

МЕХАНИЗМЫ НЕРВНОЙ ПАМЯТИ. Сообщение 2. МЕХАНИЗМЫ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Военно-медицинский факультет в БГМУ

Уже в самом начале исследований памяти перед учеными встал вопрос: а какие, собственно, отделы центральной нервной системы ответственны за формирование энграмм памяти? Для уточнения этого момента были использованы самые различные методы исследования: от неинвазивных (МРТ, наscalьповые электроды [23]), до интракраниального вживления электродов [24], прижизненного изучения деятельности отдельных нейронов [9] и микроскопического исследования биоптатов мозга [17]. Бесспорным «лидером», претендующим на роль хранителя памяти, стал гиппокамп [9] и другие образования круга Papez (hippocampal formation – mammillary bodies – anterior thalamus – cingulate cortex – parahippocampal gyrus – hippocampal formation) [27]. Однако в других экспериментах было установлено вовлечение в процесс запоминания префронтальной [30], заднего парietoальной [16] отделов, вентромедиальной области, средней височной доли [12] и других отделов головного мозга. Такая «тотальная» вовлеченность мозговых структур в механизм запоминания позволила утверждать, что в консолидации памяти участвуют различные отделы и уровни центральной нервной системы, при этом соблюдается принцип «... распределенной, но оптимально минимизированной матрицы памяти» (Бехтерева Н.П., 1980). Гиппокампу же в этой матрице отводится роль координатора активации корковых нейронов [28].

Несмотря на заманчивость исследования механизмов памяти на человеке, возможности его использования в качестве экспериментальной модели были весьма ограничены по причинам техническим и деонтологическим. Такие исследования ограничивались

обследованием и лечением (в том числе оперативным) пациентов с мнестическими расстройствами при болезни Альцгеймера, синдроме Корсакова, эпилепсии, шизофрении [4, 24, 28]. При этом в нейронах находили изменения структуры различной степени: от изменения концентрации отдельных элементов (например – снижение уровня кальция, накопление амилоида при болезни Альцгеймера [4]) до нарушений структуры цитоскелета [3]. Однако об исследовании молекулярных основ синаптогенеза речь идти не могла.

Поэтому при создании экспериментальной базы для изучения простейших форм хранения памяти исследователями был поставлен на службу редуционистский метод. В качестве экспериментальных моделей применялись гигантская морская улитка *Aplysia*, мыши, крысы, кошки и т.д. Преимуществами, например, улитки *Aplysia* являлись большие размеры нейронов ЦНС (могут быть заметны невооруженным глазом), относительно небольшое их общее количество, минимум вовлечения нейронов в обеспечение простейших рефлексов, возможность рассечения нейрона для забора материала и др. [12]. Экспериментальные данные, полученные при исследовании таких относительно простых организмов, позволили заново переосмыслить и систематизировать уже имевшуюся информацию о природе памяти и реконструировать на их основе целостную теорию механизмах консолидации воспоминаний.

Исследование каскада молекулярных реакций при консолидации памяти показало, что активация различных уровней этого каскада изменяет продолжительность хранения информации в нейронных сетях [15]. Схематичное деление памяти на кратковремен-

ную память (short-term memory – STM) и долговременную (long-term memory – LTM) было известно еще со времени, когда исследование механизмов памяти было прерогативой нейрофизиологов. Принципиальное отличие между STM и LTM заключалось именно во времени хранения новой информации. Однако четкие временные границы разделения STM и LTM определены не были. Так информация, «хранимая» в LTM, воспроизводилась как через 2-3 часа от момента ее предъявления, так и спустя нескольких месяцев и даже лет (вплоть до продолжительности всей жизни). При этом отличий в механизме запечатления воспоминаний, которые воспроизводятся через 3 часа или, например, через 3 года, обнаружено не было. При формировании кратковременных воспоминаний информация могла быть воспроизведена только в промежутке от нескольких минут до 1-1,5 часов от момента ее предъявления. В некоторых исследованиях упоминалась так называемая «рабочая» память (working memory), продолжительность которой исчислялась несколькими секундами (типичный пример – прочитанный телефонный номер, немедленно забытый после набора) [8].

