

VILNIAUS UNIVERSITETAS
GYVYBĖS MOKSLŲ CENTRAS
BIOMOKSLŲ INSTITUTAS
NEUROBIOLOGIJOS IR BIOFIZIKOS KATEDRA

KOTRYNA ČAIKAUSKAITĖ

(Biofizikos studijų programa)

Baigiamasis magistro darbas

**NUGAROS SMEGENŲ MOTONEURONŲ VEIKIMO POTENCIALO
SLENKŠČIO ATSISTATYMAS PO DEPOLIARIZACIJOS
NEURONINIO TINKLO VEIKIMO METU**

Leidžiama ginti _____
(parašas)

Studentas _____
(parašas)

Studijų programos pirmininkas

(vardas, pavardė)

Darbo vadovas _____
(mokslinis darbo vadovo laipsnis,
pedagoginis mokslo vardas, vardas, pavardė)

(parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

Darbas įvertintas _____
(data, įvertinimo balas, komisijos
pirmininko parašas)

TURINYS

SANTRUMPOS	3
ĮVADAS	4
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	7
1.1. Neuronai ir jų savybės	7
1.2. Motoneuronai.....	18
1.3. Veikimo potencialas	24
1.4. Joniniai kanalai motoneuronuose	28
1.5. Veikimo potencialo slenkstis.....	34
1.6. Veikimo potencialo slenksčio kitimas	36
1.7. Raumenų valdymas nugaros smegenyse	38
1.8. Nugaros smegenų neuroninis tinklas	39
1.9. Vėžlio nugaros smegenų neuroninis tinklas	41
2. METODAI.....	46
2.1. Etinis patvirtinimas.....	46
2.2. Modelinis organizmas ir tiriamasis objektas	46
2.3. <i>Ex vivo</i> šarvo-nugaros smegenų preparato paruošimas	47
2.4. Plaukimo ir kasymosi sukėlimas	49
2.5. Duomenų registravimas ir apdorojimas.....	49
2.6. Naudoti protokolai	50
2.7. Duomenų analizė	51
3. REZULTATAI.....	54
3.1. Aktyvumo ir poilsio trukmių charakteristika.....	54
3.2. Pradiniai ir nusistovėję veikimo potencialo slenksčiai.....	55
3.3. Slenksčio depolarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės plaukimo ir kasymosi metu	56
3.4. Slenksčio atsistatymo priklausomybė nuo poilsio trukmės plaukimo ir kasymosi metu	60
TYRIMO REZULTATŲ APTARIMAS	66
IŠVADOS	70
SANTRAUKA LIETUVIŲ KALBA	71
SANTRAUKA ANGLŲ KALBA	72
LITERATŪRA	73
PADĖKA	91

SANTRUMPOS

ATP – adenozino trifosfatas

Ca²⁺ – kalcio jonas

K⁺ – kalio jonas

Na⁺ – natrio jonas

Cl⁻ – chloro jonas

CNS – centrinė nervų sistema

PNS – periferinė nervų sistema

VP – veikimo potencialas

PAS – pradinis aksono segmentas

kDa – kilodaltonas

CPG – centrinio paterno generatorius

DHPR – dihidropiridino receptoriai

NVS – nuolatinė vidinė srovė

NAD⁺ – nikotinamido adenino nukleotidas

HP – fleksorius (*hip flexor*)

HE – ekstensorius (*hip extensor*)

cDLF – kontralateralinis dorsolaterinis funikulas (lot. *contralateral dorsolateral funiculus*)

EMG – elektromiografija

IVADAS

Veikimo potencialas yra labai svarbi samprata neuromoksluose. Veikimo potencialo slenkstis yra kritinis elektrinis potencialas, kuris turi būti pasiektas neurono, kad įvyktų veikimo potencialo generacija. Ties veikimo potencialo slenksčiu vidinės įtekančios srovės viršija ištekančias ir lemia tolesnę regeneracinę depoliarizaciją. Paprastai neuronuose slenksčio potencialas yra nuo -50 iki -55 mV (Platkiewicz, Brette, 2010). Stimulai, silpnesni už ribinę slenksčio potencialo vertę, nesukuria veikimo potencialo generacijos (Platkiewicz, Brette, 2010).

Paprastai laikoma, kad veikimo potencialo slenkstis yra nekintamas, pastovus. Tačiau, tyrimai rodo, kad slenkstis gali keistis dėl įvairių faktorių ir kad slenksčio potencialas depoliarizuojasi veikimo potencialų dažnio adaptacijos metu (Alaburda, Hounsgaard, 2003; Grigonis *et al.*, 2016; Grigonis, Alaburda, 2017). Slenkstinio potencialo depoliarizacija mažina motoneuronų sužadimumą. Taigi, slenksčio kintamumas yra neuronų savybė, rodanti, kad veikimo potencialo generavimas priklauso ne tik nuo įėjimo ar stimulo amplitudės, bet ir nuo paties neurono savybių, (Platkiewicz, Brette, 2010; Fontaine *et al.*, 2014) kas yra svarbu neurono funkcijai, jos reguliavimui.

Vieni mokslininkai rodo, kad neuroninio tinklo veikimo metu slenkstis iš tiesų depoliarizuojasi (tyrimai su vėžlio nugaros smegenimis, kai tirta slenksčio kitimo dinamika motoneuronuose vėžlio kasymosi ir plaukimo metu) (Grigonis, Alaburda, 2017), kiti tyrėjai parodė, kad slenkstis visgi hiperpoliarizuojasi – nugaros smegenų motoneuronų jaudrumas kačių ir žiurkių motoneuronuose padidėja dėl hiperpoliarizacijos (Krawitz *et al.*, 2001; MacDonell *et al.*, 2015).

Nors informacijos apdorojimo mechanizmai yra gerai aprašyti jutimo sistemose, jaudrumas motorinėse sistemose sulaukė ganėtinai mažai dėmesio (Berg *et al.*, 2008). Stuburinių gyvūnų funkciniam motoriniame elgesyje dalyvauja aktyvus didelio masto neuroninis tinklas (nugaros smegenų motoneuronai) (Destexhe *et al.*, 2003; Alaburda *et al.*, 2005; Grigonis *et al.*, 2016). Neuroniniai tinklai vėžlio nugaros smegenyse naudojami kaip pavyzdinės sistemos tiriant centrinio modelio generatoriaus mechanizmus, atsakingus už motorinį elgesį (Stein, 2018). Ritmiški judesiai, tokie kaip plaukimas, kasymasis, susideda iš pasikartojančių veikimo potencialų sekų, kurias aktyvuoja tas pats neuroninis tinklas nugaros smegenyse (Petersen, Berg, 2016). Gebėjimas generuoti kelis ritminius judesius išryškina stuburo grandinės sudėtingumą ir lankstumą (Frigon, 2012). Naudojant šarvo-nugaros smegenų preparatą *in vitro* fiziologiniuose tyrimuose, sudaryta galimybė tyrinėti ne tik atskirus

neuronus kaip pavienes ląsteles, bet ir paties neuroninio tinklo savybes. Tad svarbu išsiaiškinti, ar ir kaip kinta motoneuronų sužadynamumas tinklo veikimo metu.

Motoneuronų tinklo aktyvumo metu generuojami pliūpsniai, su ramybės intervalais tarp jų. Žinoma, kad pliūpsnio metu slenkstis depoliarizuojasi (Grigonis *et al.*, 2016), bet kaip ir kiek jis atsistato tarp pliūpsnių, nežinoma.

Neuronai, kurie stimuliuojami pastovios amplitudės srovės impulsais, generuoja aukštėjančio slenksčio veikimo potencialo sekas – vyksta slenksčio depoliarizacija. Yra žinoma, kad maždaug per 1000 ms veikimo potencialų sekų generavimo metu slenkstis depoliarizuojasi – padidėja iki 10 mV (Grigonis *et al.*, 2016). Slenkstis depoliarizuojasi nuo žemiausio pradinio veikimo potencialo slenksčio iki nusistovėjusio. Mano bakalauriniame darbe buvo tirta kaip slenkstis atsistato po adaptacijos. Tai ganėtinai kompleksiškas procesas, kuris priklauso nuo varginimo ir poilsio trukmių. Tyrimas atliktas su nugaros smegenų pjūviais, poilsio bei varginimo trukmės buvo sistemingai keičiamos. Veikimo potencialų slenksčio atsistatymas po adaptacijos tirtas neuroną stimuliuojant dviem srovės impulsais (jų metu matuojamas slenkstis prieš ir po poilsio) ir keičiant laiko intervalą tarp jų (poilsio trukmė). Gauti rezultatai atskleidė dėsningumą, kad stimuliuojant motoneuronus 1 s impulsu per iki 100 ms trunkantį poilsį, motoneuronų veikimo potencialo slenkstis neatsistato. Tačiau stimuliuojant motoneuronus 200 ms trukmės impulsu per iki 1000 ms trunkantį poilsį, atsistato tik nusistovėjęs slenkstis jau po 100 ms poilsio, o pradinis atsistatymo nepasiekia. Stimuliuojant motoneuronus 500 ms trukmės impulsu taip pat per iki 1000 ms trunkantį poilsį, tiek pradinis, tiek nusistovėjęs slenkstis atsistato: pradinis po 800 ms, o nusistovėjęs – po 900 ms poilsio.

Gauti dėsningumai charakterizuoja veikimo potencialo slenksčio atsistatymą, kai motoneuronai stimuliuojami per registravimo elektrodą leidžiama srove. Tačiau lieka neaišku, ar ir kaip veikimo potencialų slenkstis atsistato tarp pliūpsnių funkcionalaus nugaros smegenų neuroninio tinklo veikimo metu. Tokio pobūdžio tyrimą apsunkina tai, kad veikiant neuroniniam tinklui, negalima kontroliuoti tiek pačių pliūpsnių, tiek intervalų tarp pliūpsnių trukmės. Kita vertus – tiek pliūpsnių, ciklo trukmės, tiek intervalai tarp jų natūraliai varijuoja tiek to paties neurono aktyvavimo metu, tiek tarp neuronų. Todėl, šiame tyrime pasitelksime koreliacinės analizės metodą, vertinant veikimo potencialų slenksčio atsistatymą po depoliarizacijos neuroninio tinklo veikimo metu.

Taigi, šio **darbo tikslas**: ištirti motoneuronų veikimo potencialo slenksčio atsistatymą po depoliarizacijos neuroninio tinklo veikimo metu.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti poilsio ir aktyvumo vidutines trukmes kasymosi ir plaukimo atvejais;
2. Įvertinti, kiek slenkstis depoliarizuojasi plaukimo ir kasymosi metu per aktyvumo periodą;
3. Nustatyti, kaip slenkščio atsistatymas kasymosi metu priklauso nuo aktyvumo ir poilsio trukmių;
4. Nustatyti, kaip slenkščio atsistatymas plaukimo metu priklauso nuo aktyvumo ir poilsio trukmių.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

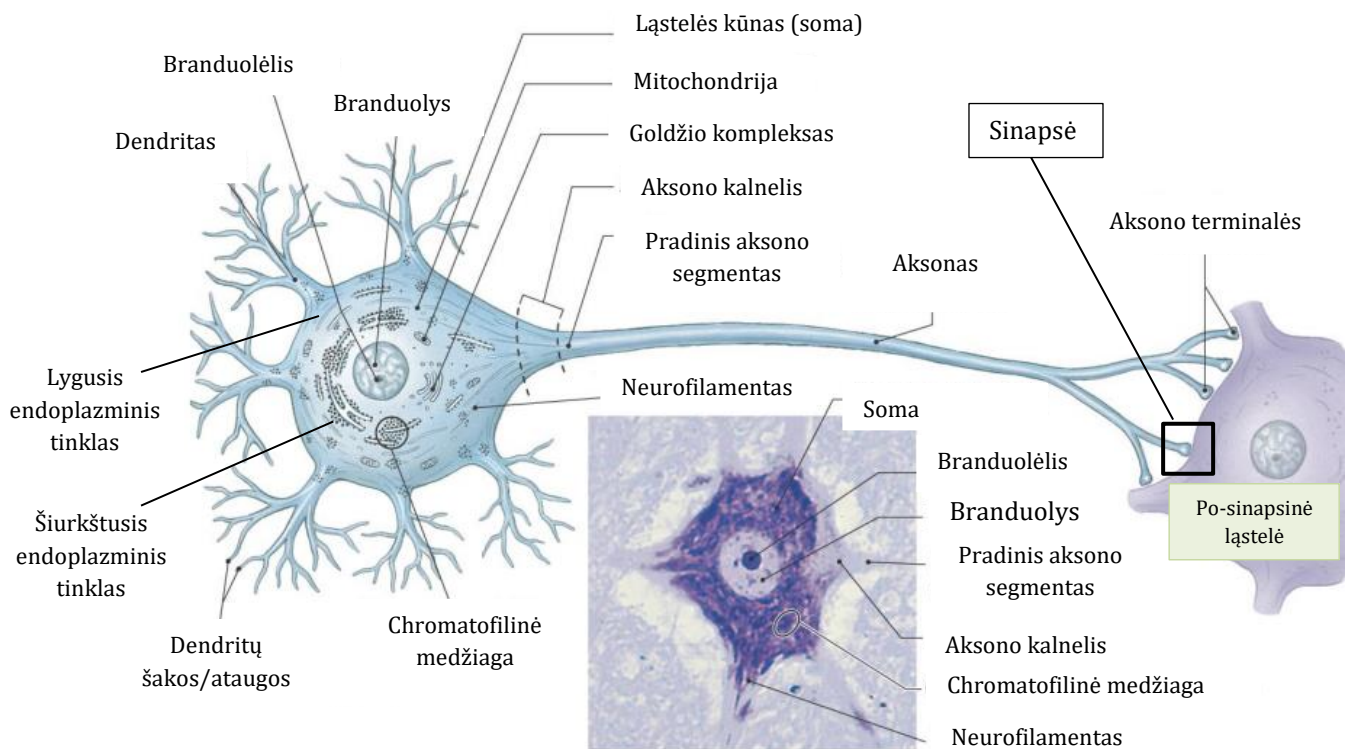
1.1. Neuronai ir jų savybės

Nervų sistemos visoje gyvūnų karalystėje skiriasi savo struktūra ir sudėtingumu – rodo gyvūnų įvairovė. Nervų sistema yra pagrindinis viso kūno reguliavimo ir valdymo centras. Tai specializuotų ląstelių (neuronų), kurios per neuronų tinklą nukreipia dirgiklius iš jutimo receptoriaus į vietą (pavyzdžiui, raumenis), kur atsiranda atsakas, sistema (Lodish *et al*, 2000). Nervų sistema yra specifiška, unikali, savita ir gyvybiškai reikšminga organizmo sistema, per savo receptorių palaikanti organizmo ryšį su aplinka (tiek išorine, tiek vidine), koordinuojanti visas organizmo vegetacines funkcijas (tokias kaip kvėpavimą, kraujo ir medžiagų apykaita, šalinimą ir t.t.), turinti įtakos organizmo adaptacijai prie kintančių sąlygų ir išgyvenimui, užtikrinant organizmo gebėjimą išlikti – palaikyti gyvybingumą (Lodish *et al*, 2000; Kėvelaitis ir kt., 2006). Taigi, apibendrinant, galima išskirti kelias esmines nervų sistemos funkcijas. Pirmoji pagrindinė nervų sistemos funkcija yra jutiminė (sensorinė) – informacijos apie aplinką gavimas, siekiant gauti informacijos apie tai, kas vyksta už kūno ribų (arba kartais kūne) – kitaip tariant, informacijos gavimas iš išorinių arba vidinių dirgiklių. Tai įvairių receptorių darbas. Receptoriai yra neurono ataugų laisvosios galūnėlės. Dirgiklio sukeltas fizinės savybės receptoriai paverčia nerviniais impulsais. Antroji, ne ką mažiau reikšminga funkcija yra laidinė – sensorinę informaciją perduoda į aukštesnius afektorinius centrus ir vėliau į žemesnius efektorinius (Kėvelaitis ir kt., 2006). Kitaip tariant, jutimo struktūrų gaunami stimulai perduodami nervų sistemai, kur ta informacija apdorojama. Tai vadinama integracija. Stimulai lyginami arba integruojami su kitais dirgikliais, prisiminimais apie ankstesnius dirgiklius arba organizmo būseną tam tikru metu. Tai veda prie konkretaus atsakymo, kuris bus sugeneruotas. Ir trečioji – atsako realizacija. Nervų sistema sukuria atsaką remdamasi dirgikliais, kuriuos suvokia jutimo struktūros. Akivaizdus atsakas būtų raumenų judėjimas. Taigi, aplinkos pasikeitimas yra stimulus, organizmo reakcija į jį yra atsakas (Lodish *et al*, 2000). Na, o funkcinio požiūriu nervų sistema klasifikuojama taip: atsakus galima suskirstyti į sąmoningus, kuriuos atlieka skersaruožiai griaučių raumenys (skeleto raumenų susitraukimas) ir nevalingus (lygių raumenų susitraukimas, širdies raumens reguliavimas, liaukų aktyvumas) (Lodish *et al*, 2000; Kėvelaitis ir kt., 2006). Sąmoningą suvokimą ir valingas motorines reakcijas valdo somatinė nervų sistema, o nevalingas reakcijas ir organizmo kontrolę (vegetacinių funkcijų) – autonominė (vegetacinė) nervų sistema (Lodish *et al*, 2000).

Nervų sistemą sudaro nervinis audinys, kuris sudarytas iš nervinių ląstelių – neuronų ir glijos ląstelių (Moini, Piran, 2020). Neuronas yra pagrindinis, esminis nervų sistemos

struktūrinis bei funkcinis vienetas (Drukarch *et al.*, 2018; Moini, Piran, 2020). Neuronai yra specializuotos smegenų ląstelės, atsakingos už itin greitą elektrinių bei cheminių signalų priėmimą, apdorojimą ir informacijos perdavimą (Lodish *et al.*, 2000; Azarfar *et al.*, 2018). Neuronai taip pat yra ir pagrindinis smegenų energijos vartotojas, o didžioji dalis (~80%) smegenų energijos sunaudojama signalizacijos procesams neuronuose (Howarth *et al.*, 2012; Hyder *et al.*, 2013). Eksperimentiniai tyrimai parodė, kad daugumos gyvūnų rūšių smegenų medžiagų apykaitos suvartojimas sudaro 1-10% viso kūno metabolizmo greičio, nors smegenų masė sudaro ne daugiau kaip 1% gyvūno kūno svorio (Mink *et al.*, 1981; Hofman, 1983; Yu *et al.*, 2014).

Nors neuronai yra panašūs į kitas kūno ląsteles ir atrodytų, kad jų sandaros modelis esti panašus, tačiau šios nervinės ląstelės specializuojasi taip, kad jos išsiskiria iš kitų ląstelių ir joms suteikiamos savybės, leidžiančios atlikti savo unikalų vaidmenį nervų sistemoje (Lovinger, 2008). Vadinasi, vyrauja didelis heterogeniškumas, todėl atkreipiamas dėmesys į neuronų specifiškumą – tiek funkciškai, tiek morfologiškai. Viena iš tokių unikalų savybių yra neurono forma. Neuronai susideda iš 3 pagrindinių dalių: ląstelės kūno, dendritų ir aksono, kuris baigiasi aksonų terminalėmis (Brown *et al.*, 1999; Šatinskas, 2007; Lovinger, 2008) (1 pav.).



1 pav. Neurono sandara
Adaptuota pagal

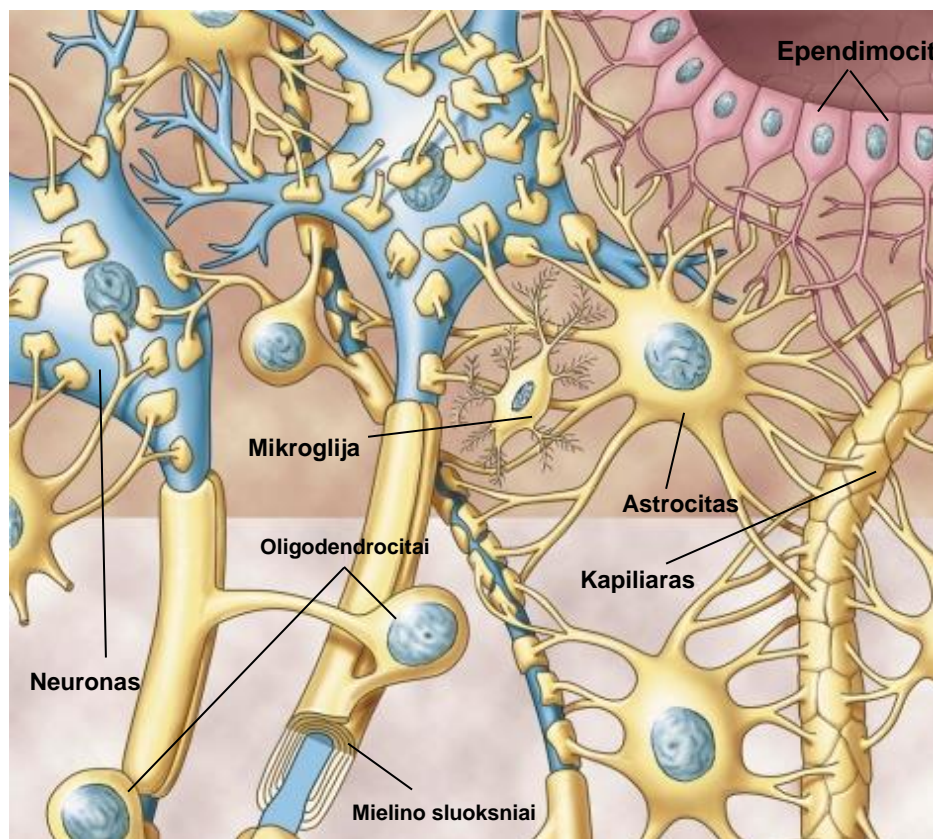
https://faculty.mtsac.edu/mpresch/35_lecture_files_unit_4/16%20Anat%2035%20Neural%20Tissue%20S17.pdf

Neurono viena iš pagrindinių dalių yra ląstelės kūnas (kitai dar vadinamas soma arba perikarijonu). Somoje išsidėsto branduolys, citoplazma ir kitos organelės įprastai aptinkamos ir kitose ląstelėse (ribosomos, mitochondrijos, šiurkštusis bei lygusis endoplazminis tinklas, Goldžio kompleksas) (1 pav.) bei mechanizmai, reikalingi baltymams sintetinti. Goldžio aparatas taip pat padeda gaminti lizosomas ir sintetinti ląstelių membranas. Ląstelių membrana sintezė labai svarbi formuojant sinapsines pūsleles aksono galuose (Moini, Piran, 2020). Ląstelės kūnas taip pat yra neurono sritis, kurioje generuojamas elektrinis impulsas. Be ląstelės kūno, kuri yra panaši į kitas ląsteles, neuronai turi specializuotas plonas ataugas/šakas, išsišakojusias iš somos, žinomas kaip dendritai ir aksonai su aksonų terminalėmis (Brown *et al.*, 1999; Lovinger, 2008; Moini, Piran, 2020) (1 pav.). Dendrituose paprastai aptinkamos visos organelės, būdingos somai. Dendrituose organelių skaičius kinta – tolstant nuo somos, jų skaičius mažėja. Tačiau, priešingai nei somoje ar dendrituose, nei šiurkštusis endoplazminis tinklas, nei Goldžio kompleksas, nei ribosomos aksonuose nerandami. Tačiau, lygusis endoplazminis tinklas ir mitochondrijos randamos visame neurone, įskaitant ir aksoną. Mitochondrijos svarbios energijos gamyboje, jos gamina adenosino trifosfatą (ATP), kad patenkintų neuronų energijos poreikį (Moini, Piran, 2020). O lygusis endoplazminis tinklas atsakingas už viduląstelinio kalcio (Ca^{2+}) reguliavimą. Dendritų skaičius varijuoja, jie trumpi ir šakoti – tai ląstelės įvesties dalis (Sidiropoulou *et al.*, 2006; Azarfar *et al.*, 2018). Dendritai gauna cheminius signalus iš kitų neuronų arba dirgiklių, inicijuojančių elektrinį signalą. Šis elektrinis impulsas (arba veikimo potencialas) sklinda iš ląstelės kūno palei aksoną jo galo link. Aksonas yra pailgos skaidulos, kurios perduoda impulsą, pakeisdamas natrio ir kalio jonų srautą per neuronų membraną. Aksonas paprastai gali būti tik vienas. Juo informacija perduodama kitoms ląstelėms, pavyzdžiui, raumeninėms ląstelėms, liaukoms, kitiems neuronams – tai ląstelės išvesties dalis. Aksonas baigiasi aksono terminalėmis (tai sinapsiniai svogūnėliai) ir sudaro sinapses jungiančias jas su kitų neuronų dendritais. Dalis aksonų yra apgaubti trumpų segmentų neuroglijos ląstelėmis, apsupti mielinio apvalkalu, kuris sudarytas iš lipidų ir baltymų. Tarp tų segmentų susidaro tarpai, kurie vadinami Ranvjė sąsmaukomis (Brown *et al.*, 1999; Lovinger, 2008; Moini, Piran, 2020) (3 pav.).

Nors neuroglija dažnai laikoma atramine nervų sistemos dalimi, šių ląstelių skaičius smegenyse iš tikrųjų dešimt kartų viršija neuronų skaičių. Neuronai negalėtų funkcionuoti be gyvybiškai svarbių vaidmenų, kuriuos atlieka šios neuroglijos ląstelės. Jos nukreipia besivystančius neuronus į jų paskirties vietas, buferinius jonus ir chemines medžiagas, kurias kitu atveju pakenktų neuronams, ir aplink aksonus sudaro mielinio apvalkalus. Neuroglijos ląstelės – paprastai vadinamos tiesiog glijos ląstelėmis arba glija – labai skiriasi nuo neuronų.

Pagrindinis skirtumas yra tas, kad glija tiesiogiai nedalyvauja sinapsinėse sąveikose ir elektrinėse signalizacijose, nors jų pagalbinės funkcijos padeda apibrėžti sinapsinius kontaktus ir palaikyti neuronų signalizacijos gebėjimus (Purves *et al.*, 2001). Nors glijos ląstelėse taip pat vyksta sudėtingi procesai, besitęsiantys iš jų ląstelių kūnų, šios ląstelės, priešingai nei neuronai, neturi nei aksonų, nei dendritų. (Purves *et al.*, 2001; Sathyajith, Pharm, 2020).

Glijos ląstelės randamos centrinėje nervų sistemoje (CNS) (2 pav.) ir periferinėje nervų sistemoje (PNS) (3 pav.).



2 pav. CNS neuroglija

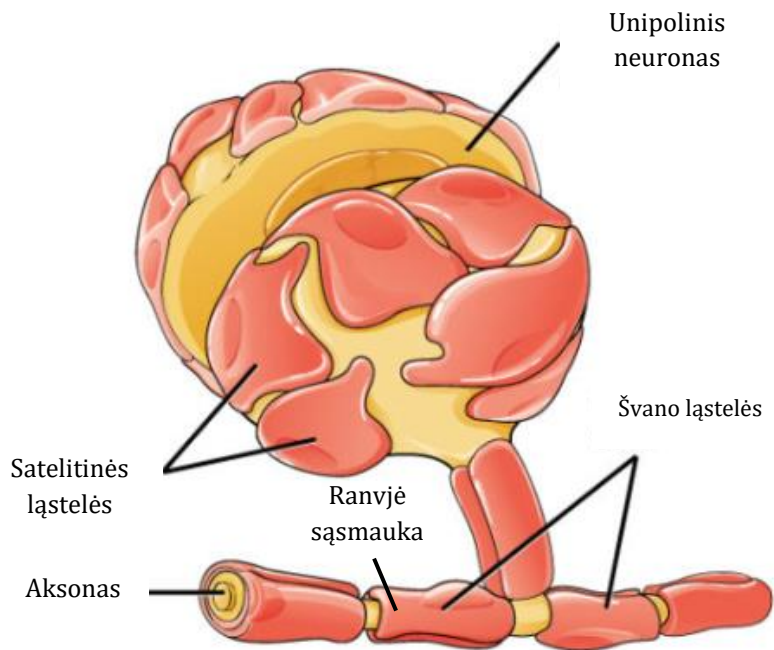
Adaptuota pagal <https://bioluliaes.wordpress.com/3-eso/3-coordination-function/3-1-coordination-function-i-the-nervous-system/3-1-2-neuroglia-the-nerve-impulse/>

Svarbios CNS glijos ląstelės yra astrocitai, mikroglijos, oligodendrocitai, ependiminės ląstelės (ependimocitai) ir radialinės glijos ląstelės (2 pav.) (Sathyajith, Pharm, 2020). Astrocitai – didžiausios neuroglijos ląstelės, sąveikaujančios su kraujagyslėmis, taip susieja neuronus su jų aprūpinimu krauju ir sudaro kraujo-smegenų barjerą (hematoencefalinis barjeras) (2 pav.). Smegenyse astrocitai prisitvirtina prie kapiliarų (smulkių kraujagyslių) ir padeda apsaugoti smegenis nuo kenksmingų medžiagų – blokuoja toksinių medžiagų patekimą į jas (Jäkel, Dimou, 2017; Sofroniew, Vinters, 2010; Sathyajith, Pharm, 2020). Jie taip pat atlieka mechaninę funkciją, dalyvauja medžiagų apykaitos procesuose, reguliuoja išorinę neuronų

cheminę aplinką, pašalindami kalio jonų perteklių ir perdirbdami sinapsinio perdavimo metu išsiskiriančius neuromediatorius (Sofroniew, Vinters, 2010). Mikroglia (2 pav.) yra mažos ląstelės su daug ataugų (Lodish *et al.*, 2000). Tai specializuoti makrofagai, galintys fagocituoti ir apsaugoti CNS neuronus. Mikroglia suardo ir išvalo negyvas ląsteles (Sathyajith, Pharm, 2020). Oligodendrocitai yra ląstelės, padengiančios CNS aksonus savo ląstelių membrana, sudarydamos specializuotą membranos diferenciaciją, vadinamą mielinu, ir gaminančios mielino apvaskalą. Kad elektriniai signalai būtų greiti ir laidūs per neuroną, tam tikri neurono aksonai yra padengti mielinu. Mielino apvaskalas supa aksoną ir sudaro izoliacinį sluoksnį, skirtą greitesniam nervinio impulso sklidimui nervinėse ląstelėse užtikrinti (Baumann, Pham-Dinh, 2001). Sklidimo greitis priklauso nuo mielinu apvaskalo ir pačio neurono aksono skersmens. Kuo didesnis aksono skersmuo, tuo mažesnė varža ir nervinis impulsas gali sklirti greičiau. Glijos ląstelės apgaubia nervinės ląstelės aksoną specializuotu mielinu dangalo sluoksniu. Mielinizuotiems nerviniams skaiduloms būdingos Ranvjė sąsmaukos – kai išilgai mielinizuoto aksono periodiškai susidaro tarpai, kuriuose nėra mielinu, o aksoninė membrana yra atvira. Skirtingai nuo mielinizuotų aksono dalių, kuriose nėra nuo įtampos priklausomų jonų kanalų, Ranvjė sąsmaukose susitelkęs didelis jonų kanalų tankis. Dėl šios priežasties veikimo potencialas gali atsirasti tik Ranvjė sąsmaukose. Veikimo potencialas saltatotiškai sklinda būtent nuo vieno tarpo prie kito. Taigi, mielinu apvaskalas pagreitina laidumą, padidindamas membranos atsparumą ir sumažindamas membranos talpą. Todėl mielinizuotomis nervinėmis skaidulomis impulsas sklinda daug greičiau ir intensyviau nei nemielinizuotomis nervinėmis skaidulomis. Elektriniai signalai greitai perduodami iš vieno tarpo į kitą, kur tai sukelia membranos depoliarizaciją. Jei depoliarizacija viršija slenkstį, ji inicijuoja kitą veikimo potencialą, kuris nukreipiamas į kitą Ranvjė sąsmauką (Purves *et al.*, 2001; Alberts *et al.*, 2002; Pollard *et al.*, 2017).

Smegenys yra sudarytos iš pilkosios (40 %) ir baltosios (60 %) medžiagos. Pilkoji medžiaga yra neuronų kūnai ir dendritų sankaupos, jie nemielinizuoti, ploni (skersmuo apie 2 μm). Pilkoji medžiaga smegenų makroskopiniuose pjūviuose išsiskiria pilka spalva. Baltoji medžiaga – smegenų dalis, sudaryta iš balta spalva išsiskiriančių mielinizuotų aksonų. Šios spalvos pasireiškimui įtaką daro mielinai, esantis aplink nervines ląsteles (Brown *et al.*, 1999). Ependimocitai (2 pav.) iškloja nugaros smegenų kanalą ir smegenų skilvelių sistemą, jungiasi su astrocitais. Radialinės glijos ląstelės atsiranda iš neuroepitelinių ląstelių po neurogenezės pradžios. Besivystančioje nervų sistemoje šios ląstelės veikia kaip neuronų pirmtakai ir kaip karkasas, ant kurio migruoja jauni neuronai (Sathyajith, Pharm, 2020).

Švano ląstelės, satelitinės (palydovinės) ir enterinės glijos ląstelės yra PNS dalis (3 pav) (Sathyajith, Pharm, 2020).



3 pav. PNS neuroglija

Adaptuota pagal <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/glia-cells/>

Periferinėje nervų sistemoje, priešingai nei centrinėje, už mielino formavimąsi atsakingos yra Švano ląstelės (3 pav.). Gerai išsivysčiusi Švano ląstelė yra suvyniota tarsi į ritę. Tarp kiekvienos tos ritės yra mielino sluoksniai. Mielino dangalą sudaro vidinės plėvelės sluoksniai, kurie yra membraninės medžiagos (Bhatheja, Field, 2006). Pagrindinė Švano ląstelių funkcija yra sudaryti mielino apvaskalą aplink neuronų aksonus (Šatinskas, 2007). Žinoma, kad izoliacinis mielino dangalas motoneuronuose apima iš esmės visą aksoną, išskyrus Ranvjė sąsmaukas ir aksono terminales (Lodish *et al.*, 2000). Vieną aksoną gali mielinizuoti keli oligodendrocitai, o vienas oligodendrocytas gali aprūpinti mielinu kelis neuronus vienu metu. Tai skiriasi nuo CNS, kai viena Švano ląstelė tiekia mieliną tik vienam aksonui, nes visa Švano ląstelė supa aksoną. Būtina pabrėžti, kad mielino danga ne tik fiziškai apsaugo aksoną jį izoliuojant nuo pažeidimų poveikio, bet ir padidina impulso sklaidimo greitį išilgai aksono (Lodish *et al.*, 2000; Šatinskas, 2007). Pasak mokslininkų Canaday, Cho ir jų kolegų, mielinizuotuose aksonuose nervinis signalas sklinda daugmaž pasyviai, nes tik Ranvjė sąsmaukose esantys Na^+/K^+ siurbliai yra aktyvūs ir naudoja tą energiją (Canaday *et al.*, 2015; Cho *et al.*, 2015), kai veikimo potencialas šoksta nuo vienos Ranvjė sąsmaukos prie gretimos. O nemielinizuotuose neuronų aksonuose veikia priešingas mechanizmas – veikimo potencialo sklaidimas tolydus, nenutrūkstamas. Tokiam impulso sklaidimui reikia nemažai energijos (Žibas,

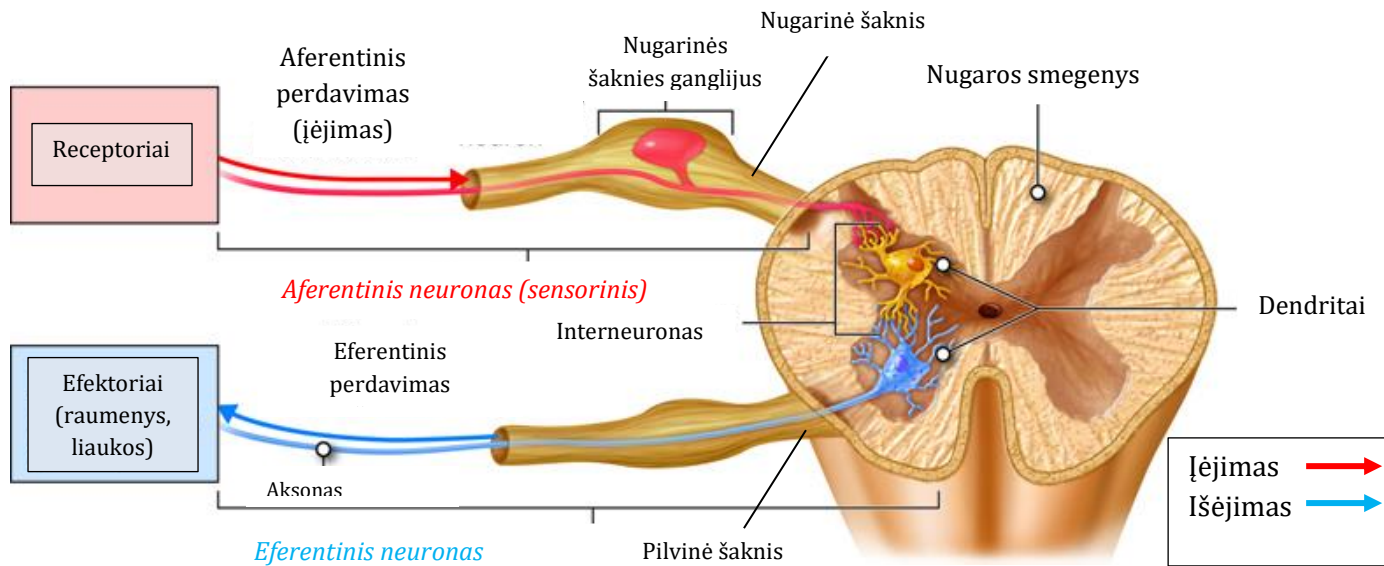
2017). Taip pat reikėtų paminėti, kad mokslininkų atlikti tyrimai atskleidžia, jog būtent nemielinizuotuose nervinių ląstelių aksonuose yra sunaudojama daugiausia smegenų darbui skirtos energijos (Hertz *et al.*, 2015; Finley *et al.*, 2016; Žibas, 2017).

