

# Upotreba testova otvorenog polja (open field) i novog objekta (novel object) u neuroznanosti

---

Marković, Neven

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:617371>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

**Upotreba testova otvorenog polja (*open field*) i novog objekta  
(*novel object*) u neuroznanosti**

**Open field and novel object tests appliance in neuroscience**

Seminarski rad

Neven Marković

Preddiplomski studij znanosti o okolišu

(Undergraduate Study of Enviromental Sciences)

Mentor: doc. dr. sc. Duje Lisičić

Zagreb, 2020.

# Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Test otvorenog polja (OFT).....	1
2.1. Povijesni pregled testa otvorenog polja .....	2
2.2. Izgled otvorenog polja (OF) .....	3
2.3. Metodologija OFT-a .....	4
2.4. Varijabilni čimbenici .....	5
2.5. Utjecaj oblika otvorenog polja (OF) na mjerenje .....	5
2.6. Mjereni čimbenici u OFT-u .....	6
2.7. Način prikupljanja podataka .....	7
3. Test novog objekta (NOT) .....	8
3.1. Metodologija NOT-a .....	9
3.2. Važnost odabira novog objekta (NO) .....	9
3.3. Važnost rukovanja životinja („handling“) .....	10
3.4. Utjecaj socijalnosti na NOT .....	10
3.5. Upotreba testa novog objekta kod primata .....	11
4. Primjena OFT-a i NOT-a u bihevioralnoj znanosti.....	11
4.1. Uvod u bihevioralnu znanost .....	11
4.2. Upotreba glodavaca u neuroznanosti.....	12
4.3. OFT i NOT u medicini .....	12
4.4. Kritika .....	13
5. Zaključak .....	16
6. Literatura .....	17
7. Sažetak .....	20
8. Summary .....	21

## 1. Uvod

Bihevioralna znanost kao podgrana neuroznanosti bavi se proučavanjem kognitivnih procesa te obrazaca ponašanja životinja koji proizlaze iz interakcije s okolišem i drugim organizmima u laboratorijski kontroliranim uvjetima. Znanstvenici koji se bave bihevioralnom znanosti služe se raznim metodama istraživanja među kojima su testovi istraživanja ponašanja jedni od njih. Test otvorenog polja (*open field test* – skraćeno OFT) je, nakon razvoja metodologije od strane američkog psihologa Calvina S. Halla (1934), postao jedan od najčešće korištenih metoda istraživanja u bihevioralnoj znanosti (Belzung 2014). Uz njega u novije vrijeme test novog objekta (*novel object test* – skraćeno NOT) dobiva na sve većoj popularnosti. OFT je eksperiment u kojem se ispituje razina opće lokomotorne aktivnosti kroz kvalitativna i kvantitativna mjerenja, način istraživanja novog okoliša te drugi parametri ponašanja, dok je NOT test u kojem se pruža mogućnost životinji da istraži novi predmet (*novel object* – skraćeno NO) postavljen u njoj već poznati okoliš. OFT i NOT primjenjivani su na cijelom spektru životinja od beskrležnjaka pa sve do odvedenijih sisavaca poput majmuna. Iako je OFT primarno bio razvijen od strane psihologa iz područja biheviorizma, brzo se proširio i na druge discipline poput neuroznanosti i psihofarmakologije (Choleris i sur. 2001). Poradi toga vrlo je široka primjena testova u medicini gdje se može pratiti djelovanje anksiolitika, koje su posljedice lezija mozga ili genetskih mana, otkriti sedacija ili hiperaktivno ponašanje, kao i napraviti procjenu učenja i pamćenja te istražiti općeniti učinak lijekova i supstanci na ponašanje (Belzung 2014). U nastavku ću opisati metodologiju provođenja OFT- i NOT-a, dati pregled primjene OFT-a i NOT-a za razumijevanje patoloških procesa koji se javljaju kod osoba oboljelih od raznih poremećaja i bolest te iznijeti kritiku na ispravnost uporabe i tumačenja dobivenih podataka.

## 2. Test otvorenog polja (OFT)

Test otvorenog polja (*Open field test* – OFT) prisutan je u znanosti već gotovo čitavo stoljeće. Pomoću njega, u laboratorijski kontroliranim uvjetima, mjeri se lokomocija životinje i drugi parametri ponašanja ne bi li se prepoznalo ima li naznaka ponašanja nalik anksioznom, istraživačkom ponašanju ili odvažnom ponašanju. Američki psiholog Calvin S. Hall (1934) prvotno je razvio test otvorenog polja s ciljem ispitivanja emocionalnog stanja kod glodavaca. Definiciju testa otvorenog polja daju znanstvenici Roger N. Walsh i Robert A. Cummins (1976) te ona glasi ovako: „U osnovi, test se sastoji od mjerenja ponašanja koja su izazvana

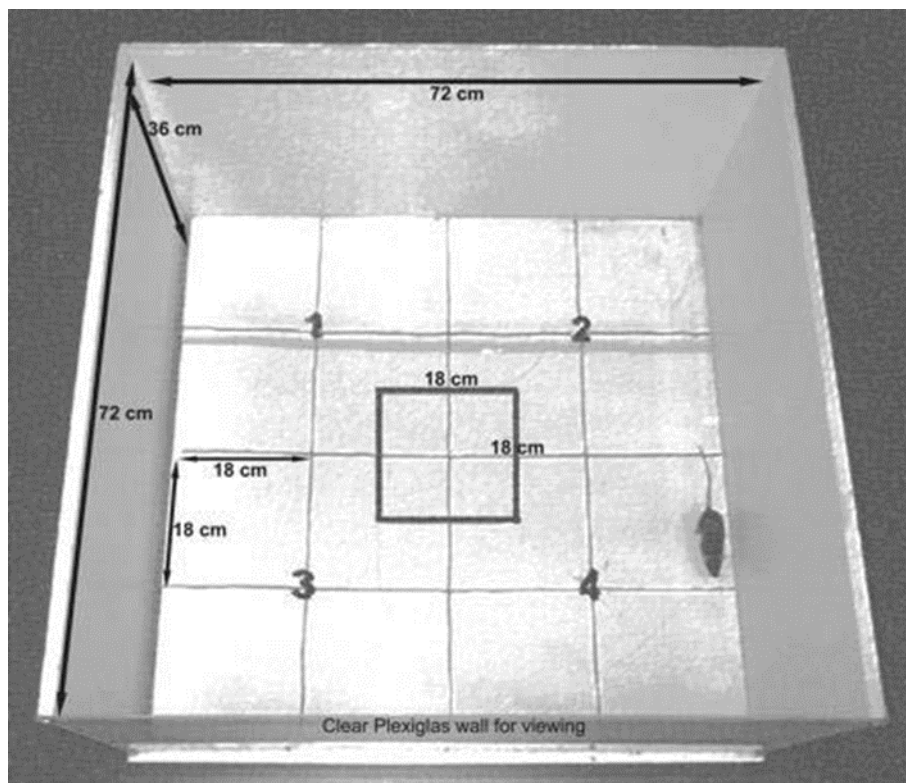
postavljanjem subjekta (organizma) u njemu novi prostor te mu bijeg biva spriječen zidovima koji ga okružuju.“ OFT jedan je od najviše korištenih instrumenata za proučavanje ponašanja životinja u bihevioralnoj znanosti (Belzung 2014). Glavne karakteristike koje su zaslužne za toliko široku primjenu i uporabu testa otvorenog polja su: jednostavnost aparature za istraživanje, brza i laka mjerenja jasno definiranih ponašanja te općeprihvaćena interpretacija dobivenih rezultata (Walsh i Cummins 1976). Štoviše, određena ponašanja koja se mogu izmjeriti osjetljiva su na širok spektar genetskih, iskustvenih, fizioloških te farmakoloških manipulacija (Gould 2009). Pod standardiziranim uvjetima ovaj test je pouzdan dajući ponovljiva mjerenja u velikom rasponu neovisnih varijabli. Walsh i Cummins (1976) autori su više istraživanja iz područja neuroznanosti rađenih s OFT-om te daju sveobuhvatnu kritiku naglašavajući da se opasnosti koje dolaze iz nekvalificirane generalizacije u pozadini genetike i eksperimentalnog ispitivanja moraju uzeti u obzir.