Результаты исследований показывали, что основное отличие в механизмах формирования STM и LTM чаще всего заключается в частоте повторного предъявления новой информации [29]. Однако молекулярные процессы, лежащие в основе консолидации STM и LTM, были экспериментально раскрыты только в последние 15-20 лет. Было доказано, что основной отличительный признак механизма консолидации LTM – это вовлечение в данный процесс генома нейрона, синтез новых белковых молекул и образование новых синаптических контактов [25]. Однако начальные реакции консолидации памяти как для STM, так и для LTM оказались общими.

Как известно, в типичном химическом синапсе выделяют пресинаптическую часть, синаптическую щель и постсинаптическую часть. При этом в качестве как пре-, так и постсинаптической части синапса может выступать любой участок нейрона, что позволяет нейрону образовывать контакты с любыми сегментами соседних нервных клеток [1]. При постоянном поступлении новой информации (обучении) отмечается усиленное ветвление дендритного дерева [18]. В результате происходит пространственное сближение различных нейронов и создаются предпосылки их взаимного влияния, запуска внутриклеточных реакций и, как следствие, образования синапсов [14].

Выделение нейротрансмиттера.

Инициатором межнейронного взаимодействия чаще всего является «потенциальная» пресинаптическая часть формируемого синапса. Филаментозные белки нервной терминали (актин, тубулин, синапсины I и II, анкирин, спектрин, белки нейрофиламентов и др.) образуют плотные гексагональные проекции (ГП) – структурные элементы пресинаптической решетки (ПР). Конформационные перестройки данных структур по пути полимеризация-деполимеризация изменяют фазовое состояние цитоплазмы (переходы гель-золь) и, как следствие, определяют подвижность внутриклеточных органелл (в том числе – синаптических

пузырьков) [1, 5, 11]. Направление данных процессов зависит от уровня свободного Ca^{2+} в цитозоле нейрона.

Поступление свободного Ca^{2+} в цитоплазму происходит при вовлечении нервной терминали в процесс возбуждения, что в свою очередь приводит к активации целого ряда ферментативных систем, регулирующих выделение нейромедиатора. Так, активация Ca^{2+} -кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (Ca^{2+} -calmodulin-dependent protein kinase II – CaMK II) приводит к разрыву связей синапсина I с цитоскелетом, увеличивая таким образом подвижность синаптических пузырьков. Далее следует целый каскад протеин-протеиновых взаимодействий, следствием которых является квантовое выделение нейромедиатора из пресинаптического окончания [1, 5, 14].

В качестве нейромедиатора могут выступать серотонин, аминокислоты (L-глутамат, ГАМК), норадреналин, ацетилхолин и др. [11]. Их участие в процессах пластичности синапсов доказано экспериментально (чаще всего – методом селективной блокады данных веществ локальным введением их антагонистов). Действие этих веществ как нейротрансмиттеров основано на их способности взаимодействовать со специфическими рецепторами на мембране соседних нейронов (потенциальная постсинаптическая часть синапса). При этом рецепторы нейромедиаторов – это чаще всего ионные каналы, конформационные перестройки которых изменяют проницаемость клеточной мембраны для ионов.

Основным возбуждающим нейромедиатором центральной нервной системы является глутамат [8, 11]. В нервных клетках имеется два его специфических рецептора – NMDA (N-methyl-D-aspartate) и AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole-propionic acid). Набольшая концентрация данных рецепторов имеется, как уже отмечалось, на дендритных шипиках, что, вероятно, и определяет первостепенную роль данных структур в синаптогенезе [18, 22]. Основная их функция – контроль проницаемости мембраны для ионов Ca^{2+} , Na^+ и K^+ . Эти трансмембранные каналы – структуры отнюдь не изолированные и «самостоятельные». В уже сформированном синапсе, например, NMDA и AMPA рецепторы являются частью сложного конгломерата, включающего около 100 фибриллярных и глобулярных белков и образующих постсинаптическое уплотнение (postsynaptic density – PSD) [1, 7]. В состав PSD входят CaMKII, протеинфосфатаза 1, нейронная NO-синтаза и MAPK (mitogen-activated protein kinase) – то есть, ферментные системы, имеющие непосредственное отношение к процессам консолидации памяти и о которых пойдет речь ниже. Все эти белки, входящие в состав PSD, являются первыми мишенями для входящего тока ионов [7].

