A Review of Common Tests for Evaluating Animal Learning and Memory Ability in the Field of Physical Education

Running title: Animal Learning and Memory Ability Tests in Physical Education

Abstract

This article provides a review of common tests used to evaluate animal learning and memory abilities within the field of physical education. Animal models have long been utilized to study various aspects of human physiology and behavior, including learning and memory processes. Understanding how animals learn and remember can provide valuable insights into the development of effective teaching and training strategies in physical education. The review focuses on commonly employed tests that assess learning and memory abilities in animals. The Morris water maze is a widely used test that assesses spatial learning and memory in rodents. It involves training animals to locate a hidden platform in a pool of water using spatial cues. The radial arm maze evaluates spatial working memory by requiring animals to remember and choose specific arms of a maze to obtain rewards. The T-maze is another spatial memory test that measures an animal's ability to remember and navigate through a T-shaped maze to find a reward. By utilizing appropriate tests, researchers can gain valuable insights into the learning and memory processes of animals, which can inform the development of effective teaching and training strategies for human learners.

Keywords: Open field habituation, Passive avoidance test, Step-down inhibitory avoidance task, Active avoidance test, Morris water maze, 8-arms radial maze, Novel object recognition test.

مروری بر آزمون‌های رایج ارزیابی یادگیری و حافظه حیوانی در رشته تربیت‌بدنی

عنوان کوتاه: آزمون‌های یادگیری و حافظه حیوانات در تربیت‌بدنی

چکیده

این مقاله مروری بر آزمون‌های رایج مورد استفاده برای ارزیابی توانایی‌های یادگیری و حافظه حیوانات در زمینه تربیت‌بدنی ارائه می‌دهد. مدل‌های حیوانی مدت‌هاست که برای مطالعه جنبه‌های مختلف فیزیولوژی و رفتار انسان، از جمله فرآیندهای یادگیری و حافظه مورد استفاده قرار گرفته‌اند. درک چگونگی یادگیری و به خاطر سپردن حیوانات می‌تواند بینش‌های ارزشمندی را در مورد توسعه راهبردهای آموزشی و آموزشی مؤثر در تربیت‌بدنی ارائه دهد. این بررسی بر روی آزمون‌های معمولی متمرکز است که توانایی‌های یادگیری و حافظه را در حیوانات ارزیابی می‌کنند. ماز آبی موریس یک آزمایش پرکاربرد است که یادگیری و حافظه فضایی را در جوندگان ارزیابی می‌کند. این شامل آموزش حیوانات برای یافتن یک سکوی پنهان در یک استخر آب با استفاده از نشانه‌های فضایی است. ماز بازوی شعاعی، حافظه کاری فضایی را با الزام حیوانات به یادآوری و انتخاب بازوهای خاصی از ماز برای دریافت پاداش ارزیابی می‌کند. ماز T یکی دیگر از آزمون‌های حافظه فضایی است که توانایی حیوان را برای به خاطر سپردن و حرکت در ماز T شکل برای یافتن جایزه اندازه‌گیری می‌کند. با استفاده از آزمون‌های مناسب، محققان می‌توانند به بینش‌های ارزشمندی در مورد فرآیندهای یادگیری و حافظه حیوانات دست یابند که می‌تواند به توسعه راهبردهای آموزشی و آموزشی مؤثر برای یادگیرندگان انسانی کمک کند.

واژه‌های کلیدی: **آزمون عادت کردن به فیلد باز، آزمون ماز Y شکل، آزمون اجتنابی بازدارنده غیرفعال، آزمون اجتنابی پایین آمدن از سکو، آزمون اجتنابی فعال، آزمون ماز آبی موریس، آزمون ماز شعاعی ۸ بازویی، آزمون تشخیص اشیاء جدید.**

مقدمه

در زمینه تربیت بدنی، درک رفتار حیوانات نقش مهمی در مطالعه اثرات فعالیت بدنی بر موجودات مختلف دارد. آزمون‌های رفتار حیوانات ابزارهای ارزشمندی هستند که به محققان امکان می‌دهند واکنش‌های رفتاری حیوانات را به محرک‌ها و مداخلات مختلف ارزیابی کنند (***Coria-Avila et al., 2022***). این آزمایش‌ها بینش‌هایی را در مورد جنبه‌های فیزیولوژیکی و روان‌شناختی رفتار حیوانات ارائه می‌دهند و به محققان کمک می‌کنند تا درک عمیق‌تری از تأثیر تربیت‌بدنی بر گونه‌های مختلف به دست آورند. هدف این مقاله بررسی آزمون‌های رفتاری رایج حیوانی مورد استفاده در زمینه تربیت‌بدنی است. با بررسی این آزمایش‌ها، می‌توانیم روش‌ها، مزایا و محدودیت‌های مرتبط با هر یک را کشف کنیم و در نهایت درک خود را از اینکه چگونه فعالیت بدنی بر رفتار حیوانات تأثیر می‌گذارد، افزایش دهیم. در زمینه تربیت‌بدنی، درک یادگیری حیوانات و توانایی حافظه برای طراحی برنامه‌های آموزشی مؤثر و ارزیابی تأثیر فعالیت‌های بدنی بر عملکرد شناختی بسیار مهم است (***Mandolesi et al., 2018***). آزمون‌های مختلفی برای ارزیابی این توانایی‌ها در حیوانات ایجاد شده است که بینش‌های ارزشمندی را در مورد فرآیندهای شناختی و پتانسیل یادگیری آن‌ها ارائه می‌دهد. هدف این مقاله بررسی آزمون‌های رایج مورد استفاده در زمینه تربیت‌بدنی برای ارزیابی یادگیری و توانایی حافظه حیوانات است. آزمون‌های سنجش حافظه و یادگیری عبارت‌اند از آزمون عادت کردن به فیلد باز[1]، آزمون ماز **Y** شکل، آزمون اجتنابی بازدارندهٔ غیرفعال[2]، آزمون اجتنابی پایین آمدن از سکو[3]، آزمون اجتنابی فعال[4]، آزمون ماز آبی موریس[5]، آزمون ماز شعاعی ۸ بازویی[6] و آزمون تشخیص اشیاء جدید[7] (**Detrait, Hanon, Dardenne, & Lamberty, 2009**). با بررسی نقاط قوت و محدودیت‌های این آزمون‌ها، محققان و مربیان می‌توانند درک عمیق‌تری از اینکه چگونه فعالیت‌های فیزیکی بر عملکرد شناختی حیوانات تأثیر می‌گذارد، در نهایت توسعه برنامه‌های آموزشی مناسب و ارتقای نتایج شناختی بهینه را افزایش می‌دهند.

آزمون عادت کردن به زمینه باز

1. Open field habituation
2. Passive avoidance test
3. Step-down inhibitory avoidance task
4. Active avoidance test
5. Morris water maze
6. 8-arms radial maze
7. Novel object recognition test

این نوع از آزمون حافظه در آزمایشگاه‌ها به‌منظور بررسی حافظه فضایی که نوعی حافظه اخباری است انجام می‌شود. عادت کردن به زمینه باز متشکل از قرار دادن یک حیوان در ناحیه باز در یک محیط جدید بدون هیچ تحریک ناخوشایند و یا خوشایند است و به حیوان اجازه داده می‌شود که در مدت‌زمانی مشخص محوطه را آزادانه مورد جستجو قرار دهد (Matsunaga & Watanabe, 2010).

