

УДК 612.822;577.1

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КАК ОСНОВА ДОЛГОВРЕМЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ: В ПОИСКАХ МЕХАНИЗМОВ СПЕЦИФИЧНОСТИ*

Обзор

© 2020 А.А. Бородинова**, П.М. Балабан

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
117485 Москва, Россия; электронная почта: borodinova.msu@mail.ru

Поступила в редакцию 01.06.2020

После доработки 16.07.2020

Принята к публикации 29.07.2020

Долговременные адаптивные изменения функционирования нервной системы (пластичность, память) прямо связаны с изменением уровней экспрессии многих генов, но не отражаются в структуре ДНК, то есть являются проявлением эпигенетической регуляции. Суммируя известные данные о роли эпигенетических процессов и путей регуляции и хранения изменений в нервной системе, можно выделить несколько ключевых моментов. (1) Разнообразные факторы, управляющие структурной перестройкой хроматина и ДНК-метилтрансферазы в составе сложных мультибелковых репрессорных комплексов, координированно и кооперативно функционируют в качестве «молекулярных тормозов» («molecular brake pad»), избирательно сохраняя низкий уровень экспрессии только некоторых генов в условиях покоя. (2) В ответ на значимые физиологические стимулы в активированных нейронах запускается каскад биохимических событий, сопряженных с транспортом различных активаторных молекул (протеинкиназы, NO-содержащие комплексы) в ядро. (3) Стимул-специфичное нитрозилирование и фосфорилирование отдельных эпигенетических факторов сопряжено со снижением их ферментативной активности или изменением внутриклеточной локализации, что выражается во временной дестабилизации репрессорных комплексов. (4) Снятие «молекулярных тормозов» открывает «критическое окно» для глобальных и локальных эпигенетических перестроек, запуска специфических транскрипционных программ и модуляции эффективности синаптических связей. Можно считать, что обратимые посттрансляционные модификации гистонов служат основой для пластических изменений в функциональных сетях нейронов. С другой стороны, метилирование ДНК и метил-зависимые способы трехмерной организации хроматина могут служить стабильной молекулярной основой для долговременного хранения пластических изменений и памяти.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: память, обучение, эпигенетика, экспрессия генов, гистондеацетилаза, метилирование ДНК, оксид азота.

DOI: 10.31857/S0320972520090018

ВВЕДЕНИЕ

Исследованию механизмов памяти посвящено огромное количество работ, однако до сих пор нет единого мнения о молекулярных механизмах формирования и долговременного хранения памятного следа, а также эффективных способов изменения памяти, коррекции пато-

логий памяти. За последние годы накопилось много данных о том, что долговременные изменения в нервной системе, в том числе и память, ассоциированы с изменением экспрессии определенных групп генов [1, 2]. Одной из существенных проблем является понимание того, как решается вопрос специфического контроля отдельных групп генов в определенные моменты времени в определенных функциональных сетях нейронов при обучении и какие механизмы стоят за поддержанием этих изменений. Поскольку долговременная память является приобретенным свойством любого организма и не отражается в структуре генома, но является следствием длительного изменения уровней экспрессии определенных генов, она по определению является эпигенетически регулируемым феноменом [2, 3]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было по-

Принятые сокращения: HDAC – гистондеацетилаза; HAT – гистонацетилтрансфераза; DNMT – ДНК-метилтрансфераза; PK – протеинкиназа; PP – протеинфосфатаза; H3K(n) – n-й лизин третьего гистона; NO – оксид азота.

* Статья на английском языке опубликована в режиме Open Access (открытого доступа) на сайте издательства Springer (<https://link.springer.com/journal/10541>), том 85, вып. 9, 2020.

** Адресат для корреспонденции.

казано, что механизмы пластичности и памяти тесно сопряжены с эпигенетическими пере-стройками, контролирующими доступность определенных участков генов для различных регуляторных молекул [4–6]. В рамках данного обзора мы попытаемся разобраться в некоторых составляющих специфического контроля экспрессии генов на молекулярном и клеточном уровне и обсудим роль эпигенетики в этих процессах.

ПОВЕДЕНИЕ И ЭПИГЕНЕТИКА: ЕСТЬ ЛИ СПЕЦИФИКА?

Анализируя зависимость изменений поведения (в том числе и долговременные изменения – память) от любых молекулярных процессов, чрезвычайно важно понять, насколько специфична взаимосвязь исследуемых явлений. Нет никаких сомнений в том, что изменения практически в любых молекулярных или нейрохимических процессах отразятся в активности нейронов и в поведении, поэтому стандартный подход с избирательной блокадой какой-либо молекулярной системы и анализом изменений поведения говорит лишь о том, что данная система активна в мозге.

Необходимость синтеза нового белка (трансляции) и синтеза РНК для долговременных изменений поведения (формирования памяти) показана сравнительно давно на брюхономом моллюске *Aplysia* [7]. На этом же моллюске впервые было продемонстрировано, что известный стимулятор пластических процессов, серотонин, индуцирует сборку активаторных комплексов транскрипционного фактора CREB1 с гистонацетилтрансферазой CBP и вызывает ацетилирование гистонов в промоторе гена пластичности *C/EBP*, которое коррелирует с уровнем его экспрессии [8]. С другой стороны, конкурирующий с серотином тормозный медиатор нейропептидной природы FMRFa облегчает связывание транскрипционного фактора CREB2 с промотором гена и стимулирует деацетилирование гистонов за счет привлечения гистондеацетилаз HDAC5. В электрофизиологических экспериментах на идентифицированных сенсорных нейронах было экспериментально показано, что серотонин вызывает усиление синаптических ответов, а FMRFa – депрессию этих же ответов. Учитывая известную роль этих нейронов в поведении, можно считать эту работу одной из первых, в которых показана роль посттрансляционных модификаций гистонов в регуляции синаптической пластичности, отражающейся на поведении животного [8].

В литературе последних лет накопилось много данных о балансе гистонацетилтрансфераз (НАТ) и гистондеацетилаз (HDAC), изменения которого нарушают/улучшают пластичность, память и процессы обучения у взрослых животных [5]. Нарушение этого баланса не только изменяет эффективность обучения, но и является коррелятом многих нейропатологий. Применение ингибиторов, меняющих эпигенетический баланс, может быть основой терапии патологий [9]. Широкое распространение получило ингибирование HDAC с целью изменения когнитивных способностей животных, в том числе долговременной памяти [5, 9]. Положительное влияние ингибиторов HDAC на формирование и восстановление синаптической пластичности и памяти было показано не только на млекопитающих, но и на дрозофилах [10] и цыплятах [11]. На моллюсках была продемонстрирована возможность улучшения обстановочной памяти и восстановления нарушенной памяти введением ингибитора HDAC – бутирата натрия. Существенным в этом исследовании является демонстрация того, что ингибитор HDAC не изменяет величину поведенческой реакции в обычных условиях, но избирательно действует на величину реакции у этого же животного только в условиях (обстановке) обучения, то есть усиливает память, не меняя поведения в нормальных условиях [12]. В сравнительном исследовании роли гистондеацетилаз HDAC1 и HDAC2 у мышей было показано, что усиление экспрессии HDAC2, но не HDAC1 приводит к уменьшению плотности синапсов, ухудшению синаптической пластичности и формирования памяти, причем эти явления можно было снять применением ингибиторов HDAC [13]. Заметим, что большинство ингибиторов HDAC не являются специфичными, и в этом смысле получаемые результаты неоднозначны, учитывая разную роль HDAC1 и HDAC2. В этом плане интересна работа Morris et al., в которой использовали нокаутных мышей и отдельно оценивали роль HDAC1 и HDAC2 [14]. В этой работе показано, что у нокаутных по HDAC2 мышей ускорено угасание условной оборонительной памяти и условной аверзии к пище, причем задачи на внимание эти животные выполняли лучше контрольных. У этих мышей не было отмечено ухудшения моторного обучения и эпизодической памяти, что прямо указывает на специфичность участия HDAC2 в разных поведенческих задачах. Авторы делают вывод о том, что торможение активности HDAC2 улучшает ассоциативные процессы, не влияя на неассоциативные [14].

Существенно отметить, что изменения плотности упаковки хроматина большей частью об-

ратимы и только «снимают тормоза», открывая возможность для долговременных изменений экспрессии генов [2]. С другой стороны, длительное хранение информации в нервных клетках может быть связано с другими эпигенетическими процессами, протекающими на уровне ДНК. В пионерских работах 70–80-х годов прошлого века были продемонстрированы интересные данные, отмечающие сопряженность пластических процессов в нервной системе и метилирования ДНК. В работах Ванюшина и соавт. было описано изменение метилирования ДНК в функционально активных областях мозга крыс, которое авторы рассматривали в качестве одного из механизмов запуска транскрипции генов при обучении [15, 16]. Уже в 1976 году разделение фракций ядер нейронов и глиальных клеток с помощью ультрацентрифугирования позволило определить, что «при выработке условного рефлекса физиологические процессы в первую очередь отражаются на геноме более лабильных, быстро реагирующих клеток-нейронов и, возможно, сопряжены с вовлечением в работу неких специфических участков ДНК» [16]. Позднее Holliday [17] было высказано предположение о том, что одним из механизмов долговременного хранения памяти в нейроне является метилирование ДНК. Было предположено, что нейроны нервной сети (энграммы) конкретного вида памяти в ответ на специфические стимулы могут изменить состояние метилирования некоторых сайтов ДНК, и это состояние будет храниться долго, так как, по некоторым данным, в случае повреждения ДНК бывшие метилированными восстановленные цитозины опять подвергаются метилированию, поддерживая общий паттерн метилирования ДНК [18]. Учитывая количество сайтов метилирования и количество нейронов, информационная емкость такого хранения памяти очень высока. Holliday рассматривал также и модификации гистонов как возможный эпигенетический механизм, но считал, что из-за отсутствия ковалентных связей гистонов с ДНК стабильность этих изменений будет существенно меньше, чем метилирование цитозина в ДНК. Позднее эти предсказания получили экспериментальные подтверждения в многочисленных работах на млекопитающих и беспозвоночных [3, 18–20]. Учитывая, что метилирование ДНК обычно связано с уменьшением активности гена, наличие гиперметилирования после обучения должно свидетельствовать о постоянном подавлении активности определенных групп генов. Эта идея получила подтверждение в исследованиях на млекопитающих и моллюсках [19, 21].

