

Gušteri kao modelni organizmi u neuroznanosti i neuroetologiji

Andrić, Josipa

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:354928>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-06**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Josipa Andrić

**Gušteri kao modelni organizmi u
neuroznanosti i neuroetologiji**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Josipa Andrić

**Lizards as model organisms in neuroscience
and neuroethology**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Preddiplomski sveučilišni studij Biologija na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom doc. dr. sc. Sofie Ane Blažević.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Gušteri kao modelni organizmi u neuroznanosti i neuroetologiji

Josipa Andrić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Fokus neuroznanosti je proučavanje živčanog sustava na različitim razinama, od gena do proteina, stanica, sinapsi te obrazaca ponašanja. S druge strane, glavni fokus neuroetologije je proučavanje neuronskih mehanizama koji uvjetuju ponašanje životinja. Pristranosti pri odabiru vrsta, spolova i eksperimentalnih uvjeta otežavaju napredak u neuroznanstvenim istraživanjima. Većina istraživanja je rađena na glodavcima te uključuje samo jedinke muškog spola ili ne promatra spol kao eksperimentalnu varijablu koja ima utjecaj na rezultate. Preferiranje visoko kontroliranih laboratorijskih uvjeta, u kojima su životinje u ograničenom fizičkom kontaktu, onemogućuje bilježenje složenog socijalnog ponašanja. Problem su i razlike laboratorijskih i terenskih eksperimenata koje se mogu ukloniti izvođenjem eksperimenata u poluprirodnim uvjetima. Gušteri su važni modelni organizmi u neuroznanstvenim i neuroetološkim istraživanjima, posebice kod proučavanja središnjih generatora uzoraka te antipredatorskog i anksioznog ponašanja. Središnji generatori uzoraka su neuronski krugovi odgovorni za provedbu i kontrolu ritmičkih pokreta u odsutnosti vanjskih podražaja. Njihova uloga u oporavku ozljeda leđne moždine na modelu gušterica predmet je mnogih istraživanja.

Ključne riječi: pristranost u istraživanju, antipredatorsko ponašanje, središnji generatori uzoraka

(22 stranice, 12 slika, 28 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Mentor: doc. dr. sc. Sofia Ana Blažević

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Lizards as model organisms in neuroscience and neuroethology

Josipa Andrić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

The focus of neuroscience is the study of the nervous systems at various levels, from genes to proteins, cells, synapses and behavioral patterns. Neuroethology is, on the other hand, focused on the neural mechanisms that determine animal behavior. Species, sex and environmental biases make progress in neuroscientific research difficult. Most studies are done on rodents and involve only male subjects or don't consider sex as an experimental variable that has an impact on research data. Bias towards highly controlled laboratory conditions, in which animals are in limited physical contact, makes it impossible to examine complex social behaviors. Differences between laboratory and field experiments are also a problem that can be solved by conducting experiments in semi-natural conditions. Lizards are important model organisms in neuroscientific and neuroethological research, especially for studying central pattern generators, antipredatory and anxious behavior. Central pattern generators are neural circuits responsible for the implementation and control of rhythmic movements in the absence of sensory inputs. Their role in the recovery of spinal cord injuries on a lizard model is the subject of many studies.

Keywords: bias in research, antipredatory behavior, central pattern generators
(22 pages, 12 figures, 28 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Asst. Prof. Sofija Ana Blažević, Ph.D

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Pristranosti u neuroznanstvenim i neuroetološkim istraživanjima.....	2
2.1. Pristranost pri odabiru vrsta	2
2.2. Pristranost pri odabiru spolova.....	5
2.3. Pristranost pri odabiru eksperimentalnih uvjeta.....	7
2.3.1. Razlike laboratorijskih i terenskih eksperimenata.....	8
3. Gušteri kao modelni organizmi.....	11
3.1. Važnost za neuroznanstvena istraživanja.....	11
3.2. Antipredatorsko ponašanje guštera	12
3.3. Gušteri kao model u istraživanju središnjih generatora uzoraka	13
3.3.1. Definicija CPG-a	13
3.3.2. Istraživanja CPG-a na gušterima.....	15
3.3.3. Uloga CPG-a u oporavku ozljeda leđne moždine	17
4. Zaključak.....	19
5. Literatura	20

1. Uvod

Od 1900. godine neuroznanost se smatra jednom od najzahtjevnijih i najambicioznijih disciplina moderne znanosti. Dosadašnja postignuća pronalaze temelje u eksperimentima provedenim na širokom rasponu životinjskih vrsta, uključujući prakliještare, rakove, insekte, mekušce, paklare, žabe, kornjače, sove, zečeve, mačke, šišmiše i primate (Laurent 2020). Zadaća neuroznanstvenika je proučavanje živčanog sustava na različitim razinama, od gena do proteina, stanica, sinapsi te obrazaca ponašanja, pomoću tehnika različitih znanstvenih disciplina (Carlson 2012). Kao relativno novo područje znanosti, uz istraživanje funkcija i poremećaja živčanog sustava, neuroznanost danas pokriva višestruka područja poput novih tehnologija te primjena u obrazovanju, umjetnoj inteligenciji i pravu (BNA 2023).

Etologija, područje znanosti zaduženo za proučavanje ponašanja životinja, osnovana je sredinom 20. stoljeća zahvaljujući Nikolaasu Tinbergenu, Konradu Lorentzu i Karlu Von-Frischu. U početku je podrazumijevala promatranje i opisivanje ponašanja životinja u njihovom prirodnom okruženju. Prijelaz iz etologije u bihevioralnu neurobiologiju i neuroetologiju dogodio se zahvaljujući odvijanju triju središnjih procesa. Prvi je bio domestikacija i srođivanje (engl. *inbreeding*) modelnih organizama, prvenstveno laboratorijskih miševa. Drugi obuhvaća pojednostavljivanje eksperimentalnih uvjeta, prateći prijelaz iz terenskih u laboratorijska istraživanja, dok je treći proces bio izvođenje istraživanja na samo jednom spolu, najčešće na mužjacima sisavaca zbog nedostatka ovarijskog ciklusa. (Zilkha i sur. 2016). Glavni predmet proučavanja u neuroetologiji su neuronski mehanizmi koji određuju ponašanje i reakciju životinja, bio to spontani pokret ili odgovor na osjetilni podražaj. Ritmički pokreti, poput hodanja, letenja i plivanja, najčešće su proučavani u neuroetologiji, dijelom zato što se takvi pokreti mogu lako potaknuti, opisati i izmjeriti. Njihovo proučavanje dovelo je do formiranja koncepta središnjih generatora uzoraka (engl. *central pattern generators*, CPGs), koji su dobro proučeni kod mnogih životinjskih vrsta. Kontrola kretanja putem povratnih osjetilnih informacija te obrada signala također su važni predmeti istraživanja u neuroetologiji (Konishi 2010).

Primarni cilj ovoga rada je komentirati način na koji mali broj proučavanih vrsta i spolna pristranost, kao i razlike između terenskih i laboratorijskih eksperimenata, utječu na rezultate istraživanja te naglasiti važnost i ulogu guštera kao modelnih organizama u neuroznanosti i neuroetologiji.

