Biokemijski mehanizmi u procesu učenja

Blažanović, Suzana

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:728182

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Suzana Blažanović

Biokemijski mehanizmi u procesu učenja

Završni rad

Osijek,2018

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **Završni rad**
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za Biologiju
Preddiplomski sveučilišni studij Biologija
Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Biologija

BIOKEMIJSKI MEHANIZMI U PROCESU UČENJA

Suzana Blažanović

Rad je izrađen na: Zavodu za biokemiju i ekofiziologiju biljaka, Odjel za biologiju
Mentorica: doc. dr. sc. Senka Blažetić

Kratak sažetak završnog rada:

Učenje i pamćenje odnose se na različite aspekte istog neuroplastičnog fenomena: učenje je indukcija s ponašanjem povezanih neuralnih promjena putem iskustva, a pamćenje je njihovo održavanje i izražavanje u obliku promjene ponašanja. Biokemijski mehanizmi, koji su detaljno objašnjeni u nastavku, temelj su i razvoj dugoročnog potenciranja (LTP) i učenja pasivnim izbjegavanjem (PAL) u mladom piliću. Važnu ulogu u učenju i pamćenju imaju biološke molekule kao što su: protein kinaza C (PKC), Ca^{2+} - Calmodulin kinaza II (CaMKII), GAP-43 i glutamatni receptori.

Jezik izvornika: hrvatski
Ključne riječi: kolinergički sustav, učenje pasivnim izbjegavanjem, protein kinaza, glutamatni receptor, pamćenje, neuroni

Rad je pohranjen: na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižinice u Zagrebu.

BASIC DOCUMENTATION CARD **Bachelor thesis**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Biology
Undergraduate university study programme in Biology
Scientific Area: Natural sciences
Scientific Field: Biology

BIOCHEMICAL MECHANISMS IN THE PROCESS OF LEARNING

Suzana Blažanović

Thesis performed at: the Subdepartment of Plant Ecophysiology and Biochemistry, Department of Biology
Supervisor: Senka Blažetić, PhD, Assistantt Prof.

Short abstract:

Learning and memory are relate to different aspects of the same neuroplastic phenomenon: learning is induced with the behavior of related neural changes through experience, while memory is their maintenance and expression in the form of change of behavior. Biochemical mechanisms, which are in detail explained below, underlying both the development of long-term potentiation (LTP) and passive avoidance learning (PAL) in the young chick. The role of several biological molecules in learning and memory are considered, for example, protein kinase C (PKC), Ca^{2+}-Calmodulin kinase II (CaMKII), GAP-43 and glutamate receptors.

Original in: Croatian
Key words: cholinergic system, passive avoidance learning, protein kinase, glutamate receptor, memory, neurons

Thesis deposited: on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

1.UVOD 1
2. OSNOVNI DIO 3
2.1. Moždane strukture uključene u pamćenje 3
2.1.1. Rinalni korteks 3
2.1.2. Hipokampus 4
2.1.3. Amigdala 5
2.1.4. Inferotemporalni korteks 5
2.1.5. Mali mozak i strijarni sustav 6
2.1.6. Prefrontalni korteks 7
2.1.7. Mediodorzalna jezgra 7
2.1.8. Bazalni prednji mozak 8
2.2. Biokemijske osnove učenja kod beskralježnjaka 8
2.3. Biokemijske osnove učenja kod kralježnjaka 10
2.3.1. Kolinergički sustav 10
2.3.2. Dugoročno potenciranje 12
2.3.3. Učenje pasivnim izbjegavanjem 17
2.4. Alzheimerova bolest 20
3. ZAKLJUČAK 22
4. LITERATURA 23

1.UVOD

Učenje je proces promjena ponašanja usvajanjem znanja tijekom novog iskustva. Mehanizmi učenja su: klasično uvjetovanje, instrumentalno uvjetovanje, socijalno učenje i kognitivno učenje. Klasično uvjetovanje je učenje tijekom kojeg dolazi do refleksne reakcije. Ivan Petrovich Pavlov objašnjava klasično uvjetovanje na primjeru psa koji uz hranu (neuvjetovani podražaj) čuje zvuk zvona (neutralni podražaj) a kao posljedica toga pas refleksno slini (neuvjetovana reakcija). Instrumentalno uvjetovanje je mehanizam učenja posljedicama. Odnosno, promjena u vjerojatnosti pojave ponašanja koje je uvjetovano nekim događajem. Edward Thorndike izveo je zakon efekta koji glasi: „Ako je ponašanje nagrađeno, vjerojatnost pojave ponašanja je veća (i obrnuto).“ Do tog zaključka je došao provođenjem eksperimenta s gladnom mačkom koja bi nakon svakog oslobađanja iz kaveza bila nagrađena ribom, te joj je za svako sljedeće oslobađanje bilo potrebno manje vremena. Simbolično učenje, učenje promatranjem, imitacija te modeliranje mehanizmi su socijalnog učenja, koje karakterizira učenje od drugih ljudi. Opće znanje posljedica je kognitivnog učenja koje je moguće ukoliko je zadovoljena određena razina inteligencije, a podrazumijeva učenje uvidom i skriveno učenje (Zarevski 2002).

Pamćenje je proces obrade podataka tijekom kojeg dolazi do usvajanja, zadržavanja i ponovnog korištenja stečenih informacija. Raspon opažanja odnosi se na količinu čestica koje možemo usvojiti u jednom pokušaju, a povezan je s dužinom trajanja podražaja. Senzorna faza je prva od tri faze obrade podataka i traje jako kratko. Odnosi se na informacije u nepromijenjenom obliku te se s obzirom na vrstu podražaja dijeli na vidno i slušno senzorno pamćenje. Informacija koja nije napustila svjesni tok informacija, uz pažnju, nalazi se u kratkoročnom pamćenju. Funkcije kratkoročnog pamćenja su ponavljanje, kodiranje i pronalaženje. Ponavljanjem informacija one prelaze u dugoročno pamćenje tako što ih se kodira i pohranjuje u oblik pogodan za pronalaženje. Kapacitet kratkoročnog pamćenja ograničen je na 5 do 9 čestica te se povećava grupiranjem. Dugoročno pamćenje ima neograničen kapacitet i koristi se za zadržavanje i pohranu informacija (Zarevski 2002).

Aplysia (slika 1) je morski beskralježnjak koji je, zbog jednostavnog refleksnog luka uvlačenja škrga, pogodan za istraživanja neuralnih osnova učenja i pamćenja. U uvlačenju škrga i sifona sudjeluju 24 osjetna neurona aktivirajući interneurone koji tvore sinapse s motoričkim neuronima (Pinel, 2002).



Slika 1: Aplysia

(Izvor: Web 1)

Acetilkolin (Ach), neurotransmiter koji je dobro zastupljen u središnjem živčanom sustavu, uključen je je u regulaciju pamćenja i učenja (Blokland 1995). Sukladno tome, kolinergički sustav je jedan od najvažnijih neurotransmitorskih sustava u mozgu, a sudjeluje u modulaciji dugoročne potencijacije (LTP). Opažanja koja pokazuju da je LTP povezan s mehanizmima učenja i pamćenja su:

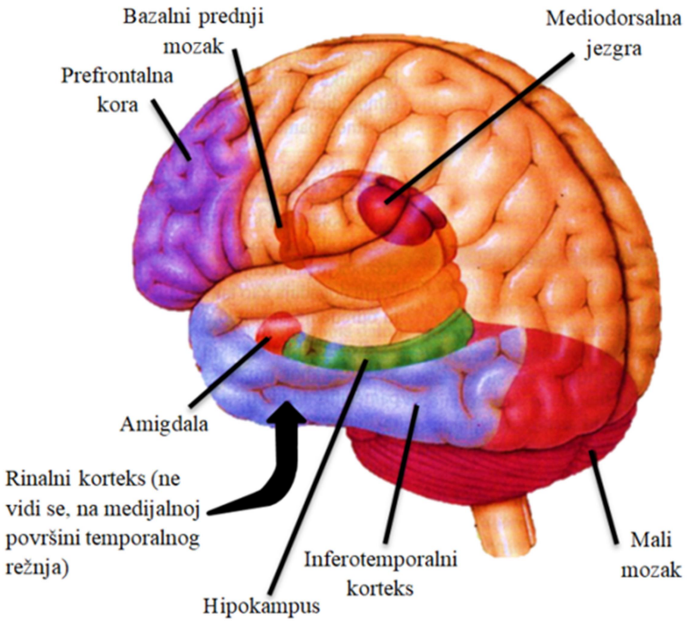
- oponašanjem normalne živčane aktivnosti niskim razinama podraživanja moguće je izazvati LTP
- najveća aktivnost LTP-a uočena je u moždanim strukturama za koje se smatra da su povezane s učenjem i pamćenjem, npr. hipokampus
- promjene slične LTP-u moguće je izazvati u hipokampusu uvjetovanjem ponašanja
- većina kemijskih tvari koje imaju utjecaj na učenje i pamćenje djeluju i na LTP
- učenje Morrisova vodenog labirinta blokirano je indukcijom LTP-a sve dok LTP ne oslabi
- kod miševa mutanata javljaju se poteškoće prilikom učenja Morrisova vodenog labirinta zbog slabog LTP-a (Pinel, 2002).