مدت‌زمان مورد نظر ممکن است بین ۲ تا ۱۰ دقیقه باشد، ۲ تا ۳ دقیقه حداقل زمان ممکن است که مطمئن شویم حیوان به محیط عادت کرده است و بیش از ده دقیقه هم بی‌فایده است زیرا حیوان شروع به نظافت و یا استراحت و حتی خوابیدن می‌کند زیرا هیچ‌چیز تازه یا خطری در محیط برایش وجود نداشته است. این محوطه باز می‌تواند به هر شکل هندسی باشد، اما محفظه‌های مستطیل شکل و دایره‌ای بیشتر متداول هستند. کف محفظه توسط خطوطی به بخش‌های مساوی تقسیم می‌شود (Dvorkin, Benjamini, & Golani, 2008) (شکل ۱).

شکل ۱. آزمون عادت کردن به زمینه باز

جنس محفظه می‌تواند از هر نوع ماده قابل شستشو مانند فلز، پلاستیک یا چوب باشد. در مطالعات گوناگون با توجه به پروتکل مورد استفاده اندازه‌های متفاوتی برای محیط باز بیان شده است اما به نظر می‌رسد اندازه مناسب (برای

موش‌های صحرایی) حدود ۵۰ سانتی‌متر ارتفاع، ۶۰ سانتی‌متر طول و ۴۰ سانتی‌متر عرض برای محفظه مستطیل شکل و شعاع ۴۰-۶۰ سانتی‌متر برای محفظه دایره‌ای است (Belzung, 2010).

جهت بررسی دقیق رفتارهای حیوان در طول مدت آزمایش، دوربینی دیجیتالی در بالای محفظه تعبیه م می‌شود و در برخی مطالعات برای آنالیز دقیق رفتارهای ضبط‌شده، از نرم‌افزاری که به همین منظور طراحی شده است استفاده می‌شود.

در ابتدای آزمایش موش به آرامی در وسط یا یکی از کناره‌های محیط باز قرار داده می‌شود و پس از آن در مدتی معین (معمولاً ۵ دقیقه)، برخی از متغیرها به‌منظور محاسبه رفتار اکتشافی اندازه‌گیری می‌شوند. از مهم‌ترین شاخص‌ها، تعداد بلند شدن حیوان و تعداد عبور از خطوط جداکننده بخش‌های کف زمین می‌باشد. بلند شدن روی دو پای عقبی حالت اکتشاف ذاتی جوندگان کوچک است و در محیط جدیدتر این رفتار بیشتر توسط حیوان به نمایش گذاشته خواهد شد (Belzung, 2010).

اولین قرارگیری حیوان در محیط باز به‌منظور شناسایی، جستجو و کشف محیط جدید می‌باشد و به‌عنوان جلسه آموزش و جلسه خو گرفتن به محیط در نظر گرفته می‌شود. به‌منظور ارزیابی حافظه در این کار رفتاری، جلسه آزمون، بعد از یک فاصله زمانی (۲۴ ساعت برای حافظه بلندمدت، کمتر از ۶ ساعت برای حافظه کوتاه‌مدت، بیشتر از ۳ دقیقه برای حافظه کاری) با قرار دادن همان حیوان در شرایط محیطی یکسان در همان محفظه و اندازه‌گیری دوباره همان متغیرهایی که در بالا توصیف شد، انجام می‌شود (Belzung, 2010).

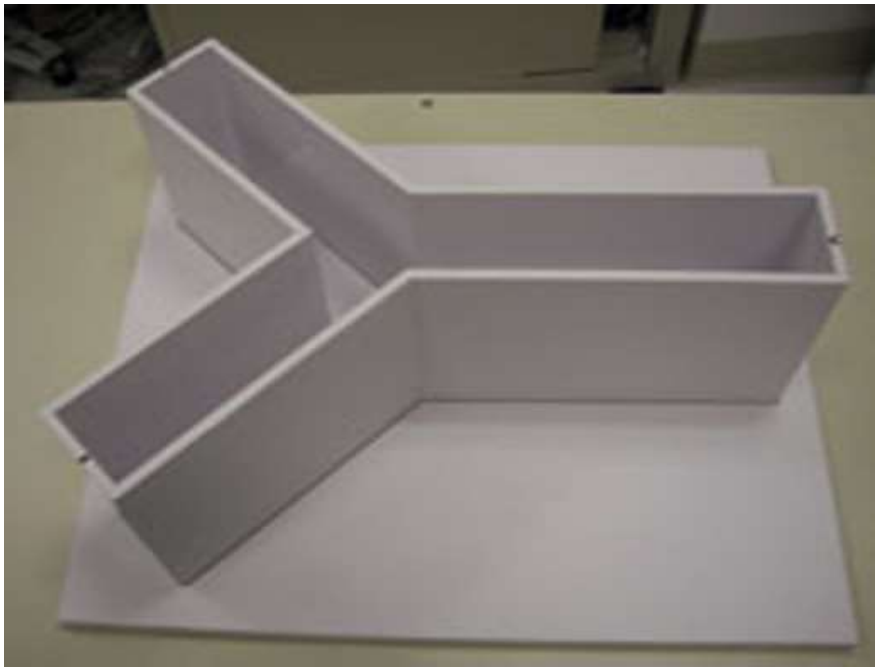
تفاوت بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده (تعداد بلند شدن و تعداد عبور از خطوط کف محیط باز) در جلسه آموزش و جلسه آزمون معیار قابل قبولی برای ارزیابی حافظه فضایی می‌باشد. عادت کردن به یک محیط جدید یکی از اساسی‌ترین شکل‌های یادگیری است که در آن کاهش جستجوگری به دنبال قرارگیری تکراری در معرض یک محیط به‌عنوان شاخصی از حافظه در نظر گرفته می‌شود (Belzung, 2010).

نتایج به دست آمده ممکن است با توجه به درجه قوتشان طبقه‌بندی شوند، به‌عنوان‌مثال اگر تعداد بلند شدن بین جلسه اول و دوم قرارگیری در محیط باز تغییر نکند (در شرایط آماری تفاوت معنی‌داری نداشته باشد)، این حالت ممکن است فراموشی کامل در نظر گرفته شود، اما در فراموشی جزئی با اینکه تعداد بلند شدن در جلسه دوم به‌طور

معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل همتای خود است اما به‌طور قابل‌توجهی نسبت به بار اول قرارگیری کاهش نشان می‌دهد (Costa, Tamascia, Nogueira, Casarini, & Marcondes, 2012).