Satelitinės ląstelės (3 pav.) supa neuronus sensorinėse, simpatinėse ir parasimpatinėse ganglijose, jos padeda reguliuoti išorinę cheminę aplinką. Enterinės glijos ląstelės yra vidinėse virškinimo sistemos ganglijose (Sathyajith, Pharm, 2020).

Terminas *glia* (iš graikų kalbos žodžio, reiškiančio „klijai“) atspindi XIX amžiaus prielaidą, kad šios ląstelės tam tikru būdu laikė kartu nervų sistemą. Žodis išliko, nepaisant to, kad trūksta įrodymų, kad nervų ląstelių surišimas yra viena iš daugelio glijos ląstelių funkcijų (Purves *et al.*, 2001; Jäkel, Dimou, 2017). Neuroglijos ląstelės apima nervinių ląstelių joninės aplinkos palaikymą, apsupa neuronus ir juos prilaiko vietoje, tiekia neuronams maisto medžiagas ir deguonį, atskiria neuronus vieną nuo kito, naikina patogenus ir šalina negyvus neuronus. Šios ląstelės pradeda veikti vystantis nervams arba atsigaunant po nervinio pažeidimo, taip pat moduluojant sinapsinį poveikį bei sklindant nerviniams signalams (nervinio signalo sklidimo greičio moduliavimas) (Purves *et al.*, 2001; Sathyajith, Pharm, 2020).

PNS taip pat sudaro juntamieji, motoriniai neuronai, nervinių mazgų sritys (nervai, nervų rezginiai, mazgai). Pastarosios ląstelės taipogi gali dalyvauti nervinio signalo perdavime, tačiau jų pagrindinė funkcija kita – jos atlieka trofinę funkciją – maitina neuronus.

Labai reikšminga yra ir neuronų funkcinė klasifikacija, kuri pasireiškia informacijos perdavimu smegenyse. Neuronai funkciškai klasifikuojami pagal signalo sklidimo kryptį CNS atžvilgiu. Ši klasifikacija lemia tris skirtingus neuronų tipus: sensoriniai (juntamieji) – aferentiniai neuronai, tarpiniai – interneuronai ir motoriniai – eferentiniai neuronai (Lodish *et al.*, 2000; Sharpee, 2014; Moini, Piran, 2020) (4 pav.).

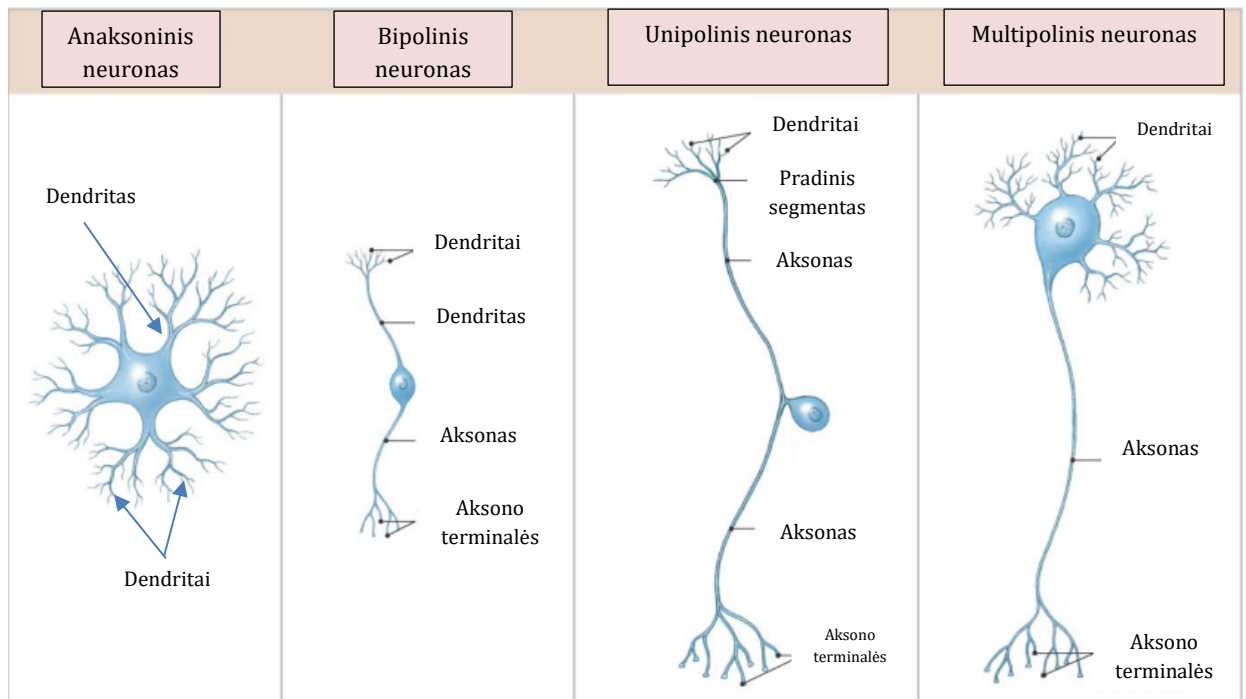


4 pav. Funkcinė neuronų klasifikacija ir informacijos valdymas smegenyse
 Adaptuota pagal <https://anatomytool.org/content/cenveo-drawing-efferent-neurons-afferent-neurons-and-interneurons-english-labels>

Aferentiniai neuronai yra nervinės skaidulos, kurios atsakingos už sensorinės informacijos iš išorinio pasaulio perkėlimą į smegenis. Jutiminė informacija gali apimti specialius pojūčius (tokius kaip klausa, rega, lytėjimas ir pan.). Aferentiniai neuronai paprastai yra susiję su specializuotais jutimo receptoriais, kurie klasifikuojami pagal dirgiklius, į kuriuos jie reaguoja. Kai jutimo receptoriai pajunta dirgiklį iš aplinkos, sensoriniai neuronai perduoda informaciją iš organų jutimo receptorių (pavyzdžiui, esančių odoje) į centrinę nervų sistemą (smegenis ir nugaros smegenis) apie tą dirgiklį (4 pav.). Šie aferentiniai neuronai elektrinį signalą gauna iš aplinkos per receptorius ir paverčia jį nerviniu signalu; taip informacija toliau keliauja tarpiniams neuronams (kurie yra CNS) (Lodish *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2013; Moini, Piran, 2020) (4 pav.). Interneuronai įsiterpia neuronų grandinėse tarp sensorinių ir motorinių neuronų (4 pav.). Paradoksalu, tačiau tai pati gausiausia neuronų grupė – ji sudaro labia nemažą dalį pilkosios medžiagos. Todėl manoma, kad būtent interneuronuose vyksta kognityvinės reakcijos. Interneuronai, gavę informaciją iš aferentinių neuronų, komunikuoja ir jungiasi su eferentiniais nervų sistemos segmente ir taip siunčia informaciją žemyn nugaros smegenimis raumenų link, nurodydami kokį judesį atlikti (Lodish *et al.*, 2000; Moini, Piran, 2020). Eferentiniai neuronai taip pat yra nervinės skaidulos, kurios atsakingos už signalo perdavimą iš smegenų į PNS. Šie neuronai perkelia signalus iš centrinės nervų sistemos per efektorinį motoneuroną efektorinėms ląstelėms (pavyzdžiui, raumenims, liaukoms) (4 pav.). Efektorius – gyvo organizmo kūno dalis, kuri reaguoja į aplinkos dirgiklį. Efektoriniai neuronai

kontroliuoja aferentinių neuronų galūnių eiles – vyksta motorinis atsakas į jutiminę informaciją, atsiranda refleksai ir pojūčiai (Lodish *et al.*, 2000; Hamill *et al.*, 2012; Moini, Piran, 2020). Be visa to, prie aferentinių neuronų yra priskiriamos ląstelės, kurios suformuoja kylančius laidus galvos ir nugaros smegenyse (Šatinskas, 2007). Aferentiniai neuronai turi unikalią struktūrą, kuri skiriasi nuo daugelio kitų neuronų. Jų ląstelių kūnai yra tiesiai už nugaros smegenų, nugaros šaknies ganglijone (dorsaliniame rage) (4 pav.). Skirtingai nuo daugelio kitų nervinių ląstelių, ląstelės kūnas turi vieną aksoną, kuris dalijasi į dvi atskiras šakas: viena yra sujungta su jutiminio organu, o kita, kuri per nugaros šaknį perneša sensorinę informaciją į pačias nugaros smegenis. Kita vertus, eferentinių neuronų ląstelių kūnai yra nugaros smegenų ventraliniame (pilviniame) rage (4 pav.). Iš ten motorinių neuronų aksonai palieka nugaros smegenis per viršutinę šaknį, keliauja per stuburo nervus ir galiausiai sudaro sinapses su skeleto raumenų ląstelėmis, esančiomis neuroraumeninėje jungtyje (Lodish *et al.*, 2000).

Žinoma, kad neuronų morfologija plati ir įvairi – skiriasi ląstelės kūno forma, dydis, ataugų skaičius. Tai leidžia neuronus klasifikuoti. Klasifikacija apima dvi kategorijas: pagal funkcinę ir anatinę struktūrą. Atsižvelgiant į anatominius, struktūrinius pokyčius bei skirtumus, neuronai yra skirstomi į tris grupes: unipoliniai (vienapoliai, pseudounipoliniai), bipoliniai ir multipoliniai (daugiapoliai) (Šatinskas, 2007; Moini, Piran, 2020) (5 pav.).



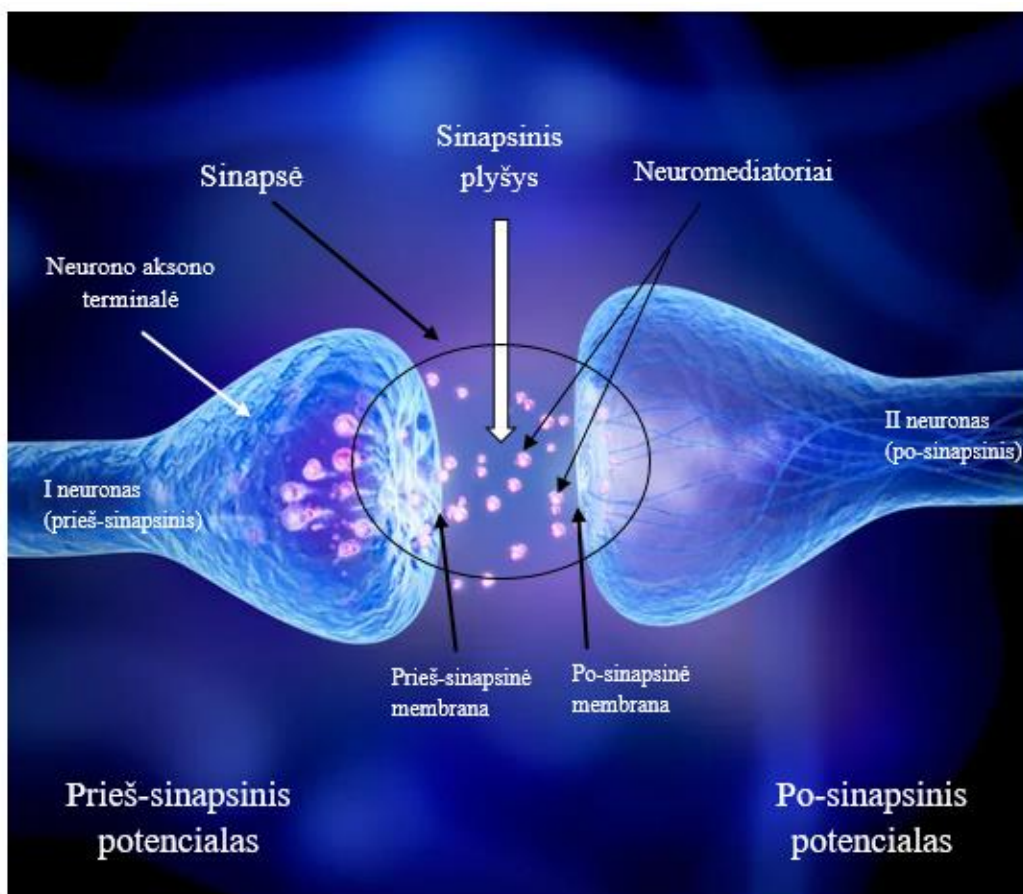
5 pav. Neuronų struktūrinė klasifikacija

Adaptuota pagal

https://faculty.mtsac.edu/mpresch/35_lecture_files/unit_4/16%20Anat%2035%20Neural%20Tissue%20S17.pdf

Jie klasifikuojami pagal ryšius tarp jų dendritų, ląstelės kūno ir aksonų. Kartais pasitaiko ir anaksoninių neuronų (5 pav.). Šie neuronai yra maži, su daugybe dendritų, neturintys aksonų (nėra diferenciacijos į aksonus). Anaksoniniai neuronai aptinkami smegenyse ir specialiuose jutimo organuose (Moini, Piran, 2020). Tuo tarpu, unipoliniame neurone dendritai ir aksonas yra ištiesiniai vienas su kitu, o ląstelės kūnas vienoje pusėje (5 pav.) (Bates *et al.*, 2019; Moini, Piran, 2020). Tai centrinė ir periferinė ataugos. Neuronų pagrindas yra ten, kur susitinka dendritai. Likusios dalys laikomo aksonu, kuris generuoja veikimo potencialą. Dauguma PNS jutimo neuronų yra unipoliniai. Jų aksonai yra labai ilgi, 1 m ar daugiau, ir baigiasi sinapsėmis CNS. Ilgiausi unipolinių neuronų aksonai perneša informaciją nuo galūnių iki nugaros smegenų. Kita gerai žinoma neuronų grupė – bipoliniai neuronai – nėra dažna. Jie, kaip įprastai, turi vieną aksoną ir vieną dendritą, išeinančius iš priešingų somos galų – polių (5 pav.). Tarp šių struktūrų yra ląstelės kūnas. Bipoliniai neuronai yra tik specialiuose jutimo organuose. Jie perduoda informaciją apie regėjimą, kvapą, klausą. Bipoliniai neuronai yra palyginti maži su kitomis neuronų grupėmis. Kitaip nei pastarieji, multipoliniai neuronai turi gausiai šakotų ataugų dendritų ir vieną aksoną. Jie yra labiausiai paplitęs ir pagrindinis neuronų tipas, randamas CNS ir eferentiniai PNS. Visi motoriniai neuronai, valdantys skeletinį raumenį, yra daugiapoliai neuronai. Ilgiausi jų aksonai neša motorines komandas iš nugaros smegenų į galūnių raumenis (Moini, Piran, 2020).

Neuronų abipusis ryšys dėl suformuotų tinklų – gan komplikotas ir sudėtingas. Neuronų persimainymas informacija arba, kitaip tariant, nervinių signalų perdavimas, kontaktuojant dviems neuronams, vyksta per specialias struktūras – sinapses (Šatinskas, 2007; Lovinger, 2008) (6 pav.).



6 pav. Sinapsės sandara

Adaptuota pagal <https://br.depositphotos.com/stock-photos/sinapse.html>

Atskiri neuronai paprastai yra visiškai atskirti vienas nuo kito išorinėmis ląstelių membranomis, todėl negali tiesiogiai dalytis elektriniais ar cheminiais signalais (Lovinger, 2008). Neuronai bendrauja tarpusavyje su cheminiais neurotransmitteriais (neuromediatoriais) (6 pav.), išsiskiriančiais į sinapsinį plyšį tarp dviejų neuronų (6 pav.). Sinapsės yra tarpląstelinės jungtys tarp nervinių ląstelių (abiejų ląstelių dalys nutolusios viena nuo kitos 20-50 nm atstumu (Lovinger, 2008), kurios jungia aksonų presinapsinius galus su kito neuroso postsinapsiniais dendritais – taip elektriniai signalai iš vieno ląstelių perduodami kitoms (Shin *et al.*, 2019). Tai labai specializuota ir gyvybiškai svarbi neuronų ląstelių dalis. Sinapsės yra pagrindinės neuronų ląstelių ryšio vietos, todėl jos yra susijusios su visais neuronų fiziologijos aspektais. Neuronas, išskiriantis cheminę medžiagą, vadinamas presinapsiniu neuronu (6 pav.) (Shin *et al.*, 2019), kurio aksono terminalėje yra pūslelės (6 pav.), užpildytos neuromediatorių molekulėmis. Kai veikimo potencialas pasiekia aksono terminalę ir skatina kalcio koncentracijos padidėjimą, šis jonas skatina pūslelę susiliesti su ląstelės membrana ir išlaisvinti neurotransmitterius į mažą tarpą – sinapsinį plyšį (6 pav.). Neuronas, kurį veikia cheminė medžiaga, vadinamas postsinapsiniu neuronu (6 pav.). Neuromediatorių molekulės,

išsiskiriančios iš presinapsinių pūslelių, kerta sinapsinį plyšį ir jungiasi prie baltymų, vadinamų neurotransmiterių receptoriais, postsinapsinio neurono paviršiaus membranoje. Sukeliamas veikimo potencialas postsinapsiniame neurone. Praėjus vos sekundės daliai po prisijungimo prie receptorių, neurotransmiteriai gali būti suskaidyti fermentų arba gražinti atgal į presinapsinę ląstelę (Lovinger, 2008; Shin *et al.*, 2019).

1.2. Motoneuronai

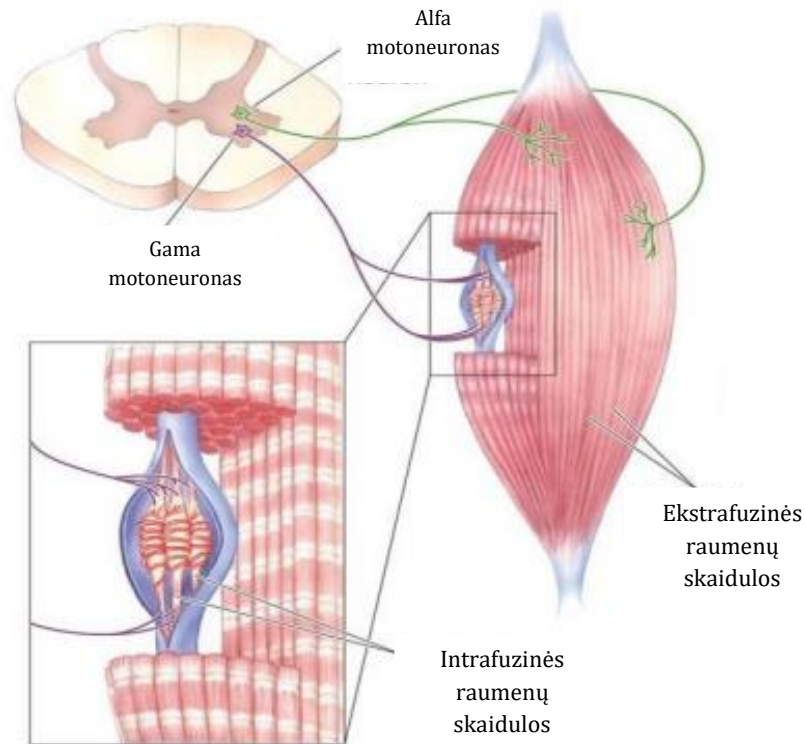
Motoneuronai (motoriniai neuronai) yra visų centrinių ir periferinių kelių, susijusių su judėjimu, konvergencijos vieta (Stifani, 2014). Motoriniai neuronai randami nugaros smegenų ventraliniame rage (Squire *et al.*, 2014) ir yra specifiniai ir unikalūs žinduolių centrinėje nervų sistemoje. Taip yra todėl, kad jie yra vieninteliai iš neuronų, kurių funkcijos yra taip tiksliai žinomos (Davis-Dusenbery *et al.*, 2014; Stifani, 2014). Motoneuronai visuotinai laikomi specifine CNS nervinių ląstelių grupe, susiejanti nervų sistemą su raumenimis, jie išimtinai siunčia aksonus prie raumenų ir valdo raumeninių skaidulų susitraukimą. Būtent stuburo motoriniai neuronai yra žinomi kaip ilgiausias ląstelių tipas, nes žinduolių motoneuronų aksonai fiksuoti net kelių metrų ilgio (Stifani, 2014).

Ankstyva embriono raida – motoneuronų vystymosi pradžia. Motorinė funkcija vystosi vaikystėje. Žinoma, kad stuburinių gyvūnų motoneuronų ašys atsiranda jau ketvirtoje vystymosi savaitėje nuo bazinės plokštelės (kuri yra pilvo ašyje) pilvo ventralinėje srityje (Davis-Dusenbery *et al.*, 2014). Mokslininkas Stifani iškelia dar vieną svarbų procesą – anaksoninį nukreipimą (Stifani, 2014). Anot autoriaus, anaksoninis nukreipimas – reikšmingas ir kritinis motorinių neuronų vystymosi momento procesas (Stifani, 2014). Tyrėjas pabrėžia, jog motoneuronų aksonai atsiranda CNS ir pereina per skirtingus audinius, kad pasiektų ir prisijungtų prie specifinio raumenų taikinio periferijoje. Aksoninis nukreipimas ne tik suteikia motoriniams neuronams unikalią ir išskirtinę anatominę charakteristiką ir napakeičiamą funkciją, bet ir užtikrina jų išlikimą veikiant trofiniams signalams. Kad užbaigtų tokį kritinį procesą, motoriniai neuronai laipsniškai sujungia kelis mechanizmus. Aksoniniame „maršrute“ yra nustatyti keli kontroliniai taškai, kurių kiekvienam reikia pasirinkti orientuotis tam tikra kryptimi (Stifani, 2014).

Motoneuronus galima suskirstyti į dviejų tipų neuronus, priklausomai nuo jų funkcijos: viršutinius ir apatinius motorinius neuronus. Viršutiniai motoriniai neuronai yra arba smegenų motorinėje žievėje, arba smegenų kamiene ir yra pagrindiniai neuronai, kurie inicijuoja valingą judėjimą visame kūne, sujungdami smegenų žievę su smegenų kamienu ir nugaros smegenimis (Watson *et al.*, 2008; Stifani, 2014; Nesterova *et al.*, 2019). Viršutinių motorinių neuronų

organizavimas yra sudėtingas. Jie sudaro ryšius su neuronais, esančiais nugaros smegenyse, vadinamais apatiniais motoriniais neuronais. Viršutiniai motoneuronų ląstelių kūnai yra smegenų žievės priešmotorinėje ir pirminėje motorinėje srityje, dar vadinamoje motorine juoste. Viršutiniai motoneuronai užmezga glutamaterginius ryšius su apatiniais motoneuronais, esančiais CNS. (Watson *et al.*, 2008; Stifani, 2014). Tipiški viršutinių motoneuronų pažeidimo klinikiniai simptomai yra nekontroliuojamas judėjimas, sumažėjęs jautrumas paviršiniam reflekso stimuliavimui ir spazmiškumas (Ivanhoe, Reistetter, 2004). Apatiniai motoriniai neuronai, esantys nugaros smegenyse, yra tiesiogiai atsakingi už signalų perdavimą tiesiogiai į skeleto raumenis, organus ir liaukas (Watson *et al.*, 2008; Stifani, 2014; Nesterova *et al.*, 2019). Jie gauna informaciją iš viršutinių motorinių neuronų tiesiogiai arba per interneuronus ir stimuluoja jų veiklą, išplečiant skaidulas iki pat tinkamos paskirties vietos. Apatiniai motoneuronų ląstelių kūnai yra specifiniuose smegenų kamieno branduoliuose, taip pat nugaros smegenų ventraliniame rage, todėl, kaip ir viršutiniai motoneuronai, nusėda CNS. Nepaprasta apatinių motoneuronų savybė yra jų aksoninis išplėtimas ir ryšys už CNS. Apatiniai motoneuronai yra cholinerginiai ir gauna įvestis iš viršutinių motorinių neuronų, sensorinių neuronų, taip pat ir iš minėtų interneuronų. Paralyžius yra tipiškas apatinių motorinių neuronų pažeidimų klinikinis simptomas, nes, kai jie pažeidžiami, nėra alternatyvaus būdo perduoti informaciją į raumenų taikinius periferijoje. Apatiniai motoneuronai priklauso dar dviems funkcinėms grupėms: somatiniams ir visceraliniams (autonominiams) motoneuronams. Somatiniai motoneuronai inervuoja skeleto ar valingus raumenis, o visceraliniai motoneuronai atsakingi lygiųjų raumenų (širdies ir arterijų) ir liaukų kontrolę (Watson *et al.*, 2008; Stifani, 2014). Autonominę nervų sistemą galima apibūdinti kaip dviejų komponentų susiliejimą: preganglioninius motoneuronus, esančius CNS, sujungtus su PNS priklausančiais ganglioniniais neuronais (Stifani, 2014). Periferiniai ganglioniniai neuronai nukreipti į galutinį efektoriaus organą. Somatiniai motoriniai neuronai atsiranda centrinėje nervų sistemoje, ypač smegenų kamieno, ir projektuoja savo aksonus į skeleto raumenis. Jie išsidėstę nugaros smegenų pilkosios dalies ventraliniame rage ir inervuoja ašinio skeleto (kaklo ir kamieno) dryžuotus raumenis bei viršutinių ir apatinių galūnių raumenis.

Somatinius motorinius neuronus galima suskirstyti į alfa, beta ir gama motorinius neuronus (Watson *et al.*, 2008; Stifani, 2014) (7 pav.).



7 pav. Intrafuziniai ir ektrafuzinių raumenų susijungimas su motoneuronu

Adaptuota pagal

https://wp.kntu.ac.ir/delrobaei/files/NeuromuscularSystems/Tutorials2018/KNTU_NeuroMuscularSys_2018_MuscleSpindle_SYari.pdf

Anatomiškai alfa motoriniai neuronai yra didžiausi nugaros smegenų neuronai su mielinizuotais aksonais, kurie išeina iš nugaros smegenų per ventralines šaknis ir keliauja periferiniais nervais inervuoti raumenis (Squire *et al.*, 2014). Alfa motoneuronai inervuoja skeleto raumenis ir sukelia raumenų susitraukimus, kurie sukelia judėjimą. Tiksliau, jie inervuoja ektrafuzines raumenų skaidulas (7 pav.), pluoštus, kurie yra raumenų jėgos generavimo komponentai ir yra esminis raumenų susitraukimo pagrindas (Friesse *et al.*, 2009; Stifani, 2014). Pažymėtina, kad jie atlieka svarbų vaidmenį stuburo refleksų grandinėje, nes gauna monosinapsinę inervaciją tiesiai iš sensorinių neuronų, taip sumažinant atsako uždelsimą (Eccles *et al.*, 1960). Beta motoneuronai yra mažesni ir mažiau gausūs nei kiti somatiniai motoneuronų potipiai (Stifani, 2014). Jie inervuoja tiek intrafuzines, tiek ektrafuzines raumenų skaidulas (Bessou *et al.*, 1965). Todėl beta motoneuronai yra motorinių vienetų homogeniškumo išimtis ir kontroliuoja raumenų susitraukimą bei sensorinio grįžtamojo ryšio iš raumenų verpsčių reakciją. Toliau jie skirstomi į du potipius, priklausomai nuo jų inervuojamų intrafuzinių skaidulų tipo: statinės, inervuojančios branduolinės grandinės skaidulas ir dinaminės, inervuojančios raumenų verpsčių branduolinio maišelio skaidulas (Stifani, 2014; Vega, Cobo, 2020). Intrafuzines skaidulas inervuoja dviejų tipų aferentai:

pirminiai (Ia tipo) ir antriniai (II tipo), kurie skiriasi savo aksoninio laidumo greičiu (Vega, Cobo, 2020). Ia grupės aferentai apgaubia visų 3 tipų intrafuzinių skaidulų centrinę dalį ir suteikia informacijos apie ilgį ir greitį. II grupės aferentai inervuoja branduolinės grandinės skaidulų galus ir statinio branduolinio maišelio pluoštus specializuotose jungtyse. Kadangi, jie neinervuoja dinaminio branduolinio maišelio skaidulų, II grupės aferentai signalizuoja apie raumens ilgį. Anot mokslininko Stifani (Stifani, 2014), statiniai beta motoriniai neuronai padidina Ia ir II tipo sensorinių skaidulų sudeginimą esant tam tikram raumenų ilgiui, o dinaminiai beta motoneuronai padidina Ia tipo jutiminių skaidulų jautrumą tempimui, standindami branduolinio maišelio pluoštus. Tuo tarpu, gama motoriniai neuronai išskirtinai kontroliuoja tik raumenų verpsčių susitraukimą. Jie padidina intrafuzinių raumenų skaidulų (7 pav.) įtempimą ir tokiu būdu imituoja raumens tempimą. Kaip ir beta motoriniai neuronai, gama motoneuronai funkciškai skirstomi į du potipius: statinius, inervuojančius branduolinės grandinės pluoštus ir statinius branduolinio maišelio pluoštus bei dinامينius, inervuojančius dinaminis branduolinio maišelio pluoštus (Stifani, 2014).

Intrafuzinių skaidulų susitraukimo funkcija nėra suteikti raumeniui jėgos, veikiau būtinas intrafuzinio pluošto gama aktyvavimas, kad raumenų verpstė būtų įtempta ir todėl jautri tempimui įvairiuose raumenų ilgiuose. Jei ramybės būsenoje esantis raumuo yra ištemptas, raumenų verpstė ištempinama lygiagrečiai, siųsdama signalus per pirminį ir antrinį aferentą. Tačiau vėlesnis raumens susitraukimas pašalina verpstės susitraukimą ir jis tampa laisvesnis, todėl verpstės aferentai nustoja susitraukinėti. Jei raumuo vėl būtų ištemptas, raumens verpstė negalėtų signalizuoti apie šį tempimą. Taigi, raumeniui susitraukus, verpstė laikinai tampa nejautri tempimui. Gama motorinių neuronų aktyvinimas užkerta kelią šiam laikinam nejautrumui, nes sukelia silpną intrafuzinių skaidulų susitraukimą lygiagrečiai su raumenų susitraukimu. Šis susitraukimas visą laiką išlaiko verpstę įtemptą ir išlaiko jautrumą raumens ilgio pokyčiams. Taigi, kai CNS nurodo raumeniui susitraukti, ji ne tik siunčia atitinkamus signalus alfa motoriniams neuronams, bet ir nurodo gama motoriniams neuronams tinkamai sutraukti intrafuzines skaidulas. Šis koordinuotas procesas vadinamas alfa-gama motoneuronų koaktyvacija. Taigi, apibendrinant, gama motoneuronų stimuliavimas sukelia Ia ir II raumenų verpstės aferentų sužadimą. O šis stimuliavimas sukelia pačių gama motoneuronų koaktyvaciją, o tai savo ruožtu sukelia intrafuzinių skaidulų poliarinių galų susitraukimą, atkuria raumenų verpstės įtempimą ir sužadimą (Vega, Cobo, 2020). Gama motoneuronai gauna tik netiesiogines sensorines įvestis ir neturi jokios motorinės funkcijos. Todėl šių motoneuronų tipas tiesiogiai nedalyvauja stuburo refleksuose (Eccles *et*

al., 1960), o, vietoj to, manoma, kad jie aktyvuojami kartu su alfa motoneuronais ir taip prisideda prie raumenų susitraukimo moduliavimo (Stifani, 2014).

Ia ir II grupės aferentai skirtingai reaguoja į skirtingų tipų raumenų judesius. Iš pradžių tiek Ia, tiek II grupės pluoštai susitraukia tam tikru greičiu, užkoduodami esamą raumens ilgį. Tempimo metu šių dviejų tipų reakcija skiriasi. Ia grupės aferentas tempimo metu susitraukia labai dideliu greičiu, koduodamas raumenų ilgio greitį; tempimo pabaigoje jo susitraukimas mažėja, nes raumuo nebekeičia ilgio. Tačiau, reikėtų atkreipti dėmesį, kad jo susitraukimo dažnis vis dar yra didesnis nei prieš tempimą, nes jis koduoja naują raumens ilgį. II grupės aferentas nuolat didina susitraukimo greitį, kai raumuo yra tempiamas. Jo susitraukimo greitis nepriklauso nuo raumens kitimo greičio; užtat jo susitraukimo greitis priklauso tik nuo tiesioginio raumens ilgio (Vega, Cobo, 2020).

Alfa ir gama motoneuronų ląstelių kūnai yra nugaros smegenų priekiniame pilkajame rage. Šie neuronai turi didelę arborizaciją su daugybe dendritų, kurie gaunami iš įvairių šaltinių, įskaitant įvairius besileidžiančius skaidulų traktus, kilusius iš centrinės nervų sistemos, taip pat interneuronus, esančius nugaros smegenyse. Skirtingos įvestys teikia sužadavimo arba slopinimo signalus motoneuronui, kuris savo ruožtu integruoja informaciją. Pusiausvyra tarp jaudinamųjų ir slopinamųjų įėjimų lemia, ar motoneuronas sukuria veikimo potencialą. Veikimo potencialas greitai plinta mielinizuotu aksonu, o elektrinis signalas paverčiamas cheminiu pranešimu, kuris gali būti perduotas į raumenį, esantį neuroraumeninėje jungtyje (Enna, Bylund, 2008).

Kad sistema tinkamai veiktų, reikalingas jutimas. Be sensorinės informacijos apie išorinę aplinką, motorinei sistemai reikia ir jutiminės informacijos apie esamą pačių raumenų ir galūnių būklę. Propriocepcija – tai kūno padėties erdvėje pojūtis, pagrįstas specializuotais receptoriais, esančiais raumenyse ir sausgyslėse. Šiam pojūčiui tarpininkauja proprioceptoriai – nedidelis mechanosensorinių neuronų pogrupis, lokalizuotas nugaros šaknies ganglijose, kurie perduoda informaciją apie raumenų, sausgyslių ir sąnarių tempimą, įtampą. Šie neuronai tiekia aferentinę inervaciją specializuotiems jutimo organams raumenyse (raumenų verpstėse) ir sausgyslėse (Golgi sausgyslių organuose). Raumenų verpstė signalizuoja apie raumens ilgį ir jo kitimo greitį. Golgi sausgyslės organas signalizuoja apie jėgos, veikiančios raumenį, kiekį. Po to informacija, gauta iš proprioceptorių, keliauja dviem pagrindiniais nervų keliais, pasiekiančiais CNS nugaros smegenų ir smegenėlių (nesąmoningos) ir smegenų žievės (sąmoningos) lygyje, kad būtų galima ją apdoroti (Vega, Cobo, 2020).