В одной из работ удалось провести детальный полногеномный анализ хроматина и про-

анализировать профиль экспрессии генов для двух ключевых для обстановочной оборонительной памяти областей мозга (зона СА1 гиппокампа и передняя поясная извилина неокортекса), разных клеточных типов (нейроны, глия) и трех временных точек до и после формирования обстановочной памяти у мышей [3]. Авторам удалось обнаружить, что паттерн изменений метилирования ДНК хорошо коррелирует с известными данными о пространственной локализации памяти, были отмечены стабильные и динамические изменения в нейронах. Заметим, что метилирование гистонов наблюдалось и в нейронах, и в глиальных клетках и было скорее глобальным с небольшим количеством локальных изменений.

Считается, что посттрансляционные изменения хроматина в основном связаны с фазой консолидации памяти [22, 23], что проявилось и в том, что метилирование гистонов не коррелировало с дифференциальной экспрессией генов во время хранения памяти [3]. Изменения метилирования ДНК в этой работе наблюдали как в фазу консолидации, так и в период хранения памяти. В литературе рассматривается также и роль метилирования ДНК в качестве механизма стабилизации активности нервной сети (энграммы) во время консолидации, что служит основой для успешного воспроизведения/хранения памяти [24].

Таким образом, можно предположить, что обратимые посттрансляционные модификации гистонов служат основой для пластических изменений в функциональных сетях нейронов [2]. С другой стороны, метилирование ДНК изменяет экспрессию генов на длительный срок (пожизненно), и поскольку нейроны взрослых животных не делятся, может служить стабильной молекулярной основой для хранения пластических изменений и памяти.

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СЕТЯХ НЕЙРОНОВ

Формирование и поддержание следа памяти зависит от координированной и тонко-настраиваемой работы различных групп эпигенетических регуляторов в определенных отделах мозга и при разных парадигмах обучения. Стимул-зависимые изменения эпигенетического ландшафта в специфических функциональных сетях нейронов или регионах мозга, по сути, отражают характер и продолжительность регуляции транскрипционных процессов, иными словами, «критическое окно» для пластических изменений.

Регион-специфичные эпигенетические перестройки. На сегодняшний день подавляющее число сведений о динамике эпигенетических изменений (посттрансляционные модификации гистонов, метилирование ДНК) при обучении или извлечении памяти получено в ходе анализа различных областей мозга (подкорковые структуры и участки коры) [3, 20, 22, 25–28]. Показано, что эпигенетические изменения в регуляторных областях отдельных генов пластичности коррелируют с уровнем их экспрессии [3, 20, 22, 25–28]. Гетерогенность анализируемых образцов может осложнить интерпретацию данных. Согласно современным представлениям, след памяти может быть «закодирован» в специфических функциональных сетях (энграммах) определенных областей мозга в процессе обучения, поэтому вполне логичным и интересным продолжением этого направления будет изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе энграмм-специфичной консолидации и реконсолидации (повторной консолидации при реактивации) памяти.

Как оказалось, регион-специфичные перестройки хроматина и метилирование ДНК коррелируют с вовлеченностью соответствующих структур мозга или даже определенных энграмм в формирование и поддержание недавней и отставленной памяти [3, 25]. Первоначальная консолидация памяти в сети нейронов гиппокампа (недавняя память, *recent memory*; часы–дни) [29] сопровождается быстрым, но обратимым увеличением представленности некоторых посттрансляционных модификаций гистонов (ацетилирование, метилирование, фосфорилирование) и гидроксиметилирование ДНК [23, 25, 28]. Впоследствии происходит постепенное снижение вклада сетей гиппокампа в воспроизведение памяти по мере увеличения роли сетей коры [29]. Функциональные сети участков коры, связанные с длительным хранением и воспроизведением памяти (отставленная память, *remote memory*; дни–недели), устанавливаются сразу при обучении, но вклад этих энграмм в воспроизведение памяти нарастает со временем по мере их «созревания» (морфологического и функционального) [23, 29]. Немногочисленные исследования временных характеристик эпигенетических перестроек в корковых отделах содержат противоречивые данные, не позволяющие сделать однозначного вывода. По некоторым данным, эпигенетические перестройки хроматина в префронтальной коре появляются с задержкой (24 часа), но сохраняются в неизменном виде по меньшей мере в течение недели [25]. Согласно другой работе, в орбитофронтальной коре эпигенетические изменения носят обратимый характер [23].

Было показано, что во время обучения между клетками подкорковых структур (гиппокамп, миндалина) и кортикальными нейронами определенным образом изменяются функциональные связи, объединяющие затронутые нейроны в энграмму [29]. Входы от гиппокампа, энторинальной коры и миндалины обеспечивают определенный уровень сетевой активности, который влияет на установление и «созревание» активности нейросети в корковых отделах [23, 29]. Направленное подавление активности любого из этих входов (химически или оптогенетически) при обучении приводит к последующим нарушениям длительного хранения памяти (*remote memory*).

По нашим предположениям, сигналы, поступающие из подкорковых структур, способны запускать в кортикальных нейронах эпигенетические изменения, которые могут быть частью процесса «созревания памяти» в сетях неокортекса. В качестве подтверждения этого предположения интересно рассмотреть работу, в которой с помощью протокола высокочастотной стимуляции индуцировали долговременные пластические изменения в медиальной префронтальной коре крыс *in vivo* и наблюдали отставленное и продолжительное (часы) увеличение активности ключевых эпигенетических регуляторов (HAT, DNMT), приводящее к тотальным перестройкам хроматина [27]. Выборочная проверка выявила эпигенетические изменения в промоторных областях некоторых генов пластичности (*Bdnf*, *Reln*), сопряженные с увеличением их транскрипции и трансляции. Продукты этих генов могут участвовать в изменении структурных характеристик и эффективности связей между нейронами [30, 31]. В другой работе быстрое, но обратимое увеличение ацетилирования гистонов наблюдали в орбитофронтальной коре животных после обучения [23]. С течением времени у этих животных было отмечено увеличение количества синаптических шипиков. Оказалось, что инъекции ингибиторов гистондеацетилаз на ранней стадии после обучения не только продлевают ацетилированное состояние гистонов, но стимулируют образование шипиков и улучшают отставленную память животных, чего не наблюдается при более позднем введении веществ [23]. При исследовании молекулярных механизмов, стоящих за увеличением ацетилирования гистонов в орбитофронтальной коре в ответ на обучение, была обнаружена связь с активацией MAPK/ERK1/MSK1 сигнального каскада. Блокирование активности этих киназ сопровождается исчезновением эпигенетических и морфологических перестроек в коре и нарушением отставленной памяти [23].

Сопряженность эпигенетических перестроек в разных регионах мозга. При исследовании регуляции эффективности обучения и памяти активно применяется стратегия направленного изменения ацетилирования или метилирования гистонов и метилирования ДНК в различных регионах мозга [4, 6]. Из отдельных работ следует довольно интересный вывод: направленное изменение эпигенетического ландшафта в одной структуре мозга может коррелировать с перестройками хроматина и изменением экспрессии генов в другой структуре и отражается на эффективности связей между регионами мозга/элементами энграммы [26, 32]. В частности, изменение эпигенетического профиля в энторинальной коре обученных животных (снижение репрессорных меток H3K9me₂, рост активных меток H3K9ac, H3K4me₃), вызванное локальным введением ингибитора гистонметилтрансфераз G9a/GLP, сопровождается неожиданным увеличением представленности репрессорных меток H3K9me₂ в зоне CA1 гиппокампа [26]. Эпигенетические манипуляции в энторинальной коре — одной из главных узловых точек для обмена информацией между гиппокампом/корой и миндалиной/корой — затрагивают промоторные области некоторых генов пластичности (*DNMT3a*, *Egr1*, *Bdnf*) и приводят к улучшению контекстной (гиппокамп-зависимой) и ключевой (миндалины-зависимой) памяти, возможно, за счет изменения эффективности связей энторинальной коры с другими структурами [26]. Наоборот, ингибирование G9a/GLP в гиппокампе животных при обучении сопровождается ростом числа активных меток H3K4me₃ в энторинальной коре [26]. По данным литературы, изменение активности миндалины тоже сопряжено с модуляцией молекулярных каскадов в структурах, связанных с ней функционально. В частности, введение ингибитора HDAC в базолатеральное ядро миндалины сопровождается увеличением количества белка BDNF в дорзальном гиппокампе обученных животных [32]. Приведенные данные свидетельствуют, что динамические эпигенетические перестройки хроматина в одних структурах мозга могут влиять на молекулярные характеристики в других структурах, возможно, за счет изменения активности этих структур и характера взаимодействия между ними.