آزمون ماز Y شکل

از دیگر آزمون‌های ارزیابی حافظه، آزمون Y-maze می‌باشد که به کمک آن حافظه فضایی کوتاه‌مدت حیوانات از نوع بازشناختی، موردسنجش قرار می‌گیرد. این آزمون بر اساس حس کنجکاوی ذاتی جوندگان برای اکتشاف محیط‌های جدید بناشده است و هیچ‌گونه محرک مثبت یا منفی در ماز قرار داده نمی‌شود. دستگاه ماز Y شکل که از جنس پلکسی گلاس است دارای سه بازوی عمود بر هم می‌باشد که هر یک با یکی از حروف A، B، C علامت‌گذاری شده‌اند. بازوها طولی برابر ۴۰ سانتی‌متر، پهنای ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر دارند. هر سه بازو به‌وسیله یک صفحک سه‌گوش با اضلاع برابر ۱۵ سانتی‌متر به هم متصل هستند (Kraeuter, Guest, & Sarnyai, 2019) (شکل ۲).



شکل ۲. دستگاه ماز Y شکل

سنجش روند حافظه به‌وسیله Y-maze در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام می‌شود تا در طول آزمون کوچک‌ترین استرسی به حیوان وارد نشود.

در هنگام شروع آزمایش هر موش بدون داشتن آشنایی قبلی با دستگاه، در بخش ابتدایی بازوی شروع (بازوی A) در حالی که درب گیوتینی آن بسته است، قرار می‌گیرد. بعد از یک دقیقه درب گیوتینی برداشته می‌شود و زمان آزمایش شروع می‌شود. در طی ۱۰ دقیقه بازوهایی را که حیوان وارد آن‌ها می‌شود (با این ملاک که قاعده دم حیوان وارد بازو شده باشد) به ترتیب یادداشت می‌شود. در پایان ۱۰ دقیقه، موش از دستگاه خارج شده و به قفس خود بازگردانده می‌شود. جهت ارزیابی رفتار حیوان بازوهایی که حیوان به آن‌ها وارد شده بود، در توالی‌های سه‌تایی دسته‌بندی گردیده و دسته‌هایی که در آن‌ها بازوی تکراری وجود دارد حذف می‌شود. به‌علاوه تعداد کل بازوهایی که هر حیوان وارد آن‌ها شده است مشخص شده و بر اساس فرمول زیر درصد تناوب محاسبه می‌گردد (Gawel, Gibula, Marszalek-Grabska, Filarowska, & Kotlinska, 2019).

$$\left[\frac{\text{Actual alternation}}{(\text{Total number of entrance})-2}\right]\times 100$$

با تفصیل بیشتر می‌توان گفت در انجام این آزمون، دو پارامتر مورد بررسی و ارزیابی قرار می‌گیرد. پارامتر اول: تعداد کل ورودی‌ها، یعنی تعداد کل بازوهایی که حیوان در یک دور ۱۰ دقیقه‌ای وارد آن شده است و پارامتر دوم: تناوب واقعی، یعنی تعداد سه بازوی متوالی غیرتکراری که حیوان وارد آن شده است. سپس با قرار دادن این پارامترها در فرمول فوق درصد تناوب برای هریک از حیوانات محاسبه می‌گردد. تعداد کل بازوی وارد شده برای هر موش در این آزمون شاخصی از میزان توانایی حرکتی حیوان می‌باشد (Navarro et al., 2023).

آزمون اجتنابی غیرفعال

آزمون اجتنابی غیرفعال آزمونی است که به‌طور کلاسیک جهت ارزیابی حافظه غیراجباری (مفهومی) ارتباطی در مدل‌های اختلالات عصبی جانوران کوچک آزمایشگاهی طراحی شده است (Jänicke & Coper, 1996). عبارت اجتناب غیرفعال معمولاً برای توضیح آزمایش‌هایی که در آن‌ها جانوران می‌آموزند که از یک محرک درد زا اجتناب کنند به کار می‌رود. با اینکه جستجوگری در محیط تاریک خصوصیت ذاتی جوندگان است، اما در مرحله آموزش حیوان یاد می‌گیرد که در صورتی که وارد محفظه تاریک شود شوک می‌گیرد (Abdel-Mouttalib, 2015).

آزمون اجتنابی غیرفعال در دو مدل متفاوت طراحی‌شده است:

الف: ارزیابی رفتار احترازی غیرفعال حین عبور با استفاده از شاتل باکس

دستگاه شاتل باکس که در ارزیابی رفتار احترازی غیرفعال حین عبور مورد استفاده قرار می‌گیرد دارای دو محفظه، هر یک با طول و عرض ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر می‌باشد و در بالای هر یک درب کشویی قرار گرفته است. یکی از این دو محفظه، محفظه روشن (ناحیه ایمن) است که دیواره‌های سفیدرنگ دارد و دیگری محفظه تاریک (ناحیه ناامن) می‌باشد که دیواره‌های آن سیاه‌رنگ است. یک درب گیوتینی در قسمت وسط و پایین دیواره مابین محفظه‌های روشن و تاریک قرار دارد. میله‌های شوک دهنده از جنس استیل ضدزنگ کف محفظه تاریک را پوشانده‌اند و توسط سیم‌هایی به دستگاه الکتروشوکر (وسیله‌ای برای ایجاد شوک الکتریکی به کار برده می‌شود) وصل شده‌اند. این دستگاه جریان الکتریکی با شدت یک میلی‌آمپر و با فرکانس ۵۰ هرتز را به مدت 3 ثانیه از طریق میله‌های شوک دهنده به بدن حیوان انتقال می‌دهد. البته با توجه به پروتکل به کار رفته شدت و فرکانس جریان و نیز مدت‌زمان اعمال شوک توسط دستگاه کاملاً قابل تنظیم می‌باشد (Ögren & Stiedl, 2010)(شکل ۳)

شکل ۳. دستگاه شاتل باکس

بررسی رفتار احترازی غیرفعال طی دو روز متوالی انجام می‌شود، روز اول جلسه، آموزش می‌باشد که خود دارای دو مرحله است:

جلسه خو گرفتن: هم موش‌ها حداقل ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در محیط آزمایشگاه قرار داده می‌شوند. سپس هر موش به‌آرامی در محفظه روشن قرار داده می‌شود و بعد از ۵ ثانیه در گیوتینی باز می‌شود و به حیوان اجازه داده می‌شود وارد محفظه تاریک شود. زمان تأخیر اولیه یعنی زمانی که طول می‌کشد تا حیوان از محفظه روشن وارد محفظه تاریک شود یادداشت می‌شود. ملاک ورود حیوان به محفظه تاریک وارد شدن پاهای عقبی به محفظه بوده و در این هنگام درب گیوتینی بسته می‌شود. پس از گذشت ۱۰ ثانیه حیوان به قفس خود بازگردانده می‌شود. حیواناتی که زمان تأخیر ورودی بیش از ۱۰۰ ثانیه داشته باشند از آزمایش حذف می‌شوند (Ögren & Stiedl, 2010).