При захвате молекул глутамата NMDA и/или AMPA рецепторами снимается Mg^{2+} -блок NMDA и AMPA каналов. Это позволяет Na^+ проникать в клетку, а K^+ – выходить из нее, что приводит к деполяризации мембраны и генерации возбуждающего постсинаптического потенциала (excitatory postsynaptic potential – EPSP). При переходе на основной ствол нейрита интенсивность EPSP резко снижается, поэтому отдель-

ного EPSP для генерации потенциала действия (то есть, возбуждения всего нейрона) недостаточно [2]. Однако это не означает, что генерация даже одного EPSP проходит бесследно. Во-первых, в нейроне имеет место суммация потенциалов от отдельных нейритов для генерации общего потенциала действия [7]. Во-вторых, локальные EPSP вносят свой вклад в фоновую активность нервной ткани. И наконец, в-третьих, при снятии Mg^{2+} -блока NMDA и AMPA рецепторов через их канал в нейрон начинает поступать свободный Ca^{2+} , что приводит к активации нескольких каскадов ферментативных реакций, имеющих непосредственное отношение к консолидации памяти. При суммации отдельных EPSP и общем возбуждении нейрона происходит активация и потенциалзависимых ионных каналов (voltage dependent Ca^{2+} channels – VDCC), которые обеспечивают дополнительный вход Ca^{2+} в клетку [7].

Аденилатциклаза и CaMK II.

Какие же реакции в постсинаптическом нейроне запускаются при его активации? Наиболее известный сигнальный путь – это активация аденилатциклазы (adenyl cyclase – AC) [19]. AC состоит из рецептора нейромедиатора, ГТФ (GTP), структурного белка Gs и каталитической субъединицы. При взаимодействии нейромедиатора со своим специфическим рецептором происходит соединение Gs и GTP, что активирует каталитическую субъединицу AC. Активированная AC в свою очередь запускает синтез цАМФ (сAMP) из АТФ (АТР). Активация AC происходит также при увеличении уровня свободного Ca^{2+} . В этом случае активация опосредована кальмодулином (calmodulin – CaM), в присутствии которого активность AC увеличивается впятеро [7, 19]. При этом Ca^{2+} может проникать в клетку при активации специфических ионных каналов (например, активация NMDA или AMPA рецепторов глутамата), либо при изменении ионной проницаемости мембраны вследствие активации рецепторов других нейромедиаторов [7, 11, 12, 19].

Экспериментально доказана возможность двойной активации AC – как нейромедиатором, так и изменением уровня Ca^{2+} посредством Ca^{2+} – CaM. Это позволяет расценивать AC как универсальный передатчик, связывающий внеклеточные сигналы различной природы с Ca^{2+} -зависимыми процессами в клетке [11, 12]. Подтверждением данному предположению служит тот факт, что как введение нейромедиатора, так и увеличение уровня Ca^{2+} приводят к увеличению продукта деятельности AC – сAMP.

