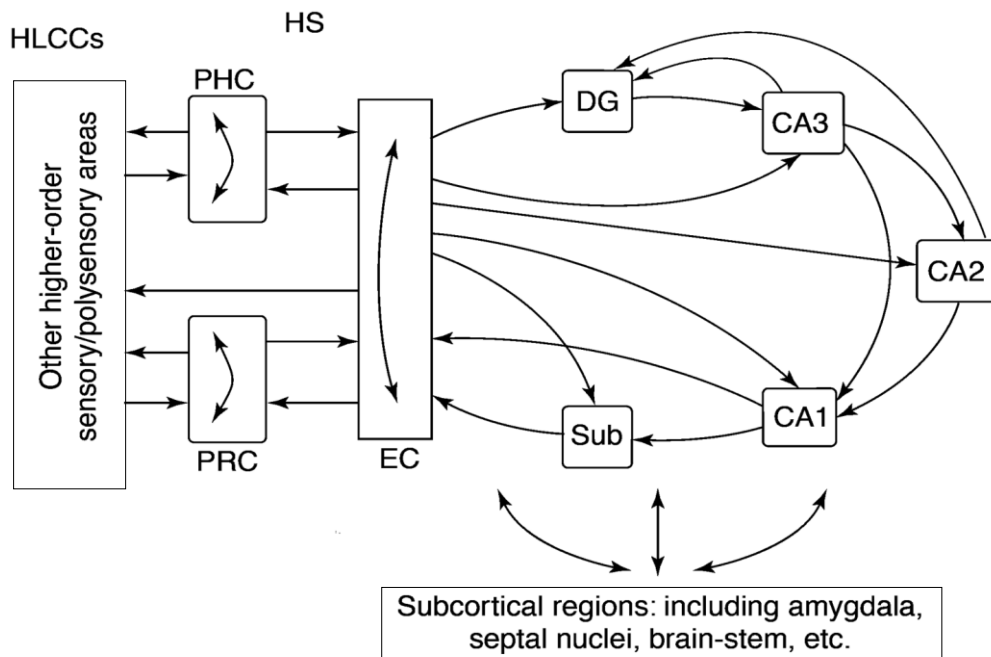
V mediálnom temporálnom laloku rozlišujeme parahipokampálnu oblasť (PHC, angl. parahippocampal cortex) a hipokampus (HPC, angl. hippocampus) (Dickenson a Eichenbaum, 2010) ako dôležité štruktúry epizodickej pamäte.

#### Hipokampus

Epizodická pamäť závisí na integrácii hipokampu s ďalšími štruktúrami a zahŕňa veľkú sieť kortikálnych oblastí, na ktorej sa podieľa hlavne parahipokampálna oblasť a prefrontálny kortex. Dominantný neuronálny okruh spracovania informácie v hipokampe je častokrát znázornený pomocou trisynaptickej slučky (angl. trisynaptic loop). Hlavný vstup tvoria axóny

perforovanej dráhy, ktoré prenášajú polymodálne senzorické informácie z neurónov vo vrstve II entorhinálnej kôry k dentate gyrus. Axóny perforovanej dráhy vytvárajú excitatórne synaptické spojenia s dendritmi granulárnych buniek: axóny z laterálnej a mediálnej entorhinálnej kôry inervujú vonkajšiu a strednú časť dendritického stromu. Granulové bunky prechádzajú svojimi axónmi (angl. mossy fibers) k proximálnym apikálnym dendritom pyramídových buniek CA3, ktoré zase prechádzajú cez ipsilaterálne CA1 pyramídové bunky, cez Schafferove kolaterály a kontralaterálne CA3 a CA1 pyramídálne bunky cez komisurálne spojenia. Okrem sekvenčného trisynaptického obvodu existuje tiež hustá asociačná sieť prepájajúca bunky CA3 na tej istej strane. CA3 pyramídálne bunky sú tiež inervované priamym vstupom z buniek vrstvy II entorhinálnej kôry. Distálne apikálne dendrity pyramídálnych neurónov CA1 dostávajú priamy vstup z buniek vrstvy III entorhinálnej kôry. Existuje tiež značný modulujúci vstup vedúci do hipokampálnych neurónov. Tieto tri hlavné podpolia majú značnú laminárnu organizáciu, v ktorej sú telá buniek tesne usporiadané v tvare C, pričom aferentné vlákna končia v selektívnych oblastiach dendritického stromu (Neves *et al.*, 2008).

Široká škála psychologických a neurovedných štúdií sa zhoduje v tom, že hipokampálny systém (HS) hrá kritickú rolu v kódovaní a vybavení epizodických spomienok (Shastri, 2002). O tom, že je HS prepojený s epizodickou pamäťou svedčí aj neuropatológia Alzheimerovej choroby; pri nej je totiž HS prvým, a jedným z najčastejšie poškodených oblastí u pacientov s touto diagnózou (Gómez-Isla *et al.*, 1996). Hlavné dráhy prepojujúce hipokampálny systém sú schematicky znázornené na Obr. 2. Neokortikálne oblasti asociované s EP posielajú informácie do parahipokampálnej oblasti MTL, ktorá obklopuje hipokampus. Prijatú informáciu posúva HPC do hipokampálnych podoblastí, ktoré sú medzi sebou sériovo a jednosmerne zapojené. Prvá HPC podoblasť, ktorá prijíma informáciu je dentate gyrus (DG), pokračujúc do CA3 (cornu Ammonis), CA1 až do subicula. Kortikálne výstupy spracovanej informácie v oblasti CA1 a v subicule si vyžadujú prepojenie späť s parahipokampálnou oblasťou, ktorá následne premieta informáciu späť do oblastí neokortexu (Obr. 2) (Eichenbaum, 2000).



Obr. 2 | Schematické znázornenie hlavných dráh prepojujúcich hipokampálny systém (HS) a znázornenie jednotlivých interakcií medzi HS, kortikálnymi (HLCCs) a subkortikálnymi oblasťami. HS zahŕňa: entorhinálny kortex (EC); dentate gyrus (DG); cornu Ammonis (CA) – samotný hipokampus rozdelený na oblasti CA1, CA2 a CA3; a subikulum (Sub). EC je hlavnou bránou medzi HS a kortexom. Informácie z vyšších sensorických oblastí do EC prechádzajú priamo, alebo skrz perirhinálnu (PRC) a parahipokampálnu (PHC) kôru. Aktivita HS smeruje cez komplexnú slučku tvorenú dráhami HS a vracia sa späť do kortikálnych oblastí, kde vznikla. Existuje taktiež aj spätné prepojenie v oblastiach DG, CA3, CA2 a v menšom rozsahu aj CA1. HS obsahuje množstvo inhibičných interneurónov, ktoré spolu s hlavnými bunkami tvoria lokálny inhibičný okruh. HS taktiež prijíma aferentné informácie zo subkortikálnych (podkôrových) oblastí a premieta ich späť do viacerých spomenutých regiónov (upravené podľa Shastri, 2002).

Niektoré subpopulácie hipokampálnych buniek sú kľúčové pre reprezentáciu priestoru či pre reprezentáciu času v sekvenčnom časovaní. Štúdie potvrdili, že hipokampus ako celková štruktúra sprostredkúva neuronálnu reprezentáciu priestoru v podobe tzv. kognitívnej mapy. O'Keefe a Dostrovsky (1971) navrhli pomocou štúdií zameraných na hipokampálne neuróny, že existujú nervové bunky, ktoré dosahovali vyššiu aktivitu (angl. firing rate) počas pohybu potkana na určitom mieste v prostredí. Po objave týchto tzv. „place cells“ sa zisťovalo, že priestorová informácia je kódovaná na neuronálnej bunkovej úrovni práve v oblasti hipokampu, čo bolo dôžité pre lepšie pochopenie priestorového učenia a pamäti. Okrem reprezentácie priestoru sa hipokampus podieľa aj na kódovaní času (sekvencie). Tento mechanizmus sa môže podieľať aj na časovej reprezentácii epizodickej pamäti. Reprezentácia času hipokampálnymi neurónmi pochádza zo štúdie potvrdzujúcej, že neuróny CA1 - „time cells“, vykazujú dočasné kódovanie



časovej sekvencie u potkanov, ale môžu sa podieľať aj na kódovaní sekvencie objektov (Eichenbaum, 2014).

Súhrnom môžeme povedať, že HPC sa teda takýmto spôsobom podieľa na epizodickej pamäti v prepojení informácií spojených jednak s časovým kontextom, ako aj s kontextom priestorovým (Maguire, 2001).

### Parahipokampálna oblasť

Parahipokampálna oblasť zahŕňa tri dôležité štruktúry: perirhinálny, parahipokampálny a entorhinálny kortex. Parahipokampálny kortex prijíma informácie z viacerých oblastí, ktoré sa podieľajú na spracovaní priestorových informácií, zatiaľ čo perirhinálny kortex prijíma informácie, ktoré sa priestorového spracovania netýkajú a zameriava sa na rozlišovanie objektov (Manns a Eichenbaum, 2010) a časový kontext udalosti (Naya, 2016). Perirhinálny kortex je špecifický aj vďaka novej identifikácii sily spomienok pre jednotlivé podnetové stimuly (Brown a Aggleton, 2001). Čo sa týka entorhinálneho kortexu, rozlišujeme dve oblasti: laterálnu entorhinálnu oblasť (LEA, angl. lateral entorhinal area), ktorá prijíma informácie prichádzajúce z perirhinálneho kortexu a mediálnu entorhinálnu oblasť (MEA, angl. medial entorhinal area), prijímajúcu informácie z parahipokampálnej kôry. (Witter *et al.*, 2000). Senzorická informácia je vedená z oblastí LEA a MEA do HPC dvoma separátnymi dráhami. Dráhy sa medzi sebou líšia v cieľovej oblasti, a to: nervové vlákna vedúce senzorickú informáciu do CA3 a DG; druhá dráha končí v HPC podoblastiach CA1 a subiculum. Senzorická informácia prechádza oblasťami LEA, MEA na rovnakom neuróne ako sú v HPC podoblastiach CA3 a DG, ale je smerovaná inou populáciou neurónov do oblasti CA1 a subicula. To istá sa deje aj v opačnom prípade. Takáto organizácia neuronálnych dráh v parahipokampálnej oblasti umožňuje HPC vytvárať kontextuálne asociácie a zároveň rozlišovať medzi sebou jednotlivé udalosti kľúčové pre epizodickú pamäť (Witter *et al.*, 2000).

K charakteristickým **neokortikálnym oblastiam** epizodickej pamäti patrí predovšetkým prefrontálny kortex a oblasti, podieľajúce sa aj na krátkodobej pracovnej pamäti, esenciálne pre vedomé spätné vybavenie konkrétnej udalosti z minulosti (Buckner a Wheeler, 2001). Na perceptuálnom spracovaní spätne vybavenej informácie (spomienky) sa podieľa aj parietálny a temporálny lalok (Uncapher *et al.*, 2006).

V svojej metaštúdií Gilboa popisuje rozdielnú aktiváciu niektorých oblastí frontálneho kortexu podľa typu pamäti. Epizodická pamäť často aktivuje pravý stredný dorsolaterálny PFC, zatiaľčo

sa táto aktivita neobjavuje v štúdiách zaoberajúcich sa epizodickou pamäťou. Naproti tomu, autobiografická pamäť aktivuje ventromediálny PFC, predovšetkým ľavostranne, zatiaľčo sa táto aktivita objavuje iba zriedka u epizodickej pamäti. To môže naznačovať, že tieto oblasti sa podieľajú na odlišnom spracovaní pamäťových obsahov (Gilboa, 2004).

## **2.2.2 Integračné mechanizmy neuronálnych oblastí pamäti epizodického typu**

Jednotlivé informácie o konkrétnej udalosti - čo, kde, kedy - získané z minulosti, nemajú sami o sebe pre epizodickú pamäť veľký význam. To je dôvod, prečo musia byť jednotlivé kontextuálne informácie medzi sebou vzájomne prepojené. Epizodická pamäť si teda vyžaduje integráciu neuronálnych štruktúr tvoriacich jednu udalosť ako celok, ktorý je zložený z jednotlivých kontextuálnych podmienok (Allen a Fortin, 2013).

### **I. Integrácia priestorovej podmienky vo vzťahu ,Čo?‘ - ,Kde?‘**

Pri vytváraní asociácií v identifikácii konkrétnej udalosti (,Čo?‘) a jej prepojení s priestorovou zložkou (,Kde?‘) hrá kľúčovú rolu predovšetkým pravý hipokampus, ktorého je zodpovedný za kódovanie informácií týkajúcich sa priestorovej pamäti a navigácie (O’Keefe a Nadel, 1978). Táto integrácia konkrétne závisí od hipokampálnej podoblasti CA3 (Gilbert a Kesner, 2003). Podmienka ,Čo?‘ je rozpoznávaná ako unimodálna senzorická informácia kódovaná perirhinálnym kortexom, ktorý svojou funkciou odpovedá rozpoznávaniu jednotlivých objektov (Burwell *et al.*, 1995). Do parahipokampálnej oblasti prichádza veľké množstvo senzorických vstupov z neurokortikálnej oblasti, ktoré spolu kódujú polymodálnu priestorovú informáciu - charakterizujúcu podmienku ,Kde?‘ (Suzuki a Amaral, 1994). V mozgu síce existujú dráhy, ktoré spolu prepojujú perirhinálny a parahipokampálny kortex, ale spôsob spracovania jednotlivých podmienok ,Čo?‘ a ,Kde?‘ zostáva vo veľkej miere oddelený na úrovni projekcie perirhinálneho kortexu primárne v oblasti LEA (HPC) a parahipokampálneho kortexu v oblasti MEA (HPC) (Dickenson a Eichenbaum, 2010).

### **II. Integrácia časovej podmienky vo vzťahu ,Čo?‘ - ,Kedy?‘**

Integrácia času a identity objektov je charakteristická pre pamäť zodpovedajúcu časovej sekvencii (tzn. poradiu) udalostí. Na časovej zložke udalosti, konkrétne sekvencii (,Kedy?‘), sa podieľa hipokampus (Naya a Suzuki, 2011; Shapiro, 2011). Perirhinálny kortex sa v tomto vzťahu podieľa na detekcii vizuálnych stimulov, pomocou ktorých dokážeme rozlišovať a identifikovať jednotlivé objekty (,Čo?‘). K rozlíšeniu objektov nestačí iba vizuálna stránka, ale je potrebné aj ich sémantické pomenovanie - charakteristika, ktoré je ďalšou z úloh perirhinálneho kortexu. Takto

spracovaná informácia ‚Čo?‘ je následne kódovaná hipokampom a tvorí celok charakteristický pre jednu udalosť modelu ELM (Naya, 2016).

### **III. Spätné vybavenie kontextuálnej informácie**

Za spätné vybavenie kontextuálnej udalosti sa považuje proces integrovaných oblastí zakódovaných pre konkrétnu podmienku, ktorý je znovu po časovom oddialení aktivovaný. Na spätnom vybavení konkrétnej udalosti sa podieľa predovšetkým parahipokampálna oblasť MTL (Eichenbaum *et al.*, 2007). Vyvolaná spomienka z minulosti môže ovplyvniť naše správanie, ktoré kriticky závisí od prefrontálneho kortexu (Ninokura *et al.*, 2003). Štúdie zahrňujúce funkčné neurozobrazovanie identifikovali niekoľko mozgových oblastí: prefrontálnu, mediálnu parietálnu, mediálnu temporálnu a oblasť mozočka; ktorých aktivita je asociovaná s komponentami spätného vybavenia epizodickej pamäte (Cabeza a Nyberg, 2000).

## **2.3 Metódy skúmania epizodickej pamäte**

Epizodickú pamäť dokážeme skúmať viacerými metódami. V psychológii je EP skúmaná batériou testov zameraných na učenie a pamäť, vo fyziológii a neurobiológii, sú to predovšetkým elektrofyziológia a neurozobrazovacie metódy. S postupnými pokrokmi vo vede nám k skúmaniu EP pomáhajú aj počítačové technológie, do ktorej patrí aj virtuálna realita. Nasledujúce podkapitoly sa popisujú bližšiu charakteristiku jednotlivých metód využívaných vo výskume EP.

### **2.3.1 Psychologické metódy**

Väčšie množstvo štúdií testuje kognitívne schopnosti späté s epizodickou pamäťou na základe rozhovoru (interview) alebo rozprávania o sebe samotnom (self-report). Testovanie takýmto typom metódy, dodáva epizodickej pamäti istú prirodzenosť a dokážeme ju prepojiť aj so študovaním neurobiologického základu EP. Viacero autorov medzi sebou už polemizovalo na určitých kritériá, ktoré by mali byť obsiahnuté a dodržané v každom type testovania epizodickej pamäte (Cheke a Clayton, 2017):

- EP musí kódovať časovo-priestorové vzťahy:  
Test ‚čo - kde - kedy‘ (angl. The what-where-when test)
- EP musí mať určité východisko (tzv. internally-cued):  
Test voľného vybavenia (angl. The free recall test),
- EP musí byť pamäťou obsahujúcou kontext:  
Test pre zdrojovú pamäť (angl. Source memory),

- EP musí byť neúmyselne kódovaná:

Neočakávaná otázka (angl. The unexpected question).

V psychológii sa najčastejšie na testovanie epizodickej pamäti využíva batéria testov spočívajúcich vo vybavení konkrétnej poviedky, zozname slov, vybavení figúry a pod. Všeobecne sa tento typ psychologických testov nazýva aj ako ‚papier, ceruzka‘. Každý jeden test sa venuje konkrétne inej zložke pamäti (vizuálna, priestorová, logická). EP sa najčastejšie testuje batériou testov Wechslerovej pamäťovej škály (WSM-III), zameraných na logickú pamäť, kedy sa subjektom predčítajú dva príbehy (každý príbeh 2x) a jeho úlohou je príbeh zopakovať tak, ako si ho pamätá - najprv hneď po dočítaní príbehu a následne ako voľné vybavenie po dlhšom časovom vybavení (Strauss *et al.*, 2006). AVLТ (angl. Rey Auditory Verbal Learning Test) je ďalším veľmi často využívaným testom EP. Ide o pamäťový verbálny test učenia, kde sa subjektom číta a 5x opakuje zoznam 15 slov. Subjekt si má tento zoznam slov zapamätať a následne ich vymenovať. Test následne pokračuje po určitom časovom oddialení, kedy je úlohou subjekta konkrétny zoznam slov si spätne vybaviť a vymenovať (Kurylo *et al.*, 2001).

### 2.3.2 Behaviorálne metódy

Epizodická pamäť, predovšetkým jej zjednodušený model nazývaný pamäť epizodického typu sa testuje na animálnych modeloch. Medzi najčastejšie úlohy u potkanov patria:

- Kontextuálna pamäť (angl. context-guided memory) - úloha testuje schopnosť pamätať si jednotlivé objekty slúžiace ako ukazovatele (angl. cues) v určitom kontexte a na základe tohoto kontextu voliť odmeňovaný objekt v ďalšej fázy testu.
- Priestorové v. operatívne učenie (angl. place versus response learning) - v tejto úlohe sa potkan orientuje v krížovom bludisku, môže sa riadiť buď alothetickým pravidlom (odmeňované rameno je určené v rámci miestnosti, bez ohľadu odkiaľ potkan vychádza) alebo idiothetickým pravidlom (napr. vždy musí odbočiť doľava). Táto úloha testuje schopnosť prepínať medzi jednotlivými stratégiami.
- Oddialená priestorová alternácia (angl. delayed spatial alternation) - princípom úlohy je, že potkan musí zvoliť opačné rameno v T-bludisku, než ktoré navštívil v iniciálnej fázy testu.
- Kontextuálne strachové podmieňovanie (angl. contextual fear conditioning) - v tejto úlohe potkan obdrží averzívny stimul v určitom kontexte, a v nasledujúcej fázy je testovaná schopnosť vybaviť si túto averzívnu spomienku v rovnakom kontexte (za vybavenie spomienky je považované špecifické správanie - tzv. freezing).

- Úloha rozpoznávania objektov (angl. novel object recognition) - tento test využíva prirodzené tendencie potkanov skúmať nové objekty. V prvej fáze úlohy sú zviazať predložené dva objekty, ktoré môže explorať. Po časovom odialení je jeden z týchto objektov nahradený novým objektom, zatiaľ čo kontext prostredia zostáva rovnaký. Testuje sa, či potkan exploruje primárne nový objekt, čo je známkou toho, že si pamätá pôvodný objekt.

Pre detailnejší popis uvedených behaviorálnych testov, vid' Eichenbaum, 2017.

### 2.3.3 Neurozobrazovacie metódy

Počas posledných desaťročí sa vyvinulo v oblasti neurovied niekoľko rôznych metód, ktoré nám umožňujú študovať procesy, akým ľudský mozog funguje. Jednotlivé techniky dokážeme rozdeliť do dvoch základných skupín:

- tie, ktoré sledujú základnú elektrickú aktivitu mozgu, teda neinvazívne elektromagnetické techniky – *elektroencefalograf* (EEG; zaznamenávanie zmien elektrického napätia neurónov povrchovými elektródami) a *magnetoencefalograf* (MEG; sledovanie elektrických prúdov v mozgu počas kognitívneho podnetu); ktoré nám poskytujú vynikajúce časové rozlíšenie (na úrovni milisekúnd), ale slabé priestorové rozlíšenie (približne 1 až niekoľko milimetrov) sledovaných neuronálnych procesov (Matthews a Jezzard, 2004),
- tie, ktoré sa sústreďujú na fyziologické a metabolické dôsledky zmenenej aktivity mozgu, teda neinvazívne neurozobrazovacie techniky – *pozitronová emisná tomografia* (PET; sledovanie metabolických zmien detekciou gama žiarenia pozitronom-emitujúceho rádionukleotidu v tkanive) (Vaquero a Kinahan, 2015) a *funkčná magnetická rezonancia* (fMRI; mapovanie aktívnych oblastí mozgu počas kognitívnej úlohy), ktoré majú prijateľné časové rozlíšenie a vynikajúce priestorové rozlíšenie (Logothetis, 2002).

V nasledujúcich podkapitolách sa budem venovať detailnejšiemu popisu a princípom magnetickej rezonancie, ktorú sme zároveň využívali v experimentálnej časti diplomovej práce.

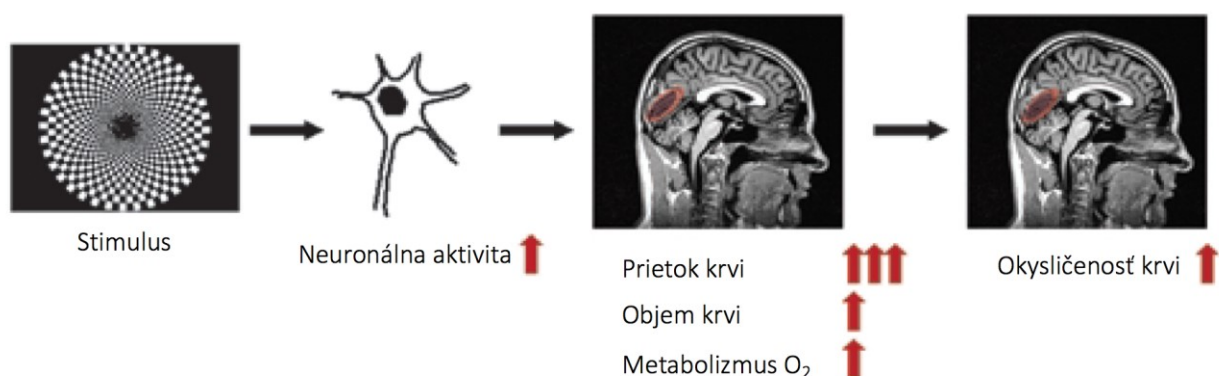
#### 2.3.3.1 Funkčná magnetická rezonancia

Funkčná magnetická rezonancia (angl. functional magnetic resonance imaging; fMRI) sa stala populárnou a široko využívanou nielen v klinickej praxi, ale predovšetkým v oblasti neurovedného výskumu. Jedná sa o bezpečnú a neinvazívnu zobrazovaciu techniku, pomocou ktorej dokážeme sledovať neuronálnu aktivitu mozgu u rôznych subjektov, tzn. animálne modely,

deti, dospelí jedinci – zdraví dobrovoľníci alebo pacienti s diagnostikovaným neurodegeneratívnym či neuropsychiatrickým ochorením. fMRI k funkčnému mapovaniu využíva MR tomograf; 5-10 ton ťažký supravodivý magnet navrhnutý tak, aby dokázal zaobstarať silné magnetické pole s vysokou homogenitou vo vnútri tunelu, do ktorého je skenovaný subjekt umiestnený (Amaro a Baker, 2006).

Na základe fyziologického princípu, ktorým je neuronálna aktivita sledovaná, môžeme rozlišovať dva typy fMRI:

- perfúzna fMRI zobrazuje predovšetkým fyziológiu periférneho systému na orgánovej úrovni (napr. obličky, srdce, a pod.). Princípom je kvantitatívne meranie perfúzie krvi tkanivom, ktorú získame sledovaním magnetizácie rozpustného indikátoru (magneticky označená arteriálna voda) za jednotku času (Detre *et al.*, 1994).
- BOLD fMRI (angl. blood oxygen level-dependent), kde ide o mapovanie aktívnych oblastí mozgu na základe zmien v hladine okysličenej (oxyhemoglobín) a neokysličenej (deoxyhemoglobín) krvi prechádzajúcej cievami mozgového tkaniva, meniacej sa intenzitou prichádzajúceho stimulu (Obr. 3) (Gore, 2003).



Obr. 3 | Zobrazenie neuronálnych zmien odpovedajúcich reakcii na prichádzajúci stimulus počas merania BOLD signálu v mozgu subjektu počas fMRI experimentu. Obrázok ilustruje zvýšenú neuronálnu aktivitu po prijatí stimulu vo vizuálnom kortexe. Táto zmena je sprevádzaná zvýšeným prietokom krvi, krvným objemom a metabolizmom kyslíka O<sub>2</sub>. Tieto fyziologické zmeny sú spojené so zmenou koncentrácie deoxyhemoglobínu, ktorý následne vyvoláva zmeny v MR signáli (upravené podľa Uludag *et al.*, 2005).

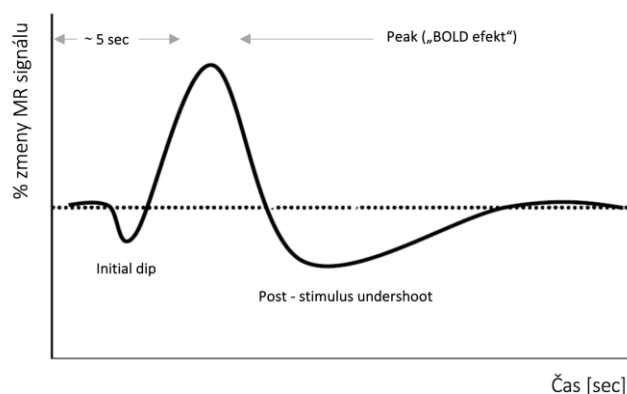
### Fyziologická podstata BOLD fMRI

Neuronálna aktivita sa v mozgu prejavuje zmenami v perfúzii, objeme a oxygenácii krvi (Kwong *et al.*, 1992). Súčasný model popisujúci tieto dynamické zmeny sa nazýva ‚balónový model‘ – je založený na fyziologickom predpoklade existencie silnej väzby medzi perfúziou krvi a metabolizmom kyslíka. Z erytrocytov je kyslík O<sub>2</sub> prenášaný pasívnym transportom postupne do

krvnej plazmy, do vonkajšieho vaskulárneho prostredia, a následne až do vnútrobunkového priestoru, kde sa tlakovým gradientom dostane do vnútra mitochondrií (Buxton *et al.*, 1998). Aby došlo k zvýšeniu tlakového gradientu steny ciev je nevyhnuté zvýšiť lokálnu koncentráciu oxyhemoglobínu v krvi. Výsledkom, aj napriek spotrebe veľkého množstva energie, je obrovský prísun kyslíka (Fox a Raichle, 1986) spôsobujúceho zmenu v pomere koncentrácie oxy-/deoxyhemoglobínu, ktorý sa prejaví nárastom BOLD signálu (Kwong *et al.*, 1992). Popísané procesy nazývame aj ako tzv. „neurovaskulárna väzba“, ktorá je zároveň definovaná časom. Spomínaný časový priebeh neuronálnej aktivity mozgu sa nazýva hemodynamická odpoveď (angl. haemodynamic response function; HRF) (Howseman a Bowtell, 1999), ktorá je zaistená oneskorením BOLD signálu a jej trvanie sa pohybuje okolo niekoľkých sekúnd po stimulácii signálu (Ogawa *et al.*, 1993).