آموزش اکتساب حافظه: ۳۰ دقیقه بعد موش مجدداً در محفظه روشن قرار می‌گیرد و بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شود و به‌محض اینکه حیوان وارد محفظه تاریک شد، درب گیوتینی بسته‌شده و از طریق میله‌های کف محفظه به حیوان شوک داده می‌شود (۵۰ هرتز، ۱ میلی‌آمپر، ۳ ثانیه) و بعد از ۱۵-۲۰ ثانیه به قفسش بازگردانده می‌شود. ۲ دقیقه بعد، بار دیگر حیوان در محفظه روشن قرار داده می‌شود. اگر حیوان دوباره وارد محفظه سیاه شد، مجدداً

شوک می‌گیرد، اما اگر یادگیری داشت و تا دو دقیقه وارد محفظه تاریک نشد، آزمون خاتمه داده می‌شود و موش به قفسش بازگردانده می‌شود (Ögren & Stiedl, 2010).

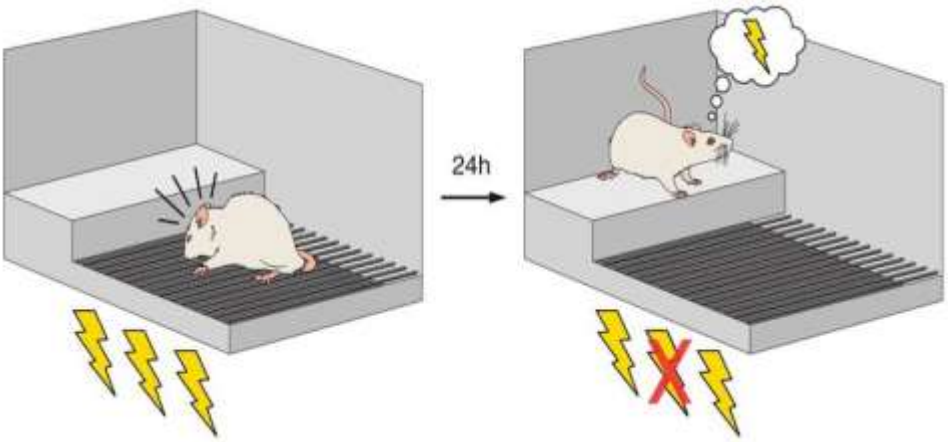
آزمون بازیابی حافظه

۲۴ ساعت بعد از آموزش، آزمون بازیابی انجام می‌شود تا حافظه بلندمدت حیوان بررسی شود. در این مرحله هر حیوان در محفظه روشن قرار می‌گیرد و بعد از ۲۰ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شود و زمانی که طول می‌کشد تا حیوان وارد محفظه تاریک شود یادداشت می‌شود. زمانی که حیوان وارد محفظه تاریک شد آزمایش خاتمه می‌یابد. در صورتی که حیوان حافظه داشته باشد و وارد محفظه تاریک نشود، زمان خاتمه آزمایش ۵ دقیقه بعد از قرارگیری در محفظه روشن می‌باشد. بر اساس پروتکل‌های انجام شده در تحقیقات مختلف در طراحی مراحل آزمایش تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود. به‌عنوان‌مثال مرحله آموزش می‌تواند در سه جلسه در سه روز متوالی صورت گیرد. به این صورت که جهت خو گرفتن حیوان با محیط در هر یک از روزهای اول و دوم حیوان درون محفظه روشن قرار داده می‌شود و بعد از ۵۰ ثانیه درب گیوتینی بین دو محفظه روشن و تاریک باز می‌شود و زمانی که طول می‌کشد تا حیوان مورد آزمایش وارد محفظه تاریک شود یادداشت می‌شود و شوک دادن به حیوان در روز سوم صورت می‌گیرد. بر طبق این پروتکل آزمون بازیابی حافظه ۲۴، ۳۶، ۷۲ ساعت بعد از سومین روز آموزش انجام می‌شود (Ögren & Stiedl, 2010).

زمان تأخیر اولیه شاخصی از توانایی حرکتی حیوان می‌باشد. معمولاً تفاوت معنی‌داری از نظر زمان تأخیر اولیه میان گروه‌ها مشاهده نمی‌شود که این امر به مفهوم عدم تغییر توانایی حرکتی موش‌ها برای کسب اطلاعات و مهارت‌های جدید در گروه حیوانات تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. زمان تأخیر در قدم گذاری حیوان به محفظه تاریک در مرحله بازیابی حافظه (به خاطرآوری) به‌عنوان معیار حافظه تعیین و ثبت می‌گردد. اساس کاربرد دستگاه (STL) تحت عنوان شاتل باکس در مدل احترازی غیرفعال بر پایه تنبیه استوار است. زیرا در این مدل، شوک الکتریکی به کف پای حیوان اعمال‌شده و لذا حیوان با این تنبیه یاد می‌گیرد که وارد اتاقک سیاه نشود (Ögren & Stiedl, 2010).

آزمون اجتناب مهاری پایین آمدن از سکو

دستگاه مورد استفاده در این آزمون جعبه‌ای از جنس آکریلیک با ابعاد ۲۵*۲۵*۵۰ سانتی‌متر می‌باشد که کف آن با میله‌های موازی به قطر ۱ میلی‌متر از جنس استیل ضدزنگ پوشانده شده است. فاصله میله‌ها ۱ سانتی‌متر می‌باشد. در کنار جعبه سکویی به بلندی ۲/۵ و پهنای ۷/۵ سانتی‌متر در کناره جعبه قرار دارد. میله‌های کف توسط سیم‌هایی به دستگاه الکتروشوکر وصل می‌باشد. در این روش، بررسی حافظه در دو روز متوالی انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش به حیوان آموزش داده می‌شود و در روز دوم یا روز آزمون میزان حافظه حیوان آموزش‌دیده بررسی می‌شود (Borba Filho et al., 2015).



شکل ۴. آزمون اجتناب مهاری پایین آمدن از سکو

مرحله آموزش

در روز آموزش هر حیوان به‌آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت‌زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو بماند آن موش از آزمون حذف می‌شود. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پا بر روی میله‌های فولادی، شوک الکتریکی (۲ ثانیه، با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر) به حیوان داده می‌شود.

مرحله آزمون یا بررسی حافظه

جلسه آزمون جهت بررسی حافظه کوتاه‌مدت ۱ ساعت بعد و برای بررسی حافظه بلندمدت ۲۴ ساعت بعد از جلسه آموزش، انجام می‌شود... در این مرحله حیوانات مورد آزمایش بر روی سکوی دستگاه قرار داده می‌شوند اما هیچ

شوکی دریافت نمی‌کنند. در صورتی که حیوان اختلال حافظه داشته باشد بعد از مدتی از سکو پایین می‌آید. مدت‌زمان توقف حیوان بر روی سکو در روز آزمون به‌عنوان معیار حافظه اندازه‌گیری می‌شود. حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو ۱۸۰ ثانیه است که به‌عنوان حافظه کامل در نظر گرفته می‌شود.

