

Uloga NCAM molekule u procesima učenja i pamćenja

Radić, Barbara

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:181:645267>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za biologiju
Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Barbara Radić

Uloga NCAM molekule u procesima učenja i pamćenja

Završni rad

Mentorica: doc.dr.sc Irena Labak

Osijek, 2019

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

ULOGA NCAM MOLEKULE U PROCESIMA UČENJA I PAMĆENJA

Barbara Radić

Rad je izrađen na: Zavod za zoologiju

Mentorica: dr.sc. Irena Labak, doc.

Sažetak: Sinaptička plastičnost je sposobnost centralnog živčanog sustava da se mijenja u odgovoru na promjene vanjskih uvijeta. Jedan od oblika sinaptičke plastičnosti, dugoročna potencijacija (LTP), događa se u neuronima kao odgovor na promijene u učestalosti i intezitetu podražavanja određenih sinapsi. Rezultat dugoročne potencijacije očituje se u jačanju tih sinapsi, odnosno stvaranju čvrstih veza između membrana dvaju susjednih neurona. Jedna od molekula koja sudjeluje u stvaranju veza između sinapsi je NCAM (engl. *Neural Cell Adhesion Molecule*), transmembranski protein iz superporodice imunoglobulina koji homofilnim interakcijama dovodi do stanične adhezije i na taj način sudjeluje u stvaranju veza na sinapsama, te pokreće unutarstanične kaskade reakcija koje pomažu u održavanju ovih veza. Polisijalinskom kiselinom modificirani oblik ove molekule (PSA-NCAM) potiče plastičnost na način da fizički ometa stvaranje homofilnih interakcija te omogućuje migraciju neurona. PSA-NCAM najobilnija je u razvojnim stadijima centralnog živčanog sustava dok je u odraslom mozgu u najvećim koncentracijama prisutna u regijama koja zadržavaju sposobnost plastičnosti.

Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: učenje, pamćenje, sinapsa, dugoročna potencijacija, sinaptička plastičnost

Rad je pohranjen: na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice 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**ROLE OF NCAM IN LEARNING AND MEMORY****Barbara Radić****Thesis performed at:** Department of zoology**Supervisor:** Irena Labak, PhD, Asst. Prof.

Abstract: Synaptic plasticity is the ability of the central nervous system to adapt to various changes in the environment. One of the forms of synaptic plasticity, long term potentiation (LTP), occurs in neurons as a response to changes in frequency and intensity of stimulus on certain synapses. The end result of long term potentiation is the strengthening of synapses, respectively forming tight connections between membranes of opposing neurons. One of the main molecules which participates in these connections between synapses is NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule), a transmembrane protein of the immunoglobulin family, it forms homophilic interactions which lead to adhesion of cell walls on the synapses, also it causes an intracellular cascade of biochemical reactions inside the cell that help preserve the connections. A polysialated form of NCAM (PSA-NCAM) promotes synaptic plasticity by physically interfering with the formation of homophilic interactions, in this way it enables the migration of neurons. PSA-NCAM has been mainly found in the developing brain, in the adult brain it is most abundant in regions that remain plastic.

Original in: Croatian**Key words:** learning, memory, synapse, long term potentiation, synaptic plasticity**Thesis deposited:** on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

Sadržaj

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. OPĆI DIO | 3 |
| 1. Što je učenje? | 3 |
| 1.1. Podjele učenja | 3 |
| 2. Biokemija učenja i pamćenja | 5 |
| 2.1. Dugoročna plastičnost..... | 5 |
| 2.2. Kratkoročna plastičnost | 6 |
| 2.3. Dugoročna potencijacija | 6 |
| 3. Uloga NCAM u procesima učenja i pamćenja | 11 |
| 3.1. Kemijska karakterizacija NCAM-a..... | 11 |
| 3.2. NCAM signalizacija..... | 15 |
| 4. Uloga PSA-NCAM u procesima učenja i pamćenja | 19 |
| 5. Zaključak | 22 |

1. UVOD

Stanična adhezija je proces kojim stanice međusobno komuniciraju, proces se odvija ili kroz izvanstanični matriks ili uz posredstvo posebnih molekula- adhezivnih molekula. Adhezivne molekule (CAM) se dijele u četiri glavne skupine; integrini, selektini, porodica imunoglobulina i kadherini. Superporodica imunoglobulina je jedna od najvećih porodica proteina u ljudskom organizmu, a jedan od najbolje proučenih članova je NCAM (neural cell adhesion molecule). Za pravilan razvoj i preživljavanje stanica važno je da vanjski utjecaji uzrokuju brze i točne reakcije unutar stanice za što su vrlo važne interakcije između stanica i izvanstaničnog matriksa, kao i međusobne interakcije stanica, stoga su mnoga istraživanja usmjerena ka razumijevanju procesa stanične adhezije. NCAM sudjeluje u heterofilnim interakcijama između komponenata izvanstaničnog matriksa kao i u homofilnim interakcijama s NCAM molekulama na površini susjednih stanica. Pokazalo se da na molekularnoj razini NCAM pokreće unutarstaničnu kaskadu različitih biokemijskih reakcija koje vode do preživljavanja, diferencijacije, rasta i/ili modulacije neuronskih veza, što je povezano s kognitivnim i regenerativnim sposobnostima centralnog živčanog sustava (Soroka i sur, 2003). Ditlevsen i Kolkova (2009) se bave istraživanjima strukture NCAM i kako ta struktura utječe na funkciju, odnosno kako promijene koje uzrokuje vezanje NCAM utječu na molekularne procese unutar stanice. NCAM stupa u kontakt s mnogim unutarstaničnim molekulama kao što je receptor za fibroblastni faktor rasta (FGFR), adhezivna molekula L1, te nekoliko drugih faktora rasta (PDGF, BDNF i GDNF), također NCAM stvara interakcije s mnogim komponentama izvanstaničnog matriksa. Dok je NCAM primarno adhezniva molekula, dodatak velikog ugljikohidratnog lanca- polisijalinske kiseline na izvanstaničnu domenu ovog transmembranskog proteina daju mu jedinstvena svojstva. Kako objašnjavaju Gascon i suradnici (2007) veliki ugljikohidratni lanac nosi sa sobom i veliki negativan naboj koji ima negativan utjecaj na homofilne NCAM interakcije na susjedinim stanicama. Vezanje polisijalinske kiseline je proces koji ovisi o stupnju razvoja organizma, NCAM s visokim stupnjem polisijalacije je otkriven prvenstveno u razvojnim stadijima kada se događaju morfološke promijene povezane s migracijom neurona, sinaptogenezom i rastom aksona, dok u odraslom mozgu slabo modificirane NCAM stabiliziraju interakcije između stanica. U odraslom mozgu PSA se zadržava u regijama koje pokazuju visoki stupanj plastičnosti, te se upravo zato smatra molekulom koja potiče strukturnu plastičnost. Jedinstvena funkcija PSA-NCAM unutar superporodice imunoglobulina jasna je kada naglasimo da ona doprinosi različitim oblicima dugoročne potencijacije (engl. *long-term potentiation-LTP*) kao što su

hipokampalna dugoročna potencijacija, formacija memorije i neurogljalna plastičnost u hiptalamusu.

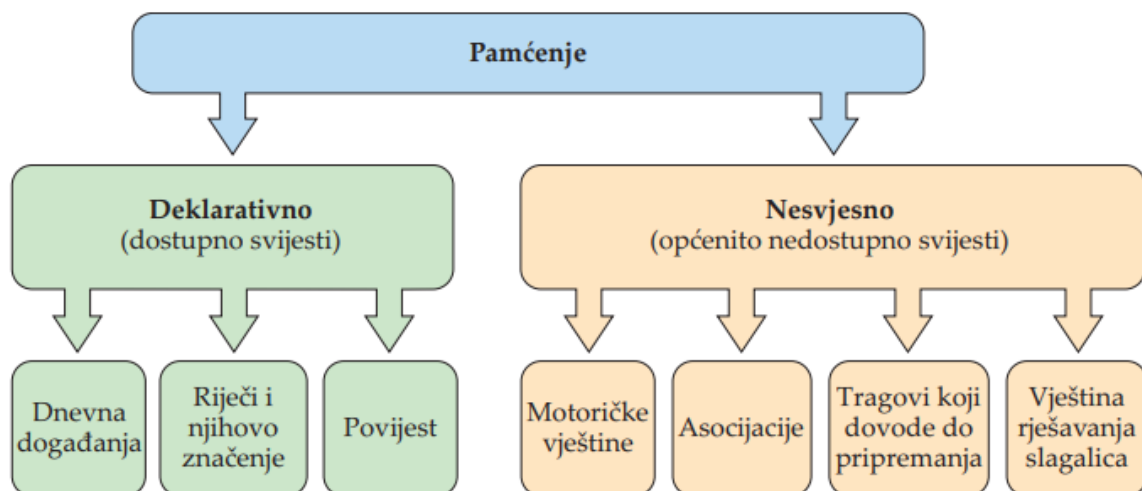
2. OPĆI DIO

1. Što je učenje?