### Hemodynamická odpoveď a krivka BOLD signálu

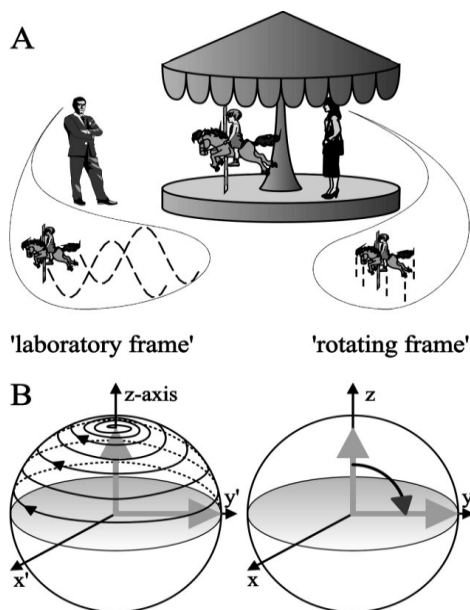
HRF meraná fMRI sa v závislosti na type stimulu líši v jednotlivých neuronálnych oblastiach mozgu. Po rozpoznaní prichádzajúceho stimulu, signál znázornený na krivke HRF (Obr. 4) slabo poklesne v dôsledku prudkej deoxygenácie krvi (angl. initial dip), čo trvá približne 1 sekundu (Menon *et al.*, 1995). Neuronálna aktivita mozgu zapríčini zvýšenú spotrebou kyslíka a zvýšenú perfúziu krvi, krivka BOLD signálu rastie, až dosiahne najvyššiu hodnotu (angl. peak) medzi 4-8 sekundou počiatku stimulu (Friston *et al.*, 1994). Po ukončení stimulu nastáva pokles BOLD signálu až pod počiatkovú úroveň HRF (angl. post-stimulus undershoot) a behom niekoľkých desiatok sekúnd sa signál stráca a krivka sa postupne vracia späť do pôvodnej polohy. Neuronálna aktivita v aktívnej oblasti mozgu klesá, čo sa prejavuje znížením objemu oxyhemoglobínu v krvi a samotné navrátenie perfúzie do normálneho stavu (Janz *et al.*, 1997).



Obr. 4 | Krivka BOLD signálu znázorňujúca hemodynamickú odpoveď (HRF). Schematické znázornenie časovej dynamiky BOLD signálu vychádzajúceho z hemodynamickej odpovede neuronálnej aktivity (upravené podľa Hu a Yacoub, 2013; Amaro a Baker, 2006).

## Princíp magnetickej rezonancie

fMRI vznikla ako pokročilá technika z nukleárnej magnetickej rezonancie (angl. nuclear magnetic resonance; NMR) zobrazujúcej anatomické štruktúry mozgu v troch dimenziách (Smitha *et al.*, 2017). Principiálne pracuje NMR nasledovne: ak je telo umiestnené v statickom magnetickom poli, protóny nadobudnú vlastnosti poľa na základe magnetizácie (jav, ku ktorému dochádza po vystavení konkrétnej látky magnetickému poľu, čoho dôsledkom je zmena jej vlastností). Na to, aby sa vlastnosti magnetizácie zmenili a rozrušili svoju polohu je potrebný precesný pohyb protónov ako v horizontálnej (z), tak vo vertikálnej polohe (x, y). Jav, ktorý nazývame precesia - rotácia protónov v magnetickom poli usporiadaných paralelne a antiparalelne - si vyžaduje rádiovú frekvenciu (RF), známu ako Larmorova frekvencia, ktorá sa mení úmerne silou magnetického poľa. Ak je magnetické pole, meniace sa v závislosti od Larmorovej frekvencie, v pravom uhle s poľom statickým, zmení sa uhol magnetizácie precesnej rotácie. Zmenou dĺžky alebo intenzity RF pulzu, môže rotácia jadra atómu nadobudnúť akýkoľvek požadovaný uhol (Obr. 5) (Henderson, 1983).



Obr. 5 | Popis precesného pohybu protónov počas magnetizácie. Princíp sa dá jednoduchým spôsobom vysvetliť na znázornej rodine pri kolotoči (A). Otec predstavuje laboratórny rámec (angl. laboratory frame; B), ktorý sleduje dieťa vykonávajúce komplikovaný pohyb - pohyb hore/dole spolu s koňom a zároveň rotáciu po obvode kolotoča. Matka, predstavujúca rotačný rámec (angl. rotating frame; B), vidí jednoduchší pohyb - hore/dole, pretože rotácia kolotoča je kompenzovaná jej vlastným pohybom tela. To znamená, že rotačný rámec v NMR rotuje o veľkosti Larmorovej frekvencie jadier protónov; precesný pohyb je zanedbaný. Po dosiahnutí  $90^\circ$  RF pulzu sa rotačný rámec zmení svoju polohu z osi x do osi y (B vpravo), a začne rotovať v polohe y (B vľavo) (upravené podľa Boesch, 1999).

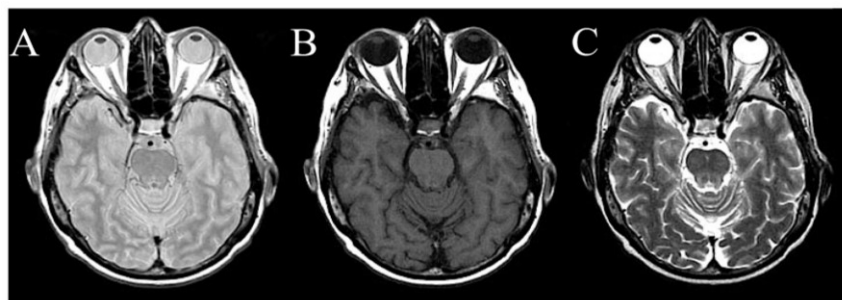
To znamená, že každé jadro protónu má svoj spin a magnetický moment, ktorý môže dosahovať iba istú hodnotu. Jadrá protónov v statickom poli vykazujú precesný pohyb, ktorý je daný samotným jadrom protónu a silou magnetického poľa. Jednotlivé spiny jadier protónov sú teda schopné absorpcie a emisie rádiových vln determinované frekvenciou precesie (Boesch, 1999).



NMR umožňuje taktiež **spektroskopické vyšetrenie** (MRS, angl. magnetic resonance spectroscopy) (Henderson, 1983). MRS je jediná fyzikálna technika, ktorá neinvazívne umožňuje určiť *in vitro* a *in vivo* biochemickú analýzu látok v tkanive a ich metabolizmus na molekulárnej úrovni. Je využívaná ako v klinike, tak aj v neurovedách, predovšetkým v oblasti výskumu fyziológie mozgu, biochémii a patofyziológii. Medzi *in vivo* detekovateľné látky v organizme patria napr.  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^7\text{Li}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^1\text{H}$ . Vďaka *in vivo*  $^1\text{H}$  MRS je možné merať väčšie množstvo rôznych metabolitov v organizme, ako sú napr. cholín, laktát, myo-inozitol, glutamát, glutamín a kyselina  $\gamma$ -aminomaslová (GABA). MRS sa využíva aj pri štúdiu neurodegeneratívnych ochorení ako napr. Alzheimerova choroba, schizofrénia, AIDS či afektívne poruchy. MRS dokáže potenciálne monitorovať *in vivo* farmakokinetiku a farmakodynamiku liekov (Passe *et al.*, 1995).

### Zobrazovanie pomocou MR

Jednou z hlavných úloh NMR je zobrazovanie anatomických snímok mozgu v troch dimenziách (x, y, z) na základe rozdielneho kontrastu sivej a bielej hmoty v mozgu. Jednotlivé snímky závisia od správania sa vodíkových jadier (protónov) – obsiahnutých najmä vo vode - v magnetickom poli; a samotná magnetizácia protónov je s nimi úzko spätá. Použitím odlišných sekvencií RF pulzu, môžu nadobudnuté snímky závisieť od protónovej density, T1 alebo T2 (Obr. 6). Vo všeobecnosti platí, že sa relaxačný čas T1 vzťahuje k strate energie protónov do okolitého prostredia (tzv. spin-lattice relaxation time) zatiaľ čo, relaxačný čas T2 je charakteristický výmenou energie medzi jednotlivými protónmi (tzv. spin-spin relaxation time) (Henderson, 1983).



Obr. 6 | Axiálny rez mozgu zobrazený pomocou MRI. (A) – Protónová denzita; (B) – T<sub>1</sub> anatomický snímok; (C) – T<sub>2</sub> anatomický snímok. Rozdiely medzi jednotlivými zobrazeniami sú najlepšie viditeľné v mozgovej tekutine a očných bulvách, nakoľko je v oboch obsiahnuté množstvo vody (upravené podľa Boesch, 1999).

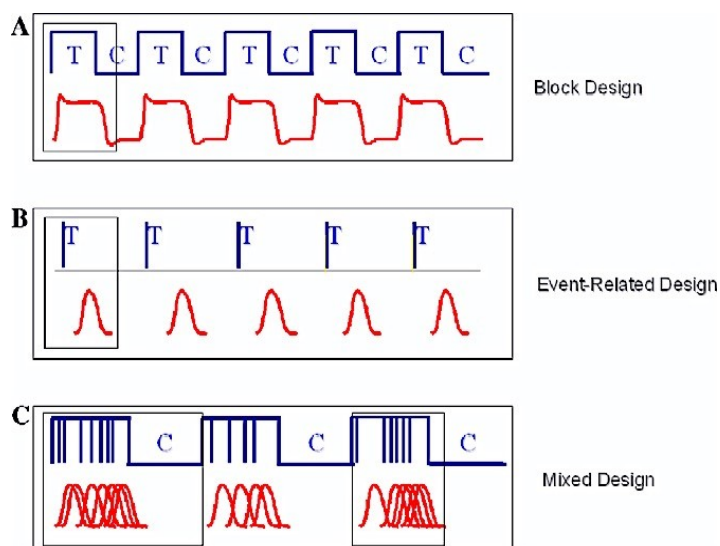
Relaxačný čas T1 trvá v porovnaní s relaxačným časom T2 (veľmi krátky, v rozmedzí ms) dlhšie a prebieha pomalšie (niekoľko min). Celková dĺžka merania MR sekvencie anatomických snímok

T1 a T2 je ale približne rovnaká. Kontrast snímok je daný rozdielmi medzi T1 a T2 v tkanive. Kontrast na snímkach T1 znázorňuje sivú a bielu hmotu mozgu tak, aby bola jasne viditeľná detailná anatómia mozgu, zatiaľ čo kontrast T2 snímok je slabší, anatomicky menej presný. Kontrast T2 snímok dokáže citlivo indikovať patologické zmeny v mozgu (Henderson, 1983).

### fMRI experiment a jeho špecifiká

*Predstavte si, že ležíte v 60 cm širokom a 120 cm dlhom tuneli, vystavený akustickému hluku o veľkosti 120 dB, s mechanickými vibráciami a skúšate sa nehýbať, nanajvýš ležať pokojne, pri tom, ako plníte zadanú kognitívnu úlohu.* – Takýto scenár je presne to, čo zažilo už tisíce ľudí pri dobrovoľnej účasti v fMRI štúdií (Amaro a Baker, 2006).

Počas samotného testovania je subjekt umiestnený do MR tomografu, kde mu prezentujeme rôzne druhy stimulov, na základe ktorých je následne meraná neuronálna aktivita v mozgu daná BOLD signálom. Ide napríklad o prehrávanie zvukových signálov v podobe nahrávky, prezentáciu vizuálnych scén krátkymi videonahrávkami alebo obrázkovou formou, či sledovanie jednoduchých motorických pohybov (Gore, 2003). Pred samotným začiatkom vyšetrenia fMRI si najprv ale musíme zvoliť, ktorý zo základných typov paradigiem budeme používať a podľa výberu navrhnuť samotný experiment prislúchajúci fMRI. Paradigma je definované ako isté zloženie (resp. ‚konštrukcia‘) obsahujúce časovú zložku stimulu a spôsob reakcie subjektu na danú úlohu počas fMRI experimentu. Rozlišujeme medzi tzv. ‚event-related‘ fMRI, blokovým designom a zmiešaným designom experimentu - skladá sa z oboch spomenutých; tzv. mixed design (Obr. 7) (Amaro a Barker, 2006).



Obr. 7 | Stimulus (S) jednotlivých designov fMRI. (A) Blokový design: S rovnakej podmienky je prezentovaný následne za sebou, BOLD signál je zložený z jednotlivých hemo-dynamických odpovedí pre každý stimulus, a je všeobecne širšieho rozsahu; (B) Event-related design: hemodynamická odpoveď každého stimulu je detekovateľná a môžeme ju detailne analyzovať; (C) Mixed design: kombinácia A-B, kde je prispôbená kontrolná podmienka event-related analýze dat (Amaro a Barker, 2006).

Vo všeobecnosti platí, že fMRI je citlivá na transientné, prechodné zmeny signálu krátkej neuronálnej udalosti (Buckner, 1998). Transientnosť (prechodnosť) je dôležitá z niekoľkých dôvodov:

1. fMRI deteguje signál nielen jednoduchých konkrétnych úloh, ale môže byť paralelná aj behaviorálnym štúdiám skúmajúcich odpovede na tieto udalosti, skôr ako blokové úlohy.
2. Niektoré typy udalostí sú nestabilné a v takom prípade sú najlepšie rozpoznateľné aktivitou hemodynamickej odpovede – BOLD signálom (Buckner, 1998).

### **Event-related fMRI paradigma**

Spektrum úloh navrhnutých tak, aby mohli byť skúmané využitím fMRI boli široko rozšírené vývinom tzv. event-related (er-fMRI) paradigmatu. er-fMRI je založená na pozorovaní rýchlych zmien v hemodynamike, ktoré nastanú v rozpätí sekúnd po neuronálnej udalosti (reakcii na podnetový stimul). Hlavnou výhodou er-fMRI je schopnosť detegovať transientné zmeny v hemodynamickej odpovedi, čo umožňuje charakterizáciu dočasných zmien BOLD signálu (Rosen *et al.*, 1998; Buxton *et al.*, 2004). Mozgové oblasti korelujúce so zadanou úlohou môžu mať rozličnú hemodynamickú odpoveď (Kruggel a von Cramon, 1999). Event-related design fMRI nám taktiež umožňuje analýzu dát súvisiacich s jednotlivými odpoveďami k zadaným úlohám, poskytuje nám spôsob analyzovať neuronálne koreláty týkajúce sa behaviorálnych odpovedí (Kiehl *et al.*, 2000) alebo aj subjektívne hodnotenie emócií ku každému prezentujúcemu stimulu. Na druhej strane, hlavným problémom analýzy er-fMRI dát je časová odchýlka, práve v hemodynamickej odpovedi na podnetový stimul (Buchanan *et al.*, 2000).

### **Blokový design fMRI paradigma**

Základom pre vytvorenie paradigmatu blokového designu experimentu je kognitívna úloha prezentovaná pomocou podnetových stimulov (napr. stimulačné obrázky, zvukové nahrávky, videonahrávky), ktoré sú usporiadané do blokov. Jednotlivé bloky musia byť medzi sebou identické s konkrétno stanovenými podmienkami skúmania. Bloky sa pravidelne striedajú v konkrétnom počte epoch a dynamík. Epochu predstavuje kontrolná podmienka, dynamika predstavuje prezentáciu podnetového stimulu - tzn. experimentálnu podmienku. (Amaro a Barker, 2006). Blokový design má niekoľko výhod: 1) efektívnosť, ktorá sa preukázala kolapsom blokového designu pri opakovanom prezentovaní podnetových stimulov vo veľmi krátko čase za sebou; 2) navrhnuté experimenty sú vhodné na detekciu oblastí záujmu (ROI, angl. regions of interest) pre konkrétne úlohy; 3) schopnosť zvládnuť prezentovať podnetové stimuly konkrétnej

úlohy mimo rámca *trial-by-trial*, tzn. po dlhšiu dobu (napr. v nepretržité čítanie príbehu) (Petersen a Dubis, 2012). Podnetové stimuly prezentované počas fMRI experimentu v experimentálnej časti diplomovej práce sú navrhnuté podľa blokového designu fMRI paradigmatu, práve na základe uvedených jeho výhod.

### **Mixed design fMRI paradigma**

„Mixed design“ fMRI paradigma je kombináciou vyššie charakterizovaného blokového event-related designu (Amaro a Barker, 2006). Táto kombinácia nám môže zachytiť transientné (item-related) a neprechodné (task-related) BOLD signály neuronálnej aktivity počas vykonávania konkrétnej úlohy (Donaldson *et al.*, 2001). Rozličné časové rozpätie BOLD signálu umožňuje sledovať odlišnú neuronálnu aktivitu. Mixed design nám umožňuje namodelovať typy úloh s kontrolnými signálmi, ktoré si vo všeobecnosti vyžaduje detailné premyslenie.

fMRI má tiež niekoľko obmedzení:

- používanie rýchleho zobrazovania redukuje priestorové rozlíšenie o niekoľko milimetrov (tzn. o niečo horšie ako konvenčná MRI),
- BOLD efekt je malý, a teda je jeho citlivosť limitovaná, takže fMRI experimenty si vyžadujú viacnásobné skenovanie odpovedí mozgu,
- časové rozlíšenie je nedostatočné a je limitovaná prirodzenosťou hemodynamickej odpovede.

Okrem toho, spoľahlivosť tejto metódy je redukovaná v prípade signifikantných pohybov testovaného subjektu, resp. pacienta, alebo s fyziologicky súvisiacimi zmenami. Tieto zmeny nie sú dnes ešte plne objasnené, ale jedná sa o prítomnosť každodenne prítomných substancií v krvi (kofeín, nikotín) a taktiež hormónov (estrogén), ktoré by mohli ovplyvňovať BOLD signál. Avšak signály z fMRI nie sú iba jednoduchým epifenoménom neuronálnej aktivity, ale sú jasne citlivé na jemné zmeny stavu mozgu. fMRI nám poskytuje presné a neinvazívne mapovanie dôležitých funkcií a hrá veľkú rolu, čo sa týka klinického využitia i u pacientov s diagnostikovaným neurodegeneratívnym ochorením. fMRI môže mať dôležitú rolu v hodnotení výhod stratégií učenia a vplyv rôznych intervencií. Medzi najdôležitejšie aplikácie fMRI do klinickej praxe patrí neuronálny vývin a ochorenia u detí, kde je bezpečnosť a neinvazívny charakter fMRI prvoradý (Gore, 2003).

### 2.3.4 Počítačové technológie využívané vo výskume pamäte - virtuálna realita

Virtuálna realita (VR, angl. virtual reality) sa stala veľmi často využívaným nástrojom najmä v oblasti neuropsychológie, práve preto, že umožňuje priblížiť situácie z každodenného života v prostredí laboratória. VR technológia se preto stále častejšie využívajú v experimentálnych a klinických štúdiách. VR nám tak poskytuje vysokú flexibilitu pri tvorbe komplexných testových prostredí (Plancher *et al.*, 2010). VR nám umožňuje pomerne jednoduchým spôsobom testovať viacero neuropsychologických hypotéz súčasne (napr. registrovať reakcie participanta na komplexné situácie - epizódy a následne testovať mieru ich vybavenia) v kombinácii so študovaním neurobiologického substrátu (Plancher *et al.*, 2008).

VR má niekoľko výhod:

- 1) flexibilita úloh (časovanie, afektívne situácie, variabilita podnetov),
- 2) ekologická validita (priblíženie reálnemu prostrediu a každodenným situáciám),
- 3) kontrola nad experimentom a podrobný záznam správania,

Spočiatku bola VR využívaná predovšetkým vo výskume priestorovej pamäte a navigácie (napr. Aguirre a D'Esposito, 1997; Maguire et al, 1998), jej využitie pre štúdium epizodickej pamäti pre komplexné epizódy sa objavuje v odbornej literatúre až v posledných rokoch. V štúdiách, ktoré sa venujú neuronálnej podstate epizodickej sa práve VR využíva na výskum rôznych aspektov tohto typu pamäte prostredníctvom zobrazovacích metod. Napríklad, v štúdiu od Burgessa et al. (2001), mali mladí participanti za využívania joysticku (ovládanie pohybu) sledovať cestu v meste, v ktorom postupne stretávali virtuálne postavy nachádzajúce sa na rozličných lokáciách v meste. Každá virtuálna postava mala pre participantov pripravený určitý objekt, ktorý obdržali po priblížení sa k tejto postave. Epizodická pamäť, v tomto prípade pamäť pre identitu pozbieraných objektov, ich pôvodné umiestnenie a informáciu od koho si objekty prevzali, bola následne skúmaná pomocou funkčnej magnetickej rezonancie (Burgess *et al.*, 2001). Parsons a Rizzo (2008) vyvinuli iný pamäťový test, kde boli mladí študenti požiadaní naučiť sa a spätne si vybaviť objekty prezentované vo virtuálnom prostredí. Pri vytváraní virtuálneho pamäťového testu sa dohliadalo na dodržanie rovnakého princípu tradičných pamäťových testov „papier-ceruzka“ (angl. *paper-pencil test*). Výsledky ukázali, že virtuálne prostredie podmieňuje podobné procesy pri učení ako aj tradičné verbálne testy určené na testovanie pamäti (Parsons a Rizzo, 2008).

Jednoduchá počítačová varianta testu pamäti epizodického typu v 2D prostredí bola vyvinutá aj na Akadémii vied ČR Kamilom Vlčkom (Vlček, 2009). Úloha spočíva v ukladaní kariet

zobrazujúcich rôzne objekty alebo symboly do truhličky, a to v stanovenom poradí z predvolených pozícií. Po časovom oddialení je participant požiadaný, aby všetky karty vrátil späť na ich pôvodné miesta v správnom poradí. Počet kariet sa v každom ďalšom pokuse zvyšuje. Test analyzuje chyby v poradí a v pozícii kariet. Test bol využitý napr. pri testovaní epizodickej pamäti u pacientov s miernou kognitívnou poruchou (MCI) a Alzheimerovou chorobou (AD). V tomto teste sa preukázali významné rozdiely vo výkone u zdravých kontrol a pacientov vo všetkých testovaných parametroch (čo, kde, kedy). Skupiny pacientov s MCI a AD sa však od seba líšili iba v úspešnosti určovania poradia kartičiek (Vlček, 2006).

Príklady, ktoré som uviedla sú len malým zlomkom toho, ako sa v dnešnej dobe VR využíva v predklinickom, ale aj klinickom výskume. Veľkou výhodou VR je aj možnosť využitia na remediálne účely v klinickej praxi u pacientov s psychiatrickým alebo neurologickým ochorením napr. v kognitívnom tréningu alebo pri nácviku každodenných činností (Plancher *et al.*, 2008).

## **II. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ**

DIPLOMOVEJ PRÁCE

### 3 Ciele diplomovej práce

#### *Hlavný cieľ*

1. **Študovať neurobiologický substrát pamäti epizodického typu pri vybavení konkrétnej epizódy za použitia funkčnej magnetickej rezonancie.**

Zobrazovanie funkčnou magneticou rezonanciou nám umožní mapovať aktívne oblasti mozgu pri spätnom vybavení jednotlivých parametrov modelu pamäti epizodického typu – konkrétne identitu epizódy (‘Čo sa stalo?’), časovú (‘Kedy sa epizóda odohrala?’) a priestorovú zložku (‘Kde sa epizóda odohrávala?’). Na základe tohto faktu nás zaujíma, či existuje rozdiel medzi jednotlivými aktívnymi oblasťami mozgu počas vybavenia a ak áno, či je možné rozdiel medzi nimi detegovať.

#### *Vedľajší cieľ*

2. **Navrhnuť a overiť jednotlivé behaviorálne, ekologicky validné úlohy vytvorené vo virtuálnom prostredí, testované na zdravých dobrovoľníkoch.**

Virtuálnou realitou dokážeme namodelovať komplexné prostredie, v ktorom je možné simulovať rozličné situácie a priblížiť ich realite (ekologická validita). Nakoľko je epizodická pamäť zložitým procesom, pre jej štúdium sme si stanovili vedľajší cieľ navrhnuť úlohy testujúce jej zjednodušenú formu – tzv. pamäť epizodického typu. Keďže je metóda a spôsob riešenia problematiky novým projektom, výskumná vzorka je cieleňá k zdravým dobrovoľníkom.



**Experimentálna časť diplomovej práce** obsahuje dve pilotné kognitívne štúdie za využitia počítačových technológií – konkrétne virtuálnej reality a fMRI štúdiu, ktorá sa zaoberá neuronálnym substrátom pamäti epizodického typu. Všetky spomenuté experimenty prebiehali na zdravých dobrovoľníkoch – tzn. bez diagnózy psychiatrického a neurologického ochorenia. Experimentálna časť diplomovej práce prebiehala na pracovisku NÚDZ (Národní ústav duševního zdraví, Klecany, Česká republika). V nasledujúcich kapitolách sa budem venovať charakteristike metód, popisu výsledkov jednotlivých experimentov a samotnej diskusii.

## 4 Pilotná štúdia 1

### 4.1 Úvod, ciele a výskumné hypotézy

Každá spomienka sa nám spätne vybavuje v istom kontextuálnom rámci, ktorý je charakterizovaný minimálne tromi základnými podmienkami: ‚Čo sa stalo?‘ – definícia, identita epizódy; ‚Kde sa to stalo?‘ – priestorový komponent epizódy; ‚Kedy sa to stalo?‘ – časová vymedzenie epizódy; ktoré spolu tvoria zjednodušený model epizodickej pamäte - tzv. pamäť epizodického typu (ELM, angl. *Episodic-like memory*), ktorá je extenzívne študovaná aj u zvierat. Pilotnú štúdiu 1 sme zamerali na časovú a priestorovú zložku tohto modelu a testovali sme krátkodobú (pracovnú) pamäť, nakoľko na seba jednotlivé fázy experimentu nadväzovali bez časovej prestávky.

*Cieľ:*

- navrhnuť úlohy vo virtuálnom priestore so zameraním na testovanie ELM, na základe 2D verzie pamäťového testu, vytvoreného Kamilom Vlčkom (Vlček *et al.*, 2009),
- testovať časovú a priestorovú zložku modelu ELM v dvoch rôznych prostrediach,
- zistiť vhodnosť virtuálneho prostredia na testovanie ELM, porovnaním výkonu subjektov v štruktúrovanom a neštruktúrovanom prostredí.

*Výskumné hypotézy:*

1. So zvyšujúcim stupňom náročnosti úlohy bude stúpať chybovosť vo výkone subjektov.
2. V štruktúrovanom prostredí bude nižšia chybovosť ako v prostredí neštruktúrovanom v podmienke ‚Kde?‘, ale nie v podmienke ‚Kedy?‘.