Таким образом, изменение эпигенетического ландшафта на ранних стадиях после обучения, по-видимому, критически необходимо для «перенастройки» сети для длительного хранения следа памяти, а искусственно вызванные эпигенетические перестройки хроматина способствуют еще более эффективной функциональ-

ной «перестройке» гиппокамп-кортикальных и кортико-кортикальных связей.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ ПЛАСТИЧНОСТИ

Своевременное и выверенное изменение экспрессии генов, в том числе изменение транскрипции генов синаптической пластичности (plasticity transcriptome), в ответ на изменения в синаптической активности нейронов основано на сложном взаимодействии между эпигенетическими модификациями гистонов, вовлечении регуляторных белков, изменении уровня метилирования ДНК. В мозге взрослых животных ландшафт экспрессии генов подвержен изменениям в зависимости от активности нейронов и поведенческого опыта (отражающего нейронную активность). Эти изменения критичны для адаптивных изменений поведения, включая ассоциативную долговременную память [20, 33, 34]. Изменения синаптической эффективности и уровня возбудимости мембраны клетки влияют на характер связей между нейронами, регулируют общий уровень активности нервной сети и являются триггером модуляции транскрипции определенных групп генов, экспрессия которых зависит от клеточной активности. В литературе различают гены раннего и позднего ответа [35, 36]. Эти наборы генов различаются по необходимости синтеза новых белков и скорости индукции изменений экспрессии. Недавно было экспериментально показано, что разные паттерны клеточной активности индуцируют отличающиеся программы экспрессии генов. В зависимости от длительности стимула наблюдается градуальное увеличение вовлеченности генов, принадлежащих к группам генов раннего (первичного) и позднего (вторичного) ответа [37]. Непродолжительная стимуляция кортикальных нейронов в культуре или нейронов зрительной коры *in vivo* достаточна для активации экспрессии небольшой группы генов раннего ответа с очень быстрой кинетикой (немедленные ранние гены). Существенно, что первая волна транскрипции не зависит от *de novo* синтеза белков. Некоторые из этих генов первой волны активируются в ответ на широкий набор внешних стимулов и, по всей видимости, являются необходимым и универсальным, но неспецифичным звеном клеточного ответа. Авторы показали, что при увеличении длительности стимуляции за первой волной транскрипции следуют вторая и третья волны транскрипции, затрагивающие гены раннего ответа с медленной кинетикой и гены позднего ответа соответственно [37]. Гены

позднего ответа изменяют экспрессию с большой задержкой, для изменений им необходим синтез новых белков, их экспрессия регулируется белковыми продуктами генов раннего ответа [35, 36].

В очень интересной работе на культуре кортикальных нейронов мыши анализировалась стабильность спонтанной активности нейронов [38]. Проверялось предположение о том, что для поддержания постоянного уровня активности (гомеостаза активности нейрона) необходимо участие активность-зависимой транскрипции, однако гомеостаз наблюдался и в нейронах с подавленной активностью гена пластичности *Arc*, отсутствием активность-зависимых транскрипционных факторов AP1 and SRF. Авторы делают вывод о том, что активность-регулируемая транскрипция не является необходимой для постоянно поддерживаемой активности нейрона [38].

Интересная гипотеза о связи между синаптическими и эпигенетическими механизмами хранения памяти высказана в работе Kyrke-Smith и Williams [2]. Опираясь на идею о том, что изменения синаптической эффективности при обучении образуют поддерживаемые на сетевом уровне долговременные изменения работы нервной сети (энграмма памяти), авторы предложили путь создания и хранения энграмм памяти. Суть гипотезы заключается в том, что предлагается выделить «транскриптом пластичности» (plasticity transcriptome), который лежит в основе структурных и функциональных модификаций синаптических связей в сети во время обучения и несколько часов после обучения (время консолидации памяти). В это время максимально активны гены, продукты которых связаны с пластичностью (CREB, Egr1, AP1, *Arc*, BDNF), и этот период заканчивается активацией репрессоров активности генов (гистондеацетилаз), переходя к работе «транскриптома хранения памяти» [2]. По сути, авторы выделяют специфическую для формирования и хранения памяти роль ацетилирования гистонов в отдельный механизм метапластичности, регулирующий хранение энграмм памяти. Очень важным для нашего анализа является выделение «Разрешающего (пластичность) эпигенетического состояния» (Permissive epigenetic state), которое совпадает с периодом индукции долговременных изменений функционирования нервных сетей (консолидация, реконсолидация). Можно сказать, что это эпигенетическое «состояние» открывает окно возможностей для долговременных изменений. Специфичность эпигенетической регуляции авторами гипотезы имплицитно подразумевается специфичным набором генов, изменяющих уровень экспрессии во время индук-

ции пластичности, во время формирования долговременных изменений и не подверженных изменениям во время хранения памяти. Существенным и интересным в этой работе является четкая формулировка роли эпигенетической регуляции в процессе формирования и хранения памяти — возможность изменений в норме блокирована эпигенетически, а снятие эпигенетического «тормоза» открывает на некоторое время возможность пластических изменений экспрессии генов, тогда как при хранении уже сформированной памяти возможность долговременных изменений опять заблокирована.

Рассматривая механизмы хранения и регуляции памяти в нервной сети, мы неизбежно приходим к противопоставлению изменений в отдельном синапсе и в ядре нейрона. В последнем случае изменения коснутся всех синапсов данного нейрона. Эпигенетические механизмы регуляции формирования и хранения памяти скорее относятся ко второму способу, так как изменения уровня экспрессии любого гена в случае синтеза белкового продукта гена в теле клетки должны одинаково отразиться во всех синапсах данной клетки. Известны и уникальные исключения из этого правила, когда в синапс идет мРНК и трансляция происходит прямо в синапсе. Это установлено для двух важнейших генов, участие продуктов которых в формировании (*Arc*) и хранении (РКМЗ) памяти многократно показаны [39, 40].

По всей видимости, базовые принципы формирования и хранения памяти должны быть довольно консервативными, поскольку одни и те же регуляторные молекулы присутствуют в ряду от улиток и дрозофил до человека. Ввиду высокой консервативности гистоновых белков в ряду организмов от самых простейших беспозвоночных до человека, эпигенетические модификации хроматина могут осуществляться по общим законам у отдаленных групп организмов, из-за чего их можно рассматривать как уникальный высокоэффективный способ долговременной регуляции работы нервных клеток и основу для кодирования памяти.

ГИПОТЕЗА «МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТОРМОЗОВ» И СПОСОБЫ СТИМУЛ-СПЕЦИФИЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ

Почти 10 лет назад была высказана гипотеза, согласно которой в качестве «молекулярных тормозов» (molecular brake pad) экспрессии специфических генов рассматривают комплексы HDAC с различными ко-репрессорами (см. далее) [41]. Временное снятие этих «молекуляр-

ных тормозов» для активации экспрессии генов может происходить только в ответ на достаточно сильные физиологические стимулы [41]. Данный обзор не ставит целью описание всех возможных биохимических механизмов, необходимых для временного снятия «молекулярных тормозов» в функциональных сетях нейронов при физиологических нагрузках, однако далее мы остановимся на некоторых наиболее значимых и специфичных, по нашему мнению.

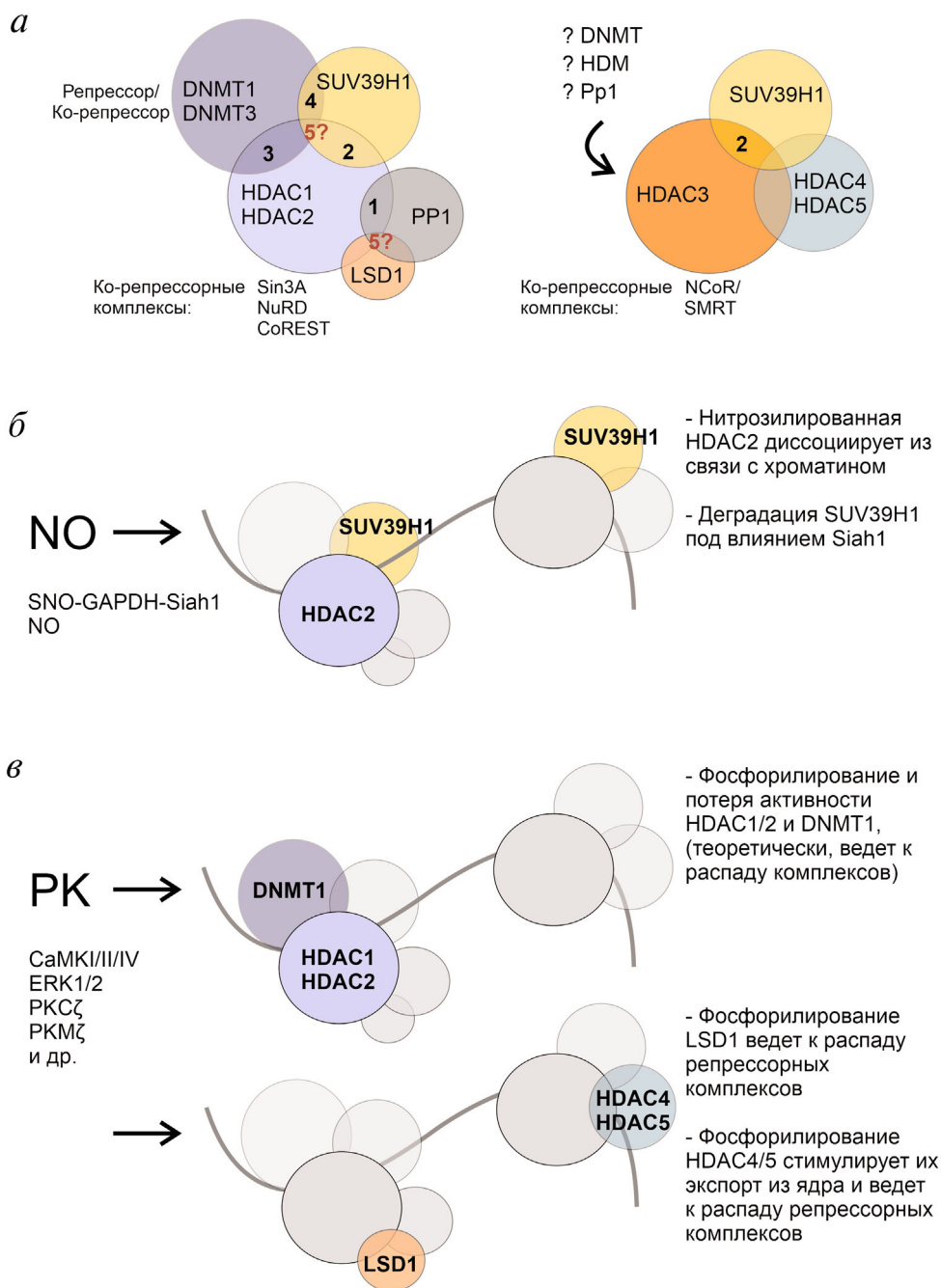
Устройство репрессорных комплексов. Ассоциированные с хроматином репрессорные комплексы представляют собой сложно устроенные мультибелковые кластеры, центральной частью которых, по всей видимости, являются гистондеацетилазы класса I (HDAC I) [42]. В литературе описаны взаимодействия между HDAC I и другими гистондеацетилазами (класс HDAC II), некоторыми гистонметилтрансферазами (SUV39H1), гистондеметилазами (JMJD2A и LSD1), ДНК-метилтрансферазами (DNMT3a, DNMT3b, DNMT1) и фосфатазами (PP1) (рис. 1, а) [42–52]. Находящиеся в комплексах эпигенетические агенты могут работать кооперативно. Результатом координированной работы различных комбинаций эпигенетических агентов будут комплексные сайт-специфичные эпигенетические перестройки (рис. 1, а), создающие «молекулярные тормоза» для отдельных генов-мишеней [6, 46, 49]. Потенциально, взаимодействие разного набора эпигенетических агентов с молекулами, распознающими специфические сайты на хроматине, открывает возможности для более тонкой и эффективной регуляции транскрипции специфических генов-мишеней.