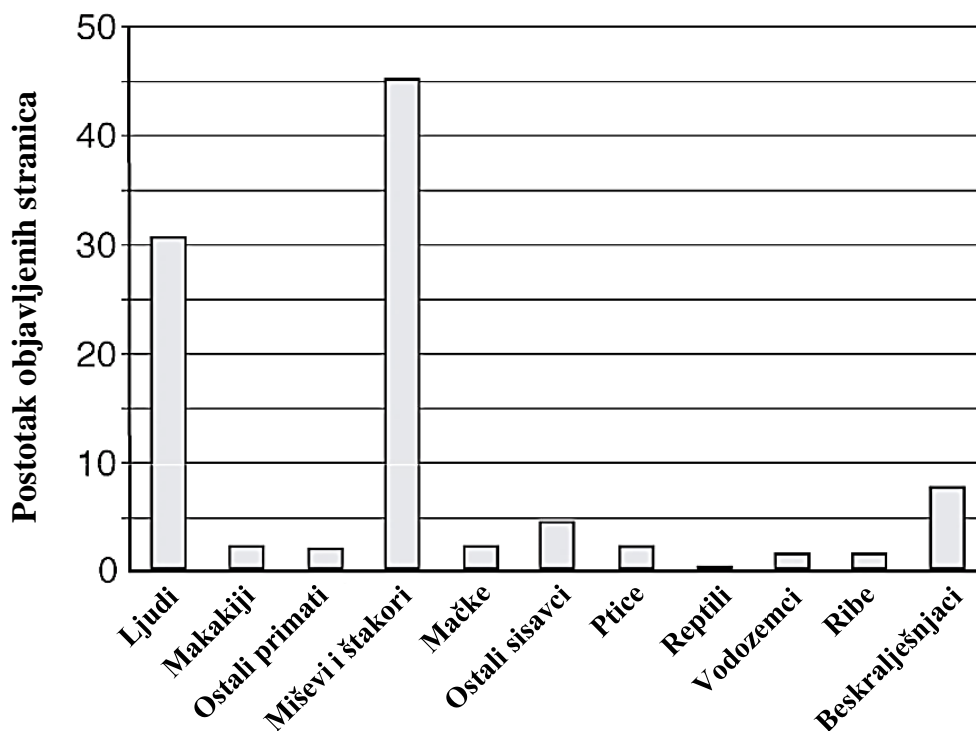
2. Pristranosti u neuroznanstvenim i neuroetološkim istraživanjima

Promjene pri prijelazu klasične etologije u bihevioralnu neurobiologiju i neuroetologiju (domestikacija organizama, uspostavljanje eksperimentalnih uvjeta i istraživanja na samo jednom spolu) pridonijele su formiranju genetičke uniformnosti, koja je zajedno sa standardizacijom eksperimentalnih uvjeta omogućila reproducibilnost eksperimenata i dovela do iznimnih otkrića koja su unaprijedila područje bihevioralne neurobiologije. Međutim, u isto je vrijeme došlo do gubitka genetičke raznolikosti koja je prisutna u prirodnim populacijama, reducirajući kompleksnost i raznolikost ponašanja inače uočenih kod životinja u divljini. Zbog toga se javlja problem translacije zaključaka eksperimenata s laboratorijskih miševa na ljude, posebice kod proučavanja socijalizacije i reproduktivnog ponašanja (Zilkha i sur. 2016).

2.1. Pristranost pri odabiru vrsta

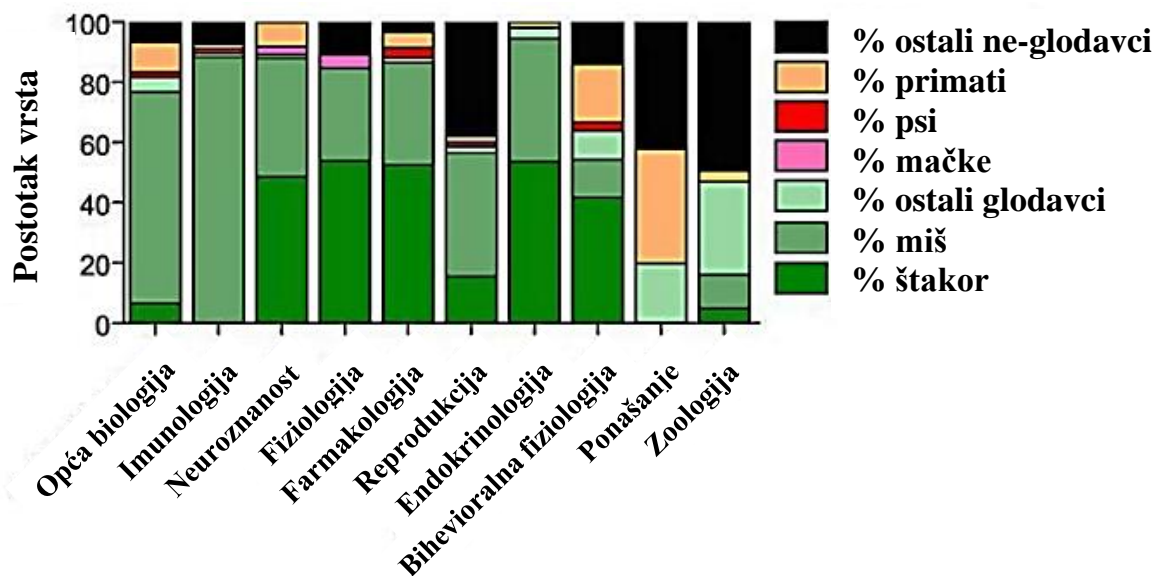
Rana etološka istraživanja uključivala su veliki broj životinjskih svojti, od insekata do gmazova i ptica. No, zbog lakog održavanja, visoke reproduktivne stope i kratkog životnog ciklusa, laboratorijski miševi postali su najkorišteniji modelni organizmi u istraživanjima. Domestikacija i selektivan uzgoj dali su prednost sojevima s većim reproduktivnim uspjehom, smanjenom agresivnošću i onima podobnijima za rukovanje. Kao posljedica umjetne selekcije, mnoga su ponašanja, kao što su bijeg uslijed opasnosti i intraspecijska agresivnost, reducirana i/ili izgubljena, dok su druga, poput tendencije k stvaranju velikog broja potomaka i ranoj spolnoj zrelosti, postala česta iako se ne pojavljuju u divljini (Zilkha i sur. 2016).

Analiza iz 2008. godine pokazala je da se u 75 % neuroznanstvenih istraživanja koriste uzorci mozгова miševa, štakora i ljudi, odnosno svega 0.0001 % svih živčanih sustava na zemlji (Slika 1). Za usporedbu, gmazovi, u koje svrstavamo guštere, koristili su se u svega 0.3 % istraživanja (Manger i sur. 2008).



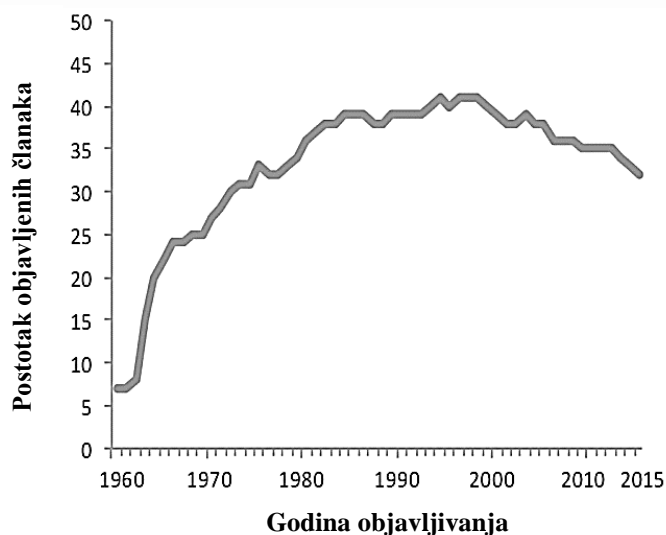
Slika 1. Postotak objavljenih stranica u časopisima posvećenih svakoj od filogenetskih skupina za razdoblje od 2000. do 2004. godine. Vidljiva je dominacija štakora i miševa kao modelnih organizama u istraživanjima. Modificirano prema Manger i sur. 2008.

U 2009. godini u više od 85 % članaka iz područja neuroznanosti, farmakologije, imunologije i fiziologije navedeno je korištenje glodavaca, a u 94 % članaka iz područja endokrinologije opisano je korištenje štakora i miševa u eksperimentima (Slika 2). Puno veća raznolikost vrsta ipak je uočena u području zoologije, ponašanja i reprodukcije (Beery i Zucker 2011).



Slika 2. Postotci korištenih vrsta u 2009. godini na temelju analize članaka iz deset područja znanosti. Šest znanstvenih područja (opća biologija, imunologija, neuroznanost, fiziologija, farmakologija i endokrinologija) je u 80 ili više posto istraživanja koristilo glodavce kao modelne organizme. Modificirano prema Beery i Zucker 2011.