Biokemijske promjene nakon učenja pasivnim izbjegavanjem (PAL) i formiranje LTP-a ukazale su na nekoliko molekula koje imaju ključnu ulogu u učenju i pamćenju; protein kinaza C, Ca^{2+}- Calmodulin kinaza II, GAP-43 te glutamatni receptori (Fagnou i Tuchek, 1995).

2. OSNOVNI DIO

2.1. Moždane strukture uključene u pamćenje

Postojeći dokazi upućuju da sljedeće mozgovne strukture imaju važnu funkciju u pamćenju: rinalni korteks, hipokampus, amigdala, inferotemporalni korteks (i druga područja sekundarnog senzornog i asocijativnog korteksa), mali mozak, strijatum, prefrontalni korteks, mediodorzalna jezgra i bazalni prednji mozak (Slika 2).



Slika 2: Moždane strukture povezane s pamćenjem.

(Preuzeto i prilagođeno prema Pinel, 2002)

2.1.1. Rinalni korteks

U novijim istraživanjima s majmunima i štakorima, kod kojih su uočene lezije rinalnog korteksa, ispitan je učinak na Testu odgođene usporedbe ne ponavljajućih predmeta s predloškom te je dokazano da rinalni korteks ima važnu funkciju u formiranju novog dugoročnog eksplicitnog pamćenja predmeta. Retrogradna amnezija koja nastaje kao posljedica lezije rinalnog korteksa ne utječe na stara pamćenja. Sukladno tome, pamćenje predmeta ne pohranjuje se u rinalnom korteksu (Pinel, 2002).

2.1.2. Hipokampus

Hipokampus se nalazi u središnjem dijelu mozga te je zajedno s amigdaloidnim jezgrama i septumom sastavni dio limbičkog sustava. Sadašnje spoznaje upućuju na to da je ovaj sustav kao cjelina odgovoran za spoznaje koje nastaju preko osjeta i prenose se u različite moždane strukture (Jovanović, 2004). Smatra se da je njegova glavna funkcija integracija i konsolidacija nepovezanih osjetnih informacija i prijenos novih informacija u dugoročne strukture deklarativnog znanja, možda kao sredstva povezivanja informacija pohranjenih u različitim moždanim područjima. Osim toga, hipokampus i povezane susjedne strukture su važne za eksplicitno pamćenje doživljaja i drugih deklarativnih informacija zbog čega hipokampus ima ključnu ulogu u složenom učenju i kodiranju deklarativnih informacija (Sternberg, 2004). Nekada se smatralo da je limbički sustav odgovoran za percepciju mirisa pa je prema tome imao naziv rinencefalon. Međutim, ispitivanjem filogenetskog razvoja znanstvenici su zaključili da limbički sustav ima složenu funkciju posebno kod razvijenih sisavaca (Jovanović, 2004), što je dokazano ispitivanjima u kojima se pokazalo da oštećenjem hipokampusa nastaju smetnje vezane za a pamćenje novih sadržaja, te se javlja i anterogradna amnezija. Rigidnost mišljenja i ličnosti naslućuje se prema lezijama unutrašnjih dijelova mozga koje su povezane s oštećenjem kratkoročnog pamćenja karakteriziranog oštećenjem pohrane i reprodukcije novih spoznaja. Znanstvenici su dokazali da obostrana ozljeda hipokampusa uzrokuje gruba oštećenja pamćenja. Kratkoročno pamćenje vezano je uz određena moždana područja, što nije slučaj kod dugoročnog pamćenja, koje je povezano s integracijom cjelokupne moždane kore i strukturama ispod i iznad nje. Dijelovi limbičkog sustava, a osobito hipokampus, iznimno su važni u mehanizmima koji kontroliraju obradu, pohranu i reprodukciju informacija. Presijecanjem neurona koji su povezani s medijalnim dijelovima temporalnih režnjeva kod majmuna i ljudi dokazano je da spomenute strukture imaju važnu ulogu u prethodno navedenim mehanizmima (Jovanović, 2004). Gubitak sjećanja posljedica je obostranog kirurškog odstranjivanja hipokampusa, metode koja se koristi u liječenju epilepsije (Scoville i Milner, 1975 navedeno u Jovanović, 2004). Dokazano je da hipokampus sudjeluje i u sposobnosti pronalaska stvari te shvaćanju njihove prostorne međusobne povezanosti (McClelland, McNaughton i O Reilly, 1995; Tulving i Schacter, 1994 navedeno u Sternberg, 2004). Lezije hipokampusa narušavaju sposobnost rješavanja zadataka koji zahtijevaju dugoročno zadržavanje specifičnih informacija. Hipokampus nema ulogu u pohrani informacija u dugoročno pamćenje, ali sudjeluje u konsolidaciji dugoročnog pamćenja položaja u prostoru, što je potvrđeno činjenicom da neuroni u

hipokampusu imaju prostorna polja i da spomenute lezije onemogućuju pohranu novog pamćenja položaja u prostoru, ali ne narušavaju pamćenje nastalo znatno prije lezije (Pinel, 2002). Jedna od hipoteza koja odgovara na pitanje ima li hipokampus ulogu u pamćenju i oblikovanju pamćenja je da hipokampus sudjeluje su fleksibilnom učenju i uočavanju međusobnih odnosa činjenica koje se uče (Eichenbaum, 1997; Squire, 1992 navedeno u Sternberg, 2004).

2.1.3. Amigdala

Činjenica da lezije amigdale koje ne oštećuju rinalnu koru koja se nalazi ispod njih, ne dovode do deficita na Testu odgođene usporedbe neponavljajućih predmeta s predloškom, pokazala je da amigdala ne sudjeluje u dugoročnom pamćenju predmeta. Danas je poznato da amigdala ima posebnu ulogu u pamćenju poznatog značenja određenog iskustva (Pinel, 2002). Zdravi štakori reagiraju strahom na neutralne podražaje koji ponovljeno prate bolne električne šokove nogu, što nije slučaj kod štakora s lezijama amigdala. Kod neuropsihološkog pacijenta s deficitom formiranja uvjetovane autonomne reakcije zaprepaštenja na različite vidne ili slušne podražaje, za koje je imao dobro deklarativno pamćenje, uočene su bilateralno oštećene amigdale (Bechara i sur., 1995 navedeno u Pinel, 2002).

2.1.4. Inferotemporalni korteks

Retrogradna amnezija, koja je posljedica medijalne temporalne lobotomije ne utječe na stara sjećanja, što je dokaz da strukture u medijalnom temporalnom režnju nisu konačno odredište njegove pohrane, ali sudjeluju u konsolidaciji dugoročnog pamćenja. Smatra se da je dugoročno pamćenje pohranjeno u sekundarnom senzornom i asocijativnom korteksu, odnosno u kortikalnim neuralnim krugovima koji su sudjelovali u izvornom iskustvu (Pinel, 2002). Znanstvenici su bili usmjereni na istraživanje pohrane dugoročnog pamćenja koje se odnosi na vidno pamćenje i njegovu pohranu u sekundarnom vidnom korteksu u inferotemporalnom režnju. Buffalo i sur. (1998) kako je navedeno u Pinel, (2002) otkrili su da majmuni s oštećenim inferotemporalnim korteksom ne mogu naučiti istodobni diskriminacijski zadatak. Sukladno tome, uočeno je da posteriorni parietalni korteks sudjeluje u pamćenju prostornog položaja, sekundarni somatosenzorni korteks pohranjuje informacije dodirnih struktura dok se za sekundarni slušni korteks smatra da sudjeluje u pohrani slušnih podražaja (Pinel, 2002).

