



Општи подаци и протокол истраживања

Назив Пројекта :

БИХЕВИОРАЛНА ФИЗИОЛОГИЈА НА АНИМАЛНОМ ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ МОДЕЛУ

Кључне речи :

понашање, интраутерина хипоксија, електромагнетно поље, психоактивне супстанце, бихевиорални модели

Предмет, садржај и циљ истраживања

Сажетак

У овој пројекту биће разрађен нов експериментални модел, базиран на видео запису, за процену и анализу локомоције и позиције експерименталних објеката у бихевиоралним студијама. Овај модел ће бити коришћен и валидиран кроз серију експеримената у којима ће се пратити понашање након интраутерине хипоксије, утицаја магнетног поља и различитих психоактивних и других супстанци на испитиване животиње.

За ову намену биће потпуно развијена софтверска подршка, која претвара видео запис у лог фајл, који је погодан за даљу компјутерску обраду. За анализу лог фајла биће развијен додатни оригинални софтвер, који ће омогућити процену кретања и позиција добијених из видео записа. За снимање видео записа користиће се комерцијални програм DSCALER.

Овај метод је заснован на једноставној видео опреми која се састоји од три умрежена лап-топ рачунара и две видео камере, која има подршку предходно описаних програма и треба да омогући истраживачима да изводе мноштво различитих експеримената у области бихевиоралних студија, без ограничења у времену трајања експеримента, у условима осветљења и боје животиње и позадине, у величини и облику експерименталних поља и броју и врсти експерименталних објеката.

Циљ истраживања

Циљ нашег пројекта је да се уобличи нов експериментални модел у домену бихевиоралних истраживања, и то такав да нема лимитација у смислу објекта истраживања т.ј. врсте животиња или експерименталног сетинга. У нашем истраживању очекујемо да на основу резултата потврдимо валидност, прецизност и тачност нашег метода и да покажемо на примерима да је ово један нов и практичан алат у домену бихевиоралних истраживања.



Такође очекујемо научно значајне резултате у истраживању утицаја магнетног поља, интраутерине хипоксије, хипербаричне коморе и различитих супстанци на понашање.

Актуелност истраживања

Иако су животиње коришћене у различитим типовима експерименталних модела у оквиру бихевиоралних истраживања још од почетка двадесетог века, тек су најновија открића из области кибернетике и техничких наука омогућила да дођемо до прецизних резултата у овој области. До сада, глодари су били први избор експерименталних животиња у циљу праћења и анализе различитих видова понашања, као на пример анксиозности, агресије, учења итд., нарочито због могућности рада са великим бројем животиња у релативно малом простору потребном за експериментални сетинг. Међутим, у неким случајевима је неопходно експеримент спроводити на различитим врстама животиња да би се добили поузданији подаци, као код предклиничких студија на пример.

Ово је један од главних разлога зашто је потребно уобличи нов експериментални модел у домену бихевиоралних истраживања, и то такав да нема лимитација у смислу објекта истраживања т.ј. врсте животиња.

Основи циљ сваког истраживања је да се добију валидни и тачни резултати, али у бихевиоралним студијама ово зависи од алата који су у стању да поуздано и прецизно прате, бележе и анализирају догађаје у току експеримента. Ови алати су имали свој развојни пут од обичне кутије са видљивим гридом и простим посматрањем истраживача, преко полуаутоматских система базираних на фотоћелијама, до најсавременијих сетинга базираних на видео праћењу.

Иако су неки од ових система, у комбинацији са компјутерском подршком доста поуздани, они су нужно зависни од посебног и скупог хардвера. И они најнапреднији још увек имају недостатке који су значајан ограничавајући фактор у истраживањима понашања. Ти недостатци су: 1. зависност од јачине и боје осветљења 2. ограничено време трајања експеримента 3. немогућност секвенционалне ретроспективне анализе 4. кретања су бележена кроз предходно формиран GRID систем, итд.

У овој студији развијамо једноставну комбинацију софтвера и хардвера за бележење, праћење и анализу кретања и позиционирања животиња у бихевиоралним експериментима. Метода је базирана на праћењу покрета и независна је од осветљења, боје животиње и окружења, врсте и величине експерименталне животиње, облика, боје и величине експерименталног сетинга и времена трајања експеримента.

Ова метода се може користити за праћење покрета у условима потпуног мрака, што може бити коришћено за испитивање циркардијарног ритма. Могуће је снимати покрете и пратити животиње практично неограничено време, т.ј. све док нам то допушта капацитет меморије на рачунару, али та меморија може бити екстерно допуњавана, тако да практично нема ограничења у трајању експеримента. Такође, сви подаци могу се анализирати у било ком делу простора или времена, ретроспективно. То практично значи да није потребно формирати GRID пре експеримента.



**Предмет и опис истраживања,
задачи, методологија, очекивани резултати:**

Првенствено је неопходно обезбедити видео формат целог експеримента. За ову сврху коришћена је следећа опрема:

- Две стандардне и инфра-црвена камера, повезана на лап-топ компјутере са 1 GHz CPU и 256MB RAM меморије.
- У компјутеру се користи PCI TV tuner картицу са Philips bt878 chipset-ом за снимање видео записа.
- Оперативни систем Windows XP.
- Софтвер DSCALER за снимање видео формата.