Recentnije analize pokazuju da ipak dolazi do smanjenja zastupljenosti glodavaca u neuroznanstvenim istraživanjima (Slika 3). Oslanjanje na samo jednu skupinu životinja moglo bi dovesti do ograničenja u neuroznanstvenim istraživanjima, a time i u razumijevanju strukture i funkcije mozga, posebice važnog u shvaćanju evolucije ljudskog mozga (Keifer i Summers 2016).

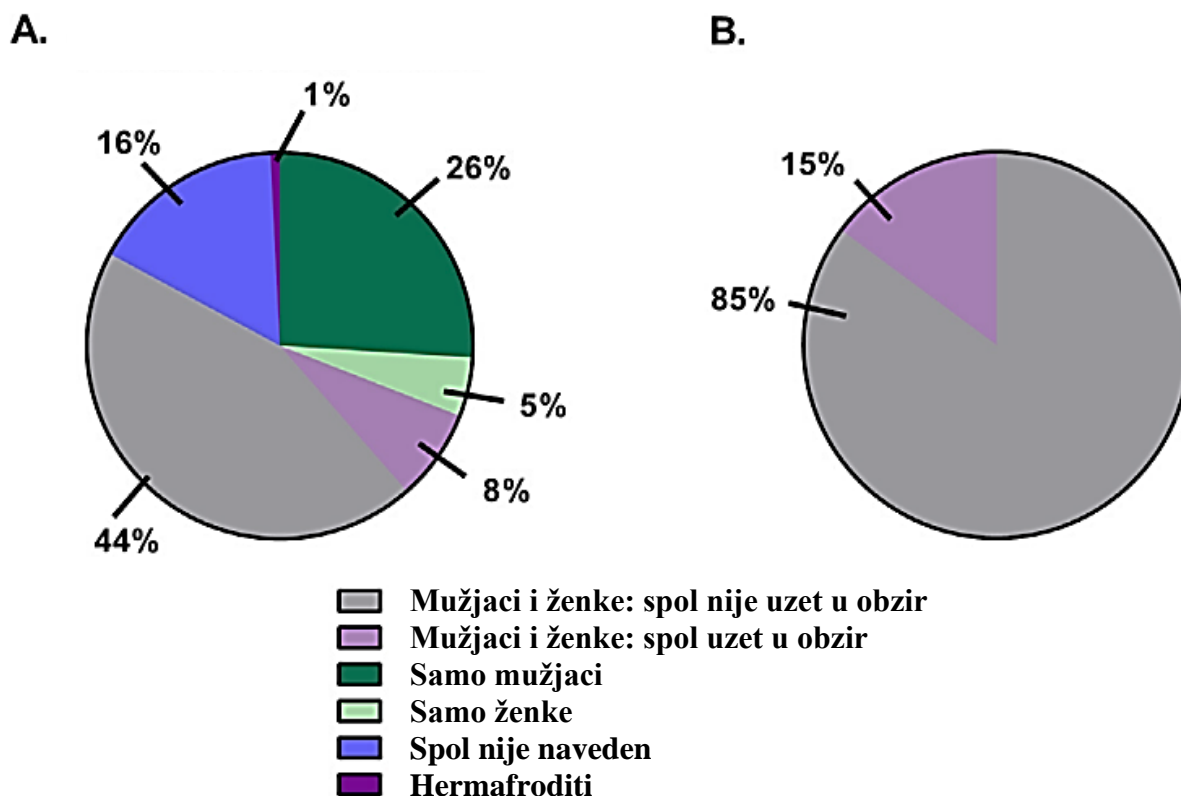


Slika 3. Pregled postotaka neuroznanstvenih članaka koji govore o upotrebi glodavaca u svrhe istraživanja. Desetljećima se oko 35 – 40 % svih neuroznanstvenih istraživanja oslanjalo na glodavce. Vidljivo je kako se postotak smanjio u posljednja dva desetljeća. Modificirano prema Keifer i Summers 2016.

2.2. Pristranost pri odabiru spolova

Već dugi niz godina u neuroznanstvenim istraživanjima postoji spolna pristranost zbog koje se većina istraživanja provode samo na jedinkama muškog spola. Ova pristranost temelji se na pretpostavci da bi se isti rezultati dobili korištenjem ženskih jedinki te da fluktuirajuće razine hormona kod ženki otežavaju interpretaciju rezultata istraživanja (Anello i sur. 2023). Nove analize ipak ukazuju na to da promjene u razinama hormona postoje i kod muških jedinki (Zilkha i sur. 2016). S druge strane, istraživanja usmjerena prema liječenju bolesti koje se u većem postotku javljaju kod žena, poput multiple skleroze i osteoporoze, vrlo rijetko koriste jedinke muškog spola kod testiranja, zbog čega lijekovi koji su učinkoviti kod žena nemaju isto djelovanje i/ili su manje učinkoviti kod muškaraca (Plevkova i sur. 2020).

Analizom članaka iz 2017. godine utvrđeno je da najveći postotak neuroznanstvenih članaka (44 %) čine oni u kojima su uključena oba spola, no u kojima spol nije promatran kao eksperimentalna varijabla koja ima utjecaj na rezultate istraživanja. Nakon njih slijede članci u kojima su istraživanja provedena samo na jedinkama muškog spola (26 %), potom oni kod kojih spol nije naveden (16 %), oni u kojima su korištena oba spola pri čemu je spol smatran eksperimentalnom varijablom (5 %), a istraživanja koja su provedena samo na jedinkama ženskog spola (5 %) i na hermafroditima (1 %) činila su najmanji postotak članaka (Slika 4, A). Ovi postoci ukazuju na to da istraživanja na oba spola čine većinu neuroznanstvene literature. Međutim, spol je u relativno malom broju članaka promatran kao eksperimentalna varijabla, što dolazi do izražaja ukoliko se analiziraju isključivo oni članci u kojima su navedena oba spola, gdje je u samo 15 % članaka spol naveden kao jedna od eksperimentalnih varijabli (Slika 4, B). Svi ti podaci upućuju na to da je pristranost pri odabiru spolova i dalje prisutna u neuroznanstvenim istraživanjima (Mamlouk i sur. 2020).



Slika 4. Distribucija spolne pristranosti u neuroznanstvenim člancima objavljenim u 2017. godini. A) Najveći postotak činila su istraživanja u kojima su uključene muške i ženske jedinke, no u njima spol nije promatran kao eksperimentalna varijabla. Članci u kojima su sudjelovali samo mužjaci činila su drugi, a oni u kojima spol nije naveden treći najveći udio skupa podataka; B) većina članaka u kojima su bila uključena oba spola nije izvijestila promatranje spola kao eksperimentalne varijable. Članci u kojima je spol bio eksperimentalna varijabla sadržavali su statističku usporedbu podataka dobivenih na mužjacima i ženkama. Modificirano prema Mamlouk i sur. 2020.

Postoji nekoliko razloga zbog kojih je važno usmjeriti pozornost na spolnu pristranost u neuroznanstvenim istraživanjima. Prvi razlog je reproducibilnost. Nedostatak podataka o tome koji je spol korišten prilikom istraživanja predstavlja prepreku prilikom ponavljanja eksperimenata i dobivanja istih rezultata. Drugi razlog je pružanje potpune slike biološke stvarnosti. Sve je više spoznaja o tome kako spol ima složen utjecaj na živčani sustav i da je taj utjecaj prisutan i izvan područja mozga koji regulira spolno-specifična ponašanja. S obzirom na već poznato i kontinuirano otkrivanje spolnih razlika živčanog sustava, potrebno je tretirati spol kao značajnu varijablu u istraživanjima živčanog sustava. Još jedan razlog je etika. Neuspjeh uključivanja većeg broja jedinki ženskog spola u istraživanja predstavlja veliki problem prilikom postavljanja dijagnoze i pronalaska djelotvornih lijekova čiji se učinci i nuspojave razlikuju ovisno o spolu (Mamlouk i sur. 2020). Istraživanja poremećaja iz spektra

autizma, kao i drugih neuropsihijatrijskih poremećaja kod kojih se simptomi u žena i muškaraca razlikuju, uglavnom uključuju samo jedinke muškog spola, što je dovelo do razvoja lijekova koji mogu uzrokovati ozbiljne nuspojave kod žena. Stoga je bitno uključiti oba spola kako bi se usporedbom dobivenih rezultata mogle uočiti razlike presudne za razumijevanje neurobiološke osnove ovih poremećaja (Zilkha i sur. 2016).