2.1.5. Mali mozak i strijarni sustav

Pretpostavlja se da je implicitno pamćenje senzomotoričkog učenja pohranjeno u senzomotoričkim neuralnim krugovima, a eksplicitno pamćenje iskustva u moždanim krugovima koji su sudjelovali u izvornoj percepciji. Znanstvenici su najveću pažnju pridavali malom mozgu i strijatumu, strukturama koje su važne za pamćenje senzomotoričkih zadataka (Pinel, 2002). Vjeruje se da su u malom mozgu pohranjene informacije o naučenim senzomotoričkim vještinama, te je detaljno ispitana njegova funkcija u klasičnom uvjetovanju reakcije očnih treptaja. Krupa i Thompson (1993) kako je navedeno u Pinel (2002) proveli su eksperiment u kojemu su formirali uvjetovane reakcije kod zečeva uparivanjem tona s upuhavanjem mlaza zraka u njihovo oko. Zečevi su naučili treptati svakim ponavljanjem tona te su pamtili klasičnu uvjetovanu reakciju tijekom ponavljanja dnevnih testova. U eksperimentu su sudjelovale dvije grupe te je kod svake jedna važna struktura u neuralnom krugu uključenog u osnovu uvjetovanog refleksa treptaja deaktivirana tijekom treninga. Deaktivacija je provedena mikroinfuzijama muscimola, antagonista neurotransmitera GABA. Kod zečeva kod kojih su bile deaktivirane crvene jezgre nije se pojavila uvjetovana reakcija tijekom uvjetovanja, ali ponovnim testiranjem bez muscimola uočeno je da su naučili i zapamtili uvjetovanu reakciju. Taj podatak upućuje na činjenicu da je pamćenje uvjetovane reakcije formirano u malom mozgu, strukturi neuralnog kruga koje je u osnovi uvjetovane reakcije treptaja, a nalazi se ispod crvene jezgre. Drugoj grupi zečeva je za vrijeme provođenja eksperimenta deaktiviran mali mozak i prilikom određivanja njihova pamćenja bez muscimola nije uočena nikakva reakcija. Smatra se da strijatum ima funkciju pohrane pamćenja konzistentnih odnosa između podražaja i reakcija, vrsti pamćenja koje se postupno povećava svakim pokušajem. Knowlton, Mangels, i Squire (1996) kako je navedeno u Pinel (2002) uočili su da bolesnici koji boluju od Parkinsonove bolesti, a kod kojih postoji oštećenje strijatuma, nisu mogli riješiti probabilistički diskriminacijski zadatak „prognoziranja vremena“ koji je sprječavao eksplicitno pamćenje. Ispitanici su imali zadatak ispravno prognozirati vrijeme prikazano na kartama na ekranu pritiskom jedne od dviju tipki koje su bile označene kišom ili suncem. Svaka karta prikazivala je drukčije vrijeme. Kod bolesnika s Parkinsonovom bolešću koji su pokazali normalno eksplicitno pamćenje za pojedine pokušaje vježbanja, nije došlo do poboljšanja tijekom 50 pokušaja. Nasuprot tome, kod bolesnika s amnezijom kao posljedicom oštećenja medijalnog temporalnog režnja ili medijalnog diencefalona izvršenje točnost izvršenja zadatka se povećala, ali kod njih kasnije nije uočeno eksplicitno pamćenje uvježbavanja (Pinel, 2002).

2.1.6. Prefrontalni korteks

Predmet zanimanja raznih znanstvenika bila je uloga frontalnih režnjeva. Kod viših primata i čovjeka čeoni režnjevi vrlo su važni u upamćivanju i pamćenju (Jacobson, 1935 navedeno u Jovanović, 2004). Istraživanjem obostrane ekstirpacije čeonih režnjeva kod majmuna koja kao posljedicu ima trenutni gubitak redoslijeda reakcija utvrđena je važnost frontalnih režnjeva u procesu pamćenja. Bolesnici s bilateralnim oštećenjem ne boluju od generalne amnezije, ali imaju određene specifične teškoće u pamćenju. Glavni problem je pamćenje vremenskog slijeda događaja te izvođenje zadataka koji zahtijevaju određeni redoslijed u izvođenju, unatoč tome što mogu pamtiti događaje kao takve (Pinel, 2002). Ograničeni selektivni učinci na pamćenje bolesnika posljedica su oštećenja prefrontalnog korteksa unatoč činjenici da funkcionalni slikovni prikazi mozga snimljeni prilikom rješavanja različitih zadataka koji zahtijevaju pamćenje većinom pokazuju značajno povećanje prefrontalne aktivnosti. Rezultati funkcionalnih slikovnih prikaza mozga pokazuju da su istraživanja amnezije zbog moždanih oštećenja podcijenila funkciju prefrontalnih režnjeva u pamćenju. Isto tako, funkcionalni prikazi mozga obično ne pokazuju aktivnost u klasičnim medijalnim diencefaličkim područjima i područjima medijalnih temporalnih režnjeva budući da su ti dijelovi uključeni u dosjećanje redoslijeda događaja (Pinel, 2002).Promjene u aktivnosti u pojedinim područjima prefrontalnog korteksa moguće je lokalizirati zahvaljujući napredovanju spacijalne rezolucije tehnike funkcionalnog slikovnog prikaza mozga. Dokazano je da dosjećanje semantičkih i epizodičkih sadržaja iz dugoročnog pamćenja uzrokuje aktivaciju različitih područja u prefrontalnoj kori. Provedena istraživanja pokazala su da dosjećanje prošlih iskustava iz epizodičkog pamćenja aktivira desnu prednju prefrontalnu koru, dok je dosjećanje informacija iz semantičkog pamćenja uzrokovalo aktivaciju lijevog donjeg prefrontalnog korteksa (Pinel, 2002).

2.1.7. Mediodorzalna jezgra

Spoznaja da bolesnici s Korsakovljevim sindromom gotovo uvijek imaju oštećene mediodorzalne jezgre upućuje na to da one sudjeluju u pamćenju. Dodatno otkriće koje potvrđuje tu pretpostavku je ograničenje lezija mediodorzalnih jezgri koje dovodi do deficita u Testu odgođene usporedbe ne ponavljajućih predmeta s predloškom kod majmuna i štakora. Oštećenje mediodorzalnih jezgri i deficit u nizu testova pamćenja posljedica su izlaganja štakora piritiaminu čija je uloga inhibicija ugradnje vitamina u koenzime. Predmet rasprave znanstvenika bilo je pitanje kvalitativne razlike amnezije zbog oštećenja medijalnog diencefalona od amnezije zbog oštećenja medijalnog temporalnog

režnja, no do sada u bolesnika nije nađena nikakva važna razlika što znači da ta dva područja sudjeluju u istom neuralnom krugu uključenom u pamćenje (Pinel, 2002).

2.1.8. Bazalni prednji mozak

Uloga bazalnog prednjeg mozga u pamćenju nije potpuno jasna, no smatra se da sudjeluje u pamćenju zbog njegova oštećenja kod bolesnika s Alzheimerovom bolesti. Ta je pretpostavka dovedena u pitane spoznajom da kod bolesnika s Alzheimerovom bolesti postoje proširena moždana oštećenja struktura koje bi mogle objasniti bolesikove teškoće. Lokalizirana oštećenja bazalnog prednjeg mozga koja nastaju kao posljedica kapi i tumora uzrokuju amnezije što znači da bazalni prednji mozak sudjeluje u mehanizmima pamćenja. No, memorijske uloge bazalnog prednjeg mozga nisu jasne možda zbog saznanja da samo određene strukture imaju funkciju pamćenja (Pinel, 2002).

2.2. Biokemijske osnove učenja kod beskralježnjaka

Istraživanja na beskralježnjacima kao što je *Aplysia* pokazala su da signalni put cikličkog adenozin mono fosfata (cAMP) može imati ključnu ulogu u procesu učenja navedenog organizma. *Aplysia* se koristi u proučavanjima biološke osnove učenja zbog toga što ima jednostavni živčani sustav koji se sastoji od samo 20 000 relativno velikih neurona. *Aplysia* ima mnogobrojne jednostavne reflekse, od kojih je refleks uvlačenja škrga najbolje proučen. Životinja normalno uvlači škrge pod zaštitni plašt prilikom podražaja sifona. Sifon je inerviran vlastitom grupom senzornih neurona osjetljivih na dodir. Ti neuroni također aktiviraju interneurone koji tvore sinapse s motoričkim neuronima (Fagnou i Tuchek, 1995).

Habituacija (navikavanje) slabljenje intenziteta reakcije organizma na podražaj koji se ponavlja. Na primjer, podraživanjem sifona vrste *Aplysia* svakih 30 sekundi, intenzitet refleksa uvlačenja škrga slabi. Posljedica 10-minutnog podraživanja sifona je habituacija refleksa uvlačenja škrga koja traje 2-3 sata, ali ponavljanjem tog podražaja habituacija će trajati tjednima (Carev i sur., 1972 navedeno u Pinel, 2002). Neuralna osnova habituacije u refleksnom luku uvlačenja škrga ukazuje na opadanje broja živčanih impulsa koji su izazvani u motoričkim neuronima prilikom svakog dodira sifona (Castelluci i sur., 1970 nevedeno u Pinel, 2002). Progresivni pad broja živčanih impulsa u motoričkom neuronu posljedica je smanjenog lučenja neurotransmitera iz osjetnih neurona s obzirom da se odgovor motoričkih neurona na neurotransmitere koje su izlučili osjetni neuroni nije smanjio (Pinel, 2002).