Raumenų verpstės – tai 6-8 specializuotų raumeninių skaidulų rinkiniai, išsidėstę pačioje raumenų masėje. Šios skaidulos reikšmingai neprideda prie raumenų sukuriamos jėgos. Dėl raumens verpstės formos šios skaidulos vadinamos intrafuzinėmis skaidulomis. Didžioji dauguma raumenų skaidulų, kurios leidžia raumenims dirbti, vadinamos ekstrafuzinėmis skaidulomis (Vega, Cobo, 2020). Intrafuzinės skaidulos išsidėsto lygiagrečiai su pagrindinėmis ekstrafuzinėmis (Stifani, 2014; Vega, Cobo, 2020).

Verpstės išorę dengia kapsulė – tarsi membrana, kuri izoliuoja ir atskiria raumens verpstę nuo ekstrafuzinių skaidulų. Aferentinių neuronų nervinės skaidulos išeina iš kapsulės centro. Centrinėse intrafuzinėse skaidulose miozinas ir aktinas nėra aptinkamas. Kaip ir minėta anksčiau, raumeninė verpstė išmatuoja raumens ilgį. Tuomet, per aferentines skaidulas impulsas siunčiamas į centrinę nervų sistemą. Receptoriaus potencialas yra sukliamas aferentinių nervinių galūnių tempimo. Šios nervinės galūnės gali būti ištemptos raumeniui ilgėjant su verpste ir sukelti intrafuzinių skaidulų periferinių dalių susitraukimą. Šios sąlygos išpildomos tik tada, kai sujaudinami gama motoneuronai. Padidėjus gama motoneuronų aktyvumui, susitraukia ir intrafuzinės skaidulos. Nervų galūnės išsitempia, kai susitraukia centrinė dalis. Anot Kėvelaičio, veikiant gama motoneuronams, padidėja ir verpsčių jautrumas sukliamas raumens ilgio pokyčiams, taigi, tempiant raumenį, jis ilgėja. O jam ilgėjant, kartu tempiasi ir raumens verpstės. Tuo pat metu, mechaniškai atveriami sensorinių nervinių galūnių joniniai kanalai – kyla receptorinis potencialas. O nervinėse skaidulose spontaniškai generuojami veikimo potencialai, kurie keliauja į nugaros smegenis (Kėvelaitis ir kt., 2006).

Skersaruožių griaučių raumenį sudaro daug raumeninių skaidulų, kurias sudaro aktinas ir miozinas. Dėl šio savitumo, raumeninių skaidulų jėga gali sumuotis. Vienas motorinis neuronas atkeliauja tik į vieną tokią skaidulą (Kėvelaitis ir kt., 2006). Raumeninės skaidulos gali būti inervuojamos tik vieno motoneurono, o raumens susitraukimas gaunamas raumenį stimuliuojant veikimo potencialų impulsų serija (Davis-Dusenbery *et al.*, 2014).

Taigi, motoriniai neuronai yra unikali, įvairi ląstelių grupė, kontroliuojanti pagrindines gyvųjų organizmų gyvenimo funkcijas – motorinius atsakus (judesio kontrolė), kvėpavimo, mitybines funkcijas – be kurios sudėtingas gyvenimas nebūtų įmanomas. Motoneuronai yra atsakingi už smegenų ir jutimo sistemų signalų integravimą (Squire *et al.*, 2014). Šie neuronai sudaro įvairias kontroliuojamas ir sudėtingas grandines visame kūne, valdydami tiek valingus, tiek nevalingus judesius (Watson *et al.*, 2008; Stifani, 2014; Boulis *et al.*, 2017).

1.3. Veikimo potencialas

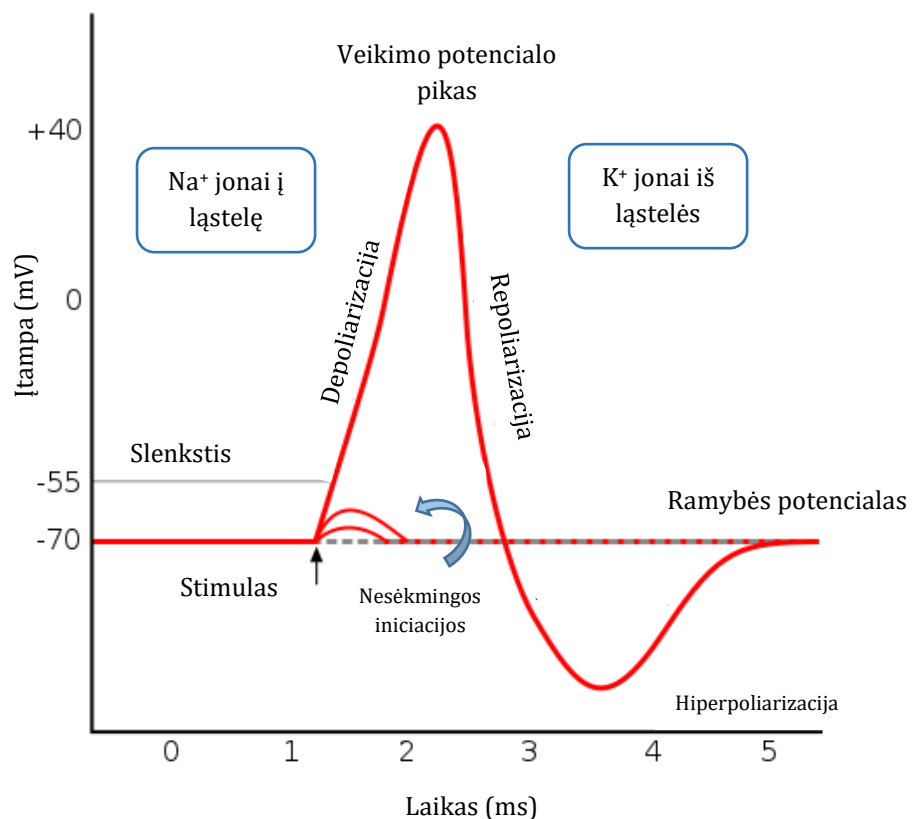
Nervinių impulsų generavimas ir sklidimas dažnai laikomi tik elektriniais įvykiais. Šio požiūrio paplitimas yra ilgo ir intensyvaus nervinių impulsų tyrimo elektrofiziologijoje rezultatas, pasibaigęs Hodžkino-Huxley (Hodgkin, Huxley 1939; Hodgkin, Huxley, 1945) veikimo potencialo (VP) modelio įvedimu šeštajame dešimtmetyje (Hodgkin, Huxley, 1952; Drukarch *et al.*, 2018). Šiuolaikinė eksperimentinės neurofiziologijos era prasidėjo 1930-aisiais, kai zoologas ir fiziologas Youngas išskyrė kalmarų milžiniškus aksonus, kurie dėl nepaprastai didelio skersmens leido atlikti tikslius pavienių neuronų elektrofiziologinius tyrimus (Young, 1938). Hodžkinas ir Huxley, du fiziologai iš Kembridžo universiteto, greitai suprato šio naujo eksperimentinio preparato potencialą ir pirmą kartą istorijoje užfiksavo veikimo potencialą iš nervinės skaidulos (Hodgkin, Huxley, 1939).

Pagrindinė smegenų kalbos dalis – elektriniai signalai. Jie leidžia patikimai registruoti atskirų neuronų aktyvumą. Neuronai perduoda informaciją elektrinių signalų, vadinamų nerviniais impulsais, forma (Purves *et al.*, 2001). Elektrinis signalas yra membranos potencialo nukrypimas nuo ramybės potencialo. Šie impulsai specializuoti greitam informacijos perdavimui dideliais atstumais. Elektriniai signalai skirstomi į gradualiuosius ir veikimo potencialus (Šatinskas, 2007). Gradualieji (pasyvieji/vietiniai) potencialai sklinda tik mažais atstumais, iki 1 mm – sklindant impulsui, amplitudė mažėja, kol galiausiai nuslopinama sklidimo greičio nuotoliui pasiekus didesnę nei 1 mm ribą. O impulsai, sklindantys dideliais atstumais – 1-1000 mm – vadinami veikimo potencialais (Purves *et al.*, 2001; Šatinskas, 2007).

Unikalus ir išskirtinis neuronų bruožas yra tas, kad jis turi aksoną – ilgą ataugą, kuriu perduodamas elektrinis signalas kitiems neuronams. Signalas, sklisdamas išilgai aksono trunka tik keletą milisekundžių (Huang, Rasband, 2018). Pradinis aksono segmentas (PAS) yra proksimaliniame aksone ir yra veikimo potencialo pradžios vieta (Kress, Mennerick, 2009; Huang, Rasband, 2018). Neuronai gauna sinapsines įvestis, kurios susilieja su jų dendritais ir ląstelių kūnais. Susumavus sinapsines įvestis, VP atsiranda pradiniame aksono segmente, 20–60 μm ilgio domene, esančiame proksimalinėje aksono/somos sąsajoje, kuriame yra didelė nuo įtampos priklausomų jonų kanalų, membraninių baltymų ir unikali submembraninių citoskeleto karkasų visuma (Huang, Rasband, 2018). Kaip jau minėta anksčiau, aksonus gali mielinizuoti glijos ląstelės: oligodendrocitai CNS ir Švano ląstelės PNS. Mielinizuotuose aksonuose veikimo potencialai atsinaujina Ranvjė mazguose. Mazgai yra maži tarpeliai mielino apvalkale, kur Na⁺ kanalai susitelkę dideliais tankiais. Veikimo potencialo sklidimo nervų sistemoje kryptingumas priklauso nuo labai poliarizuotų neuronų skyrių ir jonų kanalų

pasiskirstymo bei sudėties šiuose skyriuose. Be to, strateginė PAS vieta proksimaliniame aksone taip pat suteikia fizinių ir funkcinį poliškumą skirtingose srityse, nes PAS veikia kaip vartai tarp somatodendritinių ir aksoninių skyrių. Taigi, be savo vaidmens, reguliuojančio veikimo potencialo inicijavimą, PAS taip pat palaiko aksonų-dendrito poliškumą (Hedstrom *et al.*, 2008; Sobotzik, *et al.* 2009; Huang, Rasband, 2018).

Nervinės ląstelės veikimo potencialas (8 pav.) – laikinas ir staigus neurono membranos potencialo pokytis (iš neigiamo į teigiamą), kurį sukelia staiga į neuroną ir iš jo ištekantys jonai (Purves *et al.*, 2001; Alberts *et al.*, 2002; Sengupta *et al.*, 2010).



8 pav. Nervinės ląstelės veikimo potencialo generacija
Adaptuota pagal <https://teachmephysiology.com/nervous-system/synapses/action-potential/>

Veikimo potencialas neurone sukelia nervinį impulsą, o raumeninėje ląstelėje – raumens susitraukimą, reikalingą judesiams atlikti. Kadangi, VP yra nulemtas padidėjusio membranos laidumo kalio (K^+) bei natrio (Na^+) jonams, todėl žinoma, kad veikimo potencialai yra generuojami specialių įtampos valdomų jonų kanalų tipų, kurie įsiterpia į ląstelės plazminę membraną. Neuronai pasižymi krūvių pasiskirstymu, o tai reiškia, kad išorėje yra daugiau teigiamai įkrautų jonų nei ląstelės viduje. Ši reguliari krūvio pasiskirstymo būseną vadinama

ramybės potencialu. Ramybės potencialo metu daugiau natrio jonų yra išorėje nei neurono viduje ir daugiau kalio jonų neurono viduje nei išorėje. Taigi, kitaip tariant, paprastai neuronai sukuria neigiamą potencialą, vadinamą membranos ramybės potencialu, kurį galima išmatuoti registruojant įtampą tarp nervinių ląstelių vidaus ir išorės. Vidinė membrana turi neigiamą krūvį, išorinė – teigiamą. Tačiau, reikia paminėti, kad jonų koncentracija nėra statinė – jonai nuolat teka į neuroną ir iš jo, kai bando suvienodinti savo koncentracijas. Tačiau, ląstelė išlaiko gana pastovų neigiamos koncentracijos gradientą (nuo -40 iki -90 mV). Membranos potencialas nulemtas netolygaus jonų pasiskirstymo abipus membranos. Skirtingą bei netolygų šių jonų pasiskirstymą abipus membranos lemia selektyvus pralaidumas membranos jonams. Neuronų ląstelės membrana yra ypač pralaidi kalio jonams, todėl daug kalio išeina iš neurono per kalio nutekėjimo kanalus, bet neurono ląstelės membrana yra tik iš dalies pralaidi natrio jonams. Natrio jonai lėtai patenka į neuroną natrio nutekėjimo kanalais. Norint ląstelei išlaikyti neigiamą membranos ramybės potencialą, reikalingas Na^+/K^+ jonų siurblys/pompa, kuri pumpuoja kalį atgal į ląstelę ir tuo pat metu iš ląstelės išpumpuoja natrijį (Purves *et al.*, 2001).

Po Antrojo pasaulinio karo Hodžkinas ir Katzas (Hodgkin, Katz, 1949) tęsė eksperimentus su kalmarų milžiniškais aksonais ir įrodė, kad kalmarų neurono veikimo potencialas sumažėjo dėl natrio jonų ekstraląstelinės koncentracijos sumažėjimo. Autoriai teigė, kad tai buvo selektyvaus natrio jonų pralaidumo padidėjimo veikimo potencialo viršūnėje rezultatas, todėl buvo nustatyta viena iš pagrindinių neurologijos hipotezių – natrio hipotezė (Hodgkin, Katz, 1949). Kitaip tariant, membranos potencialą, kuris, kaip parodė Bernsteinas (Bernstein, 1912), priklausė nuo kalio jonų pralaidumo ramybės būsenoje, daugiausia lems natrio jonų pralaidumas sužadavimo metu (Drukarch *et al.*, 2018). Taigi, nors veikimo potencialo gamyboje dalyvauja įvairūs nuo įtampos priklausomi jonų kanalai, veikimo potencialą daugiausia skatina įtampos valdomi Na^+ kanalai (Liu *et al.*, 2012).

Ramybės būsenoje (prieš atsirandant veikimo potencialui) visi natrio ir kalio kanalai yra uždaryti. Jie atsidaro tik tada, kai membranos potencialas padidėja iki slenkstinės įtampos (paprastai apie -55 mV) (8 pav.), membranos depoliarizacijos metu. Signalas ateina iš kitų ląstelių, besijungiančių prie neurono ir dėl to teigiamai įkrauti jonai patenka į ląstelės kūną. Teigiami jonai vis tiek teka į ląstelę, kad ją depoliarizuotų (Purves *et al.*, 2001; Kress, Mennerick, 2009). Tačiau, šie jonai praeina per kanalus, kurie atsidaro, kai prie kanalo prisijungia specifinė medžiaga, vadinama neurotransmitteriu. Šie įeinantys jonai artina membranos potencialą prie 0, o tai vadinama depoliarizacija (8 pav.). Kai teigiami jonai patenka į neigiamą ląstelę, ląstelės poliškumas mažėja. Taigi, galima teigti, kad depoliarizacija daro ląstelę mažiau polišką – membranos potencialas sumažėja, nes jonai greitai pradeda

išlyginti koncentracijos gradientą. Neuronas tampa teigiamai įkrautas (Purves *et al.*, 2001). Depoliarizuojantis aksono stormeniui, įtampai jautrūs Na^+ jonų kanalai atsiveria membranoje, membranos laidumas padidėja natriui ir natrio jonai dėl elektrocheminio gradiento juda į ląstelę (8 pav.). Tai sukelia daugiau jonų kanalų atsidarymo procesą, taip sukuriant didesnę elektros srovę. Elektros srovė dar labiau depoliarizuoja membraną ir skatina atsiverti kitus natrio kanalus (Kress, Mennerick, 2009). Tačiau, dėl minėto koncentracijos ir elektrocheminio gradiento ne tik natrio jonai, bet ir chloro (Cl^-) – difunduoja į ląstelę, o kalio – iš. Depoliarizacija baigiasi tada, kai inaktyvuojami natrio jonų kanalai – tampa uždari ir nebereaguoja į įtampą, sustabdydami natrio jonų srautą į ląstelę. Jonų pusiausvyrą reguliuoja Na^+/K^+ pompa, o juos perneša naudodama ATP energiją. Repoliarizacija – procesas, kuris grąžina ląstelę į ramybės būseną (Purves *et al.*, 2001) (8 pav.). Natrio kanalų inaktyvavimo vartai užsidaro ir sustabdo teigiamų jonų veržimąsi į vidų. Tuo pačiu metu atsidaro kalio kanalai (8 pav.). Tačiau jie atsiveria tik tada, kai veikimo potencialas pasiekia savo aukščiausią piką (viršūnę). Ląstelės viduje yra daug daugiau kalio nei išorėje, todėl atsidarius šiems kanalams daugiau kalio išeina nei patenka į vidų (Kress, Mennerick, 2009). Kalis iš ląstelės išstumiamas (8 pav.) pagal elektrocheminį gradientą. Tai reiškia, kad ląstelė praranda teigiamo krūvio jonus, sumažėja membranos potencialas ir grįžta į ramybės būseną. Hiperpoliarizacija – daro ląstelę neigiamesnę nei jos tipinis ramybės būsenos membranos potencialas (8 pav.). Kai veikimo potencialas baigiasi, o membrana repoliarizuota, lėtieji kalio kanalai dar kurį laiką lieka atviri ir toliau leidžia teigiamiems kalio jonams plūsti iš neurono. Tai reiškia, kad ląstelė laikinai hiperpoliarizuojasi arba tampa dar labiau neigiama nei ramybės būseną. Kai kalio kanalai užsidaro, Na^+/K^+ siurblys atkuria ramybės būseną. Na^+ kanalai sugrįžta į įprastą būseną – užsidaro ir vėl reaguoja į sužadinimą ir galimas vėl naujas veikimo potencialų ciklas (Purves *et al.*, 2001).

Veikimo potencialas veikia dėsnio „viskas arba nieko“ – tai reiškia, kad veikimo potencialas sugeneruojamas arba ne (Purves *et al.*, 2001; Drukarch *et al.*, 2018). Sklisdamas veikimo potencialas nenutrūksta, jis pastovios vertės amplitudės – tai vienintelis žinomas universalus, savitas visos nervinės sistemos kodas (Šatinskas, 2007). Tai savaimė sklindančios elektrinio aktyvumo bangos, keliaujančios nervinių ląstelių paviršiumi, taip koduodamos ir perduodamos informaciją nervų sistemoje (Patton, Thibodeau, 2015; Drukarch *et al.*, 2018). Neuronų gebėjimas generuoti ir skleisti nervinius impulsus paprastai vadinamas neuronų jaudrumu, kuris laikomas pagrindine (fizine) nervinių ląstelių savybe. Šiame nervinio signalo perdavimo ir neuronų jaudrumo modelyje nervinių impulsų savybė „viskas arba nieko“

užtikrina užkoduotos informacijos pernešimą į ląstelę tiksliai nuo priimančiojo galo iki perduodančiojo neurono galo ir sudaro koncepcijos pagrindą (Drukarch *et al.*, 2018).

Norint sukurti nervinį impulsą, neuronai turi būti sujaudinti. Stimulai, tokie kaip šviesa, garsas ar slėgis, sužadina neuronus, tačiau daugeliu atvejų kitų neuronų išskiriamos cheminės medžiagos sukels nervinį impulsą. Kai smegenys gauna impulsą iš aplinkos, jos skleidžia daug signalų. Kaip greitai šie signalai sklinda ir vyksta, parodo, koks stiprus yra pradinis dirgiklis – kuo stipresnis signalas, tuo didesnis veikimo potencialo dažnis. Maksimalus dažnis, kuriuo vienas neuronas gali siųsti veikimo potencialą lemia jo refrakterinį periodą. Absoliutus refrakterinis periodas yra toks laikotarpis, kai visiškai neįmanoma sukelti kito veikimo potencialo. Natrio kanalų inaktyvavo vartai tam tikrą laiką užsidaro, todėl natrio nepatenka į ląstelę. Nėra natrio antplūzdžio, nėra ir depoliarizacijos, o tai reiškia, kad veikimo potencialas nebus generuojamas. Santykinis refrakterinis periodas apibūdinamas kaip laikotarpis, per kurį sunku sugeneruoti veikimo potencialą. Tai laikotarpis po absoliutaus refrakterinio periodo, kai jonų kanalų vartai vėl atsidaro. Tačiau, po veikimo potencialo, ląstelė vis dar yra hiperpoliarizuota. Norint pasiekti depoliarizaciją, reikėtų didesnio teigiamų jonų antplūdžio (Purves *et al.*, 2001).

1.4. Joniniai kanalai motoneuronuose

Nervinės ląstelės generuoja elektrinius signalus, kurie perduoda informaciją. Nors neuronai iš esmės nėra geri elektros laidininkai, jie sukūrė sudėtingus elektrinių signalų generavimo mechanizmus, pagrįstus jonų srautu per jų plazmines membranas (Purves *et al.*, 2001).

Lipidų dvisluoksnis, sudarantis neuronų membraną, iš esmės yra neišvengiamas barjeras jonų srautui. Taip yra todėl, kad neuronų membranos lipidinis dvisluoksnis linkęs atstumti elektriškai įkrautus, hidratuotus jonus, todėl judėjimas per membraną, būtinas nerviniams impulsams generuoti, tampa beveik neįmanomas. Taigi, joninis transportas vyksta į membraną įterptais specializuotais baltymais – jonų kanalais (Bezanilla, 2008). Jonų kanalai yra centrinės ir periferinės nervų sistemos elektrinio jaudrumo reguliavimo molekulinis pagrindas (Lehmann-Horn, Jurkat-Rott, 2012).

Įtampos valdomi jonų kanalai paprastai yra specifiniai jonams, ir kiekvieno neurono savybės yra apsprendžiamos jame esančių natrio (Na^+), kalio (K^+), kalcio (Ca^{2+}) ir chlorido (Cl^-) kanalų (Purves *et al.*, 2001; Alberts *et al.*, 2002). Nervų ir skeleto raumenų ląstelėse dirgiklis, sukeldamas pakankamą depoliarizaciją, greitai atveria nuo įtampos priklausomus Na^+ kanalus, leidžiančius nedideliu kiekiu patekti į ląstelę žemyn jos elektrocheminiu

gradientu. Teigiamo krūvio antplūdis dar labiau depoliarizuoja membraną, taip atverdama daugiau Na^+ kanalų, į kuriuos patenka daugiau Na^+ jonų, o tai sukelia dar tolesnę depoliarizaciją. Tačiau, didžiausia nuo įtampos priklausomų jonų kanalų klasė yra kalio kanalai. Įtampos valdomi kalio kanalai užtikrina antrąjį mechanizmą daugumoje nervinių ląstelių, padedančių plazminei membranai greičiau sugrąžinti pradinį neigiamą potencialą, pasirengusį perduoti antrą impulsą. Šie kanalai atsidaro, todėl trumpalaikį Na^+ antplūdį greitai užvaldo K^+ ištekėjimas, kuris greitai nukreipia membraną atgal K^+ pusiausvyros potencialo link, prieš baigiantis Na^+ kanalų inaktyvavimui. Šie K^+ kanalai reaguoja į membranos potencialo pokyčius beveik taip pat, kaip ir Na^+ kanalai, bet su šiek tiek lėtesne kinetika. Dėl šios priežasties jie kartais vadinami uždelstais K^+ kanalais (Alberts *et al.*, 2002). Mokslininkai taip pat mini ir Ca^{2+} kanalus, per kuriuos veikimo potencialo metu kalcis patenka į ląstelės vidų. Kalio srovė išteka ir sukeliama hiperpolarizacija. Veikimo potencialui kartojantis, hiperpolarizacija stiprėja po kiekvieno kalcio įtekėjimo. Šis nuolatos leidžiamas srovis stiprėjimas lėtina veikimo potencialo dažnį. Pažymėtina, kad paveikdamas vidinę ląstelės kalcio koncentraciją, kalcio kanalų aktyvumas kontroliuoja didžiulį ir nepamainomą biocheminių procesų spektrą ląstelėse. Svarbu paminėti, kad turbūt kone viena reikšmingiausių ir svarbiausių kalcio jonų funkcija yra neurotransmiterių paleidimas iš neuromediatoriaus pūslelių sinapsėse (Purves *et al.*, 2001).

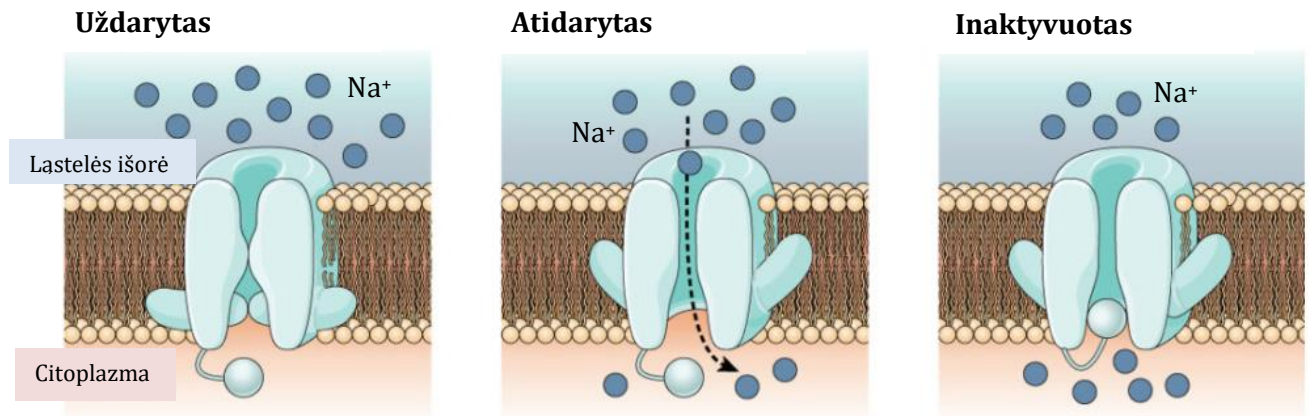
Yra žinoma, kad jonų kanalai įprastai susideda iš kelių subvienetų, išdėstytų taip, kad susidarytų centrinė pora, per kurią jonai gali judėti pagal elektrocheminį gradientą (Bezania, 2005). Na^+ , K^+ ir Ca^{2+} kanalai susideda iš 4-5 subvienetų, turinčių po 6 transmembraninius vienetus – 6 alfa spirales, išdėstytas aplink centrinę porą (Lodish *et al.*, 2000). Įtampos valdomi kalcio kanalai sudaryti iš 5 subvienetų, kurie koduojami skirtingų genų (Catterall, 2000). Kanalo šerdis yra α_1 subvienetas. α_1 subvienetas yra identifikuojamas kaip 190-250 kilodaltonų (kDa) baltymas (Catterall, 2000). Šis subvienetas sudarytas iš 4 domenų su 6 transmembraniniais segmentais. Kanalo be alfa subvieneto sudaro ir vidinis beta (β), transmembraninis delta (δ) ir gama (γ) subvienetai. Žinoma, kad $\text{Cav}1$ kanalų šeima yra L-tipo kalcio jonų srovės generatorius. Anot Guzulaičio, šiai srovei yra būdingas aukštas aktyvavimo slenkstis, o tai reiškia, kad norint aktyvuoti šią srovę, reikalinga stipri depoliarizacija (Catterall, 2000; Perrier *et al.*, 2002; Guzulaitis, 2013). Mokslininkai pažymi, kad nervų sistemoje yra aptinkami tik $\text{Cav}1.2$ ir $\text{Cav}1.3$ kanalai (Catterall, 2000; Simon *et al.*, 2003; Guzulaitis, 2013; Roca-Lapirot *et al.*, 2018).

Jonų kanalai yra integruoti baltymai išorinėje ir vidinėje sužadintų ląstelių membranoje. Jų funkcijos plačios – apima ramybės membranos potencialo sukūrimą, veikimo potencialų ir

kitų elektrinių signalų formavimą, keičiant jonų srautą per ląstelių membraną (Purves *et al.*, 2001). Dėl transportavimo efektyvumo kanalai turi pranašumą prieš nešiklius, nes per vieną kanalą kiekvieną sekundę gali praeiti iki 100 milijonų jonų – šis greitis yra 100 000 kartų didesnis nei greičiausias bet kurio žinomo nešiklio baltymo pernešimo greitis (Alberts *et al.*, 2002). Tačiau, kanalai negali būti sujungti su energijos šaltiniu aktyviam transportavimui, todėl transportas, kuriam jie tarpininkauja, visada yra pasyvus. Taigi, jonų kanalų pagrindinė funkcija yra leisti specifiniams neorganiniams jonams – pirmiausia, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- greitai pasklisti pagal savo elektrocheminį gradientą per lipidų dvisluoksnį (Alberts *et al.*, 2002).

Dvi svarbios priežastys išskiria jonų kanalus nuo paprastų vandeninių porų. Pirma, jie rodo jonų selektyvumą, leidžiančius specifiniams neorganiniams jonams praeiti. Tai įrodo, kad jų poros turi būti pakankamai siauros ties tam tikromis vietomis, kad prasiskverbiantys jonai glaudžiai kontaktuotų su kanalo sienelėmis. Tai reikalinga tam, kad galėtų praeiti tik atitinkamo dydžio bei krūvio jonai. Prasiskverbiantys jonai turi atsikratyti su jais susijusių vandens molekulių, kad galėtų praeiti pro selektyvumo filtrą – siauriausią kanalo dalį. Taigi, didėjant jonų koncentracijai, jonų srautas per kanalą proporcingai didėja. Antrasis svarbus skirtumas tarp jonų kanalų ir vandeninių porų yra tas, kad jonų kanalai nėra nuolat atviri. Vietoj to, jie yra uždari, todėl trumpam atsidaro ir vėl užsidaro. Daugeliu atvejų vartai atsidaro reaguojant į konkretų dirgiklį. Pagrindiniai dirgiklių tipai, sukeltantys jonų kanalų atidarymą, yra įtampos pokytis per membraną (įtampa valdomi kanalai), mechaninis įtempis (mechaniškai valdomi kanalai) arba ligando surišimas (ligandų kanalai). Ligandas gali būti tarpląstelinis tarpininkas, konkrečiai, neurotransmiteris (siųstuvų valdomi kanalai) – arba tarpląstelinis tarpininkas, pvz., jonas (jonais valdomi kanalai) arba nukleotidas (nukleotidų valdomi kanalai) (Alberts *et al.*, 2002).

Kanalai vadinami įtampos valdomi, nes jie atidaryti arba uždaryti priklausomai nuo įtampos skirtumo ląstelės membranoje (Sengupta *et al.*, 2010). Įtampa valdomi Na^+ kanalai turi dvejus vartus: aktyvinimo (uždarytus) ir deaktyvinimo (atidarytus) (9 pav.), o K^+ kanalai – tik vieną.



9 pav. Įtampos valdomi natrio kanalai

Adaptuota pagal <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/resting-membrane-potential/>

Natrio aktyvinimo vartai paprastai yra uždari ir atsidaro tik tada, kai ląstelė pradeda būti teigiama, deaktyvavimo vartai, priešingai, paprastai yra atidaryti ir uždaro, kai ląstelė tampa teigiama (9 pav.). Na, o kalio kanalai įprastai yra uždari, tačiau lėtai atsidaro, kai ląstelė depoliarizuojama (stipriai teigiamėja). Įtampa valdomi natrio kanalai egzistuoja vienoje iš trijų būsenų. Pirmoji, kai kanalas išjungtas (uždarytas) – ramybės būsenoje kanalai išjungiami. Aktyvinimo vartai uždaryti ir nepraleidžia Na⁺ jonų. Antroji būseną, kai kanalas aktyvuotas (atidarytas) (9 pav.) – kai srovė praeina membraną ir keičia įtampos skirtumą. Atsidaro kanalas, atsidaro ir aktyvinimo vartai. Ir trečioji būseną, inaktyvuotas kanalas (uždarytas) (9 pav.). Na⁺ kanalai turi automatinį inaktyvavimo mechanizmą, dėl kurio neuronui depoliarizuojantis, deaktyvavimo kanalai greitai uždaro, net jei membrana vis dar yra depoliarizuota ir taip blokuojamas natrio jonų patekimas į ląstelę (9 pav.). Na⁺ kanalai išlieka šioje inaktyvuotoje būsenoje ir negali atsidaryti iki kelių milisekundžių po to, kai membranos potencialas grįžta į pradinę neigiamą vertę. Todėl Na⁺ kanalas gali egzistuoti trijose skirtingose būsenose – uždaroje, atviroje ir inaktyvuotoje (9 pav.) (Alberts *et al.*, 2002).

Motoneuronai yra tarpinė išvestis iš centrinio paterno generatoriaus (CPG) tinklų į raumenis. Nors CPG aktyvuoja motoneuronus ir bendrais bruožais apsprendžia kuriais laiko momentais raumuo turi būti aktyvuojamas (Kiehn, Kullander, 2004; Marder *et al.*, 2005), galutinė motorinė išvestis priklauso ne tik nuo įėjimo iš tinklo, bet ir nuo vidinių motoneuronų savybių. (Kiehn, 1991; Kiehn *et al.*, 2000; Heckman *et al.*, 2003; Kadas *et al.*, 2017). Per nuo įtampos priklausomus Ca²⁺ kanalus įėjęs kalcis inicijuoja daugelį fiziologinių įvykių (Catterall, 2011). Daugelyje skirtingų ląstelių tipų Ca²⁺ patekimas į citozolį per įtampos valdomus Ca²⁺ kanalus reguliuoja fermentų aktyvumą, genų ekspresiją, raumeninės ląstelės susitraukimą ir kitus biocheminius procesus (Flavell, Greenberg 2008; Guzulaitis, 2013).

Įtampos valdomus kalcio jonų kanalus 1953 m. pirmą kartą identifiko P. Fatt ir B. Katz, kai atrado kalciui laidžių jonų kanalų egzistavimą vėžiagyvių raumenyse (Fatt, Katz, 1953). Po to, kai iš pradžių buvo nustatyta, kad vėžiagyvių raumenų ląstelėse yra Ca^{2+} laidžių kanalų, keli pranešimai patvirtino ir šių kanalų buvimą įvairių tipų žinduolių ląstelėse, įskaitant skeleto, širdies raumenis ir visas jaudinančias ląsteles (Feng *et al.*, 2018). Remiantis įtampos valdomų kalcio kanalų elektrofiziologinėmis savybėmis, jie buvo suskirstyti į dvi pagrindines klases: sužadinamus, esant žemam membraniniam potencialui (*angl.* low-voltage activated) ir sužadinamus, esant aukštam membraniniam potencialui (*angl.* high-voltage activated) (Feng *et al.*, 2018).

Nuo įtampos priklausomi kalcio kanalai yra transmembraniniai jonų kanalų baltymai, kurie selektyviai praleidžia kalcio jonus per ląstelės membraną, reaguodami į membranos potencialą depoliarizacijos metu (Feng *et al.*, 2018; Roca-Lapirot *et al.*, 2018). Pagal įtampos valdomų Ca^{2+} jonų kanalų farmakologines ir biofizikines savybes jie suskirstyti į keletą funkcinį kanalų tipų ir pavadinti T, L, N, P/Q ir R Ca^{2+} kanalais (Kadas *et al.*, 2017).

L-tipo Ca^{2+} kanalai (*angl.* Long lasting) yra gausiausia nuo įtampos priklausoma Ca^{2+} kanalų šeima (Feng *et al.*, 2018; Roca-Lapirot *et al.*, 2018). Literatūroje dažnai vadinami dihidropiridinių receptoriais (arba DHPR). Jie yra jautrūs įvairiems 1,4-dihidropiridinams, kurie blokuoja (nifedipinas, nikardipinas) arba didina kalcio srovę per L-tipo Ca^{2+} kanalus. Šie aukšto potencialo sužadinami kanalai dažniausiai ekspresuojami ir paplitę įvairiuose audiniuose: griaučių raumenyse, širdyje, smegenyse, endokrininėse ląstelėse, neuronuose ir kt. Jiems būdingas gana didelis laidumas (nuo 11 iki 25 pS) ir lėta nuo laiko ir įtampos priklausoma inaktyvacija (~500 ms). L-tipo Ca^{2+} kanalų įvairovė yra gana didelė ir toje pačioje ląstelėje gali būti ekspresuojami skirtingi L-tipo Ca^{2+} kanalai (Feng *et al.*, 2018). Motoneuronai ekspresuoja $\text{Ca}_v1.2$ ir $\text{Ca}_v1.3$ potipių L-tipo kalcio kanalus (Simon *et al.*, 2003).