2.3. Pristranost pri odabiru eksperimentalnih uvjeta

Neuroznanstvenici su tijekom niza godina postavili mnoštvo eksperimentalnih paradigmi, od kojih se veći broj još i danas provodi u visoko kontroliranim laboratorijskim uvjetima. Također se u većini eksperimenata po testu koristi jedna do dvije životinje koje su u ograničenom fizičkom kontaktu, čak i kod istraživanja usmjerenih prema proučavanju socijalnog ponašanja koje se ispoljava u kontaktu dviju ili više životinja. Problem nastaje kod pokušaja generalizacije rezultata i zaključaka takvih istraživanja te njihovoj primjeni pri interpretiranju složenog socijalnog ponašanja unutar grupe (Zilkha i sur. 2016).

Rješenje za ovaj problem proizašao je iz korištenja poluprirodnih (engl. *semi-natural*) prostora u kojima se veći broj životinja, primjerice miševi (Slika 5), drži više dana, pri čemu međusobno stupaju u kontakte formirajući složene socijalne interakcije. Životinje su najčešće označene ušnim markicama ili bojom za krzno u svrhu lakšeg praćenja. Konačni cilj izvođenja istraživanja u takvim uvjetima je otkrivanje neuronskih i molekularnih osnova socijalnih ponašanja skupine životinja, kao što su komunikacija unutar grupe i kompeticija, koja se mogu proučavati samo unutar poluprirodnih prostora (Zilkha i sur. 2016).



Slika 5. Prikaz poluprirodnog prostora u kojem životinje, specifično miševi, mogu slobodno stupati u interakcije i služiti za proučavanje složenih socijalnih ponašanja prisutnih u divljini.
Preuzeto iz Kritzler i sur. 2006.

Važnost provođenja eksperimenata u poluprirodnim uvjetima može se najbolje vidjeti pri proučavanju prostorne percepcije i orijentacije kod guštera. Mnoga se istraživanja provode u malim nastambama pri strogo kontroliranim uvjetima, što ne odražava ekološke probleme s kojima se gušteri suočavaju u divljini (predatorstvo, kompeticija, nepovoljni uvjeti). Rezultati takvih istraživanja doveli su do široko rasprostranjenog zaključka da je kognicija gmazova manje sofisticirana od one kod drugih skupina kralježnjaka. No provođenjem istih eksperimenata u poluprirodnim uvjetima dokazano je da gušteri imaju visokorazvijenu prostornu percepciju i sposobnost učenja, koje su dodatno izražene prilikom podvrgavanja predatorskom pritisku (Noble i sur. 2012).

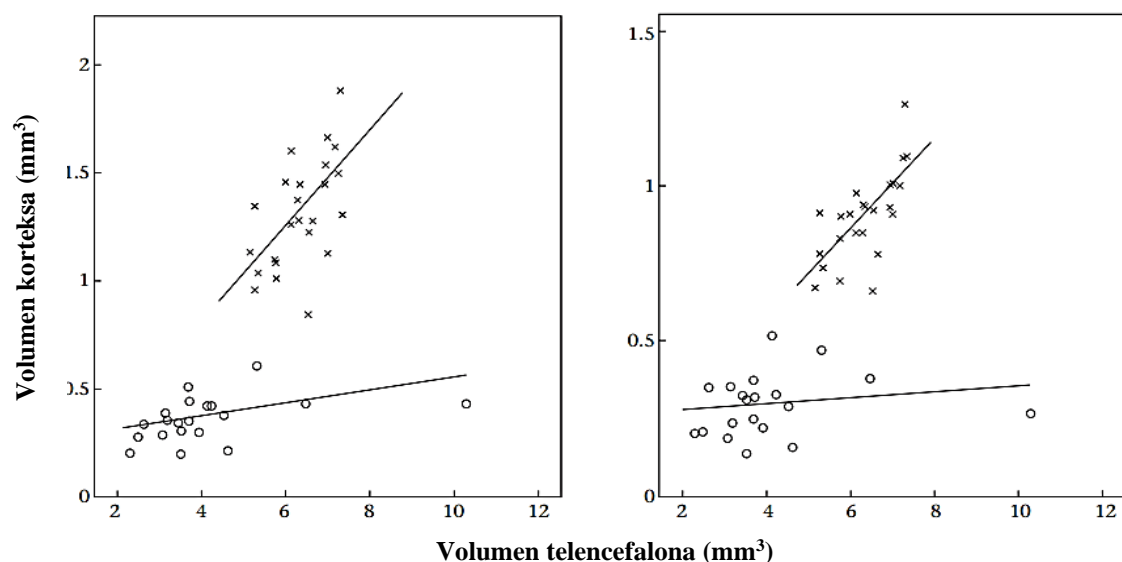
2.3.1. Razlike laboratorijskih i terenskih eksperimenata

Većina eksperimenata koji uključuju kralježnjake izvode se u laboratorijskom okruženju. Glavni razlog za to je jednostavna kontrola okolišnih varijabli (npr. temperature, vlage, interakcija), što olakšava interpretaciju dobivenih podataka. Ako isti eksperiment provedemo u staništu autohtonom za proučavanu vrstu, rezultati bi trebali biti isti kao oni

dobiveni u laboratoriju, no u mnogo slučajeva rezultati terenskih eksperimenata se u određenoj mjeri razlikuju od laboratorijskih.

Ponekad su razlike u podacima između laboratorijskih i terenskih eksperimenata ekstremne, dok su u drugim slučajevima suptilnije i lakše ih je predvidjeti i objasniti. Bez obzira na stupanj razlike, postavlja se pitanje o tome kako bismo trebali tumačiti laboratorijske podatke i do koje mjere bismo ih trebali generalizirati. Obrnuto je također točno: u terenskim istraživanjima mogli bismo propustiti važne faktore koji utječu na rezultate zbog velikog broja nekontroliranih čimbenika (Calisi i Bentley 2009).

Istraživanje na gušterima iz 2016. godine pokazalo je kako okruženje u kojem se životinja uzgaja i/ili drži može utjecati na morfologiju te funkciju mozga. U laboratoriju su izlegnuti i uzgajani teritorijalni i neteritorijalni mužjaci vrste *Uta stansburiana* Baird i Girard, 1852. Oba tipa mužjaka imala su jednak volumen korteksa, dio mozga guštera homologan hipokampusu i zadužen za orijentaciju u prostoru. No, u usporedbi s jedinkama ulovljenim u divljini, jedinke uzgojene u laboratoriju imale su značajno manji volumen korteksa (Slika 6). Rezultati upućuju kako manjak iskustva u pojednostavljenom okolišu, poput onoga u laboratoriju, značajno smanjuje veličinu korteksa ove vrste guštera. Laboratorijski uvjeti ograničavaju razvoj prostorne percepcije, inter- i intraspecijske interakcije te posljedično uzrokuju smanjenje kortikalne aktivnosti i njegova volumena (LaDage i sur. 2016).



Slika 6. Odnos između volumena korteksa i volumena telencefalona. Krugovi predstavljaju guštere uzgajane u laboratoriju, a iksevi guštere uhvaćene u divljini. Jedinke uzgojene u laboratoriju imale su značajno manji volumen korteksa od jedinki ulovljenih u divljini. Modificirano prema LaDage i sur. 2016.