Dva su moguća uzroka progresivnog smanjenja lučenja neurotransmitera iz osjetnih neurona sifona koje nastaje svakim sljedećim dodirom sifona za vrijeme habituacije. Prva pretpostavka je da se manje neurotransmitera luči kao posljedica svakog sljedećeg dodira koji izaziva manji broj akcijskih potencijala u osjetnim neuronima sifona. S druge strane, postoji mogućnost da dolazi do opadanja količine neurotransmitera koji se luči prilikom svakog sljedećeg akcijskog potencijala. Drugo objašnjenje je vjerojatnije s obzirom da je dokazano da se broj akcijskih potencijala u osjetnim neuronima ne smanjuje tijekom habituacije. Pokušaji otkrića mehanizma smanjenja količine neurotransmitera koji se luči iz osjetnih neurona sifona usmjerili su znanstvenike na ione kalcija, čiji ulazak u završne čvoriće izaziva fuziju sinaptičkih mjehurića s presinaptičkom membranom te dolazi do ispuštanja sadržaja u sinapsu. Smanjenje broja kalcijevih iona koji ulaze u završne čvoriće osjetnih neurona sifona kod svakog akcijskog potencijala uzrokuje smanjenje lučenja neurotransmitera iz osjetnih neurona sifona za vrijeme habituacije. Također je dokazano da iscrpljenje zaliha neurotransmitera u osjetnom neuronu uvelike pridonosi opadanju količine transmitera koji se luči (Gingrich i Byrne, 1985 navedeno u Pinel, 2002).

Senzatizacija je jačanje reakcije organizma na podražaje koji se javljaju nakon snažnog ili štetnog podražaja. Senzitizacija refleksa uvlačenja škrga kod vrste *Aplysia* nakon samo jednog bolnog podražaja na rep traje nekoliko minuta, ali zadavanjem bolnih podražaja na rep tijekom nekoliko dana može uzrokovati senzatizaciju koja će trajati tjednima. Za razliku od habituacije, dokazano je da je senzatizacija posljedica povećane količine lučenja neurotransmitera iz osjetnih neurona sifona zbog njihovih vlastitih impulsa (Castelluci, 1976 navedeno u Pinel, 2002). Otkriveno je da čak i ovaj jednostavan refleks može biti uvjetovan. Kombinacija bolnog neuvjetovanog podražaja na stopalo, s uvjetovanim podražajem sifona, izaziva povećano lučenje neurotransmitera iz osjetnih neurona sifona na motoričke neurone škrga, tj. uzrokuje uvlačenje škrga. Opisan je mehanizmam presinaptičke facilitacije (Fagnou i Tuchek, 1995). Pokazalo se da osjetna vlakna repa životinje tvore sinapsu s facilitacijskim serotonergičkim interneuronima, koji tvore sinapsu s čvorićima osjetnih neurona sifona (Pinel, 2002). Serotonin se oslobađa iz interneurona uslijed neuvjetovanog podražaja i aktivira adenilat ciklazu u senzornom neuronu koji je uključen u uvjetovani podražaj. Aktiviranjem senzornog neurona podražajem sifona (uvjetovani podražaj) povećava se koncentracija Ca^{2+} u neuronima. Ca^{2+} se veže na CaM, koji se povratno veže na adenilat ciklazu i povećava njenu sposobnost da sintetizira cAMP. cAMP aktivira protein kinazu A (PKA), što rezultira znatno većim

količinama neurotransmitera nego što se inače otpušta. S dovoljnom količinom kombiniranja uvjetovanog i neuvjetovanog podražaja, slabi osjetni podražaj sifona će rezultirati uvlačenjem škrga (Fagnou i Tuchek, 1995). Primjena serotonina na senzomotoričke sinapse *in vitro* uzrokuje senzitizaciju koja traje od nekoliko minuta do nekoliko dana (Pinel, 2002).

Dva su tipa sinaptičkog prijenosa pri čemu jedan izaziva brze i trenutačne, a drugi spore i trajne promjene u postsinaptičkom neuronu. Aktivnost receptora povezanih s ionskim kanalima osnova je prvog sinaptičkog prijenosa, dok se drugi zasniva na aktivnosti receptora povezanih s G-proteinima i drugim glasnicima. Drugi glasnici, za koje se smatra da sudjeluju u pamćenju, su kemijske tvari koje nastaju u postsinaptičkom neuronu zbog vezivanja neurotransmitera na receptor povezan s G-proteinom. Interakcijom tih glasnika s genetskim materijalom u neuronu može doći do trajnih promjena u strukturi i funkciji živčane stanice (Pinel, 2002). Postoje dokazi da L-glutamat može biti jednako brz ekscitatorni transmiter u senzornim neuronima vrste *Aplysia* (Fagnou i Tuchek, 1995).

2.3. Biokemijske osnove učenja kod kralježnjaka

2.3.1. Kolinergički sustav

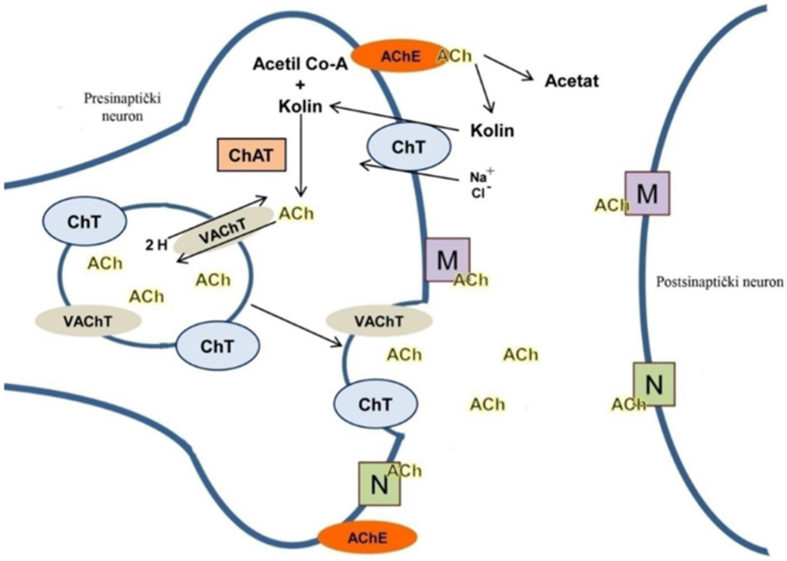
Kolinergični sustav, jedan od najvažnijih modulatornih neurotransmitorskih sustava u mozgu, čine organizirane živčane stanica koje prenose akcijski potencijal putem neurotransmitera acetilkolina (ACh). Postoji niz podataka koji upućuju na to da je kolinergični sustav značajno uključen u proces učenja i pamćenja:

- aktiviranje kolinegičnog sustava prilikom učenja i pamćenja u pokusima s intaktnim životinjama
- povezivanje učinaka Ach, učenja i pamćenja u postupcima manipulacije kognitivnih sposobnosti
- poboljšane kognitivne sposobnosti pojačavanjem kolinergične funkcije (Blokland 1995).

Korelacija kognitivnog deficita i sniženja razine pokazatelja kolinergične transmisije u hipokampusu uočena je kod odraslih štakora starije dobi (Arendt 1990). Također je utvrđena korelacija deficita pamćenja i hipokampalnog ACh kod životinja s kroničnom dijetalnom restrikcijom kolina ili vitamina A i kroničnom alkoholnom konzumacijom. Nadalje, lijekovi koji pospješuju pamćenje povećavaju i hipokampalni ACh dok mnogi sistemski farmakološki tretmani koji uzrokuju poremećaj pamćenja uzrokuju i smanjenje

hipokampalnog ACh (Blokland 1995). Istraživanja pokazuju da je kolinergična aktivnost uključena u modulaciji dugoročne potencijacije sinaptičke transmisije (LTP), tipa sinaptičke plastičnosti koja je temelj procesa učenja i pamćenja u različitim područjima mozga (Bliss 1993).

Sinteza ACh se odvija u citoplazmi kolinergičkih neurona iz prekursora kolina i acetil koenzima A reakcijom koju katalizira enzim kolin acetiltransferaza (ChAT) nakon čega slijedi pohrana u sinaptičke vezikule uz pomoć vezikularnog acetilkolinskog transportera (VAChT) (Slika 3). Depolarizacija živčanog završetka uzrokuje fuziju sinaptičkog vezikula s presinaptičkom membranom na specijaliziranim mjestima otpuštanja koja se zovu aktivne zone. Koordinirana reakcija presinaptičkih SNARE (*engl. soluble NSF attachment protein receptor*) i Rab proteina značajno je važna u spomenutom procesu koji ovisi o ionima kalcija.