## 2.1. Povijesni pregled testa otvorenog polja

Začetnikom testa otvorenog polja smatra se američki psiholog Calvin S. Hall (1934) koji ga je 1934. godine razvio s ciljem ispitivanja emocionalnog stanja glodavaca. U svojem istraživanju koristio je glodavce te je uzimao defekaciju kao mjeru bojažljivosti. Kako je vrijeme prolazilo sve je više i više varijabli mjereno i korišteno u testovima otvorenog polja. Kako je broj varijabli rastao, sve je više bilo propitivanja ispravnosti i pouzdanosti mjerenih varijabli (Walsh i Cummins 1976). Prvotno se ovaj test koristio za mjerenje emocionalnog stanja kod štakora te se ubrzo ispostavilo da je jednako uspješan i za proučavanje ponašanja kod miševa. Hall (1934) se u testu otvorenog polja služio dobro osvijetljenim kružnim poljem polumjera oko 1,2 metara koje je bilo okruženo zidom visokim 0,45 metara. Štakori su bili postavljeni pojedinačno u arenu gdje je bilježeno njihovo ponašanje tijekom 2 minute te se postupak ponavljao tokom više dana. U nekim slučajevima štakori su bili testirani nakon 24 ili 48 sati ne hranjenja. Primijećeno je da su štakori pokazivali povećanu lokomociju kada su bili uskraćeni za hranu, dok je kod nekih jedinki zamijećeno da uopće nisu jeli usprkos duljem vremenskom periodu uskraćivanja hrane te su ove jedinke nazvane „emocionalnim“. Te jedinke su u usporedbi s „neemocionalnim“ štakorima pokazivale povećanu tigmotaksiju (više vremena su provodili u perifernom dijelu arene, održavajući uvijek dodirni kontakt sa zidovima putem svojih osjetnih dlačica – vibrisa). Također su imali veću stopu defekacije i uriniranja (Belzung 2014).

## 2.2. Izgled otvorenog polja (OF)

Test otvorenog polja (OFT) provodi se u otvorenom polju (*open field* – skraćeno OF) koje je okruženo zidovima čija je svrha sprječavanje bijega organizma koji se promatra. Polje je najčešće označeno mrežom kvadrata jednake veličine. OF može biti sastavljen od raznih materijala poput pleksiglasa, eloksiranog aluminija, polipropilena ili čak bijelo ili crno obojene šperploče. Također može biti raznih veličina i oblika: okrugli, pravokutni i kvadratni. Veličina ovisi o životinji koja se mjeri te bi arena trebala biti takve veličine da se dobije dojam „otvorenosti“ u središnjem dijelu OF-a. Bilježenje pokusa može započeti na njegovom samom početku (nakon postavljanja životinje u arenu) ili nakon određenog vremena (najčešće nakon određenog broj minuta). Trajanje mjerenja varira od samo nekoliko minuta pa do nekoliko sati (Stanford 2007). Za prvi primjer uzimam OF kvadratnog oblika korištenog za testiranje OFT-a na štakorima vrste *Rattus norvegicus*, Berkenhout, albino soja mase između 150 i 200 grama (Slika 1). Izrađen je od šperploče dimenzija 72 x 72 cm i 36 cm visine. Pod i zidovi obojani su u neutralnu bijelu boju te je pod podijeljen na 16 jednakih kvadrata, svaki 18 x 18 cm, linijama povučenim ispod prozirnog poda od pleksiglasa plavim markerom (Ijomone 2015).



Slika 1. Primjer OF-a kvadratnog oblika veličine 72 x 72 x 36 cm koji se koristi u testu otvorenog polja. Preuzeto iz Ijomone (2015).

U drugom primjeru OFT se provodio u OF-u kružnog oblika, a miš je bio životinja čije se ponašanje istraživalo (Slika 2). Dimenzije OF-a su 40 cm u promjeru te 30 cm visine. Pod je podijeljen na središnji kružni dio koji predstavlja centralni dio OF-a te na 6, radijalnim linijama podijeljenih, polja koja čine njegov periferni dio (Belzung 2014).



Slika 2. Primjer OF-a okruglog oblika koja se koristi u testu otvorenog polja. Preuzeto iz Belzung (2014).

### 2.3. Metodologija OFT-a

Metodologija provedbe testa otvorenog polja (OFT) sastoji se od sljedećih postupaka. Prostorija u kojoj se vrši mjerenje trebala bi biti zvučno izolirana te osigurana od nenamjernog uznemiravanja tokom izvođenja eksperimenta. Osvjetljenje otvorenog polja (OF) treba biti konzistentno. Nakon postavljanja prostorije te OF-a modelni organizmi koji će se koristiti u istraživanju transportiraju se u prostoriju za testiranje minimalno sat vremena prije provođenja testa kako bi se aklimatizirali na uvjete koji vladaju ondje. Oni se zatim postavljaju svaki u svoj OF i to u njegovo centralno područje. Eksperiment se može izvoditi s nekoliko jedinki istovremeno ukoliko ih je veliki broj, ali odvojeno svaki u svojoj areni. Važno je očistiti OF od nečistoća te dezinficirati ga sa 70 % etanolom ili nekim drugim dezinfekcijskim sredstvom između svakog novog uvođenja organizma kako bi se uklonili tragovi i mirisi prijašnje jedinice. Ukoliko osoba koja provodi testiranje ostaje u prostoriji za testiranje mora biti mirna i svesti

kretnje na minimum jer bilo kakav nagli pokret ili zvuk može značajno utjecati na provođenje eksperimenta. Organizam koji se promatra slobodno se kreće unutar kutije te se bilježi njegova aktivnost. Trajanje samog ispitivanja ovisi o cilju istraživanja. Ukoliko se radi o istraživanju novog okoliša preporučeno vrijeme ispitivanja je 5 minuta, dok ukoliko se želi ispitati habituacija na organizmu već poznati okoliš onda je preporučeno vrijeme ispitivanja 30 minuta. Po završetku ispitivanja organizmi se vraćaju nazad u svoje kaveze (Gould 2009). Današnja oprema za postavljanje OFT-a uključuje određeni stupanj modernizacije te stoga uključuje i kameru koja uz prilagođeni softver bilježi veliku količinu podataka te automatizira sam proces obrade istih.