Primjer kako laboratorijski uvjeti mogu utjecati na rezultate je i istraživanje u sklopu plana uvođenja guštera *Psammodromus algirus* Linnaeus, 1758 u njihovo prirodno stanište. Uvedeni gušteri, izlegnuti u laboratoriju, pokazivali su višu stopu aktivnosti i češće su migrirali unutar fragmentiranog staništa u usporedbi s autohtonim jedinkama iste vrste koje su se izlegle i razvijale unutar svog prirodnog staništa. Iako su stope preživljavanja i rasta bile slične za obje skupine, juvenilne jedinke uvedenih guštera bile su oko 25 % veće od autohtonih, zbog ranog izlijeganja i boljih uvjeta tijekom razvoja u laboratoriju (Santos i sur. 2009).

3. Gušteri kao modelni organizmi

Gmazovi, kojima pripadaju gušteri, su kao modelni organizmi važni upravo zbog svojeg filogenetskog položaja unutar skupine kralježnjaka. Smješteni na prijelazu iz anamniota u amniote, predstavljaju važno evolucijsko čvorište koje je nedovoljno zastupljeno u znanosti. Prednost istraživanja na gušterima vezana je uz njihovo lako prikupljanje iz divljine, kao i vraćanje u divljinu nakon izvođenja eksperimenata. Nadalje, u slučaju potrebe za uzorkovanjem mozga, postoji veliki broj vrsta koje nisu ugrožene te se mogu jednostavno uloviti. Gušteri su većinom aktivni danju što olakšava njihovo proučavanje u prirodi, dok je većina glodavaca koji se koriste u laboratoriju aktivna noću zbog čega ih je teže istraživati u prirodi. Još neke od mnogih prednosti korištenja guštera u istraživanjima uključuju veliku dostupnost u prirodi, varijacije između i unutar vrsta te lako održavanje (Maximino i sur. 2015).

3.1. Važnost za neuroznanstvena istraživanja

Gušteri roda *Anolis* najčešće su proučavani animalni modeli u području evolucijske ekologije i etologije. Koriste se i u proučavanju antipredatorskog ponašanja, posebice tanatoze (Slika 7), bijega od predatora i potrage za zaklonom. Također je u potpunosti poznata morfologija mozga vrsta *Anolis carolinensis* Voigt, 1832, *Gallotia galloti* Oudart, 1839 i *Gekko gekko* Linnaeus, 1758, što omogućava daljnja neuroznanstvena istraživanja na gmazovima. Odgovori na stres, kao i socijalno ponašanje dobro su istraženi kod guštera (Maximino i sur. 2015).



Slika 7. Tanatoza u guštera. Definira se kao životinjski obrambeni mehanizam sastavljen od refleksa ukočenosti trupa i udova zbog kojeg se stječe dojam da je životinja mrtva, a može trajati od nekoliko sekundi do nekoliko sati. Modificirano prema Santos i sur. 2010.

3.2. Antipredatorsko ponašanje guštera

Gušteri su plijen mnogih grabežljivaca te su izloženi intenzivnom predatorskom pritisku zbog čega su razvili višestruke obrambene strategije. U svrhu bilježenja ponašanja, Leal i Rodriguez-Robles (1995) proveli su istraživanje na gušterima vrste *Anolis cristatellus* Duméril i Bibron, 1837. Guštere su izložili napadu zmije *Alsophis portoricensis* Reinhardt i Lütken, 1862, koja je prirodni predator proučavane vrste. Tijekom provođenja istraživanja, uočili su 13 različitih ponašanja guštera: bijeg, nepomičnost, griženje, mlataranje tijelom, podizanje podbratka (engl. *dewlapping*), pomicanje repa, pokazivanje jezika, pomicanje glave vertikalno gore-dolje, bočna kompresija tijela, sukobljavanje, podizanje i skupljanje tijela te autotomija repa (Slika 8). Daljnjim promatranjem opaženo je da neka od navedenih ponašanja gušteri koriste i u socijalnim interakcijama. Razumijevanje ovih ponašanja ključno je u provođenju komparativnih istraživanja koja omogućuju uspostavljanje životinjskih modela.



Slika 8. Autotomija repa guštera. Sposobnost životinja da u slučaju opasnosti otkinu dio svojega tijela, koji se nastavlja micati i odvraća pozornost progonitelja. Gušteri imaju sposobnost regeneracije odbačenog repa. Modificirano prema Miljković 2016.

Ostaje nejasno zašto postoji razlika u antipredatorskom ponašanju između jedinki iste populacije, kao i onih istog spola, dobi i reproduktivnog statusa. López i sur. (2005) sugerirali su da bi ta razlika, kao i sklonost preuzimanju rizika u homogenoj skupini mužjaka vrste

Lacerta monticola Boulenger, 1905, mogla biti povezana sa suptilnim razlikama u morfologiji, fizičkom stanju i sposobnosti izbjegavanja predatora.

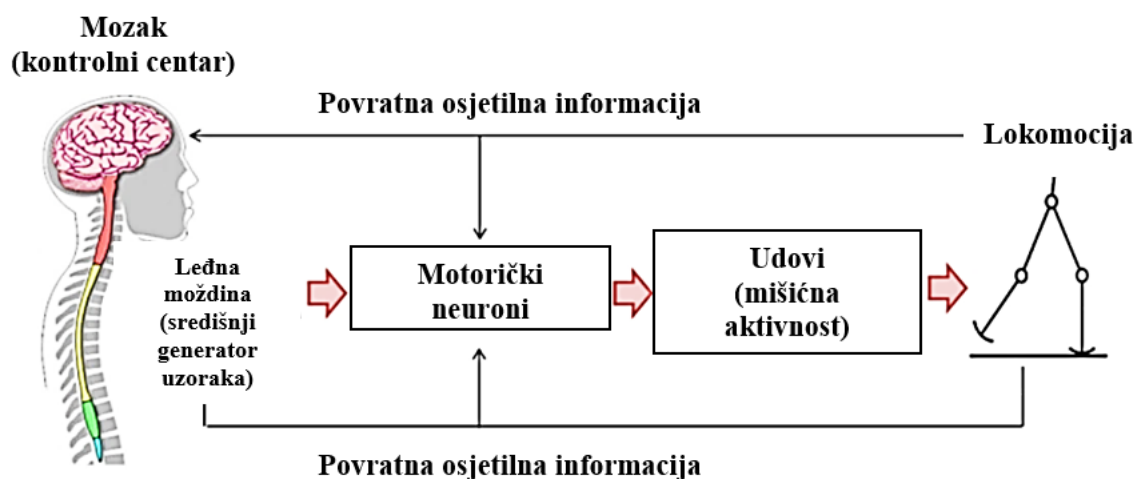
Promatranje antipredatorskih strategija kod različitih vrsta guštera u njihovom prirodnom, poluprirodnom i eksperimentalnom okruženju sugerira da gmazovi, kao što je slučaj i sa sisavcima, modificiraju svoje ponašanje s obzirom na razinu opasnosti i blizinu predatora. U sigurnom okruženju, životinje ne pokazuju obrambeno ponašanje, nastavljajući sa svojom normalnom aktivnošću. U novoj okolini povećava se vjerojatnost susreta s predatorom te životinja počinje pokazivati obrambeno ponašanje. U slučaju da su obrambene strategije nakon susreta i kontakta s predatorom bile neuspješne, s obzirom na visoko stresnu situaciju u kojoj se nalazi, životinja prelazi na „ekstremnije“ ponašanje: bijeg/prijetnja, tanatoza, mlataranje tijelom, autotomija repa. Takva modifikacija ponašanja uočena je kod guštera u divljini, kao i u laboratoriju, te može poslužiti pri razvoju novih modela u proučavanju anksioznih poremećaja (Maximino i sur. 2015).

3.3. Gušteri kao model u istraživanju središnjih generatora uzoraka

Gušteri su dobri modelni organizmi za proučavanje neurofizioloških procesa. Jedan jasan primjer važnosti guštera je proučavanje središnjih generatora uzoraka (engl. *central pattern generators*, CPGs). Mnoga neuroetološka istraživanja usmjerena su prema proučavanju uloge CPG-a u lokomociji, a time i oporavku od ozljeda leđne moždine, kao i u robotici (Marder i Bucher 2001, Ijspeert 2008). Zbog velike dostupnosti u divljini, velikog broja vrsta koje nisu ugrožene i varijacija među vrstama, gušteri su idealni organizmi za proučavanje lokomocije i CPG-a (Maximino i sur. 2015).