Гистондеацетилазы класса I (HDAC I). Из литературы хорошо известно, что представители HDAC I (HDAC1, 2, 3) являются важным элементом механизмов пластичности и памяти [13, 41]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было наглядно продемонстрировано, что в покое HDAC в составе репрессорных комплексов связаны с промоторными областями некоторых генов и подавляют их транскрипцию [13, 53–55]. Однако первый же вопрос, с которым сталкиваются исследователи, заключается в том, каким образом достигается специфическая эпигенетическая регуляция отдельных генов пластичности при отсутствии субстратной специфичности гистондеацетилаз. Исчерпывающего ответа на этот вопрос нет. Основная информация о характеристиках HDAC была получена в ходе работы с не-нейрональными клеточными линиями. На основании имеющихся литературных данных, HDAC не связываются с последовательностью ДНК напрямую, но являются центральной, каталитически активной частью различных реп-

рессорных комплексов (Sin3A, NuRD, CoREST для HDAC1/HDAC2, и NCoR/SMRT для HDAC3) (рис. 1, а), которые, по всей видимости, направляют гистондеацетилазы в определенные локусы/участки хроматина для осуществления контроля транскрипции специфических генов [13, 41, 42, 45, 55, 56].

С помощью метода иммунопреципитации хроматина (ChIP) в образцах мозга мышей было проанализировано распределение HDAC1 и HDAC2 в промоторных областях ряда генов, часть которых не связана с синаптической пластичностью (*Atf4*, *Pgk1*, *Gapdh* и др.), а белковые продукты других считаются специфическими регуляторами морфологии (NrxnI, Shank3, Synapsin2, PSD95 и др.), синаптической пластичности (GluR1/2, CamKIIa, Creb, Cbp, PKM ζ и др.) или регулируются клеточной активностью (BDNF, Egr-1, c-Fos, Arc и др.) [13]. Оказалось, что в норме HDAC2 с высокой избирательностью (в сравнении с HDAC1) связываются с промоторными областями большинства перечисленных специфических генов [13]. Анализ ядерных экстрактов на предмет взаимодействия HDAC1/2 с репрессорными комплексами Sin3A, NuRD и CoREST показал, что только HDAC2 связывается с комплексом ремоделинга хроматина CoREST. По всей видимости, взаимодействие HDAC2 в составе репрессорных комплексов CoREST с промоторными участками некоторых генов пластичности сдерживает их экспрессию в покое. При нарушении продукции HDAC2 у нокаутных животных наблюдается селективное увеличение уровня ацетилирования гистонов в промоторных областях некоторых генов пластичности, которое не может быть компенсировано нативной HDAC1. Необходимо отметить, что описанный механизм едва ли является единственным, и HDAC в составе других корепрессорных комплексов могут принимать участие в тонкой модуляции работы отдельных генов пластичности. Будучи частью NCoR/SMRT репрессорного комплекса, HDAC3 специфически связывается регуляторными областями некоторых генов пластичности (*Bdnf*, *Npas4*, но не *Fos*), при этом в целом по геному большая часть сайтов связывания HDAC3 приходится на межгенные и внутригенные участки [55].

По некоторым данным, взаимодействие представителей HDAC I с другими эпигенетическими агентами (см. далее), в частности с гистонметилтрансферазой SUV39H1, обеспечивает доставку репрессорных комплексов в участки хроматина для подавления транскрипции отдельных генов [46]. Это объясняет наблюдения о том, что процессы деацетилирования и метилирования гистонов зачастую сопряжены [6].



Организация репрессорных комплексов и способы регуляции их связи с хроматином (по данным, представленным в обзоре). *a* – Схематичное изображение возможных комбинаций репрессорных (HDAC, DNMT) и ко-репрессорных белков разных классов в составе мультибелковых репрессорных комплексов. Возможность белок-белкового взаимодействия между представителями гистондеацетилаз (HDAC), ДНК-метилтрансфераз (DNMT), протеинфосфатаз (PP), гистондеметидаз (HDM, LSD1) и гистонметилтрансфераз (SUV39H1) изображена в виде пересекающихся сфер. Цифрами обозначены возможные комбинации эпигенетических перестроек как результат координированной работы репрессорных белков (по данным литературы): 1 – деацетилирование и дефосфорилирование гистонов; 2 – деацетилирование и метилирование гистонов; 3 – деацетилирование гистонов и метилирование ДНК; 4 – метилирование гистонов и ДНК; 5 – возможные более сложные комбинации). *б* и *в* – Регуляция функций компонентов репрессорных комплексов посредством оксида азота (NO) или протеинкиназ (PK). Активация нейронов в результате пластических изменений сопровождается перемещением PK и новосинтезированных молекул NO в ядро, в результате чего компоненты репрессорных комплексов подвергаются соответствующим модификациям (фосфорилирование, нитрозилирование), которые влияют на их стабильность, активность или внутриклеточную локализацию. Временная дестабилизация и диссоциация мультибелковых репрессорных комплексов из связи с хроматином открывает «окно возможностей» для изменения эпигенетического профиля и активации определенных групп генов пластичности. (С цветным вариантом рисунка можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>.)

Гистондеацетилазы класса IIa (HDAC IIa).

При рассмотрении механизмов пластичности, эффективности обучения и хранения памяти отдельный интерес представляют некоторые представители гистондеацетилаз класса HDAC IIa (HDAC4, HDAC5), которые участвуют в регуляции транскрипционных программ, связанных со структурными изменениями синапсов и эффективностью синаптических связей [57–59].

Особенностью представителей HDAC IIa является способность перемещаться между цитоплазмой и ядром в зависимости от степени их фосфорилирования, что неизбежно отражается на возможности HDAC IIa взаимодействовать с компонентами репрессорных комплексов и обеспечивает дополнительный уровень пространственно-временного контроля экспрессии генов (см. далее) [51]. В спонтанно активных культурах нейронов гистондеацетилазы HDAC IIa распределены между цитоплазматическим (HDAC4) и ядерным компартментами (HDAC5) [60, 61]. Физиологическая стимуляция нейронов и увеличение концентрации внутриклеточного кальция являются факторами, стимулирующими фосфорилирование HDAC IIa (см. далее) и их экспорт из ядра в цитоплазму [60]. Подавление нейрональной активности или применение специфических кальций-связывающих агентов, наоборот, стимулирует перемещение HDAC IIa в ядро [58, 60, 61]. Было продемонстрировано, что смещение равновесия в сторону избыточного содержания HDAC IIa в ядре (при гиперэкспрессии устойчивой к фосфорилированию мутантной изоформы) сопровождается стимул-зависимым подавлением транскрипции целого ряда генов пластичности (*Homer1*, *Arc*, *Npas4*, *Nr4a1*, *Egr2* и т.д.) [59, 61].

По некоторым данным, ядерно-цитоплазматические транслокации HDAC4/5 могут играть существенную роль при формировании энграмм и кодировании памяти (memory encoding) [59]. В норме размер энграммы фиксирован и процесс вовлечения (allocation) клеток в ограниченную функциональную сеть сопровождается определенным отбором нейронов по меньшей мере на основании характеристик их возбудимости на момент обучения [62]. Возможно, уровень возбудимости нейронов влияет на распределение HDAC4/5 между ядром и цитоплазмой и определяет, какие клетки более эффективно будут вовлекаться в функциональную сеть. Это предположение находит подтверждение в работе Zhu et al. [59], где с помощью иммуногистохимического анализа было исследовано распределение HDAC4 в ядрах нейронов после обучения. Было продемонстрировано общее увеличение содержания HDAC4 в ядрах нейронов, однако это

правило нарушалось для потенциальных клеток энграммы, где авторы регистрировали очень слабое перекрытие между Fos-положительными клетками (маркер нейронов энграммы) и ядерно-локализованной HDAC4. Было показано, что нарушение продукции HDAC4/5 продлевает экспрессию некоторых немедленных ранних генов (до 5 часов), увеличивает количество Fos- и Egr1-положительных клеток (примерно в 1,5–2 раза) и сопровождается когнитивными нарушениями в серии поведенческих тестов. С учетом других данных, полученных авторами, активность HDAC4/5, фактически, ограничивает «размер» энграммы (количество нейронов, подвергающихся морфо-функциональным изменениям в ответ на внешние стимулы) посредством пространственно-временного контроля транскрипции генов в нейронах.