Slika 3. Mehanizam sinteze, pohrane, otpuštanja i razgradnje acetilkolina u kolinergičnoj sinapsi. ACh, acetilkolin; AChE, acetilkolinesteraza; ChAT, kolin acetiltransferaza; ChT, transporter kolina; M, muskarinski receptor; N, nikotinski receptor; VAChT, vezikularni acetilkolinski transporter.

(Izvor: Web 3)

Spajanjem vezikula s presinaptičkom membranom, omogućeno je difuziju ACh u sinaptičku pukotinu nakon čega slijedi vezanje za nikotinske i muskarinske receptore koji se nalaze na pre- i postsinaptičkim neuronima. Difuzija ACh dalje od sinaptičke pukotine te brza hidroliza u kolin i acetat pomoću enzima acetilkolinesteraze (AChE) označava kraj acetilkolinske signalizacije (Nathanson 2008). Recikliranje sinaptičkog vezikula omogućuje ponovno ispunjavanje neurotransmiterom te otpuštanje inducirano depolarizacijom. Visoko afinitetni transporteri kolina (ChT) koji su ovisni o ionima natrija omogućuju hidrolizu ACh i recikliranje kolina za ponovnu sintezu ACh u presinaptičkom završetku. ACh se može vezati za dva različita tipa kolinegičnih receptora a to su nikotinski i muskarinski (Cooper 2003).

2.3.2. Dugoročno potenciranje

Dugoročna potencijacija (LTP) je dugotrajno olakšanje sinaptičkog prijenosa do kojeg dolazi nakon aktiviranja sinapse intenzivnim visokofrekventnim podražajem presinaptičkih neurona. 1949. godine D.O.Hebb proučavao je neuroznanstvene fenomene te je smatrao da je facilitacija sinaptičkog prijenosa ključni mehanizam u procesu učenja i pamćenja. Vjerovao je da svako iskustvo izaziva jedinstveni obrazac živčane aktivnosti koja se ponavlja u moždanim krugovima, da je ponavljanje aktivnosti u osnovi kratkoročnog pamćenja, da to dovodi do strukturnih promjena na sinapsama ponovljeno aktiviranih krugova i da te strukturne promjene olakšavaju sljedeći prijenos na istim sinapsama. Vjerovao je da je facilitacija sinaptičkog prijenosa neuralni mehanizam dugoročnog pamćenja, no nije utvrđeno mogu li sinaptičke promjene za koje je Hebb pretpostavio da su osnova dugoročnog pamćenja biti povezane s promjenama koje su osnova LTP-a (Pinel, 2002). 1973. godine je otkriveno da se LTP pojavljuje u svim ekscitatornim putevima u hipokampusu, a neki dokazi upućuju na činjenicu da je temelj pojedinih oblika memorije (Fagnou i Tuchek, 1995).

LTP može trajati dulje vrijeme, npr. do nekoliko tjedana nakon višestrukog podraživanja te se javlja samo ako nakon aktivacije presinaptičkog neurona slijedi aktivacija postsinaptičkog neurona, a neće se javiti kad se aktivira samo postsinaptički neuron, a presinaptički ne. Opisana su ključna obilježja LTP-a za koje je Hebb smatrao da su svojstveni fiziološki mehanizmi učenja i pamćenja. Utvrđeno je da je istodobna aktivnost (tzv. pre-post-koincidencija) presinaptičkih i postsinaptičkih neurona ključni korak nekoliko oblika neuralne plastičnosti, te je pretpostavka da je istovremena aktivnost fiziološki nužna za učenje nazvana *Hebbovim postulatom učenja* (Pinel, 2002).

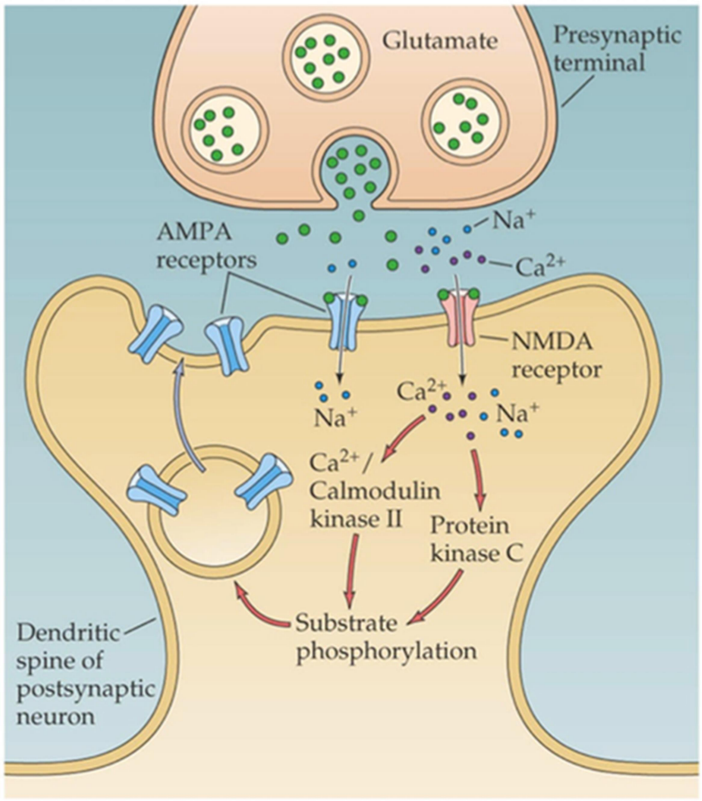
LTP je najviše proučavan na sinapsama koje sadrže postsinaptički N-metil-D-aspartat (NMDA) receptori. NMDA receptor je podtip glutamatnih receptora, glavni ekscitacijski neurotransmiter u mozgu. Ionski kanal povezan s NMDA receptorom ima jedno posebno svojstvo (Pinel, 2002). Za otvaranje kanala i popuštanje kalcijevih i natrijevih iona potrebno je da se dva događaja pojave istodobno. Prvo, postsinaptička membrana mora biti dovoljno depolarizirana da bi se smanjilo blokiranje kanala NMDA receptora magnezijevim ionima. To se može dogoditi kao rezultat aktivacije receptora α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propionata (AMPA) pomoću glutamata. AMPA receptori su zajedno s NMDA receptorima smješteni na dendritičke spine. AMPA receptori su prvenstveno povezani s kanalima natrijevih iona i ulaskom Na^+ proizvode depolarizacijsku struju. Drugo, L-glutamat se također mora vezati na NMDA receptore, potičući otvaranje kalcijevih kanala (Fagnou i Tuchek, 1995). Razlog spomenutog dvostrukog zahtjeva je činjenica da kanali za kalcij koji su povezani s NMDA receptorima dopuštaju ulazak malog broja kalcijevih iona u neuron ako neuron već nije depolariziran u trenutku kad se glutamat veže na receptor, a upravo ulazak iona kalcija uzrokuje akcijske potencijale i niz događaja u postsinaptičkom neuronu koji induciraju LTP (Pinel, 2002). Obično se pretpostavlja da tijekom tetaničke stimulacije prolazak kalcijevih iona preko ionskih kanala povezanih s NMDA receptorom daje signal koji je neophodan za indukciju LTP. Postoje dokazi koji upućuju na to da je ova struja kalcijevih iona povećana otpuštanjem Ca^{2+} iz intracelularnih prostora. Međutim, nije jasno je li samo porast intracelularne koncentracije kalcijevih iona dovoljan da potakne indukciju LTP. Povišenje koncentracije intracelularnih iona kalcija, koje se proizvode jednostavno izazivanjem struje iona, ne inducira LTP. Nadalje, komponenta posredovana NMDA receptorom također pokazuje LTP možda fosforiliranjem ionskih kanala povezanih s NMDA receptorom koji mijenjaju opseg blokiranja kanala magnezijevim ionima (Fagnou i Tuchek, 1995). Zahtjev djelomične depolarizacije postsinaptičkih neurona u trenutku kad se glutamat veže na njih značajno je važno svojstvo LTP-a budući da dopušta neuronskim mrežama učenje veza. Ukoliko bi jedan glutaminergički neuron proizveo živčani impuls i otpustio svoj glutamatni neurotransmiter preko sinapse na NMDA receptore postsinaptičkog neurona, ne bi došlo do potencijacije prijenosa na toj sinapsi budući da na postsinaptičkoj stanici ne nastaje živčani impuls. Međutim, ako bi postsinaptički neuron bio djelomično depolariziran signalima s drugih neurona u trenutku kada nastaje živčani impuls na presinaptičkom neuronu, vezanje glutamata na NMDA receptore potpuno bi otvorilo kalcijeve kanale, kalcijevi ioni ušli bi u postsinaptički neuron i prijenos na sinapsi između

presinaptičkog i postsinaptičkog neurona pojačao bi se. Sukladno tome, zahtijevanje istovremene aktivacije i ovisnost NMDA receptora o istovremenom vezivanju i djelomičnoj depolarizaciji znači da, u prirodnim uvjetima, sinaptička facilitacija ukazuje na činjenicu da je postojala istovremena aktivnost u barem dva konvergentna ulaza u postsinaptički neuron, slično onoj koja bi bila izazvana istovremenim zadavanjem uvjetovanog i bezuvjetnog podražaja (Pinel, 2002).