Učenje je sposobnost centralnog živčanog sustava da se u odgovoru na promjene u okolišu i iskustvima i on sam mijenja. To je proces usvajanja novih ili promijene postojećih vještina, ponašanja, znanja te pohranjivanja novih informacija. Čovjek počinje učiti prije rođenja i taj proces se nastavlja do trenutka smrti kao posljedica stalne interakcije jedinke sa svojom okolinom.

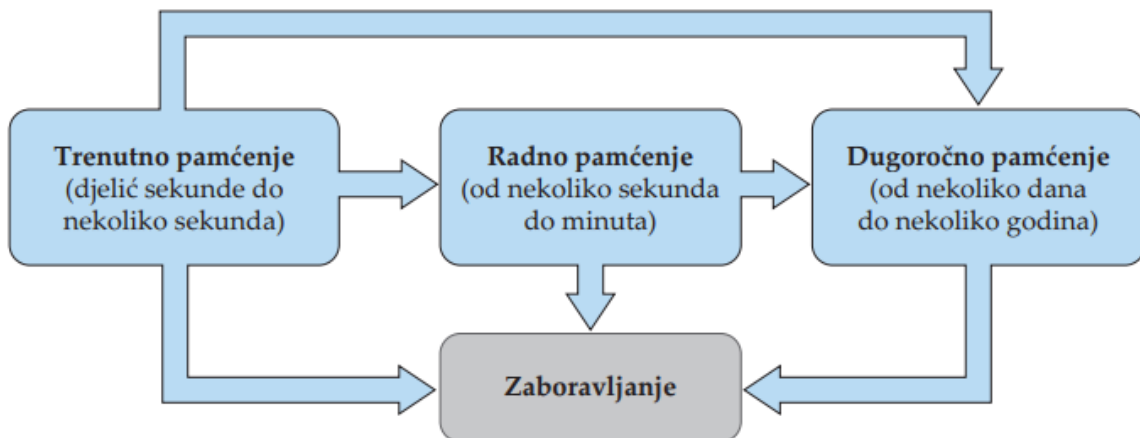
1.1. Podjele učenja

Neuroznanstvenici i psiholozi učenje, odnosno pamćenje, dijele u dvije glavne kategorije: deklarativno pamćenje i nedeklarativno, odnosno nesvjesno pamćenje (Slika 1). Deklarativno pamćenje je način pohrane informacija koji te informacije čini dostupnima za prisjećanje u bilo kojem trenutku. Važna karakteristika deklarativnog pamćenja je mogućnost izricanja tih informacija, npr. učenje novih riječi i njihovih značenja. S druge strane, nedeklarativno, odnosno proceduralno pamćenje, odnosi se na pamćenje koje ne zahtjeva svjesno prisjećanje i nije ga lako verbalizirati, ono obuhvaća motoričke vještine i asocijacije (Purves, 2004). Nedeklarativno pamćenje uključuje npr. voženje bicikla, vještinu koja se jednom kad je naučena teško zaboravlja, a njena izvedba ne zahtjeva svjesno prisjećanje naučenih informacija.



Slika 1: kvalitativna kategorizacija ljudske memorije, (Purves, 2004)

Još jedna bitna kategorizacija pamćenja je na vremenske kategorije: trenutna memorija, radna memorija i dugoročna memorija (Slika 2). Trenutno pamćenje je automatski proces pamćenja trenutnih podražaja na osjetilima koji traju od jedne do nekoliko sekundi. Stvaranje trenutnog pamćenja ne ovisi o obraćanju pažnje na podražaj koji ga izaziva (Purves, 2004). Radna memorija se može opisati kao sposobnost zadržavanja informacija nekoliko minuta, što omogućuje postizanje trenutnog cilja nakon čega slijedi zaboravljanje tih informacija, zbog čega se ova kategorija često naziva i "kratkoročnim pamćenjem", ili njihov prelazak u treću kategoriju - dugoročno pamćenje. Pojam "radna memorija" se odnosi na privremeno pohranjivanje informacija u svezi s izvođenjem drugih kognitivnih zadataka kao što je čitanje, rješavanje problema ili učenje (Baddeley, 1983). Radna memorija prelazi u dugoročno pamćenje procesom konsolidacije, odnosno višestrukim ponavljanjem istoga podražaja, a dugoročno pamćenje podrazumijeva zadržavanje informacija u trajnom obliku, tijekom nekoliko sati, dana, mjeseci ili čak godina (Purves, 2004).



Slika 2: vremenska kategorizacija ljudskog pamćenja (Purves, 2004)

Postoji još jedna kategorija pamćenja koja većinom biva izostavljena u standardnim podjelama, a to je filogenetsko pamćenje. Filogenetsko pamćenje se odnosi na pamćenje informacija tijekom evolucije određene vrste, odnosno na genetski kodirane informacije koje određuju kako će neuroni biti međusobno povezani u trenutku rođenja što rezultira karakterističnim urođenim ponašanjima mladih jedinki (Purves, 2004).

2. Biokemija učenja i pamćenja

Sinaptička plastičnost je sposobnost mijenjanja citoarhitekture mozga, odnosno stvaranja novih sinapsi između već postojećih neurona i slabljenja ili pojačavanja već postojećih sinapsi, ovisno o tome koliko se te sinapse podražuju (Purves, 2004). Sinaptička plastičnost može biti kratkoročna ili dugoročna. Kod kratkoročne sinaptičke plastičnosti dolazi do povećanja ili slabljenja sinaptičke transmisije, odnosno otpuštanja neurotransmitera na presinaptičkoj pukotini. Za razumijevanje prijenosa signala s jednog neurona na drugi moramo prvo razumjeti provođenje signala kroz pojedinačne neurone.

Signal se u živčanom sustavu prenosi akcijskim potencijalom - promjenom membranskog potencijala duž membrana svih neurona uključenih u neuronski krug. Membranski potencijal je razlika naboja s izvanstanične i citoplazmatske strane membrane aksona, rezultat je razlike u koncentraciji kalijevih i natrijevih kationa s obje strane membrane. Kod membrane u mirovanju koncentracija kalijevih iona veća je u citoplazmi, a koncentracija natrijevih iona veća je u izvanstaničnom prostoru, za sinaptičku signalizaciju važni su i ioni kalcija kojih je, također, više u izvanstaničnom prostoru, što će biti detaljno pojašnjeno kasnije. Prisutni su i kloridni anioni koji su također bitni za akcijski potencijal, a prisutni su u većoj koncentraciji u izvanstaničnom prostoru. Akcijski potencijal nastaje kada do aksonskog brežuljka dospije receptorni potencijal, koji je neuron primio svojim dendritima i somom, a koji je dovoljno velik da poveća potencijal aksona iznad praga podražaja. Porast napona unutar aksona uzrokuje otvaranje naponom reguliranih ionskih kanala koji dopuštaju influks natrijevih iona u stanicu i depolarizaciju membrane. Depolarizacija dijela membrane uzrokuje otvaranje susjednih naponom reguliranih ionskih kanala što produljuje akcijski potencijal duž aksona. Kada akcijski potencijal dospije do kraja aksona na presinaptičkoj membrani, uzrokuje otvaranje naponom reguliranih kalcijevih kanala što uzrokuje influks kalcijevih iona koji su bitni za otpuštanje neurotransmitera.

2.1. Dugoročna plastičnost

Postoji nekoliko oblika dugoročne sinaptičke plastičnosti - senzitivizacija i habituacija. Habituacija je pojava smanjivanja osjetljivosti na ponovljene podražaje. Često se kao primjer habituacije navodi pojava gubljenja osjećaja odjeće na našoj koži neposredno nakon odijevanja. S druge strane senzitivizacija je generalizacija odgovora tipičnog za štetan podražaj i na neštetne podražaje. U pokusima izvedenima na mekušcu *Aplysia californica* kod jedinki koje imaju

razvijenu habituaciju na podražaj doticanja sifona (koji se nakon nekog vremena prestane uvlačiti kao odgovor na mehanički podražaj) refleks povlačenja škrge se izaziva uparivanjem jake električne stimulacije repa životinje s laganim mehaničkim podražajem na sifonu. Ovo uparivanje uzrokuje da ponovljena stimulacija sifona uzrokuje refleksno povlačenje škrge jer se dogodila senzitivizacija blagog mehaničkog podražaja s električnom stimulacijom. Ponavljanje uparivanja ovih dvaju podražaja može rezultirati senzitivizacijom koja traje i do nekoliko dana, što se smatra oblikom dugoročnog pamćenja (Purves, 2004).