با مروری بر مطالعاتی که از آزمون اجتناب مهاری پایین آمدن از سکو جهت ارزیابی حافظه و یادگیری استفاده کرده‌اند نکته قابل‌توجه به‌کارگیری شدت‌جریان‌های الکتریکی متفاوت در رنجی از ۰/۳ تا ۳ میلی‌آمپر (طبق طراحی آزمایش) می‌باشد و شدت محرک به کار گرفته‌شده در تأخیر از پایین آمدن از سکو در جلسه آزمون (۲۴ ساعت بعد از جلسه آموزش) منعکس می‌شود. محققین نشان داده‌اند برای موش‌های صحرایی ویستار نر (حدود ۲-۳ ماهه با وزن ۲۲۰ تا ۲۶۰ گرم) برای شدت تحریک ۰/۳ تا ۵ میلی‌آمپر به مدت ۲ ثانیه، تأخیر برای پایین آمدن از سکو حدود ۵۰ ثانیه و با به کاربردن تحریک ۰/۸ میلی‌آمپر تأخیر پایین آمدن ۱۸۰ ثانیه و برای ۱ میلی‌آمپر حدود ۶۰۰ ثانیه می‌باشد (Borba Filho et al., 2015).

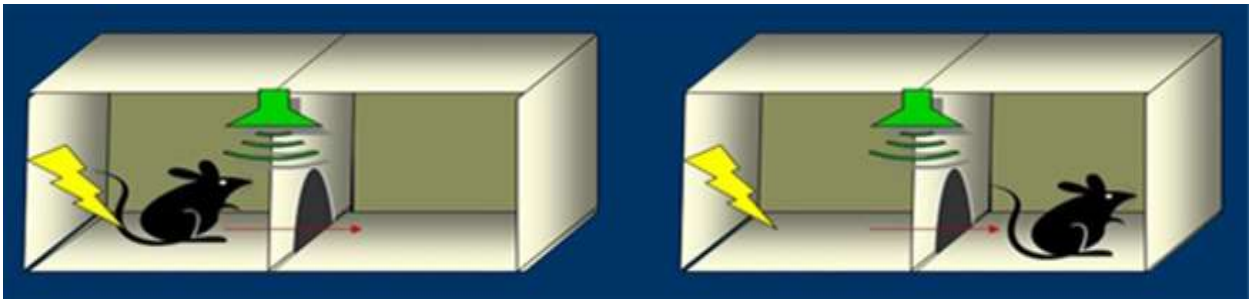
علائم ظاهری گرفتن شوک الکتریکی، بسته به‌شدت شوک الکتریکی و میزان حساسیت حیوان، ممکن است به‌صورت سیخ شدن موها، خمیدگی پشت، برآمدگی کرهٔ چشم و یا حتی از جا پریدن باشد. باید از دادن شوک شدید که موجب یخ‌زدگی حیوان در جا شود اجتناب شود.

آزمون اجتنابی فعال

این آزمون نیز جهت ارزیابی حافظه مفهومی ارتباطی کاربردی دارد. در آزمون اجتناب فعال حیوانات یاد می‌گیرند که به دنبال یک محرک شرطی (صدا یا نور) یک محرک درد زا را پیش‌بینی کرده و برای اجتناب از آن در مهلت زمانی مشخص تغییر موقعیت دهند و به‌طرف دیگر شاتل باکس حرکت کنند، یعنی حیوانات یاد می‌گیرد که بین محرک شرطی و محرک درد زا ارتباط برقرار کنند (Navarro et al., 2023).

دستگاه شاتل باکس در این آزمون جعبه‌ای با ابعاد تقریبی ۳۰*۴۰*۶۰ سانتی‌متر می‌باشد که دارای دو محفظه است. کف هر دو محفظه با میله‌های موازی از استیل ضدزنگ پوشانده شده است. شبکه کف در وسط توسط یک مانع آکریلیک به ارتفاع ۱ سانتی‌متر به دو قسمت مجزا تقسیم می‌شود به صورتی که جهت اعمال شوک می‌توان میله‌های

کف هر محفظه را به‌طور جداگانه برق‌دار کرد. درصورتی‌که محرک شرطی نور باشد، در بالای هر محفظه یک منبع نور و درصورتی‌که محرک شرطی صدا باشد، در بالای دیواره بین دو محفظه یک بلندگوی کوچک نصب می‌شود (Macheda, Snider, Watson, Roberts, & Bachstetter, 2020).



شکل ۵. آزمون اجتنابی فعال

آزمون اجتنابی فعال شامل دو مرحله می‌باشد. مرحله اول، جلسه آشنایی با محیط است. در این جلسه حیوان دریکی از دو محفظه قرار داده می‌شود و به او اجازه داده می‌شود که به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر دو محفظه رفت‌وآمد کند تا کاملاً با محیط آشنا شود. مرحله دوم، جلسه آزمون می‌باشد. موش در یکی از دو محفظه قرار داده می‌شود و به او اجازه داده می‌شود به مدت ۱ دقیقه آزادانه در محفظه‌ها گردش کند. در این هنگام چراغ هر دو محفظه روشن است. بعد از ۱ دقیقه چراغ محفظه‌ای که موش در آن قرار دارد خاموش می‌شود (در این آزمون محرک شرطی نور است) و ثانیه بعد یک شوک پایی (۰/۵ میلی‌آمپر) اعمال می‌شود و زمان یکه حیوان به‌طرف دیگر شاتل باکس حرکت کرد شوک قطع می‌شود. مراحل گفته‌شده حدود ۶ روز بین ۳۰ تا ۵۰ بار در روز بافاصله ۲۰ تا ۶۰ ثانیه تکرار می‌شود. به مرور حیوان یاد می‌گیرد که بین خاموش شدن چراغ و شوک گرفتن رابطه برقرار کند و به‌محض خاموش شدن چراغ جهت اجتناب از شوک گرفتن به سمت دیگر حرکت کند (Navarro et al., 2023).

ممکن است محرک شرطی صدا باشد. در این حالت صدایی به مدت ۵ ثانیه پخش می‌شود (با شدت ۷۰ دسیبل و فرکانس ۶۷۰ هرتز) و بلافاصله بعد از قطع صدا یک شوک پایی (۰/۴ میلی‌آمپر) به حیوان اعمال می‌شود.

اگر موش درزمانی که محرک شرطی (نور یا صدا) وجود دارد به سمت دیگر حرکت کند این مسئله به‌عنوان اجتناب فعال ثبت می‌شود، اما اگر در حالی که هم محرک شرطی وجود دارد و هم شوک پایی به‌طرف دیگر حرکت کند این

پاسخ، پاسخ فرار در نظر گرفته می‌شود. تفاوت در پاسخ‌های اجتنابی بین جلسات آموزش و آزمون اندازه ماندگاری حافظه را نشان می‌دهد. وقتی که بین جلسات آموزش و آزمون هیچ اختلاف معنی‌داری در تعداد پاسخ‌های اجتنابی وجود نداشته باشد فراموشی قوی در نظر گرفته می‌شود اما اگر تعداد این پاسخ‌ها به‌طور قابل‌توجهی کمتر از گروه کنترل اما بیشتر از جلسه آموزش است فراموشی جزئی تلقی شده و بیانگر این است که حیوان دچار اختلال حافظه شده است (Navarro et al., 2023).