Nuo įtampos priklausomi kalcio (Ca^{2+}) kanalai yra nuo įtampos priklausomų jonų kanalų grupė, aptinkama sužadinamų ląstelių (pavyzdžiui, raumenų, neuronų ir kt.) membranose, turinčiose pralaidumą Ca^{2+} jonams (Yamakage, Namiki, 2002). Šie kanalai yra šiek tiek pralaidūs ir natrio jonams, todėl jie dar vadinami kalcio-natrio kanalais, tačiau jų pralaidumas kalciui normaliomis fiziologinėmis sąlygomis yra apie 1000 kartų didesnis nei natriui (Hall, 2011).

Žinoma, jog kalcio srautas į motoneuronus gali vykti per įtampos valdomus kalcio kanalus (Kadas *et al.*, 2017). Įrodyta, kad įtampos valdomi kalcio kanalai (pagrindė, L-tipo Ca^{2+} kanalai) vaidina svarbų vaidmenį reguliuojant, moduluojant stuburo motoneuronų jaudrumą (Musaro, 2013; Tran *et al.*, 2014; Chang, Martin, 2016; Kadas *et al.*, 2017).

Įtampos valdomi kalcio kanalų aktyvacija atsiranda dėl depoliarizuojančios srovės ir yra atsakinga už neurono depoliarizaciją, jaudrumo reguliavimą, neurotransmiterių išsiskyrimą ir kalcio, kaip antrinio elektrinio signalo pasiuntinio, moduluojančio genų ekspresiją ir ląstelių elgesį, antplūdį (LoRusso *et al.*, 2014). Esant fiziologiniam arba ramybės membranos potencialui, įtampos valdomi Ca^{2+} kanalai paprastai yra uždaryti. Jie aktyvuojami (t.y. atidaromi) esant depoliarizuotam membranos potencialui (Catterall, 2011). Lokaluoti dendrituose, šie kanalai gali prisidėti prie nuolatinės vidinės srovės ir sustiprinti sinapsinį įvestį (Heckman *et al.*, 2003; Kadas *et al.*, 2017). Priešingai, aksoninis Ca^{2+} įtekėjimas per L-tipo kanalus skatina didžiausią motoneuronų aktyvumą, padidindamas Na^+ kanalo deaktyvaciją po greitos hiperpoliarizacijos (Kadas *et al.*, 2017).

Mokslininkai Schwindt ir Crill (Schwindt, Crill 1977, 1980) buvo pirmieji, kurie atrado nuolatinės vidinės srovės (NVS) stuburo motoneuronuose (Schwindt, Crill 1977, 1980; ElBasiouny *et al.*, 2010). NVS yra depoliarizuojanti vidinė srovė, kuri aktyvuojasi tol, kol membranos potencialas yra depoliarizuotas (ElBasiouny *et al.*, 2010). Tai yra vidinis joninis mechanizmas, leidžiantis motoneuronams reaguoti į trumpą sinapsinę įvestį užsitęsusiu aktyvumu, net ir pasibaigus įėjimui (Schwindt, Crill, 1980). Motoneuronų savaiminis aktyvumas gali būti nutrauktas per slopinančius sinapsinius įėjimus, kurie hiperpoliarizuoja membranos potencialą ir deaktyvuoja nuolatinės vidinės srovės (Hounsgaard *et al.*, 1988; Kuo *et al.*, 2003). Kadangi dauguma NVS tarpininkaujančių kanalų yra dendrituose (Hounsgaard, Kiehn, 1993; Lee, Heckman, 1996; Bennett *et al.*, 1998), sustiprinama nedidelė sinapsinė įvestis, kuri suaktyvina dendritinį NVS, todėl soma pasiekia didelę srovę (t.y. sinapsinė srovė + nuolatinė vidinė srovė), sukeldama didesnį motoneuronų aktyvumo greitį (ElBasiouny *et al.*, 2010).

Stuburo motoneuronuose NVS turi du vienodus komponentus, kuriuose tarpininkauja dviejų skirtingų tipų jonų kanalai: nuolatiniai Na^+ (Na^+ NVS) (Li ir Bennett, 2003) ir žemos įtampos aktyvuoti L-tipo Ca^{2+} (Ca^{2+} NVS) kanalai (ElBasiouny *et al.*, 2010). Na^+ NVS aktyvuojamas esant mažesniems slenksčiams, turi greitą aktyvavimo/deaktyvavimo kinetiką (ElBasiouny *et al.*, 2010). Na^+ nuolatinė vidinė srovė vaidina svarbų vaidmenį inicijuojant veikimo potencialą ritminio motoneuronų aktyvumo metu (Lee ir Heckman, 2001). Kita vertus, Ca^{2+} nuolatinė vidinė srovė aktyvavimo potencialas skiriasi (gali suaktyvinti žemesnį, ties arba virš slenksčio), turi lėtą aktyvavimo/deaktyvavimo kinetiką (Li ir Bennett, 2003; ElBasiouny *et al.*, 2010). L-tipo Ca^{2+} kanalai, tarpininkaujantys Ca^{2+} NVS, yra motoneuronų dendrituose (Hounsgaard, Kiehn, 1993) ir vėliau vaidina svarbų vaidmenį stiprinant sinapsines sroves (Bennett *et al.*, 1998; Lee ir Heckman, 2000; ElBasiouny *et al.*, 2010). Be to, pakartotinė

membranos potencialo depoliarizacija padidina Ca^{2+} NVS aktyvavimą (Russo ir Hounsgaard, 1994 ; Delgado-Lezama *et al.*, 1999). Manoma, kad šis procesas atsiranda dėl depoliarizacijos sukulto L-tipo Ca^{2+} kanalų, kuriuose membranų depoliarizacija palengvina vėlesnį kanalo atidarymą dėl intracelulinės Ca^{2+} koncentracijos padidėjimo (Dolphin, 1996; Perrier *et al.*, 2000).

Jau daugelį metų žinoma, kad motoneuronai reaguoja į nuolatinę depoliarizacinę srovę veikimo potencialų seka, kurios dažnis adaptuojasi nuo didelio pradinio iki žemesnio dažnio pastovioje būsenoje (Kernell, 1965). Šis nuo veiklos priklausomas jaudrumo pokytis yra svarbus motoneurono inervuotų raumenų skaidulų mechaniniam išėjimui (susitraukimui) (Binder *et al.*, 1996; Alaburda *et al.*, 2002). Tarp galimų mechanizmų, galinčių prisidėti prie motoneuronų jaudrumo reguliavimo, M srovės aktyvavimas yra geras variantas ypač ankstyvoje adaptacijos fazėje (Alaburda *et al.*, 2002). Yra įrodyta, kad M srovės kontroliuoja neuronų jaudrumą įvairiuose centriniuose ir periferiniuose neuronuose (Rivera-Arconada, Lopez-Garcia, 2005). M srovė, taip vadinama, nes ją sumažina acetilcholinai, veikiantis muskarino receptorių, yra lėtai aktyvuojanti įtampos reguliuojama K^+ srovė (Alaburda *et al.*, 2002). M srovė įsijungia lėtai, kai depoliarizuojama įtampa nuo -60 mV, ir išsijungia, kai įtampa sumažinama. M srovė aktyvuojasi netoli ramybės būsenos membranų potencialo ir neina aktyvuojasi nuolatinės depoliarizacijos metu. Priimta, kad daugumą M srovių tarpininkauja KCNQ K^+ kanalų šeima, nes šie kanalai generuoja srovę, kuri turi daug panašių charakteristikų su M srove, įskaitant priklausomybę nuo įtampos, kinetiką ir farmakologiją (Alaburda *et al.*, 2002). Taip pat žinoma, jog M tipo srovė prisideda prie suaugusio vėžlio stuburo motoneuronų atsako savybių. Suaugusių vėžlių stuburo motoneuronuose muskarinas padidina jaudrumą, palengvindamas nuolatinę vidinę srovę, kurią tarpininkauja L-tipo Ca^{2+} kanalai (Delgado-Lezama *et al.*, 1997). Muskarino sukeltas jaudrumo padidėjimas, kuris išlieka esant nifedipinui (kalcio kanalų blokatorius), yra susijęs su M tipo K^+ srovės sumažėjimu (Alaburda *et al.*, 2002).

1.5. Veikimo potencialo slenkstis

Veikimo potencialui būdingas slenkstis. Veikimo potencialas generuojamas tik tada, kai pasiekiamas sužadavimo slenkstis. Kitaip tariant, veikimo potencialo generacija vyksta, jei dėl žadinančių srovių membranų potencialas pasiekia slenkstinę vertę (Buišas, 2012). Slenkstis – kritinė depoliarizacijos vertė, kurią viršijus vyksta griūtinis veikimo potencialo generavimas (8 pav.) (Platkiewicz, Brette, 2010). Veikimo potencialo slenkstis apibrėžiamas kaip membranų potencialo vertė, ties kuria vyksta griūtinė veikimo potencialo generacija –

veikimo potencialas pradeda greitai didėti. Veikimo potencialo slenksčio vertė dažniausiai apibrėžiama ribose nuo -50 iki -55 mV. Veikimo potencialas generuojamas depoliarizuojantis neuronui, kai atsidaro nuo įtampos priklausomi natrio jonų kanalai (Platkiewicz, Brette, 2010; Liu *et al.*, 2012). Todėl slenkstinį potencialą, pirmiausia, nulemia šių kanalų aktyvinimas ir galima teigti, kad jonų kanalų savybės vaidina svarbų vaidmenį slenksčio moduliavime (Platkiewicz, Brette, 2010).

Veikimo potencialo slenkstis skiriasi ląstelėse ir laikui bėgant, priklausomai nuo ankstesnių stimuliacijų, o tai turi didelių funkcinių pasekmių integracinėms neuronų savybėms. Slenkstis *in vitro* eksperimentiniuose tyrimuose aprašomas kaip ląstelės atsakas į kontroliuojamą dirgiklį, kurio stiprumą apibrėžia parametras – srovės intensyvumas. Tada sužadavimo slenkstis apibrėžiamas kaip minimali šio parametro vertė, kurią viršijus sukeliamas veikimo potencialo šuolis (Platkiewicz, Brette, 2010). Daugumos sužadintų ląstelių slenkstinis potencialas yra apie 15 mV mažiau neigiamas nei ramybės potencialo. Įprastai slenksčio potencialas yra apie -55 mV (8 pav.). Neurone, ramybės potencialui sumažėjus nuo -70 iki -55 mV, ląstelėje suaktyvinamas veikimo potencialas, kuris plinta išilgai neurono aksonu. Veikimo potencialas sklinda tos pačios formos ir dydžio per visą aksono ir raumens ilgį (Mackenna, Callander, 1990). Tačiau, slenkstinė potencialo reikšmė nėra pastovaus dydžio, gali skirtis priklausomai nuo Na⁺ kanalų tankio plazminėje membranoje, neurono aksono skermens ir t.t. Pasitaiko ir aukšto slenksčio verčių, pavyzdžiui, -30, -40 mV. Vadinasi, reikia daugiau teigiamo krūvio jonų antplūdžio. Nepasiekus ribinės vertės, veikimo potencialas generuojamas nebus. Neuronas arba nepasiekia slenksčio, arba sugeneruojamas pilnas veikimo potencialas – tai aukščiau minėtas „viskas arba nieko“ principas (Platkiewicz, Brette, 2010; Shi, 2021).

Dirgikliams, kurių intensyvumas yra mažesnis, vietinė srovė didėja didėjant stimulo intensyvumui. Tačiau, veikimo potencialas nepasireiškia esant iki slenkstiniam dirgikliui. Kai stimulo intensyvumas pasiekia slenkstį, veikimo potencialas atsiranda vietinės srovės pagrindu ir greitai pasiekia fiksuotą maksimumą savaime atsinaujindamas, o tada greitai atkurs pradinį ramybės potencialo lygį (Shi, 2021). Membranos potencialui pasiekus slenkstį, pusiausvyrą tampa nestabili. Ši nestabili būseną galima dviem būdais: perėjimas į ramybės potencialą arba veikimo potencialo generacija. Pagal slenkstinį potencialą galima spręsti, ar gaunamas dirgiklių kiekis yra pakankamas, kad sukeltų veikimo potencialą. Padidėjus natrio jonų laidumui į ląstelę, kartu didėja ir membranos depoliarizacija (8 pav.). Ji atitinkamai sukelia dar didesnę jonų antplūdį į ląstelę ir duoda pradžią veikimo potencialo susiformavimui. Na, ir priešingai, membranos potencialui nutolus nuo slenksčio, įvyksta neigiamos reikšmės didėjimas (hiperpoliarizacija) (8 pav.). Padidėja kalio jonų ir sumažėja natrio jonų laidumas.

Kalio jonai keliauja iš ląstelės, o jonų koncentracija po truputį, laipsniškai grįžta į ramybės potencialą, ląstelėje fiksuojama -70 mV įtampa (Platkiewicz, Brette, 2010; Shi, 2021).

1.6. Veikimo potencialo slenksčio kitimas

Žinoma, kad slenkstis depoliarizuojasi adaptacijos metu (Alaburda, Hounsgaard, 2003; Grigonis, Alaburda, 2017). Motoriniai neuronai funkcinį stuburo neuronų tinklo aktyvumo metu gauna masinį sužadimą ir slopinimą. Padidėja membranos laidumas – motoneuronai persijungia į aukšto laidumo būseną, kuri gali pakeisti motorinių neuronų atsako savybes (Grigonis *et al.*, 2016).

Moksliniai tyrimai atskleidė, kad membranų laidumas galimai savybė, daranti įtaką slenkstiniam potencialui (Prescott *et al.*, 2006). Tačiau kitų mokslininkų tyrimai paneigė išvadas ir įrodė, kad 40-50% membranos laidumo padidėjimas gerokai padidina adaptaciją, bet nekeičia veikimo potencialo slenksčio (Alaburda *et al.*, 2005). Grigonio ir jo kolegų teigimu (Grigonis *et al.*, 2016), padidėjusio laidumo poveikis slenksčiui gali priklausyti tiek nuo ląstelių tipo, tiek nuo įtampos valdomų jonų laidumo (Grigonis *et al.*, 2016). Tiriant nugaros smegenų neuroninį tinklą, mokslininkai patvirtino, jog vėžlių motorinių neuronų membranų laidumas padidėja vidutiniškai apie 60% (Alaburda *et al.*, 2005). Tačiau, pastebėta, kad nugaros smegenų neuroninio tinklo veikimo metu padidėjęs laidumas yra atsitiktinis – stochastinis. Jis skirtingai pasiskirsto ant motoneuronų kūno, dendritų. Galimi momentinio laidumo pikų padidėjimai (Alaburda *et al.*, 2005). Taigi, apibendrinant, šie veiksniai gali sukelti slenkstinio potencialo pokyčius nervinėse ląstelėse (Alaburda, Hounsgaard, 2003; Alaburda *et al.*, 2005; Grigonis *et al.*, 2016).

Kadangi žinoma, jog natrio kanalai yra atsakingi už veikimo potencialo generavimą, slenkstis, pirmiausia, nustatomas pagal jų aktyvavimo charakteristikas (Wilent, Contreras, 2005). Slenkstį galima keisti inaktyvuojant natrio kanalus ir daugybe kitų jonų kanalų, kuriuos galima rasti neuronuose. Esant tokiam pačiam kanalo tankiui, skirtingų tipų kanalų slenkstis gali skirtis iki 50 mV (Platkiewicz, Brette, 2010). Tyrėjai, norėdami iširti kaip jonų kanalai gali modifikuoti slenkstį, iškėlė prielaidą: inaktyvacija nepriklauso nuo aktyvavimo, o procesai yra lėti, lyginant su veikimo potencialo pikų inicijavimu (apie milisekundę). Kaip ir tikėtasi, pirmoji prielaida buvo patvirtinta: slenkstis padidėja, kai inaktyvuojama daugiau natrio jonų kanalų. Jis taip pat didėja didėjant ir bendram jonų laidumui. Iš to galima teigti, kad reikia daugiau natrio jonų laidumo, kad susidarytų veikimo potencialas, kai kitų jonų laidumas yra

dar didesnis. Trumpai tariant, didėjant membranos potencialui, slenkstis didėja su kiekvienu veikimo potencialo generavimu ir jo sklidimu palei aksoną (Platkiewicz, Brette, 2010).

Veikimo potencialo slenkstis *in vivo* turėtų būti didesnis nei *in vitro*, nes bendras laidumas yra kelis kartus didesnis (Destexhe *et al.*, 2003). Dėl tos pačios priežasties jis taip pat turėtų būti didesnis aukštesnėse laidumo būsenose. Slenkstis koreliuoja su natrio inaktyvacija, todėl jis turėtų didėti didėjant membranos potencialui, kaip pastebėta *in vitro* ir *in vivo* (Azouz, Gray, 2000; Azouz, Gray, 2003; Hu *et al.*, 2009). Be to, slenkstinis moduliavimas inaktyvuojant yra stipriausias, kai yra inaktyvuota daugiau natrio jonų kanalų, tai yra, kai neuronas yra depoliarizuotas. Veikimo potencialo slenkstis taip pat koreliuojamas su įtampos valdomu kalio kanalų laidumu. Esant dideliame K⁺ kanalų laidumui, slenkstis didėja, kai padidėja membranos potencialas (Platkiewicz, Brette, 2010).

Motoneuronų sužadinimas priklauso nuo veikimo potencialo slenksčio – slenkstinio potencialo depoliarizacija mažina motorinių neuronų sužadinamumą (Grigonis, Alaburda, 2017). Veikimo potencialus gali sukelti arba padidėjęs sužadinimo laidumas, arba sumažėjęs slopinantis laidumas. Pirmuoju atveju, bendras laidumas ir slenkstis didėja, o antruoju atveju, slenkstis mažėja. Esant didelio laidumo režimams, buvo teigiama, kad veikimo potencialus daugiausia sukelia slopinimo sumažėjimas, nes dominuoja sinapsinis slopinimas (Destexhe *et al.*, 2003; Piwkowska *et al.*, 2008). Tai gali reikšti, kad greitesnė depoliarizacija atitinka mažesnį slopinamąjį laidumą ir žemesnį slenkstį, todėl depoliarizacijos greitis yra atvirkščiai koreliuojamas su slenksčiu, kaip pastebėta eksperimentiškai (Azouz, Gray, 2000). Tačiau ši poveikį iš esmės riboja tai, kad slopinamasis laidumas negali būti neigiamas (Platkiewicz, Brette, 2010).

Depoliarizacijos greitis – veiksnys, turintis įtakos veikimo potencialo slenksčiui (Azouz, Gray, 2000; Azouz, Gray, 2003). Ilgėjant depoliarizacijos trukmei, slenkstinis potencialas depoliarizuojasi. Galimai tai vyksta dėl natrio kanalų prieinamumo sumažėjimu depoliarizacijos metu dėl kanalų inaktyvacijos (Azouz, Gray, 2000; Grigonis *et al.*, 2016).

Ankstesniame mano bakalauriniame darbe buvo tirtas motoneuronų veikimo potencialo slenksčio kitimas – kaip slenkstis atsistato po adaptacijos. Tyrime buvo naudotos 200, 500, 1000 ms varginimo ir nuo 10 iki 1000 ms atsistatymo po adaptacijos trukmės. Motoneuronų veikimo potencialo nusistovėjęs slenkstis atsistatė po 200 ms varginimo per 100 ms iki -39,2±8,6 mV ir patikimai nesiskyrė nuo kontrolinio. Stimuliuojant motoneuronus 500 ms srovės impulsais, pradinis slenkstis po 800 ms buvo depoliarizuotas -40,1±8,9 mV ir pilnai pasiekė atsistatymą. Po 900 ir 1000 ms trukmės poilsio pradinis slenkstis taip pat nesiskyrė nuo kontrolinio. Nusistovėjęs slenkstis po 900 ms buvo -34,3±7,7 mV, o po 1000 ms – -34,4±7,6

mV ir abiem atvejais nesiskyrė nuo kontrolės. Po 1000 ms stimuliavimo, nei pradinis, nei nusistovėjęs veikimo potencialų slenkstis atsistatymo nepasiekė. Pradinio veikimo potencialo slenksčio depoliarizacija per iki 100 ms trunkantį poilsį mažėjo nuo $7,2 \pm 3,4$ mV iki $2,2 \pm 2,1$ mV, tačiau galutinai neatsistatė. Nusistovėjusio slenksčio depoliarizacija per iki 100 ms trunkantį poilsį taip pat mažėjo, tačiau atsistatyti taip pat nepavyko. Gauti rezultatai parodė, po 1000 ms varginimo per 100 ms nei pradinis, nei nusistovėjęs slenkstis neatsistatė ir to priežastis galėjo būti per ilgai trunkantis motoneuronų varginimas. Iš to matėme, kad mažinant varginimo trukmę, mažėja ir slenksčio depoliarizacija. Taip pat rezultatai atskleidė, kad pradinio slenksčio depoliarizacija mažėja ilgėjant poilsio trukmei.

1.7. Raumenų valdymas nugaros smegenyse

Buvo teigiama, kad nervų sistemos funkcija yra palaikyti judėjimą ir kad ji išsivystė dėl savo naudingumo organizmams egzistuoti savo aplinkoje (Faber, Pereda, 2018). Ankstyvieji stebėjimai parodė, kad raumenų susitraukimui reikalingi nervai. Tačiau šios sąveikos mechanizmas nebuvo žinomas. Sena, vyraujanti Rene'o Descartes'o idėja, buvo ta, kad raumenų susitraukimas atsirado dėl „gyvūnų dvasių“, tekančių tuščiaviduriais nervais (Piccolino, 1998). Vėliau ši ir kitos spekuliacinės idėjos buvo paneigtos, todėl imta svarstyti alternatyvius mechanizmus. Vienas iš jų buvo elektra (Franklin, 1751), kuri galėjo sukelti raumenų susitraukimą (Faber, Pereda, 2018).

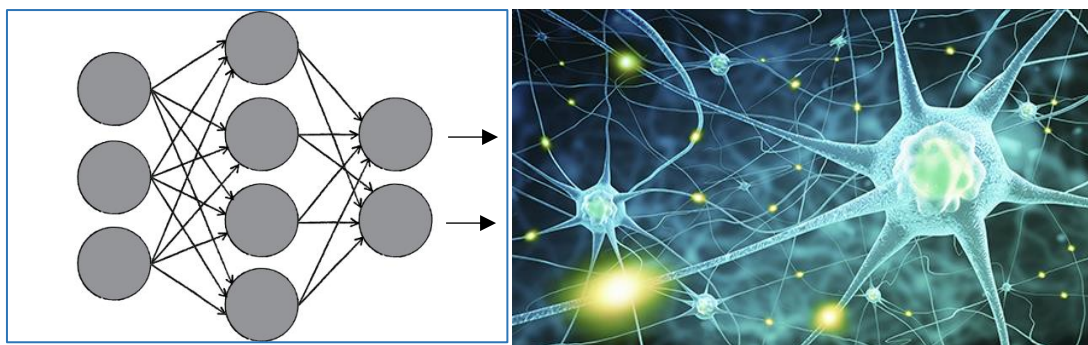
Ankstesni tyrimai, kuriuose buvo naudojami sveiki spinalizuoti gyvūnai, parodė, kad koordinuotus judesius galima sukurti tinkamais raumenų sinergijos deriniais, kuriuos kontroliuoja centrinė nervų sistema (Roh *et al.*, 2011). Gyvūnų centrinė nervų, raumenų ir kaulų sistema bendradarbiauja, kad sukurtų kryptingą, gerai koordinuotą elgesį (Roh *et al.*, 2011). Iki šiol sukaupiti eksperimentiniai įrodymai patvirtino idėją, kad judesių moduliai gali būti apibrėžiami kaip raumenų sinergija, būdingi vienu metu vykstančių raumenų aktyvavimo modeliai, kurių derinys gali sukelti įvairius judesius (Hart, Giszter, 2004; Ting, Macpherson, 2005; Roh *et al.*, 2011). Tyrėjai, išnaudodami šią raumenų sinergijos sistemą, tyrė elgseną, naudojant sumažintus preparatus, dažnai su spinalizuotais gyvūnais, siekdami išspręsti nervinių grandinių organizavimo moduliškumo problemą (Stein *et al.*, 1995; Saltiel *et al.*, 1998; Tresch *et al.*, 1999; Giszter, Kargo 2000; Saltiel *et al.*, 2001).

Raumenų sinergija, atsakinga už natūralų elgesį, gali būti visiškai organizuota nugaros smegenyse. Steinas ir jo kolegos gavo įrodymų iš tyrimų iš nugarinio vėžlio, rodančio, kad motorinius modelius kasymosi metu sukuria centrinis nugaros smegenų modelio generatorius,

sudarytas iš esančių toje pačioje kūno pusėje ir priešingų lenkimo ir tiesiamųjų raumenų modulių (Mortin *et al.*, 1985 ; Robertson *et al.*, 1985; Stein *et al.*, 1995).

1.8. Nugaros smegenų neuroninis tinklas

Nervų sistemą sudaro milijardai neuronų su ilgais, tarpusavyje susijusiais procesais, kurie sudaro sudėtingas integruotas elektrochemines grandines. Stuburinių gyvūnų funkciname motoriniame elgesyje dalyvauja plataus masto nugaros smegenų neuronų tinklas (10 pav.), kurio motorinis aktyvumas apima didžiulį motorinių neuronų kiekį (Alaburda *et al.*, 2005; Grigonis *et al.*, 2016; Stein, 2018).



10 pav. Neuronų tinklas

Adaptuota pagal <https://neuraldump.net/2016/03/introduction-to-neural-networks/> ir <https://natureofcode.com/book/chapter-10-neural-networks/>

Neuronai gauna ir sumuoja įėjimus iš kitų neuronų (10 pav.). Būtent per šias neuronų grandines gyvūnai jaučia pojūčius ir tinkamai reaguoja. Kitaip tariant, nervų sistemą sudaro neuronų tinklas, kurio pagrindinė funkcija yra generuoti, moduluoti ir perduoti informaciją tarp visų skirtingų organizmo kūno dalių (Grigonis *et al.*, 2016; Stein, 2018). Tačiau, šis sudėtingas neuronų tinklas atlieka ir kitą svarbią funkciją – apdoroja sensorinę informaciją ir priima sprendimus – atskiria tikslingą stimulą nuo triukšmo (Guzulaitis, 2013). Sprendimo priėmimui svarbus stimulo intensyvumo parametras. Esant pakankamai intensyviam stimului, neuroninis tinklas vykdo atitinkamas motorines programas (Guzulaitis, 2013). Sumažėjus stimulo intensyvumui, svarbų vaidmenį atlieka stimulo pasikartojamumo faktorius. Jei stimulus yra silpnas ir nuolat pasikartoja tam tikru pastoviu dažniu, stimulus traktuojamas kaip reikšmingas ir į jį reaguojama (Guzulaitis, 2013).

Anot mokslininkų, visuotinai žinomas klasikinis laikinės sumacijos pavyzdys vyksta neuronuose dėl jų membranos laiko konstantos (Kandel *et al.* 2000; Guzulaitis, 2013). Guzulaičio teigimu, nervinė ląstelė sugeba integruoti posinapsinius potencialus, kurie įvyksta milisekundžių laiko intervale (Guzulaitis, 2013). Tačiau, pastebėta, kad būtent funkcinis

nugaros smegenų neuroninis tinklas, visgi, geba integruoti somatosensorinius jėjimus, kurie įvyksta rečiau nei 1 (Sherrington, 1906, Crowe, Linnartz 1985; Guzulaitis, 2013). Todėl posinapsinių įvykių laikinė integracija vykstanti neurono lygmenyje yra keliomis eilėmis greitesnis procesas (Guzulaitis, 2013).

Ko gero, daugiau nei prieš šimtmetį mokslininkai pastebėjo, jog ritmiškas judėjimas gali būti sukeltas ir spinalizuotuose gyvūnuose (Sherrington, 1906; Brown, 1911), kai nuo galvos smegenų atskiriamas nugaros smegenų neuroninis tinklas (Guzulaitis, 2013). Anot Guzulaičio (Guzulaitis, 2013), spinalizacija rodo, kad ritmiški judesiai generuojami bei koordinuojami nugaros smegenų neuronų tinklų (Guzulaitis, 2013). Taip pat svarbu pabrėžti, kad jiems nebūtina aukštesnių smegenų centrų struktūrų kontrolė (Guzulaitis, 2013). Šis ritminis aktyvumas neuronų tinkle organizuotas dviem būdais. Pirmuoju būdu, judesiai organizuojami refleksų grandinės principu. Kai aktyvuojama viena motoneuronų grupė, sutraukiami tų motoneuronų inervuojami raumenys (Guzulaitis, 2013). Raumenų susitraukimo metu aktyvuojasi aferentiniai neuronai. Aktyvavus aferentinius neuronus, jie savo ruožtu neuronų tinkle aktyvuoja interneuronus. Tuo tarpu, patys interneuronai slopina priešingą (antagonistinę) motoneuronų grupę. Užtikrinama, kad tuo laiko momentu būtų aktyvi tik viena iš antagonistinių motorinių neuronų grupių. Antagonistinė motoneuronų grupė aktyvuojasi tik tada, kai sumažėja motorinių neuronų aktyvumas. Taigi, ritmiškumas gali būti pasiektas tik tuo atveju, jei yra slopinamos antagonistinės motoneuronų grupės ir antruoju būdu, jei egzistuoja aferentinio grįžtamojo ryšio pagalba. Neuronų tinklas, gebantis generuoti ritminius motorinius judesius be aferentinio grįžtamojo ryšio, vadinamas centriniu paterno generatoriumi (CPG). Šis CPG aktyvuoja antagonistinius motorinius neuronus, kurie aktyvuoja atitinkamas raumenų grupes (Guzulaitis, 2013).

Aptartuose atvejuose, moduliai yra vienpusiai, tai reiškia – priešingos pusės – kairės ir dešinės pusės. Tačiau, yra atlikta eksperimentinių tyrimų, įrodančių, kad minėti moduliai yra glaudžiai susiję tie, kurie valdo priešingų pusių galūnes. Tarkim, įprastam, pavyzdžiui, kairės pusės kasymosi refleksui generuoti taip pat labai svarbus ir nugaros smegenų neuroninis tinklas, kuris yra priešingoje nugaros smegenų pusėje (Stein *et al.* 1995). Tyrėjas Stein'as kartu su kolegomis tikina, jog priešingų pusių galūnes valdantis funkcinis nugaros smegenų neuroninis tinklas turi susietą nervinių ląstelių grupę, kuri gali kontroliuoti tiek kairės, tiek dešinės galūnės aktyvumą, judesius (Stein 1997).

Pagrindinė aplinkos, kurioje turi veikti neuroninės grandinės, ypatybė yra ta, kad signalai yra ne tik daugiamačiai, bet ir labai koreliuojami (Sharpee, 2014). Tai pasakytina apie

jutimo/sensorinius modalumus (Ruderman, Bialek, 1994; Simoncelli, Olshausen, 2001) ir motorinius išėjimus (Todorov, 2004; Sharpee, 2014).

1.9. Vėžlio nugaros smegenų neuroninis tinklas

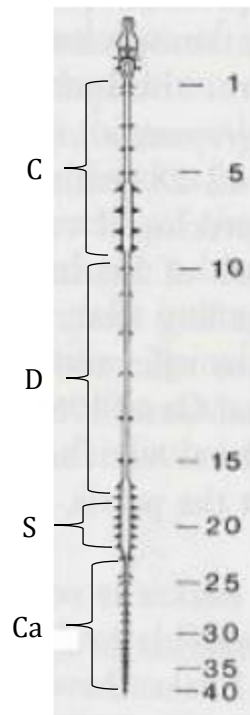
Smegenys yra sudėtingiausias kūno organas, o vidutiniškai vėžlio smegenis sudaro 16 milijonų neuronų (Kverkova, *et al.*, 2022), kurių kiekvienas yra susijęs su tūkstančiais kitų neuronų (Stein, 2018).

Neuronų tinklai vėžlio nugaros smegenyse turi centrinius paterno generatoriaus (CPG) modelius. CPG yra neuronų tinklas, gebantis generuoti ritmišką aktyvumą be sensorinio grįžtamojo ryšio (Guzulaitis, 2013; Stein, 2018). CPG sukuria užpakalinių galūnių motorinius modelius, stebimus kasymosi, plaukimo ir užpakalinių galūnių lenkimo reflekso metu. Kiekvieną elgesį suaktyvina tam tikras odos ar elektrinių dirgiklių rinkinys. Kiekviena kasymosi forma iššaukiama švelniai taktiliniu būdu stimuliuojant tam tikras kūno paviršiaus vietas. Kiekvieną plaukimo formą sukelia pastovaus dažnio elektrinė aksonų stimuliacija tam tikrose dorsolaterinio funikulo baltosios medžiagos vietose. Užpakalinių galūnių lenkimo refleksas sužadinamas švelniu mechaniniu stimulu į užpakalinę galūnę (Stein, 2018).

Raudonausių raštuotųjų vėžlių (*Trachemys scripta elegans* (Wied-Neuwied, 1839)) morfologija ir fiziologija suteikia techninių pranašumų galūnių elgesio nugaros smegenų kontrolės tyrimams (Keifer, Stein, 1983; Naumann *et al.*, 2015; Wyneken *et al.*, 2008). Nors vėžliai yra šaltakraujai gyvūnai, tačiau priklauso stuburinių klasei, dėl to ir paties stuburo organizavimas panašus į kitų stuburinių šiltakraujų gyvūnų. Vėžlys yra patogus modelinis organizmas elektrofiziologiniams tyrimams dėl kelių priežasčių. Pirmoji – vėžliai yra ektotermai ir geba fiziologiškai prisitaikyti prie skirtingų temperatūrų skirtumų (Naumann *et al.*, 2015). Antroji, vėžlių nervų sistema yra atspari anoksijai (Keifer, Stein, 1983; Hounsgaard, Nicholson, 1990) (deguonies trūkumas audiniuose, organuose ir visame organizme), o vėžlių smegenys geba adaptuotis ekstremaliomis sąlygomis – išgyventi anoksinius laikotarpius (Keifer, Stein, 1983; Lutz, Milton, 2004; Naumann *et al.*, 2015; Stein, 2018). Priešingai negu daugelis kitų stuburinių žinduolių, *Trachemys scripta elegans* motoriniai neuronai gali ištvirti anoksinį laikotarpį kelias savaites kambario temperatūroje (Lutz *et al.*, 2003; Lutz, Milton, 2004). Kita, labai svarbi priežastis yra ta, kad sudaroma galimybė tirti nugaros smegenų neuroninį tinklą izoliuotai, atskirai ir nepriklausomai nuo aukštesnių smegenų centrų (Guzulaitis, 2013; Stein, 2018). Mokslininko R. Guzulaičio teigimu, spinalizuotiems gyvūnams galima aktyvuoti skirtingas motorines programas, organizuojamas nugaros smegenų neuroninio tinklo lygmenyje (Guzulaitis, 2013). Autorius pabrėžia ir kitą ne ką mažiau svarbų

privalumą – šarvo mechaninis stabilumas (Guzulaitis, 2013). Judinant vėžlio galūnes, nugaros smegenys iš esmės nejuda arba juda tik labai minimaliai (Guzulaitis, 2013). Taip pat, verta paminėti ir šiluminius šoko baltymus, kurie atlieka svarbų vaidmenį. Tai svarbi baltymų klasė, reikšminga adaptacijai, kuri saugo organizmą nuo įvairių fiziologinių stresorių iš aplinkos. Jų veikimas panašus į molekulinį šaperonų, kurie apsaugo baltymus nuo denatūracijos, lankstymosi bei hipoksijos žalos (Lutz, Milton, 2004). Žinduolių širdys toleruoja tik trumpus laikotarpius kraujo tiekimui be deguonies ir patiria didelius oksidacinius pažeidimus (Bundgaard *et al.*, 2019). Šie vėžliai kelias savaites gali išgyventi bedeguoninėje aplinkoje, esant žemai temperatūrai, visiškai pasikliaujant glikogeno atsargomis energijai gauti. Laktatas, galutinis anaerobinės energijos apykaitos produktas, kaupiasi ląstelėse, todėl gali atsinaujinti citozolinis nikotinamido adenine dinukleotidas (NAD⁺), palaikantis ATP gamybą (Bundgaard *et al.*, 2019). Nors dauguma kitų organų beveik visiškai sustabdo medžiagų apykaitą anoksijos metu, širdis plaka (nors ir lėtai), kad cirkuliuotų maistinės medžiagos, laktatas ir kiti produktai (Bundgaard *et al.*, 2019). Taigi, gėlavandeniai vėžliai yra vertingi modeliniai gyvūnai, skirti tirti ilgalaikį energijos apykaitos remodeliavimą, kai širdis ilgą laiką yra visiškai be oksidacijos. Tai leidžia palyginti natūraliai išsivysčiusius fiziologinės tolerancijos anoksijai ir reoksigenacijai mechanizmus, kurie svarbūs įvairiems moksliniams tyrimams. Tokios ekstremalios sąlygos yra nepasiekiamos žinduolių širdžiai, smegenims, kurie negali toleruoti net trumpų išemijos, anoksijos periodų (Bundgaard *et al.*, 2019).