2.2. Kratkoročna plastičnost

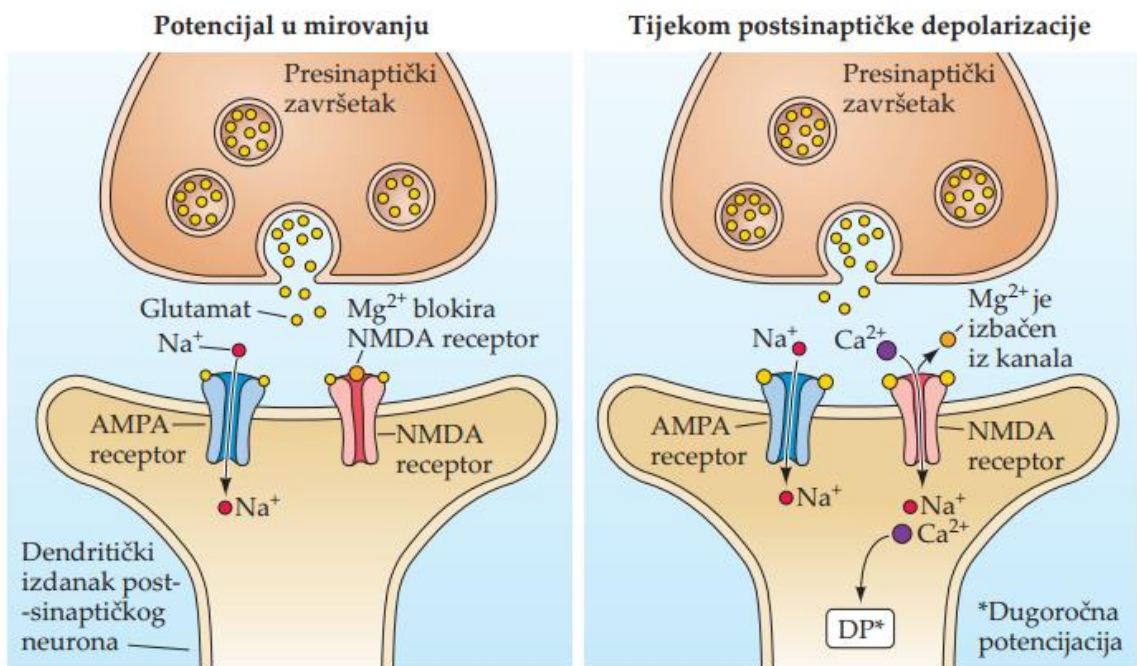
Pojava kratkoročne plastičnosti najviše je proučavana na neuromuskularnim sinapsama perifernog živčanog sustava gdje se pojavljuje u tri oblika: sinaptička facilitacija, post - tetanička potencijacija (PTP) i sinaptička depresija. Sinaptička facilitacija je rezultat povećanja unutarstanične koncentracije kalcijevih iona uzrokovanog višestrukim akcijskim potencijalima koji na sinapsu dolaze u vremenskim razmacima kraćim od 10ms. Ovo uzrokuje višestruko ulaženje iona kalcija u stanicu i duže zadržavanje iona u stanici što uzrokuje otpuštanje veće količine neurotransmitera svakim sljedećim akcijskim potencijalom, odnosno prolazno pojačanje jakosti te sinapse. Facilitacija je povećanje amplitude ekscitacijskog postsinaptičkog potencijala. Post - tetanička potencijacija je rezultat nakupljanja nekoliko visokofrekventnih presinaptičkih akcijskih potencijala koji uzrokuju produljenje povećanja koncentracije kalcijevih iona. PTP produljuje otpuštanje neurotransmitera za nekoliko minuta nakon završetka akcijskog potencijala. Glavna razlika između facilitacije i post - tetaničke potencijacije je u duljini trajanja. Sinaptička depresija je slabljenje sinaptičke transmisije uzrokovano trošenjem vezikula neurotransmitera koje su na raspolaganju za otpuštanje, koje je rezultat učestalih podražaja neurona u kratkim vremenskim razmacima. Depresija nastaje zbog iscrpljivanja zaliha vezikula neurotransmitera (Purves, 2004).

2.3. Dugoročna potencijacija

Dolaskom akcijskog potencijala na presinaptičku membranu aksona dolazi do promjene membranskog potencijala na kraju aksona što će dovesti do otvaranja naponom reguliranih kalcijevih kanala koji dopuštaju ulazak velike količine kalcijevih iona u unutarstanični prostor. Kalcijevi ioni uzrokuju fuziju membrana transportnih vezikula koje prenose neurotransmitere sa membrane aksona što uzrokuje difuziju neurotransmitera u

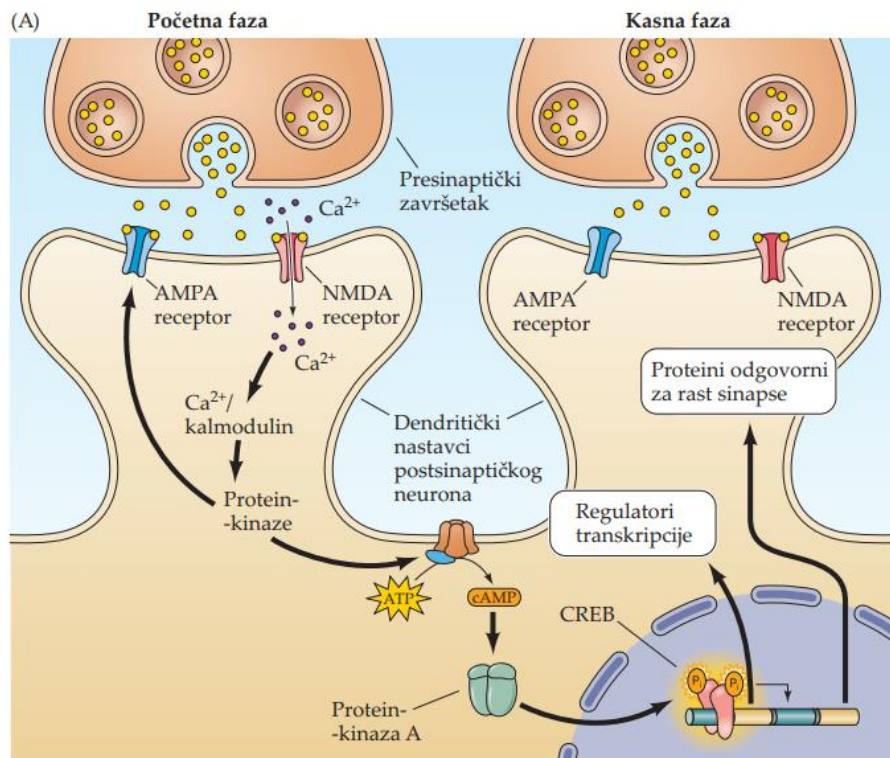
sinaptičku pukotinu (Slika4). Glutamat je glavni ekscitatorni neurotransmiter u mozgu, uzrokuje otvaranje ionotropnih glutamatnih receptora nakon čega slijedi generiranje akcijskog potencijala ovisno o depolarizaciji membrane (Stock, 2013). Nakon otpuštanja glutamata (Slika4) u sinaptičku pukotinu on dolazi do postsinaptičke membrane te otvara NMDA receptore na način da se prvobitno veže na AMPA receptore (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionska kiselina) te ih aktivira. AMPA receptori su ligandom regulirani natrijevi ionski kanali te se oni vezanjem liganda, u ovom slučaju glutamata, otvaraju i dopuštaju influks Na^+ u unutarstanični prostor postsinaptičkog neurona. AMPA receptori su kolokalizirani sa NMDA receptorima na dendritičkim spinama (Fagnou i Tucek 1995). NMDA receptori su regulirani i naponom i ligandom te da bi postali aktivni zahtijevaju depolarizaciju postsinaptičke membrane na kojoj se nalaze, kao i istovremeno otpuštanje glutamata suprotnog presinaptičkog neurona (Kandel i sur. 2014). Navedeni receptori djeluju zajedno na način da influks Na^+ uzrokuje depolarizaciju postsinaptičke membrane koja sadrži NMDA receptor. Veća koncentracija otpuštenog glutamata, uslijed povećanja frekvencije akcijskog potencijala koji dolazi na presinaptičku membranu, uzrokuje da AMPA receptor bude otvoren duže te dolazi do veće depolarizacije postsinaptičke membrane. Depolarizacija, odnosno velika koncentracija Na^+ elektrostskim odbijanjima izbacuje Mg^{2+} ion koji se nalazi u sredini NMDA receptora te blokira prolazak Ca^{2+} u stanicu (Slika 4). Nakon vezanja glutamata na izvanstaničnu stranu NMDA i depolarizacije membrane receptor konačno postaje aktivan i dopušta influks Ca^{2+} u postsinaptički neuron (Slika4). Influks kalcija uzrokuje unutarstaničnu kaskadu protein kinaza koje dovode do sinaptičke plastičnosti, odnosno pamćenja. Dugoročne promjene u sinaptičkoj transmisiji nakon LTP-a posredovane su protein kinazom A i CREB transkripcijskim faktorom. Nakon ulaska u stanicu kalcijevi ioni vežu se na protein čija aktivnost ovisi o prisutnosti Ca^{2+} - kalmodulin. Kompleks kalmodulin- Ca^{2+} djeluje na adenil ciklazu, enzim koji prevodi ATP u cAMP. cAMP pak djeluje na protein kinazu A vezanjem na regulacijske podjedinice te se regulacijske podjedinice oslobađaju s katalitičkih podjedinica koje sada postaju slobodne i aktivne (Slika 5). Katalitičke podjedinice protein kinaze A odlaze u jezgru stanice te tamo djeluju na transkripciju gena koji u svojim promotorskim regijama imaju elemente odgovora na ciklički AMP- CRE (engl. *cAMP response element*). Protein kinaza A u jezgri fosforilira CREB (protein koji se veže na CRE) koji djeluje kao transkripcijski faktor i omogućava transkripciju, u ovom slučaju, gena za proteine AMPA receptora i faktora rasta (Slika 5). Na ovaj način sintetizirani faktori rasta potiču nastajanje novih dendrita, odnosno novih sinapsi što