Транспортируемые в ядро дефосфорилированные HDAC IIa не могут связываться с хроматином напрямую, специфическое взаимодействие их N-концевого фрагмента с транскрипционными факторами и C-концевого участка с ко-репрессорами обеспечивает привлечение сложных мультибелковых комплексов в определенные области хроматина [44, 51, 56, 58, 63, 64]. Репрессорные функции низкоактивных по своей природе HDAC IIa (HDAC4/5) во многом зависят от избирательного взаимодействия с ферментативно активными представителями HDAC I (HDAC3) в составе мультибелковых комплексов NCoR/SMRT (рис. 1, а) [44, 51, 56, 64].

Возникает вопрос о том, какова функция малоактивных представителей HDAC IIa в активных репрессорных комплексах? В одной из работ было показано, что потеря каталитического домена HDAC4 не сказывается на ее функциях в мозге, связанных с регуляцией транскрипции генов пластичности [58]. Полученные данные позволяют предполагать, что каталитически малоактивные представители HDAC IIa могут служить специфической платформой для привлечения других репрессорных белков. По некоторым данным, связывание HDAC IIa (и ассоциированных с ними транскрипционных факторов) с предсуществующими каталитически активными HDAC3-NCoR/SMRT комплексами обеспечивает дополнительный уровень специфичности при таргетировании образованных репрессорных комплексов в промоторные области генов [44]. Было обнаружено, что представители HDAC IIa (HDAC4/5) могут взаимодействовать с белком гетерохроматина HP1, который распознает и связывается с метилированным H3K9 сайтом на хроматине, а кроме того, привлекает гистонметилтрансферазу SUV39H1 [63]. Ко-локализация HDAC IIa с SUV39H1 в

мультибелковых комплексах (рис. 1, *a*), а также приведенные выше данные о взаимодействии HDAC IIa/HDAC I и SUV39H1/HDAC I могут объяснять функциональную связанность процессов деацетилирования и метилирования гистонов кооперативным действием упомянутых репрессорных комплексов или даже существованием репрессорных комплексов более высокого порядка [6, 44, 46, 56, 63].

ДНК-метилтрансферазы (DNMT). Отдельную и довольно значительную роль в механизмах пластичности и памяти отводят представителям семейства ДНК-метилтрансфераз (DNMT), ответственным за поддержание существующего статуса метилирования участков ДНК (DNMT1) и создание новых метильных меток (DNMT3a, DNMT3b) [21, 24, 52, 65]. По литературным данным, пластические процессы в нервной системе сопряжены со смещением существующего баланса в сторону метилирования ДНК в промоторах генов-супрессоров памяти (фосфатазы *Ppp1cc*, *Ppp3ca*), параллельно с которым происходит быстрое деметилирование в промоторах генов пластичности (*Reln*) [21, 65].

С учетом данных о сравнительно низкой избирательности DNMT возникает вопрос о том, каким образом в определенных последовательностях ДНК генов может быть сгенерирован специфический паттерн метилирования. Привлечение DNMT в определенные локусы может происходить с учетом локального эпигенетического ландшафта, поскольку появление меток метилирования гистонов в участках неактивного хроматина зачастую предшествует метилированию ДНК [66]. Было показано, что в *N*-концевом фрагменте *de-novo* метилтрансфераз (DNMT3) содержатся домены, распознающие репрессорные гистоновые метки [52, 67]. Кроме того, привлечение DNMT в соответствующие участки хроматина может происходить опосредованно, за счет взаимодействия с гистонметилтрансферазами (SUV39H1, рис. 1, *a*) и другими регуляторными молекулами [49, 66–68].

Для осуществления эффективного контроля транскрипции генов в *N*-концевых фрагментах молекул DNMT располагаются сайты взаимодействия с гистондеацетилазами (HDAC1/2) [43, 47, 49, 52]. ДНК-метилтрансферазы могут кооперироваться друг с другом и с HDAC1 (рис. 1, *a*), формируя мультибелковые репрессорные комплексы в промоторных областях отдельных генов [49]. Отдельные данные указывают на то, что HDAC играют центральную роль в таких комплексах, поскольку ко-репрессорные функции представителей семейства DNMT3 могут быть реализованы независимо от функциональной целостности каталитического домена [43,

47]. Вдобавок к этому, применение неспецифических блокаторов HDAC оказывается достаточным для диссоциации DNMT/HDAC репрессорных комплексов из промоторных областей и активации транскрипции соответствующих генов-мишеней [43, 49]. Было показано, что снятие «молекулярных тормозов» в промоторных участках генов-мишеней сопровождается снижением метилирования ДНК и ростом ацетилирования гистонов [49].

Из анализа литературы не прослеживается причинно-следственная связь DNMT–HDAC взаимодействия. С одной стороны, метилирование ДНК в определенных локусах может служить сигналом для привлечения HDAC-ассоциированных репрессорных комплексов и конденсации хроматина, в результате чего соответствующие гены «фиксируются» в репрессированном состоянии. С другой стороны, присутствие HDAC/HMT-содержащих комплексов ремоделирования хроматина может обеспечить определенный эпигенетический ландшафт в участках хроматина, облегчающий узнавание различными ДНК-метилтрансферазами, создание меток метилирования ДНК и подавление транскрипционной активности генов. Так или иначе, индукция комплексных эпигенетических перестроек за счет координированной работы HDAC/HMT/DNMT-содержащих комплексов потенциально может обеспечить эффективный контроль транскрипции соответствующих генов-мишеней: предположительно, подавление работы отдельных генов — негативных регуляторов памяти и активацию некоторых генов пластичности.

Нитрозилирование как инструмент снятия «молекулярных тормозов». Оксид азота (NO) может выступать в качестве модулятора эпигенетического ландшафта в различных клетках [69]. Несмотря на имеющиеся данные об участии NO в реализации механизмов памяти у позвоночных и беспозвоночных животных, рассмотрение NO-зависимой долговременной пластичности в аспекте эпигенетической регуляции генов не получило большого резонанса [70, 71]. Согласно немногим данным, физиологическая стимуляция клеток и увеличение уровня внутриклеточного кальция приводят к активации нейрональной NO-синтазы (nNOS) и продукции NO, которая сопровождается S-нитрозилированием белковых мишеней, NO-зависимыми перестройками хроматина и активацией экспрессии генов пластичности (см. далее).

Вопреки распространенному мнению о том, что эффекты NO не имеют специфики, с помощью протеомного анализа в ядерных экстрактах кортикальных нейронов среди 3078

белков было идентифицировано всего 614 потенциальных белковых мишеней для NO-зависимого S-нитрозилирования [72]. В списке мишеней для нитрозилирования оказались некоторые гистондеацетилазы (HDAC1/2), субъединицы корепрессорных комплексов (Sin3a, NuRD), протеинфосфатазы (PP1, PP2A), транскрипционные факторы (CREB, YY1) и другие ядерные белки, участвующие в реорганизации структуры хроматина и регуляции транскрипции [53, 54, 72, 73]. При анализе нитрозилированных фрагментов белковых мишеней методами жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (liquid chromatography–tandem mass spectrometry) авторы идентифицировали уникальные мотивы – сайты нитрозилирования [72]. За редким исключением, мы не располагаем данными о том, как нитрозилирование сказывается на функциях белковых мишеней в физиологических условиях. По всей видимости, нитрозилирование может быть как дестабилизирующим фактором (в случае репрессорных комплексов с HDAC2), так и стабилизатором некоторых белковых комплексов (в случае комплексов GAPDH-Siah1) (см. далее).

В *in vitro* экспериментах было показано, что физиологические стимулы (Ca^{2+} , BDNF, NMDA, KCl) вызывают в нейронах и не-нейрональных клетках продукцию NO, сопряженную с S-нитрозилированием ряда белковых мишеней (HDAC2, CREB, рис. 1, б) [54, 72, 73]. Нитрозилирование HDAC2 по определенным сайтам в консервативном каталитическом домене не влияет на активность фермента, но, видимо за счет конформационных перестроек, приводит к высвобождению HDAC2 из комплексов с хроматином в промоторах некоторых генов пластичности (*Fos*, *Egr1*, *Vgf*, *Nos1*) и создает условия для связывания активаторов транскрипции [54]. Было показано, что под влиянием NO происходит нитрозилирование транскрипционного фактора CREB в C-концевом ДНК-связывающем домене [72] и его привлечение в промоторные области генов-мишеней [53]. В результате стимул-зависимое связывание НАТ CBP с CREB приводит к росту ацетилирования гистонов и инициации транскрипции CREB-зависимых генов [53, 54].

Аналогичные данные были получены *in vivo* в ходе поведенческих экспериментов. При исследовании реактивации недавней памяти у мышей авторы обнаружили увеличение представленности меток ацетилированных гистонов в CA1 области гиппокампа, и в частности в промоторной области гена пластичности *Fos*, которое было связано с нитрозилированием HDAC2 и высвобождением гистондеацетилазы из ком-

плексов с хроматином (рис. 1, б) [71]. Любопытно, что продолжительность нитрозилирования HDAC2 коррелирует с критическим временным окном реконсолидации памяти (около 6 часов) [71], свидетельствуя в пользу высказанной ранее гипотезы о функционировании HDAC в качестве «молекулярных тормозов» при пластических изменениях в нервной системе [41]. Дополнительные эксперименты дают основание считать, что извлечение недавней памяти сопряжено с временной лабильностью памяти, отчасти обусловленной NO-зависимым S-нитрозилированием HDAC2, увеличением ацетилирования гистонов и индукции транскрипции генов пластичности [71]. Полученные результаты согласуются с другими работами о роли NO в лабильности памяти при реконсолидации [70].

Сравнение динамики молекулярных процессов в гиппокампе мышей при исследовании недавней и отставленной памяти выявило наличие NO-зависимой регуляции эпигенетического ландшафта в первом случае и отсутствие регуляции – во втором [71]. По всей видимости, наблюдаемые различия связаны с изменением вовлеченности сетей гиппокампа в обеспечение недавней и отставленной памяти [29]. Мы не исключаем, что при исследовании отставленной памяти в активных энграммах префронтальной коры могут быть найдены молекулярные изменения, аналогичные описанным в гиппокампе.