## 2.4. Varijabilni čimbenici

Poradi primjene OFT-a na cijelom spektru životinja od beskralježnjaka (žohari, pauzi, pčele, jastozi), ptica (poput domaće kokoši, prepelica, vrana) pa sve do sisavaca (telad, svinje, janjad, zečevi, majmuni), a osobito velik broj testiranja rađen je na glodavcima (štakori, miševi, skočimiševi, voluharice) postoji varijabilnost između korištenih procedura i protokola (Belzung 2014). Također, način upotrebe OFT-a ne ovisi samo o vrsti subjekta koji se koristi već i o cilju istraživanja. Iako se OFT smatra standardiziranim testom, procedura može varirati od istraživanja do istraživanja. Neki od čimbenika koji mogu varirati su sljedeći. Veličina otvorenog polja (OF) od 20 x 20 cm pa sve do cijele prostorije, oblik OF-a (kvadratni, pravokutni i kružni), razina osvjetljenja OF-a, upoznatost s OF-om (susreće li se organizam prvi puta s OF-om ili je test ponavljan više puta), trajanje testiranja od 1 minute pa sve do pola sata, uvjeti u kojima su organizmi držani prije i poslije testiranja (individualno ili u grupama), spol životinje, doba dana u trenutku provođenja eksperimenta, motivacija (nahrinjene/izgladnjele, žedne/napojene životinje), prisutnost hrane, novog objekta, skloništa, životinje iste vrste, predatora i/ili mirisa predatora, tip podataka koji se prikupljaju, stupanj automatizacije i način provođenja analize ponašanja (Choleris i sur. 2001).

## 2.5. Utjecaj oblika otvorenog polja (OF) na mjerenje

Rađeno je istraživanje gdje je promatran utjecaj oblika arene na rezultate OFT-a. Zapaženo je da su štakori u areni kvadratnog oblika češće ulazili u središnji dio arene te su više vremena provodili u perifernoj zoni uz zidove arene u odnosu na testiranje provedeno u areni kružnog oblika. Posljedica ovih razlika može biti iluzija da prostor izgleda „otvoreniji“ u areni kvadratnog oblika te izostanak kutova u kružnoj areni gdje se štakori pokušavaju skrivati. Za



zaključiti je da zbog statistički neznačajne razlike oba oblika arene koja se koriste u OFT-u mogu biti jednakovrijedno korištena (Grabovskaya i Salyha 2014).

## 2.6. Mjereni čimbenici u OFT-u

Osim klasičnog praćenja lokomocije organizma mogu se promatrati i neki drugi parametri poput aktivnosti dotjerivanja, podizanja na stražnje noge te defekacije. Zajedno, ovi parametri daju uvid u opće motoričke sposobnosti i stupnju interesa za istraživanje novog okoliša. Od svih parametara koji se mjere lokomocija i defekacija dva su najčešća u testu otvorenog polja (OFT). U Tablici 1 iznesen je popis najčešće korištenih čimbenika u OFT-u. U Tablici 2 dan je primjer mjerenih čimbenika na miševima s pripadajućim objašnjenjima korištenim u OFT-u.

Tablica 1. Popis najčešće korištenih zavisnih čimbenika u testu otvorenog polja (OFT). Tablica je izmijenjena prema Gould (2009).

<b>KRETANJE</b>	<b>LOKACIJA</b>	<b>AUTONOMNI ŽIVČANI SUSTAV</b>
<b>prijeđena ukupna udaljenost (stvarna ili relativna)</b>	<b>vrijeme provedeno u centru</b>	<b>defekacija</b>
<b>vrijeme kretanja</b>	<b>ulasci u centar</b>	<b>uriniranje</b>
<b>vrijeme mirovanja</b>		
<b>podizanje na stražnje noge</b>		
<b>dotjerivanje</b>		
<b>druga stereotipna ponašanja</b>		

Tablica 2. Primjer popisa čimbenika s njihovim objašnjenjem korištenim na miševima u OFT-u. Tablica je izmijenjena prema Brown i sur. (1999).

<b>ČIMBENICI</b>	<b>OBJAŠNENJE</b>
<b>prijelaz preko linije</b>	<b>kada životinja prijeđe jednu od linija koje čine mrežu kvadrata na OF-u sa sve četiri noge</b>
<b>ulazak u centar</b>	<b>broj ulazaka i vrijeme provedeno u centralnom dijelu OF-a kojeg sačinjavaju 4 kvadrata</b>
<b>podizanje</b>	<b>podizanje na stražnje noge ili oslanjanje o zid OF-a</b>
<b>njuškanje zraka</b>	<b>podizanje glave te pomicanje nosa</b>
<b>njuškanje poda</b>	<b>spuštanje glave na tlo i njuškanje po rubovima i kutevima OF-a</b>
<b>dotjerivanje</b>	<b>kada se životinja u položaju mirovanja obližuje i češka koristeći svoje prednje ili stražnje noge</b>
<b>mirovanje</b>	<b>kada je životinja potpuno bespokretna</b>
<b>uriniranje</b>	<b>broj zapaženih mrlja od urina</b>
<b>defekacija</b>	<b>broj zapaženih mrlja od fekalija</b>