predstavlja temelj sinaptičke plastičnosti. Svrha stvaranja novih sinapsi te ugradnje novih AMPA receptora u postojeće sinapse je u tome da manji akcijski potencijal na presinaptičkom neuronu, uzrokuje isti krajnji odgovor na postsinaptičkom neuronu, odnosno uzrokuje jačanje te sinapse (Purves, 2004). Još jedan važan enzim u procesu dugoročne potencijacije je o kalcij-kalmodulinu ovisna kinaza II (CaMKII). CaMKII se aktivira vezanjem kompleksa kalmodulin- Ca^{2+} te se nakon toga kompleks translocira na PSD (engl. *postsynaptic density*) regiju membrane gdje pojačava transmisiju posredovanu AMPA receptorima. Ovo se događa na dva načina: CaMKII može fosforilirati glutamatni receptor tipa AMPA (GluR1) na S831 što dovodi do povećane provodljivosti ovih kanala. Drugi način je da CaMKII fosforilira stargazin, protein koji se veže na AMPA, te na taj način dolazi do povećanja broja AMPA receptora na sinapsi. Aktivnost CaMKII, zajedno s drugim Ca^{2+} -ovisnim procesima, stimulira fuziju vezikula koje nose AMPA receptore s plazmatskom membranom, povećavajući koncentraciju ovih receptora na membranama postsinaptičkih neurona (Lisman i sur. 2012). Da bi objasnili presinaptičke i postsinaptičke promjene koje se događaju tijekom LTP, predloženo je postojanje glasničke molekule koja nosi signal kroz sinaptičku pukotinu do presinaptičkog neurona. Kao primjer takve retrogradne molekule navodi se arahidonska kiselina koja se otpušta u izvanstanični prostor nakon aktivacije NMDA receptora. Ona bi mogla djelovati na povećanje otpuštanja glutamata na presinaptičkoj membrani te na potenciranje struje uzrokovane otvaranjem NMDA receptora (Fagnou i Tucek, 1995).



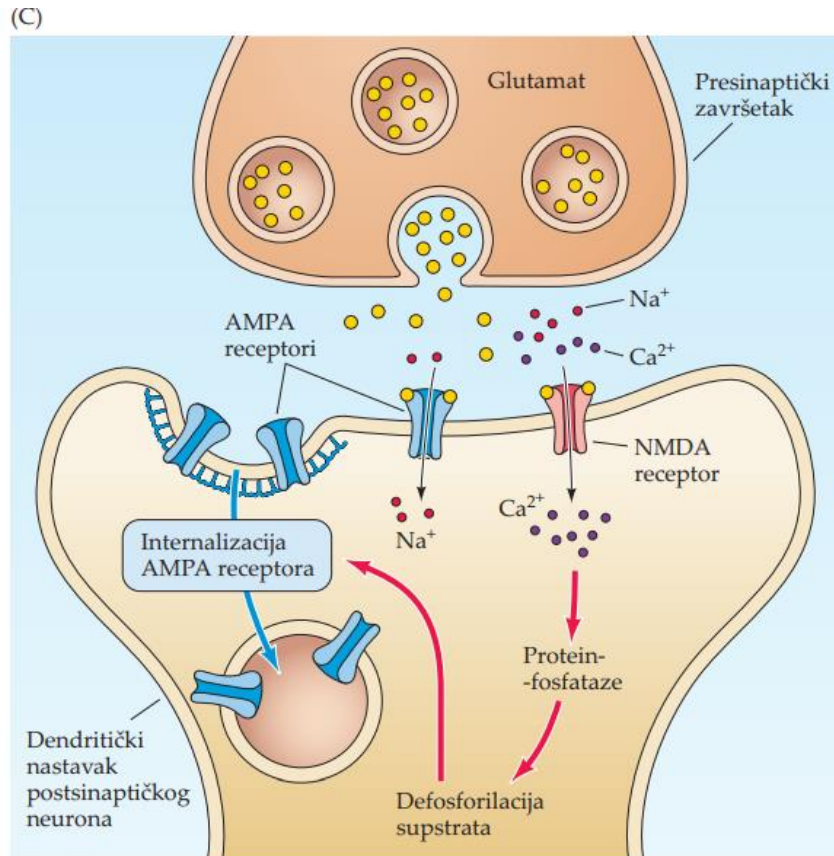
Slika3. sinaptička pukotina za vrijeme mirovanja (Purves,2004)

Slika 4: sinaptička pukotina za vrijeme depolarizacije (Purves,2004)



Slika 5: mehanizam dugoročne potencijacije, (A) kratkoročne promjene, (B) dugoročne promjene (Purves, 2004)

Dok jedan set sinapsi prolazi kroz LTP drugi set sinapsi prolazi kroz dugoročnu depresiju (engl. *long term depression*- LTD), proces suprotan dugoročnoj potencijaciji koji također ima važnu ulogu u procesu pamćenja. U procesu LTD-a na molekularnoj razini dolazi do povlačenja AMPA receptora sa postsinaptičke membrane (Slika 6). LTD zahtjeva mali porast koncentracije kalcija na postsinaptičkoj membrani koji aktivira protein fosfataznu kaskadu (Beattie i sur. 2000). Produljena sinaptička aktivnost niskih frekvencija dovodi do oblika LTD-a koji je ovisan o NMDA receptorima, a koji zahtjeva aktivnost o kalciju ovisnih fosfataza i uklanja AMPA receptore s membrane. Molekularni mehanizmi dugoročne depresije su suprotni mehanizmima LTP-a. Niska frekvencija akcijskih potencijala uzrokuje LTD jer otpuštene male količine glutamata ne uzrokuju dovoljan influks natrija u postsinaptički neuron, odnosno ne dolazi do dovoljne depolarizacije membrane zbog čega ne dolazi ni do izbacivanja magnezijevih iona iz dovoljnog broja NMDA receptora pa nema dovoljnog influksa kalcijevih iona. Ipak postoji mali influks kalcijevih iona. Neuron tu malu količinu kalcija čita kao signal za pokretanje kaskade fosfataza i uklanjanje AMPA receptora s membrane (Slika 6). Opisani procesi LTP i LTD događaju se u raznim dijelovima mozga, ali ipak proces deklarativnog pamćenja događa se u hipokampusu te on koordinira spremanje i prisjećanje informacija.



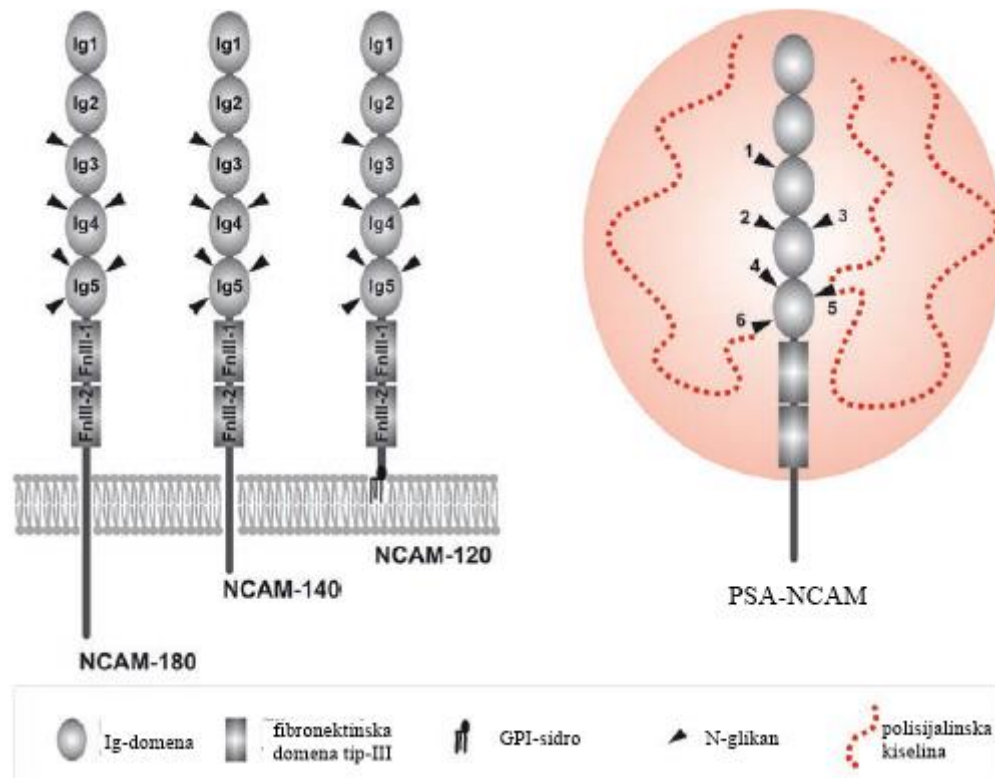
Slika 6: proces dugoročne depresije na sinaptičkoj pukotini u hipokampusu (Purves, 2004)