## 4.2 Design experimentu

V prostredí virtuálnej reality sme vytvorili jednoduché, ekologicky validné – tzn. približené reálnemu prostrediu, úlohy spočívajúce v zbieraní predmetov. Princíp úlohy spočíval v zbieraní predmetov, ktorých počet sa postupne navyšoval so stúpajúcou náročnosťou experimentu nasledovne: 3, 5, 7, 9 a 11 predmetov. Pred samotným testovaním participanti absolvovali tréning (3 predmety), počas ktorého bol subjekt oboznámený s inštrukciami a ovládaním samotného testu, ktoré si následne osvojil. Každá úloha obsahovala dve fázy: fázu učenia a fázu spätného vybavenia (Obr. 8). Náplňou **fázy učenia** bolo to, aby sa subjekty naučili jednotlivé poradie a pozíciu predmetov; predstavovala teda samotné zbieranie konkrétneho počtu predmetov pomocou explicitnej navigačnej pomôcky – žltej šípky. Inštrukcia, ktorá bola subjektom podaná slovne znela: „**Vašou úlohou bude pozbierať pomocou navigačnej šípky predmety a zapamätať si ich poradie a pozíciu.**“ Zároveň ju mali vždy k dispozícii v pravom hornom rohu displeja, počas riešenia jednotlivých úloh. Po pozbieraní všetkých predmetov úloha následne pokračovala **fázou spätného vybavenia**, kde bolo úlohou participanta pozbierať na podlahe uložené predmety, ktoré v predchádzajúcej fáze zbieral, a vrátiť ich v správnom poradí (tzn. časová zložka – ‚Kedy?‘) na ich pôvodné miesta (tzn. priestorová zložka, ‚Kde?‘). Tento typ fázy slúžil na to, aby si testovaný subjekt vybavil jednotlivé ‚epizódy‘ (epizódou sa myslí pozbieranie jedného predmetu a zapamätanie si jeho časovo-priestorovej zložky) a zároveň sme mohli overiť či sa danú úlohu učil správne. Inštrukcia, ktorú subjekty dostali opäť v slovnej podobe znela: „**Pozbierajte predmety uložené na podlahe pre Vami a vráťte ich v správnom poradí na správne pozície.**“

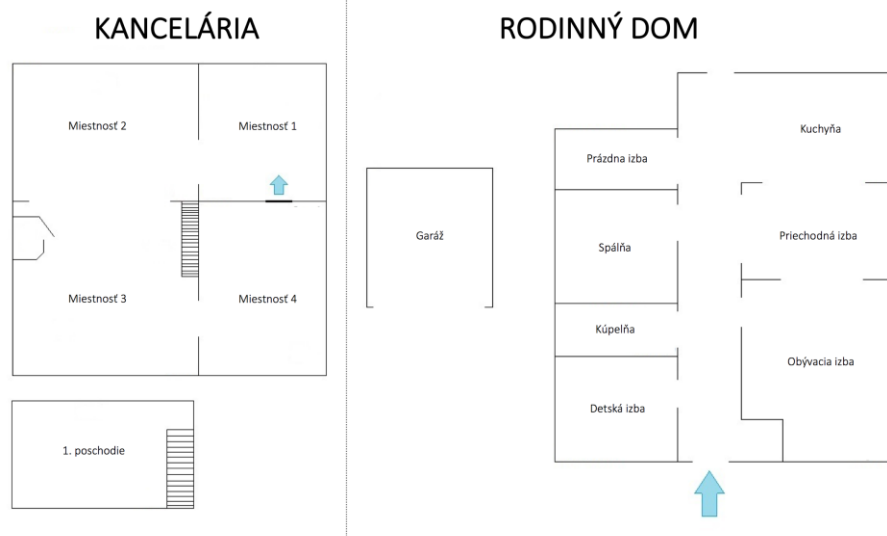


Obr. 8 | Ilustračné zobrazenie testovaného neštruktúrovaného (A) a štruktúrovaného (B) virtuálneho prostredia v jednotlivých fázach experimentu. A1/B1 – zobrazenie fázy učenia v oboch virtuálnych prostrediach; A2/B2 – fáza spätného vybavenia v oboch virtuálnych prostrediach.

Navrhli sme dve, od seba dobre odlíšiteľné, virtuálne prostredia, v ktorých sme jednotlivé úlohy testovali. Na uvedených obrázkoch môžeme vidieť rozdielnosť oboch testovaných prostredí (Obr. 9):

- prostredie „otvorenej“ kancelárie (angl. „*open space*“) - virtuálne prostredie je neštruktúrované a rozľahlé. Pôdorys tvoria štyri veľké miestnosti a jedno menšie poschodie, na ktoré sa subjekt dokáže dostať schodmi, zároveň nábytok nachádzajúci sa v tomto prostredí je veľmi podobný až rovnaký.
- prostredie rodinného domu - štruktúrované prostredie rodinného domu je menšie a tvorí ho sedem miestností (detská izba, kúpeľňa, spálňa, prázdna izba, kuchyňa, medzi izba, obývacia izba) a garáž, oddelená od domu.

Všetky úrovne obťažnosti sme otestovali v oboch virtuálnych prostrediach.



Obr. 9 | Schematický náčrt pôdorysu oboch tetovaných virtuálnych prostredí – kancelárie a rodinného domu. Na jednotlivých náčrtoch je možné porovnať rozdielnosť prostredí na základe veľkosti a rozloženia miestností a ich funkcie, ktorú spĺňajú.

### 4.3 Technické vybavenie

Počas priebehu experimentu sme úlohy prezentovali využitím notebooku s 11“ displejom – na ovládanie testu mali participanti k dispozícii klávesnicu a počítačovú myš, ktoré ovládali súčasne (Tab. 1). Na vytvorenie jednotlivých úloh sme využívali platformu slúžiacu na vývoj vysokokvalitných 2D/3D počítačových hier (angl. *game engine*) – Unity 5.0 (pre bližšie informácie: <https://unity3d.com>).

Tab. 1 | Ovládanie testu a vysvetlenie jednotlivých funkcií.

	Ovládanie	Funkcia
KLÁVESNICA	W,S,A,D	Pohyb v prostredí
	E	Zbieranie predmetov; otváranie dverí v rodinnom dome
	G	Odkladanie predmetov
	0	Náhodné zamiešanie predmetov
	6	Zmena poradia pozbieraných predmetov v inventári
MYŠ		Rozhliadanie sa po okolitom prostredí

### 4.4 Výskumný súbor

Pre vstupom do štúdie museli dobrovoľníci spĺňať nasledujúce kritéria:

- vek v rozmedzí od 18 do 45 rokov,

- ukončené vzdelanie na úrovni vzdelania 3 (stredoškolské vzdelanie ukončené maturitnou skúškou) alebo 4 (univerzitné vzdelanie),
- bez diagnózy psychiatrického a neurologického ochorenia.

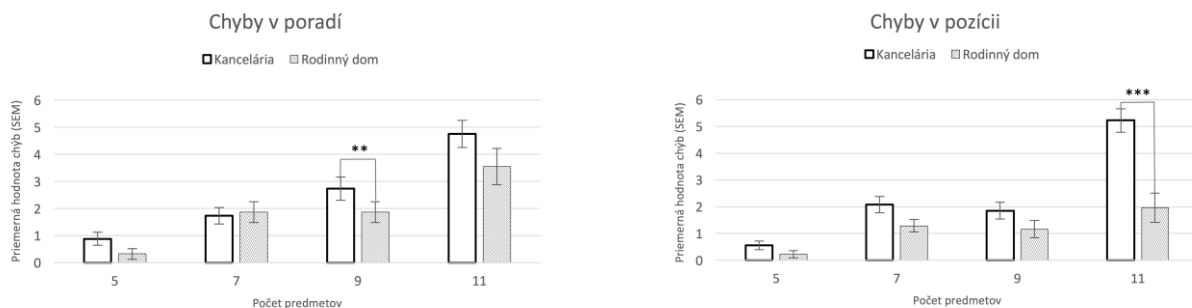
Pilotnej štúdie 1 sa celkovo zúčastnilo 71 zdravých dobrovoľníkov – z toho 21 žien a 51 mužov. Najmladší účastník štúdie mal 18 rokov a najstarší účastník 40 rokov. Vo virtuálnom prostredí otvorenej kancelárie sme otestovali 41 subjektov (11 žien, 30 mužov) s priemerným vekom 26.9 ( $\pm$  6.84) rokov. Vo virtuálnom prostredí rodinného domu sme otestovali celkom 31 subjektov (10 žien, 21 mužov) s priemerným vekom 26.5 ( $\pm$  7.15) rokov. Zo 71 testovaných subjektov malo 26 subjektov ukončené technické vzdelanie. Z celkového počtu 71, aktívne hralo počítačové hry 31 subjektov.

#### 4.5 Spracovanie a analýza dát

V pilotnej štúdii 1 sme na spracovanie a analýzu behaviorálnych dát použili štatistický softvér STATISTICA 9.0, kde sme parametrickou štatistickou metódou: trojcestná ANOVA (GLM model s ANOVOU pre opakované merania s 3 faktormi: prostredie, počet predmetov, typ podmienky), sledovali vzniknutú chybovosť vo fáze spätného vybavenia pri oboch prostrediach. V prípade nálezu signifikantného výsledku sme v analýze dát pokračovali post hoc Newman-Keulsovým (N-K) testom.

#### 4.6 Výsledky

Výsledky prvej pilotnej štúdie poukazujú na priemerný počet chýb, ktoré sa u testovaných subjektov vyskytli počas riešenia jednotlivých úloh. Rozlišovali sme chyby v poradí a chyby v pozícii v porovnaní s oboma prostrediami (Obr. 10).



Obr. 10 | Zobrazenie efektu prostredia (štruktúrovaného domu; neštruktúrovanej kancelárie) prezentovaných oddelene pre chyby v poradí (vľavo) a chyby v pozícii (vpravo).

V analýze sme identifikovali: signifikantný efekt prostredia  $F(1, 8) = 6.492$ ,  $p = 0.034$ ; a efekt počtu objektov  $F(3, 24) = 17.253$ ,  $p < 0.0000$ ; v prípade efektu podmienky sme našli len nesignifikantný trend  $F(1, 8) = 4.410$ ,  $p = 0.069$ . Navyše sa nám podarilo identifikovať interakciu všetkých 3 sledovaných parametrov (prostredia, počtu predmetov, sledovaných podmienok):  $F(3, 24) = 6.731$ ,  $p = 0.00187$ . Táto interakcia sa podľa post hoc N-K testu prejavila nasledovne:

- pri 9 predmetoch, kde sa efekt prostredia vyskytuje iba v podmienke ‚Kedy?‘, ale nie u podmienky ‚Kde?‘ ( $p = 0.0062$ );
- pri 11 predmetoch, kde je efekt prostredia výrazný u podmienky ‚Kde?‘, ale nie u podmienky ‚Kedy?‘ ( $p = 0.00034$ ).

Najvyššia úspešnosť bola vykazovaná u podmienky ‚Kde?‘. Nakoľko sme sa testovaných subjektov pýtali aj na skúsenosti získané hraním počítačových hier, zistili sme, že v tejto štúdií neexistuje žiadny signifikantný rozdiel v porovnaní výkonu subjektov. Testovaný výskumný súbor bol zároveň vekovo rôznorodý, preto sme sa pozreli aj na efekt veku, ktorý bol pri chýbách v poradí ( $p < 0.001$ ) signifikantne výraznejší ako u chýb v pozícii ( $p < 0.05$ ).

#### 4.7 Diskusia

Z uvedených výsledkov vidíme, že výskumná hypotéza, ktorú sme sa pred začatím štúdie stanovili sa nám potvrdila, chybovosť skutočne stúpa s náročnosťou danej úlohy, u časových i priestorových chýb, tak aj pri oboch typov testovaných virtuálnych prostredí. Testovaným subjektom sa ľahšie pamätala pozícia predmetov a horšie zapamätateľnou bolo samotné poradie predmetov, čo subjekty sami potvrdili aj počas spätnej väzby, ktorú nám poskytovali po ukončení experimentu. Týmto sa nám čiastočne potvrdila aj druhá výskumná hypotéza: štruktúrované prostredie vedie k nižšiemu počtu chýb, avšak v oboch testovaných podmienkach, nielen v prípade pozície. Nakoľko sa výskum pohyboval v oblasti počítačových technológií, subjektov sme sa pýtali, či absolvovali a majú ukončené technické vzdelanie a zaujímala nás skúsenosť s pravidelným hraním počítačových hier. Zistili sme, že skúsenosť s hraním počítačových hier nemá žiadny signifikantný vplyv na výkon v riešení úlohy. Predpokladáme teda, že test vo virtuálnom prostredí, ktorý sme navrhli, je vhodným základom pre testovanie pamäti epizodického typu.

## 5 Pilotná štúdia 2

### 5.1 Úvod, ciele a výskumné hypotézy

Pilotná štúdia 2 vznikla na základe výsledkov Pilotnej štúdie 1 - jej rozšírením a samotný design experimentu bol veľmi podobný. Testované úlohy sa skladali ako v predchádzajúcej štúdií z dvoch fáz: *fázy učenia* a *fázy spätného vybavenia*. Keďže epizodickú pamäť zaraďujeme do pamäti dlhodobej, spôsob, ktorým ju chceme testovať, by mal zároveň obsahovať určité časové oddialenie pred samotným vybavením konkrétnej epizódy z minulosti. Jednotlivé fázy experimentu sme teda od seba oddelili krátkou prestávkou (5 minút), počas ktorej bol použitý distraktor na odpútanie pozornosti. Aj keď je tento časový úsek pomerne krátky, jednou z dvoch kritérií pre testovanie epizodickej pamäti je časové oddialenie medzi kódovaním a spätným vybavením udalosti, počas ktorého je subjektom zamedzené udržať informáciu v pracovnej pamäti (Montoya *et al.*, 2006), čoho sme dosiahli použitím distraktora. Model ELM má tri základné parametre, ako bolo vyššie spomenuté, preto sme virtuálne úlohy pozmenili tak, aby sme tieto zložky dokázali testovať. Pridali sme podmienku pre identitu epizódy - „Čo sa stalo?“.

*Cieľ:*

- študovať výkonnosť v úlohe po pridaní komponentu charakterizujúci identitu predmetu (,epizódy‘),
- sledovať a kategorizovať jednotlivé kognitívne stratégie používané pri riešení úloh.

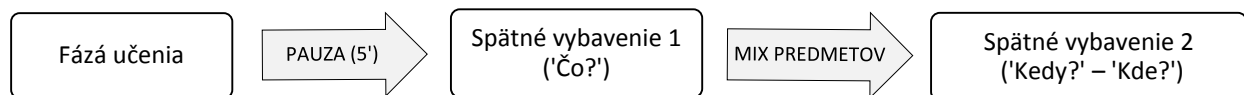
*Výskumné hypotézy:*

1. Počas spätného vybavenia bude najjednoduchšie si vybaviť identitu epizódy (,Čo?‘) a naopak, najt’azšie zapamätateľná bude časová zložka (,Kedy?‘) modelu ELM.
2. Chybovosť budú subjekty vykazovať s navyšujúcim počtom predmetov.

### 5.2 Design experimentu

Úlohy, ktoré mali participanti splniť, boli principiálne rovnakého charakteru ako v Pilotnej štúdií 1 – tzn. zbieranie predmetov. Na základe získaných výsledkov z predchádzajúcej štúdie sme sa rozhodli testovať už len v jednom prostredí – konkrétne v štruktúrovanom. Použili sme rovnaké virtuálne prostredie rodinného domu (Obr. 11), subjekty sa v tomto prostredí lepšie orientovali a vykazovali nižšiu chybovosť v časovo-priestorovej zložke v porovnaní s neštruktúrovaným prostredím. Level obťažnosti mal v tomto experimente tri úrovne o počte predmetov 5, 7 a 9

(3 predmety slúžili ako tréning). Rovnako ako aj v Pilotnej štúdii 1 boli úlohy rozdelené do dvoch fáz: **1) fázy učenia** (zbieranie predmetov pomocou navigačnej pomôcky - žltej šípky, ktorý ukazuje preddefinované poradie a pozíciu predmetov; účelom je naučiť sa identitu, poradie a pozície predmetov) a **2) fázy spätného vybavenia** (odkladanie subjektom zvolených predmetov v správnom poradí, na správne pozície; bez navigačnej pomôcky - žltej šípky) - slúžiacu na vybavenie si jednotlivých ‚epizód‘ (v zmysle zobrazenia predmetu na konkrétnom mieste v rodinnom dome) a taktiež na spätnú kontrolu správnosti učenia (Obr. 11).



Obr. 11 | Ilustrácia jednotlivých krokov testovania. A – fáza učenia, kde subjekty sledovali žltú šípku a zbierali predmety; sivá šípka naznačuje pauzu (5 min); B – začiatok fázy spätného vybavenia (výber predmetov); C - fáza spätného vybavenia, tzn. odkladanie predmetov v správnom poradí na správne pozície.

Testované subjekty boli vo fáze učenia inštruované rovnako ako v Pilotnej štúdii 1, vo fáze spätného vybavenia bola inštrukcia doplnená a znela nasledovne: **„V tejto časti úlohy bude Vaším cieľom si z väčšieho množstva predmetov, nachádzajúcich sa pred domom, vybrať tie, ktoré ste zbierali, ja Vám poradie predmetov v inventári premiešam a následne predmety vrátite v správnom poradí na správne pozície.“** - testované subjekty neboli nikdy dopredu oboznámené o aký počet predmetov sa jedná. My sme však úlohy vytvorili tak, že spomínané množstvo predmetov, bolo vždy dvojnásobkom počtu predmetov v konkrétnom leveli (tzn. pri úlohe so 7 predmetmi si pri spätnom vybavení subjekty vyberali predmety z počtu 14); ani jeden z predmetov nebol použitý dvakrát v žiadnej úrovni náročnosti a pri výbere mali subjekty vždy k dispozícii predmety, ktoré vo fáze učenia pre konkrétny level zbierali, plus nové predmety, ktoré nikdy predtým nevideli. Obe fázy boli namodelované tak, aby sa subjekt, či už pri zbieraní alebo pri spätnom odkladaní, nemohol vrátiť a ‚epizódu‘ znova prežiť, resp. sa opraviť po uvedomenej chybe.



### 5.3 Technické vybavenie

Na ovládanie testu mali testované subjekty k dispozícii gamepad (Tab. 2) a jednotlivé úlohy sme im premietali cez dataprojektor na oblú stenu, pred ktorou pohodlne počas riešenia úlohy sedeli v kresle. Nakoľko sme testovali dlhodobú pamäť, jednotlivé fázy testovania sme od seba oddialili prestávkou (5 min). Počas tejto prestávky bol participantom predložený distraktor vo forme hry s názvom *LEU – brain stimulator* (hra s 12 farebnými stavebnicami, ktoré sa majú do predloženého poľa vyskladať podľa farebnej predlohy a chýbajúce stavebnice doplniť bez akejkoľvek pomôcky tak, aby boli použité všetky stavebnice a každé políčko bolo zaplnené).

Tab. 2 | Ovládanie testu pomocou gamepadu a vysvetlenie jednotlivých funkcií.

	Ovládanie	Funkcia
GAMEPAD	Joystick	Pohyb v prostredí
	○	Zbieranie predmetov; otváranie dverí v rodinnom dome
	X	Odkladanie predmetov
	0	Náhodné zamiešanie predmetov (experimentátor)
	Tlačidlo 1, 2	Zmena poradia pozbieraných predmetov v inventári

Na vytvorenie jednotlivých úloh sme využívali platformu slúžiacu na vývoj vysokokvalitných počítačových hier – Unity 5.0; rovnako ako aj v *Pilotnej štúdii 1*.

### 5.4 Výskumný súbor

Účastníci štúdie museli spĺňať nasledujúce vstupné kritériá:

- vek v rozmedzí od 18 do 45 rokov,
- ukončené vzdelanie na úrovni vzdelania 3 (stredoškolské vzdelanie ukončené maturitnou skúškou) alebo 4 (univerzitné vzdelanie),
- bez diagnózy psychiatrického a neurologického ochorenia.

Pilotnej štúdie 2 sa zúčastnilo celkom 30 zdravých dobrovoľníkov (15 žien, 15 mužov) s priemerným vekom 27.23 ( $\pm$  3.9) rokov a ukončeným univerzitným vzdelaním (stupeň 4). Najmladší testovaný subjekt mal 18 rokov a najstarší účastník štúdie mal 32 rokov. Počítačové hry hralo 11 účastníkov. Technické vzdelanie absolvovali 2 účastníci štúdie.

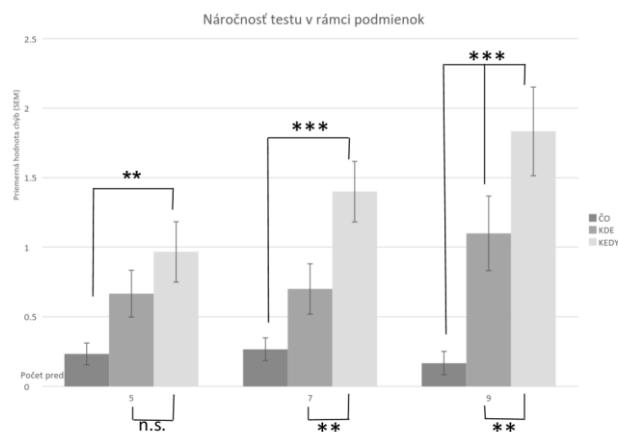
### 5.5 Spracovanie a analýza dát

Na spracovanie a analýzu behaviorálnych dát sme v Pilotnej štúdii 2 použili štatistický softvér STATISTICA 9.0, rovnako ako v predošlom experimente. Na sledovanie chybovosti a

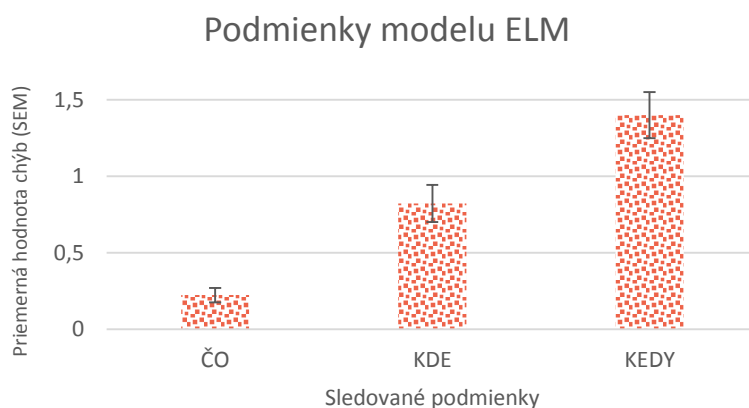
výkon testovaných subjektov, bola použitá parametrická štatistika - dvojcestná ANOVA pre opakované merania. V prípade zistenia signifikancie sa použil post hoc N-K test.

## 5.6 Výsledky

Výsledky Pilotnej štúdie 2 testované výlučne v štruktúrovanom prostredí ukázal efekt podmienky  $F(2, 58) = 31.448, p < 0.000$ . Nepotvrdil sa nám čistý efekt počtu objektov  $F(2, 58) = 2.528, p = 0.089$ , našli sme však signifikantnú interakciu medzi podmienkou a počtom predmetov  $F(4, 116) = 2.849; p = 0.027$ . Na základe post hoc N-K testu sme ukázali, že zatiaľ čo v prípade 9 objektov a všetky podmienky vzájomne líšia v počte dosiahnutých chýb ( $p < 0.001$ ), v prípade 5 objektov sme našli signifikantný rozdiel len medzi podmienkou čo a kedy ( $p < 0.01$ ), a u 7 objektov medzi podmienkami čo a kedy ( $p < 0.001$ ) a podmienkami kedy a kde ( $p < 0.01$ ). V prípade podmienky co a kedy, sme nenašli efekt počtu objektov na výkon v úlohe ( $p > 0.05$ ), naopak v prípade podmienky kedy je tento efekt signifikantný ( $p < 0.05$ ) (Obr. 12, Obr. 13).



Obr. 12 | Porovnanie náročnosti testu v rámci sledovaných podmienok modelu ELM v štruktúrovanom prostredí. spriemerované pre všetky opakovania.

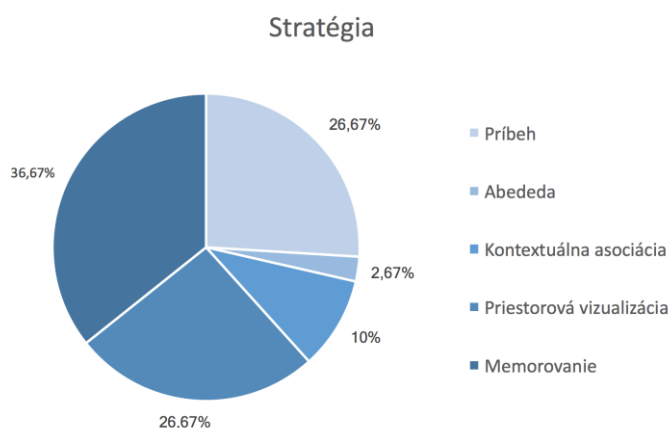


Obr. 13 | Porovnanie sledovaných podmienok modelu ELM v štruktúrovanom prostredí.

Pri získavaní spätnej väzby sme sa subjektov pýtali, akú stratégiu používali pri riešení úloh, čo sme následne roztriedili do jednotlivých kategórií (Tab. XY). Počet subjektov využívajúcich jednotlivé typy stratégií sme previedli do percentuálnych hodnôt a graficky znázornili.

Tab. 3 | Zobrazenie kategórií vytvorených na základe spôsobu riešenia úlohy subjektom.

KATEGÓRIA	POPIS	PRÍKLAD
Príbeh	Vybavenie 3 podmienok ELM vytvorením príbehu.	Hasiaci prístroj na gauči v obývačke, včera večer bola párty.
Abeceda	Vytvorenie slova z počiatočných písmen predmetov vďaka nejakej asociácii.	VKHRT
Kontextuálna asociácia	Predmet si subjekt spojuje s pozíciou vďaka nejakej asociácii.	Hamburger - deti ho majú radi.
Priestorová vizualizácia	Predstavenie si trajektórie zbierania predmetov.	Predstavoval som si trajektóriu, po ktorej som išiel pri zbieraní predmetov.
Memorovanie	Opakovanie poradia a pozíc v hlave.	V hlave som si opakoval poradie a miesto predmetov.



Obr. 14 | Percentuálne zastúpenie využívajúcich kategórií zobrazené koláčovým grafom.

## 5.7 Diskusia

Na základe výsledkov, ktoré sme získali z *Pilotnej štúdie 1* sme tento experiment testovali už iba v štruktúrovanom prostredí rodinného domu. Pre ucelenie testovaného modelu pamäti epizodického typu bol experiment rozšírený o podmienku, ktorá je definovaná identitou predmetu (,epizódy'). Z výsledkov našej štúdie vyplýva potvrdenie platnosti prvej hypotézy, ktorá hovorí o tom, že najjednoduchšie si budú testované subjekty vybavovať podmienku ,Čo?' a najťažšie časovú podmienku ,Kedy?'. Potvrdili to aj samotné subjekty formou spätnej väzby, ktorú nám podali po ukončení experimentu.

Aj napriek tomu, že sme počet predmetov znížili na maximálne 9 (z dôvodu vysokého počtu chýb u 11 predmetov v predošlej štúdii), chybovosť s narastajúcim počtom predmetov opäť stúpala, avšak odlišne pre jednotlivé typy podmienok. Zatiaľ čo u podmienky kedy bol tento efekt výrazný, tak prípade zvyšných dvoch podmienok sa prakticky neprejavil. Na rozdiel od prvej pilotnej štúdie, sme v tomto prípade druhú hypotézu potvrdili len čiastočne. Chýbajúci čistý efekt počtu objektov na výkon v úlohe (pri zanedbaní efektu typu podmienky) by mohol súvisieť práve s pridaním podmienky „Čo?“. Na tomto mieste je vhodné priznať, že náročnosť jednotlivých podmienok v našej variante ELM úlohy nie je rovnocenná. V prípade podmienky čo, totiž subjekty vyberali len z dvojnásobného počtu objektov (pravdepodobnosť chyby je teda 50%), zatiaľ čo v prípade podmienky kde, je počet chybných pozícií, na ktoré je možné objekt umiestniť prakticky neomezený. U podmienky kedy, jedna chyba v poradí (napr. vynechanie) môže generovať ďalšie. Bolo by teda vhodné v budúcnosti rozlišovať rôzne typy chýb v poradí (napr. vynechanie, zámena a pod.). Tiež by bolo možné v budúcnosti počítat miesto chýb v poradí akúsi „časovú vzdialenosť“, tzn. rozdiel medzi správnym a zvoleným poradovým miestom.