DSCALER бележи AVI запис са XVID енкодингом, обично у полу-PAL резолуцији. Ови записи су проилично дуги, јер се снима активност у 24 сата, али XVID компресија заузима само 4 GB меморије и може да стане на стандардни DVD. Експеримент се може снимити и у условима интранет конекције, тако да је трајање практично неограничено. Видео запис може бити енкодован било којим стандарним енкодером, тако да може бити снимљен било којим уређајем за снимање и обрађен у било ком програму за видео обраду. Ови видео записи могу се чувати на CD-у и бити реанализирани или салти на различите локације. Посебно дизајниран софтвер користи се за детекцију кретања животиња из видео записа. Овај софтвер утврђује позицију у савком видео фрејму-сваки 25 део секунде и прави лог фајл од видео записа. Када се утврди почетна слика, софтвер аутоматски бележи разлике између те слике и промена које се дешавају у времену. Када се утврди да постоји разлика одређује се центар разлике који представља тренутну позицију експерименталног објекта. У саком фрејму логује се тренутно време и позиција. Програм је написан у Ц++ језику и системски захтеви су минимални. Лог фајл садржи вредности које су кома-сепарирани, време фрејма и процењену позицију.

Додатни софтвер служи за анализе лог фајла. Једна од програмских опција је дводимензионални графички запис кретања у реалном времену. Овде је кретање приказано са тачношћу од 0.02 секунде. Друга опција је креирање виртуелног грида. Овим гридом експериментално поље се може поделити у било ком просторном аспекту. У овој опцији добијамо и време боравка животиње у одређеном сегменту виртуелног грида, дато у секундама или неком другом временском распону. Додатно имамо и опцију Активност, која нам даје слику активности у графику на коме је на x оси време, а на у оси брзина у пикселима по секунди, што се може трансформисати у метре по секунди.

У експериментима који треба да потврде нашу претпоставку о валидности и прецизности овог метода користићемо Вистар пацове тежине 180-320 грама. Животиње ће бити држане у истим условима, са истим режимом исхране, у 12-12 условима осветљења, на температури од 20°C. У експериментима ће бити коришћен Опен фиелд модел, радијални лавиринт, Т-лавиринт, подигнути плус лавиринт и водени лавиринт, направљени од полиестера са могућношћу промене боје. Као тест супстанцу користићемо различите психоактивне супстанце у зависности од доступности. Такође ћемо изводити интраутерину хипоксију и пратити њен утицај на јединке у различитим стадијумима после рођења. Још ћемо утицати магнетним пољем на јединке након интраутерине хипоксије и на нормалне јединке у различитим стадијумима одрастања и пратити утицај истог на понашање.

Уз све наведено вршићемо и експерименте у хипербаричној комори дизајнираној за експерименталне животиње. Сви експерименти ће бити спроведени у сагласности са међународним и домаћим етичким стандардима.



Значај истраживања

У нашем истраживању очекујемо да на основу резултата које ћемо добити из експеримента са психоактивним супстанцама, интраутерином хипоксијом и електромагнетним пољем у лавиринтима дизајнираним за проучавање понашања потврдимо валидност и тачност наше методе за праћење, снимање и анализу понашања животиња. Очекујемо веома значајне резултате јер су наши пилот експерименти показали да овом методом можемо добити резултате у предходно поменутих областима који до сада нису могли бити видљиви због ограничености експерименталног модела. То би значило отварање једног потпуно новог поља у истраживању понашања.

Временски оквир

Предвиђамо да ово истраживање траје две године, са могућношћу наставка и проширења.

Литература

1. Adriano B.L. Tort et al, 2006. , Adriano B.L. Tort, Waldemar P. Neto, Olavo B. Amaral, Vanessa Kazlauckas, Diogo O. Souza and Diogo R. Lara, A simple webcam-based approach for the measurement of rodent locomotion and other behavioural parameters, J Neuroscience Methods 2006 Oct 15;157(1):91-7.
2. Andrew O. Koob et al, 2006., Andrew O. Kooba, John Cirillo and Charles F. Babbs, A novel open field activity detector to determine spatial and temporal movement of laboratory animals after injury and disease, J Neuroscience Methods 2006 Oct 30;157(2):330-6.
3. Lind et al., 2005 N.M. Lind, M. Vinther, R.P. Hemmingsen and A.K. Hansen, Validation of a digital video tracking system for recording pig locomotor behaviour, J Neurosci Methods 143 (2005), pp. 123–132.
4. Schwarting et al., 1993 R.K. Schwarting, R. Goldenberg, H. Steiner, J. Fornaguera and J.P. Huston, A video image analyzing system for open-field behavior in the rat focusing on behavioral asymmetries, J Neurosci Methods 49 (1993), pp. 199–210.
5. Togasaki et al., 2005 D.M. Togasaki, A. Hsu, M. Samant, B. Farzan, L.E. DeLanney and J.W. Langston et al., The webcam system: a simple, automated, computer-based video system for quantitative measurement of movement in nonhuman primates, J Neurosci Methods 145 (2005), pp. 159–166.

Руководилац пројекта:

проф. др Мирко Росић

Главни истраживач:

проф. др Мирко Росић