3. Uloga NCAM u procesima učenja i pamćenja

3.1. Kemijska karakterizacija NCAM-a

NCAM je molekula uključena u proces stanične adhezije koja je važna u morfogenezi živčanog sustava, plastičnosti te regeneraciji oštećenog tkiva. Postoje tri oblika NCAM (Slika 7.) gdje dva najduža oblika (NCAM-180 i NCAM-140) imaju transmembransku peptidnu domenu i unutarstanični modul. Najkraći oblik molekule (NCAM-120) nema ova obilježja, te je vezan za membranu stanice glikozil-fosfatidilinozitolnim sidrom (GPI sidro) (Poulsen i sur. 1999). Na molekularnoj razini, dimerizacija NCAM aktivira unutarstanične enzimske kaskade koji dovode do odgovora kao što su rast, preživljavanje i diferencijacija stanica te modulacija neuronskih veza što je važno za regenerativne i asocijativne sposobnosti. NCAM pripada obitelji imunoglobulina (Ig) i posreduje o Ca^{2+} neovisne adhezije stanica-stanica ili stanica-

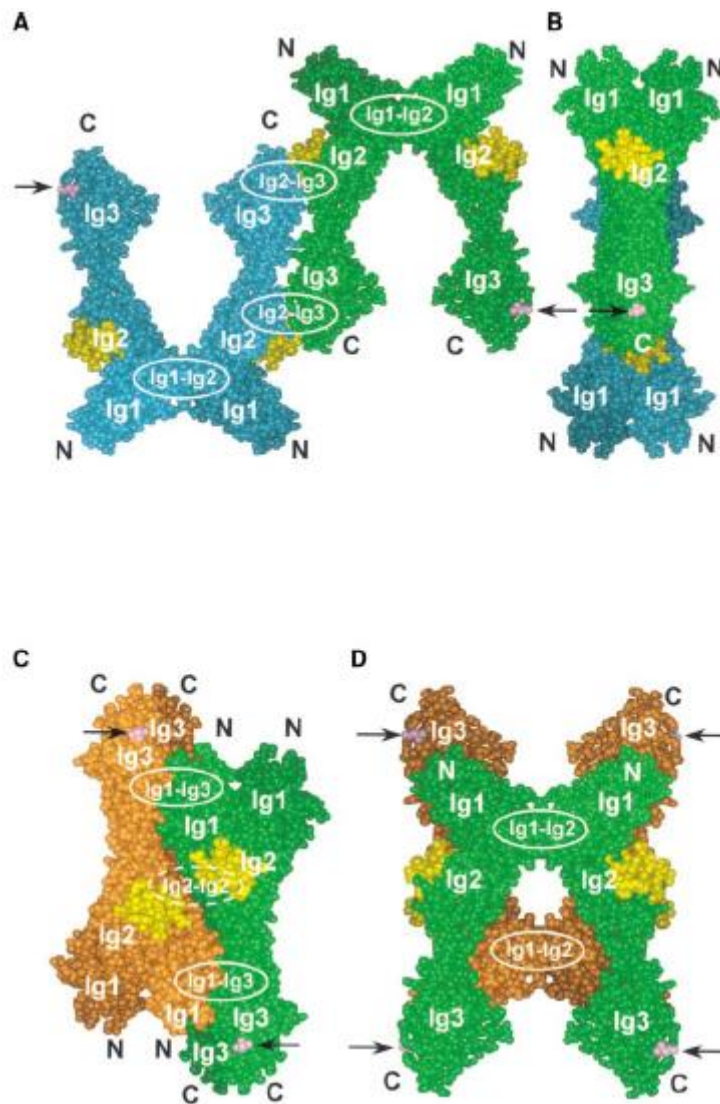
supstrat homofilnim i heterofilnim interakcijama. Ekstracelularni dijelovi molekule sastoje se od pet N-terminalnih modula i dva fibronektinska modula tipa III (Soroka i sur. 2003).



Slika7: shema strukture triju oblika NCAM molekule (NCAM-A, NCAM-B, NCAM-C) te prikaz prikaz modifikacije NCAM dodatkom polisijalinske kiseline (Izvor: Hildenbrandt i sur. 2010)

Postoji nekoliko karakterističnih interakcija u strukturi NCAM Ig-1-2-3 fragmenta (slika 8), koji mogu biti podijeljeni u dvije skupine: interakcije gdje su duge osi (N prema C terminusu) dvije Ig1-2-3 molekule orijentirane paralelno i interakcije gdje su duge osi orijentirane antiparalelno. U kristalu NCAM-a su opažene tri antiparalelne i jedna paralelna interakcija (Slika 9). Paralelna, ukrižana dimerizirajuća interakcija NCAM Ig1-2-3 uključuje Ig1 i Ig2 module (Slika 8). Najistaknutija osobina Ig1-Ig2 interakcija je interkalacija dvaju aromatskih

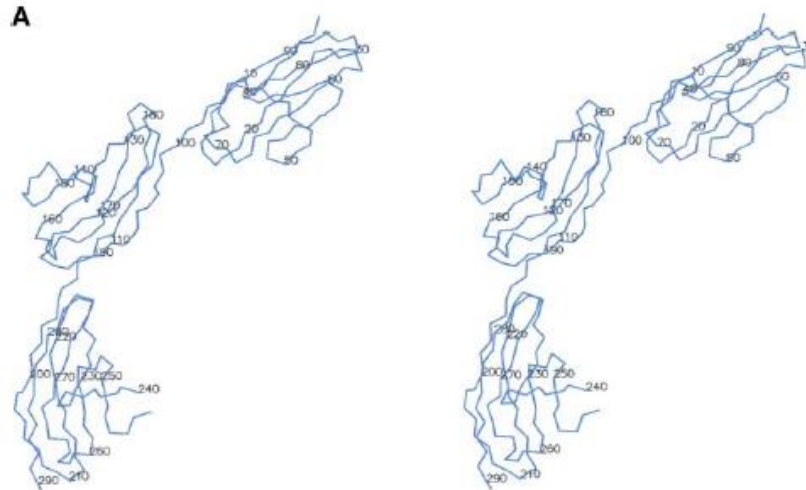
ostatka na Ig1, Phe19 i Tyr65 u hidrofobne džepove koje formiraju aminokiselinski ostatci na Ig2 . Ipak u strukturi Ig1-2-3 je prisutno čvršće vezno mjesto između Ig1 i Ig2, gdje hidroksilna skupina Tyr65 formira vodikovu vezu s Glu171, umjesto vodom posredovane vodikove veze zabilježene u Ig1-2 . U pretpostavljenoj strukturi Glu11 i Glu16 formiraju intramolekularne solne mostove s Arg 177 i Lys98 iz Ig1-Ig2 vezujuće regije. Ovi solni mostovi doprinose pravilnoj orijentaciji Ig1 prema Ig2 i stoga su važni za njihove interakcije. Antiparalelna interakcija se događa između Ig2 i Ig3 modula dvaju Ig1-2-3 molekula (Slika 8). Ig2 jedne molekule se veže na Ig3 druge molekule i obratno. Centralni element ove interakcije je interkalacija bočnog lanca Phe287 iz Ig3 u hidrofobni džep formiran bočnim lancima Val145, Arg146 i Arg158 Ig2 modula i Lys285 iz Ig3 . Arg158 je također uključen u vezanje vodom posredovanim vodikovim vezama na ostatke Lys261 i Ala288. Još jedna antiparalelna interakcija između dviju Ig1-2-3 molekula formira se između dvaju Ig2 modula. Ovdje je centralni aminokiselinski ostatak Glu114, koji stvara dvije vodikove veze sa Ser151 (na bočnom lancu i okosnici). Zajedno, ove veze posreduju formiranje dvaju okomitih, zatvaraču nalik slijedova Ig1-2-3 dimera. Paralelna interakcija NCAM Ig1-2-3 molekula u kristalu posredovana je interakcijom Ig1-Ig2 i ona odražava interakciju NCAM molekula na površini iste stanice- *cis*-interakcija. Antiparalelne interakcije posredovane Ig1-Ig3, Ig2-Ig2 i Ig2-Ig3 interakcijama odražavaju interakcije NCAM molekula na nasuprotnim staničnim membranama- *trans* interakcije. Na temelju svih ovih zapažanja Soroka i sur. (2003.) predlažu model homofilne adhezije NCAM molekula koji se sastoji od dvaju slijedova nalik zatvaraču u kojemu su *cis*-dimeri iz nasuprotnih staničnih membrana poredani kao slijedovi Ig1-Ig2 i Ig2-Ig2 interakcija. Iako *cis*-interakcije između Ig1-Ig2 modula same ne posreduju interakcije između stanica, oni vjerojatno doprinose stabilnosti *trans*-interakcija. Stoga predlažu da su *cis*-interakcije preduvjet za osnivanje *trans*-interakcija.