Tento experiment sa líšil od našej predošlej štúdie aj v časovom priebehu testovania. Ide konkrétne o pridanie časového oddialenia (5 min) medzi fázou učenia a fázou spätného vybavenia, ktoré mohlo ovplyvniť výkon v úlohe. Vzhľadom k tomu, že výskumný súbor sa medzi pilotnými štúdiami líšil, nie je možné ich priame vzájomné porovnanie.

V tejto štúdii sme sledovali zároveň aj typ stratégií (Tab. 3; Obr. 14), ktoré subjekty využívali pri riešení požadovaných úloh, a následne ich kategorizovali. Najčastejšie využívanou stratégiou bolo memorovanie (36,67 %), priestorová vizualizácia (26,67%) a príbeh (26,67 %). Je vhodné sa zamyslieť, prečo bolo memorovanie najviac využívané. Možné odôvodnenie by mohlo byť v počte predmetov, ktorý vo všeobecnosti nebol príliš vysoký, zložitejšie stratégie nevyžadoval. Tak sa tento typ stratégie sa mohol testovaným subjektom zdať ako výhodnejší pre jednoduchšie zapamätanie si testovaných podmienok. Stratégia priestorovej vizualizácie je v tomto experimente tiež celkom logickým riešením úlohy, nakoľko prebieha každý stupeň náročnosti v rovnakom prostredí, subjektom sa tieto prostredia postupne stali familiárnymi, čo sa mohlo mimo iného prejavovať aj na chýbajúcom efekte počtu objektov na chybovosť v podmienke kde. Aj využitie stratégie príbehu by mohlo byť možné s ohľadom na zadanie úlohy, ktorá testuje pamäť epizodického typu, prepojenú s každodennými udalosťami.

## 6 fMRI štúdia

### 6.1 Úvod, ciele a výskumné hypotézy

Hlavným cieľom diplomovej práce je sledovanie neurobiologického substrátu pamäti epizodického typu. Rovnako, ako aj pri *Pilotnej štúdií 2*, aj v tomto experimente sme testovali zjednodušený model ELM so všetkými troma základnými podmienkami – identitou epizód (čo?), časovou zložku (kedy?), priestorovou zložku (kde?).

Zatiaľ, čo sme v oboch pilotných štúdiách boli limitovaný prostredím, tu sme vytvorili rozľahlé, ekologicky validné virtuálne prostredie. Dlhodobú pamäť sme testovali aj s rozšírenou prestávkou medzi jednotlivými úrovňami testu. Účelom tohto experimentu je absencia priestorovej limitácie prostredia a vytvorenie rovnocenných ostrovov, ktoré sú diverzifikované v priestore aj v čase, vďaka kontextu vytvoreného striedaním dennej doby a počasia na jednotlivých ostrovoch. Tento experiment, ktorý je úplne nanovo navrhnutý pre testovanie pamäti epizodického typu má dve výhody:

- obsahuje sériu vzájomne podobných ostrovov, ktorú sú medzi sebou porovnateľné,
- obsahuje audiovizuálny kontext, umožňujúci odlíšenie jednotlivých ostrovov medzi sebou

Rozšírili sme zároveň aj „štruktúru“ priebehu testovania v porovnaní s predošlými pilotnými štúdiami, a to nasledovne:

- fáza učenia, ktorej náplňou bol proces učenia pre všetky ostrovy,
- vyšetrenie magnetickou rezonanciou, ktorá nám umožnila sledovať neurobiologický substrát,
- fáza spätného vybavenia, ktorou dokážeme overiť, či sa testované subjekty správne naučili jednotlivé miesta a predmety s nimi spojené, v rámci každého ostrova zvlášť.

*Cieľ:*

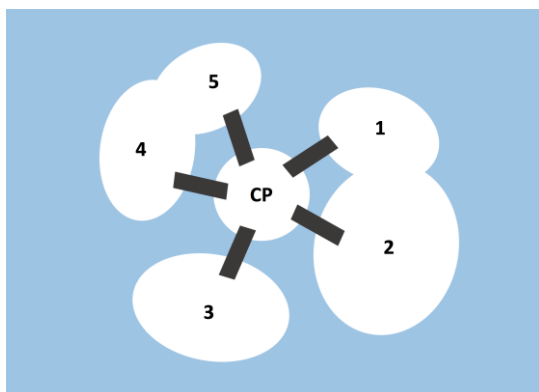
- mapovať funkčné oblasti mozgu pri vybavení konkrétnej epizódy za použitia fMRI,
- študovať jednotlivé komponenty ELM dosiahnutého výkonom v jednotlivých úlohách a testoch,
- určiť náročnosť testovaných podmienok jednotlivých zložiek modelu ELM na základe chybovosti,
- mapovať vzťah medzi úspešnosťou v pamäťových testoch a objemom HPC a jeho vybraných oblastí.

### Výskumné hypotézy:

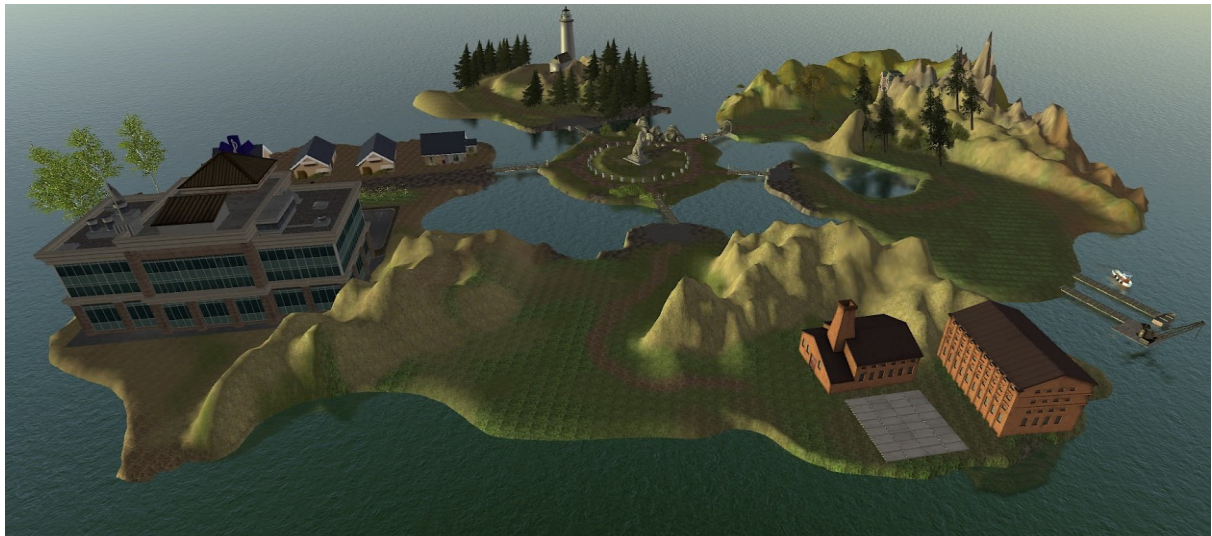
1. Najľahšie zapamätateľná bude identita epizódy, najhoršie zapamätateľná bude časová zložka modelu ELM.
2. Participanti si budú najlepšie vybavovať prvý a posledný ostrov, horšie vybaviteľné budú ostrovy medzi nimi.
3. Vybavenie všetkých 3 kľúčových informácií (Čo? – Kde? – Kedy?) bude aktivovať štruktúry hipokampu a mediálnej prefrontálnej kôry.
4. Jednotlivé podmienky budú aktivovať čiastočne odlišnú neuronálnu sieť:
  - podmienka ‚Čo?‘ bude najviac aktivovať i štruktúry v rámci ventrálnej vizuálnej dráhy,
  - podmienka ‚Kde?‘ bude aktivovať najmä štruktúry dorzálneho vizuálneho toku ,
  - podmienka ‚Kedy?‘ bude výrazne aktivovať frontálne štruktúry.
5. Výkon bude pozitívne korelovať s celkovým objemom hipokampu (HPC), a tiež s objemom jednotlivých HPC štruktúr (CA1, CA3).

## 6.2 Design experimentu

Vychádzajúc z predošlých experimentov sme do tejto štúdie zvolili rozľahlé virtuálne prostredie pripomínajúce ostrov. Celkom bolo navrhnutých a vytvorených päť virtuálnych ostrovov, ktoré boli vždy rovnakého pôdorysu (s cieľom ich vzájomnej porovnateľnosti) (Obr. 15). Každý ostrov mal uprostred centrálny park, ktorý bol zároveň aj štartovacou pozíciou hráča a v jeho strede sa nachádzal vždy príslušný poznávací znak (tzn. socha leva, kameň, lavičky, fontána, strom). Z centrálného parku viedlo päť mostov, ku konkrétnym piatim miestam na ostrove, obsahujúcich vždy jeden predmet - tzn. celkom päť predmetov na ostrov (Obr. 16; Tab. XY). Jednotlivé ostrovy sa od seba líšili v prvom rade striedaním dennej doby a počasím - kontext (Tab. 4).



Obr. 15 | Všeobecné schematické znázornenie pôdorysu ostrova. Bielou farbou je načrtnutý podorys miest na ostrove, čiernou sú znázornené mosty vedúce k jednotlivým miestam a modrá farba na pozadí predstavuje vodu, ktorá ostrov obmýva (CP - centrálny park; 1-5 - miesta na ostrove).



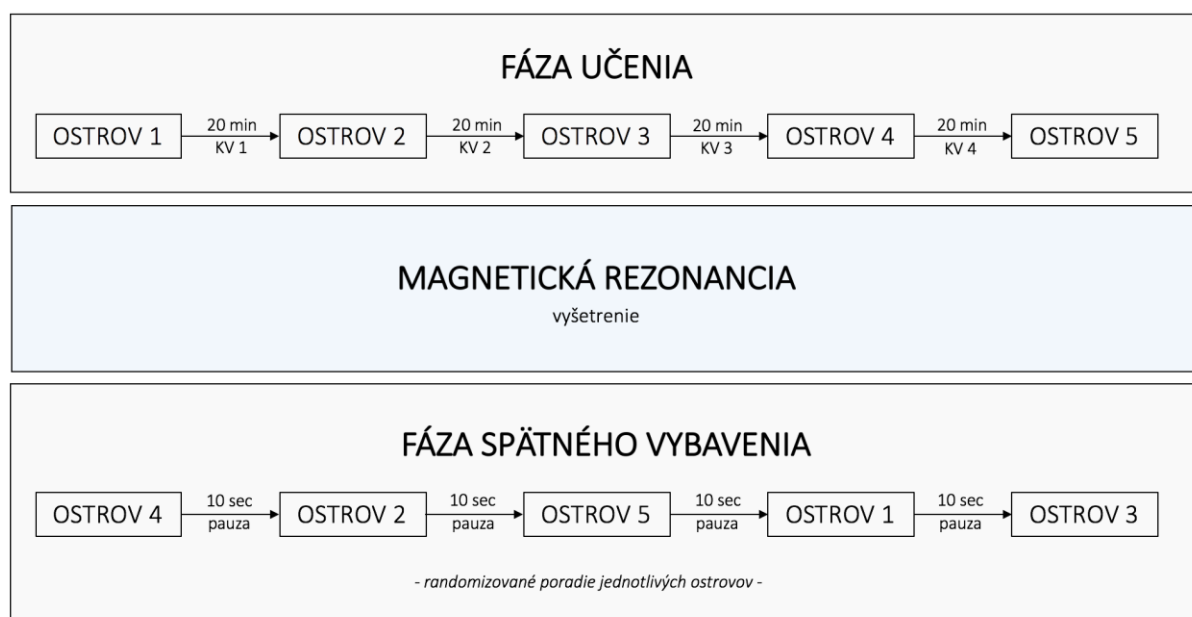
Obr. 16 | Zobrazenie pôdorysu testovaného VR prostredia - ostrova. Centrálny park nachádzajúci sa v strede so sochou leva, je obklopený 5 odlišnými miestami (*zlava* - nemocnica, maják, domy, prístav, fabrika) obsahujúcich 1 predmet, ku ktorým vedie 5 mostov. Takýto letecký pohľad zhora nebol testovaným subjektom počas priebehu testovania poskytnutý.

Tab. 4 | Ostrovy so samotnými miestami a predmetmi, zoradené podľa dennej doby a počasia.

	Denná doba	Počasia	Miesto	Predmet
OSTROV 1	ráno	hmla	múzeum	notebook
			železničná stanica	dinosaurus
			detské ihrisko	krém
			pošta	papuče
			továreň	figurína
OSTROV 2	poludnie	snečno	sklad	lopta
			domy	deodorant
			kostol	ananás
			kemp	šľahačka
			benzínka	kocka
OSTROV 3	popoludnie	dážď	skanzen	špongia
			mlyn	balík pív
			prístav	vajíčka
			mestský úrad	tanier
			cintorín	glóbus
OSTROV 4	podvečer	sneh	supermarket	kávovar
			kaviareň	ručník
			maják	rám
			autobus	syr
			radar	medvedík

			skládka odpadu	lietadielko
			nemocnica	koláč
OSTROV 5	noc	snečno	hotel	paprika
			studňa	sviečka
			letisko	autíčko

Princíp úlohy (zbieranie objektov) bol v porovnaní s pilotnými štúdiami principiálne rovnaký. Celkový priebeh testovania trval približne 6 hodín/1 subjekt a bol rozdelený do 3 väčších častí: I. Fáza učenia; II. Funkčná magnetická rezonancia - vyšetrenie; III. Fáza spätného vybavenia (Obr. 17). Nakoľko bolo toto testovanie komplexnejšie, inštrukcie boli testovaným subjektom podávané postupne v každej fáze testovania, aby vždy boli dopredu oboznámený s tým, čo sa od nich požaduje.



Obr. 17 | Schematické rozdelenie priebehu testovania do konkrétnych častí. Priebeh testovania bol zložený z troch hlavných častí, kde v každej časti mal testovaný subjekt plniť inú úlohu. KV - kognitívne vyšetrenie.

## I. Fáza učenia

Samotné testovanie začalo fázou učenia, kedy testované subjekty plnili úlohy vo virtuálnom prostredí ostrova. Počas tejto fázy mali prejsť všetkými ostrovmi a naučiť sa konkrétne pre každý ostrov: aké predmety zbierali („Čo?“), v akom poradí predmety zbierali („Kedy?“) a na ktorom z miest sa predmety nachádzali („Kde?“). K jednotlivým predmetom sa hráči dostali sledovaním navigačnej pomôcky - oranžovej šípky, ktorá ich postupne dovedla na požadované miesto. Počas zbierania nebolo možné sa späť k predmetom vrátiť a nejakým spôsobom si ich



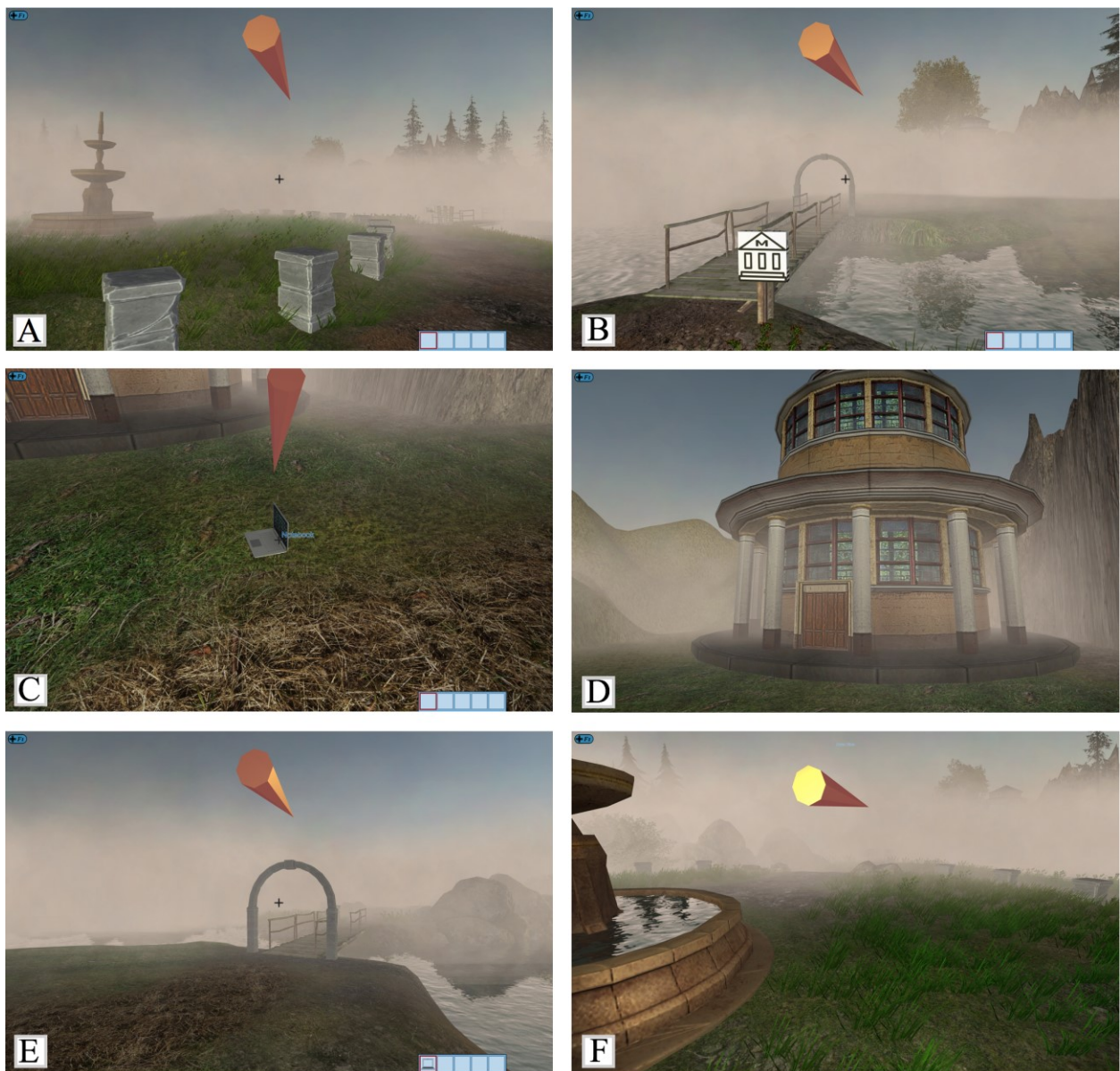
v teste pripomenúť, tzn. každá ‘epizóda’ - v našom prípade zobrazenie predmetu na konkrétnom mieste, bola unikátna a zobrazená iba jeden jediný raz.

Okrem toho, že si mali subjekty zapamätať identitu zbieraných predmetov a ich konkrétnu časovo-priestorovú zložku, boli inštruovaný aj k pamätaniu si niekoľkých informácií dôležitých pre ďalšie testovanie v priebehu vlastného merania fMRI. Tieto informácie zahŕňali: čiernobiele ikony a fixné snímky miest; čiernobiele ikony a vzhľad zbieraných predmetov. Ikona zobrazujúca miesto, ku ktorej hráč smeruje, sa nachádzala vždy pred vstupom na most; tzn. ak hráč smeroval k nemocnici, pred vstupom na most sa nachádzala ikona znázorňujúca nemocnicu. Fixný snímok miesta, ktoré si mali hráči pamätať sa zobrazil približne na 2 sekundy na celý displej monitoru, hneď po tom, ako prišli na požadované miesto a predmet zobrali. Po zmiznutí fixného snímku test pokračoval a predmet, ktorý vzali sa im v inventári (pravý dolný roh displeja) zobrazoval v podobe ikony. Vzhľad predmetu mali hráči možnosť vidieť pred tým, ako ho zobrali (Obr. 18). Po pozbieraní všetkých piatich predmetov na ostrove sa test automaticky zastavil a začalo sa odpočítavanie prestávky. Po jej ukončení hráč pokračoval druhým ostrovom. Tento proces sa opakoval až do chvíle, kým testovaný subjekt prešiel všetkých päť ostrovov, navštívil všetkých 25 miest a pozbieral celkom 25 predmetov.

Z dôvodu testovania dlhodobej pamäte bola fáza učenia prerušovaná a jednotlivé ostrovy od seba oddelené prestávkou po dobu 20 min, počas ktorej subjekty riešili **kognitívne testy** s príslušným psychológom. K testovaniu bola použitá batéria testov RBANS (angl. Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status; Randolph, 1998) kognitívne testy boli zamerané na učenie, pamäť, pozornosť a priestorovú orientáciu. Vizuálna pamäť sa testovala pomocou testu Vybavenia figúry RBANS (angl. figure recall), ktorý spočíva v prekresľovaní určitej abstraktnej komplexnej figúry. V prvej časti dostane subjekt k dispozícii obrázok, ktorý má čo najpresnejšie prekresliť, bez toho, aby bol informovaný o tom, že si má figúru zapamätať. Následne sa obrázok odloží a po časovom oddialení 15-20 min a testovaním sady odlišných úloh z batérie RBANS, experimentátor požiada subjekt o opätovné nakreslenie rovnakej figúry, tentoraz ale bez použitia predlohy (Meyers a Meyers, 2007).

Verbálnym pamäťovým testom bol test Vybavenia povedky z batérie RBANS zameraného na logickú pamäť. Ide o test epizodickej pamäti, kde sa subjektovi predčíta poviedka (celkovo 2x).

Úlohou testovaného subjektu je príbeh, hneď po dočítaní experimentátorom, prerozprávať tak, ako si ho pamätá. V prípade oddialeného vybavenia, ktoré meria výkon v oblasti dlhodobej pamäte, je úlohou subjektu príbeh si opäť vybaviť a prerozprávať tak, ako si ho pamätá (Strauss *et al.*, 2006). Ďalším použitým verbálnym testom bol test Vybavenia zoznamu slov z batérie RBANS zameraného na dlhodobú pamäť. Testovanej osobe sa postupne v 4 opakovaníach predčíta zoznam 10 slov, ktorý má hneď zopakovať (okamžití vybavenie a učebná krivka). V prípade oddialeného vybavenia, je úlohou subjektu si zoznam opäť vybaviť bez jeho opakovania experimentátorom (Strauss *et al.*, 2006).



Obr. 18 | Fáza učenia - grafická ukážka. Hráč začína v centrálnom parku a sledoval šípku, ktorá ho navádzala ku konkrétnemu miestu s predmetom (A). Pred vstupom na most sa vždy nachádzala ikonu miesta, ku ktorej smeruje (B). Vo chvíli, ako hráč došiel tam, kde bol smerovaný, predmet vzal (C), zobrazil sa mu fixný snímok miesta (D) a

predmet sa premiestnil do inventára v podobe ikony (E). Následne postupoval podľa šípky späť do centrálného parku a po pozbieraní 5 predmetov prislúchajúceho ostrova sa test pozastavil a začala sa odrátavať prestávka (F).

Na **ovládanie testu** sa používala klávesnica a počítačová myš. Počas testovania si, v prípade neistoty alebo zabudnutia danej funkcie, mohli subjekty klávesou F1 rozbaľiť v ľavom hornom rohu displeja ovládanie. Na pohyb vo VR prostredí slúžili šípky, na rozhľad po okolí bola k dispozícii počítačová myš. Predmety zbierali hráči ľavým tlačidlom na myši.

## **II. Magnetická rezonancia - vyšetrenie**

Po fáze učenia nasledovalo vyšetrenie funkčnou magnetickou rezonanciou. Samotnému testovaniu predchádzal pretréning, v ktorom bol subjektom najskôr vysvetlený princíp fMRI paradigmatu, ktorý si následne vyskúšali na niekoľkých ukázkových príkladoch. Účelom pretréningu bolo, aby subjekt požadovanú úlohu zvládol a boli mu podané všetky potrebné inštrukcie. Počas samotného MRI vyšetrenia plnili subjekty najskôr funkčnú časť merania a meranie kľudovej aktivity mozgu (subjekt ležal v kľude so zavretými očami, bez plnenia špeciálnej úlohy). Po ukončení funkčnej časti meranie pokračovali morfológické sekvencie, T1 a T2 3D anatomické snímanie.

V **designe fMRI experimentu** boli podnetovými stimulmi obrázky (Obr. 19) zhotovené na základe úloh, ktoré subjekty absolvovali vo fáze učenia. Každé miesto a každý predmet sa zopakoval opäť iba jedenkrát. Na základe podmienok, ktoré sme chceli sledovať sme potom tieto stimulačné obrázky vytvárali. Tieto obrázky boli vždy umiestnené na sivom pozadí a zobrazovali sa po trojiciach, kde horný obrázok značil otázku a dolné dva obrázky boli možnosti, z ktorých si testovaný subjekt mal vybrať správnu odpoveď. Vždy bola správna iba jedna z poskytnutých odpovedí a nemali možnosť sa spätne k otázke vrátiť a svoju odpoveď zmeniť. Podnetové stimuly sa premietali postupne za sebou a to nasledovne: 1 obrázok mal trvanie 5 sec (doba, do ktorej musel testovaný stihnúť odpoveď na otázku); zobrazenie fixačného kríža na 1 sec a následne ďalší obrázok, znova na 5 sec. Kategórie, do ktorých boli obrázky rozdelené sa striedali po 5 otázkach (tzn. 1 kategória = 5 obrázkov, 5 fixačných krížov; doba: 30 sec). Celkovo teda testovaná sada obsahovala 2 kontrolné podmienky a 4 experimentálne podmienky.