3.3.1. Definicija CPG-a

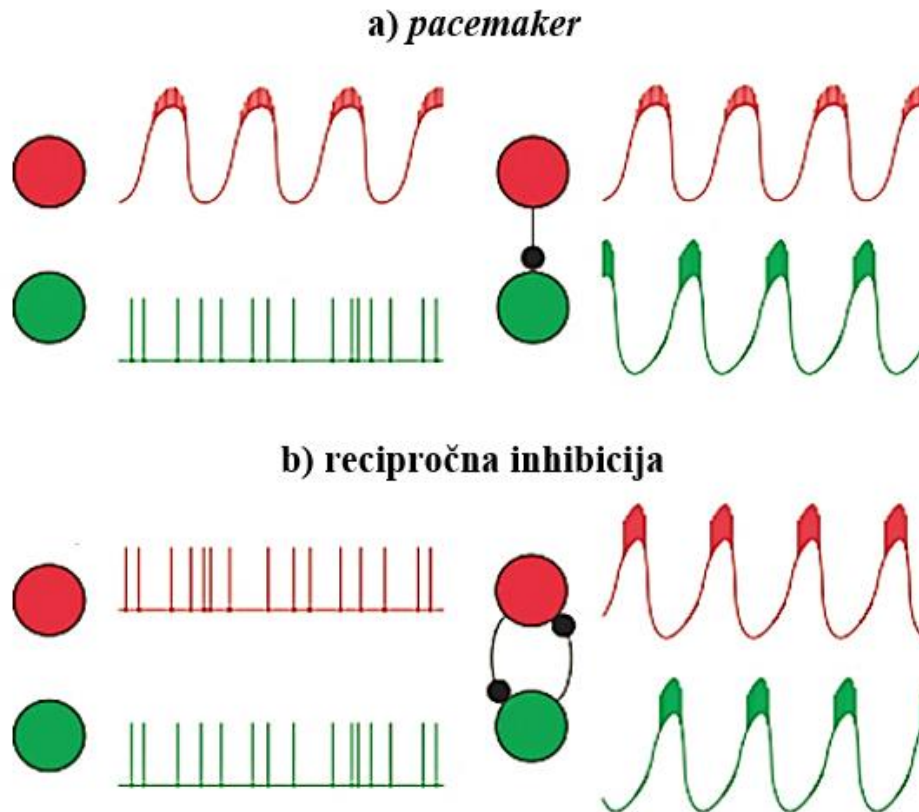
Izvor i kontrola ritmičkih pokreta kod životinja glavni su predmet neuroetoloških istraživanja. Donald M. Wilson bio je jedan od najranijih neuroetologa koji je primjenjivanjem bihevioralnih i neurofizioloških metoda pokušao dokazati postojanje središnjih generatora uzoraka kod skakavaca. Središnji generatori uzoraka neuronski su krugovi koji svojom aktivacijom proizvode ritmičke motoričke obrasce kao što su hodanje, disanje, letenje te plivanje i to u odsutnosti osjetilnih podražaja (Slika 9). Pojam „središnji“ označava da izvor obrazaca nije smješten u perifernom, već u središnjem živčanom sustavu (Marder i Bucher 2001, Konishi 2010).



Slika 9. Kontrola lokomocije kod ljudi. Središnji živčani sustav, sastavljen od mozga i leđne moždine, kontrolira lokomociju, dok središnji generator uzoraka (engl. *central pattern generator*, CPG) proizvodi ritmičke signale koji se putem mreže motoričkih neurona prenose do mišića. Povratna osjetilna informacija omogućuje modulaciju CPG-a, a time i sigurnu lokomociju. Modificirano prema Rashidi i sur. 2014.

Središnji generatori uzoraka proizvode ritmičku aktivnost bez primanja vanjskih podražaja, no neuromodulatori često imaju važnu ulogu u njihovoj aktivaciji. Kao i u drugim neuronskim mrežama, frekvencije i faze CPG mreža ovise o intrinzičnim svojstvima neurona tih mreža te o svojstvima sinapsi između njih. Neuromodulatori mijenjaju snagu sinapsi, kao i intrinzična svojstva neuronskih membrana te na taj način moduliraju motoričke obrasce CPG-a. Modulacija se može odviti na razini CPG krugova, motoričkih neurona ili terminalnih završetaka koji prenose upute za ritmičke obrasce do motoričkih neurona (Marder i Bucher 2001).

Ritmovi CPG-a generiraju se putem dvaju mehanizama. Prvi mehanizam se odvija u mrežama neurona koji kontinuirano odašilju signale (engl. *pacemaker neurons*) (Slika 10, a). *Pacemaker* neuroni (crveni krug) preko sinapsa potiču antagoniste, neurone koji ne odašilju signale (zeleni krug), na izmjeničnu aktivaciju, stvarajući ritmički obrazac. Drugi mehanizam je onaj u kojem se ritmovi generiraju kao posljedica formiranja sinaptičkih veza između neurona koji nisu intrinzično ritmički aktivni. U izolaciji ta dva neurona ne-ritmički odašilju signale, no njihovim se spajanjem signali počinju naizmjenično odašiljati uslijed recipročne inhibicije (Slika 10, b). Recipročna inhibicija je osnovna značajka u gotovo svim poznatim CPG krugovima (Marder i Bucher 2001).



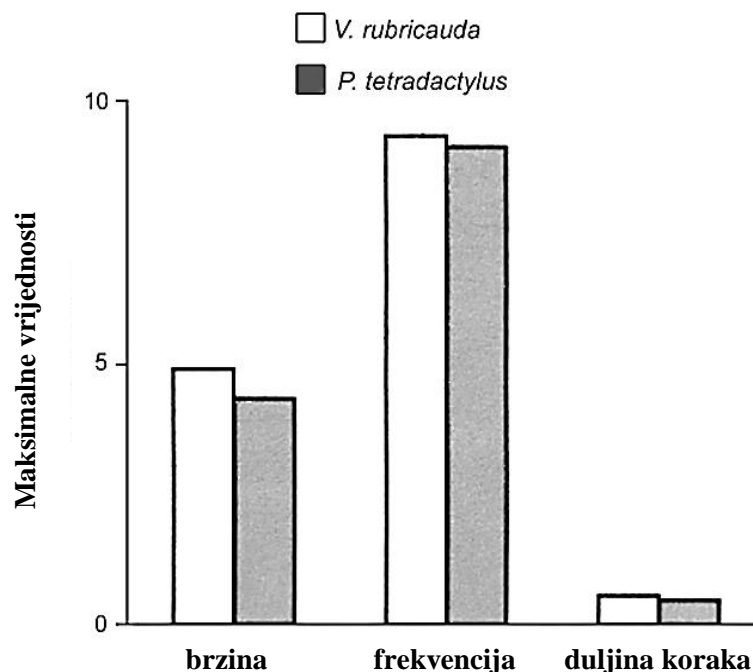
Slika 10. Mehanizmi generiranja ritma. a) *pacemaker* neuron aktivira drugi neuron, stvarajući ritmički obrazac; b) recipročna inhibicija uzrokuje naizmjenično odašiljanje signala dvaju neurona. Modificirano prema Marder i Bucher 2001.