Slika8: prikaz interakcija između različitih Ig modula u NCAM; A.i B.: paralelna interakcija koja tvori cis-dimer u Ig1-2-3 kompleksu, stvaraju ziper u trans interakciji s Ig2-3, predstavlja trans način homofilnog vezanja C. i D.: Ig1-2-3 dimeri mogu formirati i nesimetrični čvršći zatvarač preko Ig1-Ig3 i Ig2-Ig2 trans interakcija (Soroka i sur. 2003)

Česta posttranslacijska modifikacija NCAM molekule je dodavanje polisijalinske kiseline. Polisijalinska kiselina je negativno nabijeni glikan koji utječe na sposobnost vezanja NCAM-a. Glikan zaslužan za prevođenje različitih izoformi NCAM iz adhezivnog u anti-adhezivno stanje je linearni homopolimer polisijalinska kiselina. Velika negativno nabijena i jako hidrirana struktura (Slika 7.) može se pružati izvan srži proteina i poduplati radijus ekstracelularnog dijela NCAM, povećavajući prostor između membrana i ometajući adhezivna svojstva NCAM. Polisijalinska kiselina je istaknuti regulator migracije neurona i diferencijacije

tijekom razvoja živčanog sustava te je usko povezana s neurogenezom i sinaptičkom plastičnošću u odrasлом mozgu (Hildenbrandt i sur. 2010).



Slika 9: Kristalna struktura Ig1-2-3 modula NCAM-a (Soroka i sur. 2003)

3.2. NCAM signalizacija

Prisutnost adhezivnih molekula na sinaptičkim pukotinama otvara mogućnost da one sudjeluju u pokretanju i održavanju promjena na sinapsama (Murase i Schuman 1999). Promjene na sinapsama uzrokovane NCAM uzrokovane su njenom sposobnošću stvaranja heterofilnih interakcija s unutarstaničnim ligandima, što između ostaloga, uzrokuje rast neurita. Aktivacija signalnih puteva događa se uslijed unutarstaničnog i izvanstaničnog vezanja liganada koji aktiviraju nizvodne signalne kaskade (Ditlevsen i sur. 2008).

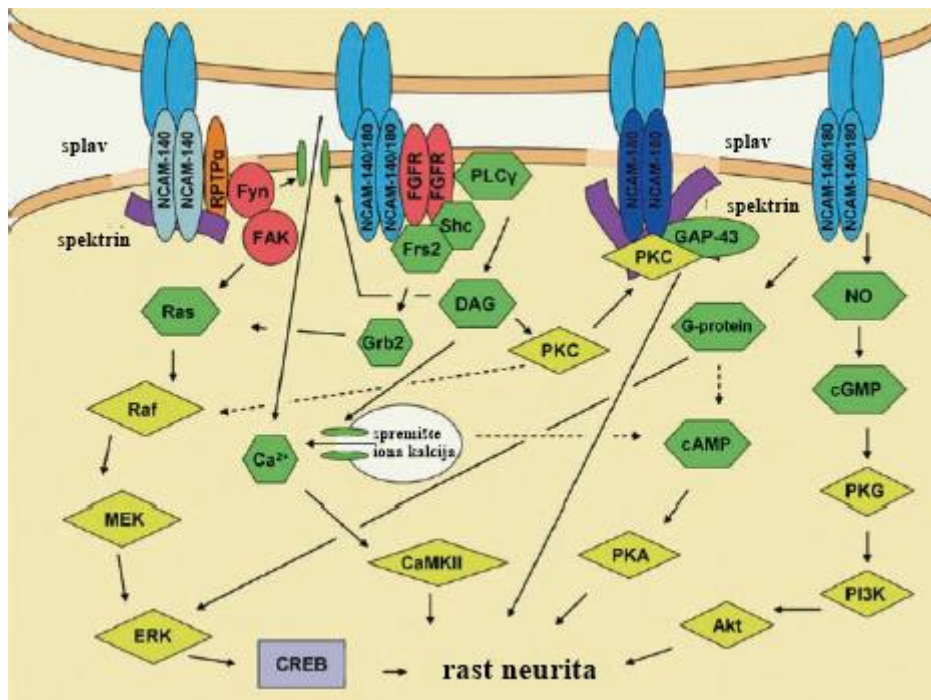
Erk1 i Erk2 su MAP kinaze koje imaju centralnu ulogu u NCAM signaliziranju. Postoje barem dva moguća puta signalizacije koja vode od NCAM do Ras-MAPK puta: jedan kroz nerekseptornu protein kinazu Fyn, a drugi preko FGFR (Ditlevsen i Kolkova 2009). U mnogim

stanicama za poticanje rasta neurita potrebna su oba navedena signalna puta. Prva grana signalizacije uključuje Fyn, nerekceptorsku tirozin kinazu iz obitelji Src. Interakcija između Fyn i NCAM se događa između jedinstvene domene na amino - kraju Fyn i citoplazmatske domene NCAM. Postoji i alternativni model u kojemu NCAM stvara interakcije s tipom proteina koji aktivira Fyn. Protein za koji se pretpostavlja da igra ulogu trećeg vezujućeg proteina NCAM/Fyn kompleksa, a koji može aktivirati Fyn je receptorska protein tirozin fosfataza (RPTP α), koja služi kao aktivator kinaza iz obitelji Src. Dokazano je da RPTP α stvara veze sa NCAM preko intracelularne domene NCAM-140, i manje sa NCAM-180. Snažne veze između RPTP α i NCAM-140 objašnjavaju zašto samo ovaj oblik NCAM može aktivirati Fyn put (Ditlevsen i sur. 2008). Nakon aktivacije Fyn, druga nerekceptorska tirozin kinaza biva aktivirana, a naziva se FAK (Ditlevsen i Kolkova 2009). MAPK put aktivira se nizvodno od ovih kinaza kao što vidimo na slici (slika 10). Aktivacijom proteina Ras koji zatim aktivira protein tirozin kinazu Raf koja fosforilira i aktivira MEK, a ona zatim aktivira ERK koji konačno djeluje na aktivaciju CREB. Druga grana puta koji dovodi do aktivacije CREB faktora preko MAPK uključuje receptor za fibronektinski faktor rasta (FGFR), a počinje na staničnoj membrani. Nuklearnom magnetskom rezonancom otkrivene su slabe veze između drugog fibronektinskog modula NCAM i trećeg Ig modula FGFR. Vezanje ekstracelularne domene NCAM na FGFR uzrokuje fosforilaciju receptora i rast neurita. FGFR se aktivira nakon trans-homofilnog vezanja dviju NCAM molekula, a sama aktivacija se događa direktnim interakcijama NCAM-FGFR na ekstracelularnoj površini. Aktivacija receptora uzrokuje njegovu dimerizaciju, koja dovodi do transfosforilacije i pokretanje unutarstanične kaskade (dimerizacija se događa nakon vezanja FGF). U odsutnosti trans-homofilnog vezanja, pretpostavlja se da je NCAM prisutan na staničnoj površini u cis-dimerima. Procjenjuje se da je 85% FGFR molekula na membranama neurona u bilo kojem trenutku vezano na NCAM dimer. Kada NCAM započne *trans* - homofilno vezanje njegovo grupiranje može rezultirati povećanjem lokalnih koncentracija za NCAM vezanog FGFR, što dovodi do dimerizacije i aktivacije FGFR (Ditlevsen i sur. 2008). FGFR je receptorska protein tirozin kinaza građena od ekstracelularne domene za vezanje liganda koja se sastoji od tri uzastopna Ig modula povezanih transmembranskom domenom s intracelularim djelom koji sadrži protein tirozin kinaznu domenu. Vezanje proteina iz porodice FGF aktivira tirozin kinaznu aktivnost, jer su oni visokoafinitetni ligandi za FGFR, i rezultira fosforilacijom regulatornih tirozinskih ostataka stvarajući vezna mjesta za nizvodne proteine koji sadrže PTB ili SH2 domene (Hinsby i sur. 2004).