Pri zvolenom fMRI paradigmate, v tejto štúdii - blokový design, sme striedali kontrolnú otázku (kontrola) s experimentálnou otázkou (stimul) v blokoch. Kontrolné otázky boli stvárnené

pomocou čiernobielych ikon, ktoré si subjekty počas riešenia fázy učenia mali zapamätať. K zobrazeniu časovej podmienky sme použili hodiny, kde sme sa pýtali vždy „Čo bolo skôr?“ - tzn. subjekty mali počas fMRI experimentu v časovej podmienky označiť správnu odpoveď, podľa ‚epizódy‘, ktorá sa vo fáze učenia vyskytla skôr ako tá druhá. Vytvorili sme dve kategórie: 1) obrázky, u ktorých bol odpoveďou predmet; 2) obrázky, u ktorých bolo odpoveďou miesto. Tomu sme potom prispôbovali aj typ otázky (sledovanú podmienku), nasledovne (Obr. XY):

Odpoveď - predmet (A):

**Kontrolná otázka (A1)**

- inštrukcia: „Prirad’te zobrazené ikonu k predmetu.“ (A1)

**Experimentálne otázky (A2, A3)**

- na podmienku ‚Čo?‘ sme sa pýtali: „Ktorý z predmetov sa nachádzal na tomto mieste?“ (A2)
- na podmienku ‚Kedy?‘ sme sa pýtali: „Ktorý z predmetov ste zbierali skôr?“ (A3)

Odpoveď - miesto (B):

**Kontrolná otázka (B1)**

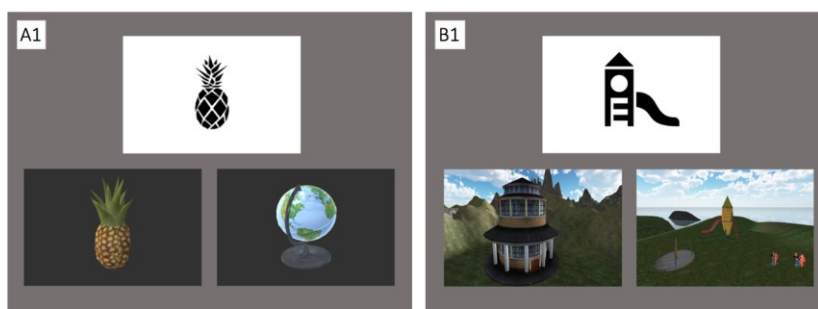
- inštrukcia: „Prirad’te zobrazené ikonu k miestu.“ (B1)

**Experimentálne otázky (B2, B3)**

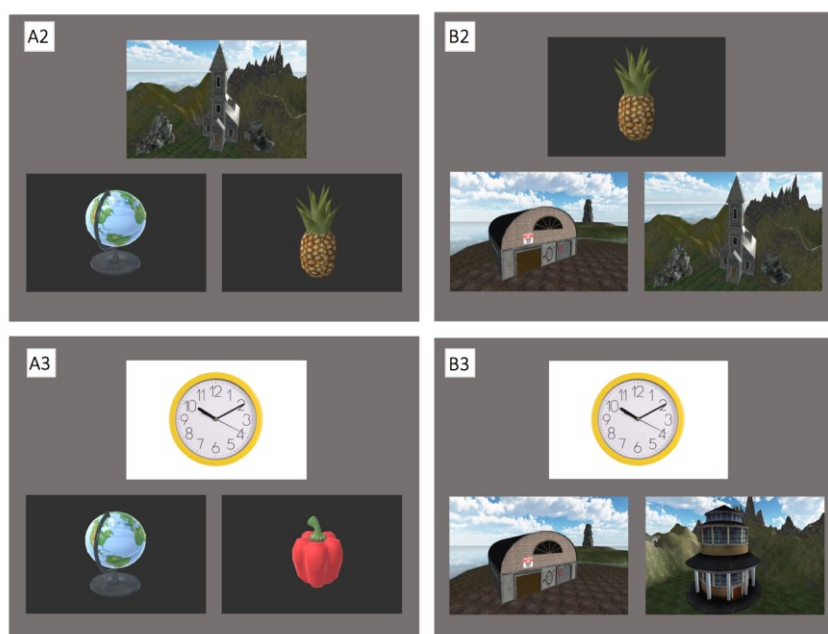
- na podmienku ‚Kde?‘ sme sa pýtali: „Na ktorom z miest ste zbierali tento predmet?“ (B2)
- na podmienku ‚Kedy?‘ sme sa pýtali: „Na ktorom z miest ste boli skôr?“ (B3)

Jednotlivé stimulačné obrázky sú zároveň akousi ‚maticou‘, kde je možné kombinovať otázku - odpoveď a prispôbiť ju podmienkam fMRI experimentu.

## KONTROLNÁ OTÁZKA

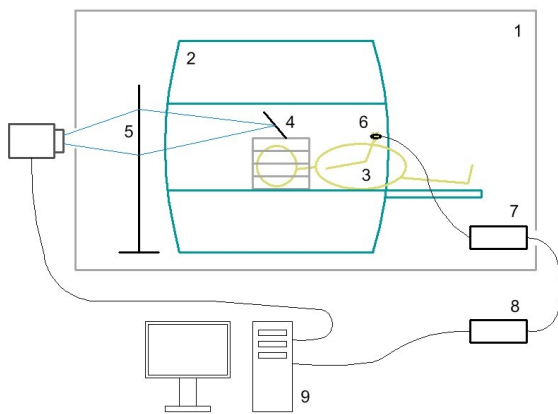


## EXPERIMENTÁLNA OTÁZKA



**Obr. 19 | Zobrazenie stimulačných obrázkov použitých pri funkčnom MR meraní.** Po zobrazení kontrolnej otázky (A1, B1) mali subjekty počas vyšetrenia v MR označiť ako správnu odpoveď tú, ktorá je znázornená v podobe čiernobielej ikony. V experimentálnej otázke (A2-3, B2-3) sme sa zamerali na časovo-priestorovú zložku epizód a ich identifikáciu.

**Z technického hľadiska** bol na vyšetrenie použitý MR prístroj *Siemens Magnetom Prisma 3T* (Erlangen, Nemecko), v ktorom subjekty počas vyšetrenia ležali na chrbte a v pravej ruke mali panel s dvoma tlačidlami (ľavé a pravé), slúžiacie k poskytovaniu odpovedí v úlohe prezentovanej počas fMRI (panel s tlačidlami bol vytvorený Ing. Janom Rydlom). Stimulačné obrázky sa im premietali pomocou počítača napojeného na LCD dataprojektor, umiestneného v zadnej časti MR prístroja (Obr. 20).



Obr. 20 | Schematický náčrt testovaného subjektu ležiaceho v tuneli MR skenera počas fMRI experimentu (vľavo) a vzhľad MR prístroja Siemens Magnetom Prisma 3T, využívaného na pracovisku NÚDZ (vpravo). Popis schematického náčrtu: 1 - miestnosť umiestneného MR skenera, 2 - MR skener, 3 - testovaný subjekt, 4 - hlavová RF cievka s nakloneným zrkadlom, 5 - obrazovka, 6 - tlačidlo umožňujúce odpovedať na otázku v testovanej úlohe, 7 - prijímač signálov z MR, 8 - StimSys modul, 9 - kontrolný počítač vládany experimentátorom (autor schémy uvedenej vľavo: Ing. Jan Rydlo; fotografia vpravo: upravené podľa <https://www.healthcare.siemens.com/magnetic-resonance-imaging/3t-mri-scanner/magnetom-prisma;>).

Predtým ako bol subjekt vsunutý do tunela skenera, mal fixované okolie hlavy (kvôli zamedzeniu pohybu) a dostal štuple do uší na utlmenie hluku vychádzajúceho z prístroja počas skenovania. V okolí hlavy sa na fixačný aparát pripevnil držiak s malým nakloneným zrkadlom; konkrétne sa jednalo o použitie 64-kanálovej hlavovej RF cievky. Na meranie sme používali Multiband EPI sekvenciu s repetičným časom  $TR = 1000$  ms a štandardnou metódou merania BOLD kontrastu. Mozog bol pokrytý 64 vrstvami, veľkosť jednotlivých voxelov bola  $2 \times 2 \times 2$  mm a aktivizačná matica mala veľkosť  $104 \times 104$  pixelov. Celé funkčné meranie trvalo 900 sec (tzn. 15 min): počas tejto doby prebehlo 90 dynamík (30 v dobe kľudu; 60 v dobe stimulácie) a 10 epoch.

### III. Fáza spätného vybavenia

Fáza spätného vybavenia bola poslednou časťou experimentu, ktorá prebiehala mimo magnetickej rezonancie na stolnom počítači, rovnako ako fáza učenia. V tejto časti sa však jednotlivé ostrovy spúšťali v náhodnom, randomizovanom poradí a subjekty mali za úlohu (Obr. 21):

- rozlíšiť, na ktorom ostrove sa práve nachádzajú a adekvátne vybrať prislúchajúcich 5 predmetov,
- zvolené predmety boli následne premiešané experimentátorom, aby sa zamedzilo tomu, že si subjekt vyberie predmety v zapamätanom poradí už v tejto fáze,
- zvolených 5 predmetov vrátiť v správnom poradí na správne miesta

Rovnako ako aj pre fázu učenia, tak aj pre fázu spätného vybavenia platilo, že sa subjekt nemohol opraviť a zároveň mu každá ‘epizóda’ - v našom prípade zobrazenie predmetu na konkrétnom mieste, bola zobrazená iba jeden jediný raz.



**Obr. 21 | Fáza spätného vybavenia - grafická ukážka.** Hráč mal na začiatku testu rozlíšiť podľa počasia a dennej doby, v ktorom z ostrovov sa nachádza, vziať si tomu prislúchajúce predmety (5 ks) z kamenných stĺpov (A) a vrátiť ich (B) v právnom poradí na správne miesta (C).

Zadanie, ktoré dostali museli riešiť sami, čo znamená, že nemali k dispozícii žiadnu navigačnú pomôcku - oranžovú šípku. V každom náhodne načítanom ostrove mali subjekty k dispozícii všetkých 25 predmetov na kamenných stĺpoch, z ktorých si predmety vyberali. Po prejdení jedného ostrova a odložení predmetov sa test pozastavil a na displeji sa zobrazilo odpočítavanie prestávky (10 sekúnd). Po vrátení všetkých 25 predmetov sa táto fáza skončila. Na záver testovania bol subjektom poskytnutý posledný dotazník na vyplnenie, v podobe otázok, ktorý slúžil ako spätná väzba ohľadom testovania.

Na **ovládanie testu** sa používala klávesnica a počítačová myš, rovnako ako pri fáze učenia. Vo fáze spätného vybavenia, bola hráčom prístupná aj funkcia prehliadania a zmeny poradia predmetov v inventári pomocou kolieska na počítačovej myši a pravé tlačidlo na myši, ktoré slúžilo na odkladanie predmetov. Experimentátor mal k dispozícii aktívnu klávesu Tab k náhodnému premiešaniu poradia zvolených predmetov v inventári. Po randomizácii poradia sa klávesou Enter potvrdil výber 5 predmetov a experimentátor viac nezasahoval do riešenia predloženej úlohy.

Na vytvorenie takéhoto typu virtuálneho prostredia sme použili, rovnako ako aj v oboch predchádzajúcich pilotných štúdiách, platformu na vývoj počítačových hier – Unity 5.5 (pre bližšie informácie: <https://unity3d.com>).

### 6.3 Výskumný súbor

Účastníkmi štúdie boli dobrovoľníci, ktorí museli spĺňať nasledujúce vstupné kritériá do začínajúcej štúdie:

- vek od 18 do 35 rokov,
- pravák/čka,
- žiadna diagnóza psychologického alebo neurodegeneratívneho ochorenia,
- ukončený stupeň vzdelania 3 (stredoškolské s maturitou) alebo 4 (univerzitné vzdelanie),
- absolvovanie iného oboru univerzitného vzdelania ako psychológia.

Štúdie sa zúčastnilo celkom 8 zdravých dobrovoľníkov (4 ženy, 4 muži) s priemerným vekom 24.8 ( $\pm 3.603$ ) rokov. Najmladší účastník štúdie mal 19 rokov a najstarší účastník 29 rokov. Univerzitné vzdelanie malo ukončených 7 z 8 dobrovoľníkov; level vzdelania 3 mal ukončený jeden dobrovoľník.

### 6.4 Spracovanie a analýza dát

V tejto štúdii sme spracovávali behaviorálne dáta (kognitívne vyšetrenie, VR) a dáta z vlastného merania fMRI (zahrňujúce aj spracovanie dát získaných pri odpovedi na predložené otázky počas funkčného merania). Kľúčovou súčasťou spracovania a analýzy dát bola parcelácia celého mozgu a následne i samotného hipokampu (pre každý testovaný subjekt samostatne) do jednotlivých podoblastí a výpočet objemu celého hipokampu ako anatomickej štruktúry v mozgu, ale aj objemu spomenutých podoblastí. Táto analýza predstavuje novú metodiku pri spracovaní dát v neurovednom výskume.

#### I. Behaviorálne dáta

**Behaviorálne dáta** zahrňovali výsledky na jednej strane z kognitívneho vyšetrenia, ktoré boli vyhodnotené jednoduchou deskriptívnou štatistikou v programe Microsoft Excel 2016. Takto spracované dáta sa neskôr použili v korelácii výkonu dosiahnutých výsledkov v testoch. Na druhej strane, dôležitejšími dátami boli pre nás tie, ktoré sme získali výsledkami testu fázy spätného vybavenia vo virtuálnej realite. Na spracovanie a analýzu tohto typu dát sme používali štatistický softvér STATISTICA 9.0. S ohľadom na počet subjektov sa použila neparametrická Friedmanova ANOVA (pre tri závislé vzorky; angl. multiple dependent sample) na analýzu zhody náročnosti jednotlivých ostrovov (5x) jednotlivých ostrovov medzi sebou a taktiež porovnanie jednotlivých podmienok (čo, kde, kedy).



Korelovali sme taktiež výkon v testoch (test vo VR a kognitívne testy) s celkovým objemom hipokampu (HPC) v oboch hemisférach. Behaviorálny výkon vo VR teste sme alej korelovali s konkrétnymi podoblasťami hipokampu. V oboch prípadoch bola použitá Pearsonova korelácia stanovením korelačného koeficientu.

## II. Dáta získané vlastným meraním fMRI

Analýza **dát získaných vlastným meraním fMRI** je zložitým viackrokovým procesom, na ktorý sme v tejto štúdií kládli najväčší dôraz. Na zobrazenie aktívneho neurobiologického substrátu v CNS, pre nami stanovené podmienky, musíme snímky najprv normalizovať a previesť ich do jednotného súradnicového systému, tzv. MNI priestoru, aby sme boli schopný zobrazit' BOLD signál charakteristický pre konkrétnu podmienku za výskumný súbor. Na úpravu snímok a následnú analýzu dát sme použili štatistické parametrické zobrazovanie (SPM12; angl. Statistical Parametric Mapping) - ide o softvér, ktorý pracuje spolu s programovacím jazykom MATLAB a umožňuje nám analyzovať získaný fMRI signál pre jednotlivé podmienky (Ashburner, 2012). Jedným z prvých krokov normalizácie snímok je ich priestorové spracovanie rozdelené do viacerých častí nasledovne:

- po úprave všetkých snímok do koordinát - x, y, z - na [0, 0, 0] podľa *Anterior Commissure (AC)* si pomocou funkcie „CheckReg“ môžeme funkčné i anatomické T1 snímky zobrazit' a skontrolovať správnosť nastavených koordinát u každého z testovaných subjektov (umožňuje nám to pohyb naprieč 3D zobrazením nasnímaného mozgu pomocou križa);
- ďalším základným krokom spracovania snímok je ich reorganizácia (angl. *realign & unwrap*) - tá nám umožňuje premiestniť (pohyb snímku v smere x, y, z) a otočiť (pozdĺž osy x, y, z) snímky tak, aby bol navzájom medzi 2 snímkami čo najmenší rozdiel; tento krok zahŕňa aj opravu vzniknutých deformácií pohybom subjektu počas vlastného merania;
- *MultibandEPI* sekvencia nám vytvára snímky celého mozgu za určitý repetičný čas ( $TR = 1000\text{ms}$ ), pri ktorom sú jednotlivé snímky vytvorené s určitým časovým oneskorením, preto je teda nutná úprava načasovania funkčnej série (angl. *slice timing*) a to pomocou  $TR$ ,  $TA$  (čas trvania od prvej po poslednú snímku) a poradia snímok;
- koregistrácia (angl. *coregister*) nám ako ďalší z krokov spája snímky odlišných modalít (tzn. funkčné a anatomické T1), čo je nevyhnutné pre následnú analýzu dát spojenú s vyhodnotením BOLD signálu;

- úlohou normalizácie je prevedenie snímok do MNI priestoru, ktorý je v SPM12 definovaný podľa templátu vytvoreného nelineárnou registráciou 152 anatomických T1 snímok; ide o zjednotenie segmentácie priestorovej normalizácie a jej korekcie;
- posledným krokom priestorového spracovania snímok je vyhladzovanie (angl. smoothing), ktoré spôsobuje rozmazanie funkčných snímok. Dôvodom rozmazania je korekcia zvyšných nepatrných rozdielov vo funkčných a anatomické snímkach u jednotlivých subjektov. Samotné vyhladzovanie je dosiahnuté sumáciou spriemerovaných voxelov, ktoré popisuje Gaussova krivka. Veľkosť Gaussovej krivky je daná plnou šírkou na polovičné maximum - FWHM (angl. Full Width at Half Maximum), ktorej veľkosť bola pri spracovaní dát v tejto štúdii nastavená na 8 mm.

Po priestorovom spracovaní snímok nasleduje štatistická analýza fMRI dát, ktorá je potrebná k vytvoreniu modelu očakávaného BOLD signálu, ktorý bol vykazovaný počas fMRI experimentu a následne odhaduje a testuje vhodnosť tohto modelu nezávisle od každého voxelu v mozgu špecifikáciou kontrastu. Štatistická analýza fMRI dát sa rozdeľuje do 2 stupňov. V prvom stupni analýzy sa štatisticky vyhodnocuje každý testovaný subjekt samostatne a špecifikuje sa model BOLD signálu. Druhý stupeň analýzy štatisticky vyhodnocuje výsledky (jedno výberovým t-testom) za celú skupinu v konkrétnej, sledovanej podmienke špecifikovanej kontrastom. Výsledkom takejto analýzy fMRI dát je zobrazenie aktívnych oblastí mozgu pre konkrétnu podmienku porovnaním kontrastov (v tejto štúdii: kontrast experimentálnych otázok voči kontrolným a jednotlivé experimentálne otázky kontrastované vzájomne).

### III. Parcelácia hipokampu

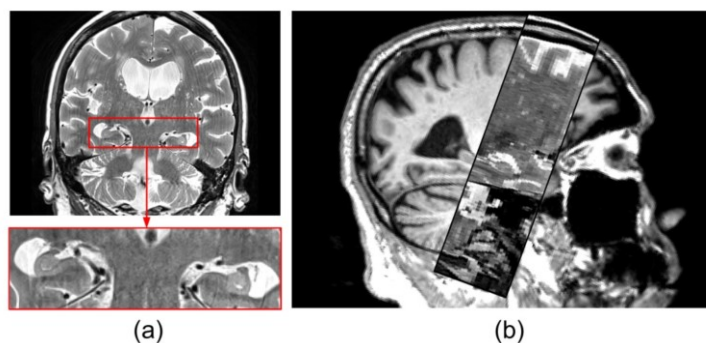
Posledná časť spracovania a analýzy dát tejto štúdie bola zameraná na stanovenie celkového objemu hipokampu a jeho **parceláciu** do jednotlivých podoblastí a zistenie objemu hipokampálnych štruktúr [v mm<sup>3</sup>]. Jednotlivé objemy sme korelovali s výkonom vo virtuálnom teste, ktoré sme neskôr korelovali s výkonom v kognitívnych testoch a úlohách, ktoré subjekty plnili vo virtuálnej realite.

Dáta boli získané MR skenerom Siemens Magnetom Prisma 3T, v 64-kanálovej hlavovej RF cievke. Parametre použitej sekvencie boli nastavené podľa MR protokolu HCP (angl. Human Connectom Project (McNab *et al.*, 2013) nasledovne:

Zobrazovacie parametre T1 sekvencie	Zobrazovacie parametre T2 sekvencie
3D T1-MPRAGE	3D T2-SPACE
TR/TI/TE = 2300/1000/2.34 ms	TR/TE = 3200/564 ms
Veľkosť voxelov: 0.7x0.7x0.7 mm <sup>3</sup>	Veľkosť voxelov: 0.7x0.7x0.7 mm <sup>3</sup>
FOV 223x223 mm, matrix 320x320, 240 rezov	FOV 223x223 mm, matrix 320x320, 240 rezov
Šírka pásma: 210 Hz/pixel	Šírka pásma: 745 Hz/pixel
iPAT=2	iPAT=2
Čas trvania: 7:37	Čas trvania: 7:47

Parcelácia hipokampu je viackrokovým procesom, ktorému taktiež predchádza istá normalizácia a spracovanie získaných dát pomocou programu FreeSurfer - súbor výkonných nástrojov na analýzu neurozobrazovacích dát, ktorý poskytuje rad algoritmov na kvantifikáciu funkčných, spojovacích a štrukturálnych vlastností ľudského mozgu (Fischl, 2012).

Parcelácia hipokampu spočívala v multispektrálnej segmentácii s použitím T1 a T2 snímok (Obr. 22). Segmentácii predchádzalo štrukturálne spracovanie snímok (*PreFreeSurfer* pipeline), ktorého úlohou je korekcia nelineárneho MR-gradientu indukovaného deformáciou. Pre ďalšiu analýzu je nevyhnutné, aby všetky snímky prešli takýmto štrukturálnym preprocessingom. Zásadným krokom je *FreeSurfer* pipeline, v ktorom dôjde k parcelácii celého mozgu do jednotlivých štruktúr a následne k parcelácii samotného hipokampu (bilaterálne) a jednotlivých hipokampálnych oblastí. Posledným krokom je výpočet objemu hipokampu a jeho podoblastí (Glasser *et al.*, 2013).



Obr. 22 | Zobrazenie segmentácie hipokampálnej oblasti podľa parametrov sekvencií T1 (a) a T2 (b) snímku (upravené podľa Iglesias *et al.*, 2015).

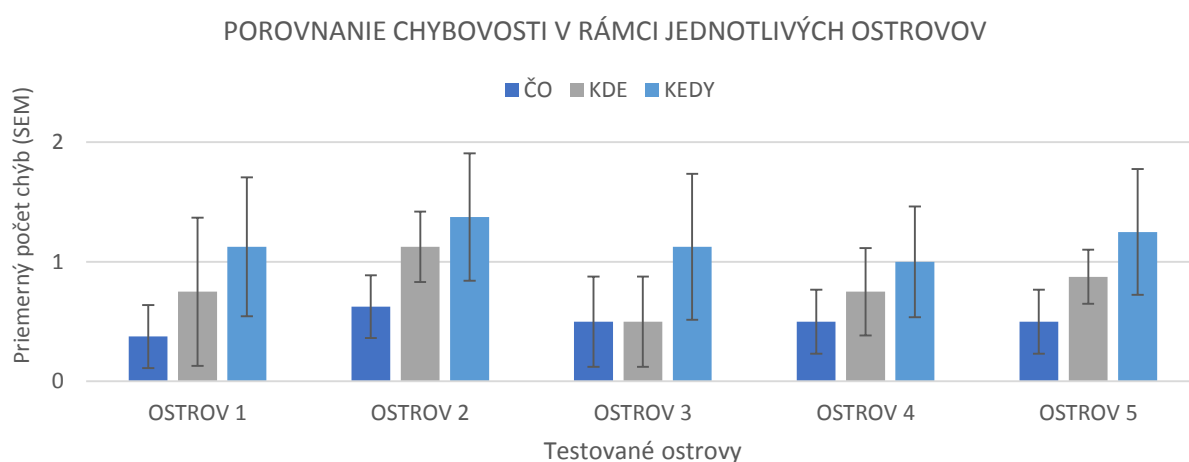
## 6.5 Výsledky

### I. Výsledky behaviorálnych dát

Vo virtuálnom teste sme sledovali chybovosť v jednotlivých podmienkach v rámci jednotlivých ostrovov (Obr. 23). Neparametrická Friedmanova ANOVA ukázala, že medzi jednotlivými ostrovmi nie je signifikantný rozdiel ani v jednej z podmienok, nasledovne:

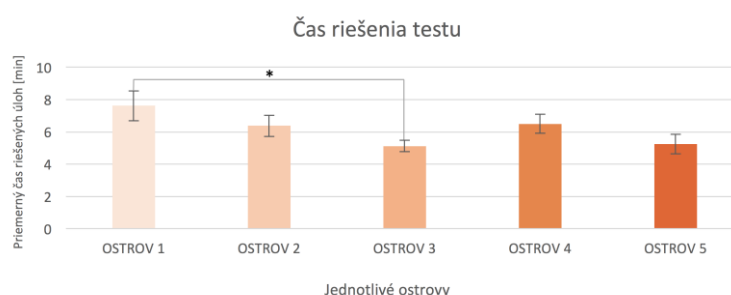
- podmienka ‚Čo?‘: ANOVA Chi Sqr. (N = 8, df = 4) = 0.919; p = 0.922
- podmienka ‚Kde?‘: ANOVA Chi Sqr. (N = 8, df = 4) = 4.650; p = 0.325
- podmienka ‚Kedy?‘: ANOVA Chi Sqr. (N = 8, df = 4) = 0.367; p = 0.985

Na základe chýbajúceho efektu prostredia (ostrovov) sme k ďalšej analýze využívali priemerné hodnoty chýb za jednotlivé ostrovy.



Obr. 23 | Grafické znázornenie chybovosti v jednotlivých ostrovoch so sledovanými podmienkami - čo, kde, kedy.

Neparametrickým párovým t-testom (Wilcoxon signed-rank test) sme medzi sebou porovnali čas riešenia úloh v rámci jednotlivých ostrovov. Signifikantný rozdiel (p = 0.027) sa vyskytoval v porovnaní času riešenia na ostrove 3 s ostrovom 1, ale tento výsledok nezostane signifikantný po korekcii pre opakované merania (Obr. 24).

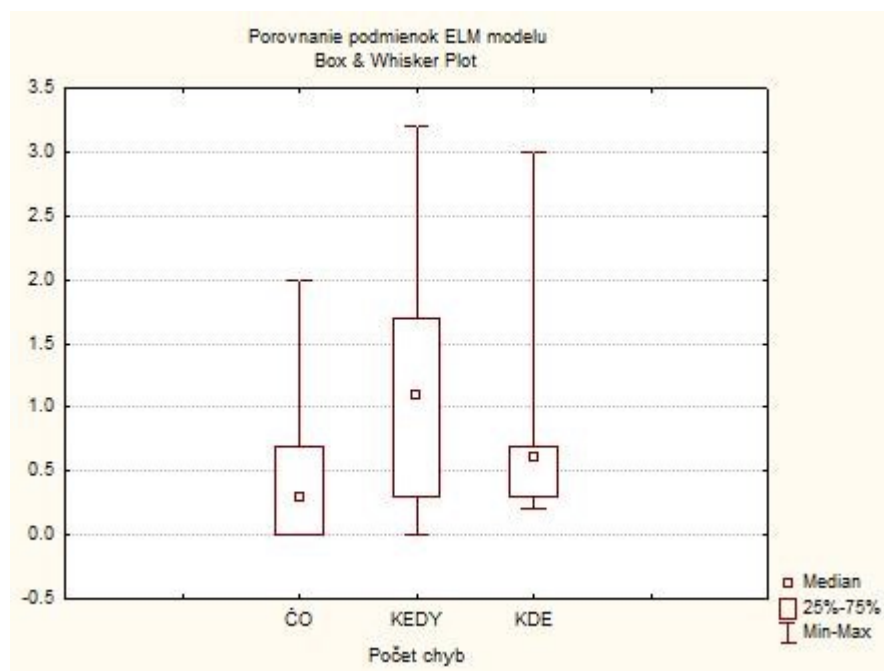


Obr. 24 | Priemerný čas riešenia testu rozdelený podľa jednotlivých ostrovov.

Porovnanie chybovosti v rámci sledovaných podmienok (co, kedy, kde) modelu ELM ukázalo signifikantný rozdiel (ANOVA Chi Kvadrát. (N = 8, df = 2) = 8.963; p = 0.011). Na základe toho sme testovali rozdiely medzi jednotlivými typmi podmienok s nasledujúcim výsledkom:

- porovnanie podmienky ‚Čo? - ‚Kde?‘: ANOVA Chi Sqr. (N = 8, df = 1) = 4.000; p = 0.046 (tento výsledok nie je signifikantný po korekcii pre opakované štatistické porovnanie)
- porovnanie podmienky ‚Čo? - ‚Kedy?‘: ANOVA Chi Kvadrát. (N = 8, df = 1) = 7.000; p = 0.008
- porovnanie podmienky ‚Kde? - ‚Kedy?‘: ANOVA Chi Kvadrát. (N = 8, df = 4) = 2.000; p = 0.157

Tieto výsledky spolu s grafickézom znázornenie poukazuje, že najvyššia chybovosť subjekti obsahovali v podmienke ‚Kedy?‘ a najnižšiu v podmienke ‚Čo?‘ (Obr. 25).



Obr. 25 | Porovnanie náročnosti jednotlivých podmienok modelu ELM.

**Behaviorálne dáta fMRI experimentu** majú celkovú úspešnosť 92.08% ( $\pm$  5.35). Úspešnosť priradená kategórii stimulačných obrázkov rozdelená podľa typu odpovede bola v otázkach, kde bol odpoveďou predmet bola 91.33% ( $\pm$  2.82) a v otázkach, kde bolo odpoveďou miesto bola 92.83% ( $\pm$  1.41). Najľahším typom otázky bola kontrolná otázka na konkrétny predmet, kde subjekty vykazovali až 99% úspešnosť. Najnižšia úspešnosť (85%) bola pozorovaná v experimentálnej otázke ‚Kedy?‘ s výberom predmetu (Tab. 5).