Postoji niz dokaza da kalcij aktivira protein kinaze u citoplazmi, no mehanizmi kojima ulazak iona kalcija u stanicu izaziva LTP nisu potpuno jasni. To pokazuje i nalaz da inhibitori protein kinaza blokiraju indukciju LTP-a (Pinel, 2002). Inhibitori PKC, Ca^{2+} / fosfolipid-ovisna protein kinaza, sprječavaju LTP indukciju. Stanje fosforilacije / defosforilacije sinaptičkih membranskih proteina B50 / F1 / GAP43, koje je regulirano PKC, smatra se ključnim čimbenikom prijelaza između faze inicijacije i faze održavanja LTP. Značajno i selektivno povećanje fosforilacije ovog presinaptičkog proteina otkriveno je već 5 min nakon početka LTP. Određivanje točne uloge B50 / F1 / GAP43 u indukciji i održavanju LTP otežano je mnogim čimbenicima, primjerice, vremenom tijekom kojega su PKC inhibitori učinkoviti i sinaptičke lokacije značajne PKC aktivnosti. Zbog toga se PKC aktivacija ne smatra dovoljnom za induciranje LTP, ali se smatra da je neophodni čimbenik u razvoju LTP (Lynch 2004). PKA, cAMP-ovisna kinaza, također može biti važna u formiranju LTP. Protein kinaza A je važna zbog toga što aktivacija NMDA receptora može dovesti do povećanja koncentracije cAMP-a (Fagnou i Tuchek, 1995).

Nedavna je pažnja posvećena ulozi Ca^{2+}-Calmodulin-ovisne protein kinaze II (CaMKII) u LTP. Eksperimenti su pokazali da aktivnost CaMKII može ostati povišena dulje vrijeme nakon indukcije LTP, te da ta pojačana aktivnost može oponašati LTP i da je aktivnost CaMKII potrebna za indukciju LTP. Točnije, istraživanja o kultiviranim hipokampalnim neuronima daju dokaze da Ca^{2+} / CaMKII može fosforilirati receptore anti-NMDA glutamata i poboljšati struju iona kroz njihove povezane kanale (slika 4). CaMKII je najraširenija protein kinaza u hipokampusu gdje je lokalizirana s presinaptičkim vezikulama i glavni je protein u postsinaptičkom prostoru (PSD). Vjeruje se da ima ulogu u regrutiranju sinaptičkih vezikula za egzocitozu putem fosforilacije sinapina, fosfoproteina povezanog sa sinaptičnom vezikulom, te u postinaptičkoj ekspresiji LTP fosforilacije receptora glutamata u PSD (Lynch 2004). Nadalje, predložen je model kojim CaMKII može djelovati kao molekularni senzor za sinaptičku aktivnost. Aktivacija CaMKII pomoću Ca^{2+} / CaM dovodi do brze autofosforilacije, a time i oblika CaMKII koji

je konstitutivno aktivan čak i u odsutnosti Ca^{2+} / CaM. Učestalost ekscitatorske sinaptičke aktivnosti utjecala bi na postsinaptičku Ca^{2+} koncentraciju i bila bi proporcionalna razini Ca^{2+} / CaM neovisne CaMKII i njenih fosforiliranih supstrata. Protein fosfataze 1,2A i 2C mogu defosforilirati CaMKII i regenerirati izvornu ovisnost o Ca^{2+}/ CaM (Fagnou i Tuchek, 1995).



Slika 4: Indukcija LTP-a posredovanog NMDA receptorom.
(Izvor: Web 2).

Biheviоralne i molekularne studije mutantnih miševa podupiru ulogu CaMKII i LTP u učenju i pamćenju. Mutantni miševi koji ne eksprimiraju α-CaMKII deficitarni su u njihovoj sposobnosti proizvodnje LTP i pokazuju slabije prostorno učenje. Dakle, vjerojatno je da ovaj nedostatak u indukciji LTP može biti odgovoran za oštećenje prostornog pamćenja (Fagnou i Tuchek, 1995).

Bilo da je LTP presinaptički ili postsinaptički, smatra se da njegovo održavanje tijekom većih vremenskih razdoblja (tjedana) zahtjeva sintezu neuralnih proteina (Pinel, 2002). Osim post-translacijskih modifikacija postojećih proteina, dokazi upućuju na to da je za sintezu proteina iz postojećih mRNA za održavanje LTP potrebno najmanje prvih

nekoliko sati, međutim identitet takvih proteina nije poznat (Fagnou i Tuchek, 1995). Novija istraživanja LTP-a kao posljedice djelovanja NMDA receptora pokazala su da blokiranje sinteze proteina neposredno nakon podraživanja ne utječe na održavanje LTP-a u razdoblju od jednog ili dva sata, no uzrokuje blokiranje njegovog održavanja tijekom duljih razdoblja proteina (Pinel, 2002).

Ukoliko su održavanje i izražavanje presinaptički, a indukcija postsinaptička, utvrđeno je da mora postojati neki signal koji prelazi s postsinaptičkog neurona natrag na presinaptički neuron (Pinel, 2002). Postinaptičke modifikacije kao što je aktivacija NMDA receptora i fosforilacija anti-NMDA receptora već su opisane. Presinaptičke modifikacije uključuju, ali nisu ograničene na povećanje ekstracelularne koncentracije glutamata za koju je dokazano da odražava povećanje oslobađanja transmitera, a ne smanjenje unosa transmitera; povećanje broja sinaptičkih vezikula i distribucije i povećanje koncentracije tri sinaptička vezikularna proteina (sinapin, sinaptotagmin i sinaptofizin) (Fagnou i Tuchek, 1995).

Primjer takvog 'retrogradnog glasnika' je arahidonska kiselina (AA). Dokazano je da aktivacija NMDA receptora uzrokuje excelcelulalno oslobađanje AA i da se indukcija LTP može blokirati inhibitorima fosfolipaze A_2. Arahidonska kiselina može djelovati presinaptički da se poveća oslobađanje L-glutamata i postsinaptički potaknuti struje posredovane NMDA receptorom. Dodatni mogući retrogradni glasnici su: faktor aktiviranja trombocita (PAF), ioni kalija, ugljikov monoksid (CO) i dušikov oksid (NO) (Lynch 2004). Čini se da se NO sintetizira u postsinaptičkom neuronu zbog ulaska kalcija, te da se zatim difuzijom vraća u presinaptički čvorić. Injekcija inhibitora dušičnog oksida u postsinaptički neuron za vrijeme podraživanja ograničava održavanje LTP-a na jedan sat na sinapsama u kojima je dušični oksid pronađen u blizini postsinaptičke membrane (Pinel, 2002). Trenutno nije poznato koji od ovih predloženih retrogradnih glasnika ima ključnu ulogu u indukciji LTP (Fagnou i Tuchek, 1995).

Nijedna rasprava o LTP-u ne bi bila cjelovita bez razmatranja dugoročne depresije (LTD) i kako se njihovi mehanizmi mogu preklapati. Kao što je opisano, LTP je trajno povećanje sinaptičke učinkovitosti kao odgovor na kratko razdoblje visoke frekvencijske stimulacije. LTD s druge strane, dugotrajan je pad sinaptičke učinkovitosti. LTD zahtijeva minimalnu razinu postsinaptičke depolarizacije i porast intracelularne Ca^{2+} koncentracije ($[Ca^{2+}]_i$) u postsinaptičkom neuronu. Indukcijski mehanizmi stoga nalikuju onima za LTP

osim što su potrebne jače depolarizacije i veća povećanja u $[Ca^{2+}]_i$ za induciranje LTP od LTD. Ova i druga zapažanja potaknula su znanstvenike da predlože shemu dvosmjerne kontrole sinaptičke snage koja uključuje više sekundarnih sustava glasnika, nekoliko fosfataza, PKC i CaMKII. Taj model predlaže da umjereno povećanje $[Ca^{2+}]_i$ dovede do prevladavajuće aktivacije fosfataza (npr. kalcineurin, Ca^{2+} fosfataza). Nasuprot tome, velika povećanja u $[Ca^{2+}]_i$ favoriziraju aktivaciju kinaza (npr. CaMKII). Model je konzistentan s dokazima da fosforilacija i defosforilacija mogu promijeniti učinkovitost glutamata usmjeravanjem receptora ionskih kanala u suprotnim smjerovima. Budući da LTP i LTD dijele barem neke osnovne mehanizme, LTD može imati važnu ulogu kao LTP u staničnim mehanizmima sinaptičke plastičnosti i učenja (Fagnou i Tuchek, 1995).