Lipidni splavovi su mjesta na membranama na kojima se nalaze proteinski kompleksi višeg reda koji su uključeni u većinu procesa signalizacije. Distribucija NCAM-a u područjima lipidnih splavi važna je za regulaciju NCAM signaliziranja. Rast neurita ovisi o stalnom sastavljanju, rastavljanju i stabilizaciji aktinskih filamenata i mikrotubula, a citoplazmatske domene NCAM-140 i NCAM-180 stvaraju interakcije s α i β tubulinom, glavnim sastavicama mikrotubula (Ditlevsen i sur. 2008). NCAM je sa citoskeletom povezan preko proteina spektrina, a spektrin je povezan s lipidnim splavom. Sva tri oblika NCAM stvaraju interakcije sa spektrinom, a intracelularne domene NCAM-140 i NCAM-180 su pronađene vezane direktno na spektrin. Grupiranje NCAM rezultira regrutiranjem spektrina i redistribucijom NCAM-spektrin kompleksa na lipidne splavove, što je važno spomenuti jer je spektrin potreban za NCAM posredovan rast neurita. GAP-43 je još jedan protein koji stvara interakcije lipidnim splavovima, a koji se veže za citoskelet i uključen je u NCAM signalizaciju. Ovaj protein, vezanjem na filamente aktina sudjeluje u dinamičkoj regulaciji citoskeleta, koja je potrebna za mobilnost konusa rasta (Ditlevsen i Kolkova 2009). GAP-43 može biti fosforiliran protein kinazom C (PKC) i kazein kinazom II (CKII), a stimulacija NCAM pojačava njegovu fosforilaciju. U prisutnosti proteina Gap-43, NCAM posredovan rast neurita ovisi većinom o NCAM-180, a u odsutnosti GAP-43 rast neurita ovisi o NCAM-140. NCAM-140 posredovana aktivacija Fyn puta neophodna je za rast neurita u neuronima spinalnog ganglija koji eksprimiraju GAP-43 protein, iz čega zaključujemo da NCAM posredovano neurigeno signaliziranje nije u potpunosti ovisno o NCAM-180 u stanicama koje eksprimiraju GAP-43 (Ditlevsen i sur. 2008).

Signaliziranje potaknuto NCAM uključuje i povećavanje citoplazmatske koncentracije kalcija, a mali porast koncentracije kalcijevih iona u stanici potiče otpuštanje kalcija iz unutarstaničnih spremnika. Prema tome je predložen model u kojemu aktivacija FGFR dovodi produkcije diacilglicerola (DAG) enzimskom aktivnošću fosfolipaze $C\gamma$ (PLC γ), odnosno hidrolizom fosfoinozitol 4,5-bisfosfata (PIP2) u plazmatskoj membrani. Zatim DAG lipaza prevodi DAG u arahidonsku kiselinu za koju se pretpostavlja da sudjeluje u otvaranju kalcijevih kanala (Hinsby i sur. 2004). Rast neurita potaknut djelovanjem arahidonske kiseline može se inhibirati inhibitorima Ca^{2+} kanala, a rast posredovan NCAM može se blokirati inhibicijom DAG lipaze. Ova signalna kaskada također potiče korištenje i unutarstanične zalihe kalcijevih iona, zbog stvaranja inozitol 1,4,5-trifosfata (IP3) koji otvara kalcijeve kanale endoplazmatskog retikuluma i dopušta efluks kalcija u citoplazmu. Važnost ovog puta dokazana je otkrićem da inhibitor PLC γ inhibira NCAM - posredovan rast neurita, ali također da inhibitor PLC γ i

inhibitor DAG lipaze smanjuju rast neurita kao i porast razine unutarstaničnog kalcija. Važno opažanje bilo je da inhibicija DAG lipaze i PLC γ nije imala učinka na rast neurita uzrokovan arahidonskom kiselinom, što je potvrdilo da su DAG lipaza i PLC γ smještene uzvodno od arahidonske kiseline u ovom putu. Iako inhibicija FGFR smanjuje ulazak kalcijevih iona uzrokovan stimulacijom NCAM, ova inhibicija nije potpuna, odnosno on ne ukida u potpunosti ulazak Ca^{2+} iona. Ovo ukazuje na prisutnost druge tirozin kinaze koja je, uz FGFR, uključena u inluks kalcija potaknut NCAM, a pronađeno je da je to kinaza iz porodice Src. Navođenje konusa rasta regulirano je najobilnijim proteinom u mozgu sisavaca, o kalcij-kalmodulinu ovisnom kinazom II (CaMKII). Aktivnost CaMKII regulirana je vezanjem kalmodulina koji se aktivira vezanjem iona kalcija. Pretpostavlja se da NCAM aktivira CaMKII kroz FGFR-PLC-DAG-AA- Ca^{2+} put. Ova teorija potkrijepljena je činjenicom da je rast neurita induciran stimulacijom inluksa Ca^{2+} ili dodatkom arahidonske kiseline ili činjenicom da je FGFR inhibiran inhibitorima CaMKII. Homofilno vezanje NCAM rezultira i pojačanom autofosforilacijom protein kinaze C (PKC). PKC predstavlja točku ispreplitanja FGFR i MAPK puteva signalizacije, jer se PKC nalazi nizvodno od PLC γ i FGFR, i može aktivirati Raf i na taj način formirati vezu s MAPK putem. Protein kinaza C aktivirana je prisustvom kalcija i/ili DAG, a jedan oblik, PKC β 2, povezan je sa spektrinom te stoga i sa NCAM. Protein kinaza A također je jedna od kinaza potrebnih za poticanje rasta neurita posredovanog NCAM. Produkcija cAMP-a rezultat je aktivnosti enzima adenil ciklaze, porodice enzima koji su regulirani koncentracijom unutarstaničnog kalcija, G-proteinima ili PKC. PKA djeluje na transkripcijski faktor CREB preko kojega pokreće transkripciju gena potrebnih za sintezu novih AMPA receptora ili proteina potrebnih za stvaranje novih sinapsi, odnosno rast neurita, tj. pokreće sintezu faktora rasta. Pretpostavljalo se da CREB predstavlja točku konvergencije mnogih signalnih puteva NCAM jer mnoge od do sad navedenih kinaza (PKA, CaMKII, ERK) fosforiliraju CREB u drugim sustavima. No inhibicija PKA i CaMKII nije dovela do inhibicije rasta neurita što implicira da CREB ipak nije točka konvergencije te da putevi koji uključuju ove enzime utječu na rast neurita preko nekih drugih transkripcijskih faktora kao što je NF κ B i *c-fos* (Ditlevsen i Kolkova 2009).

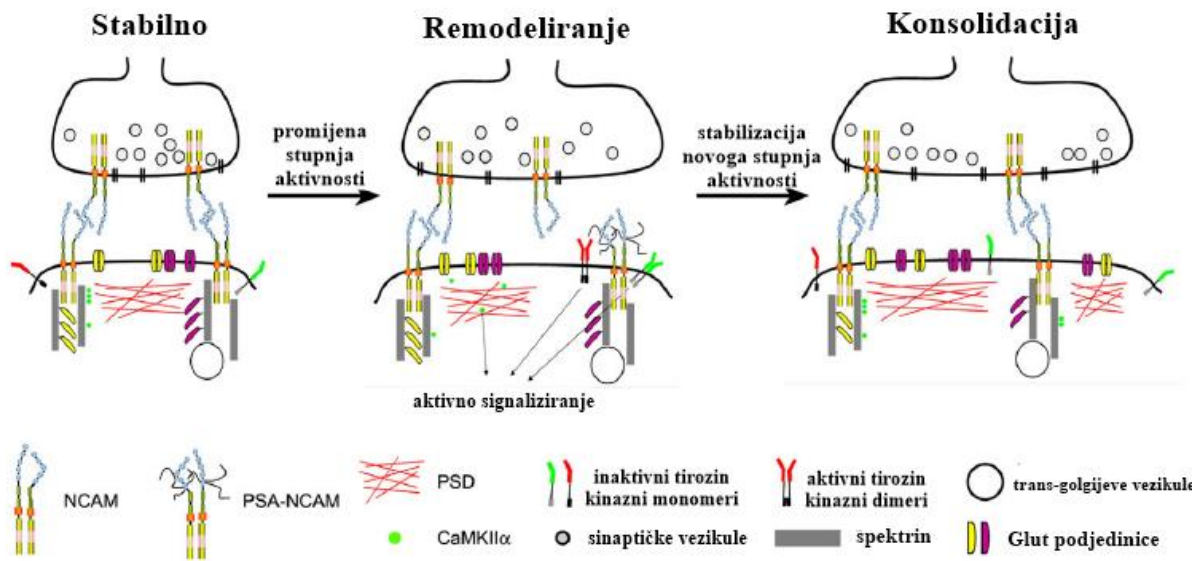


Slika 10: putevi unutarstaničnog signaliziranja potaknutog homofilnim vezanjem NCAM (Ditlevsen i Kolkova, 2009)