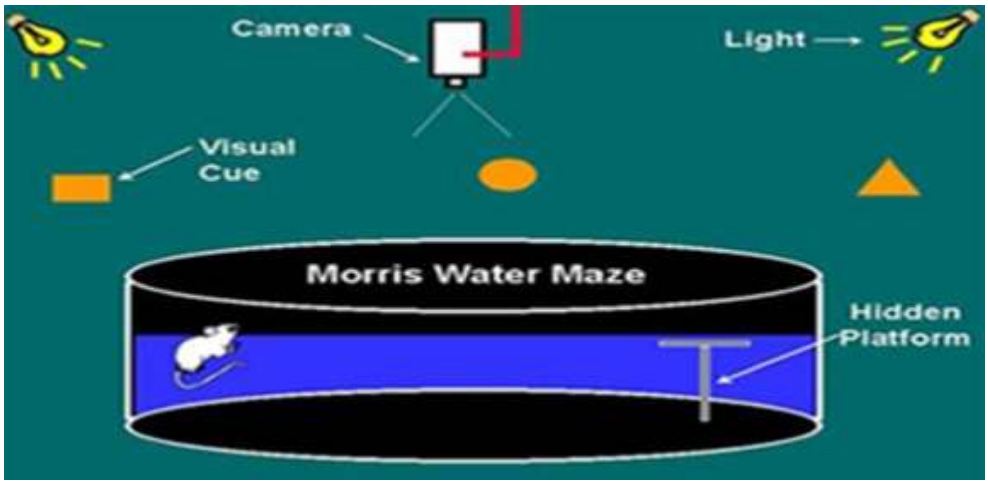
بهتر است شاتل باکس یک دستگاه تمام اتوماتیک باشد و به‌طور خودکار تعداد کل عبورها، تعداد فرارها و تعداد خطاها را ثبت کند. معمولاً، حیوانات در ابتدا بیشتر دچار اشتباه می‌شوند و سپس عملکردشان رو به بهبودی می‌گذارد. یادگیری در جلسه آزمون با تعداد خطاهای کم خود را نشان می‌دهد. شاتل باکسی که در آزمون اجتنابی فعال استفاده می‌شود شاتل باکس دوطرفه نیز نامیده می‌شود چرا که در آن مهم نیست که حیوان در کدام طرف از دستگاه قرار گرفته است، وقتی که صدا شروع می‌شود یا نور خاموش می‌شود، حیوان باید به سمت دیگر حرکت کند و هیچ‌کدام از دو مسیر نسبت به دیگری ارجحیت ندارند (Navarro et al., 2023).

آزمون ماز آبی موریس

ماز آبی موریس یکی از معمول‌ترین آزمون‌ها در علوم اعصاب شناختی است که در سال ۱۹۸۲ توسط موریس و همکارانش ابداع شد و به‌منظور ارزیابی حافظه و یادگیری فضایی در جوندگان انجام می‌شود. این آزمون اثرات بهبود بخشی حافظه و یا فراموشی آور داروها و نیز اثرات دست‌کاری‌های ژنتیکی وابسته به عملکرد هیپوکامپ را به خوبی نشان می‌دهد. در این آزمون حیوان را در یک حوضچه آب قرار می‌دهند و او می‌بایست با استفاده از نشانه‌ها و علائم بینایی که در فضای بیرون ماز قرار دارند محل سکویی را که درست در زیر سطح آب مخفی‌شده به یاد بیاورد (Tucker, Velosky, & McCabe, 2018).

ماز آبی موریس یک مخزن فلزی حلقوی با دیواره سیاه‌رنگ به قطر ۱۲۰-۲۰۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۵-۶۰ سانتی‌متر است که با آبی به عمق ۲۵-۳۰ سانتی‌متر پر شده است. دمای بهینه آب ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

یک سکوی فلزی تیره با قطر ۱۰ یا ۱۱ سانتی‌متر در فاصله ۱ تا ۵ سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز یکی از چهار ربع شمال شرقی، جنوب شرقی، شمال غربی یا جنوب غربی قرار داده می‌شود. نکته مهم در مورد سکو این است که برای حیوان غیرقابل رؤیت باشد؛ بنابراین جنس آن می‌تواند پلگسی گلاس هم باشد. این سکو فقط وسیله‌ای برای فرار حیوان از آب می‌باشد. لازم است دیوارهای اطراف ماز دارای اجسام و علائم و نشانه‌هایی از قبیل پوستر و قفسه و پنجره و ... باشد که موش بتواند به کمک آن‌ها محل سکو را در آب پیدا کند. حرکت و رفتار حیوان به‌وسیله یک دوربین تلویزیونی مادون قرمز که در ارتفاع دو متری بالای ناحیه مرکزی مخزن قرارگرفته ردیابی و کنترل می‌شود (**Rahmati-Ahmadabad, Azarbayjani, Broom, & Nasehi, 2021**). سیگنال تلویزیونی دیجیتال وارد سیستم کامپیوتری که با آن در ارتباط است شده و کوچک‌ترین حرکات حیوان با کمک نرم‌افزاری که به همین منظور تعبیه شده ذخیره و آنالیز می‌گردد. از این رو، امکان ثبت دقیق مسیر شنای موش در هر بار آموزش فراهم می‌شود و از روی آن چندین متغیر اندازه‌گیری می‌شود ازجمله: مدتی که طول می‌کشد تا حیوان سکوی پلکسی گلاس را پیدا کند، طول مسافت کل مسیر شنای موش در هر بار آموزش، درصد زمانی که حیوان در هر ربع مخزن می‌گذراند و سرعت حرکت موش. نور اتاق باید طوری تنظیم شود که از بازتاب‌های مزاحم ضبط ویدیویی یا به دست آوردن داده‌های خودکار جلوگیری کند.



شکل ۶. ماز آبی موریس

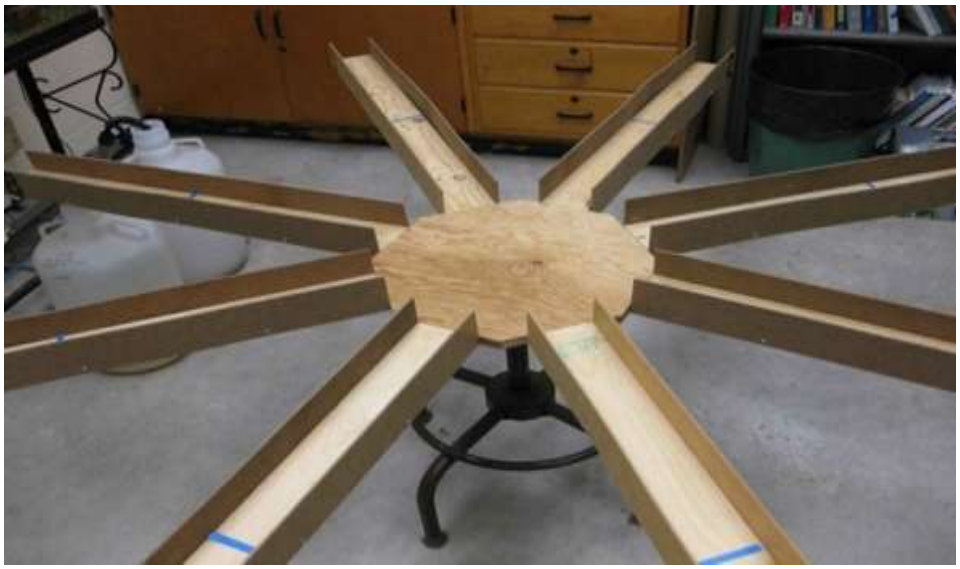
آزمون به خاطر آوری

یک روز بعد از آخرین آموزش، حافظه فضایی حیوانات مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در این مرحله موش‌ها در یک آزمون ۶۰ ثانیه‌ای که در طی آن سکو از داخل آب برداشته‌شده مورد ارزیابی قرار می‌گیرند