2.3.3. Učenje pasivnim izbjegavanjem

Kao model proučavanja učenja pasivnim izbjegavanjem (PAL) koriste se pilići stari 1-2 dana. Iako postoje varijacije, piliće se trenira jednostavnim jednosmjernim zadatkom učenja u kojem se piliću nudi sjajno zrno. Zrno je obloženo neukusnom supstancom, metilantranilatom, a kao posljedica pojedinačnog zalogaja, pilići će izbjegavati slične kuglice kada se ponude nakon toga (Patterson i sur. 1987).

Farmakološki dokazi upućuju na trofazni model stvaranja memorije s fazama koje su uzastopno ovisne. Osnovni model sadrži kratkotrajnu memoriju, koja traje 10 minuta, srednju memoriju koja ima dvije faze A i B koje traju 30 minuta i dugoročnu memoriju. Hiperpolarizacije zbog promjena vodljivosti kalija i aktivnosti natrijevih pumpi pretpostavljaju se na osnovi formiranja kratkotrajne i srednje-trajne memorije. Sinteza proteina je prihvaćena kao osnova stvaranja dugoročne memorije (Fagnou i Tuchek, 1995).

Ključne anatomske regije u pilića, kod kojih su promatrane ostale biokemijske promjene uključujući i PAL, su medijalni *hyperstriatum ventrale* (IMHV) i *lobus parolfactorius* (LPO). Ove regije su identificirane na temelju povećane koncentracije 2-deoksiglukoze uočene u tim područjima nakon PAL-a. Utrošak 2-deoksiglukoze daje naznaku upotrebe glukoze a time i neuronske aktivnosti. Također je ispitana sinteza glikoproteina u sinaptičkim plazma membranama tijekom PAL. Sinteza glikoproteina proučavana je kvantifikacijom ugradnje [^{3}H] fukoze u glikoproteine. Budući da je fukoza gotovo isključivo inkorporirana u glikoproteine, ona pruža dobru procjenu sinteze ovih proteina (Patterson i sur. 1987). Povećana ugradnja [^{3}H] fukoze u glikoproteine sinaptičke plazme membrane uočena je nakon PAL-a. Iako je sinteza proteina također povećana u

slojevima mozga pilića pripremljenih 1 sat nakon treninga, pokazalo se da je povećanje ugradnje fukoze neovisno o sintezi proteina. Osim toga, povećana aktivnost fukokinaze, enzima koji katalizira aktivaciju fukoze pomoću fosforilacije, može se izmjeriti unutar 1 sata nakon treninga pilića. Nadalje, povećanje inkorporacije [^{3}H] fukoze uzrokovano treningom promatrano je samo ako je slijedila pohrana memorije. Ti podaci sugeriraju da PAL može biti povezan s povećanom fukozilacijom i / ili sintezom glikoproteina (Fagnou i Tuchek, 1995).

Kompetitivni inhibitor galaktoze, 2-deoksigalaktoza (2-d-gal), specifično inhibira sintezu fukoglikoproteina. Jednom uklopljen u rastući lanac glikoproteina sprječava terminalnu fukozilaciju i time inhibira daljnju sintezu. Dugotrajno stvaranje memorije može biti blokirano s primjenom spoja 2-d-gal unutar 2 sata prije i 2 sata nakon treninga. Ovaj efekt s 2-d-gal može se spriječiti istovremenim ubrizgavanjem viška galaktoze. Zabilježena je lateralizacija ovog amnezijskog učinka. Nadalje, objavljeno je da kratki električni šok može spriječiti stvaranje memorije i inhibirati sintezu glikoproteina. Dakle, inhibiranje sinteze glikoproteina sprečava stvaranje memorije i postupci koji inhibiraju stvaranje memorije smanjuju sintezu glikoproteina (Fagnou i Tuchek, 1995).

Interakcija ugradnje 2-d-gal i fukoze u glikoproteine proučena je s ciljem identifikacije glikoproteina uključenih u formiranje memorije. PAL smanjuje unos fukoze u komponente glikoproteina koji imaju molekularnu masu od 150 do 180 kDa, ali povećava unos fukoze u glikoproteine koji imaju molekularne mase od 28 do 33 kDa. Bullock i sur. (1996) kako je navedeno u radu Pattersona (1987) su karakterizirali presinaptičke i postsinaptičke glikoproteine u pilićevim predjelima koji su uključeni u PAL. Patterson i sur. (1987) su predložili stanični kaskadni model u formiranju memorije pilića koja uključuje inicijalni prikaz memorije zajedno s inicijalnim valom sinteze glikoproteina koji se javlja u lijevom IMHV. Tijekom stabilizacije traga dolazi do sekvencijalne aktivacije pravih IMHV i LPO. Drugi val aktivnosti generira glikoproteine koji stabiliziraju promjene u sinaptičkim vezama potrebnim za dugotrajnu pohranu memorije. Nedavno je dokazano da 2-D-gal interferira specifično s međufazom memorije koja je u skladu s gledištem da je uključivanje nekih glikoproteina u stvaranju memorije neophodno za razvoj dugotrajne memorije koja ovisi o sintezi proteina (Fagnou i Tuchek, 1995).

Kao što je ranije spomenuto, fosforilacija B50 proteina čini se ključnim čimbenikom u razvoju LTP-a. Nedavno je uočeno selektivno smanjenje endogene fosforilacije proteina od 52 kDa u sinaptičkim plazma membranama pripravljenih od pilića koji su uklonjeni 10 minuta nakon treninga. Protein je kasnije identificiran kao B50 protein, presinaptski specifičan PKC supstrat također poznat kao GAP-43, Fl i neuromodulin. Također je uočeno da formiranje memorije pilića povećava aktivni oblik PKC koji je vezan na membranu. Nadalje, uočeni su i karakterizirani amnezijski učinci dva PKC inhibitora, H7 i melittina. Rezultati s PKC aktivatora (i inhibitora) su u skladu s mišljenjem da PKC aktivnost može biti uključena u pred-dugoročnu fazu obrade memorije. Osim amnezijskih učinaka inhibitora PKC, sredstva koja inhibiraju prvenstveno Ca^{2+} / CaM proizvode amneziju za 15-30 minuta nakon treninga kada se injektiraju u mozak. Amnezija se također može proizvesti 60 minuta poslije treninga kada su agensi koji inhibiraju protein kinaze ovisne o PKC, PKA i PKG, ubrizgani u cerebralne komore (Patterson i sur. 1987).

Dodatni čimbenici zajednički za formiranje LTP i biokemijske promjene nakon PAL uključuju receptore glutamata i pretpostavljene retrogradne glasnike NO i AA. Uloga NO bila je prvo predložena kada je otkriveno da injekcije inhibitora NO sintaze prije treninga dovodi do amnezije za PAL zadatak. Ova zapažanja pokazuju da NO može imati kritičnu ulogu u konsolidaciji dugoročne memorije. Međutim, NO ne može biti jedini pretpostavljeni retrogradni glasnik u LTP-u koji igra ulogu u PAL-u. Inhibitori fosfolipaze A_2, ključni enzim u oslobađanju AA, također mogu proizvesti amneziju za učenje pasivnim izbjegavanjem. Ti rezultati podupiru hipotezu da je oslobađanje AA nužan korak u ranim, ali ne neposrednim događajima koji posreduju u sinaptičkoj plastičnosti povezanoj s stvaranjem memorije. Dakle, s obzirom na različite vremenske zadatke AA i NO mogu imati ulogu u PAL-u (Patterson i sur. 1987).

Uočeno je stvaranje memorije koja zahtijeva aktivaciju NMDA receptora, ali ne i anti-NMDA receptore. Nadalje, pokazalo se da je aktivnost NMDA receptora neophodna za dugotrajnu ekspresiju memorije, ali ne i za procese koji su temelj kratkoročne memorije.

2.4. Alzheimerova bolest

Osim simptoma progresivne demencije, Alzheimerova bolest (AD) karakterizira i gubitak neuronalnih procesa i neurona (gubitak na težini i volumenu mozga). Patofiziološki proces AD-a započinje u regiji hipokampusa koja je uključena u procese učenja i pamćenja, te se atrofija širi dalje u ostala područja mozga (Frisoni i sur. 2010).

Jedna od najstarijih teorija etiopatogenze AD je kolinergična hipoteza prema kojoj je zbog važne uloge acetilkolina (ACh) u procesu pamćenja, oštećenje pamćenja i drugih kognitivnih funkcija u AD-u izravno povezano s degeneracijom cerebralnih presinaptičkih kolinergičnih neurona (Boller, 1989). Manjak kolinergičnih projekcija u AD-u povezuje se s patološkim nakupljanjem Aβ peptida i poremećajem fosforilacije tau proteina.