Vėžlio nugyros smegenys sudarytos iš skirtingų segmentų (11 pav.). Jas sudaro 9 kakliniai (*cervical*, C1-C9), 10 krūtininių, dar vadinamų nugarinių (*dorsal*, D1-D10), 1-2 kryžmeniniai (*sacral*, S1-S2) ir maždaug 16 uodeginių (*caudal*, Ca1-Ca-16) segmentų (11 pav.) (Gans *et al.*, 1979; Guzulaitis, 2013; Stein, 2018).



11 pav. Vėžlio nugaros smegenų segmentai. Skaičiai nurodo segmentų eilės numerį, pradedant nuo kaklinės dalies. 1 atitinka pirmąjį C1 kaklinį segmentą, 10 atitinka pirmąjį nugarinį D1 segmentą, 20 – pirmąjį S1 kryžmeninį segmentą, o 24 – pirmąjį Ca1 uodeginį segmentą.

Adaptuota pagal Guzulaitis, 2013

Nugaros smegenyse akivaizdžiai matomi du išplatėjimai (11 pav.): kaklinis ir strėnų srities (Stein, 2018). Šiuos išplatėjimuose išsidėstę motoriniai neuronai atitinkamai valdantys priekines ir užpakalines galūnes. Krūtininėje dalyje vėžlys neturi raumenų, todėl tuose segmentuose motoneuronai nerandami. Tačiau, krūtininėje dalyje aptinkami sensoriniai ir priešganglijiniai neuronai (Nieuwenhuys *et al.*, 1998). Išorinius vėžlio kiauto paviršius inervuoja odos aferentiniai neuronai, kurie aktyvuojami švelnios mechaninės stimuliacijos metu (Currie, Stein 1990). Propriospinaliniai interneuronai turi savo ląstelių kūną nugaros smegenyse ir aksoną, kuris inervuoja kitus nugaros smegenų neuronus (Berkowitz 2004; Nissen *et al.*, 2008). Šiais propriospinaliniais ryšiais yra sujungti kaklinis ir strėnų srities išplatėjimai (Guzulaitis, 2013).

Vėžlio užpakalinių galūnių raumenys buvo gerai aprašyti (Walker, 1973; Mayerl *et al.*, 2017). Strėnų srities išplatėjime, D8, D9, D10, S1, S2 segmentuose, išsidėstę motoriniai neuronai, kurie inervuoja užpakalines galūnes (Ruigrok, Crowe, 1984). Motoriniai neuronai inervuoja šlaunies lenkiamąjį raumenį – fleksorių (*hip flexor* (HP)) ir šlaunies ekstensorių (*hip extensor* (HE)). HP motoneuronai išsidėstę D8-9 segmentuose, o antagonistiniai HE motoneuronai – visame strėnų išplatėjime (Ruigrok, Crowe, 1984).

Nugaros smegenų neuroninis tinklas gali generuoti motorines programas: ėjimą, plaukimą, kasymą ir t.t. (Stein, 2018). Motorinius atsakus galima sukelti ir be raumenų aktyvumo, tokie atsakai vadinami fiktyviais. Taip atitolstama nuo sensorinio grįžtamojo ryšio, tiriamas tik pavienis neuronų tinklas, generuojantis ritmiškus motorinius aktyvumus. Įrodyta, kad šie fiktyvūs kasymosi refleksų judesiai atitinka tuos, kurie stebimi realaus kasymosi reflekso metu (Robertson *et al.*, 1985). Lytėjimo dirgiklis ant vėžlio kūno paviršiaus sukelia ritmišką motorinę reakciją, vadinamą kasymosi refleksu (Guzulaitis *et al.*, 2016). Kitaip tariant, kasymosi refleksas yra motorinis atsakas, kurio tikslas pašalinti dirgiklį nuo kūno paviršiaus (Stein, 2005; Stein 2018). Toks refleksas vėžliui yra sukaliamas tada, kai jo kūno paviršius yra stimuliuojamas elektriniu arba taktiliniu stimulu (Guzulaitis, 2013). Kita vertus, pats kasymosi reflekso motorinis atsakas yra tikslingas ir kryptingas – galūnė pasiekia stimuliuojamą kūno paviršiaus vietą ir trinasi į ją (Stein, 2005; Stein 2018). Taigi, šio vėžlio kūno paviršiaus (šarvo) lytėjimo dirgiklis sukelia ritminę motorinę reakciją – kasymosi refleksą. O toks mechaninis kūno stimuliavimas sukelia intensyvią, ritmišką HF nervo aktyvumą bei registruojamo motoneurono veikimo potencialo slenksčio depoliarizacijas. Tai dar kartą pagrindžiamas faktas, kad nugaros smegenų neuronų tinkle yra koduojamos motorinės programos.

Raudonausiai vėžliai yra pusiau vandens gyvūnai ir pasižymi įvairiu judėjimo elgesiu (Blob *et al.*, 2008; Earhart, Stein, 2000; Mayerl *et al.*, 2017; Rivera *et al.*, 2006). Jie juda vandenyje plaukdami į priekį, sukantis bei plaukdami atgal. Šie gyvūnai pakankamai juda sausumoje antžeminio judėjimo (vaikščiojimo) metu į priekį, taip pat posūkio žingsniu metu. Jie juda ir vandenyje ežerų ir upelių dugne vaikščiojant dugnu, o tai sujungia užpakalinių galūnių judesių ypatybes vaikščiojant ant žemės su galūnių atitraukimu, panašiai kaip plaukiant į priekį (Stein, 2018).

Vėžlių kasymosi CPG tyrimai pažengė į priekį, kai buvo atrasta, kad vėžlys turi tris užpakalinės galūnės kasymosi formas: rostralinę, kišeninę ir uodeginę (Mortin *et al.*, 1985; Robertson *et al.*, 1985). Kiekviena forma naudoja atskirą užpakalinės galūnės dalį, kad trintųsi į kūno paviršiaus vietą, kuri yra mechaniškai stimuliuojama (Stein, 2018). Pagrindinis visų trijų kasymosi formų judesių bruožas (Mortin *et al.*, 1985) yra ritmiškas klubo lenkimo ir klubo tiesimo kaitaliojimas (Stein, 2018). Atliktuose tyrimuose EMG įrašai visų trijų kasymosi formų metu rodo ritmišką klubo lenkiamojo raumenų aktyvacijos ir klubo tiesiamųjų raumenų aktyvavimo kaitą (Robertson *et al.*, 1985). Pagrindinė kiekvienos kasymosi formos ypatybė yra kelio sąnario išplėtimas, atsirandantis trynimo metu į stimuliuojamą vietą (Mortin *et al.*, 1985; Stein, 2018). Vėžlio stuburo srityje yra pereinamoji zona: rostralinė kišenė ir uodeginė kišenė. Šios zonos sukelia mišrų kasymosi refleksą (Mortin *et al.*, 1985). Anot Guzulaičio, mišrus

motorinis atsakas gali būti motorinio atsako pasikeitimas iš vieno į kitą per porą ritmiškų aktyvumo periodų – vidurinės kūno dalies kasymosi refleksas keičiasi į uodeginės dalies kasymosi refleksą (Guzulaitis, 2013). Taip pat galima sukelti plaukimo-kasymosi refleksą (Earhart, Stein, 2000). Nefazinė vėžlio užpakalinių galūnių koordinacija būdinga, kai viena galūnė lenkiasi, kita yra tiesiama. Kelio tiesimas atsiranda tada, kai klubas yra įtrauktas. Tokia koordinacija būdinga daugumai motorinių atsakų (plaukimas, priekinės, vidurinės kūno dalies kasymosi refleksas). Tačiau dalis užpakalinės kūno dalies kasymosi refleksas apibūdinamas kaip fazinis koordinacijos tipas – galūnės tiesiamos ir lenkiamos vienu metu (Guzulaitis, 2013, Stein, 2018). Todėl nugaros smegenyse vėžlys keičia distalinio sąnario (kelio) judesių laiką, atsižvelgiant į proksimalinio sąnario (klubo) judesių laiką, kad gautų tinkamus kasymosi judesius atitinkamose kūno vietose (Mortin *et al.*, 1985). Svarbu paminėti ir tai, kad abiejų pusių motoriniai nervai yra dalinai aktyvūs – stimuliuojant vienos pusės kasymosi refleksą, kitos pusės nervai taip pat aktyvuojasi (Currie, Gonsalves, 1997). Reaguojant į vienos vietos stimuliavimą atskleidžiamas didelis motorinio paterno vėžlio nugaros smegenyse sudėtingumas: nugaros smegenų neuronų tinklai gali ne tik pasirinkti tam tikrą elgesio formą, bet ir sujungti šiuos tinklus į kelių formų sudėtingą, koordinuotą, suderintą ir kombinuotą elgesį (Robertson *et al.*, 1985; Stein, 2018). O toks mišrus motorinių programų organizavimas patvirtina, jog neuronų tinklai, kurie generuoja skirtingas ir atskiras programas, persidengia – tie patys motoneuronai dalyvauja abiejų motorinių programų generacijoje (Stein, 2018).

Pastovaus dažnio elektrinė aksonų stimuliacija specifinėse baltosios medžiagos vietose, vėžlio kontralateraliniame dorsolateraliniame funikule (cDLF – lot. *contralateral dorsolateral funiculus*) sukėlė galūnių plaukimo judesius (Lennard, Stein 1977; Lennard 1985; Stein, 1978). Iš pradžių dėmesys buvo sutelktas į plaukimą, į priekį užpakalinėmis galūnėmis, kurias suaktyvino priešingo kontralateralinio dorsolateralinio funikulo stimuliavimas vidurinėje nugaros smegenų dalyje (Lennard, Stein 1977). Plaukimo į priekį forma užpakalinėje galūnėje buvo apibūdinta galūnių judesiais ir pasirinktų klubo ir kelio raumenų elektrimiografijos (EMG) veikla. Plaukimo į priekį jėgos smūgis įvyksta klubo tiesimo metu (Stein, 2018). Tyrėjai Lenardas ir Steinas (Lennard, Stein, 1977) atskleidė, kad užpakalinės galūnės, esančios priešingai kai kurioms stimuliavimo vietoms, pasižymėjo irklavimu, o priešingos galūnės leido plaukti į priekį. Irklavimas buvo apibūdintas sveikiems vėžliams besisukančio plaukimo metu: priešingos užpakalinės galūnės plaukimas į priekį įvyko priešinga galūne (Earhart, Stein, 2000; Welch, Currie 2014; Stein, 2018). Galinės irklavimo jėgos smūgis įvyko klubo lenkimo metu (Stein, 2018).

2. METODIKA

2.1. Etinis patvirtinimas

Eksperimentai atlikti Lietuvoje, Vilniaus universitete, neurobiologijos ir biofizikos katedroje. Chirurginės procedūros su gyvūnais patvirtintos pagal nacionalinius teisės aktus bei Lietuvos Respublikos (LR) įstatymus ir atliktos gavus LR valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos leidimą (Nr. 0240) (Guzulaitis, 2013; Grigonis, Alaburda, 2017). Visi tyrimai atlikti griežtai laikantis elgesio su laboratoriniais gyvūnais nuostatų bei reikalavimų ir atitinka gyvūnų etikos politiką.

2.2. Modelinis organizmas ir tiriamasis objektas

Tyrimo objektas – slenksčio atsistatymas, o modelinis organizmas, panaudotas iširti motoneuronų veikimo potencialo slenksčio atsistatymą po depoliarizacijos neuroninio tinklo veikimo metu – balinių vėžlių šeimai (Emydidae) priklausantys suaugę raudonausiai raštuotieji vėžliai (*Trachemys scripta elegans* (Wied-Neuwied, 1839)) (12 pav.).



12 pav. Raudonausiai raštuotieji vėžliai (*Trachemys scripta elegans*)
Adaptuota pagal Ettmar, 2013

Trachemys scripta elegans yra kilę iš pietryčių Jungtinių Amerikos Valstijų (JAV) ir šiaurės rytų Meksikos ir yra visame pasaulyje globaliai pripažinta invazinė vėžlių rūšis (Ettmar, 2013).

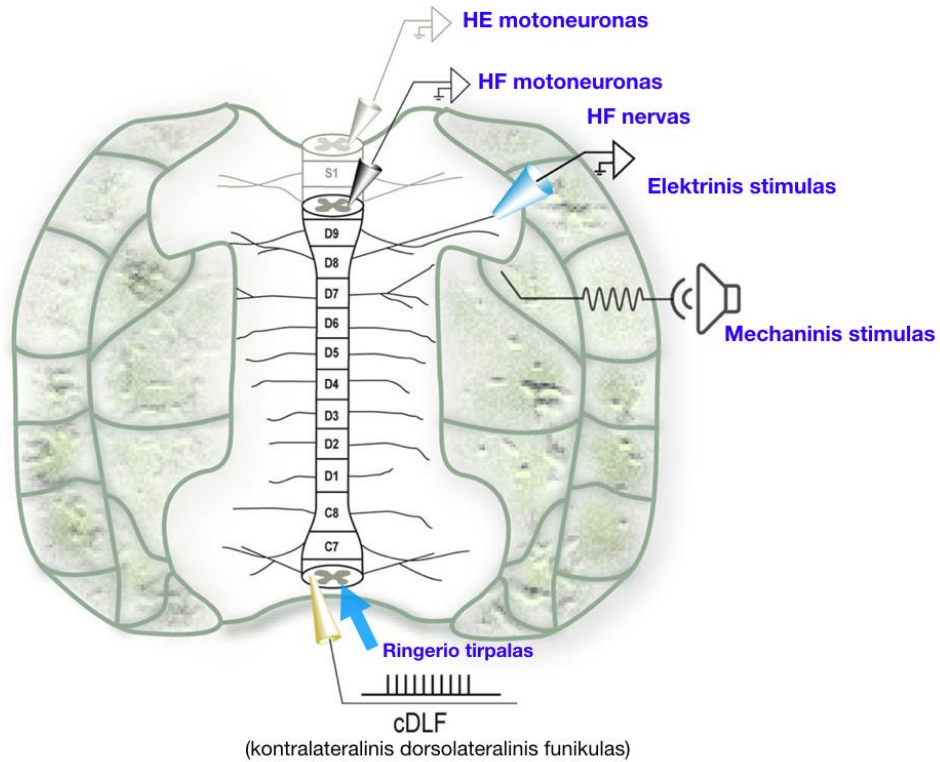
Vėžliai buvo laikyti Vilniaus universiteto vivariume, su specialia vandens filtravimo ir apšvietimo sistema. Vivariume nuolat buvo palaikoma pastovi vandens temperatūra (apie +24°C) (Buišas, 2012). Vėžliai reguliariai maitinti ir girdyti. Eksperimentams naudoti sveiki bei suaugę, nepriklausomai nuo lyties, *Trachemys sricpta elegans*.

2.3. *Ex vivo* šarvo-nugaros smegenų preparato paruošimas

Suaugę raudonausiai raštuotieji vėžliai (n=22), kurių šarvo ilgis 10-15 cm, buvo gauti iš JAV. Chirurginės procedūros buvo aprašytos anksčiau kitų mokslininkų (Alaburda, Hounsgaard 2003). Pati procedūra prasideda nuo nejautos, kuri vėžliams suteikiama prieš operaciją – jie perkeliama ant susmulkinto tirpstančio ledo (apie 0°C) mažiausiai dviems valandoms, kad sulėtintų jų metabolizmą, sukeltų mieguistumą ir dėl hipoterminės anestezijos (Melby, Altman, 1974), norint sumažinti stresą bei skausmą (Melby, Altman, 1974; Alaburda, Hounsgaard, 2003; Grigonis, Alaburda, 2017). Hipotermija (organizmo būseną, kai kūno temperatūra nukrinta žemiau tos, kuri svarbi ir reikalinga organizmo metabolizmui palaikyti (Melby, Altman, 1974; Alaburda, Hounsgaard, 2003).

Eksperimentai atlikti kambario temperatūroje (20-22°C). Pirmiausia, vėžlys atvėsinaamas, jo galva ištraukiama iš kiauto. Vėžlys dekapituojamas, o galvos smegenys mechaniškai suardomos. Osciliaciniu pjūklų pilvineje vėžlio šarvo dalyje yra išpjaujama ertmė, pro kurią įvedamas kateteris tiesiai į širdį. Intrakardinės perfuzijos būdu kraujas pakeičiamas fiziologiniu skysčiu – Ringerio tirpalu (kuriame yra: (mM) 120 NaCl, 5 KCl, 15 NaHCO₃, 2 MgCl₂, 3 CaCl₂ ir 20 C₆H₁₂O₆, prisotinta dujų mišiniu – 98% O₂ ir 2% CO₂, kad pH būtų 7,6) (Alaburda, Hounsgaard, 2003; Berg *et al.*, 2008; Guzulaitis, 2013; Guzulaitis, Hounsgaard, 2017).

Naudotas integruotas vėžlio nugaros smegenų-šarvo preparatas (13 pav.), gauti tyrimo duomenys. Šiame tyrime registruotas motorinis nervas, kuris įnervuoja šlaunies lenkiamąjį raumenį, vadinamą fleksoriumi – HF (13 pav.). O šlaunies ekstensorių HE (13 pav.) įnervuoja antagonistiniai motoneuronai.



13 pav. *Ex vivo* vėžlio šarvo-nugaros smegenų preparatas
Adaptuota pagal Guzulaitis, Hounsgaard, Alaburda, 2016.

Tokio preparato ypatinga savybė yra ta, kad paliekama visiškai nepažeista nugaros smegenų neuronų tinklo dalis, teigė Guzulaitis, gebanti generuoti funkcionalų aktyvumą – kasymosi refleksą – į natūralų dirgiklį (taktilinis vėžlio šarvo stimuliavimas) (Guzulaitis, 2013).

Pirmiausia, skersiniais pjūviais izoliuojama vėžlio šarvo dalis su funkcionalių neuronų tinklu, pašalinami raumenys ir galūnės (Grigonis, Alaburda, 2017). Tuomet, pjūviai yra atliekami priekinėje (ties D3 arba D4 segmentu) ir užpakalinėje (ties D9 arba S2 segmentu) nugaros smegenų dalyje (Alaburda, Hounsgaard, 2003; Guzulaitis, 2013; Grigonis, Alaburda, 2017). Motorinis nervas, kuris įnervuoja HF, yra atskiriamas nuo jungiamųjų audinių, kad būtų galima jį registruoti elektrodu (13 pav.) (Guzulaitis, 2013).

Vėžlio nugaros smegenų-šarvo preparatas įtvirtinamas horizontalioje padėtyje. Nugarinė kiauto dalis pritvirtinama (dažniausiai priklijuojama) prie specialios vonelės dugno, o pati vonelė įtvirtinama laikiklyje. Visas vėžlio nugaros-šarvo smegenų preparatas yra trumpai panardinamas į Ringerio tirpalą, o nugaros smegenų uodeginėje (kaudalinėje) preparato dalyje įtvirtinamas plastikinis vamzdelis, pro kurį nugaros smegenų kanalas perfuzuojamas tuo pačiu fiziologiniu Ringerio tirpalu (13 pav.) (Alaburda, Hounsgaard, 2003; Guzulaitis, 2013).

2.4. Plaukimo ir kasymosi sukėlimas

Motorinės funkcijos, tokios kaip plaukimas, kasymasis, pasak mokslininkų, yra koduojamos nugaros smegenų neuronų tinkle (Lennard, Stein, 1977; Stein, 2005). Vėžlys, *Trachemys scripta elegans*, naudoja savo užpakalines galūnes ritmiškiems judesiams sukelti (Stein, 2005). Autoriai pabrėžia, kad motorinis atsakas, kuris yra sukeltas be tiesioginio raumenų aktyvumo, yra vadinamas fiktyviu motoriniu atsaku (Guzulaitis, 2013; Frigon, 2012). Būtent analizuojant šiuos fiktyvius motorinius judesius yra nepaisomas sensorinis grįžtamasis ryšys, o tiriamas tik nugaros smegenų neuroninis tinklas, kuris ir sukuria minėtus ritmiškus galūnių judesius ir patį motorinį aktyvumą (Guzulaitis, 2013).

Plaukimą vėžliui galima sukelti jį tiesiogiai panardinus į vandenį arba elektriškai stimuliuojant besileidžiančius traktus, kur yra išsidėstę tinklinio darinio nugaros smegenų besileidžiantys aksonai (Lennard, Stein, 1977; Guzulaitis, 2013) arba, kitaip tariant, fiktyvų plaukimą sukelia cDLF (13 pav.) stimuliacija priekiniame nugaros smegenų segmente D3 (Lennard, Stein, 1977; Lennard, 1985; Stein, 2018). cDLF suaktyvina vėžlio plaukimą į priekį užpakalinėmis galūnėmis (Lennard, Stein, 1977; Stein, 2018). Elektriniai stimulai (0,2–0,5 ms ir 0,5–2 miliamperų (mA) intensyvumo amplitudės impulsai, taikomi 5–15 Hz dažniu) plaukimo tinklo aktyvumui sukelti buvo taikomi cDLF ties C6 stuburo segmente, naudojant bipolinį koncentrinį elektrodą (13 pav.) (Guzulaitis *et al.*, 2016; Guzulaitis, Hounsgaard, Alaburda, 2016; Grigonis, Alaburda, 2017). Plaukimo judesių pasikartojimų greitį galima koreguoti, keičiant dirgiklio parametrus – elektrinių impulsų dažnį.

Kasymosi refleksas buvo inicijuotas mechaniniu stimulu (Guzulaitis *et al.*, 2013): mechaniškai stimuliuojant vėžlio šarvą (M8-M9,5 dermatomas) arba pincetu sužnybiant odą prie užpakalinės galūnės (Alaburda, Hounsgaard, 2003; Guzulaitis, Alaburda, Hounsgaard, 2013; Guzulaitis *et al.*, 2016). Išorinius vėžlio šarvo paviršius inervuoja odos aferentiniai neuronai, kurie ir yra aktyvuojami minėtos mechaninės stimuliacijos būdu (Stein, 2018). Tam, kad tiksliai kontroliuoti mechaninį stimulą (šarvo stimuliavimas), buvo stimuliuojama su ugnimi poliruota stikline lazdele/elektrodu, pritvirtintu prie garsiakalbio, valdomo funkcinio signalo generatoriumi, membranos (Mortin *et al.*, 1985; Berg *et al.*, 2008; Guzulaitis *et al.*, 2016).

2.5. Duomenų registravimas ir apdorojimas

Motoriniai neuronai tirti naudojant viduląstelinę potencialų registravimo metodiką (Brock *et al.*, 1952; Buišas, 2012). Viduląsteliniai įrašai srovės fiksavimo režimu buvo atlikti

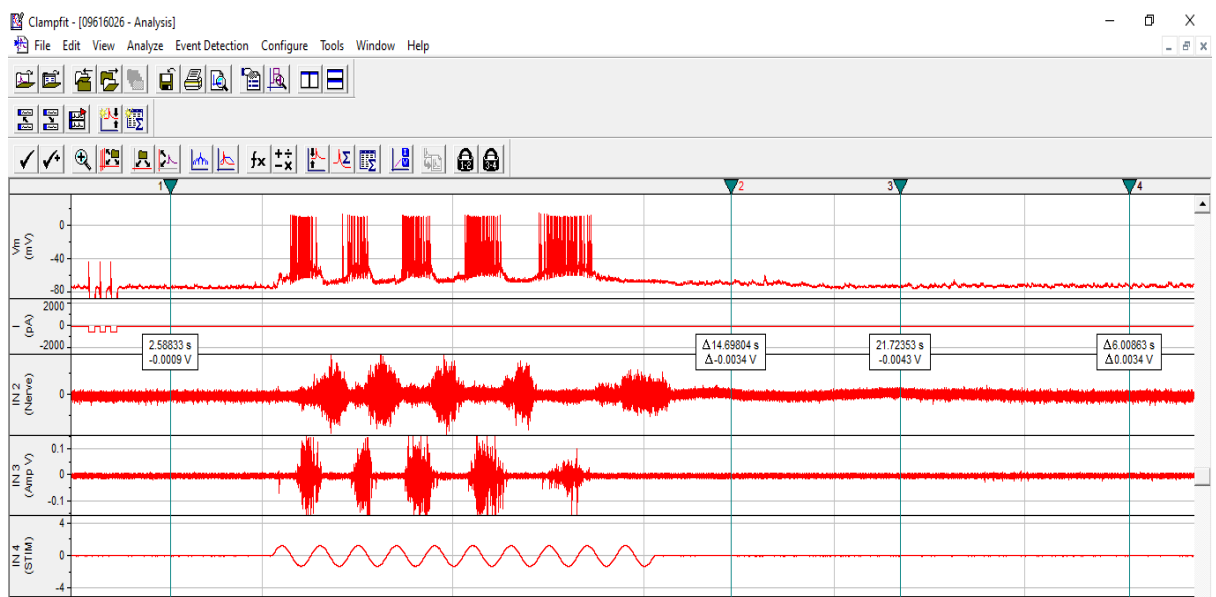
naudojant Axoclamp 2A arba Axoclamp 2B stiprintuvą. Viduląstelinei neuronų registracijai atlikti buvo naudojami aštrūs, stikliniai elektrodai iš plonasienio borosilikatino stiklo (elektrodo varža 30-80 M Ω), užpildyti elektrodų tirpalo mišiniu: 0.9 M CH₃CO₂K (kalio acetatu) ir 0.1 M KCl (kalio chloridu) (Guzulaitis *et al.*, 2016).

Viduląsteliniai įrašai buvo gauti iš motorinių neuronų, kurie identifikuojami pagal veikimo potencialų amplitudę, jų vietą pilviniame (ventraliniame) rage, jų dydį – per įėjimo varžą ir atsako laiko konstantą (Grigonis *et al.*, 2016; Grigonis, Alaburda, 2017.). Elektrodai įvedami į motoneuronus, kurie valdo užpakalines vėžlio galūnes ir yra išsidėstę nugaros smegenų D8-S2 segmentuose (Guzulaitis *et al.*, 2016).

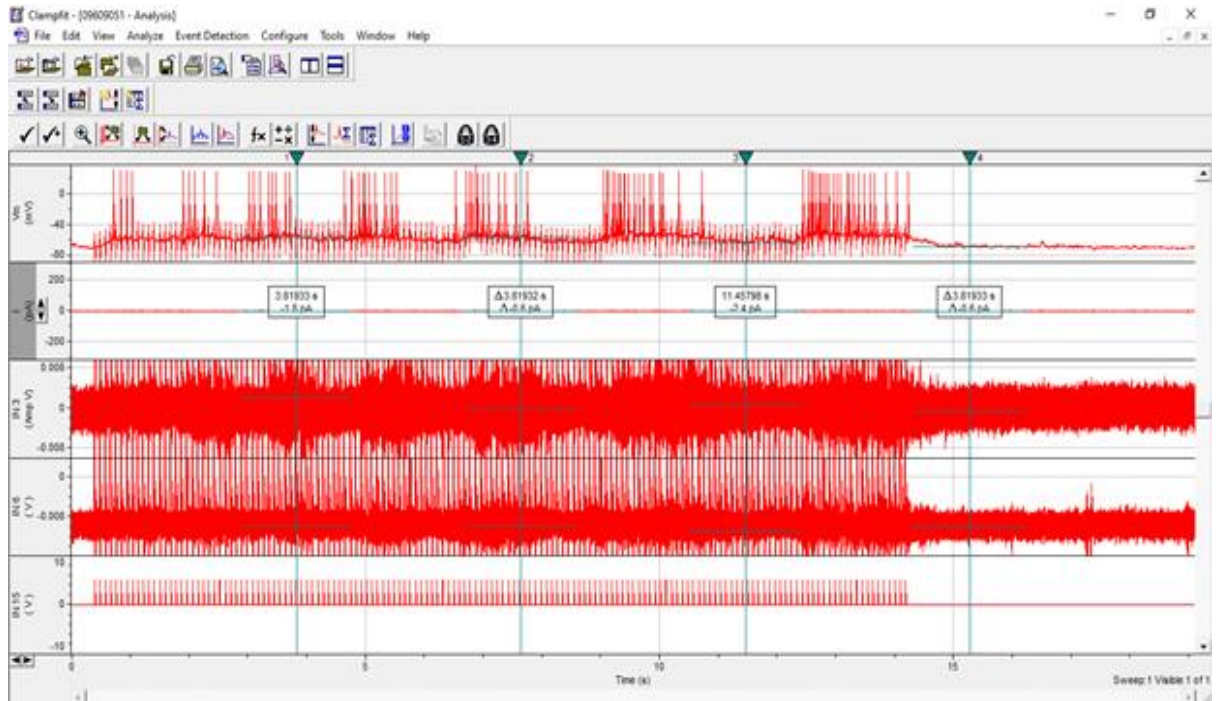
Atsakai tinkami tolimesnei analizei (registravimui) buvo tie, kurių ramybės potencialas buvo stabilus bei neigiamesnis nei -50 mV ir tie, kurie neleidžiant srovės, veikimo potencialų spontaniškai negeneravo. Motoneuronų veikimo potencialų amplitudė turėjo būti didesnė nei 70 mV (McDonagh *et al.*, 1999). Tyrimo duomenims registruoti, apdoroti ir išsaugoti panaudota Clampex (Molecular Devices) kompiuterinė programa. Surinkti eksperimento duomenys vaizduojami, analizuojami bei vertinami, naudojant Clampfit (Molecular Devices) programinę įrangą.

2.6. Naudoti protokolai

Tyrimo metu nagrinėti dviejų tipų duomenys: vėžlio kasymosi ir plaukimo refleksų įrašai (14, 15 pav.), kuriuose matomas dirgiklio sukeltas motoneuronų atsakas.



14 pav. Nervinio tinklo ir motoneurono aktyvumas, generuojant kasymosi epizodą
Šaltinis: sudaryta autoriaus, remiantis Clampfit programine įranga



15 pav. Nervinio tinklo ir motoneurono aktyvumas, generuojant plaukimo epizodą
Šaltinis: sudaryta autoriaus, remiantis Clampfit programine įranga

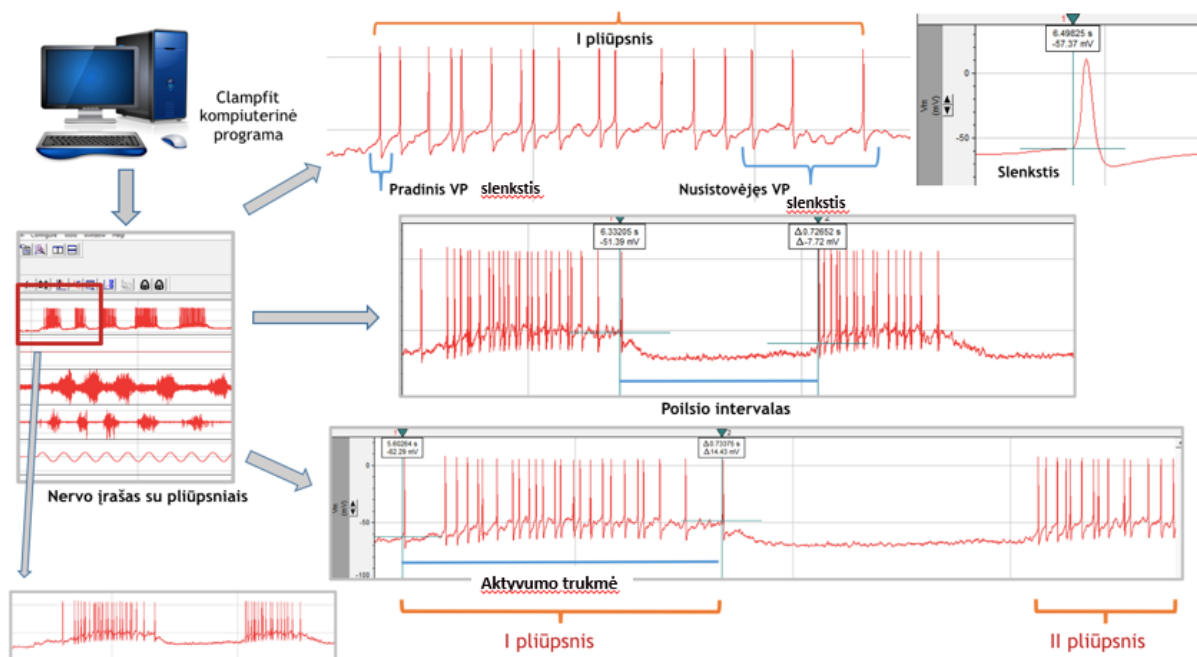
Tam panaudota mechaninė šarvo arba cDLF elektrinė stimuliacija *ex vivo* šarvo-nugaros smegenų preparate, norint sukelti du skirtingus motorinius ritmiškus elgesius – plaukimą ir kasymąsi.

Motoneuronai, tinkami tolimesnei analizei, tie, kurie generavo palaipsniui pasikartojančius pliūpsnius kasymosi ir plaukimo atvejais (14, 15 pav.). Kriterijai, pagal kuriuos motoneuronai atrinkti analizei: neuronas ritmiškai aktyvus (sukeliamos bei generuojamos ritmiškos veikimo potencialo sekos), depoliarizacijos metu generuoja bent 4 veikimo potencialus kiekvieno pliūpsnio metu ir be didelio veikimo potencialų išsibarstymo kiekviename pliūpsnyje. Pliūpsnių skaičius varijuoja nuo 3 iki 15.

2.7. Duomenų analizė

Motoneuronų veikimo potencialų slenksčio adaptacijai (aktyvumui) ir poilsiui po adaptacijos įvertinti buvo matuojama veikimo potencialo slenkstinė vertė. Šiame tyrime buvo vertintas aktyvumas bei poilsis (16 pav.).

DUOMENŲ ANALIZĖS SCHEMA



16 pav. Analizuojamų įrašų schema
Sudaryta autoriaus

Aktyvumo trukmė laikyta motoneurono generuojamų veikimo potencialų pliūpsnio trukmė (trukmė kiekvienam pliūpsniui išmatuota imant pirmą ir paskutinį veikimo potencialo slenksčius) (16 pav.). Poilsio trukmė – pauzės tarp veikimo potencialų besikartojančių pliūpsnių trukmė (nuo pliūpsnio paskutinio veikimo potencialo slenksčio iki kito pliūpsnio pirmo veikimo potencialo slenksčio) (16 pav.). Šiame tyrime atskirai vertinti pradiniai ir nusistovėję slenksčiai prieš ir po poilsio. Generuojant veikimo potencialų sekas (pliūpsnius), pirmo pliūpsnyje veikimo potencialo slenkstis vadinamas pradiniu slenksčiu (arba kitaip – nustatytas pirmam veikimo potencialui), o paskutinių trijų (suvidurkinti) pliūpsnyje veikimo potencialo slenksčiai vadinami nusistovėjusiu slenksčiu (arba kitaip – nustatytas trims paskutiniams veikimo potencialams) (16 pav.).

Veikimo potencialu laikomas potencialas, kai depoliarizacijos greitis tampa daugiau nei 10 mV/ms (Schwindt, Crill, 1982, Grigonis *et al.*, 2016, Grigonis, Alaburda, 2017).