## 2.7. Način prikupljanja podataka

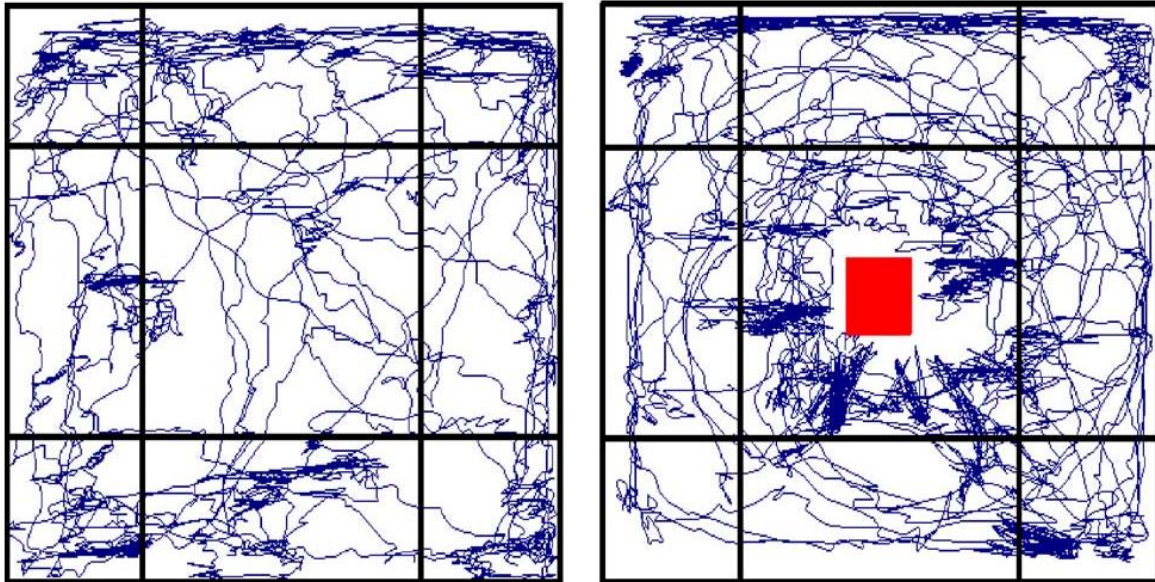
Podaci u OFT-u se mogu prikupljati na više načina. Povijesno prva metoda praćenja koja se koristila bila je mreža paralelnih linija iscrtanih na podu arene, ponekad koncentričnih u slučaju arene kružnog oblika, čineći mrežu kvadrata odnosno zakrivljenih oblika. Promatrač (eksperimentator ili videokamera) potom prati koliko je puta miš (subjekt) prešao iz jednog iscrtanog kvadratića u drugi te se prate ulasci u centralni i periferni dio arene. Drugi način je korištenje infracrvenog senzora pokreta koji se uglavnom postavlja u dvije dimenzije (po širini i dubini arene), a ponekad i u treću dimenziju (visina) kako bi se motrilo podizanje subjekta na stražnje noge. Sve je veća potreba za bržom, ali jednako kvalitetnom obradom podataka koji nastaju kroz mnogo provedenih testiranja na velikom broju životinja u području bihevioralne znanosti. Treći mehanizam koji se u današnje vrijeme najčešće koristi je postavljanje videokamere iznad arene te upotreba kompatibilnog softvera koji će bilježiti kretanja subjekta što uvelike pojednostavljuje praćenje ponašanja, kretanja i drugih aktivnosti životinja u OFT-u te analizu i računanje potrebnih parametara (Gould 2009). Zahvaljujući brzom napretku

znanosti otvaraju se mogućnosti čak istovremenog praćenja više životinja, objekata te međusobnih interakcija istih prisutnih u areni. Na tržištu postoji već pozamašan broj programa koji koriste metodu dubokog učenja koja omogućuje istovremeno višestruko praćenje i obradu velike količine podataka. Neki od njih su „Tracktor“, „idTracker.ai“ te „YOLO“ (Mathis i Mathis 2020). Navedeno uvelike pomaže u obradi velike količine, kroz videosnimanja reproduciranih snimaka, značajno štedeći vrijeme koje bi bilo utrošeno pri ručnoj obradi podataka.

### 3. Test novog objekta (NOT)

To je test u kojem se pruža mogućnost životinji da istraži novi predmet (*novel object* – skraćeno NO) postavljen u njoj već poznati okoliš. Test novog objekta dobiva na sve većoj popularnosti kao eksperimentalna procedura korištena u bihevioralnoj znanosti. Novi objekt se postavlja u središte otvorenog polja, a ponašanje životinje (vrijeme provedeno u istraživanju NO-a i ukupna lokomotorna aktivnost) registrira se tijekom određenog vremenskog razdoblja. Odgovaranje na nove podražaje od iznimne je važnosti za preživljavanje u okolišu koji je stalno podložan promjeni. Shodno tome, novi podražaj istodobno može stimulirati istraživačko ponašanje ključalno za preživljavanje (potraga za hranom) te izbjegavanje potencijalno opasnih situacija (predator). Upravo zbog toga postoje 2 glavna ishoda u NOT-u: ukoliko životinja često prilazi njoj nepoznatom i novom objektu ponašanje se registrira kao istraživačko, nasuprot tome ako uporno izbjegava kontakt ili se uopće ne približava objektu ponašanje se registrira nalik tjeskobnom (Powell i sur. 2003).

Uz pomoć testa novog objekta mogu se spoznati određena ponašanja kod organizama koja se stavljaju u okvir „osobnosti“. U novije vrijeme NOT se koristi kako bi se spoznao i treći tip ponašanja – onaj nalik odvažnosti. Tako se razlikuju: „odvažan tip“, „istraživački tip“ te „tjeskoban tip“ (Andersson i sur. 2014). Zbog toga što NOT koristi OF jednak onomu koji se koristi pri OFT-u postoji jednaka raznolikost u veličini, obliku i drugim parametrima koji vladaju tokom provođenja eksperimenta. Štoviše, kod NOT-a postoji još i velika varijabilnost u odabiru samog NO-a. Novi objekt može biti od raznih materijala (plastičan, metalan, drven...), različitih veličina, boja pa i mogućnosti koje mogu dopustiti životinji da manipulira s njime. U nastavku se vidi prikaz kretanja miša u OF-u bez prisutnosti novog objekta dok se familizirao s OF-om koji mu je nepoznat te prikaz kretanja nakon habituacije uz prisutnost NO-a (Slika 3).



Slika 3. Prikaz uzorka kretanja miša tokom 5 minuta habituacije (lijevo) te prikaz kretanja pri izloženosti NOT-u (desno). Crveni pravokutnik u sredini prikazuje poziciju i veličinu korištenog novog objekta u odnosu na OF. Preuzeto iz: Powell i sur. (2003).

### 3.1. Metodologija NOT-a

Metodologija provedbe testa novog objekta (NOT) sastoji se od postupaka opisanih u poglavlju 2.3. Metodologija OFT-a te postupaka koji se nastavljaju nakon habituacije organizma na OF. Postupak izvođenja testa novog objekta sastoji se od 2 faze: habituacije te testne faze. U prvoj fazi životinja slobodno istražuje OF te se akomodira na njoj sasvim nov i nepoznati okoliš, dok se u drugoj fazi susreće s nepoznatim novim objektom u sada već poznatom okolišu te se stavlja naglasak na praćenje pristupa objektu. Između ove dvije faze životinja se uklanja iz OF-a i stavlja u kavez u kojem inače obitava. Novi objekt se stavlja u središnji dio OF-a te se potom životinja vraća nazad iz kaveza u njoj već poznati OF. Ima li oklijevanja u prilasku, izbjegava li ga, ukoliko mu prilazi koliko često to radi te što radi sa samim objektom; liže, njuška, pokušava povući, popeti se na njega i slično, neki su od faktora koji se promatraju. Frekvencija i vrijeme koje je subjekt proveo pored novog objekta su mjereni (Brown i sur. 1999).

### 3.2. Važnost odabira novog objekta (NO)

Znanstvenici uglavnom opisuju fizičke karakteristike objekta (poput oblika, boje i materijala) koji se koristi u NOT-u, dok zanemaruju kakav pristup sam objekt omogućuje životinji. Utvrđeno je da postoji značajna razlika u odabiru objekta koji se koristi u NOT-u

između objekata na koje se životinja može popeti i objekata koje životinja može samo dodirivati. Miševi su provodili više vremena istražujući objekte na koje su se mogli popeti, dok su se značajno brže habituirali u areni s objektom koji se mogao samo dodirivati. Stoga je od ključne važnosti sam odabir objekta koji će se koristiti u određenom istraživanju (Heyser i Chemero 2012).