Iako je kognitivni poremećaj u AD-u multifaktorijalni proces, brojna istraživanja su pokazala da AD uzrokuje selektivnu degeneraciju bazalnih kolinergičnih neurona, čime dolazi do gubitka kolinergične inervacije u korteksu i hipokampusu. Kognitivni deficit u AD bolesnika često je u korelaciji s deficitom kolinergične transmisije u SŽS-u (Bartus 1982). Istraživanja *post mortem* pokazala su smanjenu aktivnost ChAT-a i AChE u raznim regijama mozga. Također je pokazano da deficit aktivnosti ChAT u korteksu korelira s demencijom, te da se s povećanjem broja plakova aktivnost tih enzima smanjuje (Bierer 1995). Istraživanje Davisa i suradnika (1999) pokazala su da kolinegični markeri nisu povezani s ranom AD već da je aktivnost enzima povezana s kasnim stadijem AD, te da aktivnost ChAT-a korelira s količinom neurofibrilarnih snopića i neuritskih plakova. Uz promjene aktivnosti AChE i ChAT zabilježene su i promjene (smanjenje) vezikularnog transporta ACh, te unosa kolina i ostalih presinaptičkih markera, kao i promjene u ekspresiji nikotinskih i muskarinskih receptora u *post mortem* u mozgu AD bolesnika. Ekspresija nikotinskih kolinergičnih receptora bila je smanjena u kortikalnim i hipokampalnim regijama mozga (Sims 1983). Smanjena ekspresija α4 i α7 nAChR nađena je u hipokampusu i temporalnom korteksu bolesnika s AD sporadičnog i familijarnog tipa, a smanjenje ekspresije α7 nAChR bilo je praćeno gubitkom neurona . Nađena je smanjena ekspresija α4 i α7 mRNA u neuronima koji su imali veliku količinu hiperfosforiliranog tau proteina u korteksu na lokaliziranim mjestima (Banerjee 2000). Literaturni podaci o ekspresiji mAChR u mozgu bolesnika s AD su nekonzistentna. U nekim ispitivanjima ekspresija je smanjena, a drugdje ne promjenjena. Nekonzistentnost je prisutna i u istraživanjima ekspresije presinaptičkih mACh receptora; smanjena ekspresija ovih receptora u AD, značajno snižena mRNA M1 podtipa receptora u korteksu bez promjena

drugih podtipova, kao i porast ekspresije mRNA M1 podtipa receptora (Mash 1985). Ekspresija M4 receptora u jednom je ispitivanju bila povišena u hipokampusu i korteksu bolesnika s AD-om, a u drugom snižena. Od ostalih podtipova muskarinskih receptora istraženih u mozgu bolesnika s AD-om utvrđena je snižena ekspresija M2 receptora (Flynn 1995). Zanimljivo je da se promjena u ekspresiji sintaze dušikovog oksida, enzima koji katalizira proizvodnju NO, promatra u hipokampusu osoba oboljelih od Alzheimerove bolesti, neurodegenerativnog poremećaja karakteriziranog poremećajem pamćenja (Fagnou i Tuchek, 1995).

3. ZAKLJUČAK

Istraživanja na modelima beskralježnjaka i kralježnjaka omogućila su razumijevanje molekularnih i biokemijskih mehanizama na kojima se temelji učenje i pamćenje. Temelji procesa učenja nalaze se u fiziološkim i kemijskim promjenama zabilježenim u sinapsama. Posebno je značajno postojanje plastičnosti sinapsi na kojima se temelje procesi pamćenja. Utvrđeno je da su neke ključne molekule povezane s učenjem i pamćenjem, no gotovo je nemoguće postaviti sveobuhvatnu hipotezu o mehanizmu učenja. Pitanje koje do danas nije razjašnjeno i na koje odgovor trebaju dati buduća istraživanja odnosi se na način kojim su mehanizmi povezani s određenim moždanim strukturama. Odgovor na to pitanje možda će dati pronalazak više životinjskih modela s prirodnim deficitom učenja i pamćenja.

4. LITERATURA

Alud, D. S., Kornecook, T. J., Bastianetto, S., Quirion, R. (2002) Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to β-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. Progress in Neurobiology 68: 209-245.

Arendt, T., Schugens, M. M., Bigl, V. (1990) The cholinergic system and memory: Amelioration of ethanol-induced memory deficiency by physostigmine in rat. Acta Neurobiologiae Experimentalis 50: 251–262.

Arshavsky, Y. I. (2014) Alzheimer Disease and Cellular Mechanisms of Memory Storage. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology 73: 192-205.

Banerjee, C., Nyengaard, J. R., Wevers, A. i sur. (2000) Cellular expression of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor protein in the temporal cortex in Alzheimer's and Parkinson's disease-a stereological approach. Neurobiology 7: 666–672.

Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., Lippa, A. S. (1982) The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science 217: 408–414.

Baudry, M., Bi, X., Gall, C., Lynch G. (2011) The biochemistry of memory: The 26 year journey of a 'new and specific hypothesis'. Neurobiology of Learning and Memory 95: 125-133.

Bierer, L. M., Haroutunian, V., Gabriel, S. i sur. (1995) Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits. Journal of Neurochemistry 64: 749–760.

Bliss, T. V., Collingridge, G. L. (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature 361: 31–39.

Blokland, A. (1995) Acetylcholine: A neurotransmimtter for learning and memory? Brain Research Reviews. 21: 285–300.

Boller, F., Forette, F. (1989) Alzheimer's disease and THA: a review of the cholinergic theory and of preliminary results. Biomedicine & Pharmacotherapy 43:487-491.

Cooper, J. R., Bloom, F. E., Roth, R. H. (2003) Acetylcholine. ur. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. New York: Oxford University Press str. 151-179.

Davis, K.L., Mohs, R. C., Marin, D. i sur. (1999) Cholinergic markers in elderly patients with early signs of Alzheimer disease. JAMA 281: 1401–6.

Fagnou, D. D., Tuchek J. M. (1995) The biochemistry of learning and memory. Molecular and Cellular Biochemistry 149: 279-286.

Flynn, D. D., Ferrari-DiLeo, G., Mash, D. C., Levey, A. I. (1995) Differential regulation of molecular subtypes of muscarinic receptors in Alzheimer's disease. Journal of Neurochemistry 64: 1888–1891.

Frisoni, G. B., Fox, N. C., Jack, C. R., Scheltens, P., Thompson, P. M. (2010) The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. Nature Reviews Neurology 6: 67–77.

Jovanović, T. (2004). Pamćenje – veliko čudo prirode. Beograd: Avangarda.

Lynch, M. A. (2004) Long-Term Potentiation and Memory. Physiological Reviews 84: 87–136

Mash, D. C., Flynn, D. D., Potter, L. T. (1985) Loss of M2 muscarine receptors in the cerebral cortex in Alzheimer's disease and experimental cholinergic denervation. Science 228: 1115–1117.

Nathanson, N. M. (2008) Synthesis, trafficking, and localization of muscarinic acetylcholine receptors. Pharmacology & Therapeutics 119: 33–43.

Patterson, T. A., Gilbert, D. B., Rose, S. P. R. (1987) Pre- and post-training lesions of the intermediate medial hyperstriatum ventrale and passive avoidance learning in the chick. Experimental Brain Research 80: 189–195.

Picciotto, M. R., Higley, M. J., Mineur, Y. S. (2012) Acetylcholine as a Neuromodulator: Cholinergic Signaling Shapes Nervous System Function and Behavior. Neuron 76: 116-129.

Pinel, J. P. J. (2002). Biološka psihologija. Jastrebarsko: Naklada Slap.

Prado, M. A. M., Reis, R. A. M., Prado, V. F., De Mello, M. C., Gomez, M. V., De Mello, F. G. (2002) Regulation of acetylcholine synthesis and storage. Neurochemistry International 41: 291–299.

Sims, N. R, Bowen, D. M., Allen, S. J. i sur. (1983) Presynaptic cholinergic dysfunction in patients with dementia. Journal of Neurochemistry 40: 503–509.

Sternberg, R. J. (2004). Kognitivna psihologija. Jastrebarsko: Naklada Slap.

Zarevski, P. (2002). Psihologija pamćenja i učenja. Jastrebarsko: Naklada Slap.

WEB IZVORI

Web 1.
https://thebeholdersshare.wordpress.com/2013/01/10/the-aplysia-and-how-we-learn/

Web 2.
http://www.neurones.co.uk/Neurosciences/Tutorials/M1/M.1.B.4%20Ionotropic.html

Web 3.
http://medlib.mef.hr/2310/1/DISERTACIJA_-_Ana_Knezovic_-_merged.pdf