Slenksčio depoliarizacija aktyvumo metu – skirtumas tarp dviejų slenksčių, prieš ir po aktyvumo. Depoliarizacija elektrofiziologijoje reiškia potencialo judėjimą (kilimą) aukštn. Slenksčio potencialo depoliarizacijos dydis veikimo potencialo pliūpsnių metu, susidarantis plaukimo ir kasymosi metu, įvertintas kaip skirtumas tarp pirmojo veikimo potencialo slenksčio ir paskutinių trijų vidurkio. Na, o poilsio metu slenkstis nesidepoliarizuoja – jis hiperpoliarizuoja. Slenksčio hiperpoliarizacija poilsio metu yra potencialų skirtumas tarp

prieš tai buvusio pliūpsnio paskutinio veikimo potencialo slenksčio ir sekančio pliūpsnio pirmo slenksčio. Taigi, kai slenkstis kyla (didėja) – jis depoliarizuojasi nuovargio, aktyvumo metu ir vyksta adaptacija, kai slenkstis leidžiasi – jis hiperpoliarizuojasi poilsio metu, kitaip tariant, mažėja ir vyksta atsistatymas.

Tyrime buvo tikrintas koks vidutinis potencialas tarp veikimo potencialų plaukimo bei kasymosi metu, nes jis gali turėti įtakos slenksčio kitimui. Ramybės būsenos membranos potencialas yra prieš kasymosi ir plaukimo epizodus. Prasideda kasymosi, plaukimo epizodai, potencialas tarp pliūpsnių yra depoliarizuotas. Poilsis priklauso nuo to, kiek potencialas yra artimas ramybės potencialui. Tikrinta, ar plaukimo, kasymosi metu vidutinis membranos potencialas yra didesnis ar mažesnis ir kiek jis depoliarizuotas, lyginant su ramybės potencialu. Kuo arčiau ramybės potencialui, tuo labiau potencialas yra hiperpoliarizuotas.

Koreliacija tarp kintamųjų buvo įvertinta naudojant Pirsono (Pearson) tiesinės koreliacijos koeficientą, kitaip dar vadinamą Pirsono R statistiniu testu. Šis testas matuoja ryšio stiprumą tarp skirtingų kintamųjų ir jų sąsajų, tarp slenksčio ir aktyvumo bei poilsio trukmių neuroninio tinklo veikimo metu. Pirsono koreliacijos koeficientas pateikia vertę intervale tarp -1 ir 1. Jei koreliacijos koeficientas lygus 0 – tai tie kintamieji statistiškai nepriklausomi.

Duomenys baigiamajam darbui buvo analizuojami statistiškai. Imties normalingumas tikrintas prieš statistinį vertinimą – įsitikinama, ar imčiai galioja normalinis pasiskirstymas. Tam naudojamas Šapiro-Vilko testas, kuris paremtas statistiniu patikimumu, norint pagrįstai atmesti klaidingą hipotezę. Šapiro-Vilko kriterijus rodo, ar normalumo prielaida yra patenkinta. Normalinio pasiskirstymo atveju reikšmingas yra Stjudento t statistinis kriterijus. O skirtumas tarp vidurkių įvertinamas Stjudento poriniu t-testu. Konkrečiai T-testas ir nustato, ar skirtumas tarp dviejų grupių vidurkių yra reikšmingas. Jei p vertė mažiau nei 0,05, vidurkiai patikimai skiriasi, o jei daugiau nei 0,05, vadinasi, patikimai nesiskiria.

Duomenys tyrimo rezultatuose standartiškai pateikiami kaip imties vidurkis \pm standartinis nuokrypis (n = pliūpsnių skaičius).

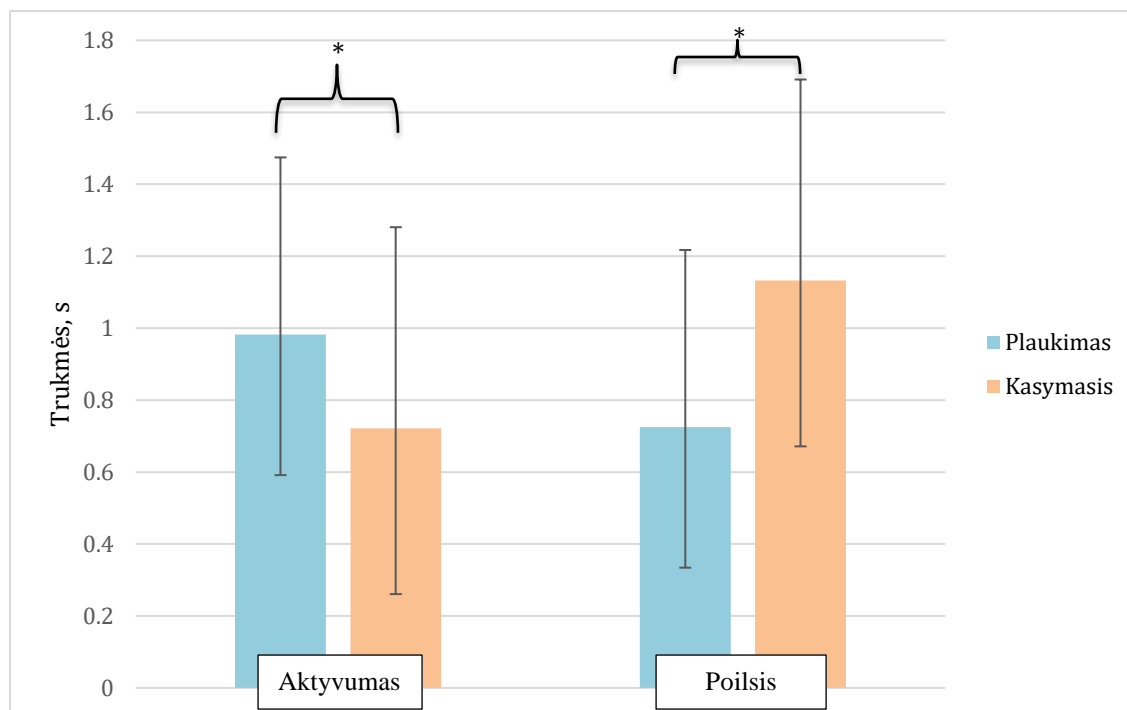
3. REZULTATAI

3.1. Aktyvumo ir poilsio trukmių charakteristika

Panaudota mechaninė stuburo ir elektrinė cDLF stimuliacija *ex vivo* nugaros smegenų preparate, siekiant sukelti du skirtingus ritminius motorinius atsakus – plaukimą ir kasymąsi, kurie atsispindi neuroninio tinklo veikimo metu. Žinoma, kad nugaros smegenų motoneuronų membranos potencialas ritmiškai depoliarizuojasi generuojant motorines programas (Alaburda, Hounsgaard, 2003), o pasiekus slenkstį, motoneuronai generuoja veikimo potencialo pliūpsnių sekas. Atsižvelgiant į tai, buvo įvertintas motoneuronų veikimo potencialo slenkstis tiek kasymosi, tiek plaukimo metu. Slenkstinis potencialas depoliarizuojasi per veikimo potencialo pliūpsnius, susidarančius plaukimo bei kasymosi metu.

Tyrimo metu išanalizuoti plaukimo, kasymosi atvejai. Išnagrinėti 196 plaukimo bei 184 kasymosi epizodai.

Aktyvumo vidutinė vertė plaukimo metu buvo $0,98 \pm 0,49$ s, kasymosi buvo patikimai trumpesnė ir lygi $0,72 \pm 0,56$ s (17 pav.).



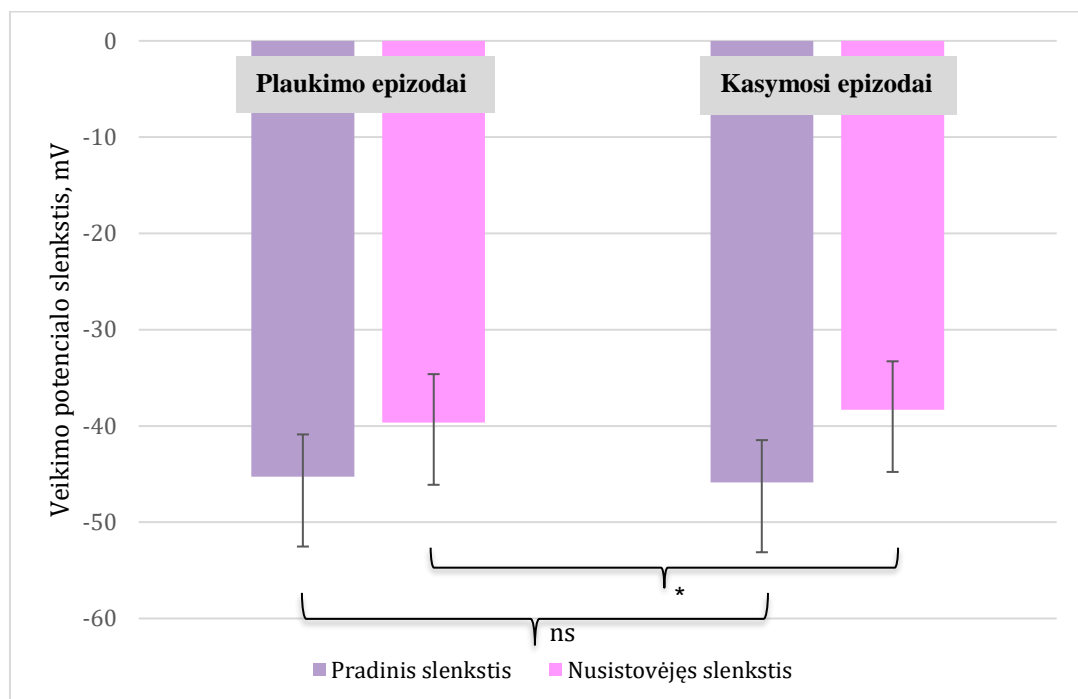
17 pav. Plaukimo, kasymosi epizodų aktyvumo ir poilsio trukmės
*- $p < 0,05$ (reikšmingai skiriasi)

Poilsio (intervalai tarp pliūpsnių) vidutinės trukmės plaukimo metu gautos $0,73 \pm 0,39$ s, o kasymosi metu – $1,13 \pm 0,46$ s (17 pav.). Atlikus t-testą gautos p vertės ženkliai mažesnės nei

0,05. Lyginant vidutinę aktyvumo ir poilsio trukmės plaukimo ir kasymosi metu gauta, kad abiem atvejais $p < 0,00001$. Taigi, t-testas parodė, jog tiek plaukimo, tiek kasymosi metu aktyvumo ir poilsio trukmės patikimai skiriasi. Gauta, jog aktyvumo trukmės plaukimo metu yra ilgesnės nei kasymosi metu, tačiau, poilsio trukmės ilgesnės yra kasymosi metu (17 pav.).

3.2. Pradiniai ir nusistovėję veikimo potencialo slenksčiai

Tyrimo metu palyginti ir pradiniai bei nusistovėję veikimo potencialo slenksčiai. Plaukimo metu pradinis veikimo potencialo slenkstis buvo apie $-45,28 \pm 4,40 \text{ mV}$, nusistovėjęs – $-39,66 \pm 5,04 \text{ mV}$ (18 pav.). Taigi, slenkstis depoliarizavosi vidutiniškai $5,62 \text{ mV}$. Bendrai, šie rezultatai rodo, kiek slenkstis depoliarizavosi per aktyvumo periodą.



18 pav. Plaukimo, kasymosi epizodų pradiniai ir nusistovėję veikimo potencialo slenksčiai

*- $p < 0,05$ (reikšmingai skiriasi)

ns – $p > 0,05$ (nesiskiria)

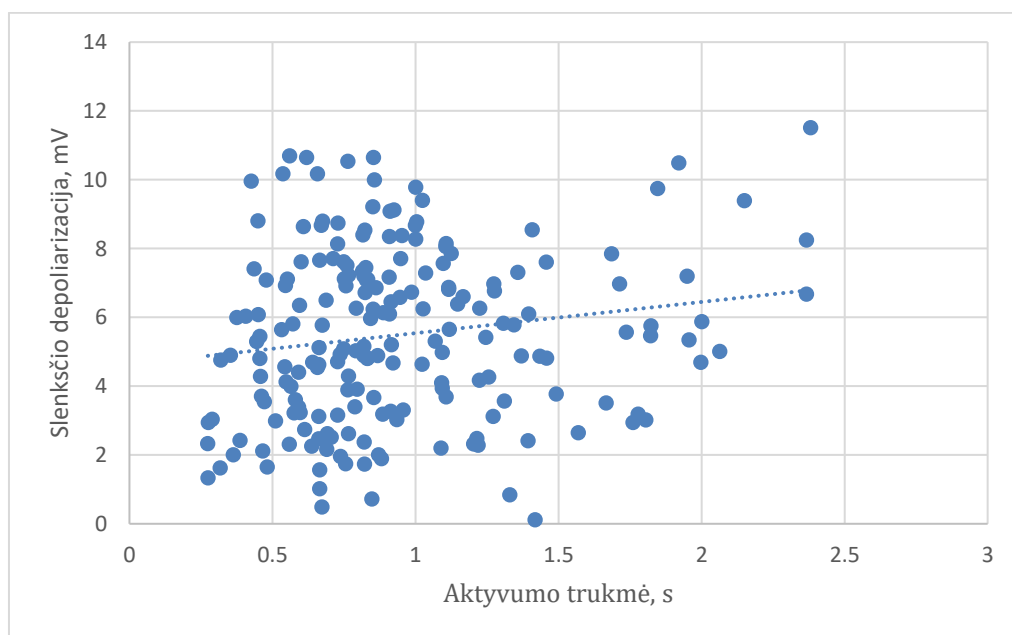
Kasymosi metu pradinis veikimo slenkstis depoliarizavosi nuo $-45,8694$ iki $-38,325 \text{ mV}$ (nusistovėjęs slenkstis) (18 pav.). Slenkstis vidutiniškai depoliarizavosi $7,54 \text{ mV}$. Atliktas t-testas parodė, kad pradinis veikimo potencialo slenkstis kasymosi ir plaukimo atveju statistiškai nesiskiria – p vertė lygi $0,33$, o nusistovėjęs – skiriasi – p vertė lygi $0,023$. Nusistovėjęs slenkstis labiau depoliarizuotas kasymosi nei plaukimo metu (18 pav.).

Ankstesnio bakalaurinio darbo tyrimo metu naudotos 200, 500, 1000 ms aktyvumo trukmės. Šio tyrimo metu gauti duomenys rodo, kad, lyginant su ankstesniu bakalauriniu darbu dalis trukmių persidengia, dalis neuroninio tinklo veikimo metu, kaip matėme, yra ilgesnės (daugiau nei 1000 ms). Todėl, iš ankstesnio tyrimo, kur sistemingai buvo keičiamos trukmės, pasiimamos panašiausios ir artimiausios trukmės neuroninio tinklo veikimo dydžiams – 0,5 s ir 1 s.

3.3. Slenksčio depoliarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės plaukimo ir kasymosi metu

Remiantis bakalauriniu darbu, trukmių intervalai yra svarbūs. Todėl, pasitelkus koreliacinį metodą, reikia pabandyti patikrinti ir išsiaiškinti, kokia statistinė priklausomybė yra tarp slenksčio ir aktyvumo bei poilsio trukmių kintamųjų tinklo veikimo metu.

Tiriant slenksčio depoliarizacijos priklausomybę nuo aktyvumo trukmės, plaukimo metu trukmės varijuoja diapazone nuo 0,2 iki 2,5 s (19 pav.), kasymosi metu – nuo 0,2 iki 1,8 s (20 pav.). Slenksčio depoliarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės (tiek plaukimo, tiek kasymosi atvejais) parodo, kiek pliūpsnio metu slenkstis pasikeičia. (19, 20 pav.).

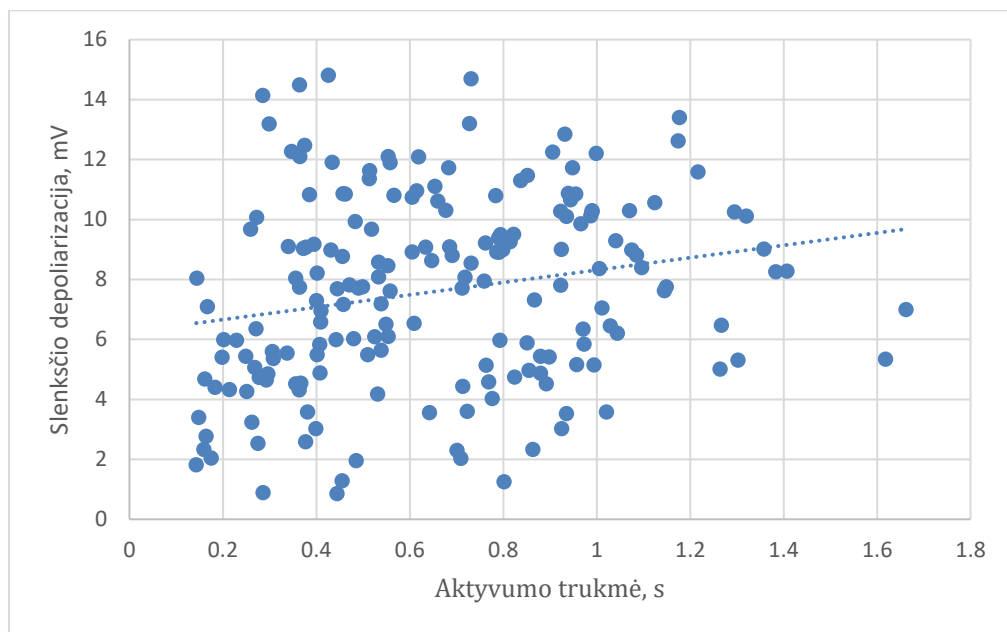


19 pav. Slenksčio depoliarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės plaukimo metu

Plaukimo metu slenkstis keičiasi nuo maždaug 2 iki 10 mV ir vyksta jo depoliarizacija. Didelis duomenų išsibarstymas rodo variabilumą tarp epizodų. O apskaičiuotas Pirsono koreliacijos

koeficientas, kuris lygus 0,16, vaizduoja silpną teigiamą koreliaciją (19 pav.). Taigi, matomas teigiamas polinkis – didėjant aktyvumo trukmei, slenksčio depoliarizacija taip pat didėja (19 pav.).

Vertinant slenksčio depoliarizacijos priklausomybę nuo aktyvumo trukmės kasymosi metu tendencija panaši. Slenkštis depoliarizuojasi nuo 2 iki 15 mV (20 pav.).

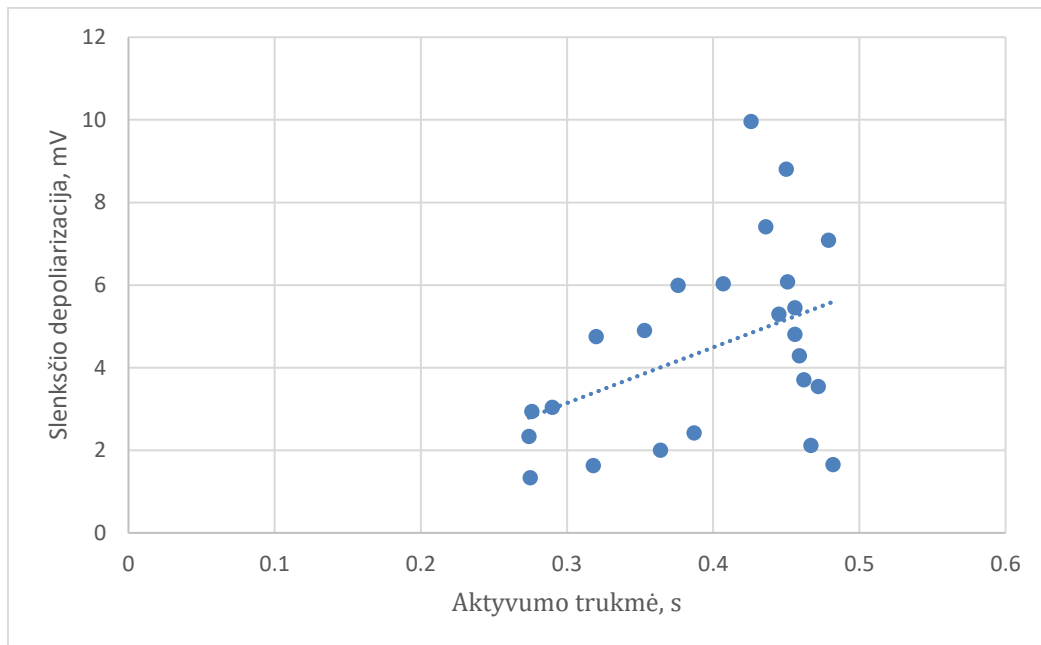


20 pav. Slenksčio depoliarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės kasymosi metu

Bakalauriniame darbe gauti tyrimo rezultatai rodo, kad slenksčio atsistatymas prasideda po 100 ms. Slenkštis depoliarizuojasi nuo $40,5 \pm 8,9$ mV iki $-37,7 \pm 8,9$ mV, o atsistato per 700 ms. Po 800 ms veikimo potencialo slenkštis buvo $-40,1 \pm 8,9$ mV ir nesiskyrė nuo kontrolinio. Taigi, po 800 ms slenkštis pilnai atsistato. Kadangi slenkštis didėja ne viso aktyvumo metu, o su antru, trečiu veikimo potencialu jis depoliarizuojasi, toks ir pasilieka, o priklausomybė susilpnėja. Slenksčio adaptacijos metu stebima silpna teigiama koreliacija (20 pav.), o Pirsono koreliacijos koeficientas lygus 0,21. Taip yra todėl, kad didėjant aktyvumo trukmei, depoliarizacija irgi didėja. Visa depoliarizacija vyksta iš karto, per kelis šimtus milisekundžių, vadinasi, realiai slenkštis depoliarizuojasi per pirmus veikimo potencialus.

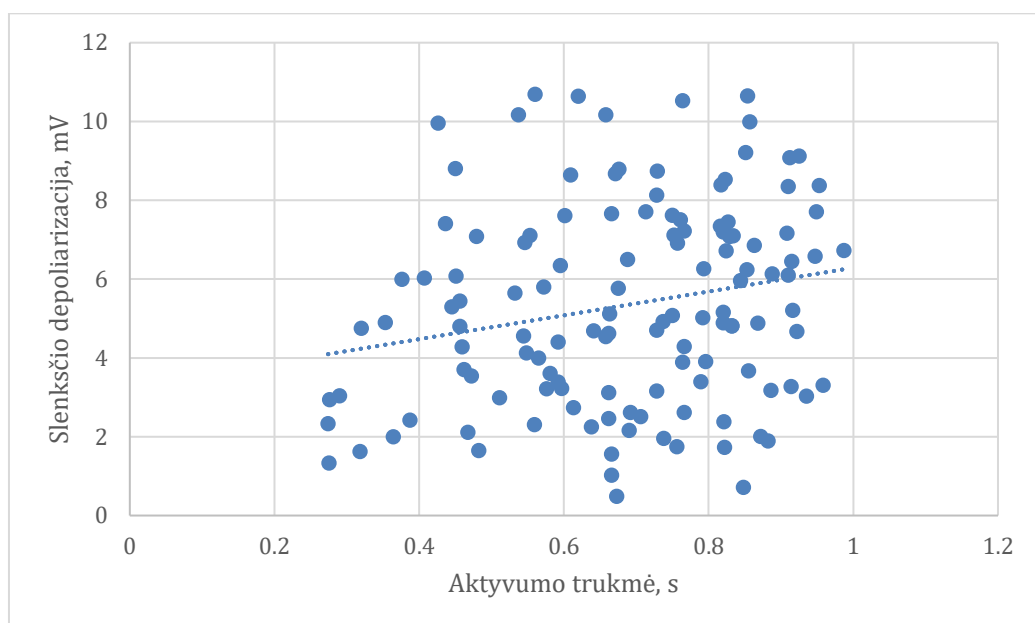
Iš ankstesnių darbų aišku, kad slenksčio depoliarizacija vyksta pakankamai greitai. Plaukimo, kasymosi metu depoliarizacijos procesas vyksta pirmomis keliomis šimtomis milisekundėmis. O ilginant depoliarizacijos trukmę, slenkštis jau daugiau nesidepoliarizuoja. Todėl kilo hipotezė patikrinti, o kaip slenkštis priklauso nuo depoliarizacijos trukmės, kai tos poilsio ir aktyvumo trukmės yra mažesnės. Tam įvertinti, iš visos imties buvo parinkti tik tie

duomenys, kurių aktyvumo ir poilsio trukmė ne ilgesnė negu 0,5 ir 1 s (21, 22, 23, 24 pav.). Tikėtasi, kad priklausomybė turėtų būti stipresnė prie trumpų trukmių. Nors imtis ženkliai sumažėja, tačiau matome stipresnę teigiamą koreliaciją plaukimo metu, kai aktyvumo trukmė iki 0,5 s (21 pav.). Gauname, kad Pirono koreliacijos koeficientas lygus 0,42.



21 pav. Slenksčio depoliarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės plaukimo metu iki 0,5 s

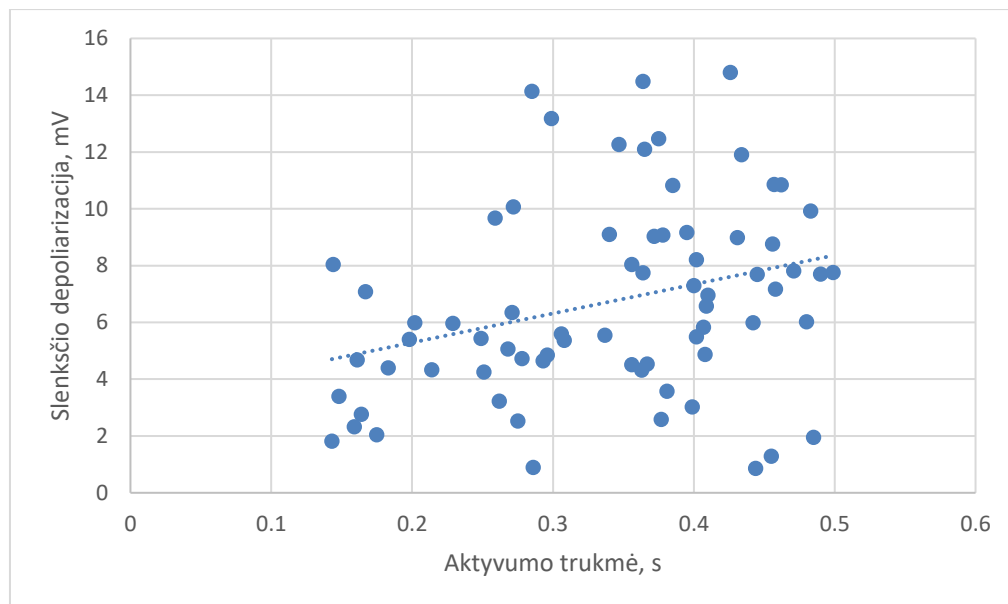
Slenksčiui depoliarizuojantis plaukimo metu iki 1 s gauname vėl silpnesnę koreliaciją (22 pav.), kaip ir pradiniuose duomenyse.



22 pav. Slenksčio depoliarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės plaukimo metu iki 1 s

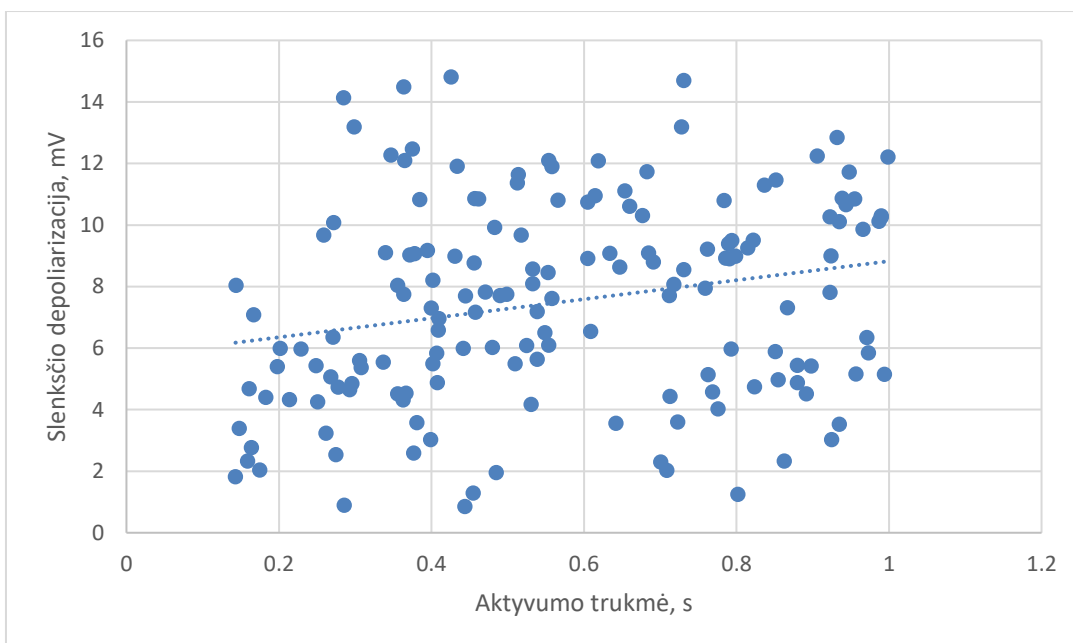
Stebima ta pati tendencija – didėjant aktyvumo trukmei, slenkstis lieka depoliarizuotas ir priklausomybė silpnėja. Pirsono koreliacijos koeficientas lygus 0,21.

Slenksčiui depoliarizuojantis iki 0,5 s, koreliacija stipresnė, teigiama, o Pirsono koreliacijos koeficientas lygus 0,31 (23 pav.).



23 pav. Slenksčio depolarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės kasymosi metu iki 0,5 s

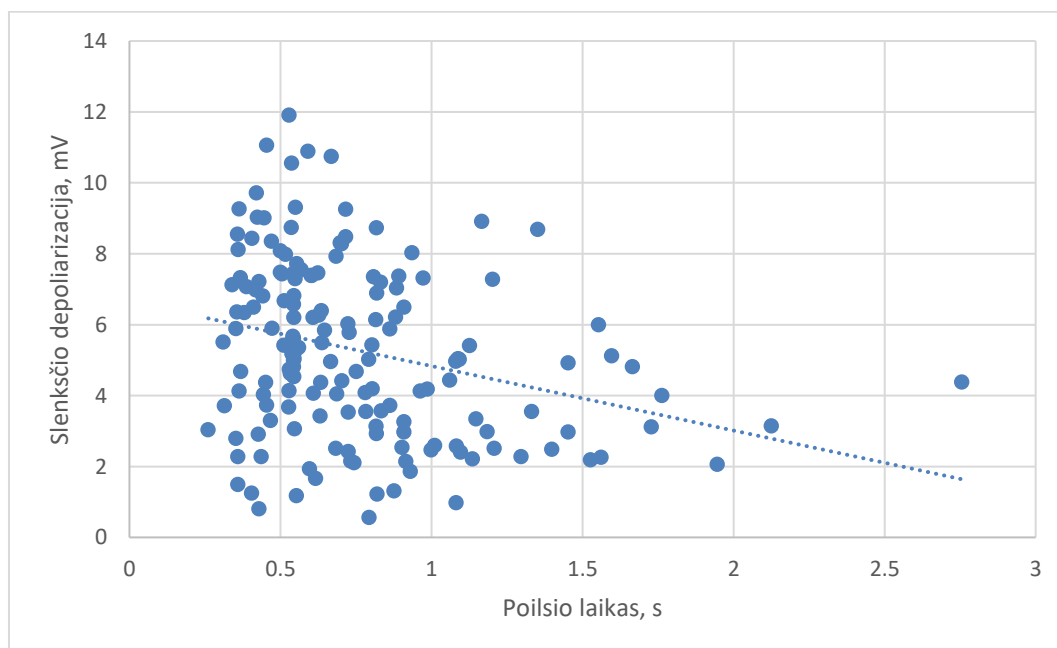
Tačiau slenkščiu depoliarizuojantis kasymosi metu iki 1 s matome analogišką situaciją kaip ir plaukimo metu didėjant aktyvumo trukmei, slenkstis išlieka depoliarizuotas – koreliacija teigiama, bet vėl silpnėja (24 pav.). Tai rodo apskaičiuotas Pirsono koreliacijos koeficientas, kuris lygus 0,23.



24 pav. Slenksčio depolarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės kasymosi metu iki 1 s

3.4. Slenksčio atsistatymo priklausomybė nuo poilsio trukmės plaukimo ir kasymosi metu

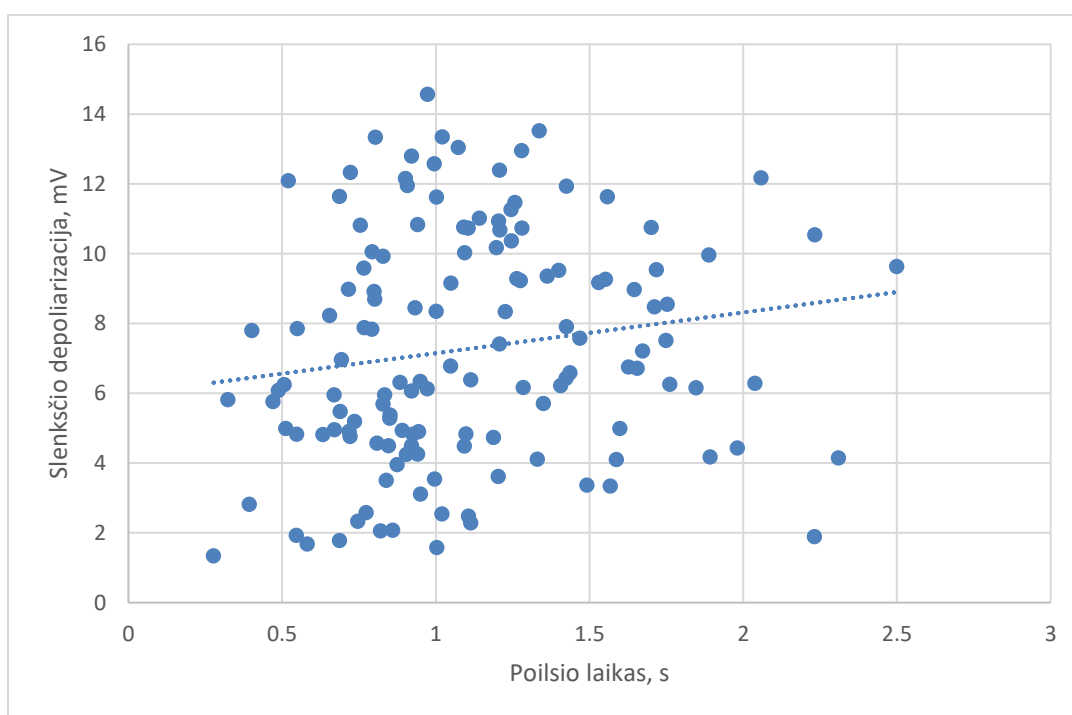
Toliau nagrinėjamas slenksčio hiperpolarizacijos (atsistatymo) priklausomybė nuo poilsio trukmės plaukimo ir kasymosi atvejais (25, 26 pav.). Duomenys rodo, kiek veikimo potencialo slenkstis atsistato tarp pliūpsnių. Slenkstis depolarizuoja ir atsistato nuo maždaug 2 iki 12 mV (25 pav.).