### 3.3. Važnost rukovanja životinja („handling“)

Rukovanje miševa netom prije provođenja NOT-a značajno je povećalo učestalost pristupa novom objektu unutar prvih 5 minuta testiranja. Povećana želja za istraživanjem novog objekta pripisuje se rukovanju koje smanjuje ponašanje povezano s izbjegavanjem inducirano od strane eksperimentatora. Također, rukovani miševi su provodili više vremena u centralnom dijelu arene. Za zaključiti je da učinak rukovanja sa životinjom prije provođenja NOT-a može prevagnuti između ravnoteže u pristupanju novom objektu. Miš kada vidi njemu novi i nepoznati objekt u središtu OF-a on u njemu počne pobuđivati kompleksan set odgovora koji nastoji biti u ravnoteži između nasrtanja na objekt i naglog povlačenja od objekta (Powell i sur. 2003).

### 3.4. Utjecaj socijalnosti na NOT

Društveni odnos kod testiranih životinja pokazao je dvojak učinak na istraživanje novog objekta potičući odnosno smanjujući aktivnosti istraživanja i učenja ovisno od vrste do vrste korištene u istraživanju. Ovakav nekonzistentan rezultat pripisuje se razlici u razini povezanosti među jedinkama te razlici u osobnosti između individua. U istraživanju provedenom na gavranima – *Corvus corax* L., jedinke koje su bile testirane samostalno pokazivale su konzistentne rezultate u odgovoru na različite nove objekte koje su susretale. Nasuprot tome kod jedinki koje su bile testirane u paru, zabilježeni su drugačiji rezultati. Ukoliko su u paru bile jedinke koje su međusobno u uskom srodstvu brže su prilazile novom objektu te su više vremena provodile sjedeći jedna pored druge za razliku od uparenih jedinki koji nisu bili u srodstvu. Kod muških parova podređeni je mužjak bio značajno brži u prilasku novom objektu za razliku od dominantnog, što nije bio slučaj kod ženskih parova. Kod „miješanih“ parova dominantni mužjaci su bili ti koji su brže prilazili novom objektu. Može se zaključiti da socijalnost svakako utječe na ponašanje životinja koje se testiraju. Učinak zavisi o vrsti društvenog odnosa između jedinki te o kombinaciji spolova (Stöwe i sur. 2006).

### 3.5. Upotreba testa novog objekta kod primata

Provedeno je istraživanje na majmunima vrste *Chlorocebus pygerythrus* F. Cuvier, gdje je uz pomoć NOT-a ispitivano „odvažno ponašanje“. Istraživanje se odvijalo u prirodnom rezervatu na divljim jedinkama majmuna koje su se priviknule na promatranje od strane eksperimentatora. U NOT-u koristila su se 4 objekta nepoznata divljim majmunima i to: biljka, plastični skakavac, plastični pauk te plastični gušter. Biljka, skakavac i pauk polučili su vrlo slične i konzistentne reakcije kod majmuna, dok je gušter izazvao različit spektar odgovora. Majmuni su na guštera većinom reagirali kao i kada reagiraju na zmijske prirodno prisutne u njihovom okolišu što dokazuje da su guštera percipirali kao potencijalnu opasnost te na njega reagirali „antipredatorskim odgovorom“. Tokom istraživanja zabilježeni su svi susreti majmuna sa zmijskama te je zabilježeno na individualnoj razini koje jedinke majmuna su se koliko puta susrele sa zmijskama. Utvrđena je bliska korelacija između broja zabilježenih susreta između majmuna i zmijske te „odvažnog ponašanja“ pri susretu novog objekta. Također, primijećeno je odvažnije ponašanje kod subadultnih mužjaka koji su i imali više susreta sa zmijskama u odnosu na odrasle ženke. Pomoću rezultata „odvažnog ponašanja“ prema trima novim objektima (biljci, skakavcu i pauku) jednako kao i pomoću broja susreta zmijske moguće je predvidjeti ponašanje pri susretu s gušterom koji je predstavljao potencijalnog predatora (Blaszczyk 2016).

## 4. Primjena OFT-a i NOT-a u bihevioralnoj znanosti

### 4.1. Uvod u bihevioralnu znanost

Neuroznanost je znanstvena disciplina koja istražuje živčani sustav i njegovu funkciju. Sam živčani sustav može biti proučavan s više razina od strukture membrane živčane stanice pa sve do složenih i kompleksnih aktivnosti mozga. Iz tog razloga neuroznanost je multidisciplinarno područje te njenom boljem razumijevanju pridonose područja biofizike, biokemije, mikrobiologije, histologije, neuroanatomije, neurofiziologije, neuropsihologije te srodnih kognitivnih i informacijskih znanosti (Encyclopedia.com). Tako se javlja i bihevioralna znanost kao jaka grana neuroznanosti koja se bavi proučavanjem kognitivnih procesa te obrazaca ponašanja životinja koji proizlaze iz interakcije s okolišem i drugim organizmima u laboratorijski kontroliranim uvjetima. Ona uključuje sustavnu analizu te istraživanje ponašanja životinja kroz promatranje istih u prirodi (etologija je grana biologije koja istražuje ponašanje životinja u njihovom prirodnom okolišu), potom provođenje znanstvenog eksperimenta u kontroliranim uvjetima te matematičko modeliranje. Bihevioralna znanost proučava kognitivno

procesiranje i reakcije organizama na određene podražaje te nastoji dati precizan i objektivan odgovor na zapažena ponašanja. Ljudi su od davnina motrili i zapažali obrasce ponašanja životinja. U samim počecima čovječanstva promatranje je proizašlo iz potrebe za preživljavanjem dok je kasnije ono bilo vođeno znatiželjom, divljenjem i težnjom za što boljom spoznajom živoga svijeta oko sebe. Charles Darwin je uvelike pomogao dajući novi koncept u shvaćanju porijekla i svrhe samog ponašanja organizama. On se pitao mogu li se određeni obrasci ponašanja pojaviti kao rezultat prirodne selekcije, što su kasnije biolozi i potvrdili te donijeli zaključak da je to evolucijski odgovor organizma na uvjete koji vladaju u okolišu (Encyclopaedia Britannica).

#### 4.2. Upotreba glodavaca u neuroznanosti

Glodavci su dominantne životinjske vrste sisavaca koje se koriste u eksperimentalnim istraživanjima u području neuroznanosti. Američki zavod za agrikulturu (United States Department of Agriculture – USDA) bilježi pad uporabe velike većine životinjskih vrsta u znanstvenim istraživanjima u tridesetogodišnjem razdoblju od 1979. do 2009. godine. Značajan porast bilježi se u korištenju miševa te blagi porast u korištenju nečovjekolikih primata. Glavni razlog pojačane uporabe glodavaca s vremenom jest dobivanje transgeničnih životinja te pojava nokaut miševa. To su genetski modificirani miševi kod kojih je inaktiviran ciljani gen što je omogućilo znanstvenicima otkrivanje funkcije pojedinih gena te dobivanje raznih patoloških stanja. Glodavci su idealni modelni organizmi jer žive relativno kratko, često manje od 2 godine što olakšava i proučavanje procesa starenja te su poprilično mali što omogućava održavanje i rad s njima i u ograničenim prostorijama namijenjenim za pokuse. Miševi se brzo razmnožavaju, relativno su mali troškovi održavanja te je mišji genom vrlo sličan humanom genomu (Pankevich 2012).