3.3.2. Istraživanja CPG-a na gušterima

Središnji generatori uzoraka dobro su istraženi kod motoričkih obrazaca uključenih u proces hranjenja guštera. Prethodna istraživanja pokazala su da je do evolucije motoričkih obrazaca hranjenja kod glavnih taksonomskih skupina moglo doći bez velikih modifikacija u kontroli čeljusti i jezičnih mišića. Međutim, prijedlog ove evolucijske sheme bio je otežan zbog nedostatka podataka za ključne svojte kao što su gušteri. Nedavni podaci o motoričkim obrascima hranjenja brojnih porodica guštera ukazuju na veliku varijabilnost unutar i među vrstama, što ih čini idealnim modelnim organizmima za proučavanje CPG-a. Iako postoji sličnost u motoričkim obrascima za jezične mišiće, primijećena je varijabilnost u obrascima aktivacije mišića čeljusti među gušterima (Herrel i sur. 2001). Značaj ovih istraživanja vidljiv je u činjenici da postoji velika sličnost između mehanizama hranjenja u nižih kralježnjaka i sisavaca. Proučavanjem motoričkih obrazaca u guštera, s fokusom na komparativna istraživanja, možemo pratiti evoluciju CPG-a i mehanizme kontrole mišića koji sudjeluju u

procesu hranjenja. Istraživanja motoričkih obrazaca kod guštera pomažu nam u shvaćanju evolucijskih odnosa među svojcima.

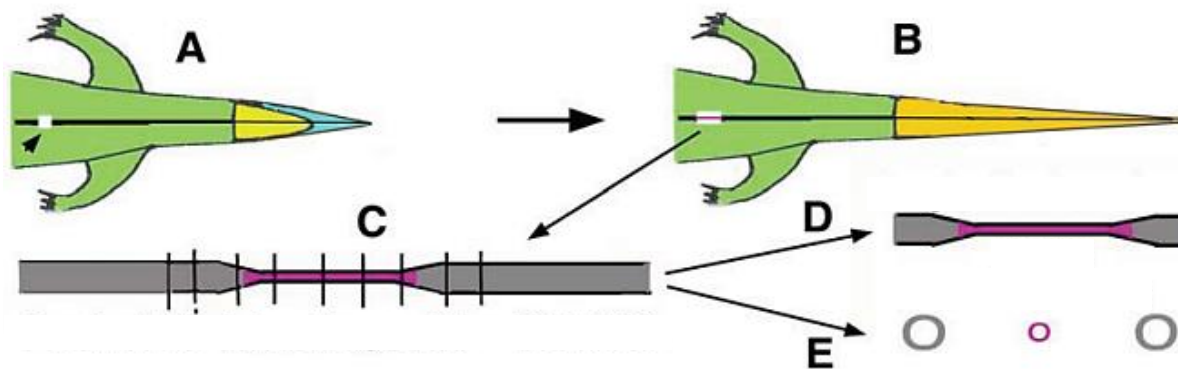
Nedavna neuroetološka istraživanja na gušterima usredotočena su i na ulogu CPG-a u lokomociji. Primjer je istraživanje obrazaca lokomocije kod dviju južnoameričkih vrsta guštera, *Vanzosaura rubricauda* Boulenger, 1902 i *Procellosaurinus tetradactylus* Rodrigues, 1991. Obje vrste guštera pripadaju porodici Gymnophthalmidae. Rodovi *Vanzosaura* i *Procellosaurinus* su sestrinske svojte koje imaju zajedničkog pretka (Benozzati i Rodrigues 2003). Kvantifikacijom karakteristika hoda (brzina, frekvencija i duljina koraka) tijekom lokomocije, znanstvenici su otkrili da vrsta *P. tetradactylus* pokazuje visoko specijaliziranu lokomotornu strategiju, najvjerojatnije razvijenu kao prilagodbu na kretanje po pijesku. Strategija uključuje smanjenje duljine i frekvencije koraka, a time i smanjenje brzine kretanja u usporedbi s vrstom *V. rubricauda* koja živi u savanama, što ukazuje na postojanje značajnih razlika u lokomociji dviju navedenih vrsta, iako su one evolucijski bliske (Slika 11). Razvoj specijalizirane lokomotorne strategije kod vrste *P. tetradactylus* ukazuje da je evolucija CPG-a moguća. U ovom je slučaju smjer evolucije CPG-a išao prema kontroli sporih pokreta udova i stvaranju manje stanki dužeg trajanja tijekom lokomocije (Renous i sur. 2008).



Slika 11. Analize performansi kod dviju vrsta guštera, *Vanzosaura rubricauda* i *Procellosaurinus tetradactylus*. Kod vrste *P. tetradactylus* uočena je manja brzina kretanja te manja frekvencija i duljina koraka. Modificirano prema Renous i sur. 2008.

3.3.3. Uloga CPG-a u oporavku ozljeda leđne moždine

Istraživanja CPG-a u današnje su vrijeme usmjerena prema proučavanju oporavka od ozljeda leđne moždine. Istraživanje iz 2014. godine dokazalo je da upravo gušteri imaju sposobnost oporavka nakon lezija leđne moždine. U eksperimentu je presječen lumbalni dio leđne moždine guštera vrste *Podarcis muralis* Laurenti, 1768, nakon čega je praćen proces regeneracije ozlijeđenog područja (Slika 12). Nakon početne paralize, kod većine guštera uočeni su nekoordinirani pokreti stražnjih udova. Sposobnost hodanja s ograničenom koordinacijom primijećen je kod 50 % guštera, 25 – 45 dana nakon lezije. Oporavak pokreta stražnjih udova je najvjerojatnije proizašao iz regeneracije kratkih propriospinalnih aksona, koji su potom spojili dva kraja presječene leđne moždine. Histološka analiza pokazala je postojanje uvećanja endime središnjeg kanala leđne moždine zbog kojeg je došlo do spajanja proksimalnog i distalnog kraja presječene moždine. Na mjestu ozlijede uočeno je i formiranje mosta sastavljenog od živčanih vlakana i stanica. Živčana vlakna mosta najvjerojatnije potječu od interneurona smještenih u sivoj tvari proksimalnog dijela leđne moždine, što sugerira na to da pripadaju lokalnom CPG krugu (Alibardi 2014). Dodatna istraživanja su potrebna kako bi se odredila točna uloga CPG-a u oporavku ozljeda leđne moždine kod guštera.



Slika 12. Shematski prikaz eksperimenta u sklopu istraživanja sposobnosti regeneracije leđne moždine kod guštera. Lumbalni dio leđne moždine (strelica na A) presječen je kod guštera s regenerirajućim repom (A) te analiziran po završetku regeneracije repa (B). Analizirana su dva kraja presječene leđne moždine i regenerirani dio između njih (C). Regenerirani dio dodatno je promatran na uzdužnom (D) i poprečnom (E) presjeku. Modificirano prema Alibardi 2014.

Ozljede leđne moždine ostaju jedne od najrazornijih neuroloških poremećaja kod ljudi. Veliki dio napora za postizanje oporavka nakon ozljeda leđne moždine utrošen je na pokušaje poboljšavanja i ubrzavanja procesa regeneracije ozlijeđenih područja. Najnovija istraživanja

usmjerena su prema proučavanju neoštećenih neuronskih krugova ispod lezija. Pretpostavlja se da je moguće stvoriti izlazni signal ako postoji neoštećeni CPG krug ispod lezije i to nakon aktivacije neuromodulatorima, izravnom električnom stimulacijom ili ulaznim senzoričkim signalom. Do sada se aktivacija CPG-a u kombinaciji s kineziterapijom pokazala kao najuspješnija metoda ubrzavanja oporavka (Marder i Bucher 2001).

4. Zaključak

Kada je riječ o modelnim organizmima u neuroznanosti, najveći postotak čine istraživanja na glodavcima, posebno miševima i štakorima, te ljudima. Takva pristranost predstavlja veliku prepreku za nova istraživanja u svim znanstvenim područjima, kao i u shvaćanju evolucijskih odnosa među svojcima. Rezultati istraživanja u kojima postoji pristranost pri odabiru vrsta, spolova i eksperimentalnih uvjeta pružaju pogrešan prikaz stvarnog stanja, što je iznimno opasno kod proučavanja neuropsihijatrijskih poremećaja i drugih bolesti koje zahtijevaju terapiju lijekovima. U obzir se mora uzeti i razlika između terenskih i laboratorijskih eksperimenata. Današnja istraživanja trebala bi za cilj imati smanjivanje postojeće razlike postavljanjem poluprirodnih uvjeta koji imaju karakteristike i terenskih i laboratorijskih uvjeta.