При связывании поступившего в нейрон Ca^{2+} с CaM помимо активации AC происходит также активация CaMK II, синтез большей части которой происходит локально (в дендритах) путем трансляции присутствующего здесь mRNA CaMK II, меньшая часть – доставляется в собранном виде от сомы нейрона [6]. В активном состоянии CaMK II принимает участие в регуляции ионных потоков через мембрану нейрона, сокращая поток K^+ и увеличивая концентрацию свободного внутриклеточного Ca^{2+} , фосфорилируя AMPA рецепторы, или облегчая доставку к синапсу новых рецепторов AMPA [15, 21]. Имеются экспериментальные данные о аутофосфорилировании CaMK II [6]. В

свою очередь активация NMDA рецепторов быстро увеличивает уровень CaMK II. Как субстанция, облегчающая проникновение Ca^{2+} в клетку, CaMK II рассматривается как основное звено механизма постоянной генерации сигналов, лежащего в основе LTP и консолидации LTM [12, 13]. Однако в исследованиях [6] было доказано, что полное устранение mRNA CaMK II из постсинаптических дендритов не приводит к блокированию LTP. Результаты этого эксперимента позволяют утверждать, что в индукции LTP принимает участие не только CaMK II, а все семейство CaMK (CaMK I, CaMK IV и др) [6, 10].

Вторым посредником – продуктом деятельности активированной AC – является сAMP, которая изменяет активность целого ряда биохимических процессов, играющих существенные роли в синаптической пластичности и консолидации памяти. В эти процессы вовлечены калпаин, фосфолипазы, протеинкиназы и др.. Большинство экспериментов было сосредоточено на изучении процессов фосфорилирования и, в частности, на динамике активности протеинкиназ. Была выявлена прямая корреляция между их активностью и обучаемостью экспериментальных животных. Также было установлено, что независимо от уровня включения протеинкиназ в процесс синаптической пластичности, все они являются ключевыми молекулярными шагами механизма консолидации памяти [1, 11, 12].

Активация киназ.

Одна из основных мишеней сAMP – сAMP-зависимая протеинкиназа (сAMP-dependent protein kinase – PKA), состоящая из регуляторной и каталитической субъединиц. Связываясь с регуляторной субъединицей, сAMP обуславливает диссоциацию PKA и освобождение ее каталитической субъединицы. В результате этих процессов каталитические субъединицы PKA приобретают способность фосфорилировать субстраты. В постсинаптической части синапса субстратом могут являться субъединицы трансмембранных каналов, фосфорилирование которых увеличивает их чувствительность к действию нейромедиатора. Кроме того, каталитическая субъединица PKA может фосфорилировать регуляторную субъединицу, препятствуя таким образом их объединению в димер и обуславливая свою более длительную активность. При единичном воздействии (однократное воздействие нейромедиатора, подъем уровня Ca^{2+}) деятельность каталитической субъединицы PKA пространственно ограничена локусом, контактирующим с пресинаптическим нейроном. При многократном воздействии (длительное возбуждение пресинаптического нейрона) каталитическая субъединица PKA может перемещаться в другие локусы нервной клетки, в том числе – к ее ядру [11].

Еще одной известной протеинкиназой, участвующей в процессах модификации синапсов, является Ca^{2+} /фосфолипид-зависимая киназа (Ca^{2+} /phospholipid-dependent protein kinase – PKC). Активация PKC была установлена при исследовании молекулярных каскадов, ответственных за синаптические изменения у беспозвоночных. Данный фермент может быть активирован двумя путями: диацилглицеролом (1,2-diacylglycerol – DAG) или жирными кислота-

ми (олеиновая, арахидоновая кислоты). При любом пути активации РКС вносит вклад в индукцию LTP. Это было доказано в экспериментах с введением каталитической субъединицы РКС в пирамидные нейроны гиппокампа (генерация LTP) и введения ингибиторов РКС (блокирование LTP) [11].