Существование ядерной функции NO в физиологических условиях может восприниматься с долей скептицизма, учитывая сведения об удаленности от ядра локализации nNOS, нестабильности продуцируемых молекул NO (время жизни всего несколько секунд) и, как следствие, недоступности ядерных белков для S-нитрозилирования. Однако, с помощью NO-связывающей флуоресцентной метки в активированных нейронах было показано быстрое накопление NO в цитоплазме и ядре [54]. Возможность аккумуляции NO в ядре была описана в другой работе, посвященной исследованию белок-белкового транснаитрозилирования как механизма избирательного «перебрасывания» NO групп на некоторые ядерные белки [73]. Авторы обнаружили, что цитоплазматические белки GAPDH подвергаются нитрозилированию (SNO-GAPDH) и в этой форме транспортируются в ядро в комплексах с белками Siah1, имеющими сигналы ядерной локализации (рис. 1, б). Было экспериментально доказано, что SNO-GAPDH служат физиологическими источниками NO-групп для селективного нитрозилирования ядерных белков – мишеней GAPDH (HDAC2, SIRT1), но не цитоплазматических белков (β -тубулин).

Представленная схема специфического белок-белкового «перебрасывания» NO групп, предположительно, может быть реализована с участием других белковых «носителей» и является довольно распространенным элементом физиологических и патологических сигнальных каскадов в нервных клетках [72, 74]. Похоже, что влияние нитрозильных комплексов не ограничивается регуляцией ацетилирования гистонов, но может затрагивать также метилирование гистонов. В активированных нейронах коры элементы попавших в ядро нитрозилированных комплексов (Siah1) могут вызывать деградацию SUV39H1 (рис. 1, б), что выражается в снижении количества репрессорных меток H3K9me3 и облегчает CREB-зависимую транскрипцию генов [75].

Фосфорилирование как инструмент контроля «молекулярных тормозов». Поддержание определенного уровня фосфорилирования клеточных мишеней за счет скоординированной работы различных протеинкиназ и протеинфосфатаз является неотъемлемым компонентом пластических и когнитивных процессов в нервной системе [25, 40, 48, 76–78]. В рамках данного обзора мы не будем останавливаться на важных синаптических функциях протеинкиназ и протеинфосфатаз, но попробуем рассмотреть на конкретных примерах, как в нейронах и не-нейрональных клетках различные представители этих групп оперируют на уровне хроматина напрямую (фосфорилирование гистонов), а также опосредованно за счет изменения работы различных эпигенетических агентов [48, 77, 79, 80].

Роль фосфатаз в стабилизации «молекулярных тормозов». По имеющимся сведениям, установление равновесия между работой протеинкиназ и фосфатаз в состоянии покоя направлено на стабилизацию «молекулярных тормозов». В покое в не-нейрональных клетках и нейронах ядерные фосфатазы (PP1, PP4) взаимодействуют с различными гистондеацетилазами (HDAC1/2; HDAC3) и гистондеметилазами (LSD1) с образованием стабильных ферментативно-активных репрессорных комплексов на хроматине (рис. 1, а) [45, 48, 50, 81, 82]. Цитоплазматические фосфатазы (PP2A) в неактивных не-нейрональных клетках осуществляют дефосфорилирование представителей HDAC 1а, что служит сигналом для их транспортировки из цитоплазмы в ядро и облегчает взаимодействие с ядерными репрессорными белками [51, 64].

По некоторым данным, сформированные мультибелковые репрессорные комплексы, состоящие из гистондеацетилаз (HDAC I; HDAC 1а), фосфатаз и гистондеметилаз (рис. 1, а), могут кооперативно работать над стабилизацией

«молекулярных тормозов» и подавлять транскрипцию генов пластичности в покое. В образцах мозга мышей было показано, что присутствие фосфатазы PP1 в промоторных областях отдельных генов пластичности (*CREB*, *Nfkb1*) отрицательно коррелирует с некоторыми активными сайт-специфичными модификациями хроматина (фосфорилирование, ацетилирование, метилирование), что отражается на транскрипционной активности соответствующих генов [48, 77]. Потеря/снижение ферментативной активности любого из компонентов (PP1, HDAC I, LSD1) сопровождается дестабилизацией репрессорных комплексов и их диссоциацией из связи с хроматином, иными словами, снятием «молекулярных тормозов» со специфических генов-мишеней [45, 48, 50, 77, 81]. Подавление активности PP1 *in vivo* в мозге трансгенных мышей коррелирует с падением деацетилазной активности в ядре и увеличением представленности активных меток гистонов в отдельных регионах мозга [25, 48, 77]. Полученные данные объясняют, каким образом использование ингибиторов гистондеацетилаз и протеинфосфатаз в электрофизиологических и поведенческих экспериментах приводит к сходным изменениям синаптической пластичности и эффективности обучения животных [77, 83].

Хроническое нарушение дефосфорилирования эпигенетических мишеней *in vitro* в культурах кортикальных нейронов и *in vivo* в образцах мозга трансгенных мышей сопровождается изменением экспрессии целого спектра генов [50, 84]. В числе снизивших свою экспрессию были охарактеризованы группы генов, вовлеченных в трансмембранную передачу сигналов и метаболические процессы, тогда как целые кластеры генов, связанных с транскрипцией/трансляцией межклеточными коммуникациями, были активированы [84]. Эти данные хорошо согласуются с результатами поведенческих экспериментов, где через сутки после обучения наблюдается увеличение экспрессии генов, вовлеченных в синаптическую передачу сигналов, а также снижение экспрессии генов – регуляторов метаболических процессов [20]. Полученные данные дают представление о затронутых в ходе изменения баланса фосфорилирования клеточных процессах, возможно, указывая на участие фосфатаз в поддержании метаболического транскриптома в норме (гомеостаз). Смещение базового равновесия в сторону фосфорилирования мишеней, наоборот, облегчает включение пластического транскриптома.

Роль протеинкиназ в дестабилизации «молекулярных тормозов» и стимул-зависимой индукции эпигенетических перестроек. Пластические про-

цессы в нервной системе сопряжены с активацией и ядерной транслокацией различных протеинкиназ, активный импорт некоторых протеинкиназ (CaMKI δ , Erk, PKC ζ , PKM ζ) в ядро в ответ на физиологические нагрузки описан в нейронах и не-нейрональных клетках [80, 85–88]. Временная динамика ядерных транслокаций довольно сильно отличается для разных протеинкиназ, что может указывать на различия в их субстратной специфичности [80, 86, 88]. Транспортируемые в ядро протеинкиназы могут играть особую роль в молекулярных механизмах обучения и памяти, осуществляя точечный пространственный и временной контроль эпигенетического ландшафта и экспрессии определенных групп генов.

Стимул-специфичное фосфорилирование эпигенетических регуляторов вызывает конформационные перестройки, приводящие к потере ферментативной активности (HDAC I, DNMT1) или изменению внутриклеточной локализации (HDAC IIa) репрессорных белков, временной дестабилизации соответствующих репрессорных комплексов и снятию «молекулярных тормозов» (рис. 1, в). На сегодняшний день часть данных получена на не-нейрональных клетках, тем не менее схожие принципы регуляции могут присутствовать и в нейронах. Было показано, что гиперфосфорилирование HDAC1/2 сопровождается падением деацетилазной активности и приводит к распаду связей HDAC1/2 с ко-репрессорными белками или транскрипционными факторами и высвобождению HDAC1/2 из связи с хроматином (рис. 1, в) [45]. Фосфорилирование гистондеметилазы LSD1 в нейронах не влияет на ее ферментативную активность, но сопровождается конформационными перестройками и дестабилизацией комплексов LSD1 с репрессорными белками HDAC1/2 и CoREST (рис. 1, в) [50]. По некоторым данным, сайты фосфорилирования обнаружены в последовательностях DNMT, что, в сочетании с отрывочными экспериментальными данными, делает их потенциальными мишенями для протеинкиназ [52, 67, 89]. Особый интерес в рамках нашего обзора представляет работа Lavoie et al. [89], в которой были продемонстрированы способности отдельных представителей семейства PKC модифицировать DNMT1. Фосфорилирование DNMT1 под действием PKC ζ вызывает снижение ее ферментативной активности (рис. 1, в) и сопровождается общим падением уровня метилирования ДНК в промоторных областях генов в не-нейрональных клетках. На основании приведенных данных мы предполагаем, что стимул-зависимый транспорт протеинкиназ (PKC ζ и, воз-

можно, других изоформ) в ядро может приводить к снижению метилтрансферазной активности DNMT, изменению профиля метилирования ДНК и модуляции экспрессии генов в активных нейронах.

Стимул-зависимое фосфорилирование представителей HDAC IIa активированными Ca-зависимыми киназами (CaMK I, II, IV; Erk1/2) приводит к нарушению взаимодействия HDAC IIa с другими репрессорными белками и их экспорту из ядра в цитоплазму (рис. 1, в), тем самым ограничивая доступ репрессорных молекул HDAC IIa к генам-мишеням [51, 60, 61, 63].