25 pav. Slenksčio atsistatymo priklausomybė nuo poilsio trukmės plaukimo metu

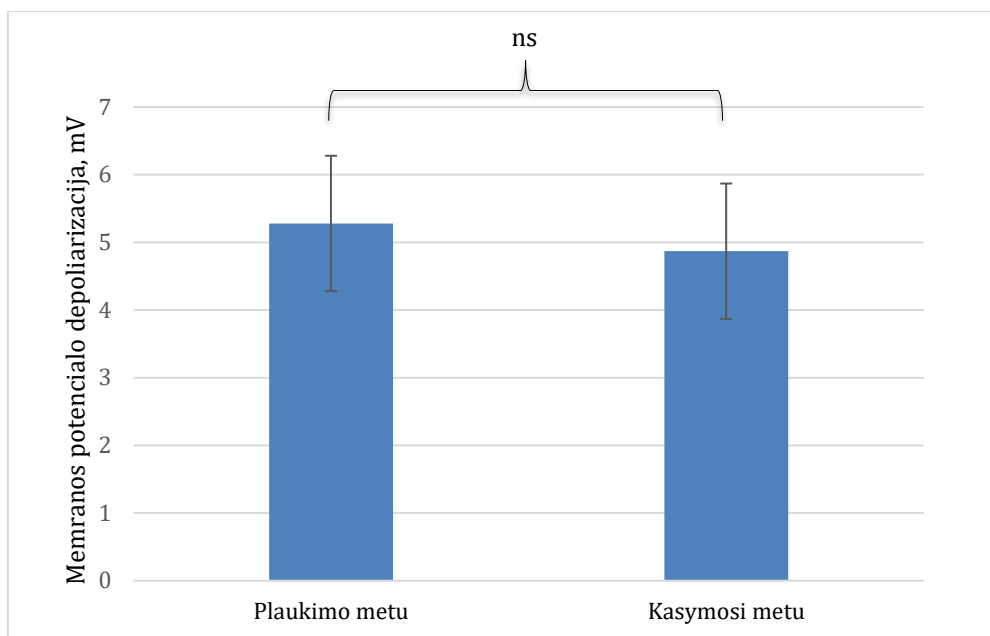
Slenksčio atsistatymo metu stebima silpna neigiama koreliacija – Pirsono koreliacijos koeficientas lygus $-0,29$ (25 pav.). Iš grafiko matyti, kad didėjant poilsio trukmei, slenksčio depoliarizacija mažėja (25 pav.).

Kaip minėta anksčiau, poilsio priklausomybės grafikai (tiek plaukimo, tiek kasymosi atvejais) rodo, kiek motoneuronų slenkstis atsistatė po adaptacijos, priklausomai nuo poilsio laiko. Matome, kad daugumos motoneuronų slenkstis pasiekia atsistatymą, tačiau, didėjant poilsio trukmei, depoliarizacija taip pat didėja. Kitaip tariant, kuo daugiau ilsisi, tuo mažiau atsistato (26 pav.).



26 pav. Slenksčio atsistatymo priklausomybė nuo poilsio trukmės kasymosi metu

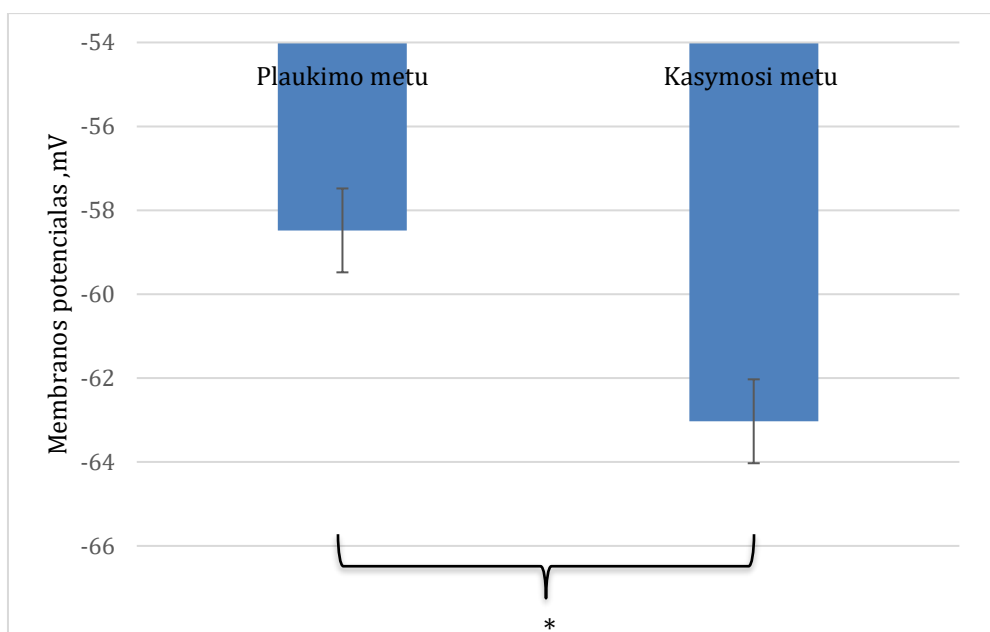
Iš to darome išvagę, kad matoma tendencija nėra logiška ir reikšminga. Stebima silpna teigiama koreliacija (26 pav.). Pirsono koreliacijos koeficientas lygus $0,16$. Membranos potencialas tarp pliūpsnių yra ikislenkstinis tačiau depoliarizuotas ramybės potencialo atžvilgiu, kas gali įtakoti slenksčio atsistatymą. Buvo tikrinami potencialai prieš pliūpsnius ir tarp pliūpsnių kasymosi ir plaukimo atvejais. Pirmiausia rasti potencialai prieš pliūpsnius, vėliau suskaičiuotas vidurkis tarp pliūpsnių gautų potencialų ir gautas skirtumas. Gauta, kad vidutinis membranos potencialas tarp pliūpsnių kasymosi metu buvo depoliarizuotas $4,87 \pm 5,51$ mV, o plaukimo – $5,28 \pm 5,16$ mV (27 pav.) lyginant su ramybės potencialu.



27 pav. Membranos potencialo depoliarizacija tarp pliūpsnių plaukimo ir kasymosi metu
ns – $p > 0,05$ (nesiskiria)

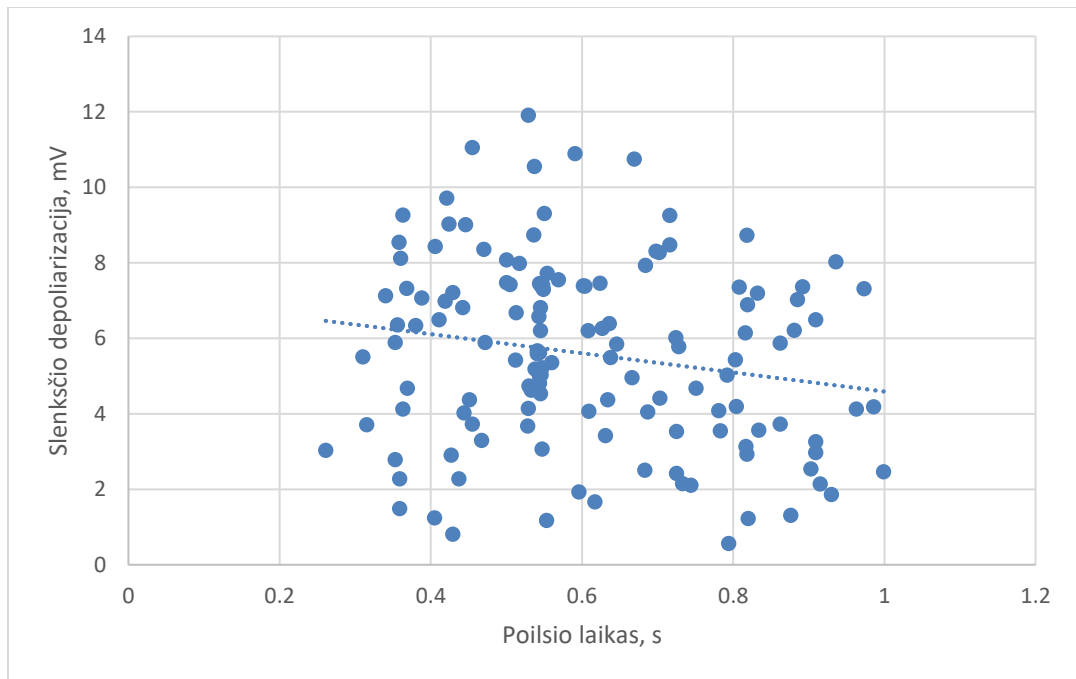
Gauti rezultatai buvo įvertinti t-testu, p vertė gauta 0,74. Potencialas tarp pliūpsnių panašiai depoliarizuotas tiek plaukimo, tiek kasymosi metu.

Tačiau, buvo palyginta ir absoliuti membranos potencialo tarp potencialo vertė kasymosi ir plaukimo metu (28 pav.).



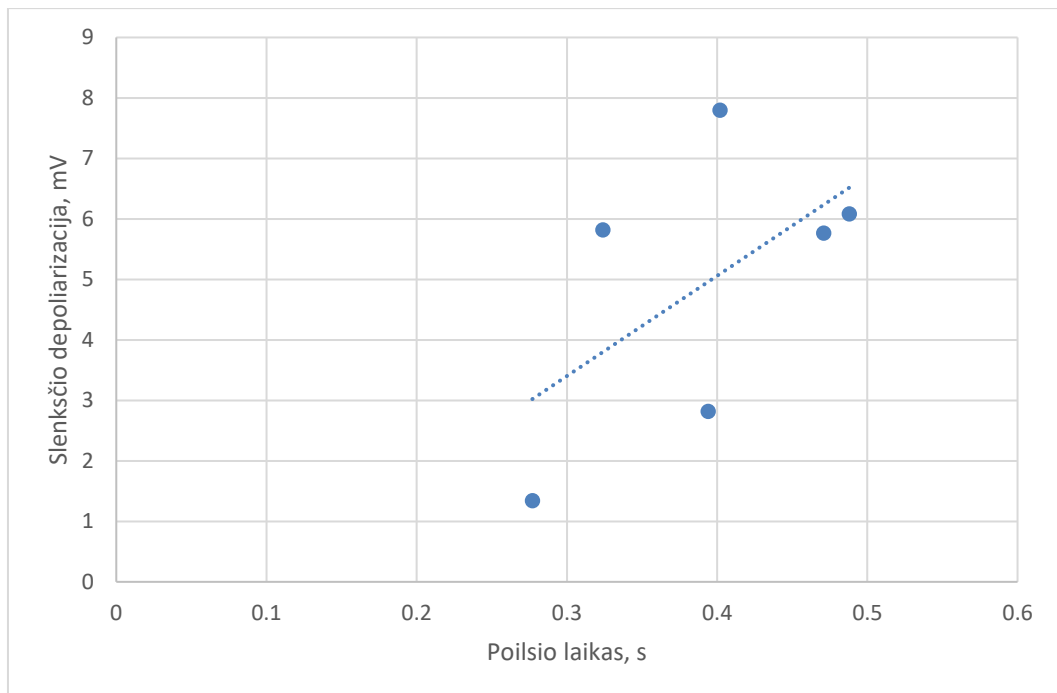
28 pav. Membranos potencialas tarp pliūpsnių plaukimo ir kasymosi metu
*- $p < 0,05$ (reikšmingai skiriasi)

Matome, kad plaukimo metu membranos potencialas tarp pliūpsnių buvo $-58,48 \pm 5,85$ mV, o kasymosi metu – $-63,03 \pm 7,99$ mV (28 pav.). Šiuo atveju taip pat buvo tikrintas statistinis

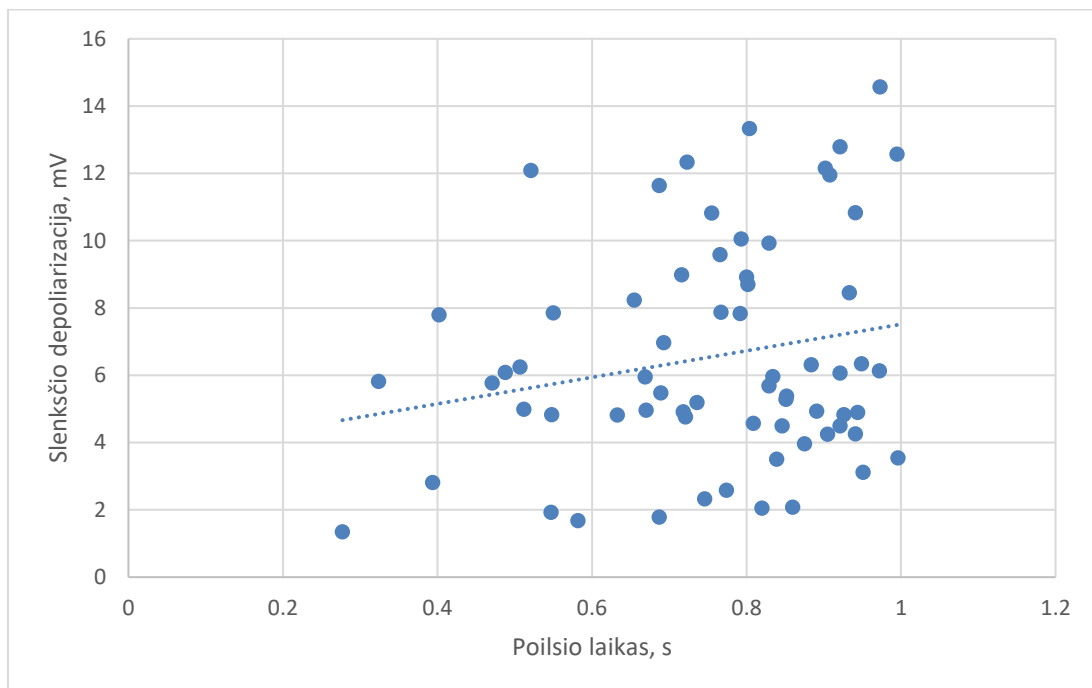


30 pav. Slenksčio atsistatymo priklausomybė nuo poilsio trukmės plaukimo metu iki 1s

Toliau tikrintos priklausomybės su sutrumpintomis trukmėmis kasymosi metu (31, 32 pav.). Nors imtis itin maža, tačiau matome gan stiprią teigiamą koreliaciją kasymosi metu (31 pav.), kai aktyvumo trukmė iki 0,5 s. Gauname, kad Pirsono koreliacijos koeficientas lygus 0,57.



31 pav. Slenksčio atsistatymo priklausomybė nuo poilsio trukmės kasymosi metu iki 0,5 s



32 pav. Slenksčio atsistatymo priklausomybė nuo poilsio trukmės kasymosi metu iki 1 s

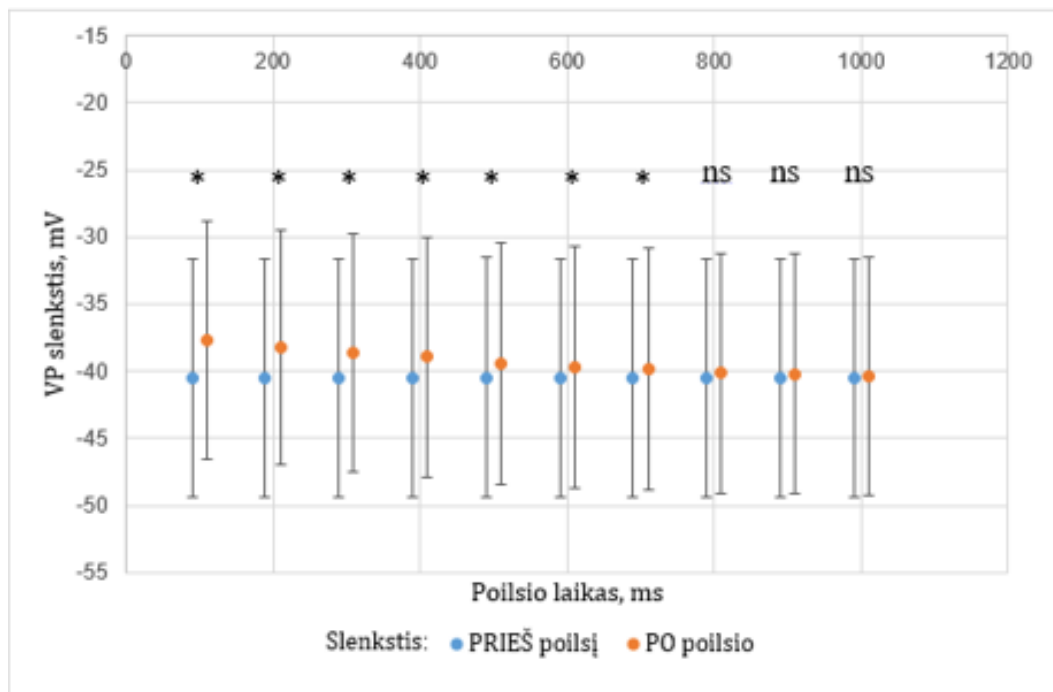
Tačiau slenksčiui depoliarizuojantis kasymosi metu iki 1 s stebima silpna teigiama koreliacija (32 pav.). Gauname, jog Pirsono koreliacijos koeficientas lygus 0,21.

TYRIMO REZULTATŲ APTARIMAS

Tyrimo metu vertintos aktyvumo bei poilsio trukmės. Rezultatai parodė, jog tiek plaukimo, tiek kasymosi metu aktyvumo ir poilsio trukmės statistiškai skiriasi. Gauta, jog aktyvumo trukmės plaukimo metu yra ilgesnės nei kasymosi metu, tačiau, poilsio trukmės plaukimo metu yra trumpesnės nei kasymosi metu. Taip pat, tyrimo metu vertinti pradiniai ir nusistovėję veikimo potencialų slenksčiai. Gauta, kad plaukimo metu slenkstis depoliarizavosi 5,62 mV, o kasymosi metu 7,54 mV. Statistiškai įvertinus rezultatus, nustatyta, kad nusistovėjęs slenkstis reikšmingai skiriasi. Stebimas ilgesnis plaukimas (ilgesnis epizodas), bet depoliarizacija mažesnė.

Įvertinome motoneuronų veikimo potencialo slenksčio susidarymą plaukimo ir kasymosi metu. Plaukimo metu naudojami elektriniai stimulai, kurie sukelia artefaktus. Elektriškai stimuliuojant, impulsas persiduoda ir susiformuoja triukšmas. Kasymasis – jau mechaninis stimulus, signalas garsiakalbyje, elektrinio stimulo nėra. Gauta, kad didėjant aktyvumo trukmei, slenksčio depoliarizacija didėja. Slenksčio depoliarizacijos priklausomybė nuo aktyvumo trukmės tiek kasymosi, tiek plaukimo atvejais vaizduoja silpną teigiamą koreliaciją. Kadangi visa depoliarizacija įvyksta iš karto, per kelis šimtus milisekundžių, tai rodo, kad slenkstis depoliarizuojasi per laiką, kai sugeneruojami keli pirmi veikimo potencialai. Patikrinus, kaip slenkstis depoliarizuojasi esant trumpų trukmių intervalams, kaip ir tikėtasi, stebimos koreliacijos yra stipresnės. Tačiau, sumažinus aktyvumo trukmę iki 1 s trukmės stebima adaptacija gaunama silpnesnė nei iki 0,5 s. Tai patvirtina prielaidą, kad depoliarizacija vyksta nedelsiant ir iškart, jau po maždaug 100 ms. Na, o tiriant plaukimo metu slenksčio atsistatymo priklausomybę nuo poilsio trukmės stebima silpna neigiama koreliacija. Matome, jog didėjant poilsio trukmei, slenksčio depoliarizacija mažėja. Tačiau, kasymosi metu gauname teigiamą koreliaciją – didėjant poilsio trukmei, depoliarizacija taip pat didėja. Kitaip tariant, kuo daugiau ilsisi, tuo mažiau atsistato.

Aptariant rezultatus reikėtų pabrėžti, kad tokio pobūdžio tyrimą apsunkina tai, kad veikiant neuroniniam tinklui negalima kontroliuoti tiek pačių pliūpsnių, tiek intervalų tarp pliūpsnių trukmės. Bakalaurinio darbo metu tyrimas vyko ne tinklo veikimo metu, o *in vitro*, keičiant varginimo ir poilsio trukmes. Visas šio tyrimo diapazonas sutampa su tuo, ką tyriau ankstesniame minėtame darbe *in vitro* pjūviuose laisvai keisdama intervalus (33 pav.). Matome, kad poilsio laikas kinta nuo 100 iki 1000 ms, o atsistatymas vyksta bėgant laikui ir matosi, jog slenksčiai daugiausiai skiriasi ties mažomis vertėmis (33 pav.).



33 pav. Pradinio slenkščio atsistatymas, tirtas bakalaurnio darbo metu

*- $p < 0,05$ (reikšmingai skiriasi)

ns – $p > 0,05$ (nesiskiria)

VP – veikimo potencialas

Atsistatymas stipriausias tas, kuris įvyksta per kelis šimtus milisekundžių – po 100, 200 ms – o po to pradeda panašėti ir pilnai atsistato tik po 800 ms (statistiškai patikimai nesiskiria) (33 pav.). O iš dabartinių duomenų, išnagrinėjus visus turimus epizodus, matome, kad aktyvumo epizodai truko vidutiniškai nuo 0,7 iki 1 s. Panašu, kad depoliarizacija įvyksta, bet ji įvyko epizodo pradžioje, po to didžiąją epizodo dalį slenkstis buvo depoliarizuotas. Galbūt dėl to ir nematėme stiprios koreliacijos. Kitaip tariant, atsistatymas jau įvykęs, pagaunamas tas momentas, kai slenkstis jau būna atsistatęs.

Kalbant apie poilsio priklausomybės tendenciją, atsistatymas įvyksta pakankamai greitai, visa priklausomybė yra trumpuose laiko masteliuose, o turimuose duomenyse laiko intervalai ilgesni. Plaukimo ir kasymosi epizodų trukmės mažos, tarp pliūpsnių veikimo potencialų slenkstis praktiškai atsistato, fiziologinių trukmių pakanka, kiekvienas pliūpsnis prasideda naujai – jau atsistatęs. Tačiau, sumažinus imtį ir atrinkus tik tuos epizodus, kur aktyvumo bei poilsio trukmės ne didesnės nei 0,5 ir 1 sekundė, koreliaciją gauname stipresnę, bet, žinoma, ne visur. Tačiau, čia iškyla dar viena problema – kad atrinkus tam tikro intervalo trukmes, tiek aktyvumo, tiek poilsio, turime mažos imties duomenis. Taip pat, svarbu atkreipti dėmesį, kad fiziologiškai veikiant neuroniniam tinklui vyksta ir depoliarizacija, ir atsistatymas, o esant anksčiau minėtoms aktyvumo, poilsio ir varginimo trukmėms adaptacija ir atsistatymas įvyksta greičiau, todėl ir yra silpnos koreliacijos.

Prieš daugelį metų pastebėta, kad nugaros smegenų neuroninis tinklas generuoja koordinuotus judesius (Sherrington, 1906). Šiandien jau laikoma, kad primityvūs judesiai ir refleksai yra organizuoti neuronų tinklo. Tai galimybė suprasti neuronų tinklo funkcionavimo principus ir pritaikyti juos kitiems tyrimams. Šiam funkciniam stuburo smegenų neuronų tinklui tirti panaudotas panaudotas izoliuotas vėžlio nugaros smegenų-šarvo preparatas. Preparatas panaudotas iširti, kaip motoneuronų slenkstinis potencialas kinta funkcinio motorinio elgesio – kasymosi ir plaukimo metu.

Vieni tyrėjai rodo, kad stuburo motoneuronų membranos potencialas ritmiškai depoliarizuojasi generuojant motorines programas (Robertson, Stein, 1988; Alaburda, Hounsgaard, 2003), o pasiekus slenkstį, motoneuronai generuoja veikimo potencialo pliūpsnius (Grigonis, Alaburda, 2017). Neuronų tinklo veikimo metu slenkstis iš tiesų depoliarizuojasi per veikimo potencialų pliūpsnius ir atsistato tarp pliūpsnių iki šiek tiek depoliarizuoto lygio (slenksčio dinamikos tyrimai motoneuronuose kasymosi ir plaukimo metu) (Grigonis, Alaburda, 2017). Slenksčio depoliarizacijos dydis generuojant funkcinės motorines programas buvo labai panašus kaip ir sukeltas kvadratinės srovės impulsų stimuliacijos. Manoma, kad mechanizmas, kuriuo grindžiama slenkščio depoliarizacija, gali būti susijusi su natrio kanalų prieinamumo sumažėjimu dėl inaktyvacijos (Powers *et al.*, 1999). Mokslininkų eksperimentai atskleidė, kad visgi natrio kanalų inaktyvacija dalyvauja depoliarizuojant slenkstį (Grigonis, Alaburda, 2017). Nors membranos laidumo padidėjimas maždaug 50 % nekeičia veikimo potencialo slenkščio motoneuronuose (Grigonis *et al.*, 2016), tačiau, neuroninio tinklo veikimo metu laidumo padidėjimas yra fazinis ir gali būti netolygiai pasiskirstęs motoneuronų dendrituose ir somose (Alaburda *et al.*, 2005; Berg *et al.*, 2008). Visa tai lemia pastebimą slenkščio depoliarizaciją (Grigonis, Alaburda, 2017). Taip pat svarbu paminėti, kad veikimo potencialai inicijuojami pradiname aksono segmente, kuris yra maždaug 10 μm atstumu nuo somos motoneuronuose (Duflocq *et al.*, 2011). Todėl atliekant intraląstelinius įrašus somoje, membranos laidumo pokyčiai, atsirandantys tarp somos ir pradinio aksono segmento, taip pat gali turėti įtakos išmatuotam slenkstiniam potencialui (Grigonis, Alaburda, 2017).

Kiti tyrėjai užfiksavo, kad veikimo potencialo slenkstis hiperpoliarizuojasi kačių motoneuronuose fiktyvaus judėjimo (Krawitz *et al.*, 2001) ir fiktyvaus kasymosi metu (Power *et al.*, 2010), taip pat žiurkių motoneuronuose lokalizacijos metu (MacDonell *et al.*, 2015). Tai padidina motoneuronų jaudrumą. Tačiau, fiktyvaus svorio palaikymo metu kačių motoneuronų slenkstinis potencialas depoliarizuojasi (Power *et al.*, 2010).

Taigi, atliekant tiriamąjį darbą, neišvengta ir metodinių apribojimų. Vienas iš apribojimų, kad matomas didelis duomenų išsibarstymas. Slenkstis – gana išsibarstęs parametras, jam įtakos gali turėti matavimo tikslumas. Problema atsiranda tada, kai matuojami elektrofiziologiniai dydžiai, nes potencialas gali varijuoti į vieną ar kitą pusę. Kitas svarbus niuansas tas, kad, veikiant neuroniniam tinklui, neįmanoma palankiai valdyti, reguliuoti parametru, poilsio ir aktyvumo trukmės funkcinio tinklo veikimo metu nėra kontroliuojamos ar kitaip veikiamos (valdomos), dėl to negalima nustatyti tikro priežastinio, pasekminio ryšio, tačiau galima surasti koreliacinį. Taip pat dar vienas iš darbo ribotumų yra tai, kad šiame darbe nėra galimybės keisti epizodų trukmės (padaryti didesnes, ar mažesnes), duomenys yra tokie, kokie gauti tinklo veikimo metu.

IŠVADOS

1. Aktyvumo trukmės plaukimo metu yra ilgesnės nei kasymosi metu, tačiau, ilgesnės poilsio trukmės yra kasymosi metu.
2. Vidutinis membranos potencialas yra teigiamesnis plaukimo nei kasymosi metu.
3. Pradinis veikimo potencialo slenkstis tiek kasymosi, tiek plaukimo metu statistiškai nesiskiria, nusistovėjęs – kasymosi metu yra didesnis nei plaukimo metu.
4. Slenksčio depoliarizacija kasymosi ir plaukimo metu rodo silpną priklausomybę nuo aktyvumo trukmės, tačiau, sumažinus imtį ir analizuojant trumpesnius aktyvumo epizodus, priklausomybė nuo aktyvumo trukmės stiprėja.
5. Slenksčio atsistatymas kasymosi ir plaukimo metu rodo silpną priklausomybę nuo poilsio trukmės, tačiau, sumažinus imtį ir analizuojant trumpesnius poilsio epizodus, priklausomybė nuo poilsio trukmės stiprėja.

Kotryna Čaikauskaitė

NUGAROS SMEGENŲ MOTONEURONŲ VEIKIMO POTENCIALO SLENKSČIO ATSISTATYMAS PO DEPOLIARIZACIJOS NEURONINIO TINKLO VEIKIMO METU

SANTRAUKA

Veikimo potencialo slenkstis, jo dinamika yra gerai žinomi ir aprašyti. Dėsningumai apie veikimo potencialo slenkščio atsistatymą yra ištirti, kai motoneuronai stimuliuojami viduląsteliniu registravimo būdu, per elektrodą leidžiama srove. Žinoma, jog slenkstis depoliarizuojasi ir funkcinio nugaros smegenų neuroninio tinklo veikimo metu, bet nežinoma, kaip jis atsistato po depoliarizacijos tarp aktyvumo epizodų.

Integruotame vėžlio nugaros smegenų-šarvo preparate, sukeldami plaukimo ir kasymosi refleksus, tyrėme, kaip slenkščio atsistatymas priklauso nuo poilsio ir aktyvumo trukmių.

Gauta, kad plaukimo metu aktyvumo trukmės yra ilgesnės nei kasymosi metu. Tačiau, ilgesnės poilsio trukmės stebimos jau, priešingai, kasymosi metu. Slenksčio depoliarizacija per aktyvumo periodą didesnė yra kasymosi nei plaukimo metu. Toliau, pasitelkus koreliacinės analizės metodą, vertintas slenkščio atsistatymas po depoliarizacijos. Slenksčio atsistatymas kasymosi ir plaukimo metu nuo poilsio trukmės vaizduoja silpną priklausomybę. O slenkščio depoliarizacija nuo aktyvumo trukmės taip pat rodo silpną priklausomybę. Tačiau, abiem atvejais, sutrumpinus laiką, priklausomybė stiprėja.

Kotryna Čaikauskaitė

RECOVERY FROM DEPOLARIZATION OF ACTION POTENTIAL THRESHOLD IN SPINAL MOTONEURONS DURING NEURAL NETWORK ACTIVITY

SUMMARY

The threshold dynamics are known and investigated when motoneurons are stimulated by intracellular recording and current is applied through the electrode. The threshold is also known to depolarize during the functional neural network activity of the spinal cord. However, the recovery after depolarization between episodes of activity is still unclear.

In this study we examined the dependence of threshold recovery on rest and activity durations with an integrated adult turtle *ex vivo* carapace-spinal cord preparation inducing swimming and scratching reflexes.

We found that the duration of activity is longer during swimming than during scratching. However, longer rest periods are already observed, in contrast, during scratching. Threshold depolarization during the activity period is greater during scratching than during swimming. Threshold recovery after depolarization was evaluated using correlation analysis. It was found that during scratching and swimming from the duration of rest and depolarization of the threshold from the duration of activity represent both represent a weak dependence. In such cases, the shortening of time increases the dependency.

LITERATŪRA

1. Alaburda A., Hounsgaard J. (2003). Metabotropic modulation of motoneurons by scratch-like spinal network activity. *J Neurosci.* 2003 Sep 24;23(25):8625-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-25-08625.2003. PMID: 14507961; PMCID: PMC6740418.
2. Alaburda A., Perrier J.F., Hounsgaard J. (2002). An M-like outward current regulates the excitability of spinal motoneurons in the adult turtle. *The Journal of Physiology.* <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2001.015982>
3. Alaburda A., Russo R., MacAulay N., Hounsgaard J. (2005). Periodic High-Conductance States in Spinal Neurons during Scratch-Like Network Activity in Adult Turtles. *The Journal of Neuroscience*, July 6, 2005 25(27):6316 – 6321.
4. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. (2002). *Molecular Biology of the Cell, 4th edition.* New York: Garland Science; 2002. ISBN-10: 0-8153-3218-1 ISBN-10: 0-8153-4072-9.
5. Azarfar A., Calcini N., Huang C., Zeldenrust F., Celikel T. (2018). Neural coding: A single neuron's perspective. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018 Nov;94:238-247. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.09.007. Epub 2018 Sep 15. PMID: 30227142.
6. Azouz R., Gray C.M. (2000). Dynamic spike threshold reveals a mechanism for synaptic coincidence detection in cortical neurons in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:8110–8115. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
7. Azouz R., Gray C.M. (2003). Adaptive coincidence detection and dynamic gain control in visual cortical neurons in vivo. *Neuron.* 2003;37:513–523. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
8. Bates A.S., Janssens J., Jefferis G.SXE., Aerts S. (2019). Neuronal cell types in the fly: single-cell anatomy meets single-cell genomics. *Current Opinion in Neurobiology*, Volume 56, 2019, Pages 125-134, ISSN 0959-4388, <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.12.012>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095943881830254X>).
9. Baumann N., Pham-Dinh D. (2001). Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiological Reviews.* 81 (2): 871–927. doi:10.1152/physrev.2001.81.2.871. PMID 11274346.
10. Bennett D.J., Hultborn H., Fedirchuk B., Gorassini M.A. (1998). Synaptic activation of plateaus in hindlimb motoneurons of decerebrate cats. *J Neurophysiol.* 1998;80:2023–2037. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

11. Berg R.W., Ditlevsen S., Hounsgaard J. (2008). Intense synaptic activity enhances temporal resolution in spinal motoneurons. *PLoS One*. 2008;3(9):e3218. Published 2008 Sep 16. doi:10.1371/journal.pone.0003218.
12. Berkowitz A. (2004). Propriospinal projections to the ventral horn of the rostral and caudal hindlimb enlargement in turtles. *Brain Res* 1014: 164–176, 2004. doi:10.1016/j.brainres.2004.04.020. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
13. Bernstein J. (1912). Elektrobiologie, die Lehre von den elektrischen Vorgängen im Organismus auf moderner Grundlage dargestellt. *Vieweg, Braunschweig*, 1912.
14. Bessou P., Emonet-Denand F., Laporte Y. (1965). Motor fibres innervating extrafusal and intrafusal muscle fibres in the cat. *J. Physiol.* 180, 649–672 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
15. Bezanilla F. (2005). Voltage-gated ion channels. *IEEE Trans Nanobioscience*. 4(1):34-48.
16. Bezanilla F. (2008). Ion Channels: From Conductance to Structure. *Neuron Perspective*. DOI: 10.1016/j.neuron.2008.10.035.
17. Bhatheja K., Field J. (2006). Schwann Cells: Origins and Role in Axonal Maintenance and Regeneration. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 38(12), 1995-1999. doi.org/10.1016/j.biocel.2006.05.007.
18. Bickler P.E., Donohoe P.H. (2002). Adaptive responses of vertebrate neurons to hypoxia. *J Exp Biol*. 2002 Dec;205(Pt 23):3579-86. PMID: 12409484.
19. Binder M.D., Heckman C.J., Powers R.K. (1996). The physiological control of motoneuron activity. In *Handbook of Physiology, section 12, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*, ed. Rowell L.B.& Shepherd J.T., pp. 3-53. Oxford University Press, New York.
20. Blob R.W., Rivera A.R., Westneat M.W. (2008). Hindlimb function in turtle locomotion: limb movements and muscular activation across taxa, environment, and ontogeny. In: *Biology of Turtles*, edited by Wyneken J, Godfrey MH, and Bels V. Boca Raton, FL: CRC, 2008, p. 139–162. [[Google Scholar](#)].
21. Boulis N., O'Connor D., Donsante A. (2017). *Molecular and Cellular Therapies for Motor Neuron Diseases. Chapter 1 – Molecular and Extracellular Cues in Motor Neuron Specification and Differentiation*. Academic Press, 2017. ISBN: 978-0-12-802257-3.
22. Brock L.G., Coombs J.S., Eccles J.C. (1952) The recording of potentials from motoneurons with an intracellular electrode. *J Physiol* 117:431- 460.