Большинство исследователей сходится во мнении, что формирование кратковременных энграмм памяти будет определяться только ковалентными модификациями (главным образом путем фосфорилирования) уже существующих белков и многократными конформационными взаимодействиями мембранных структур («рецепторная мозаика»), в которые входят собственно единичные рецепторы, адаптерные белки, G-белки и трансмембранные ионные каналы. Все эти молекулярные образования формируют трехмерную структуру, эндоплазматическая часть которой состоит из белков киназ, фосфатаз и фосфопротеинов. Конформационные перестройки «рецепторных мозаик» позволяют осуществлять адресную (точечную) трансдукцию химических сообщений на рецепторы нейронных мембран (выделение нейромедиатора) для дальнейшего распространения нервного импульса по строго определенному пути [11, 20]. Возможность облегченного прохождения нервного импульса по новому пути (SRR) в данном случае будет определяться активностью РКА и NMDA (AMPA) рецепторов [11]. При этом продолжительность существования такого облегчения – то есть продолжительность краткосрочных воспоминаний – будет определяться двумя взаимосвязанными параметрами. Первый – поступление повторных сигналов на этот же локус нейрита, второй – продолжительность «жизни» ковалентно модифицированных белков. При однократном (либо редком) воздействии стимула (или его низкой интенсивности) модифицированные молекулы подвергаются обратным перестройкам. В частности, нивелирование ионных сдвигов после однократного возбуждения связано с высокой скоростью обмена глутаматных рецепторов [22]. cAMP-фосфодиэстераза (cAMP-phosphodiesterase) (и другие фосфодиэстеразы) осуществляет гидролиз циклических нуклеотидов, в частности – cAMP. Активность CaMK II снижается как в результате естественной дегградации активизированного голоэнзима, так и путем дефосфорилирования протеинфосфатазой 1 (proteinphosphatase 1 – PP 1) [6, 21]. Таким образом, отсутствие повторных стимулов останавливает дальнейшее развитие каскада реакций по формированию новых синапсов и нивелирует облегченное прохождение повторных импульсов [26]. В последующем при идентичном возбуждении этого же локуса нейрита каскад реакций будет запускаться как бы «с нуля» – то есть информация будет восприниматься как новая.

Литература

1. Степанов, С. С., Семченко, В. В. Современные представления о структурно-функциональной организации межнейронных синапсов центральной нервной системы // *Морфология*. 2000. – Т. 118, – № 5. С. – 71-79.
2. Archie, K. A., Mel, B. W. An intradendritic model for computation of binocular disparity / *Nat. Neurosci.* 2000. Vol. 3. P. 54 – 63.

3. Beta-amyloid accumulation correlates with cognitive dysfunction in the aged canine / B. J. Cummings, E. Head, A. J. Afagh et al. // *Neurobiol. Learn. Mem.* 1996. Vol. 66, № 1. P. 11 – 23.

4. Chen, M. The Alzheimer's plaques, tangles and memory deficits may have a common origin; part I; a calcium deficit hypothesis // *Front. Biosci.* 1998. Vol. 11, № 3. P. 27 – 31.

5. Crow, T., Xue-Bian, J. J. One-trial in vitro conditioning regulates a cytoskeletal-related protein (CSP24) in the conditioned stimulus pathway of *Hermisenda* // *J. Neurosci.* 2002. Vol. 22, № 24. P. 10514 – 10518.

6. Disruption of dendritic translation of CaMKIIalpha impairs stabilization of synaptic plasticity and memory consolidation / S. Miller, M. Yasuda, J. K. Coats et al. // *Neuron*. 2002. Vol. 36, № 3. P. 507 – 519.

7. Franks, K. M., Sejnowski, T. J. Complexity of calcium signaling in synaptic spines // *Bioessays*. 2002. Vol. 24, № 12. P. 1130 – 1144.

8. Goldman-Rakic, P. S. Cellular basis of working memory / *Neuron*. 1995. Vol. 14, № 3. P. 477 – 485.

9. Human hippocampal neurons predict how well word pairs will be remembered / K. A. Cameron, S. Yashar, C. L. Wilson, I. Fried // *Neuron*. 2001. Vol. 30, № 1. P. 289 – 298.

10. Impaired synaptic plasticity and cAMP response element-binding protein activation in Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase type IV / Gr-deficient mice / N. Ho, J. A. Liauw, F. Blaeser et al. // *J. Neurosci.* 2000. Vol. 20, № 17. P. 6459 – 6472.

11. Jodar, L., Kaneto, H. Synaptic plasticity: stairway to memory / *Jpn. J. Pharmacol.* 1995. Vol. 68, № 4. P. 359 – 387.