#### 4.3. OFT i NOT u medicini

Test otvorenog polja jedan je od najpopularnijih eksperimentalnih postupaka korištenih u bihevioralnoj znanosti, a koristi se za procjenu učinaka različitih čimbenika na ponašanje nalik anksioznosti, uključujući djelovanje anksiolitika, posljedice lezija mozga ili genetskih mana. S njime se nadalje može mjeriti aktivnost životinja što omogućuje otkrivanje sedacije ili hiperaktivnog ponašanja kao i procjenu učenja i pamćenja (Belzung 2014). U nastavku ću dati kratki pregled korištenja OFT-a i NOT-a za razumijevanje patoloških procesa koji se javljaju kod osoba oboljelih od raznih poremećaja i bolesti.

Kako razvoj lijekova za liječenje neuromuskularnih poremećaja napreduje, tako je i sve veća potreba za dobro uspostavljenim prekliničkim istraživanjima. Zapravo, javlja se potreba za vrlo rigoroznom dobro definiranom metodologijom koja će dati egzaktnu, validnu i ponovljivu rezultate mjerenja. Iz tog razloga znanstvenici koji su ujedno i članovi Konzorcija za urođene mišićne bolesti (*Congenital Muscle Disease Consortium*) razvili su Standardizirani operativni postupak (*Standard Operating Procedure – SOP*) za mjerenja u OFT-u (Tatem i sur. 2014).

Može se testirati utjecaj određenih supstanci i lijekova na ponašanje glodavaca te spoznati štetnost za čovjeka. Nokaut miševi korišteni u proučavanju Alzheimerove bolesti bili su presudni za razumijevanje osnovnih procesa učenja i pamćenja (Pankevich 2012).

Povećana upotreba psihostimulansa metilfenidat hidroklorida (MPH) kod djece dovela je do potrebe za detaljnim istraživanjem o sigurnosti ovog lijeka. MPH se koristi pri liječenju ADHD-a odnosno poremećaja nedostatka pažnje i hiperaktivnosti. Rezultati istraživanja su pokazali da MPH značajno utječe na reduciranje straha i anksioznog ponašanja te povećanje interesa za istraživanje te da ne utječe na sposobnost prostornog učenja kod subadultnih miševa. Stoga je ovo istraživanje dobra osnova za daljnja klinička istraživanja sigurnosti ovoga lijeka (Carrey i sur. 2000).

Predlaže se korištenje NOT-a kod istraživanja poremećaja iz spektra autizma. Ograničeni i ponavljajući obrasci ponašanja glavna su odlika kod poremećaja iz spektra autizma. Postupak se sastoji od individualnog praćenja obrasca ponašanja miševa u otvorenom polju u kojem se nalaze 4 njima nepoznata objekta. Bilježi se redoslijed i način na koji miš pristupa određenom objektu te se iz snimljenih podataka može vidjeti ukoliko postoji neki uzorak po kojem miš istražuje nove objekte te koji su od njih preferirani. Uz pomoć testa novog objekta moguće je raditi istraživanja novih lijekova koji bi pomogli kod liječenja poremećaja iz spektra autizma (Steinbach i sur. 2016).

#### 4.4. Kritika

Test otvorenog polja prisutan je u neuroznanosti još od 1934. godine (Hall 1934). U tako dugom razdoblju vrijeme je potpomoglo razvoju čitavog spektra varijanti OFT-a i korištenju različite metodologije pri provedbi samog eksperimenta. Autori Walsh i Cummins (1976) 40-ak godina kasnije daju prvu sveobuhvatniju kritiku na korištenje OFT-a te naglašavaju opasnosti nekvalificirane generalizacije u provedbi eksperimenta.



Američki psiholog Calvin S. Hall (1934) razvio je test otvorenog polja s ciljem ispitivanja emocionalnog stanja kod glodavaca. U današnje vrijeme kritizira se da pojedine varijable korištene u OFT-u i NOT-u mogu imati jednako pozitivne kao i negativne ishode. Sve reakcije ponašanja koje su bilježene tokom provođenja OFT-a su bile u jednom ili drugom trenutku interpretirane kao mjera „emocionalnosti“. Zbog nedosljednih rezultata, koji su bili teško ponovljivi pri ponovnim testiranjima, korisnost samog ispitivanja „emocionalnosti“ više puta je bila propitivana, a razlog tomu je i nepostojanje stabilnog vanjskog kriterija za provjeru objektivnosti i validnosti samog eksperimenta (Tachibana 1980). Suarez i Gallup (1983) izdvajaju 2 važna čimbenika u procesu samog testiranja putem OFT-a koji utječu na rezultate provedbe eksperimenta. Prvi čimbenik jest da je većina životinja podvrgnuta naglom odvajanju iz socijalne skupine tokom testiranja, a drugi jest taj da su životinje vrlo vjerojatno izložene nenamjernom, tipičnom susretu s grabežljivcem (čovjekom) tokom procesa odvajanja iz kaveza u kojem inače obitava i prenošenja u arenu za provođenje OFT-a. Stoga mjereno ponašanje u OF-u može biti odraz želje subjekta za povratak u društveno okruženje te izbjegavanje daljnje predatorske aktivnosti. Oni stoga kreiraju vlastiti model unutar OFT-a koji nazivaju „ponovna uspostava socijalnog kontakta“ (*social reinstatement*) u kojem prate ponašanje subjekta povezano s tendencijom povratka u svoje društveno okruženje (Suarez i Gallup 1983).

U kritiziranju OFT-a iznosi se problematika nekoordiniranosti u metodologiji odnosno samom procesu provedbe eksperimenta. Previše je varijanti i kombinacija parametara koji se koriste pod jednim nazivom – test otvorenog polja. OF može biti sastavljen od raznih materijala poput pleksiglasa, eloksiranog aluminijskog, polipropilena ili čak bijelo ili crno obojene šperploče. Raznih veličina i oblika: okrugli, pravokutni i kvadratni. Bilježenje može započeti na samom početku pokusa, netom nakon postavljanja životinje u arenu ili nakon određenog vremena. Trajanje mjerenja varira od samo nekoliko minuta pa do nekoliko sati. Parametri poput mjesta gdje su životinje zbrinute dok nisu u fazi testiranja, veličine kaveza u kojem se drže, starosti životinje, prisutnosti/odsutnosti rukovanja životinjom prije testiranja, mirisa prostorije, mjesta postavljanja životinje u OF te razine osvjetljenja OF-a razlikuju se od laboratorija do laboratorija te ozbiljno utječu na završne rezultate eksperimenta. Također, javlja se i problem kod ponavljajućeg testiranja gdje životinja mijenja svoje ponašanje, osobito lokomociju, gdje može doći do pogreške u tumačenju rezultata (Stanford 2007). Još veći problem nastaje ukoliko se u provedenim istraživanjima detaljno ne specificiraju svi uvjeti koji vladaju tokom provođenja eksperimenta jer pri pokušaju ponavljanja već provedenog eksperimenta, bez tih