در آزمون به خاطر آوری مدت‌زمان طی شده در محل هدف (محلی که قبلاً سکو قرار داشته) مدت‌زمان طی شده در حاشیهٔ ماز، مدت زمان طی شده در سایر نواحی، درصد زمانی که حیوان در هر ربع مخزن گذرانده، مدت‌زمانی که طول کشیده تا موش برای اولین بار از سکو عبور کند، سرعت شنا کردن، مسافت کل طی شده، تعداد دفعاتی که موش از محل قبلی سکو عبور کرده است و زمان گذرانده شده در یک ناحیه با شعاع ۲۰ سانتی‌متر در ربع هدف اندازه‌گیری می‌شود. برای نتیجه‌گیری میانگین هر یک از پارامترهای ذکرشده، بین گروه‌های مورد درمان و گروه کنترل مقایسه و با روش‌های آماری تجزیه‌وتحلیل می‌شود (**Rahmati-Ahmadabad et al., 2021**).

آزمون ماز شعاعی ۸ بازویی

ماز شعاعی ۸ بازویی در سال ۱۹۷۶ توسط التون و ساموئلسون جهت سنجش حافظه و یادگیری فضایی در موش‌های صحرایی طراحی شد. دستگاه ماز شعاعی ۸ بازویی دارای یک میدان مرکزی ۸ ضلعی با هشت بازو می‌باشد که به‌طور شعاعی از آن خارج می‌شوند. دستگاه ماز شعاعی ۸ بازویی حدود ۶۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر بالاتر از سطح زمین قرار دارد و ممکن است از چوب یا پلاستیک ساخته‌شده باشد. بهتر است رنگ ماز تیره باشد چرا که جوندگان فوتوفوبیک هستند، همچنین کنتراست رنگ دستگاه و این حیوانات که سفید رنگ هستند برای ضبط ویدئویی و ردیابی اتوماتیک مفید خواهند بود. بازوها ابعاد ۶۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر طول و ۱۰ الی ۱۵ سانتی‌متر عرض دارند و ارتفاع دیوارها می‌تواند از ۲ تا ۳۰ سانتی‌متر باشد. در انتهای هر بازو محلی برای قرار دادن غذا تعبیه‌شده است به‌گونه‌ای که محتویات غذا از سکوی مرکزی قابل‌مشاهده نمی‌باشد. نوع طراحی ماز شعاعی تضمین می‌کند که حیوان پس از بررسی مواد غذایی در پایان هر بازو مجبور است که قبل از انتخاب هر بازوی دیگری به سکوی مرکزی برگردد. لازم است بر روی دیوارهای اطراف ماز نشانه‌های بینایی همچون پنجره، پوستر و یا علائم طراحی شده توسط محقق وجود داشته باشد (**Dubreuil, Tixier, Dutrieux, & Edeline, 2003**).



شکل ۷. ماز شعاعی ۸ بازویی

آزمون تشخیص شئ جدید

در سال ۱۹۵۰ محققی به نام برلین گزارش کرد که موش‌های صحرایی تمایل دارند زمان بیشتری را به بررسی و اکتشاف یک شئ جدید اختصاص دهند تا بررسی شیئی که قبلاً با آن آشنایی داشته‌اند. تا سال‌ها در آزمایشات تجربی به این یافتهٔ برلین توجه چندانی نشد تا اینکه اناسر و دلاکور[8] (۱۹۹۸) دوباره این یافته را به صورت روشی برای مطالعه نوروبیولوژیکی حافظه به جامع علمی معرفی کردند.

آزمون تشخیص شئ جدید یک ارزیابی ساده حافظه است که در آن نیازی به هیچ انگیزه خارجی، پاداش یا تنبیه نمی‌باشد و تنها بر رفتار ذاتی جستجوگری جوندگان تکیه دارد. هر چند این آزمون مدل پرکاربردی برای بررسی تغییرات حافظه شناختی می‌باشد، اما کاربرد آن به این زمینه تحقیقی محدود نمی‌شود و در مطالعات مربوط به ارزیابی حافظه کاری، تأثیر نواحی مختلف مغز در پردازش فرایند شناخت، افسردگی و فرایند توجه کردن نیز کاربرد دارد و برای ارزیابی اثرات درمان‌های مختلف فارماکولوژیکی و آسیب‌های مغزی استفاده می‌شود (Antunes & Biala, 2012).

وسیله مورد نیاز برای انجام آزمون، اطاقک رو بازی است که برای مشاهدت بهتر رفتار موش یک دیواره آن می‌تواند شیشه‌ای باشد. در بسیاری تجربیات برای سهولت و دقت مشاهدات دوربینی مرتبط به کامپیوتر در بالای اطاقک

[8]. Ennaceur & Delacour

تعبیه شده و رفتار حیوان توسط نرم‌افزار مربوطه آنالیز می‌شود. اطاقکی که در طراحی اولیه آزمون توسط اناسر و دلاکور (۱۹۸۸) استفاده شد از جنس چوب بوده و ۶۵ سانتی‌متر طول، ۴۵ سانتی‌متر عرض و ۴۵ سانتی‌متر ارتفاع داشت (Antunes & Biala, 2012).

در طول زمان از آزمایشی به آزمایش دیگر جنس اطاقک و اندازه‌های آن متفاوت شد. اطاقک های استفاده شده به اشکال مربع، مستطیل و در موارد بسیار کمی به شکل دایره بوده و از جنس پلی‌اتیلن، فلز و چوب روکش‌دار و یا رنگ‌شده می‌باشد. نکته مهم در مورد جنس اطاقک این است که قابل تمیز کردن باشد. اشیاء مورد استفاده نیز از جنس شیشه، چوب و پلاستیک بوده و تعداد، شکل، رنگ، بافت و سایز آن‌ها از آزمایشی به آزمایش دیگر متفاوت می‌باشد. نکته مهم این است که شئ توسط حیوان قابل حمل نباشد (Antunes & Biala, 2012).

در کل، اختلالات حافظه پیامد بسیاری از بیماری‌های دستگاه عصبی از جمله آلزایمر، پارکینسون، ضربه به سر و صرع می‌باشد و این امر سبب ناتوانی فرد در انجام کارهای روزمره و اجتماعی می‌گردد. تحقیق و پژوهش بر روی مکانیسم‌های دخیل در ثبت و بازیابی اطلاعات در مغز می‌تواند به یافتن راهکارهای درمانی مؤثر کمک شایانی نماید. مدل‌های حیوانی برای پی بردن به شالوده‌های فیزیولوژیکی و روانی بسیاری بیماری‌ها مفید هستند. به‌عنوان‌مثال در زمینه حافظه و یادگیری مدل‌های حیوانی ابزاری مفید در شکل‌دهی یافته‌های ما از چگونگی پردازش اطلاعات توسط مغز طبیعی و آسیب‌دیده می‌باشد (Lueptow, 2017).