Tab. 5 | Zostupné zoradenie priemernej percentuálnej úspešnosti v fMRI experimente sledovaných podmienok na základe stimulačných obrázkov.

Priemerné % úspešnosť odpovedí		
1	K - ikona/predmet	99,00
2	E - čas/miesto	95,50
3	E - predmet/miesto	92,00
4	K - ikona/miesto	91,00
5	E - miesto/predmet	90,00
6	K - čas/predmet	85,00

K - kontrolná otázka; E - experimentálna otázka

Výsledky **korelácie výkonu v teste virtuálnej reality s výkonom v kognitívnych testoch** sú zobrazené v Tab. 6. Korelácie označené červeným písmom sú významné v hladine  $p < 0.05$ ; tzn. negatívny korelačný koeficient je najčastejší v korelácii testu virtuálnej reality s kognitívnym testom vizuálnej pamäti po časovom oddialení (kreslenie obrázku; RCFT).

Tab. 6 | Zobrazenie korelačných koeficientov porovnania výkonu v teste virtuálnej reality s výkonom v kognitívnych testoch zameraných na logickú a vizuálnu pamäť.

	LP	LP odd	VP odd
čo1	-0,3	-0,41	-0,59
kedy1	-0,29	-0,02	-0,57
kde1	-0,31	-0,22	-0,61
čo2	<b>-0,89</b>	-0,64	<b>-0,81</b>
kedy2	-0,64	-0,43	-0,55
kde2	-0,63	-0,03	-0,49
čo3	-0,48	-0,21	<b>-0,73</b>
kedy3	-0,22	-0,21	-0,65
kde3	-0,48	-0,21	<b>-0,73</b>
čo4	<b>-0,74</b>	-0,15	<b>-0,86</b>
kedy4	-0,68	-0,26	<b>-0,85</b>
kde4	-0,47	-0,05	<b>-0,79</b>
čo5	-0,37	0	-0,6
kedy5	-0,2	0,26	-0,37
kde5	0,16	0,57	-0,08

LP - Logická pamäť (Vabavenie poviedky)  
 LP\_odd - Logická pamäť po časovom oddialení (Vybavenie poviedky)  
 VP\_odd - Vizuálna pamäť (vybavenie figury)  
 čo1, ... - ,čo' značí podmienku modelu ELM, 1 - číslo ostrova

## II. Výsledky vlastného merania fMRI

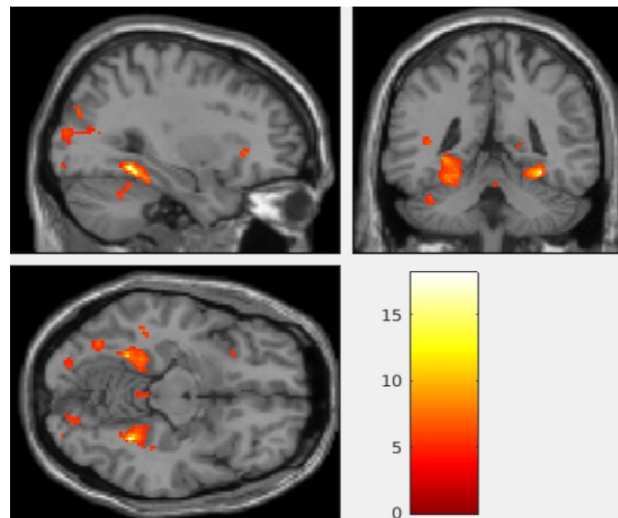
Výsledky vlastného merania fMRI sú po skupinovej analýze (jedno výberový t-test) všetkých 8 subjektov v nasledujúcej časti popísané podľa sledovaných podmienok. Vo všetkých sledovaných podmienkach je zobrazená aktivita tých oblastí mozgu, ktoré splňujú nastavenú úroveň nekorigovanej štatistickej významnosti ( $p = 0.001$ ) a presahujú prah počtu voxelov daného klastru ( $k \geq 20$ ).

Pri podmienke - ‚Čo?‘ (tzn. ‚Ktorý z predmetov sa nachádzal na tomto mieste?‘) bolo zastúpenie aktívnych oblastí mozgu bilaterálne. Aktívne oblasti sme zaznamenali najmä v oblasti temporálneho, okcipitálneho a frontálneho laloku (Tab. 7). Najrozsiahljšiu aktivitu vykazovala parahipokampálna oblasť mozgu (BA 19) (Obr. XY).

**Tab. 7** | Zvýšený BOLD signál v uvedených oblastiach CNS pri podmienke ‚Čo?‘ kontrastované voči kontrolnej podmienke.

Koordináty								
$p_{FWE-corr}$	$p_{uncorr}$	$k_E$	x [mm]	y [mm]	z [mm]	Hemisféra	Aktívna oblasť	BA
<b>0.000</b>	0.000	649	-28	-48	-8	lh	Parahippocampal gyrus/ Fusiform	19
<b>0.000</b>	0.000	463	36	-68	12	rh	Medial temporal gyrus	21
<b>0.000</b>	0.000	330	32	-48	-12	rh	Fusiform gyrus/ Fusiform	37
<b>0.000</b>	0.000	236	-36	-86	0	lh	Medial occipital gyrus	18
<b>0.000</b>	0.000	204	-18	-60	26	lh	Occipital lobe/ Cuneus	17
<b>0.009</b>	0.000	113	10	32	42	rh	Medial frontal gyrus	9

Threshold:  $T = 4.79$ ,  $p = 0.001$ ;  $k \geq 20$ ;  $p_{FWE-corr}$  - štatistická významnosť korigovaná na opakované merania (tučným písmom sú označené hladiny  $p < 0.05$ ),  $p_{uncorr}$  - nekorigovaná štatistická významnosť,  $k_E$  - veľkosť klastru, x/y/z - koordináty dané MNI priestorom, lh - ľavá hemisféra, rh - pravá hemisféra, BA - Brodmanova oblasť.



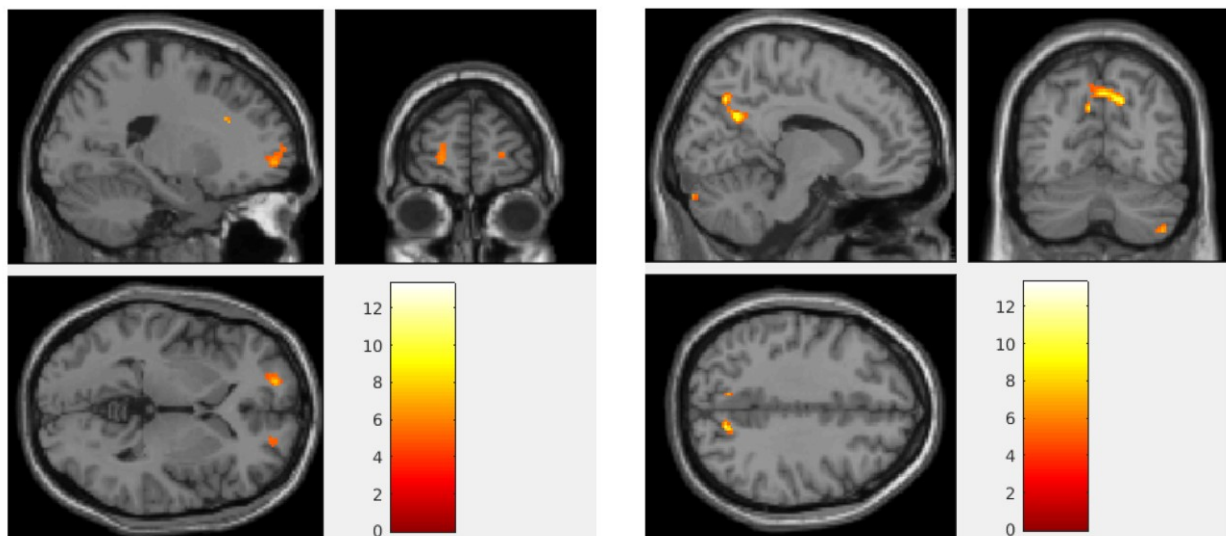
Obr. 25 | Aktivita parahipokampálnej oblasti v oboch hemisférach daná zvýšeným BOLD signálom pri podmienke ‚Čo?‘ - ‚Ktorý z predmetov sa nachádzala na tomto mieste?‘.

Pri podmienke - ‚Kde?‘ (tzn. ‚Na ktorom z miest ste zbierali tento predmet?‘) sa neurobiologický substrát v mozgu aktivoval taktiež bilaterálne. Aktívne oblasti sme opäť zaznamenali najmä v oblasti parietálneho laloku, frontálneho laloku a v oblasti mozočka (Tab. 8). Najrozsiahljšiu aktivitu vykazoval parietálny lalok v oblasti Precunea (BA 7) a mediálny frontálny lalok (BA 32, BA 11) (Obr. 26).

**Tab. 8** | Zvýšený BOLD signál v uvedených oblastiach CNS pri podmienke ‚Kde?‘ kontrastované voči kontrolnej podmienke.

Koordináty								
$p_{FWE-corr}$	$p_{uncorr}$	$k_E$	x [mm]	y [mm]	z [mm]	Hemisféra	Aktívna oblasť	BA
<b>0.000</b>	0.000	231	2	-70	44	rh	Parietal lobe/ Precuneus	7
<b>0.046</b>	0.001	88	40	-60	-52	rh	Cerebellum	-
<b>0.224</b>	0.008	56	-14	32	32	lh	Medial frontal gyrus	32
<b>0.424</b>	<b>0.018</b>	43	32	56	-12	rh	Medial frontal gyrus	11

Threshold:  $T = 4.79$ ,  $p = 0.001$ ;  $k \geq 20$ ;  $p_{FWE-corr}$  - štatistická významnosť korigovaná na opakované merania (tučným písmom sú označené hladiny  $p < 0.05$ ),  $p_{uncorr}$  - nekorigovaná štatistická významnosť,  $k_E$  - veľkosť klastru, x/y/z - koordináty dané MNI priestorom, lh - ľavá hemisféra, rh - pravá hemisféra, BA - Brodmanova oblasť.



Obr. 26 | Aktivita v oblasti mediálneho frontálneho gyru (vľavo) a v oblasti parietálneho laloku - precuneus (vpravo) daná zvýšeným BOLD signálom pri podmienke ‚Kde?‘ (tzn. ‚Na ktorom z miest ste zbierali tento predmet?‘). Snímok vpravo označuje aj aktivitu v mozočku.

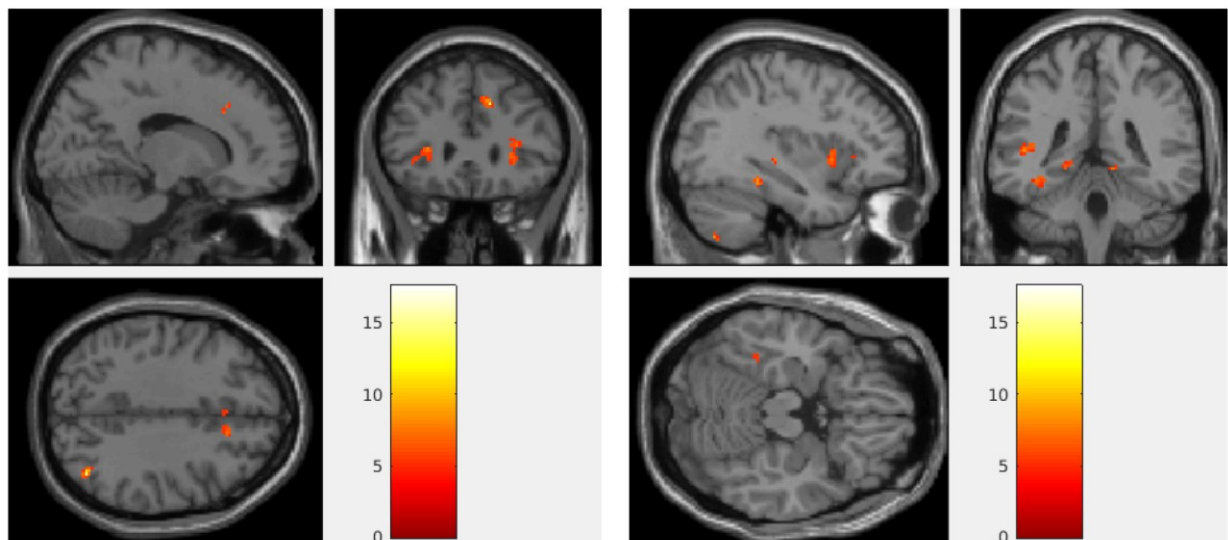


Pri podmienke - ‚Kedy?‘ (tzn. ‚Ktorý z predmetov ste zbierali skôr?‘) sa neurobiologický substrát bilaterálne aktivoval v oblastiach mozgu rovnako ako pri podmienkach ‚Čo?‘ a ‚Kde?‘ (čo sa týka mozgových lalokov) (Tab. 9). Najrozsiahljšia aktivita bola v oblasti mediálneho frontálneho gyru v oblasti cingula, temporálneho gyru, fusiformného gyru a bilaterálne v parahipokampálnej oblasti (Obr. 27).

**Tab. 9** | Zvýšený BOLD signál v uvedených oblastiach CNS pri podmienke ‚Kedy?‘ (s otázkou na predmet) kontrastované voči kontrolnej podmienke.

Koordináty								
p <sub>FWE-corr</sub>	p <sub>uncorr</sub>	k <sub>E</sub>	x [mm]	y [mm]	z [mm]	Hemisféra	Aktívna oblasť	BA
<b>0.005</b>	0.000	119	14	28	38	rh	Frontal lobe/ Medial frontal gyrus	9
<b>0.015</b>	0.000	99	40	-70	38	rh	Parietal lobe/ Angular gyrus	39
0.051	0.001	76	-46	-38	6	lh	Temporal lobe/ Superior temporal gyrus	13
0.090	0.003	66	-28	28	8	lh	Frontal lobe/ Insula	45
0.601	0.026	32	12	-40	6	lh, rh	Limbic lobe/ Parahippocampal gyrus	30
0.687	0.032	29	-36	-38	-12	lh	Parietal lobe/ Fusiform gyrus	37
0.687	0.032	29	-16	-78	30	lh	Occipital lobe/ Cuneus	18
0.895	0.063	21	-34	-68	-52	lh	Cerebellum	-

Threshold:  $T = 4.79$ ,  $p = 0.001$ ;  $k \geq 20$ ;  $p_{FWE-corr}$  - štatistická významnosť korigovaná na opakované merania (tučným písmom sú označené hladiny  $p < 0.05$ ),  $p_{uncorr}$  - nekorigovaná štatistická významnosť,  $k_E$  - veľkosť klastru, x/y/z - koordináty dané MNI priestorom, lh - ľavá hemisféra, rh - pravá hemisféra, BA - Brodmannova oblasť.



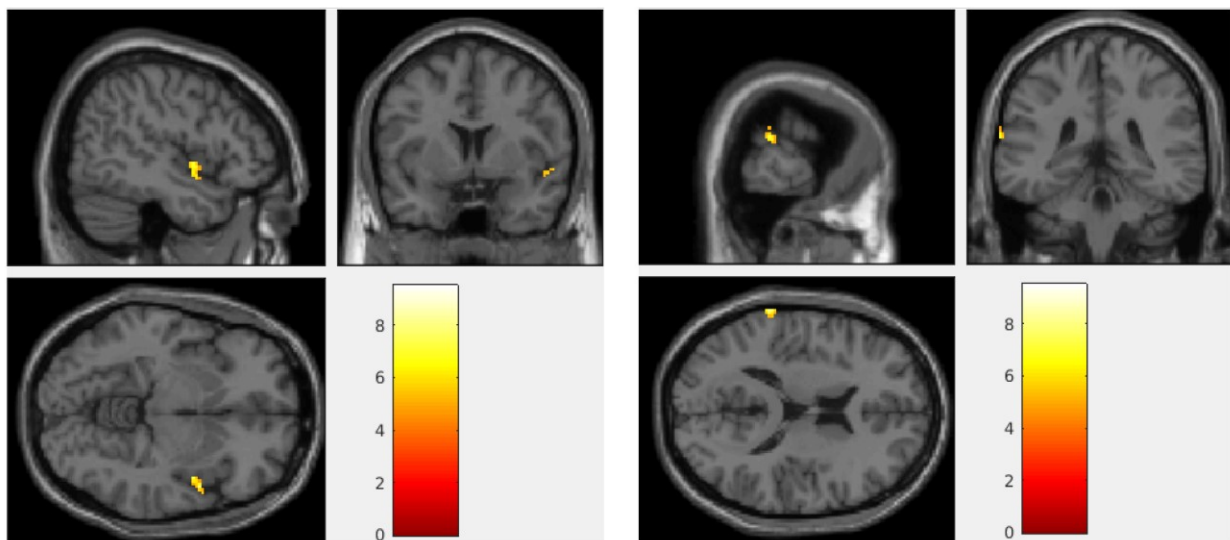
Obr. 27 | Zobrazenie aktívneho neurobiologického substrátu pre podmienku ‚Kedy?‘. Aktivita mediálneho frontálneho laloku v oblasti cingula (vľavo) a aktivita temporálneho gyru, fusiformného gyru a bilaterálne v parahipokampálnej oblasti (vpravo).

Pri podmienke - **„Kedy?“**, kde sme porovnávali dve experimentálne otázky voči sebe (tzn. otázka na miesto a otázkou na predmet) vykazoval aktivitu temporálny lalok (Tab. 10; Obr. 28).

**Tab. 10** | Zvýšený BOLD signál v uvedených oblastiach CNS v porovnaní podmienok **„Kedy?“** (s otázkou na miesto) kontrastované voči experimentálnej otázke **„Kedy?“** (s otázkou na predmet).

Koordináty								
$p_{FWE-corr}$	$p_{uncorr}$	$k_E$	x [mm]	y [mm]	z [mm]	Hemisféra	Aktívna oblasť	BA
0.277	0.010	51	50	4	-8	rh	Temporal lobe/Superior temporal gyrus	38
0.618	0.030	34	-68	-34	14	lh	TemporallLobe/Superior temporal gyrus	22

Threshold:  $T = 4.79$ ,  $p = 0.001$ ;  $k \geq 20$ ;  $p_{FWE-corr}$  - štatistická významnosť korigovaná na opakované merania (tučným písmom sú označené hladiny  $p < 0.05$ ),  $p_{uncorr}$  - nekorigovaná štatistická významnosť,  $k_E$  - veľkosť klastru, x/y/z - koordináty dané MNI priestorom, lh - ľavá hemisféra, rh - pravá hemisféra, BA - Brodmanova oblasť.

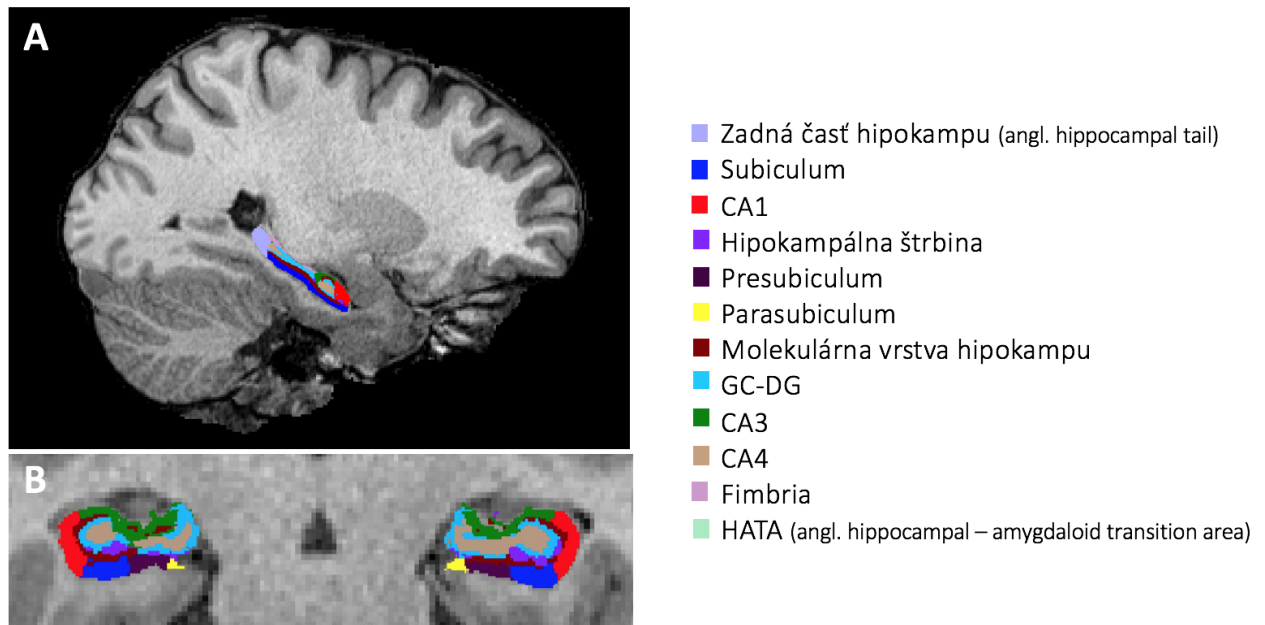


Obr. 28 | Zobrazenie aktívneho neurobiologického substrátu pri porovnaní dvoch experimentálnych otázok voči sebe v podmienke **„Kedy?“** (s otázkou na miesto a s otázkou na predmet) v oblasti insuly (vľavo) a superiorného temporálneho gyru (vpravo).

Pri podmienke - **„Kedy?“** (tzn. „Ktoré z miest ste navštívili skôr?“) sme neidentifikovali žiaden signifikantný nález. Rovako sme nenašli žiaden signifikantný nález pri podmienky **„Kde?“** - v prípade, že kontrastovanie xperimentálnej otázky **„Čo?“** s experimentálnou otázkou **„Kde?“**.

### III. Výsledky parcelácie hipokampu

Vizuálne zobrazenie výsledkov parcelácie hipokampu do jednotlivých 12 podoblastí (chvost hipokampu, subiculum, CA1, hipokampálna štrbina, presubiculum, parasubiculum, molekulárna vrstva hipokampu, GC-DG, CA3, CA4, fimbria, HATA) a vyzerá nasledovne (Obr. 29):



Obr. 29 | Vizuálne zobrazenie parcelácie hipokampu do 12 podoblastí. (A) - sagitálny rez mozgom s farebne odlišeným parcelovaným hipokampom; (B) - detailné priblíženie koronálneho rezu mozgu.

Pearsonova korelácia výkonu (chybovosti) v jednotlivých podmienkach modelu ELM voči objemu celého hipokampu ukázala očakávaný negatívny korelačný vzťah v oboch hemisférach. Signifikantný bol však len korelačný koeficient u podmienky ‚Čo?‘. U štandardných kognitívnych testov, kde je hodnotený výkon v podobe pozitívnych skórov sme identifikovali očakávané pozitívne korelácie, významné však boli iba v prípade okamžitého vybavenia poviečky a oddialeného vybavenia figúry. Detailné výsledky sú znázornené v Tab.11.

Tab. 11 | Korelačné koeficienty znázorňujúce vzťah výkonu v jednotlivých podmienkach VR testu a štandardných kognitívnych testoch k objemu celého hipokampu v oboch hemisférach.

TEST	lhHPC	rhHPC
Čo	<b>-0,829515</b>	<b>-0,829515</b>
Kde	-0,540131	-0,626061
Kedy	-0,357143	-0,380952
PoviedkaK	<b>0,826362</b>	<b>0,886243</b>
Poviedka ODD	0,601510	0,552407
ZoznamSlov	0,687440	0,687440
ZoznamSlov ODD	0,343661	0,343661
Figúra ODD	<b>0,747042</b>	<b>0,747042</b>

U podmienky CO, ktorá ako jediná preukázala významnú koreláciu voči objemu hipokampu sme sa pozreli aj na efekt jednotlivých ostrovov (viď. náväznosť na Výskumnú hypotézu 2). Z výsledkov vyplýva, že hoci takmer všetky ostrovy vykazujú strednú až silnú negatívnu koreláciu, významné sú len u ostrovov 2-4. Naopak ostrov 5, ktorý predstavuje najrecentnejšiu spomienku, vykazuje koreláciu veľmi nízku (Tab. 12).

Tab. X12 | Korelačné koeficienty znázorňujúce vzťah výkonu v podmienke „Čo?“ VR testu v rámci jednotlivých ostrovov k objemu celého hipokampu v oboch hemisférach.

ČO (poradie ostrovov)	lhHPC	rhHPC
1	-0,514371	-0,514371
2	<b>-0,912871</b>	<b>-0,912871</b>
3	<b>-0,732589</b>	<b>-0,732589</b>
4	<b>-0,728561</b>	<b>-0,728561</b>
5	-0,151211	-0,151211

Legenda: tučne vyznačené korelačné koeficienty sú významné na hladine 0.05; červené vyznačené hodnoty sú významné na hladine korigovanej pre opakované štatistické merania ( $p < 0.005$ ).

Po korelacii objemu [v mm<sup>3</sup>] vybraných hipokampálnych podoblastí v ľavej a pravej hemisfére (CA1, CA3) s výkonom v jednotlivých podmienkach testu vo virtuálnej realite bola na hladine 0.05 významná len korelácia u podmienky ČO (Tab. 13).

Tab. 13 | Korelačné koeficienty pre jednotlivé podmienky vo vzťahu ku vybraným hipokampálnym podoblastiam v ľavej a pravej hemisfére mozgu.

ELM podmienka	rhCA1	rhCA3	lhCA1	lhCA3
Čo	<b>-0,756323</b>	<b>-0,902708</b>	<b>-0,853913</b>	-0,561143
Kde	-0,405099	-0,478753	-0,331444	-0,306893
Kedy	-0,309524	-0,452381	-0,333333	-0,238095

## 6.6 Diskusia

Výsledky behaviorálnych dát tejto štúdie sú v súlade s nálezom predošlej Pilotnej štúdie 2, ktorá podobne poukázala na odlišnú náročnosť v zapamätateľnosti a vybavení si jednotlivých podmienok testovaného modelu ELM. Potvrdila sa nám tak prvá hypotéza, ktorá tvrdí, že najťažšie zapamätateľnou bude podmienka časová, a naopak najľahšia podmienka zaoberajúca sa identitou predmetu. Pri debriefingu subjektov po ukončení experimentu bola prekvapivo za najťažšiu podmienku označená podmienka ČO - výber správnych predmetov na začiatku fázy spätného vybavenia. To by mohlo byť spôsobené napríklad tým, že výber predmetov prebiehal (na rozdiel od Pilotnej štúdie 2) z celkového počtu zbieraných predmetov (25x). Ďalším možným vysvetlením môže byť, že s ohľadom na náročnosť tejto podmienky jej subjekty venovali viac pozornosti, čo viedlo k zvýšenej úspešnosti.

Predpokladali sme (Výzk.hyp 2), že prvý a posledný ostrov bude vybavovaný s najmenším počtom chýb. Tento predpoklad sa nám však nepotvrdil, všetky ostrovy vykazovali približne podobný počet chýb v jednotlivých podmienkach.

Následné fMRI meranie sme použili k identifikácii neuronálneho substrátu zodpovedného za vybavenie informácií odpovedajúcim jednotlivým podmienkam ELM modelu. Predpokladali sme, že všetky 3 kľúčové informácie (Čo? – Kde? – Kedy?) budú aktivovať štruktúry ľavého hipokampu a mediálnej prefrontálnej kôry, ktoré súvisia s vybavovaním epizodických informácií (Maguire, 2001). Tento predpoklad sa nám potvrdil len čiastočne, keďže aktivitu mediálnej prefrontálnej kôry (mediálny frontálny gyrus) sme identifikovali u všetkých sledovaných podmienok v kontraste s kontrolnou otázkou. Táto aktivácia je pravdepodobne spojená nielen s vybavovaním kontextuálnych informácií o minulých udalostiach z pamäti ale aj s procesom rozhodovania (Euston *et al.*, 2012). Naopak u žiadnej podmienky sme neidentifikovali aktivitu hipokampu. Túto chýbajúcu aktivitu by bolo možné vysvetliť nadštandardne dobrým výkonom participantom behom testovania v fMRI (92%). To nasvedčuje tomu, že participant sa naučili jednotlivé epizódy takmer s maximálnou presnosťou a ich vybavovanie tak nevyžadovali rekonsolidáciu.