12. Kandel, E. R. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses // *Science*. 2001. Vol. 294, № 5544. P. 1030 – 1038.

13. Lisman, J., Schulman, H., Cline, H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory // *Nat. Rev. Neurosci.* 2002. Vol. 3, № 3. P. 175 – 190.

14. Memory from the dynamics of intrinsic membrane currents / E. Marder, L. F. Abbott, G. G. Turrigiano et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. Vol. 93, № 24. P. 13481 – 13486.

15. Molecular pharmacological dissection of short and long-term memory / L. A. Izquierdo, D. M. Barros, M. R. Vianna et al. // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2002. Vol. 22, № 3. P. 269 – 287.

16. Nakamura, K. Auditory spatial discriminatory and mnemonic neurons in rat posterior parietal cortex // *J. Neurophysiol.* 1999. Vol. 82, № 5. P. 2503 – 2517.

17. Persistent neuronal density changes related to the establishment of a motor memory / P. Morales, T. Pinto-Hamuy, V. Fernandez, E. Diaz // *Behav. Brain Res.* 1999. Vol. 99, № 2. P. 115 – 121.

18. Poirazi, P., Mel, B. W. Impact of active dendrites and structural plasticity on the memory capacity of neural tissue // *Neuron*. 2001. Vol. 29, № 3. P. 779 – 796.

19. Poser, S., Storm, D. R. Role of Ca²⁺-stimulated adenylyl cyclases in LTP and memory formation // *Int. J. Dev. Neurosci.* 2001. Vol. 19, № 4. P. 387 – 394.

20. Possible role of intramembrane receptor-receptor interactions in memory and learning via formation of long-lived heteromeric complexes: focus on motor learning in the basal ganglia / L. F. Agnati, O. Franzen, S. Ferre et al. // *J. Neural Transm. Suppl.* 2003. № 65. P. 1 – 28.

21. Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation / A. Barria, D. Muller, V. Derkach et al. // *Science*. 1997. Vol. 276. P. 2042

– 2045.

22. Structure-stability-function relationships of dendritic spines / H. Kasai, M. Matsuzaki, J. Noguchi et al. // Trends Neurosci. 2003. Vol. 26, № 7. P. 360 – 368.

23. Tesche, C. D., Karhu, J., Tissari, S. O. Non-invasive detection of neuronal population activity in human hippocampus // Brain Res. Cogn. Brain. Res. 1996. Vol. 4, № 1. P. 39 – 47.

24. The interaction of rhinal cortex and hippocampus in human declarative memory formation / Fell J., Klaver P., Elger C.E., Fernandez G. // Rev. Neurosci. 2002. Vol. 13, № 4. P. 299 – 312.

25. The long-term stability of new hippocampal place fields requires new protein synthesis / N. T. Agnihotri, R. D. Hawkins, E. R. Kandel, C. Kentros // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. Vol. 101, № 10. P. 3656 – 3661.

26. Thompson, L. T., Moyer, J. R., Disterhoft, J. F. Transient

changes in excitability of rabbit CA3 neurons with a time course appropriate to support memory consolidation / J. Neurophysiol. 1996. Vol. 76, № 3. P. 1836 – 1849.

27. Vertes, R. P., Albo, Z., Viana Di Prisco, G. Theta-rhythmically firing neurons in the anterior thalamus: implications for mnemonic functions of Papez's circuit // Neuroscience. 2001. Vol. 104, № 3. P. 619 – 625.

28. Wittenberg, G. M., Sullivan, M. R., Tsien, J. Z. Synaptic reentry reinforcement based network model for long-term memory consolidation // Hippocampus. 2002. Vol. 12, № 5. P. 637 – 647.

29. Wong, C. W. Two circuits to convert short-term memory into long-term memory // Med. Hypotheses. 1997. Vol. 49, № 5. P. 375 – 378.

30. Xiang, J. Z., Brown, M. W. Neuronal responses related to long-term recognition memory processes in prefrontal cortex / Neuron. 2004. Vol. 42, № 5. P. 817 – 829.