Таким образом, временная стимул-специфичная дестабилизация репрессорных комплексов, связанная со снижением активности или внутриклеточной локализации входящих в их состав репрессорных белков, открывает «окно возможностей» для индукции эпигенетических перестроек и активации транскрипции генов-мишеней. Было показано, что в ответ на деполяризацию клеток и увеличение концентрации кальция транспортируемые в ядро протеинкиназы могут стимулировать фосфорилирование гистонов [79] и компонентов активаторных комплексов, в частности некоторых транскрипционных факторов (CREB, C/EBP, Elk1) и NAT [80, 86, 87, 90–93]. По некоторым данным, фосфорилирование может облегчать взаимодействие транскрипционных факторов (TF) с их ко-активаторами NAT [94]. Отдельные работы свидетельствуют, что фосфорилирование CREB не является обязательным условием CREB-зависимой транскрипции генов, по мере взросления организма лимитирующим фактором активации CREB–CBP сигнального каскада становится фосфорилирование NAT CBP [93, 95]. В нескольких работах удалось установить, что NAT CBP может служить мишенью для сайт-специфичного фосфорилирования целым рядом протеинкиназ (CaMKIV, MAPK, представители aPKC), и в комплексах с транскрипционными факторами CREB или Elk1 фосфорилированная CBP активирует транскрипцию соответствующих генов/репортерных конструкторов [80, 91–93, 96].

Из достаточно большого списка мишеней в рамках пластических процессов и механизмов памяти наибольший интерес представляют компоненты CREB–CBP сигнального пути [83, 97]. В ходе анализа литературы мы заметили, что основная масса работ на нейронах и не-нейрональных клетках указывает на ключевую, хотя и не исключительную роль атипичных протеинкиназ (aPKC) в регуляции работы CBP [80, 91, 92]. В ее последовательности был обнаружен сайт связывания атипичных протеинкиназ

(Ser436), который в ответ на определенные стимулы подвергается фосфорилированию протеинкиназой PKC α в периферических тканях [91] и протеинкиназами C ζ /M ζ в мозге [80, 92, 93]. Фосфорилирование по сайту Ser436 критически необходимо для рекрутирования CBP в промоторные области генов-мишеней, взаимодействия с CREB и индукции перестроек хроматина [80, 92, 93]. Было показано, что в развивающемся мозге aPKC-зависимое фосфорилирование приводит к связыванию CBP с промоторными областями некоторых развитых генов и регуляции дифференцировки клеток-предшественников в корковой зоне [92]. Во взрослом мозге aPKC—CBP сигнальный путь контролирует нейрогенез и критически необходим для формирования и длительного хранения гиппокамп-зависимых форм памяти [93]. Полученные данные согласуются с результатами экспериментов на позвоночных и беспозвоночных животных, у которых нарушение хранения памяти, вызванное введением блокаторов aPKC, можно компенсировать увеличением ацетилирования гистонов за счет нарушения ре-ассоциации репрессорных комплексов с помощью HDAC ингибиторов [80, 98].

Приведенные данные демонстрируют, что протеинкиназы служат важнейшим связующим звеном между зависимыми от активности синаптическими изменениями на периферии клетки и процессами, протекающими в ядре. Активация клеток и увеличение уровня кальция стимулируют транспортировку некоторых РК в ядро, где происходит стимул-зависимое фосфорилирование связанных с хроматином белковых регуляторов (рис. 1, в), временное снятие «молекулярных тормозов» и облегчение формирования активаторных комплексов. Сопряженное появление различных активных меток гистонов во время формирования и/или извлечения памяти может быть результатом взаимодействия ядерных протеинкиназ с TF-HAT на хроматине, при котором близлежащие гистоны подвергаются двойному воздействию: ацетилированию активированными HAT и фосфорилированию соответствующими РК [25, 48, 79]. Результатом комплексных перестроек хроматина и привлечения активаторных молекул будет включение определенных транскрипционных программ, направленных на изменение эффективности синаптических связей и изменение «статуса» активированных нейронов в сети. По всей видимости, закрытие «критического окна» пластичности и восстановление базовых характеристик в промоторных областях генов-мишеней координируется вновь собранными репрессорными комплексами.

ПАМЯТЬ: ЧТО ОСТАЕТСЯ ПОСЛЕ ОБУЧЕНИЯ

Структурные изменения хроматина (посттрансляционные модификации гистонов) являются неотъемлемой частью процессов, связанных с формированием памяти. Снятие молекулярных тормозов открывает «критическое окно» для глобальных пластических изменений, запуска специфических транскрипционных программ и модуляции эффективности синаптических связей (см. выше). В частности, это подтверждается данными РНК-секвенирования небольших групп клеток и фрагментов ткани гиппокампа, согласно которым обучение сопровождается специфическими изменениями экспрессии целых кластеров поздних генов, связанных с синаптическими функциями, субъединицами рецепторов и ионных каналов [20, 99]. В литературе обсуждается обратимый характер посттрансляционных модификаций гистонов, который не исключает сохранения некоторых довольно локальных перестроек в регуляторных областях отдельных генов, но оставляет открытым вопрос о способах поддержания пластических изменений на определенном уровне в течение долгого времени [25, 26, 79].

Результаты секвенирования наводят на мысль, что ключом к пониманию этого могут быть процессы, связанные со стимул-специфичным изменением и стабильным поддержанием определенного профиля метилирования ДНК в отдельных межгенных, внутригенных и промоторных участках генов до следующего акта снятия «молекулярных тормозов» в ответ на значимые стимулы (например, напоминание) [3, 20]. Важнейшая роль процессов метилирования ДНК в механизмах пластичности была проиллюстрирована на беспозвоночных, где исследователи смогли искусственно воссоздать специфический след памяти у необученных моллюсков *Aplysia* путем инъекции им фракций РНК, выделенных из нервной системы обученных животных [100]. Было показано, что инъекции факторов (предположительно, некодирующих РНК), содержащихся в нейронах обученных животных, генерируют определенный паттерн метилирования ДНК, своего рода, «эпигенетическую энграмму», которую можно разрушить посредством введения блокаторов DNMT. На млекопитающих было показано, что увеличение продукции ДНК-метилтрансферазы DNMT3a2 в специфической функциональной сети нейронов стимулирует изменение профиля метилирования генов синаптической пластичности и повышает стабильность этой энграммы при извлечении памяти (см. выше) [24]. Miller et

al. [21] пошли дальше и с помощью ингибиторов DNMT производили нарушение установленного профиля метилирования ДНК в префронтальной коре крыс через 30 дней после обучения. Оказалось, что локальное введение ингибитора DNMT отражается на характере экспрессии генов и приводит к нарушению хранения отставленной памяти (remote memory).

При детальном рассмотрении оказалось, что профиль метилирования ДНК в определенных участках хроматина контролирует возможность посадки фактора CTCF, ключевого регулятора 3D-организации хроматина [101]. За счет взаимодействия с удаленными участками ДНК и формирования петель CTCF может сближать регуляторные области генома (энхансеры, инсуляторы) с участками генов-мишеней и модулировать уровень их экспрессии [102]. Было показано, что CTCF специфически вовлечен в регуляцию экспрессии генов пластичности и памяти в гиппокампе и префронтальной коре [103, 104]. При исследовании влияния CTCF на недавнюю гиппокамп-зависимую память были получены противоречивые результаты, которые не позволяют сделать однозначного вывода, но и не отрицают возможной роли CTCF в гиппокампе при определенных условиях [103, 104]. Генетические манипуляции с количеством CTCF в возбуждающих и тормозных сетях нейронов префронтальной коры демонстрируют критическую роль этого фактора в регуляции синаптической пластичности и длительном (4 недели) хранении памяти [104]. Подавление продукции CTCF приводит к изменению базовой экспрессии разных групп генов [103, 104]. Полученные данные дают основания считать, что CTCF поддерживает определенную 3D-организацию хроматина, при которой базовая экспрессия таких мишеней, как HDAC3 и HDAC7, находится на достаточно низком уровне [103]. Кроме того, при обучении в гиппокампе мышей с дефицитом CTCF наблюдается стимул-специфичное увеличение экспрессии генов-супрессоров памяти (*Ppp1c*) и нарушение экспрессии целого ряда генов пластичности (*Arc*, *Bdnf*, *Reln*) [103]. Нарушение экспрессии генов пластичности в условиях недостатка CTCF может быть связано с изменением архитектуры хроматина в этих локусах, о чем свидетельствует потеря части CTCF-зависимых контактов генов *Arc* и *Bdnf* с другими участками на хромосоме [103].

Полученные данные указывают на то, что характер метилирования ДНК в определенных локусах хроматина и метил-зависимые способы его трехмерной организации могут служить стабильной молекулярной основой реализации определенных транскрипционных программ, тре-

буемых для регуляции пластичности и поддержания/хранения памяти неопределенно долгое время.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поиск специфических механизмов для управления когнитивными процессами в норме и при патологиях довольно остро стоит в рамках современной нейробиологии. На сегодняшний день происходит переключение внимания исследователей на молекулярные процессы, протекающие в ядре, поскольку изменение работы генома лежит в основе адаптивных функций организма, в том числе обучения и памяти. В рамках настоящего обзора мы попытались суммировать некоторые накопившиеся в литературе данные и рассмотреть в деталях предпосылки и механизмы эпигенетических перестроек, которые на сетевом и клеточном уровне могут обеспечить специфический контроль работы генов. Оперируя на уровне хроматина, различные эпигенетические агенты в составе сложных мультибелковых репрессорных комплексов координированно и кооперативно функционируют в качестве «молекулярных тормозов» (molecular brake pad), избирательно сохраняя низкий уровень экспрессии генов пластичности в покое (см. выше). Активация нейронов в ответ на физиологически значимые стимулы запускает серию биохимических событий (фосфорилирование, нитрозилирование), результатом которых является временное снятие «молекулярных тормозов» и открытие «критического окна» для глобальных и локальных эпигенетических перестроек, активации специфических транскрипционных программ и модуляции эффективности синаптических связей (см. выше). Довольно сложным вопросом для нас остается то, как устроена система специфической «навигации» эпигенетических агентов, и их привлечение в регуляторные области определенных групп генов. Мы попытались представить в обзоре некоторые сведения по этой теме, однако продолжение исследования, на наш взгляд, требует детального рассмотрения роли различных групп некодирующих РНК, в огромном количестве представленных в нервной ткани. По некоторым данным, малоизученные на сегодняшний день некодирующие РНК могут участвовать в изменении эпигенетического ландшафта и служить важнейшим элементом тонкой регуляции работы определенных генов, в том числе генов пластичности [105].