Pri testovaní jednotlivých podmienok sme očakávali čiastočne odlišnú neuronálnu sieť. U podmienky ‚Čo?‘ sme predpokladali predovšetkým aktiváciu štruktúr ventrálnej vizuálnej dráhy. Tento predpoklad sa nám potvrdil, keďže sme našli zvýšenú aktiváciu parahipokampálneho gyru, fusiformného gyru a cunea. Tento nález je v súlade so štúdiou Dickerson a Eichenbaum (2010), ktorá ukázala podobnú aktiváciu v prípade vizuálne prezentovaných stimulov; alebo štúdiou Maguire a Mummare (1999), ktorá ukázala aktivitu ľavého parahipokampálneho gyru

a anterolaterálneho temporálneho kortexu pri spätnom vybavení minlých udalostí. U podmienky ‚Kde?‘ sme naopak očakávali aktiváciu dorzálneho vizuálneho toku (Goodale a Milner, 1992), aj tento predpoklad sa nám potvrdil, keďže sme identifikovali aktiváciu v oblasti parietálneho laloku. Napokon u podmienky ‚Kedy?‘ sme očakávali najmä aktiváciu štruktúr frontálneho laloku v súlade s predošlými štúdiami, napr. Milner, 1971. Tento predpoklad sa nám potvrdil len čiastočne.

Na záver nás zaujímalo, aký je vzťah medzi výkonom v pamäťových úlohách zameraných na vizuálnu, sémantickú alebo epizodickú pamäť a objemom hipokampálnej formácie. Predpokladali sme, že výkon v testoch bude pozitívne korelovať s celkovým objemom hipokampu (HPC), a tiež s objemom jednotlivých HPC štruktúr (CA1, CA3) Túto hypotézu sa nám podarilo potvrdiť u štandardných kognitívnych testov. U experimentálneho testu epizodickej pamäti vo VR sme tiež našli očakávanú negatívnu koreláciu s chybovosťou v úlohe, ktorá však bola významná len v prípade podmienky ‚CO, naopak u podmienky KEDY bola táto korelácia veľmi slabá. Pri podrobnejšej analýze sme tiež zistili, že korelácia u podmienky CO je najsilnejšia u ostrovov so stredne dlhou dobou oddialenia (2-4) a naopak, extrémne slabá je korelácia voči najrecentnejšie vybavovanému (poslednému) ostrovu (5).

Náš nález porovnateľnej miery korelácie medzi objemom pravého a ľavého hipokampu s výkonom v jednotlivých tesových metódach tiež poukazuje na neprítomnosť lateralizácie hipokampu vo vzťahu k modalite úlohy (verbálna vs. vizuopriestorová) alebo typu pamäťového procesu (sémantický vs. epizodický).

## 7 Záver

Epizodická pamäť ako nesmierne komplexný systém je často skúmaná v zjednodušenom modeli pamäti epizodického typu. Tento model je založený na učení a vybavovaní spomienok v kontextuálnom rámci obsahujúcom 3 základné komponenty: čo, kde, kedy.

Výsledkom diplomovej práce je vývoj nového, ekologicky validného testu, ktorý sa zameriava na jednotlivé komponenty pamäti epizodického typu. Princípom tejto úlohy je zbieranie predmetov z predurčených miest v komplexnom virtuálnom prostredí, vo vopred stanovenom poradí. Výslednej podobe virtuálneho testu prezentovaného v diplomovej práci predchádzalo:

- 1) vytvorenie úloh s narastajúcou náročnosťou v dvoch odlišných prostrediach (štruktúrované vs. neštruktúrované prostredie) a ich následnom porovnaní;
- 2) rozšírenie pôvodného modelu obsahujúceho iba dve komponenty (,Kedy?', ,Kde?') o komponentu identity predmetov (,Čo?').

Behaviorálne dáta nám ukázali, že náročnosť jednotlivých komponent testovaných vo virtuálnej úlohe nie je porovnateľná. Potvrdili sme, že z pohľadu spätnej vybaviteľnosti je najťažšie vybaviteľná časová podmienka - ,Kedy?', zatiaľ čo najjednoduchšia je naopak podmienka ,Čo?' - identita predmetov. Porovnanie štruktúrovaného a neštruktúrovaného prostredia ukázalo, že dobre štruktúrované prostredie uľahčuje zapamätávanie priestorovej komponenty ,Kde?'.

Po kognitívnych pilotných experimentoch nasledovala fMRI úloha. Pre tento experiment sme pripravili novú úlohu v prostredí otvorených ostrovov. Výhodou je tohto usporiadania je, že oproti pilotným štúdiám nie sme limitovaný uzavretým prostredím, ale subjekt sa pohybuje v rozsiahlom prostredí tvorenom sériou ostrovov. Tieto ostrovy majú rovnaký pôdorys a sú preto vzájomne porovnateľné. Ďalšou výhodou úlohy je to, že obsahuje audiovizuálny komplex, ktorý umožňuje časové aj priestorové odlišenie jednotlivých ostrovov. Tento experiment sa skladal z 3 fáz: fáza učenia, vyšetrenie magnetickou rezonanciou (oddialené vybavenie naučených informácií s výberom z 2 možností) a fáza spätného vybavenia vo virtuálnom prostredí s odkladaním predmetov.

Neurobiologické dáta získané prostredníctvom fMRI úlohy ukazujú, že okrem spoločného neuronálneho substrátu epizodickej pamäti, existujú do istej miery odlišné mozgové štruktúry zodpovedné za vybavenie jednotlivých komponent modelu pamäti epizodického typu. Komponenta ,Čo?' aktivuje navyše oblasti ventrálneho vizuálneho toku (predovšetkým



parahipokampálny a fusiformný gyrus) spojeného s vybavovaním identity objektov. Naopak komponenta ‚Kde?‘ aktivuje najmä parietálne oblasti dorzálneho vizuálneho toku, spojeného s identifikáciou priestorovej lokácie a pohybu. Časová komponenta ‚Kedy?‘ vykazovala podľa predpokladov vyššiu aktiváciu frontálnych oblastí. Napriek naším očakávaniám sme nenašli hipokampálnu aktiváciu v priebehu vybavovania pravdepodobne v dôsledku dobre uložených informácií, ktoré tak nevyžadovali ďalšie učenie. Naopak všetky komponenty aktivovali štruktúry mediálnej prefrontálnej kôry spojenej s vybavovaním kontextu dlhodobých spomienok a rozhodovaním.

Doplňková analýza využívajúca novú metódu parcelácie mozgu a následne hipokampu pre stanovenie objemu jednotlivých podoblastí a celého hipokampu ukázala, že podobne ako u iných pamäťových testov aj epizodická pamäť koreluje s objemom hipokampu. Detailnejšia analýza poukázala na: 1) chýbajúcu lateralizáciu hipokampu v našej úlohe, 2) najsilnejší vzťah objemu hipokampu v podmienke ‚Čo?‘, 3) oslabenú mieru korelácie u najrecentnejšie naučených informácií.

Vytvorili sme úlohu, vhodnú k testovaniu pamäti epizodického typu, ktorú je možno použiť nielen pre štúdium neuronálneho substrátu, ale i k ďalšiemu vývoju klinicky aplikovateľných nástrojov.

## 8 Literatúra

- Aguirre G. K., D'Esposito M. (1997). Environmental knowledge is subserved by separable dorsal /ventral neural area. *Journal of Neuroscience*. 17: 2512–2518.
- Allen T. A., Fortin N. J. (2013) The evolution of episodic memory. *PNAS*. 110: 10379-10386.
- Amaro Jr. E. Barker Jr. G. J. (2006) Study design in fMRI: Basic principles. *Brain and Cognition*. 60: 220-232.
- Artola, A., Broecher, S., Singer, W. (1990) Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature*. 347: 69-72.
- Ashburner J. (2012) SPM: A history. *Neuroimage*, 62: 791-800.
- Bailey, C. H., Bartsch. D., Kandel, E. R. (1996) Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93: 13445-13452.
- Bliss, T. V. P., Lomo, W. T. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol*. 232: 331-356.
- Boesch Ch. (1999) Molecular aspects of magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Molecular aspects of medicine*. 20: 185-318.
- Brown M. W., Aggleton J. P. (2001) Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and the hippocampus? *Nat Rev Neurosci*. 2: 51-61.
- Bruel-Jungerman E., Davis S., Laroche S. (2007) Brain plasticity mechanism and memory: A party of four. *The Neuroscientist*. 13: 492-505.
- Buckner, R. L. (1998) Event-related fMRI and the hemodynamic response. *Hum. Brain Mapp*. 6: 373-377.
- Buchanan T. W., Lutz K., Mirzazade S., Specht K., Shah N. J., Zilles K., Jäncke L. (2000) Recognition of emotional prosody and verbal components of spoken language: An fMRI study. *Brain Res*. 9: 227–238.
- Burgess N., Maguire E. A., Spiers H. J., O'Keefe J. (2001) A temporoparietal and prefrontal network for retrieving the spatial context of lifelike events. *Neuroimage*. 14: 439–453.

- Burwell R. D., Witter M. P., Amaral D. G. (1995) Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: a review of the neuroanatomical literature and comparison with findings from the monkey brain. *Hippocampus*. 5: 390-408.
- Buxton R. B., Uludag K., Dubowitz D. J., Liu, T. T. (2004) Modeling the hemodynamic response to brain activation. *NeuroImage*. 23: 220–233.
- Buxton R. B., Wong E. C., Frank L. R. (1998) Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: The balloon model. *Magnetic resonance in Medicine*. 39: 855-864.
- Cabeza R., Nyberg L. (2000) Imaging cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI studies. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 12: 1-47.
- Chapman, P. F., Kairiss, E. W., Keenan, C. L., Brown T. H. (1990) Long-term potentiation in the amygdala. *Synapse*. 6: 271-278.
- Cheke L.G., Clayton N. S. (2017) Do different tests of episodic memory produce consistent results in human adults? *Learning & Memory*. 20: 491-498.
- Clayton N. S., Dickinson A. (1998) Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature*. 395: 272-4.
- Conway M. A. (2005) Memory and the self. *Journal of Memory and Language*. 53: 594–628.
- Conway M. A. (2009) Episodic memories. *Neuropsychologia*. 47: 2305-2313.
- Detre J. A., Zhang W., Roberts D. A., Silva A. C., Williams D. S., Grandis D. J., Koretsky A. P., Leigh J. S. (1994) Tissue specific perfusion imaging using arterial pin labeling. *NMR Biomed*. 7: 75-82.
- Dickenson B. C., Eichenbaum H. (2010) The episodic memory system: Neurocircuitry and disorders. *Neuropsychopharmacology*. 35: 86-104.
- Donaldson D. I., Petersen S. E., Ollinger J. M., Buckner R. L. (2001) Dissociating state and item components of recognition memory using fMRI. *NeuroImage*. 13: 129–142.
- Dudai Y. (2012) The restless engram: Consolidation never end. *Annu Rev Neurosci*. 35: 227-247.
- Dudek, S. M., Bear, M. F. (1992) Homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus and the effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 4363-4367.

- Eichenbaum H. (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat. Rev Neurosci.* 1: 41-50.
- Eichenbaum H. (2008) The neural basis of learning and memory. In: *Learning and Memory*, Durbin J. (ed.), W. W. Norton & Company, Inc., New York, USA, pp. 58-60.
- Eichenbaum H., Yonelinas A. P., Ranganath C. (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci.* 30: 123-152.
- Eichenbaum H. (2013) Memory on time. *Trend Cog Sci.* 17:81-88.
- Eichenbaum H. (2014) Time cells in the hippocampus: a new dimension for mapping memories. *Nat Rev Neurosci.* 15: 732-744.
- Eichenbaum H. (2017) Prefrontal-hippocampal interaction in episodic memory. *Nature.* June, 2017 [Epub ahead of print]
- Euston D. R., Gruber A. J., McNaughton B. L.(2012) The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron.* 76:1057-70.
- Fox M. D., Greicius M. (2010) Clinical applications of resting state functional connectivity. *Front Syst Neurosci.* 4: 19.
- Fox P. T., Raichle M. E. (1996) Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83: 1140-1144.
- Friston K. J., Jezzard P., Turner R. (1994) Analysis of functional MRI time-series. *Hum. Brain Mapp.* 1: 153-171.
- Fromholt P., Larsen S. F. (1991) Autobiographical memory in normal aging and primary degenerative dementia (dementia of Alzheimer type). *J Gerontol.* 46: 85-91.
- Gilber P. E., Kesner R. P. (2003) Localization of function within the dorsal hippocampus: The CA3 subregion in paired-associative learning. *Behav Neurosci.* 117: 1385-1394.
- Gilboa, A. (2004). Autobiographical and episodic memory—one and the same?: Evidence from prefrontal activation in neuroimaging studies. *Neuropsychologia.* 42: 1336-1349.
- Glasser M. F., Sotiropoulos S. N., Wilson A., Coalson T. S., Fischl B., Andersson J. L., Xu J., Jbabdi S., Webster M., Polimeni J. R., Van Essen D. C., Jenkinson M. (2013) The minimal preprocessing pipelines for the human connectome project. *Neuroimage.* 80: 105-124.

- Gore, J. C. (2003) Principles and practise of functional MRI of the human brain. *J. Clin. Invest.* 112: 4-9.
- Gómez-Isla T., Price J. L., McKeel Jr. D. V., Morris J. C., Growdon J. H., Hyman B. T. (1996). *The Journal of Neuroscience.* 16: 4491-4500.
- Gruart A., Delgado-Gracia J. M. (2007) Activity-dependent changes of the hippocampal CA3-CA1 synapse during the acquisition of the associative learning in conscious mice. *Genes, Brain and Behaviour.* 6: 24-31.
- Henderson N. G. (1983) Nuclear magnetic resonance imaging: A review. *Journal of the Royal Society of Medicine.* 76: 206-212.
- Howseman A. M., Bowtell R. W. (1999) Functional magnetic resonance imaging: imaging techniques and contrast mechanism. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 354: 1179-1194.
- Hu X., Yacoub E. (2013) The story of initial dip in fMRI. *Neuroimage.* 62: 1103-1108.
- Janz C., Speck O., Hennig J. (1997) Time resolved measurements of brain activation after a short visual stimulus: new results on the physiological mechanism of the cortical response. *NMR Biomed.* 10: 222-229.
- Iglesias J. E., Augustinack J. C., Nguyen K., Player A., Wright M., Roy N., Frosch M. P., McKee A. C., Wald L. L., Fischl B., Van Leemput K. (2015) A computational atlas of hippocampal formation using ex vivo, ultra-high resolution MRI: Application to adaptive segmentation of in vivo MRI. *Neuroimage.* 115: 117-37.
- Kiehl K. A., Liddle P. F., Hopfinger J. B. (2000) Error processing and the rostral anterior cingulate: An event-related fMRI study. *Psychophysiology,* 37: 216–223.
- Kopelman M. D. (2002) Disorders of memory. *Brain.* 125: 2152-90.
- Kruggel F., von Cramon D. Y. (1999) Temporal properties of the hemodynamic response in functional MRI. *Hum. Brain Mapp.* 8: 259–271.
- Kurylo M., Templee R., Elliot T. R., Crawford D. (2001) Key Auditory Verbal Learning Test (AVLT) Performance in Individuals With Recent-Onset Spinal Cord Injury. *Rehabilitation Psychology,* 46: 247-261.
- Kwong K. K., Belliveau J. W., Chesler D. A., Goldberg I. E., Weisskoff R. M., Poncelet B. P., Kennedy D. N., Hoppel B. E., Cohen M. S., Turner R., Cheng H. M., Brady T. J., Rosen B. R. (1992) Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 5675-5679.

- Leavitt, V. M., Goldberg, T. E. (2009) Episodic Memory in Schizophrenia. *Neuropsychology Review*, 19: 312-323.
- Logothetis N. K. (2002) The neural basis of the blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging signal. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 357: 1003-1037.
- Maguire E. A., Henson R. N., Mummery C. J., Frith C. D. (2001) Activity in right prefrontal cortex, but not hippocampus, varies parametrically with the increasing remoteness of memories. *12*: 441-444.
- Manns J. R., Eichenbaum H. (2006) Evolution of declarative memory. *Hippocampus*. 16: 795-808.
- Maren S., Baudry M. (1995) Properties and mechanism of long-term synaptic plasticity in the mammalian brain: Relationships to learning and memory. *NEurobiology of learning and memory*. 63: 1-18.
- Matthew P. M., Jezzard P. (2004) Functional magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 75: 6-12.
- Menon R. S., Ogawa S., Hu X., Strupp J. P., Anderson P. Ugurbil K. (1995) BOLD based functional MRI at 4 tesla includes a capillary bed contribution: echo-planar imaging correlates with a previous optical imaging using intrinsic signals. *Magn. Res. Med.* 33: 453-459.
- Meyers J. E., Meyers K. R. (2007) Rey complex figure test under four different administration procedures. *The Clinical Neuropsychologist*. 9: 63-67.
- Montoya A., Pelletier M., Menear M., Duplessis E., Richer F., Lepage M. (2006) Episodic memory impairment in Huntington's disease: A meta-analysis. *Neuropsychologia*. 44: 1984-1994.
- Mulkey, R. M., Malenka R. C. (1992) Mechanism underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*. 9: 967-975.
- Naya Y. (2016) Declarative association in the perirhinal cortex. *Neuroscience research*.
- Naya Y., Suzuki W. A. (2011) Integrating what and when across the primate medial temporal lobe. *Science*. 333: 773-776.
- NcNab J. A, Edlow B. E, Thomas Witzel T., Susie Y. Hang S. Y., Bhat H., Heberlein K., Feiweier T., Liu K., Keil B., Cohen-Adad B., Tisdall M. D., Folkerth R. D., Kinney H. C., Wald, L. L. (2013) The Human Connectome Project and beyond: Initial applications of 300mT/m gradients, *NeuroImage*. 80: 234-245.

- Neves G., Cooke S. F., Bliss T. (2008) Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nature Reviews Neuroscience*. 9:65-75.
- Newcombe N. S., Lloyd M. E., Ratliff K. R. (2007) Development of episodic and autobiographical memory: A cognitive neuroscience perspective. *Advances in Child Development and Behaviour*. 35: 37-85.
- Nicoll R. A. (2017) A brief history of long-term potentiation. *Neuron*, 93: 281-290.
- Ninokura Y., Mushiaki H., Tanji J. (2003) Representation of the temporal order of visual objects in the primate lateral prefrontal cortex. *J Neurophysiol*. 89: 2868-2873.
- Ogawa S., Menon R. S., Tank D. W., Kim S. G., Merkle H., Ellermann J. M., Ugurbil K. (1993) Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophys. J*. 64: 803-812.
- Ogawa S., Menon R. S., Kim S. G., Ugurbil K. (1998) On the characteristics of functional magnetic resonance imaging of the brain. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct*. 27: 447-474.
- O'Keefe J., Nadel L. (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Oxford University Press.
- O'Keefe J., Dostrovsky J. (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res*. 34: 171-175.
- Park J. M., Jung S. CH., Eun S. Y. (2014) Long-term synaptic plasticity: Circuit perturbation and stabilization. *Korean J Physiol Pharmacol*. 18: 457-460.
- Parsons T. D., Rizzo A. A. (2008) Initial validation of a virtual environment for assessment of memory functioning: Virtual reality cognitive performance assessment test. *Cyberpsychology & Behaviour*. 11: 17-25.
- Passe T. J., Charles C., Rajagopalan P., Krishnan K. R. (1995) Nuclear magnetic resonance spectroscopy: A review of neuropsychiatric applications. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat*. 19: 541-563.
- Peng H., Levin C. S. (2010) Recent developments in PET instrumentation. *Curr. Pharm. Biotechnol*. 11: 555-571.
- Petersen S. E., Dubis J. W. (2012) The mixed block/event-related design. *Neuroimage*, 62: 1177-1184.

- Phelps M. E. (2000) Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97: 9226–9233.
- Plancher G., Gyselinck V., Nicolas S., Piolino P. (2010) Age effect on components of episodic memory and feature binding: A virtual reality study. *Neuropsychology*. 24: 379-390.
- Pozueta A., Rodríguez-Rodríguez E., Vazquez-Higuera J. L., Mateo I., Sánchez-Juan P., González-Perez S., Berciano J., Combarros O. (2011) Detection of early Alzheimer's disease in MCI patients by the combination of MMSE and an episodic memory test. *BMC Neurol.* 24: 11-78.
- Randolph C., Tierney M. C., Mohr E., Chase T. N. (1998) The Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status (RBANS): Preliminary clinical validity. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 20: 310–319.
- Rosen B. R., Buckner R. L., Dale A. M. (1998) Event-related functional MRI: Past, present, and future. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95: 773–780.
- Shastri L. (2002) Episodic memory and cortico-hippocampal interactions. *Trends in cognitive sciences*. 6: 162-168.
- Shapiro M. L. (2011) Memory on time. *Neuron*. 71: 571-573.
- Smitha K. A., Raja K. A, Arun K. M., Rajesh P. G., Thomas B., Kapilamoorthy T. R., Kesavadas Ch. (2017) Resting state fMRI: A review on methods in resting state connectivity analysis and resting state networks. *The Neuroradiology Journal*. 0: 1-13.
- Stanton P. K. (1996) LTD, LTP, and the sliding treshhold for long-term synaptic plasticity. *Hippocampus*. 6: 35-42.
- Strauss E., Sherman E. M., Spreen O. (2006) *A Compendium of Neuropsychological Tests: Administration, Norms, and Commentary*. Oxford: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-515957- 8.
- Suzuki W. A., Amaral D. G. (1994) Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: cortical afferents. *J Comp Neurol*. 350: 497-533.
- Svoboda E., McKinnon MC., Levine B. (2006) The functional neuroanatomy of autobiographical memory: A meta-analysis. *Neuropsychologia*, 44: 2189-2208.
- Tulving E., Donaldson W. (1972) Organization of memory: Episodic and semantic memory. *Academic press Inc. New York*. pp. 382-402



- Tulving E. (2002) Episodic memory: From brain to mind. *Annu. Rev. Psychol.* 53: 1-25.
- Uludag K., Dubowitz D. J., Buxton R. B. (2005) Basic principles of functional MRI. 249-287.
- Vaquero J. J., Kinahan P. (2015) Positron emission tomography: Current challenges and opportunities for technological advances in clinical and preclinical imaging systems. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 17: 385-414.
- Vlček K., Laczó J., Vajnerová O., Ort M., Kalina M., Blahna K. (2006) Spatial navigation and episodic-memory tests in screening of dementia. *Psychiatrie.* 10: 35-38.
- Witter M.P., Wouterlood F. G., Naber P. A., Van Haeften T. (2000) Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network. *Ann N Y Acad Sci.* 911: 1-24.
- Wood K. A., Hoskin P. J., Saunders M. I. (2007) Positron emission tomography in oncology: A review. *Clin. Oncol.* 19: 237-255.

## 9 Prílohy

Konferenčné postery súvisiace s náplňou diplomovej práce:

- Príloha č. 1 | *Štúdia 1 – pilotná verzia, prezentovaná formou posteru na 59.ročník psychofarmakologickej konferencie v Jeseníku, Česká republika*
- Príloha č. 2 | *Štúdia 2 – pilotná verzia, prezentovaná formou posteru na 93.ročníku Fyziologických dní v Košiciach, Slovenská republika*
- Príloha č. 3 | *fMRI štúdia, prezentovaná formou posteru na konferencii Learning, Memory and Synaptic Plasticity v Runstergaard, Dánsko.*
- Príloha č. 4 | *Štúdia zaoberajúca sa modelom ELM u detí - porovnanie 2D, 3D a reálneho prostredia, prezentovaná formou posteru na konferencii Learning, Memory and Synaptic Plasticity v Runstergaard, Dánsko.*



## Episodic-like memory tested in virtual environment

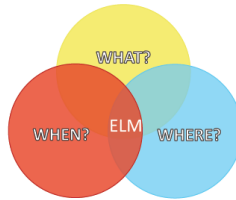
Oravcova I.<sup>1,2</sup>, Fajnerova I.<sup>1</sup>, Hejtmánek L.<sup>1</sup>, Plechata A.<sup>1</sup>, Vlček K.<sup>1</sup>, Nekovarova T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> National Institute of Mental Health, Klecany, Czech Republic

<sup>2</sup> Faculty of Natural Sciences, Charles University, Prague, Czech Republic

### ABSTRACT

Episodic memory is a neurocognitive system – an ability to recall unique past events based on knowledge of “what”, “when” and “where”. These three parameters describe an individual characteristic of the event and form a model of **episodic-like memory (ELM)**, which is often tested also in animals. To study the ELM concept in humans, we designed in our pilot experiment the ELM task in two virtual environments and tested them in healthy volunteers.



### INTRODUCTION

Episodic memory allows recollection of unique past events<sup>[1]</sup>, demanding realization of three basic parameters: target information - “what” happened, temporal context - “when” it happened and spatial context - “where” the event took place<sup>[2]</sup>. Episodic-like memory (ELM) model is testable both in animals<sup>[3,4,5]</sup> and in humans<sup>[7]</sup>. Thus the ELM task could be therefore applied in translational models of neuropsychiatric disorders.

### AIMS

The aim of this pilot study was to design virtual ELM task in three-dimensional virtual reality environments, applicable in later clinical studies. The task is based on the original two-dimensional version of the simple computer task previously designed by Kamil Vlček<sup>[7]</sup>, aimed at spatial and temporal context of ELM.

### MATERIAL AND METHODS

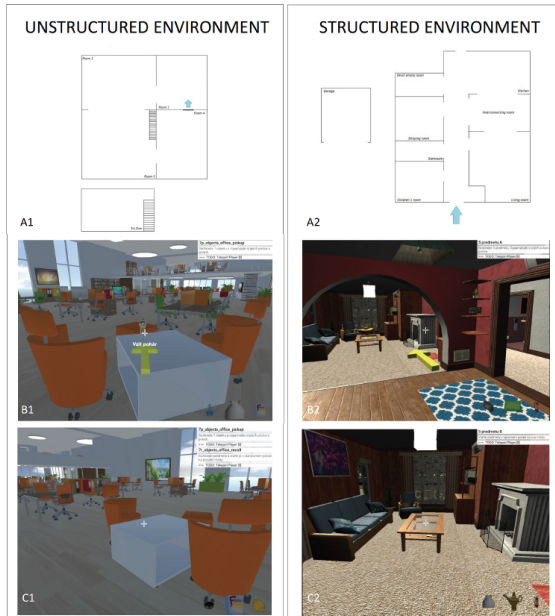
Healthy volunteers (n = 72; 21 females, 51 males; University education) were tested in two virtual environments (see Figure 1):

A) unstructured open space OFFICE (n = 41; average age: 26.9 years),

B) smaller structured HOUSE (n = 31; average age: 26.5 years).

In both environments subjects completed 5 trials with increasing difficulty (collection of objects: 3, 5, 7, 9 or 11), each requiring to remember temporal sequence and spatial positions of these objects. We collected also information about gaming experiences of participants and strategies they used during the task.