23. Brown B.H., Smallwood R.H., Barber D.C., Lawford P.V., Hose D.R. (1999). *Medical Physics and Biomedical Engineering*. New York, NY 10016: Taylor & Francis Group. ISBN 0-7503- 0368-9.
24. Bundgaard A., James A.M., Gruszczyk A.V., Martin J., Murphy M.P., Fago A. (2019). Metabolic adaptations during extreme anoxia in the turtle heart and their implications for ischemia-reperfusion injury. *Sci Rep* 9, 2850. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39836-5>.
25. Canaday S., Rompala J., Rowles J, Fisher J., Holt D. (2015). Chronic Severe Hyponatremia and Cardiopulmonary Bypass: Avoiding Osmotic Demyelination Syndrome. *J Extra Corpor Technol*. 2015 Dec;47(4):228-30.
26. Catterall W. A. (2000). Structure and regulation of voltage-gated Ca²⁺ channels. *Annu Rev Cell Dev Biol* 16: 521-555.
27. Catterall W.A. (2011). Voltage-gated calcium channels. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3(8):a003947. Published 2011 Aug 1. doi:10.1101/cshperspect.a003947 Dolphin A.C., 2006. A short history of voltage-gated calcium channels". *British Journal of Pharmacology*. 147 Suppl 1 (Suppl 1): S56-62. doi:10.1038/sj.bjp.0706442. PMC 1760727. PMID 16402121.
28. Chang Q., Martin L.J. (2016). Voltage-gated calcium channels are abnormal in cultured spinal motoneurons in the G93A-SOD1 transgenic mouse model of ALS. *Neurobiology of Disease*, 2016. 93: p. 78–95. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
29. Cho J.H., Choi I.S., Lee S.H., Jang I.S. (2015). Contribution of persistent sodium currents to the excitability of tonic firing substantia gelatinosa neurons of the rat. *Neurosci Lett*. 2015 Mar 30;591:192-6. doi: 10.1016/j.neulet.2015.02.039. Epub 2015 Feb 19.
30. Crowe A., Linnartz P. (1985). Studies on the excitability of the central program generator in the spinal cord of the terrapin *Pseudemys scripta elegans*. *Comp Biochem.Physiol A Comp Physiol* 81(4): 905-909.
31. Currie S.N., Gonsalves G.G. (1997). Right-left interactions between rostral scratch networks generate rhythmicity in the preenlargement spinal cord of the turtle. *J Neurophysiol* 78(6): 3479-3483.
32. Currie S.N., Stein P.S. (1990). Cutaneous stimulation evokes long-lasting excitation of spinal interneurons in the turtle. *J Neurophysiol* 64: 1134–1148, 1990. doi:10.1152/jn.1990.64.4.1134. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].

33. Davis-Dusenbery B.N., Williams L.A., Klim J.R., Eggan K. (2014). How to Make Spinal Motor Neurons. *The Company of Biologists Ltd | Development* (2014) 141, 491-501 doi: 10.1242/dev.097410.
34. Delgado-Lezama R., Perrier J-F., Hounsgaard J. (1999). Local facilitation of plateau potentials in dendrites of turtle motoneurons by synaptic activation of metabotropic receptors. *J Physiol (Lond)* 1999;515:203–207. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
35. Delgado-Lezama R., Perrier J-F., Nedergaard S., Svirskis G., Hounsgaard J. (1997). Metabotropic synaptic regulation of intrinsic response properties of turtle spinal motoneurons. *Journal of Physiology* 504, 97-102.
36. Destexhe A., Rudolph M., Paré D. (2003). The high-conductance state of neocortical neurons in vivo. *Nat Rev Neurosci.* 2003 Sep;4(9):739-51. doi: 10.1038/nrn1198. *Erratum in: Nat Rev Neurosci.* 2003 Dec;4(12):1019. PMID: 12951566.
37. Dolphin A.C. (1996). Facilitation of Ca²⁺ current in excitable cells. *Trends Neurosci.* 1996;19:35–43. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
38. Drukarch B., Holland H.A., Velichkov M., Geurts J.J.G., Voorn P., Glas G., W. de Regt H. (2018). Thinking about the nerve impulse: A critical analysis of the electricity-centered conception of nerve excitability, *Progress in Neurobiology*, Volume 169, 2018, Pages 172-185, ISSN 0301-0082, <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.06.009>.
39. Duflocq A., Chareyre F., Giovannini M., Couraud F., Davenne M. (2011). Characterization of the axon initial segment (AIS) of motor neurons and identification of a para-AIS and a juxtapara-AIS, organized by protein 4.1B. *BMC Biol* 9, 66. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
40. Duong H., Patel G., (2022). Hypothermia. Jan 24. *In: StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 31424823.
41. Earhart G.M., Stein P.S. (2000). Step, swim, and scratch motor patterns in the turtle. *J Neurophysiol* 84: 2181–2190, 2000. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
42. Eccles J.C., Eccles R.M., Iggo A., Lundberg A. (1960). Electrophysiological Studies on Gamma Motoneurons. *Acta Physiol. Scand.* 50, 32–40 10.1111/j.1748-1716.1960.tb02070.x.
43. ElBasiouny S. M., Schuster J. E., Heckman C. J. (2010). Persistent inward currents in spinal motoneurons: important for normal function but potentially harmful after spinal

- cord injury and in amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 121(10),1669–1679. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.12.041>
44. Enna S.J., Bylund D.B. (2008). xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. Elsevier, 2008. ISBN: 978-0-08-055232-3.
 45. Ettmar S. (2013). Records of invasive *Trachemys scripta elegans* (WIED-NEUWIED, 1839), in cenotes of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Herpetozoa*. 26. 98-100.
 46. Faber D.S., Pereda A.E. (2018). Two Forms of Electrical Transmission Between Neurons. *Front. Mol. Neurosci.*, 21 November 2018 | <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00427>.
 47. Fatt P., Katz B. (1953). The electrical properties of crustacean muscle fibres. *J Physiol*. 1953;120(1-2):171-204. doi:10.1113/jphysiol.1953.sp004884.
 48. Feng T., Kalyaanamoorthy S., Barakat K. (2018). L-type Calcium Channels: Structure and Functions. *IntechOpen*, Published: October 10th 2018. DOI: 10.5772/intechopen.77305.
 49. Finley M., Cassaday J., Kreamer T., Li X., Solly K., O'Donnell G., Clements M., Converso A., Cook S., Daley C., Kraus R., Lai M.T., Layton M., Lemaire W., Staas D., Wang J. (2016). Kinetic Analysis of Membrane Potential Dye Response to NaV1.7 Channel Activation Identifies Antagonists with Pharmacological Selectivity against NaV1.5. *J Biomol Screen*, 2016 Jun;21(5):480-9. doi: 10.1177/1087057116629669. Epub 2016 Feb 9.
 50. Flavell S.W., Greenberg M.E. (2008). Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 31: 563–590 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
 51. Fontaine B., Pena J.L., Brette R. (2014). Spike-Threshold Adaptation Predicted by Membrane Potential Dynamics *In Vivo*. *PLoS Comput Biol* 10(4): e1003560. Published: April 10, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003560>.
 52. Franklin B. (1751). *Experiments and Observations on Electricity Made at Philadelphia in America*. Printed and sold by E. Cave, at St. John's Gate. doi: 10.5479/sil.211644.39088000092304.
 53. Frigon A. (2012). Central pattern generators of the mammalian spinal cord. *Neuroscientist*. 2012 Feb;18(1):56-69. doi: 10.1177/1073858410396101. Epub 2011 Apr 25. PMID: 21518815.

54. Friese A., Kaltschmidt, J. A., Ladle D. R., Sigrist M., Jessell, T. M., Arber S. (2009). Gamma and alpha motor neurons distinguished by expression of transcription factor *Err3*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(32), 13588–13593. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906809106>.
55. Gans C., Northcutt G., Ulinks P. (1979). *Biology of the reptilia*. London; New York; Chicago, Academic Press, Wiley, A.R. Liss., University of Chicago Press, Society for the Study of Amphibians and Reptiles.
56. Giszter S.F., Kargo W.J. (2000). Conserved temporal dynamics and vector superposition of primitives in frog wiping reflexes during spontaneous extensor deletions. *Neurocomputing* 32–33: 775–783, 2000 [[Google Scholar](#)].
57. Grigonis R., Alaburda A. (2017). Spike threshold dynamics in spinal motoneurons during scratching and swimming. *J Physiol.* 2017;595(17):5843-5855. doi:10.1113/JP274434
58. Grigonis R., Guzulaitis R., Buišas R., Alaburda A. (2016). The influence of increased membrane conductance on response properties of spinal motoneurons. *Brain Res.* 2016 Oct 1;1648(Pt A):110-118. doi: 10.1016/j.brainres.2016.07.030. Epub 2016 Jul 19. PMID: 27450930.
59. Guzulaitis R., Alaburda A., Hounsgaard J. (2013). Increased activity of pre-motor network does not change the excitability of motoneurons during protracted scratch initiation. *The Journal of physiology*, 591(7), 1851–1858. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.246025>
60. Guzulaitis R., Hounsgaard J. (2017). Synaptic Excitation in Spinal Motoneurons Alternates with Synaptic Inhibition and Is Balanced by Outward Rectification during Rhythmic Motor Network Activity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 37(38), 9239–9248. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0800-17.2017>.
61. Guzulaitis R., Hounsgaard J., Alaburda A. (2016). Irregular Firing and High-Conductance States in Spinal Motoneurons during Scratching and Swimming. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 36(21), 5799–5807. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0320-16.2016>.
62. Hall J.E. (2011). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology with Student Consult Online Access* (PDF) (12th ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders.

- p. 64. ISBN 978-1-4160-4574-8. Archived from the original (PDF) on 2011-05-16. Retrieved 2011-03-22.
63. Hamill R.W., Shapiro R.E., Vizzard M.A. (2012). *Primer on the Autonomic Nervous System, 3rd edition. Chapter 4 – Peripheral Autonomic Nervous System*. Academic Press, 2012. Pages 17-26, ISBN 9780123865250, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386525-0.00004-4>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123865250000044>).
64. Hart C.B., Giszter S.F. (2004). Modular premotor drives and unit bursts as primitives for frog motor behaviors. *J Neurosci* 24: 5269–5282, 2004 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
65. Heckman C.J., Lee R.H., Brownstone R.M. (2003). Hyperexcitable dendrites in motoneurons and their neuromodulatory control during motor behavior. *Trends Neurosci* 26:688–695. 10.1016/j.tins.2003.10.002 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
66. Hedstrom K.L., Ogawa Y., Rasband M.N. (2008). AnkyrinG is required for maintenance of the axon initial segment and neuronal polarity. *J Cell Biol.* 2008;183:635–40. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
67. Hertz L., Gerkau N.J., Xu J., Durrty S., Song D., Rose C.R., Peng L. (2015). Roles of astrocytic Na(+),K(+)-ATPase and glycogenolysis for K(+) homeostasis in mammalian brain. *J Neurosci Res.* 2015 Jul;93(7):1019-30. doi: 10.1002/jnr.23499. Epub 2014 Oct 29.
68. Hyder F., Rothman D.L., Bennett M.R. (2013). Cortical energy demands of signaling and nonsignaling components in brain are conserved across mammalian species and activity levels. In *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. doi:10.1073/pnas.1214912110 (2013). [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
69. Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1939). Actions Potentials Recorded from Inside a Nerve Fibre. *Nature.* 144, 710-711 37.
70. Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1945). Resting and Action Potentials in Single Nerve Fibres. *J.Physiol.* (1945) 104, 176-195.
71. Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1952). Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.*, 116 (1952), pp. 449-472.
72. Hodgkin A.L., Katz B. (1949). The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.*, 108 (1949), pp. 37-77.

73. Hofman M.A. (1983). Energy Metabolism, Brain Size and Longevity in Mammals. *Q Rev Biol.* 1983;58:495–512. doi: 10.1086/413544. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
74. Hounsgaard J., Hultborn H., Jespersen B., Kiehn O. (1988). Bistability of alpha-motoneurons in the decerebrate cat and in the acute spinal cat after intravenous 5-hydroxytryptophan. *JPhysiol.* 1988;405:345–367.
75. Hounsgaard J., Nicholson C. (1990). The isolated turtle brain and the physiology of neuronal circuits. In: *Preparations of Vertebrate Central Nervous System In Vitro*, edited by Jahnsen H. New York: Wiley, 1990, p. 155–181. [Google Scholar].
76. Howarth C., Gleeson P., Attwell D. (2012). Updated energy budgets for neural computation in the neocortex and cerebellum. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012;32:1222–1232. doi: 10.1038/jcbfm.2012.35. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
77. Hu W., Tian C., Li T., Yang M., Hou H., *et al.* (2009). Distinct contributions of Na(v)1.6 and Na(v)1.2 in action potential initiation and backpropagation. *Nat Neurosci.* 2009;12:996–1002. [PubMed] [Google Scholar].
78. Huang, C. Y., & Rasband, M. N. (2018). Axon initial segments: structure, function, and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1420(1), 46–61. <https://doi.org/10.1111/nyas.13718>.
79. Ivanhoe C. B., Reistetter T. A. (2004). Spasticity: the misunderstood part of the upper motor neuron syndrome. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 83, S3–S9 10.1097/01.PHM.0000141125.28611.3E [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
80. Yamakage M., Namiki A. (2002). Calcium channels – basic aspects of their structure, function and gene encoding; anesthetic action on the channels – a review. *Can J Anesth* 49, 151-164 (2002). <https://doi.org/10.1007/BF03020488>.
81. Young J.Z. (1938). The functioning of the giant nerve fibres of the squid. *J. Exp. Biol.*, 15 (1938), pp. 170-185.
82. Yu Y., Karbowski J., Sachdev R.N., Feng J. (2014). Effect of temperature and glia in brain size enlargement and origin of allometric body-brain size scaling in vertebrates. *BMC evolutionary biology*, 14, 178. <https://doi.org/10.1186/s12862-014-0178-z>.

83. Jäkel S., Dimou L. (2017). Glial Cells and Their Function in the Adult Brain: A Journey through the History of Their Ablation. *Front. Cell. Neurosci.*, 13 February 2017 | <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00024>.
84. Kadas D., Klein A., Krick N., Worrell J. W., Ryglewski S., Duch, C. (2017). Dendritic and Axonal L-Type Calcium Channels Cooperate to Enhance Motoneuron Firing Output during *Drosophila* Larval Locomotion. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 37(45), 10971–10982. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1064-17.2017>.
85. Kandel E. R., Schwartz J.H., Jessell T.M. (2000). Principles of neural science. *New York*, McGraw-Hill, Health Professions Division.
86. Keifer J., Stein P.S. (1983). In vitro Motor Program for the Rostral Scratch Reflex Generated by the Turtle Spinal Cord. *Brain Res* 266: 148–151, 1983. doi:10.1016/0006-8993(83)91318-5.
87. Kernell D. (1965). The adaptation and the relation between discharge frequency and current strength of cat lumbosacral motoneurons stimulated by long-lasting injected currents. *Acta Physiologica Scandinavica* 65, 65-73.
88. Kėvelaitis E., Illert M., Hulthorn H., Miliuskas R. (2006). *Žmogaus fiziologija*. Kaunas: KMU leidykla. ISBN 978-9955-15-091-6.
89. Kiehn O. (1991). Plateau potentials and active integration in the “final common pathway” for motor behavior. *Trends Neurosci* 14:68–73. 10.1016/0166-2236(91)90023-N [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
90. Kiehn O., Kjaerulff O., Tresch M.C., Harris-Warrick R.M. (2000). Contributions of intrinsic motor neuron properties to the production of rhythmic motor output in the mammalian spinal cord. *Brain Res Bull* 53:649–659. 10.1016/S0361-9230(00)00398-1 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
91. Kiehn O., Kullander K. (2004). Central pattern generators deciphered by molecular genetics. *Neuron* 41:317–321. 10.1016/S0896-6273(04)00042-X [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
92. Krawitz S., Fedirchuk B., Dai Y., Jordan L.M., McCrea D.A. (2001). State-dependent hyperpolarization of voltage threshold enhances motoneurone excitability during fictive locomotion in the cat. *J Physiol.* 2001 Apr 1;532(Pt 1):271-81. doi: 10.1111/j.1469-7793.2001.0271g.x. PMID: 11283241; PMCID: PMC2278523.

93. Kress G. J., Mennerick S. (2009). Action potential initiation and propagation: upstream influences on neurotransmission. *Neuroscience*, 158(1), 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.03.021>.
94. Kuo J.J., Lee R.H., Johnson M.D., Heckman H.M., Heckman C. (2003). Active dendritic integration of inhibitory synaptic inputs in vivo. *J Neurophysiol.* 2003;90:3617–3624. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
95. Kverkova K., Marhounova L., Polonyiova A., Kocourek M., Zhang Y., Olkowicz S., Strakova B., Pavelkova Z., Vodicka R., Frynta D., Nemecek P. (2022). The evolution of brain neuron numbers in amniotes. *PNAS*, 119 (11) e2121624119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2121624119>.
96. Lee R.H., Heckman C.J. (1996). Influence of voltage-sensitive dendritic conductances on bistable firing and effective synaptic current in cat spinal motoneurons in vivo. *J Neurophysiol.* 1996;76:2107–2110. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
97. Lee R.H., Heckman C.J. (2000). Adjustable amplification of synaptic input in the dendrites of spinal motoneurons in vivo. *J Neurosci.* 2000;20:6734–6740. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
98. Lee R.H., Heckman C.J. (2001). Essential role of a fast persistent inward current in action potential initiation and control of rhythmic firing. *J Neurophysiol.* 2001;85:472–475. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
99. Lehmann-Horn F., Jurkat-Rott K. (2003). Nanotechnology for neuronal ion channels. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 2003;74:1466-1475.
100. Lennard P.R. (1985). Afferent perturbations during “monopodal” swimming movements in the turtle: phase-dependent cutaneous modulation and proprioceptive resetting of the locomotor rhythm. *J Neurosci* 5: 1434–1445, 1985. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
101. Lennard P.R., Stein P.S. (1977). Swimming movements elicited by electrical stimulation of turtle spinal cord. I. Low-spinal and intact preparations. *J Neurophysiol.* 1977 Jul;40(4):768-78. doi: 10.1152/jn.1977.40.4.768. PMID: 886370.
102. Li Y., Bennett D.J. (2003). Persistent sodium and calcium currents cause plateau potentials in motoneurons of chronic spinal rats. *J Neurophysiol.* 2003;90:857–869. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

103. Liu J., Tu H., Zhang D., Zheng H., Li Y.L. (2012). Voltage-gated sodium channel expression and action potential generation in differentiated NG108-15 cells. *BMC Neurosci* 13, 129 (2012). <https://doi.org/10.1186/1471-2202-13-129>
104. Lodish H., Berk A., Zipursky S.L., Matsudaira P., Baltimore D., and Darnell J. (2000). *Molecular Cell Biology, 4th edition*. New York: W.H. Freeman and Company. ISBN-10: 0-7167-3136-3.
105. LoRusso E., Hickman J. J., Guo X. (2019). Ion channel dysfunction and altered motoneuron excitability in ALS. *Neurological disorders & epilepsy journal*, 3(2), 124.
106. Lovinger D. M. (2008). Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol research & health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 31(3), 196–214.
107. Lutz P.L., Milton S.L. (2004). Negotiating brain anoxia survival in the turtle. *J Exp Biol*. 2004 Aug;207(Pt 18):3141-7. doi: 10.1242/jeb.01056. PMID: 15299035.
108. Lutz P.L., Nilsson G.E., Prentice H. (2003). *The Brain without Oxygen: Causes of Failure Molecular and Physiological Mechanisms for Survival. Third edition*. Dordrecht: Kluwers Press.
109. MacDonell C.W., Power K.E., Chopek J.W., Gardiner K.R., Gardiner P.F. (2015). Extensor motoneurone properties are altered immediately before and during fictive locomotion in the adult decerebrate rat. *J Physiol*. 2015 May 15;593(10):2327-42. doi: 10.1113/JP270239. Epub 2015 Apr 17. PMID: 25809835; PMCID: PMC4457195.
110. Mackenna B.R., Callander R. (1990). *Illustrated Physiology (Sixth edition). Chapter 3 – Cell Membrane Functions*. Churchill Livingstone, 1990, Pages 59-70, ISBN: 978-0-443-05779-3. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-47946-7>.
111. Mayerl C.J., Pruett J.E., Summerlin M.N., Rivera A.R.V., Blob R.W. (2017). Hindlimb muscle function in turtles: is novel skeletal design correlated with novel muscle function? *J Exp Biol* 220: 2554–2562, 2017. doi:10.1242/jeb.157792. [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Google Scholar\]](#).
112. Marder E., Bucher D., Schulz D.J., Taylor A.L. (2005). Invertebrate central pattern generation moves along. *Curr Biol* 15:R685–R699. 10.1016/j.cub.2005.08.022 [\[PubMed\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Google Scholar\]](#).
113. McDonagh J.C., Gorman R.B., Gilliam E.E., Hornby T.G., Reinking R.M., Stuart D.G. (1999). Electrophysiological and morphological properties of neurons in

- the ventral horn of the turtle spinal cord. *J Physiol Paris*. 1999 Jan-Apr;93(1-2):3-16. doi: 10.1016/s0928-4257(99)80131-4. PMID: 10084704.
114. Melby E.C., Altman N.H., (1974). *CRC Handbook of Laboratory Animal Science*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
 115. Miller M.S., Palme B.M., Toth M.J., Warshaw D.M. (2013). *Kelley's Textbook of Rheumatology (Ninth Edition). Chapter 5 – Muscle: Anatomy, Physiology, and Biochemistry*. W.B. Saunders, 2013, Pages 67-78, ISBN 9781437717389, <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1738-9.00005-0>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781437717389000050>).
 116. Mink J.W., Blumenschine R.J., Adams D.B. (1981). Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis. *Am J Physiol*. 1981;241:R203–R212. [PubMed] [Google Scholar].
 117. Moini J., Piran P. (2020). *Functional and Clinical Neuroanatomy. Chapter 1 – Histophysiology*. Academic Press, 2020, Pages 1-49. ISBN: 978-0-12-817424-1. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-01786-7>.
 118. Mortin L.I., Keifer J., Stein P.S. (1985). Three forms of the scratch reflex in the spinal turtle: movement analyses. *J Neurophysiol*. 1985 Jun;53(6):1501-16. doi: 10.1152/jn.1985.53.6.1501. PMID: 4009230.
 119. Musarò A. (2013). Understanding ALS: new therapeutic approaches. *The FEBS Journal*, 2013. 280(17): p. 4315–4322. [PubMed] [Google Scholar].
 120. Naumann R.K., Ondracek J.M., Ondracek S., Shein-Idelson M., Tosches M.A., Yamawaki T.M., Laurent G. (2015). The Reptilian Brain. *Curr Biol*, 2015. 25(8): R317-R321. Doi: 10.1016/j.cub.2015.02.049.
 121. Nesterova A.P., Klimov E.A., Zharkova M., Sozin S., Sobolev V., Ivanikova N.V., Shkrob M., Yuryev A. (2019). Disease Pathways. An Atlas of Human Disease Signaling Pathways. Elsevier, 2019. ISBN: 978-0-12-817086-1. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-00586-1>.
 122. Nieuwenhuys R., Donkelaar H.J.T, Nicholson C. (1998). The central nervous system of vertebrates. Berlin ; New York, Springer.
 123. Nissen U.V., Moldovan M., Hounsgaard J., Glover J.C. (2008). Organization of projection-specific interneurons in the spinal cord of the red-eared turtle. *Brain Behav Evol* 72: 179–191, 2008. doi:10.1159/000157355. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].

124. Patton K.T., Thibodeau G.A., (2015). *Structure & Function of the Body, (Fifteenth edition)*. Elsevier Inc., St. Louis, MO (2015).
125. Perrier J. F., Alaburda A., Hounsgaard J. (2002). Spinal plasticity mediated by postsynaptic L-type Ca²⁺ channels. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 40(1-3): 223-229.
126. Perrier J.F., Mejia-Gervacio S, Hounsgaard J. (2000). Facilitation of plateau potentials in turtle motoneurons by a pathway dependent on calcium and calmodulin. *J Physiol.* 2000;528(Pt 1):107–113. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
127. Petersen P.C., Berg R.W. Lognormal firing rate distribution reveals prominent fluctuation-driven regime in spinal motor networks. *Elife.* 2016;5:e18805. Published 2016 Oct 26. doi:10.7554/eLife.18805
128. Piccolino, M. (1998). Animal electricity and the birth of electrophysiology: the legacy of Luigi Galvani. *Brain Res. Bull.* 46, 381–407. doi: 10.1016/s0361-9230(98)00026-4.
129. Piwkowska Z., Pospischil M., Brette R., Sliwa J., Rudolph-Lilith M., *et al.* (2008). Characterizing synaptic conductance fluctuations in cortical neurons and their influence on spike generation. *J Neurosci Methods.* 2008;169:302–322. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
130. Platkiewicz J., Brette R. (2010). A Threshold Equation for Action Potential Initiation. *PLoS Comput Biol* 6(7): e1000850. Doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.
131. Pollard T.D., Earnshaw W.C., Lippincott-Schwartz J., Johnson G., (2017). *Cell Biology, 3rd Edition*. Elsevier Inc. ISBN 978-0-323-34126-4.
132. Power K.E., McCrea D.A., Fedirchuk B. (2010). Intraspinally mediated state-dependent enhancement of motoneurone excitability during fictive scratch in the adult decerebrate cat. *J Physiol* 588, 2839–2857. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
133. Powers R.K., Sawczuk A., Musick J.R., Sejnowski T.J. (1999). Multiple mechanisms of spike-frequency adaptation in motoneurons. *J Physiol Paris* 93, 101-114.
134. Prescott S.A., Ratté S., De Koninck Y., Sejnowski T.J. (2006). Nonlinear Interaction Between Shunting and Adaptation Controls a Switch Between Integration and Coincidence Detection in Pyramidal Neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 26, 9084–9097. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1388-06.2006>.

135. Purves D., Augustine G.J., Fitzpatrick D., Katz L.C., LaMantia A.S., McNamara J.O., and Williams S.M. Sunderland (MA): Sinauer Associates (2001). *Neuroscience*, 2nd edition. ISBN-10: 0-87893-742-0.
136. Rivera G., Rivera A.R., Dougherty E.E., Blob R.W. (2006). Aquatic turning performance of painted turtles (*Chrysemys picta*) and functional consequences of a rigid body design. *J Exp Biol* 209: 4203–4213, 2006. doi:10.1242/jeb.02488. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
137. Rivera-Arconada I., Lopez-Garcia J.A. (2005). Effects of M-current modulators on the excitability of immature rat spinal sensory and motor neurones. *Eur J Neurosci*. 2005 Dec;22(12):3091-8. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04507.x. PMID: 16367775.
138. Robertson G.A., Mortin L.I., Keifer J., Stein P.S. (1985). Three forms of the scratch reflex in the spinal turtle: central generation of motor patterns. *J Neurophysiol*. 1985 Jun;53(6):1517-34. doi: 10.1152/jn.1985.53.6.1517. PMID: 4009231.
139. Robertson G.A., Stein P.S. (1988). Synaptic control of hindlimb motoneurons during three forms of the fictive scratch reflex in the turtle. *J Physiol* 404, 101-128.
140. Roca-Lapirot O., Radwani H., Aby F., Nagy F., Landry M., Fossat P. (2018). Calcium signalling through L-type calcium channels: role in pathophysiology of spinal nociceptive transmission. *British journal of pharmacology*, 175(12), 2362–2374. <https://doi.org/10.1111/bph.13747>.
141. Ruderman D.L., Bialek W. (1994). Statistics of natural images: Scaling in the woods. *Phys Rev Lett*. 1994;73:814–817. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
142. Ruigrok T.J., Crowe A. (1984). The organization of motoneurons in the turtle lumbar spinal cord. *J Comp Neurol*. 1984 Sep 1;228(1):24-37. doi: 10.1002/cne.902280105. PMID: 6207212.
143. Russo R., Hounsgaard J. (1994). Short-term plasticity in turtle dorsal horn neurons mediated by L-type Ca²⁺ channels. *Neuroscience*. 1994;61:191–197. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
144. Saltiel P., Tresch M.C., Bizzi E. (1998). Spinal cord modular organization and rhythm generation: an NMDA iontophoretic study in the frog. *J Neurophysiol* 80: 2323–2339, 1998 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
145. Saltiel P., Wyler-Duda K., d'Avella A., Tresch M.C., Bizzi E. (2001). Muscle synergies encoded within the spinal cord: evidence from focal intraspinal NMDA

- iontophoresis in the frog. *J Neurophysiol* 85: 605–619, 2001 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
146. Sathyajith D., Pharm M. (2020). What are Glial Cells? *News Medical Life Sciences*. <https://www.news-medical.net/life-sciences/What-are-Glial-Cells.aspx>.
147. Schwindt P.C., Crill W.E. (1977). A persistent negative resistance in cat lumbar motoneurons. *Brain Res.* 1977;120:173–178. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
148. Schwindt P.C., Crill W.E. (1980). Role of a persistent inward current in motoneuron bursting during spinal seizures. *J Neurophysiol.* 1980;43:1296–1318. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
149. Schwindt P.C., Crill W.E. (1982). Factors influencing motoneuron rhythmic firing: results from a voltage-clamp study. *J Neurophysiol* 48, 875–890.
150. Sengupta B., Stemmler M., Laughlin S.B., Niven J.E. (2010). Action Potential Energy Efficiency Varies Among Neuron Types in Vertebrates and Invertebrates. *PLoS Comput Biol* 6(7): e1000840. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000840>.
151. Sharpee T. O. (2014). Toward functional classification of neuronal types. *Neuron*, 83(6), 1329–1334. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.040>.
152. Sherrington C. S. (1906). Observations on the scratch-reflex in the spinal dog. *J Physiol* 34(1-2): 1-50.
153. Shi Z. (2021). *Intelligence Science. Leading the Age of Intelligence. Chapter 2 – Foundation of Neurophysiology*. Elsevier, Pages 33-87, 2021. ISBN: 978-0-323-85380-4. <https://doi.org/10.1016/C2020-0-02066-9>.
154. Sidiropoulou K., Pissadaki E. K., Poirazi P. (2006). Inside the brain of a neuron. *EMBO reports*, 7(9), 886–892. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400789>.
155. Simon M., Perrier J.F., Hounsgaard J. (2003). Subcellular distribution of L-type Ca²⁺ channels responsible for plateau potentials in motoneurons from the lumbar spinal cord of the turtle. *Eur J Neurosci.* 2003 Jul;18(2):258-66. doi: 10.1046/j.1460-9568.2003.02783.x. PMID: 12887407.
156. Simoncelli E.P., Olshausen B.A. (2001). Natural image statistics and neural representation. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:1193–1216. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
157. Sobotzik J.M., et al. (2009). AnkyrinG is required to maintain axo-dendritic polarity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:17564–9. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
158. Sofroniew M.V., Vinters H.V. (2010). Astrocytes: biology and pathology. *Acta neuropathologica*, 119(1), 7–35. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0619-8>.

159. Stein P.S. (1978). Swimming movements elicited by electrical stimulation of the turtle spinal cord: the high spinal preparation. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 124: 203–210, 1978. doi:10.1007/BF00657052. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
160. Stein P. S. G. (1997). Neurons, networks, and motor behavior. *Cambridge, Mass., MIT Press*.
161. Stein P.S. (2005). Neuronal control of turtle hindlimb motor rhythms. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*. 2005 Mar;191(3):213-29. doi: 10.1007/s00359-004-0568-6. Epub 2004 Sep 25. PMID: 15452660.
162. Stein P.S.G. (2018). Central pattern generators in the turtle spinal cord: selection among the forms of motor behaviors. *J Neurophysiol*. 2018 Feb 1;119(2):422-440. doi: 10.1152/jn.00602.2017. Epub 2017 Oct 25. PMID: 29070633; PMCID: PMC5867383.
163. Stein P.S., Victor J.C., Field E.C., Currie S.N. (1995). Bilateral control of hindlimb scratching in the spinal turtle: contralateral circuitry contributes to the normal ipsilateral motor pattern of fictive rostral scratching. *J Neurosci* 15: 4343–4355, 1995 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
164. Stifani N. (2014). Motor neurons and the generation of spinal motor neuron diversity. *Frontiers in cellular neuroscience*, 8, 293. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00293>.
165. Squire L.R., Berg D., Bloom F.E., du Lac S., Ghosh A., Spitzer N.C. (2014). *Fundamental Neuroscience*, 4th edition. Academic Press, 2014. ISBN: 978-0-12-385870-2.
166. Šatinskas R. (2007). *Bioelektriniai reiškiniai. Mokomoji knyga*. Vilnius: Vilniaus universiteto leidykla. ISBN 978-9955-33-256-1.
167. Ting L.H., Macpherson J.M. (2005). A limited set of muscle synergies for force control during a postural task. *J Neurophysiol* 93: 609–613, 2005 [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
168. Todorov E. (2004). Optimality principles in sensorimotor control. *Nat Neurosci*. 2004;7:907–915. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].
169. Tran L.T., Gentil B.J., Sullivan K.E., Durham H.D. (2014). The voltage-gated calcium channel blocker lomerizine is neuroprotective in motor neurons expressing mutant SOD1, but not TDP-43. *Journal of Neurochemistry*, 2014. 130(3): p. 455–466. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

170. Tresch M.C., Saltiel P., Bizzi E. (1999). The construction of movement by the spinal cord. *Nat Neurosci* 2: 162–167, 1999 [PubMed] [Google Scholar].
171. Vega J. A., Cobo J. (2021). Structural and Biological Basis for Proprioception. In J. A. Vega, & J. Cobo (Eds.), Proprioception. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96787>.
172. Walker W.F. (1973). The locomotor apparatus of testudines. In: *Biology of the Reptilia*, edited by Gans C and Parsons TS. New York: Academic, 1973, vol. 4, p. 1–100. [Google Scholar].
173. Watson C., Paxinos G., Kayalioglu G. (2008). *The Spinal Cord. A Christopher and Dana Reeve Foundation Text and Atlas. Chapter 7 – Localization of Motoneurons in the Spinal Cord*. Academic Press, 2008. ISBN: 978-0-12-374247-6. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-01677-8>.
174. Welch D.B., Currie S.N. (2014). Sensory-evoked turning locomotion in red-eared turtles: kinematic analysis and electromyography. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 200: 641–656, 2014. doi:10.1007/s00359-014-0908-0. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
175. Wilent W.B., Contreras D. (2005). Stimulus-dependent changes in spike threshold enhance feature selectivity in rat barrel cortex neurons. *J Neurosci*. 2005;25:2983–2991. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].
- Wyneken J., Godfrey M.H., Bels V. (editors). (2008). *Biology of Turtles*. Boca Raton, FL: CRC, 2008. [Google Scholar].

Magistro baigiamieji darbai:

1. Žibas M. (2017). *Na⁺ koncentracijos pokyčių nemielinizuotose nervinėse skaidulose teorinis modeliavimas*. Magistro baigiamasis darbas. Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Kaunas, Lietuva.

Daktaro disertacijos:

1. Buišas R. (2012). *Nugaros smegenų motoneuronų perdavimo funkcija ir jos modifikavimas*. Daktaro disertacija. Vilniaus Universitetas. Vilnius, Lietuva.

2. Guzulaitis R. (2013). *Nugaros smegenų neuronų tinklo veikimo principai: somatosensorinės informacijos integracija ir aktyvumo išplitimas*. Daktaro disertacija. Vilniaus Universitetas. Vilnius, Lietuva.

Elektroniniai šaltiniai:

1. https://faculty.mtsac.edu/mpresch/35_lecture_files_unit_4/16%20Anat%2035%20Neural%20Tissue%20S17.pdf
2. <https://bioluliaes.wordpress.com/3-eso/3-coordination-function/3-1-coordination-function-i-the-nervous-system/3-1-2-neuroglia-the-nerve-impulse/>
3. <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/glia-cells/>
4. <https://anatomytool.org/content/cenveo-drawing-efferent-neurons-afferent-neurons-and-interneurons-english-labels>
5. https://faculty.mtsac.edu/mpresch/35_lecture_files_unit_4/16%20Anat%2035%20Neural%20Tissue%20S17.pdf
6. <https://br.depositphotos.com/stock-photos/sinapse.html>
7. https://wp.kntu.ac.ir/delrobaei/files/NeuromuscularSystems/Tutorials2018/KNTU_NeuroMuscularSys_2018_MuscleSpindle_SYari.pdf
8. <https://teachmephysiology.com/nervous-system/synapses/action-potential/>
9. <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/resting-membrane-potential/>
10. <https://neuraldump.net/2016/03/introduction-to-neural-networks/>
11. <https://natureofcode.com/book/chapter-10-neural-networks/>

PADĖKA

Pirmiausia, noriu nuoširdžiai padėkoti savo moksliniam darbo vadovui dr.prof. Aidui Alaburdai už visokeriopą ir nuolatinę pagalbą, pastabas, naudingas diskusijas, palaikymą rašant baigiamąjį magistro darbą ir visą studijų laikotarpį. Taip pat už rūpestį ir bendradarbiavimą ne darbo metu bei įdomias studijas.

Taip pat noriu padėkoti Vilniaus universitetui, visai jo bendruomenei, GMC neurobiologijos ir biofizikos katedrai už suteiktą galimybę išvysti vidinę mokslinio pasaulio dalį, atlikti darbus, įgyti naujų, naudingų žinių.

Galiausiai, reiškiu padėką ir savo šeimai, draugams už supratingumą, kurie visą šį laiką mane besąlygiškai palaikė.