Gušteri, koji su smješteni na prijelazu anamniota u amniote, imaju značajnu ulogu u razumijevanju filogenetskih odnosa te u praćenju evolucije živčanog sustava. Velika dostupnost u prirodi, biološke varijacije te lako održavanje čine guštere izvrsnim modelnim organizmima sa znatnim doprinosom u neuroetološkim istraživanjima, naročito u proučavanju središnjih generatora uzoraka, antipredatorskog i anksioznog ponašanja.

Za razumijevanje procesa regeneracije leđne moždine važnu ulogu imaju istraživanja središnjih generatora uzoraka. Istraživanjem CPG-a na gušterima dokazano je postojanje poveznice između regeneracije oštećenih dijelova leđne moždine i lokalnih CPG krugova, koji potencijalno imaju ulogu u ubrzavanju procesa regeneracije i oporavka. Nadalje, proučavanjem CPG-a kod različitih životinjskih skupina moguće je pratiti evoluciju motoričkih obrazaca koji sudjeluju u lokomociji.

5. Literatura

Alibardi L. (2014): Observations on lumbar spinal cord recovery after lesion in lizards indicates regeneration of a cellular and fibrous bridge reconnecting the injured cord. *J. Dev. Biol.* 2 (4): 210–229.

Anello M., Pikula A., Bui E. (2023): Women’s Neurology: Why We Need a Subspecialty for Half the Population. *Canad. J. Neurol. Sci.*: 1–2.

Beery A. K., Zucker I. (2011): Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35 (3): 565–572.

Benozzati M. L., Rodrigues M. T. (2003): Mitochondrial restriction-site characterization of a Brazilian group of eyelid-less gymnophthalmid lizards. *J. Herpetol.* 37 (1): 161–168.

Calisi R. M., Bentley G. (2009): Lab and field experiments: are they the same animal?. *Horm. Behav.* 56 (1): 1–10.

Carlson B. A. (2012): Diversity matters: the importance of comparative studies and the potential for synergy between neuroscience and evolutionary biology. *Arch. Neurol.* 69 (8): 987–993.

Herrel A., Meyers J. J., Nishikawa K. C., Vree F. D. (2001): The evolution of feeding motor patterns in lizards: modulatory complexity and possible constraints. *Amer. Zool.* 41 (6): 1311–1320.

Ijspeert A. J. (2008): Central pattern generators for locomotion control in animals and robots: a review. *Neural Netw.* 21 (4): 642–653.

Keifer J., Summers C. H. (2016): Putting the “Biology” Back into “Neurobiology”: The Strength of Diversity in Animal Model Systems for Neuroscience Research. *Front. Syst. Neurosci.* 10: 69.

Konishi M. (2010): Neuroethology: What is it?. U: Michael D. Breed, Janice Moore (ur.) *Encyclopedia of Animal Behavior.* Academic Press, str. 562–565.

Kritzler M., Lewejohann L., Krüger A., Raubal M., Sachser N. (2006): An RFID-based Tracking System for Laboratory Mice in a Semi Natural Environment. *Proc. PTA 7*: 1–6.

- LaDage L. D., Roth T. C., Sinervo B., Pravosudov V. V. (2016): Environmental experiences influence cortical volume in territorial and nonterritorial side-blotched lizards, *Uta stansburiana*. *Anim. Behav.* 115: 11–18.
- Laurent G. (2020): On the value of model diversity in neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* 21: 395–396.
- Leal M., Rodríguez-Robles J. A. (1995): Antipredator Responses of *Anolis cristatellus* (Sauria: Polychrotidae). *Copeia* 1995 (1): 155–161.
- López P., Hawlena D., Polo V., Amo L., Martín J. (2005): Sources of individual shy–bold variations in antipredator behaviour of male Iberian rock lizards. *Anim. Behav.* 69 (1): 1–9.
- Mamlouk G. M., Dorris D. M., Barrett L. R., Meitzen J. (2020): Sex bias and omission in neuroscience research is influenced by research model and journal, but not reported NIH funding. *Front. Neuroendocrinol.* 57: 100835.
- Manger P., Cort J., Ebrahim N., Goodman A., Henning J., Karolia M., Rodrigues S. L., Štrkalj G. (2008): Is 21st century neuroscience too focussed on the rat/mouse model of brain function and dysfunction?. *Front. Neuroanat.* 2: 329.
- Marder E., Bucher D. (2001): Central pattern generators and the control of rhythmic movements. *Curr. Biol.* 11 (23): 986–996.
- Maximino C., Silva R. X. C., da Silva S. N. S., Rodrigues L. S. S., Barbosa H., de Carvalho T. S., Leão L. K. R., Lima M. G., Oliveira K. R. M., Herculano A. M. (2015): Non-mammalian models in behavioral neuroscience: consequences for biological psychiatry. *Front. Behav. Neurosci.* 9: 233.
- Miljković J., Vugrovečki A. S. (2016): Obrambeno ponašanje u gmazova. *Veterinar* 54 (1): 23–27.
- Noble D. W. A., Carazo P., Whiting M. J. (2012): Learning outdoors: male lizards show flexible spatial learning under semi-natural conditions. *Biol. Lett.* 8 (6): 946–948.
- Plevkova J., Brozmanova M., Harsanyiiova J., Sterusky M., Honetschlager J., Buday T. (2020): Various aspects of sex and gender bias in biomedical research. *Physiol. Res.* 69 (3): 367–378.

Rashidi S. F., Noorani M. R. S., Shoaran M., Ghanbari A. (2014): Gait generation and transition for a five-link biped robot by Central Pattern Generator. IEEE: 852–857.

Renous S., Höfling E., Bels V. (2008): Locomotion patterns in two South American gymnophthalmid lizards: *Vanzosaura rubricauda* and *Procellosaurinus tetradactylus*. Zoology 111 (4): 295–308.

Santos M. B. dos., Oliveira M. C. L. M. de ., Verrastro L., Tozetti A. M. (2010): Playing dead to stay alive: death-feigning in *Liolaemus occipitalis* (Squamata: Liolaemidae). Biota Neotrop. 10 (4): 361–364.

Santos T., Pérez-Tris J., Carbonell R., Tellería J. L., Díaz J. A. (2009): Monitoring the performance of wild-born and introduced lizards in a fragmented landscape: implications for ex situ conservation programmes. Biol. Conserv. 142 (12): 2923–2930.

The British Neuroscience Association (2023) <https://www.bna.org.uk/about/about-neuroscience/> (pristupljeno 24. 7. 2023.).

Zilkha N., Sofer Y., Beny Y., Kimchi, T. (2016): From classic ethology to modern neuroethology: overcoming the three biases in social behavior research. Curr. Opin. Neurobiol. 38: 96–108.

Životopis

Zovem se Josipa Andrić. Rođena sam 2001. godine u Zagrebu gdje sam pohađala Osnovnu školu Bukovac (2008. – 2016.). Tijekom srednjoškolskog obrazovanja u II. gimnaziji u Zagrebu (2016. – 2020.) shvatila sam da me zanimaju prirodne znanosti, posebice biologija. Prateći taj interes upisala sam Preddiplomski sveučilišni studij Biologija na Prirodoslovno-matematičnom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na drugoj godini studija svrstana sam u kategoriju 10 % najuspješnijih studenata na studiju. Aktivni sam član studentske udruge BIUS s kojom sam sudjelovala na terenskom istraživanju „Histrion 2022“. Također sam 2023. godine u sklopu BIUS-ove sekcije za neurobiologiju sudjelovala na manifestaciji "Tjedan znanosti". U razdoblju od 15. 7. 2022. do 14. 10. 2022. volontirala sam u Zoološkom vrtu grada Zagreba gdje sam stekla iskustvo rada sa životinjama. Tijekom petog semestra treće godine studija obavljala sam laboratorijsku stručnu praksu u okviru projekta "Morfološka struktura kože kao termoregulacijska prilagodba kod guštera" na Zavodu za animalnu fiziologiju. Godine 2023. položila sam ispit iz engleskog jezika TOEFL iBT na kojem sam ostvarila 102 od ukupno 120 bodova.