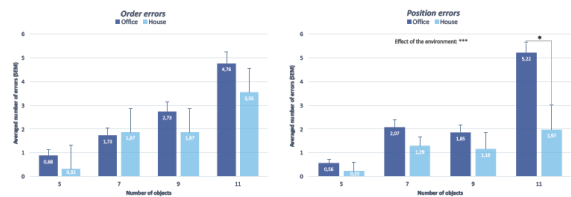
**Statistical analysis:** Position and order errors were evaluated. The effect of the task difficulty (trial as repeated measure variable) and environment (categorical variable) was analysed using ANOVA for repeated measures (Environment\*Trials). The additional effect of continuous variables (age or gaming experiences) was analysed using GLM analysis.



**Figure 1.** Illustration of both virtual environments: OFFICE (1) and HOUSE (2). A - Ground plan; B, C - each trial consisted of two consecutive phases: PRESENTATION (B1,2) - a yellow arrow showed direction to each object in a specific order and RECALL (C1,2) - required to return all objects to original positions in a correct sequence.

### RESULTS

- The number of both types of errors increased with growing task difficulty in both environments (trial effect  $p < 0.001$ , see Figure 2).
- Participants showed superior ability to remember positions ( $p < 0.001$ ), but not order of the objects ( $p > 0.05$ ), in the well-structured “House” environment. Repeated measures ANOVA showed also significant Environment\*Trials interaction in position error (post hoc Newman-Keuls test in difficulty level 11:  $p < 0.05$ ).
- No effect of previous experiences with virtual games was found.
- The effect of age is significant in both types of errors, but more pronounced in order ( $p < 0.001$ ) than in position errors ( $p < 0.05$ ).



**Figure 2.** Order (top) and position (bottom) errors in both virtual environments. Results of the ANOVA repeated measures (errors averaged for the whole group) show comparison between structured and unstructured environment.

### CONCLUSIONS & DISCUSSION

The pilot study demonstrated:

- Number of order and position errors increases with the task difficulty.
  - Well-organized environment of family “House” is more suitable for recollection of unique past events, such as collection of objects.
  - The ELM task performance is affected by age, but not by gaming experiences.
- Debriefing of the participants helped us to identify variable strategies used to solve the task, e.g. story creating, mental repeating of order during objects collection.

**Future directions:**

- Current study deals with the 3<sup>rd</sup> ELM parameter “what” – requiring free recall of collected objects by their active selection from a set of additional objects.
- Comparative character of the ELM model suggests applicability of the novel virtual ELM task in future clinical studies in neuropsychiatric disorders affecting episodic memory, such as Alzheimer disease<sup>[7]</sup> and schizophrenia<sup>[6]</sup>.

### REFERENCES

- Allen TA, Fortin NJ. The evolution of episodic memory. Proc Natl Acad Sci. 2013; 110:10379–86.
- Clayton NS, Dickinson A. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. Nature. 1998; 395:272–4.
- Crystal DJ. Elements of episodic-like memory in animal models. Behav. Brain Res. 2010; 215:235–243.
- Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. Episodic-like memory in mice: Simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. Brain research protocols. 2005; 16:10–19.
- Eacott JM, Easton A, Zinkivskay A. Recollection of an episodic-like memory task in rats. Learning & Memory. 2005; 12:221–223.
- Leavitt VM, Goldberg TE. Episodic Memory in Schizophrenia. Neuropsychol Rev. 2009; 19 (3): 312–323.
- Vlček K, Laczó J, Vajnerová O, Ort M, Kalina M, Blahna K, et al. Spatial navigation and episodic-memory tests in screening of dementia. Psychiatrie. 2006; 10:35–8.

**Acknowledgements:** This study was funded by the project Nr. LO1611 with a financial support from the MEYS under the NPU I program and from the Norwegian Financial Mechanism and the Ministry of Education, Youth and Sports under Project Contract no. MŠMT-28477/2014, project 7F14236.

**Contact Information:** Mgr. et Mgr. Iveta Fajnerová, PhD.; e-mail: iveta.fajnerova@nudz.cz; Bc. Ivana Oravcova; e-mail: ivana.oravcova@nudz.cz; National Institute of Mental Health (NIMH), Topolová 748, 250 67 Klecany, Czech Republic

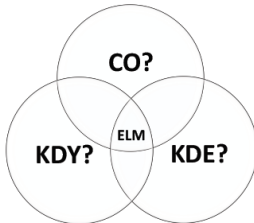
## PAMĚŤ EPIZODICKÉHO TYPU TESTOVANÁ VE VIRTUÁLNÍ REALITĚ

Oravcová I.<sup>1,2</sup>, Fajnerová I.<sup>1</sup>, Hejtmánek L.<sup>1</sup>, Plechatá A.<sup>1</sup>, Vlček K.<sup>1</sup>, Nekovářová T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Národní ústav duševního zdraví, Klecany, Česká republika

<sup>2</sup> Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika

**NUDz**  
NÁRODNÍ ÚSTAV DUŠEVNÍHO ZDRAVÍ



### ÚVOD

Epizodická paměť, schopnost pamatovat si prožitá události z minulosti ve specifickém kontextu, nám kromě jiného pomáhá budovat spojení mezi minulostí, přítomností a budoucností [1]. Vzpomínky jsou vytvořeny pomocí určitého kontextuálního rámce, který charakterizují minimálně tři základní parametry: identita objektů „Co?“, časový parametr „Kdy?“, prostorový parametr „Kde?“, které zároveň definují model paměti epizodického typu (z angl. Episodic-like memory, ELM), většinou testované u zvířat [2-5], ale také u lidí [7].

### CÍL STUDIE

Navrhnout konkrétní úkoly obsahující tři základní kontextuální parametry modelu ELM ve virtuálním 3D prostoru, které by byly aplikovatelné v příštích klinických studiích zaměřujících se na neuropsychiatrické onemocnění [6]. Virtuální úkoly jsou založeny na původní 2D verzi jednoduché počítačové úlohy [7].

## MATERIÁL A METODY

## VÝSLEDKY

### PILOTNÍ STUDIE 1:

### KDY? | KDE?

**Participanti:** Zdraví dobrovolníci (n=72, 21 žen, 51 mužů; věkové rozpětí: 18-40 let; univerzitní vzdělání) byli testováni ve dvou virtuálních prostředích (viz Obr. 1):

- A) nestrukturovaná „open space“ kancelář** (n=41; 11 žen, 30 mužů; průměrný věk: 26.9 let) | **B) strukturovaný rodinný dům** (n=31; 10 žen, 21 mužů; průměrný věk: 26.5 let)

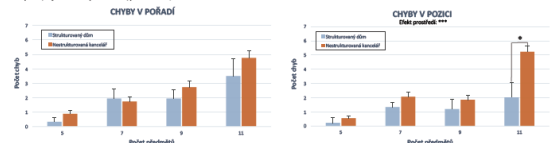
**Princip:** Sběrání předmětů rozděleno do pěti úrovní obtížnosti (postupně 3, 5, 7, 9, 11 předmětů) ve dvou virtuálních prostředích.

**Úloha hráče:** Posbírat předměty a zapamatovat si jejich pořadí (časový parametr) a pozice (prostorový parametr).



Obr. 1 | Zobrazení dvou testových virtuálních prostředí: nestrukturovaná „open space“ kancelář (vlevo) a strukturovaný rodinný dům (vpravo). Zobrazení fáze učení (se žlutou šipkou) a fáze zpětného vybavení (bez žluté šipky).

- Počet chyb v pořadí i v pozici se s navýšujícím počtem předmětů zvyšuje u obou typů virtuálních prostředí (efekt úkolu  $p<0.001$ , viz Obr. 2).
- Participanti ukázali lepší schopnost zapamatovat si jednotlivé pozice předmětů ( $p<0.001$ ) než jejich pořadí ( $p>0.05$ ) ve strukturovaném prostředí domu. ANOVA s opakovaným měřením ukázala signifikantní interakci Prostředí\*Úkol u prostorových chyb, tj. v pozici (post hoc Newman-Keulsův test u 11 předmětů:  $p<0.05$ ).
- GLM analýzou nebyl nalezen efekt herních zkušeností hráče.
- Efekt věku je signifikantní u obou typů chyb, výrazněji u chyb v pořadí ( $p<0.001$ ; GLM analýza) jako v pozici ( $p<0.05$ ).



Obr. 2 | Chyby v pořadí (vlevo) a v pozici (vpravo) u obou virtuálních prostředí. Výsledky ANOVA s opakovaným měřením ukazují porovnání mezi strukturovaným a nestrukturovaným prostředím.

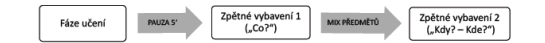
### PILOTNÍ STUDIE 2:

### CO? | KDY? | KDE?

**Participanti:** Zdraví dobrovolníci (n=10, 5 žen, 5 mužů; průměrný věk: 27.7 let | 24-31 let; univerzitní vzdělání) byli testováni ve strukturovaném prostředí domu (viz Obr. 1 a Obr. 3).

**Princip:** Sběrání předmětů (postupně 3, 5, 7 a 9) v prostředí rodinného domu s následným zpětným vybavením – co, kde a kde bylo sbíráno.

**Úloha hráče:** Posbírat všechny předměty a zapamatovat si jejich pořadí (časový parametr), pozici (prostorový parametr) a vybrat správné objekty (identitu objektů) z dvojnásobku původně sbírané sady (viz Obr. 3).



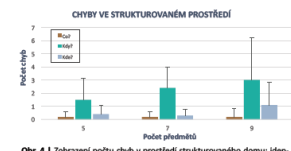
Obr. 3 | Zobrazení průběhu virtuálního úkolu v jednotlivých fázích, kde již má hráč před zpětným vybavením vybrat z většího množství předmětů ty, které sbíral – „Co?“ a následně je vrátit ve správném pořadí – „Kdy?“ na jejich původní pozici „Kde?“.

- Ukazuje se, že ve strukturovaném prostředí (viz Obr. 4) je nejhůř vybavitelný časový parametr „Kdy?“, tj. pořadí (jak vyplývá z debriefingu u participandy; 8/10). Za nejméně obtížné k vybavení označili participanti (7/10) parametr identity objektů: „Co?“ – tj. výběr sbíraných předmětů z většího množství.
- U sledovaných chyb (výběr předmětů, pořadí, pozice) nebyl nalezen efekt pohlaví ( $p>0.05$ ).
- Ve fázi učení je patrná interakce ( $p=0.029$ ) Pohlaví\*Úkol, což u zpětného vybavení chybí.
- I přes použití různých strategií (Tab. 1) byli participanti stejně úspěšní.

**Statistická analýza:** ANOVA s opakovaným měřením, post hoc Newman-Keulsův test

**Tab. 1 |** Kategorie, popse a příklad strategii, které participanti využívají při řešení virtuálních úkolů.

Kategorie	Popis	Příklad
Účelnost	Vybavení z parametru v rámci příbahu.	Přesně přistup na gauči v obýváku, všude vešker byta měla přibít.
Abeceda	Vybavení sady z počátečních písmen předmětů.	VINOCH
Kontextuální asociace	Předmět spojuje s pozicí díky herní asociaci.	Hamburger - není to máj rád.
Prostřední vizualizace	Předmět spojuje s vizuálně sdílenými předměty.	Předmět spojuje s vizuálně sdílenými předměty.
Memorizace	Opakování pořadí a pozice předmětů.	V hlavě jsem si opakuji pořadí a místa předmětů.



Obr. 4 | Zobrazení počtu chyb v prostředí strukturovaného domu: identita objektů: „Co?“, časové: „Kdy?“, prostorové: „Kde?“.

## ZÁVĚR

Výsledky pilotních studií potvrdily zvyšování chybovosti s narůstajícím počtem předmětů bez ohledu na herní zkušenosti hráčů. Pro testování epizodické paměti je vhodnější strukturované prostředí, které poskytuje větší množství detailů uplatňujících se při vybavení vzpomínky. Jako nejnáročnější se ukazuje časový parametr, tj. „Kdy se to stalo?“, naopak nejnázřejší se vybavuje identita objektů – „Co?“. Z dosud testovaného malého vzorku participandů jsme kategorizovali různé typy strategií. V úspěšnosti participandů se zatím neukazuje mezi jednotlivými strategiemi rozdíl. Virtuální úkoly modelu ELM by mohly být použity v příštích klinických studiích pro remediální účely.

## REFERENCE

- [1] Allen TA, Fortin NJ. The evolution of episodic memory. Proc Natl Acad Sci. 2013; 110:10379–86.
- [2] Clayton NS, Dickinson A. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. Nature. 1998; 395:272–4.
- [3] Crystal DJ. Elements of episodic-like memory in animal models. Behav. Brain Res. 2010; 215:235–243.
- [4] Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. Episodic-like memory in mice: Simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. Brain research protocols. 2005; 16:10–19.
- [5] Escott JM, Easton A, Zinkivskaya A. Recollection of an episodic-like memory task in rats. Learning & Memory. 2005; 12:221–223.
- [6] Leavitt VM, Goldberg TE. Episodic Memory in Schizophrenia. Neuropsychol Rev. 2009; 19 (3): 312–323.
- [7] Vlček K, Laczó J, Vajnerová O, Ort M, Vyháňal M, Hort J. Impairment of patients with non-amnesic MCI in a novel episodic-like memory test. Psychiatrie. 2009; 13 (4): 211–215.

### AFLUACE:

Tato studie byla podpořena projektem číslo LO1611 za finanční podpory MŠMT v rámci programu NPU I a Norského finančního mechanismu a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy v rámci projektové smlouvy č. MSM7-28477/2014, projekt č. 7F14236.

### KONTAKT:

Mgr. et Mgr. Iveta Fajnerová, PhD.; e-mail: iveta.fajnerova@nudz.cz; Bc. Ivana Oravcová; e-mail: ivana.oravcova@nudz.cz; Národní ústav duševního zdraví (NUDz), Topolovův 748, 250 67 Klecany, Česká republika





## WHAT, WHEN AND WHERE IT HAPPENED? A virtual reality study.

Oravcova I<sup>1</sup>, Fajnerova I<sup>1</sup>, Hejtmanek L<sup>1</sup>, Sahula V<sup>1</sup>, Plechata A<sup>1</sup>, Vlcek K<sup>1</sup>, Nekovarova T<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Institute of Mental Health, Klecany, Czech Republic

### INTRODUCTION

Episodic memory (EM) allows us to recall episodes from past events [1]. Each memory is saved in a particular contextual information at minimum of three basic characterizations: what, when and where the episode happened [2] – bases of the episodic-like memory (ELM) model, testable both in animals [3,4,5] and humans [6].



### PILOT STUDY 1 | When? Where?

#### Aims:

- to design vEMT in 3D VE based on the 2D desktop version of the task [6]
- study temporal and spatial components of ELM in two different VE in short-term memory paradigm

**Material and methods:** A working memory paradigm – immediate recall of positions (spatial component) and order (temporal component) of items in 5 trials with increasing difficulty (3,5, 7, 9 and 11 items).

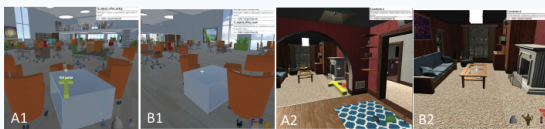


Figure 1. | Illustration of VE: OFFICE (1) and HOUSE (2). Each trial consisted of Acquisition phase (A1, 2) - a yellow arrow showed direction to each item and Recall phase (B1, 2) - required to return all items.

Healthy volunteers (n= 72, University degree) were tested in two virtual environments (see Figure 1):

- A) open space OFFICE (n= 41; age<sub>avg</sub>: 26.9 (±6.84))
- B) smaller well-structured family HOUSE (n= 31; age<sub>avg</sub>: 26.5 (±7.15))

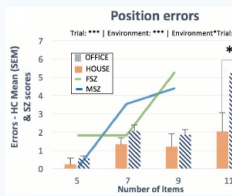


Figure 2. | Position errors (spatial) in both VE.

#### Results:

- Number of errors increases with growing task difficulty in both VE (ANOVA with repetition measures, Trial effect:  $p < 0.001$ , see Fig.2).
- Superior ability to remember positions ( $p < 0.001$ ), but not order in "House" VE ( $p > 0.05$ ). VE\*Trial interaction in position errors (11 items - post hoc Newman-Keuls test,  $p < 0.05$ ).
- No effect of previous experiences with virtual games.

### PILOT STUDY 2 | What? When? Where?

#### Aims:

- to test: 1) additional component - object's identity „what“; 2) a long-term memory (5' delay); and to categorize strategies used during the vEMT

**Material and methods:** A long-term ELM task (5 min delay filled up by spatial distractor task). vEMT was extended by Item recognition phase (selection of items from 2x bigger set) testing the 3<sup>rd</sup> ELM component (Fig. 2). Based on previous results we performed vEMT in HOUSE VE with 4 trials (3, 5, 7, 9 items).



Figure 3. Illustration of vEMT both phases. 3 components – what, where, when.

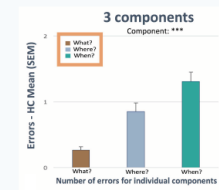


Figure 4. | Comparison of errors in each type of ELM component.

Healthy volunteers (n=30; 15 females; age<sub>avg</sub>: 27.23 (±3.9), University degree).

#### Results:

- Temporal component “when” is the most difficult in structured VE, in contrast to the most simple item identity component “what”.
- Frequent strategies are memorizing, story creating and spatial visualization.

The virtual Episodic-like memory task (vEMT) requires each player:

- To collect several items in specified order from various location in the virtual environment (VE) and remember identity, order and position of individual items (Acquisition phase).
- To return all collected items to their original position in the same order (Recall phase).

### fMRI STUDY PROCEDURE (in progress)

#### Aims:

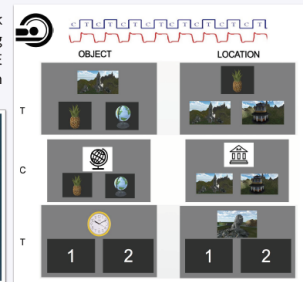
- to study 4 components of ELM (item identity, temporal, spatial and contextual)
- to map functional brain areas during the recollection of the episodes experienced in VE

VE of five small islands with 5 separate spatial locations is designed with additional contextual information (variable weather conditions and/or day time) as following:

- Psychological examination – WMS-III (subtest - Logical memory)
- Training in VE – instructions and game control
- Acquisition phase – locations of all 5 islands are visited consecutively with 30 min delay between islands.



4. fMRI paradigm – a block design – images depicting items or locations from VE in association with each other: time, or context.



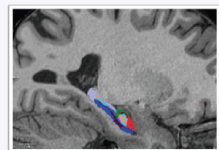
5. Recall phase – 5 trials starting with selection of the island (order of contexts), collected items are then identified and returned to original locations.



6. Structured interview of each participant.

#### Data analysis:

- Performance in the open space and house VE.
- fMRI analysis of vEMT (activation of brain areas and functional connectivity).
- Analysis of the surface based volumetry of hippocampus (including HPC parcellation into 13 subfields).



#### Hypothesis:

- Recollection of episodes will activate both, hippocampus and prefrontal cortex.
- Individual conditions will activate a partially different neural network.
- vEMT performance will positively correlate with HPC volume.

#### Future directions:

Application of vEMT in Alzheimer dementia and schizophrenia (assessment and training).

### REFERENCES

- Allen TA, Fortin NJ. The evolution of episodic memory. Proc Natl Acad Sci. 2013; 110:10379–86.
- Clayton NS, Dickinson A. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. Nature. 1998; 395:272–4.
- Crystal DJ. Elements of episodic-like memory in animal models. Behav Brain Res. 2010; 215:235–243.
- Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. Episodic-like memory in mice: Simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. Brain research protocols. 2005; 16:10–19.
- Eacott JM, Easton A, Zinkivskay A. Recollection of an episodic-like memory task in rats. Learning & Memory. 2005; 12:221–223.
- Vlcek K, Laczó J, Fajnerová O, Ort M, Kalina M, Blahna K, et al. Spatial navigation and episodic-memory tests in screening of dementia. Psychiatry. 2006; 10:35–8.



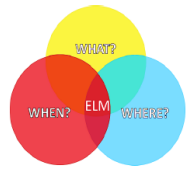
CONTACT INFORMATION: Mgr. Mgr. Iveta Fajnerová, PhD.; iveta.fajnerova@nudz.cz;bc, Ivana Oravcová; ivana.oravcova@nudz.cz; NIMH, Topolová 748, 250 67 Klecany, Czech Republic

ACKNOWLEDGEMENT: This study was funded by the project Nr. LO1611 with a financial support from the MEYS under the NPU I program and from the Norwegian Financial Mechanism and the Ministry of Education, Youth and Sports under Project Contract no. MSMT-28477/2014, project 7F14236.2.

## Episodic-like Memory in Ontogeny

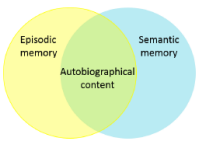
Nekovářová T.<sup>1,2,3</sup>, Oravcová I.<sup>1</sup>, Hejtmánek L.<sup>1</sup>, Vlček K.<sup>1</sup>, Kozáková, E.<sup>1</sup>, Fajnerová I.<sup>1</sup>

1 - National Institute of Mental Health, Klecany, Czech Republic  
 2 - Department of Zoology, Faculty of Natural Sciences, Charles University, Prague, Czech Republic  
 3 - 3rd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic



### INTRODUCTION

**Episodic Memory** is a system that enables the conscious recollection of an event and its context [1]. Unique past events simplified to three parameters - knowledge of "what", "when" and "where" happened – represent a model of episodic-like memory (ELM), which can be tested both in animals [2-5] and humans [6]. Episodic memory involves the formation of relational structures that bind information about the stimuli people experience to the contexts in which they experience them. The ability to form and retain such structures may be at the core of the development of episodic memory [7].



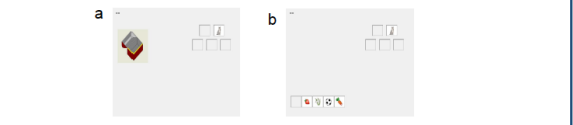
### AIMS

- 1) To compare development in various parameters of episodic-like memory ("what", "where", "when")
- 2) To study development of episodic-like memory in correlation with another types of memory systems
- 3) To compare different experimental designs of episodic-like memory tests

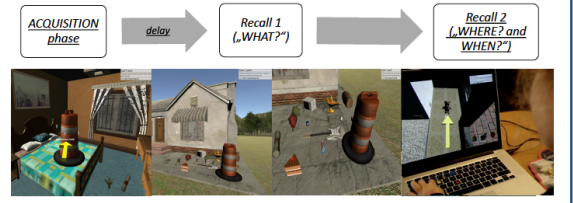
### METHODS:

**Participants:** To address developmental aspects of maturation of various memory types, we test healthy children (age 5 – 7). We tested 19 children, however, not all of them underwent all tasks.

- In the pilot study, we used a set of five memory tests:
- 2D episodic-like memory test (computer version) (Fig. 1)
  - 3D episodic-like memory test (virtual reality) (Fig. 2)
  - Episodic-like memory test in real environment (Fig. 3)
  - Memory for sentences (NEPSY Test Battery)
  - Narrative memory (memory for verbal episodes) (NEPSY Test Battery)



**Fig. 1 | Illustrations of episodic-like memory test in 2D computer environment.** (a) In the acquisition phase subject is asked to shift objects from a regular array to the box. The order of objects is given and controlled by an experimenter. (b) In the recall phase subject is asked to move objects back from the box in correct order to the particular positions in the array.



**Fig. 2 | The illustration of the virtual ELM task:** Subjects are asked to remember temporal sequence and spatial positions of several objects in virtual environment (structured house). 3 and 5 objects were used to test children. **Acquisition phase:** Children were asked to collect objects and remember their identity ("WHAT"), their original position ("WHERE") and temporal sequence - order ("WHEN"). The position and sequence of objects are marked by a yellow arrow leading the subject through the house. **Recall 1:** After a delay (3 min) correct objects should be picked out from a larger set of objects (new and familiar objects 1 : 1). **Recall 2:** Afterwards, the subject should return objects to their original positions in a correct order.



**Fig. 3 | Episodic like memory test in the real environment.** The task was equivalent to the task in virtual reality. In the acquisition phase subject collects the objects in a given sequence. In the recall phase 1 subject is asked to choose objects from the larger set. In the recall phase 2 subjects put objects back to the particular locations in a given order.

### ACKNOWLEDGEMENT:

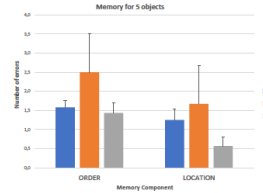
This study was funded by the project Nr. LO1611 with a financial support from the MEYS under the NPU I program, from the Norwegian Financial Mechanism and the Ministry of Education, Youth and Sports under Project Contract no. MSM1-28477/2014, project 7F14236.2 and by project Progres Q 35.



### RESULTS & DISCUSSION:

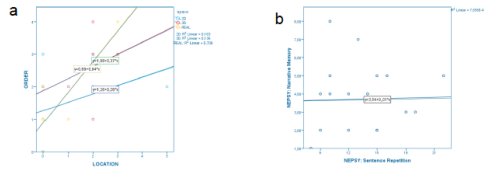
#### EPISODIC-LIKE MEMORY TESTS

- Preliminary results suggest:
- **Condition effect:** The "WHEN" parameter shows tendency for higher number of errors in comparison to the "WHERE" and "WHAT" parameters. These results are consistent with results from experiments with adult volunteers
  - **Method effect:** The slightly higher numbers of errors (both in "when" and "where" parameters) were in 3D test in virtual environment.



**Fig. 4 | Number of errors (Avg + SD) in ELM tasks for 5 objects.** Data are presented separately for individual ELM parameters – "WHEN" (order) and "WHERE" (locations) parameters; and for particular tests – in 2D, 3D and in the real environment.

#### CORRELATIONS



**Fig. 5 | (a) Correlations between numbers of errors in order and location in all methods. (b) Correlation between numbers of errors in "Narrative memory test" and "Sentence repetition test"**

We found correlation between numbers of errors in "order" and "location" in ELM tasks, the highest correlation is in test in real environment. On contrast, there is no correlation between numbers of errors in "Narrative memory test" and "Sentence repetition test". We did not find correlations between any parameter of ELM test and performance in "Narrative memory test" and "Sentence repetition test".

We assume that an ability to represent "self" is essential for episodic memory and re-experiencing experienced events. In future research we will study not only development of various types of memory, but also development of ability of self-representation. We will compare whether performance in EML test correlates more with another types of memory or with self-representation ability.

#### References

- [1] Allen TA, Fortin NJ. The evolution of episodic memory. *Proc Natl Acad Sci.* 2013; 110:10379–86.
- [2] Clayton NS, Dickinson A. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature.* 1998; 395:272–4.
- [3] Crystal DJ. Elements of episodic-like memory in animal models. *Behav Brain Res.* 2010; 215:235–243.
- [4] Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. Episodic-like memory in mice: Simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. *Brain research protocols.* 2005; 16:10–19.
- [5] Eacott JM et al. Recollection of an episodic-like memory task in rats. *Learning & Memory.* 2005; 12:221–223.
- [6] Vlček K, Laczó J, Vajnerová O, Ort M, Vyhánek M, Hort J. Impairment of patients with non-amnesic MCI in a novel episodic-like memory test. *Psychiatry.* 2009; 13 (4): 211–215.
- [7] Yim, Hyungwook, Simon J. Dennis, and Vladimir M. Sloutsky. "The development of episodic memory items, contexts, and relations." *Psychological science* (2013). 0356797513487385.
- [8] Ghetti, Simona, and Silvia A. Bunge. "Neural changes underlying the development of episodic memory during middle childhood." *Developmental cognitive neuroscience* 2.4 (2012): 381-395.

**Contact information:**  
 PhDr. RNDr. Tereza Nekovářová, PhD.: [tereza.nekovařova@mdcz.cz](mailto:tereza.nekovařova@mdcz.cz);  
 Mgr. et Mgr. Iveta Fajnerová, PhD. [iveta.fajnerova@mdcz.cz](mailto:iveta.fajnerova@mdcz.cz);  
 National Institute of Mental Health, Topolová 748, 250 67 Klecany, Czech Republic