4. Uloga PSA-NCAM u procesima učenja i pamćenja

Polisijalinska kiselina je polimer sastavljen od devet šećernih neuroaminskih kiselina koji nalazimo u velikom broju različitih organizama od bakterijskih ovojnica, ovojnica ribljih jajašaca do embrija *Drosophila* te membrana neuralnih stanica kralježnjaka, ali i u nekim stanicama raka. Polisijalinska kiselina u sisavaca je linearni homopolimer α 2-8 N-acetilneuroaminske kiseline, to je relativno jednostavna i velika molekula s brojem monomera koji varira od 8 do preko 10. PSA se veže samo na NCAM, a to vezanje događa se na par asparaginskih aminokislinskih ostataka u Ig5 modulu izvanstaničnog dijela molekule (Bonfati, 2006). Smatra se da PSA ima utjecaj na homofilno, ali i heterofilno vezanje NCAM glikoproteinske okosnice, ona steričkim smetnjama potiče plastičnost (Senkov i sur. 2006). Biosinteza PSA-NCAM je regulirana električnom aktivnosti aksona ili gubitkom inputa s periferije, ali može biti regulirana i povećanjem unutarstanične razine kalcijevih iona uzrokovane otvaranjem NMDA-receptora koje može pokrenuti egzocitozu ili endocitozu PSA-NCAM. Na staničnim membranama PSA-NCAM može biti prisutna ili na cijeloj staničnoj površini ili samo na nekim njenim dijelovima, npr. zreli olfaktorni receptorni neuroni i

hipotalamički neuroni ne sadrže PSA na somama, ali je ona jako eksprimirana na aksonima. Za razliku od NCAM proteina, koji je prisutan u čitavom središnjem živčanom sustavu svakoj dobi jedinke, distribucija PSA-NCAM se i kvalitativno i kvantitativno razlikuje tijekom razvoja i u odrasloj dobi (Bonfati, 2006). Tijekom embrionalnog i postnatalnog razvoja PSA-NCAM prisutna je u velikim koncentracijama u svim područjima mozga, ali u odrasloj dobi zabilježena je samo u onim strukturama mozga koje imaju mogućnost mijenjanja, odnosno sinaptičke plastičnosti. PSA-NCAM je dominantno eksprimirana tijekom embrionalnog razvoja, gdje čini oko 30% ukupnih NCAM molekula, taj broj u odraslom stadiju smanjuje se na 10% ili manje (Hinsby i sur. 2004). Uklanjanje PSA s NCAM enzimskom aktivnošću endosialidaze-N (Endo-N) ometa migraciju neurona, nicanje i grananje aksonskih završetaka, sinaptičku plastičnost i prostorno pamćenje (Senkov i sur. 2006). S druge strane, PSA može pozitivno modulirati heterofilne interakcije NCAM s heparan-sulfat proteoglikanom arginom. PSA ima anti-adhezivnu ulogu, uključujući inhibiciju NCAM-NCAM interakcija između stanica, što olakšava migraciju stanica i rast aksona (Hinsby i sur. 2004). Istraživanjima je pokazano da je PSA potrebna za pravilno signaliziranje neurotrofinima te za FGFR signalizaciju, ali točni putevi i način na koji PSA utječe na signalizaciju još uvijek nisu poznati. Također je otkriveno da PSA utječe na kinetiku homofilnog vezanja NCAM na način da smanjuje agregaciju NCAM na membrani, dok s druge strane formiranje nakupina jednodimenzionalnih NCAM zatvarača u prisutnosti polisijalinske kiseline favorizira asocijaciju NCAM i FGFR stoga se PSA ponaša kao prekidač koji prevodi NCAM iz adhezivne molekule u signalnu. NCAM također pridonosi sidrenju organela na nascentne sinapse. Aktivacija sinapse rezultira povećanom ekspresijom PSA-NCAM koja potiče remodeliranje sinapse smanjenjem adhezivnih sila, što dopušta širenje ili smanjenje membrane, prebacivanje NCAM iz adhezivne u signalnu molekulu te promjenom ponašanja glutamatnih kanalnih receptora (Slika11). U zadnjem koraku sinapsa će se stabilizirati pojačanom ekspresijom NCAM. PSA-NCAM igra ulogu i u facilitaciji novih živaca, grananju aksona te formiranju novih sinapsi. Uklanjanjem PSA s NCAM otkriveno je da ona utječe na interakcije živčanog vlakna s njegovim ciljem, te na interakcije senzornih aksona u vidnom epitelu, jer dolazi do projekcijskih pogrešaka ganglijskih stanica retine. Čini se da PSA obilježava rastuća vlakna, ekspresija joj je povećana u kortikospinalnom sustavu u trenutku kada se počinju formirati kolateralne grane na razini moždanog debla, a nakon uklanjanja PSA enzimom Endo-N formacija kortikospinalnih aksona jako je smanjena. Svi ovi primjeri navode na zaključak da ekspresija PSA-NCAM tijekom razvoja, ali i tijekom plastičnih promjena sudjeluje u reguliranju rasta aksona (Gascona i sur. 2007).



Slika 11: utjecaj PSA-NCAM na sinaptičku plastičnost (Gascona i sur. 2007)

5. Zaključak

Dok je utjecaj NCAM na procese učenja relativno dobro razjašnjen dosadašnjim istraživanjima, utjecaj polisijalinskom kiselinom modificirane molekule- PSA-NCAM još uvijek ostaje neistražen. Jasno je da PSA omogućava proces dugoročne potencijacije ometanjem adhezije membrana neurona koji prolaze LTP, ona svojim velikim volumenom i negativnim nabojem predstavlja steričku smetnju koja onemogućava približavanje stanica te stvaranje homofilnih NCAM-NCAM interakcija nasuprotnih stanica. Stvaranje homofilnih interakcija zadnji je korak sinaptičke plastičnosti jer se njime formiraju čvrste veze između nasuprotnih sinapsi, a te interakcije također potiču unutarstaničnu enzimsku kaskadu koja rezultira dodatnim pojačavanjem provodljivosti i jakosti sinapse. Dakle NCAM i PSA-NCAM imaju suprotne uloge, jedna potiče čvrste veze dok druga omogućava migraciju neuronskih nastavaka. Što se točno događa na citoplazmatskoj strani stanice u prisutnosti PSA-NCAM ostaje otvoreno pitanje koje bi moglo pokrenuti mnoga nova istraživanja.

Literatura:

1. Baddeley, A. D. "Working Memory." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, vol. 302, no. 1110, 1983, pp. 311–324.
2. Beattie, E.C., Carroll, R.C., Yu, X., Morishita, W., Yasuda, H., von Zastrow, M., i Malenka, R.C. (2000). Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signaling mechanism shared with LTD. *Nat. Neurosci.* 3, 1291–1300.
3. Bonfanti, Luca. (2006). Bonfanti, L. PSA-NCAM in mammalian structural plasticity and neurogenesis. *Prog. Neurobiol.* 80, 129-164. *Progress in neurobiology.* 80. 129-64.
4. D. Fagnou, Danielle & M. Tucek, John. (1995). The biochemistry of learning and memory. *Molecular and cellular biochemistry.* 149-150. 279-86.
5. Dorte Kornerup Ditlevsen, Gro Klitgaard Povlsen, Vladimir Berezin, i Elisabeth Bock (2008) NCAM Induced Intracellular Signaling Revisited, *Journal of Neuroscience Research* 86:727–743 (2008)
6. Dorte Kornerup Ditlevsen i Kateryna Kolkova (2009) Signaling Pathways Involved in NCAM-Induced Neurite Outgrowth, *Structure and Function of the Neural Cell Adhesion Molecule NCAM, Advances in Experimental Medicine and Biology* 663, 151.-168.,
7. Eduardo Gascona, Laszlo Vutskits, Jozsef Zoltan Kiss (2007.), Polysialic acid–neural cell adhesion molecule in brain plasticity: From synapses to integration of new neurons; *Brain Research Reviews* 56 (2007) 101-118
8. Hildebrandt, Herbert, Mühlenhoff, Martina i Gerardy-Schahn, Rita. (2010). Polysialylation of NCAM. *Advances in experimental medicine and biology.* 663. 95-109.
9. Kandel, E.R., Dudai, Y., i Mayford, M.R. (2014). The Molecular and Systems Biology of Memory. *Cell*, 157, 163-186.
10. Kochoyan A, Poulsen FM, Berezin V, Bock E, Kiselyov VV. Structural basis for the activation of FGFR by NCAM. *Protein Sci.* 2008;17(10):1698–1705.
11. Lisman, J.E., Yasuda, R., i Raghavachari, S. (2012). Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nature Reviews Neuroscience*, 13, 169-182.
12. Murase, Sachiko i M Schuman, Erin. (1999). The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory. *Current opinion in cell biology.* 11. 549-53.

13. M Hinsby, Anders i Berezin, Vladimir & Bock, Elisabeth. (2004). Molecular mechanisms of NCAM function. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 9. 2227-44.
14. Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A.-S., McNamara, J. O., i Williams, S. M. (Eds.). (2004). *Neuroscience* (3rd ed.). Sunderland, MA, US: Sinauer Associates
15. Senkov, O., Sun, M., Weinhold, B., Gerardy-Schahn, R., Schachner, M., i Dityatev, A. (2006). Polysialylated neural cell adhesion molecule is involved in induction of long-term potentiation and memory acquisition and consolidation in a fear-conditioning paradigm. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26 42, 10888-109898 .
16. Soroka, Vladislav, Kolkova, Katya, S Kastrup, Jette, Diederichs, Kay, Breed, Jason, Kiselyov, Vladislav, M Poulsen, Flemming, K Larsen, Ingrid, Welte, Wolfram, Berezin, Vladimir, Bock, Elisabeth i Kasper, Christina. (2003). Structure and Interactions of NCAM Ig1-2-3 Suggest a Novel Zipper Mechanism for Homophilic Adhesion. *Structure* (London, England : 1993). 11. 1291-301.
17. Stock JB, Zhang S. The biochemistry of memory. *Curr Biol*. 2013;23(17):R741–R745.