نکته قابل‌توجه در تمامی آزمون‌های ذکرشده، سازگار نمودن حیوان آزمایشگاهی با سازوکار آزمون است. این مهم که از دید برخی محقیقن نادیده گرفته می شود، سبب می‌شود تا از استرس حیوان به دنبال قرارگیری در محیطی ناآشنا کاسته شده و نتایج معتبرتری حاصل گردد. همچنین مرحله آموزش حیوان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مسلماً در صورت عدم یادگیری و یادگیری ناقص، ذخیره‌سازی اطلاعات به‌درستی صورت نمی‌گیرد لذا افزایش جلسات آموزش می‌تواند به تشکیل حافظه بلندمدت و تثبیت آن کمک کند و احتمال بروز خطا را در جلسه آزمون کمتر خواهد کرد (Franco, 2013). تشکیل حافظه بلندمدت ارتباط عمیقی با پلاستیسیتهٔ نورونی در مغز دارد و تکرار یک موضوع (با افزایش جلسات آموزش) به افزایش این پلاستیسیتهٔ نورونی و تشکیل حافظه بلندمدت کمک خواهد کرد. یکی دیگر از نکات قابل‌تأمل در انجام صحیح آزمون‌ها برقراری محیطی آرام و دور از هرگونه مداخلات

اضافی مانند صدا و یا نور می‌باشد. یکسان بودن شرایط آزمایشگاهی برای تمامی آزمودنی‌ها اهمیت ویژه‌ای در طول آزمون دارد. با رعایت نمودن موارد فوق پژوهشگر می‌تواند به صحت آزمون و داده‌های به‌دست‌آمده اطمینان یابد.

مشارکت نویسندگان

تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال تشکر و قدردانی را از کادر دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز به خاطر همکاری در روند پژوهش را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی در ارتباط با این مقاله وجود ندارد.

References

Abdel-Mouttalib O. (2015). Chapter Twelve - Nociceptin/Orphanin-FQ Modulation of Learning and Memory. In G. Litwack (Ed.), *Vitamins & Hormones* (Vol. 97, pp. 323-345): Academic Press.

Antunes M, & Biala G. (2012). The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process, 13*(2), 93-110. doi:10.1007/s10339-011-0430-z

Belzung C. (2010). Open-Field Test. In I. P. Stolerman & L. H. Price (Eds.), *Encyclopedia of Psychopharmacology* (pp. 1-5). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Borba Filho GL, Zenki KC, Kalinine E, Baggio S, Pettenuzzo L, Zimmer ER, . . . Onofre de Souza D. (2015). A new device for step-down inhibitory avoidance task--effects of low

and high frequency in a novel device for passive inhibitory avoidance task that avoids bioimpedance variations. *PLoS One, 10*(2), e0116000. doi:10.1371/journal.pone.0116000

Coria-Avila GA, Pfaus JG, Orihuela A, Domínguez-Oliva A, José-Pérez N, Hernández LA, & Mota-Rojas D. (2022). The Neurobiology of Behavior and Its Applicability for Animal Welfare: A Review. *Animals (Basel), 12*(7). doi:10.3390/ani12070928

Costa R, Tamascia ML, Nogueira MD, Casarini DE, & Marcondes FK. (2012). Handling of adolescent rats improves learning and memory and decreases anxiety. *J Am Assoc Lab Anim Sci, 51*(5), 548-553.

Detrait ER, Hanon E, Dardenne B, & Lamberty Y. (2009). The inhibitory avoidance test optimized for discovery of cognitive enhancers. *Behav Res Methods, 41*(3), 805-811. doi:10.3758/brm.41.3.805

Dubreuil D, Tixier C, Dutrieux G, & Edeline JM. (2003). Does the radial arm maze necessarily test spatial memory? *Neurobiol Learn Mem, 79*(1), 109-117. doi:10.1016/s1074-7427(02)00023-0

Dvorkin A, Benjamini Y, & Golani I. (2008). Mouse cognition-related behavior in the open-field: emergence of places of attraction. *PLoS Comput Biol, 4*(2), e1000027. doi:10.1371/journal.pcbi.1000027

Franco NH. (2013). Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective. *Animals (Basel), 3*(1), 238-273. doi:10.3390/ani3010238

Gawel K, Gibula E, Marszalek-Grabska M, Filarowska J, & Kotlinska JH. (2019). Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents—methodological consideration. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 392*(1), 1-18. doi:10.1007/s00210-018-1589-y

Jänicke B, & Coper H. (1996). Tests in Rodents for Assessing Sensorimotor Performance During Aging. In A.-M. Ferrandez & N. Teasdale (Eds.), *Advances in Psychology* (Vol. 114, pp. 201-233): North-Holland.

Kraeuter AK, Guest PC, & Sarnyai Z. (2019). The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. *Methods Mol Biol, 1916*, 105-111. doi:10.1007/978-1-4939-8994-2_10

Lueptow LM. (2017). Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *J Vis Exp*(126). doi:10.3791/55718

Macheda T, Snider HC, Watson JB, Roberts KN, & Bachstetter AD. (2020). An active avoidance behavioral paradigm for use in a mild closed head model of traumatic brain injury in mice. *J Neurosci Methods, 343*, 108831. doi:10.1016/j.jneumeth.2020.108831

Mandolesi L, Polverino A, Montuori S, Foti F, Ferraioli G, Sorrentino P, & Sorrentino G. (2018). Effects of Physical Exercise on Cognitive Functioning and Wellbeing: Biological and Psychological Benefits. *Front Psychol, 9*, 509. doi:10.3389/fpsyg.2018.00509

Matsunaga W, & Watanabe E. (2010). Habituation of medaka (Oryzias latipes) demonstrated by open-field testing. *Behav Processes, 85*(2), 142-150. doi:10.1016/j.beproc.2010.06.019

Navarro D, Gasparyan A, Martí Martínez S, Díaz Marín C, Navarrete F, García Gutiérrez MS, & Manzanares J. (2023). Methods to Identify Cognitive Alterations from Animals to Humans: A Translational Approach. *24*(8), 7653.

Ögren SO, & Stiedl O. (2010). Passive Avoidance. In I. P. Stolerman (Ed.), *Encyclopedia of Psychopharmacology* (pp. 960-967). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani MA, Broom DR, & Nasehi M. (2021). Effects of high-intensity interval training and flaxseed oil supplement on learning, memory and

immobility: relationship with BDNF and TrkB genes. *Comparative Exercise Physiology*, *17*(3), 273-283. doi:10.3920/CEP200046

Tucker LB, Velosky AG, & McCabe JT. (2018). Applications of the Morris water maze in translational traumatic brain injury research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *88*, 187-200. doi:https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.03.010