podataka, teško je doći do validnog rezultata. Važno je za naglasiti da je OFT prvotno osmišljen s namjerom da putem praćenja defekacije mjeri „emocionalnost“ kod životinja (Hall 1934). Kasnije je OFT korišten za praćenje promjena u ponašanju životinja uzrokovanim primjenom određenih psihoaktivnih spojeva ili nekih drugih čimbenika. Neki znanstvenici smatraju da je većina kretanja u OFT-u posljedica istraživačkog nagona. Životinje koje provode više vremena u centralnom dijelu arene smatraju se manje „bojažljivim“ odnosno „tjeskobnim“ u odnosu na one koje su provodile više vremena u perifernoj zoni. Neki smatraju da je jedini pouzdani način za mjerenje spontane lokomocije životinja snimanje njihovog kretanja dok se nalaze u svojem kavezu u kojem inače obitavaju. Preporuča se, ukoliko se radi s glodavcima (najčešće korištenim), da je bolje raditi u noćnim satima, dok su životinje u svojoj aktivnoj fazi dnevnog ciklusa (Stanford 2007).

Postupak otvorenog polja (OFT) bazira se na prisilnom sučeljavanju organizma s OF-om, premda se u nekim istraživanjima životinji dopušta slobodan ulaz u prostor OF-a iz njihovog kaveza u kojem inače obitavaju. U slobodnom pristupu OF-u životinja često pokazuje znakove negodovanja i neodlučnosti pri ulasku u taj dobro osvijetljen prostor. Takvo ponašanje upućuje da i sam OF može biti stresno okruženje za životinju. U slučaju prisilnog sučeljavanja s otvorenim poljem, životinja se najčešće postavlja u središnje područje te se bilježi njeno ponašanje obično oko 5 minuta. Ponašanje koje se bilježi je sljedeće: lokomocija, učestalost podizanja na stražnje noge i oslanjanja o zidove arene, kao i dotjerivanje. Povećanje vremena provedenog u centralnom dijelu arene, veći omjer vremena provedenog u centralnom dijelu u odnosu na totalno kretanje te kraće oklijevanje ulaska u centralno područje su indikatori reduciranog tjeskobnog ponašanja. Unutar svojeg preglednog rada OFT-a Belzung (2014) tvrdi da osobe koje provode eksperiment ne mjere zapravo čimbenike za koje se misli da su povezani s istraživačkim ponašanjem subjekta, već mjere odgovor subjekta na stresni događaj. Dodatno, mogu se mjeriti fiziološki, neurološki i endokrinološki parametri. Izmjeren je povećan broj otkucaja srca uz pomoć telemetrije kao i povećana razina kortizola u plazmi kada se životinja nalazi u „otvorenom polju“ što su očiti pokazatelji stresa (Belzung 2014).

Dva su glavna čimbenika koja induciraju stres kod životinja u OF-u i to su: testiranje jedinki odvojeno jednih od drugih te prisilno sučeljavanje s potpuno novim okolišem. Kod prvog faktora životinja je odvojena od svoje socijalne grupe kojoj pripada, što ne predstavlja nužno problem za solitarne životinje, ali može biti stresno za životinje koje žive u zajednici. Organizam koji se proučava, kada se nađe u njemu novom okolišu, nema mogućnost povlačenja

u njemu neko poznato mjesto niti može predvidjeti posljedice bivanja u tom okolišu. Također, strah od otvorenog prostora kod nekih životinja može dodatno pridonijeti nelagodnosti u OF-u (Belzung 2014).

## 5. Zaključak

Primjena testova koji mjere ponašanje životinja (OFT i NOT) vrlo je široka osobito nakon proširivanja upotrebe eksperimentalnog istraživanja s područja biheviorizma na discipline poput neuroznanosti i psihofarmakologije koje su usko povezane s medicinom. OFT i NOT su uvelike doprinijeli razumijevanju patoloških procesa koji se javljaju kod osoba oboljelih od raznih poremećaja i bolesti u vidu praćenja ponašanja životinja u laboratorijski kontroliranim uvjetima. Kroz testove ponašanja može se promatrati djelovanje anksiolitika, koje su posljedice lezija mozga ili genetskih mana, otkriti sedacija ili hiperaktivno ponašanje, kao i napraviti procjena učenja i pamćenja te istražiti općeniti učinak lijekova i supstanci na ponašanje (Belzung 2014). Znanje prikupljeno istraživanjima u području neuroznanosti korištenjem životinja u eksperimentalne svrhe dovelo je do velikog napretka u poimanju temeljnog znanja o funkciji mozga i živčanog sustava. Saznanja prikupljena na ovaj način od velikog su značaja za razumijevanje i liječenje neuroloških i mentalnih bolesti. Stoga se može zaključiti da životinje korištene u eksperimentalne svrhe uvelike doprinose boljitku čovječanstva (CARE). Nužno je provoditi strogu kontrolu nad uvjetima koji vladaju tokom provođenja testiranja i razraditi što koncizniju metodologiju samog odvijanja eksperimenta kako bi rezultati bili objektivni, ponovljivi i validni.

## 6. Literatura

- Andersson, A., Laikre, L. i Bergvall, U. A. (2014): Two shades of boldness: Novel object and anti-predator behavior reflect different personality dimensions in domestic rabbits. *Journal of Ethology*. Springer-Verlag. Tokyo. **32**(3): 123–136. doi: 10.1007/s10164-014-0401-9.
- Belzung, C. (2014): Open-Field Test. *Encyclopedia of Psychopharmacology*. Springer. Berlin Heidelberg, str. 1–5. doi: 10.1007/978-3-642-27772-6\_158-2.
- Blaszczyk, M. B. (2016): Boldness towards novel objects predicts predator inspection in wild vervet monkeys. *Animal Behaviour*. Academic Press. **123**(2017): 91–100. doi: 10.1016/j.anbehav.2016.10.017.
- Brown, R. E., Corey, S. C. i Moore, A. K. (1999): Differences in measures of exploration and fear in MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice. *Behavior Genetics*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. **29**(4): 263–271. doi: 10.1023/A:1021694307672.
- Carrey, N., McFadyen, M. P. i Brown, R. E. (2000): Effects of subchronic methylphenidate hydrochloride administration on the locomotor and exploratory behavior of prepubertal mice. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*. Mary Ann Liebert Inc. **10**(4): 277–286. doi: 10.1089/cap.2000.10.277.
- Choleris, E. i sur. (2001): A detailed ethological analysis of the mouse open field test: Effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Pergamon. **25**(2001): 235–260. doi: 10.1016/S0149-7634(01)00011-2.
- Gould, T. D. (2009): Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests. 1. poglavlje The Open Field Test. Gould, T. D., Dao, D. T. i Kovacsics, C. E. *Neuromethods*. Humana Press. New York. str. 1–20 (336) doi: 10.1007/978-1-60761-303-9.
- Grabovskaya, S. V. i Salyha, Y. T. (2014): Do Results of the Open Field Test Depend on the Arena Shape?. *Neurophysiology*. Springer. New York. **46**(4): 376–380. doi: 10.1007/s11062-014-9458-x.

- Hall, C. S. (1934): Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*. **18**(3): 385–403. doi: 10.1037/h0071444.
- Heyser, C. J. i Chemero, A. (2012): Novel object exploration in mice: Not all objects are created equal. *Behavioural Processes*. Elsevier. **89**(2012): 232–238. doi: 10.1016/j.beproc.2011.12.004.
- Ijomone, O. M. (2015): A study of the effects of nicotine on hippocampal and striatal histomorphology, neurogenesis and neurobehaviours in adult male wistar rats. Faculty of Basic Medical Sciences. Obafemi Awolowo University. Nigeria. Diplomski rad. doi: 10.13140/RG.2.2.29581.54246.
- Mathis, M. W. i Mathis, A. (2020): Deep learning tools for the measurement of animal behavior in neuroscience. *Current Opinion in Neurobiology*. Elsevier. **60**(2019): 1–11. doi: 10.1016/j.conb.2019.10.008.
- Pankevich, D. E. i sur. (2012): International Animal Research Regulations: Impact on Neuroscience Research: Workshop Summary. 4. poglavlje Animals in Neuroscience Research. *The National Academies Press*. Institute of Medicine i National Research Council. Washington, DC. str. 29–33 (90) ISBN: 978-0-309-25208-9.
- Powell, S. B. i sur. (2003): The balance between approach and avoidance behaviors in a novel object exploration paradigm in mice. *Behavioural Brain Research*. Elsevier, **152**(2004): 341–349. doi: 10.1016/j.bbr.2003.10.020.
- Stanford, S. C. (2007): The Open Field Test: Reinventing the wheel. *Journal of Psychopharmacology*. **21**(2): 134–135. doi: 10.1177/0269881107073199.
- Steinbach, J. M., Garza, E. T. i Ryan, B. C. (2016): Novel object exploration as a potential assay for higher order repetitive behaviors in mice. *Journal of Visualized Experiments*. **114**(e54324):1–7. doi: 10.3791/54324.
- Stöwe, M. i sur. (2006): Novel object exploration in ravens (*Corvus corax*): Effects of social relationships. *Behavioural Processes*. Elsevier. **73**(2006): 68–75. doi: 10.1016/j.beproc.2006.03.015.

- Suarez, S. D. i Gallup, G. G. (1983): Social reinstatement and open-field testing in chickens. *Animal Learning & Behavior*. **11**(1): 119–126. doi: 10.3758/BF03212318.
- Tachibana, T. (1980): The open-field test: An approach from multivariate analysis. *Animal Learning & Behavior*. **8**(3): 465–467. doi: 10.3758/BF03199635.
- Tatem, K. S. i sur. (2014): Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *Journal of Visualized Experiments*. **91**(e51785):1–7. doi: 10.3791/51785.
- Walsh, R. N. i Cummins, R. A. (1976): The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*. **83**(3): 482–504. doi: 10.1037/0033-2909.83.3.482.
- Encyclopaedia Britannica. History and basic concepts – Animal behaviour. Dostupno na: <https://www.britannica.com/science/animal-behavior/History-and-basic-concepts#ref282489>, pristupljeno 10.9.2020.
- Encyclopedia.com. College & Higher Education Pathways. Neurosciences. Dostupno na: <https://www.encyclopedia.com/education/encyclopedias-almanacs-transcripts-and-maps/neurosciences>, pristupljeno 10.9.2020.
- The Committee on Animals in Research (CARE). Examples of the value of animal use in neuroscience from the FENS Committee on Animals in Research (CARE). Dostupno na: <https://www.fens.org/Outreach/CARE/About-CARE/?p=1>, pristupljeno 10.9.2020.

## 7. Sažetak

Bihevioralna znanost, kao podgrana neuroznanosti, bavi se proučavanjem kognitivnih procesa te obrazaca ponašanja životinja u laboratorijski kontroliranim uvjetima. Test otvorenog polja (*open field test* – skraćeno OFT) je jedan od najčešće korištenih metoda istraživanja u bihevioralnoj znanosti (Belzung 2014). Uz njega, u zadnje vrijeme test novog objekta (*novel object test* – skraćeno NOT) dobiva na sve većoj popularnosti. OFT i NOT primjenjivani su na cijelom spektru životinja od beskralježnjaka pa sve do odvedenijih sisavaca poput majmuna. U ovom radu dan je pregled u varijabilnost čimbenika unutar metodologije koji se koriste pri eksperimentalnom istraživanju. Vrlo je široka primjena testova OFT-a i NOT-a u medicini gdje se može pratiti djelovanje anksiolitika, koje su posljedice lezija mozga ili genetskih mana, otkriti sedacija ili hiperaktivno ponašanje, kao i napraviti procjenu učenja i pamćenja te istražiti općeniti učinak lijekova i supstanci na ponašanje (Belzung 2014). Mnogi znanstvenici iznijeli su kritiku na OFT i NOT gdje se iznosi problematika nekoordiniranosti u metodologiji odnosno samom procesu provedbe eksperimenta. Čimbenici poput rukovanja životinja prije testiranja, oblik novog objekta koji se koristi u NOT-u, odvajanje životinje od socijalne grupe pri testiranju te prisilno sučeljavanje organizma s OF-om uvelike utječu na daljnje ponašanje životinje u eksperimentu. Stoga je bitno svaki korak specificirati te zajedničkim naporima doći do rješenja kako smanjiti utjecaj tih faktora.

## 8. Summary

Behavioural science, as a neuroscience branch, studies cognitive processes and patterns of animal behaviour in laboratory-controlled conditions. The OFT (abbreviation for open field test) is one of the most commonly used research methods in behavioural science (Belzung 2014). Along with it, the NOT (abbreviation for novel object test) has been gaining in popularity lately. OFT and NOT have been applied to the broad-spectrum of animals from invertebrates to advanced mammals such as monkeys. This paper provides an overview of factors variability within the methodology used in experimental research. OFT and NOT are extensively used in medicine where they reveal the effects of anxiolytics, explore which are the consequences of brain lesions and genetic defects, detect sedation or ADHD behaviour, as well as assess learning and memory and reveal effect of drugs and substances (Belzung 2014). Many scientists have criticised OFT and NOT about the lack of coordination in the methodology and about the process of conducting the experiment issue. Factors such as handling animals prior testing, the shape of the novel object used in the NOT, separation of the animal from the social group for testing and forced confrontation of the organism with OF greatly influence the further behaviour of the animal in the experiment. Hence, it is important to specify all the steps used in research and come up with a solution to reduce the impact of these factors.