Другим не менее важным аспектом является обнаружение стабильной молекулярной основы

для поддержания и сохранения соответствующих пластических изменений, т.е. памяти. На сегодняшний день мнения исследователей единогласно сходятся на метилировании ДНК как конечной и наиболее устойчивой системе хранения информации в клетке [3, 21, 24]. В ходе исследований данная концепция претерпевает усложнения. Отрывочные данные дают основания считать, что сохранение определенной пространственной организации хроматина, представляющее метил-зависимый процесс, критически важно для поддержания транскрипционных программ [103, 104]. Возможно, что стимул-зависимое метилирование ДНК провоцирует изменение цитоархитектуры хроматина, которое «запирает» в определенном функциональном состоянии те или иные гены, однако данные предположения требуют отдельного детального исследования.

Экспериментальные данные, полученные на модельных организмах, демонстрируют перспективность разработки эпигенетических механизмов управления активностью генов. В последние годы получило развитие новое нап-

равление, позволяющее избирательно редактировать эпигеном [106]. Разработка технологий и систем для редактирования эпигенома имеет большой потенциал в рамках исследования развития мозга, когнитивных функций в норме и коррекции нейропатологий, обусловленных аномальной работой генов. Применение этих технологий является логичным продолжением текущих исследований, поскольку может вывести на новый уровень рассмотрение специфических механизмов регуляции нейропластичности и памяти.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-115-50290).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Alberini, C. M., and Kandel, E. R. (2014) The regulation of transcription in memory consolidation, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **7**, a021741, doi: 10.1101/cshperspect.a021741.
- Kyrke-Smith, M., and Williams, J. M. (2018) Bridging synaptic and epigenetic maintenance mechanisms of the engram, *Front. Mol. Neurosci.*, **11**, 369.
- Halder, R., Hennion, M., Vidal, R. O., Shomroni, O., Rahman, R. U., Rajput, A., Centeno, T. P., van Bebber, F., Capece, V., Garcia Vizcaino, J. C., Schuetz, A. L., Burkhardt, S., Benito, E., Navarro Sala, M., Javan, S. B., Haass, C., Schmid, B., Fischer, A., and Bonn, S. (2016) DNA methylation changes in plasticity genes accompany the formation and maintenance of memory, *Nat. Neurosci.*, **19**, 102-110.
- Jarome, T. J., and Lubin, F. D. (2014) Epigenetic mechanisms of memory formation and reconsolidation, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **115**, 116-127.
- Penney, J., and Tsai, L. H. (2014) Histone deacetylases in memory and cognition, *Sci. Signal.*, **7**, re12, doi: 10.1126/scisignal.aaa0069.
- Kim, S., and Kaang, B. K. (2017) Epigenetic regulation and chromatin remodeling in learning and memory, *Exp. Mol. Med.*, **49**, e281.
- Montarolo, P. G., Golet, P., Castellucci, V. F., Morgan, J., Kandel, E. R., and Schacher, S. (1986) A critical period for macromolecular synthesis in long-term heterosynaptic facilitation in *Aplysia*, *Science*, **234**, 1249-1254.
- Guan, Z., Giustetto, M., Lomvardas, S., Kim, J. H., Miniaci, M. C., Schwartz, J. H., Thanos, D., and Kandel, E. R. (2002) Integration of long-term-memory-related synaptic plasticity involves bidirectional regulation of gene expression and chromatin structure, *Cell*, **111**, 483-493.
- Ganai, S. A., Ramadoss, M., and Mahadevan, V. (2016) Histone deacetylase (HDAC) inhibitors – emerging roles in neuronal memory, learning, synaptic plasticity and neural regeneration, *Curr. Neuropharmacol.*, **14**, 55-71.
- Latcheva, N. K., Viveiros, J. M., Waddell, E. A., Nguyen, P. T. T., Liebl, F. L. W., and Marendaz, D. R. (2018) Epigenetic crosstalk: pharmacological inhibition of HDACs can rescue defective synaptic morphology and neurotransmission phenotypes associated with loss of the chromatin reader Kismet, *Mol. Cell. Neurosci.*, **87**, 77-85.
- Торопова К. А., Анохин К. В., Тиунова А. А. (2014) Блокада деацетилирования гистонов в мозге модулирует экспрессию транскрипционных факторов c-Fos и ZENK и потенцирует образование долговременной памяти новорожденных цыплят, *Журнал Высшей Нервной Деятельности им. И.П. Павлова*, **64**, 551-561.
- Zuzina, A., Vinarskaya, A., and Balaban, P. (2020) Histone deacetylase inhibitors rescue the impaired memory in terrestrial snails, *J. Compar. Physiol. A*, **206**, 639-649, doi: 10.1007/s00359-020-01422-w.
- Guan, J. S., Haggarty, S. J., Giacometti, E., Dannenberg, J. H., Joseph, N., Gao, J., Nieland, T. J., Zhou, Y., Wang, X., Mazitschek, R., Bradner, J. E., DePinho, R. A., Jaenisch, R., and Tsai, L. H. (2009) HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity, *Nature*, **459**, 55-60.
- Morris, M. J., Mahgoub, M., Na, E. S., Pranav, H., and Monteggia, L. M. (2013) Loss of histone deacetylase 2 improves working memory and accelerates extinction learning, *J. Neurosci.*, **33**, 6401-6411.
- Ванюшин Б. Ф., Тушмалова Н. А., Гуськова Л. В. (1974) Метилирование ДНК мозга как показатель участия генома в механизмах индивидуально приобретенной памяти, *Доклады АН СССР*, **219**, 742-744.

16. Гуськова Л. В., Бурцева Н. Н., Тушмалова Н. А., Ванюшин Б. Ф. (1977) Уровень метилирования ДНК ядер нейронов и глии коры больших полушарий мозга крыс и его изменения при выработке условного рефлекса, *Доклады АН СССР*, **233**, 993-996.
17. Holliday, R. (1999) Is there an epigenetic component in long-term memory? *J. Theor. Biol.*, **200**, 339-341.
18. Day, J. J., and Sweatt, J. D. (2010) DNA methylation and memory formation, *Nat. Neurosci.*, **13**, 1319-1323.
19. Pearce, K., Cai, D., Roberts, A. C., and Glanzman, D. L. (2017) Role of protein synthesis and DNA methylation in the consolidation and maintenance of long-term memory in *Aplysia*, *Elife*, **6**, e18299.
20. Duke, C. G., Kennedy, A. J., Gavin, C. F., Day, J. J., and Sweatt, J. D. (2017) Experience-dependent epigenomic reorganization in the hippocampus, *Learn. Mem.*, **24**, 278-288.
21. Miller, C. A., Gavin, C. F., White, J. A., Parrish, R. R., Honasoge, A., Yancey, C. R., Rivera, I. M., Rubio, M. D., Rumbaugh, G., and Sweatt, J. D. (2010) Cortical DNA methylation maintains remote memory, *Nat. Neurosci.*, **13**, 664-666.
22. Gupta, S., Kim, S. Y., Artis, S., Molfese, D. L., Schumacher, A., Sweatt, J. D., Paylor, R. E., and Lubin, F. D. (2010) Histone methylation regulates memory formation, *J. Neurosci.*, **30**, 3589-3599.
23. Lesburguères, E., Gobbo, O. L., Alaux-Cantin, S., Hambucken, A., Trifilieff, P., and Bontempi, B. (2011) Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory, *Science*, **331**, 924-928.
24. Gulmez Karaca, K., Kupke, J., Brito, D. V. C., Zeuch, B., Thome, C., Weichenhan, D., Lutsik, P., Plass, C., and Oliveira, A. M. M. (2020) Neuronal ensemble-specific DNA methylation strengthens engram stability, *Nat. Commun.*, **11**, 639.
25. Gräff, J., Woldemichael, B. T., Berchtold, D., Dewarrat, G., and Mansuy, I. M. (2012) Dynamic histone marks in the hippocampus and cortex facilitate memory consolidation, *Nat. Commun.*, **3**, 991.
26. Gupta-Agarwal, S., Franklin, A. V., Deramus, T., Wheelock, M., Davis, R. L., McMahon, L. L., and Lubin, F. D. (2012) G9a/GLP histone lysine dimethyltransferase complex activity in the hippocampus and the entorhinal cortex is required for gene activation and silencing during memory consolidation, *J. Neurosci.*, **32**, 5440-5453.
27. Sui, L., Wang, Y., Ju, L. H., and Chen, M. (2012) Epigenetic regulation of reelin and brain-derived neurotrophic factor genes in long-term potentiation in rat medial prefrontal cortex, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **97**, 425-440.
28. Webb, W. M., Sanchez, R. G., Perez, G., Butler, A. A., Hauser, R. M., Rich, M. C., O'Bierne, A. L., Jarome, T. J., and Lubin, F. D. (2017) Dynamic association of epigenetic H3K4me3 and DNA 5hmC marks in the dorsal hippocampus and anterior cingulate cortex following reactivation of a fear memory, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **142**, 66-78.
29. Kitamura, T., Ogawa, S. K., Roy, D. S., Okuyama, T., Morrissey, M. D., Smith, L. M., Redondo, R. L., and Tonegawa, S. (2017) Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory, *Science*, **356**, 73-78.
30. Бородинова А. А., Саложин С. В. (2016) Различия биологических функций BDNF и proBDNF в центральной нервной системе, *Журнал Высшей Нервной Деятельности им. И.П. Павлова*, **66**, 3-23.
31. Bosch, C., Muhaisen, A., Pujadas, L., Soriano, E., and Martínez, A. (2016) Reelin exerts structural, biochemical and transcriptional regulation over presynaptic and postsynaptic elements in the adult hippocampus, *Front. Cell. Neurosci.*, **10**, 138.
32. Valiati, F. E., Vasconcelos, M., Lichtenfels, M., Petry, F. S., de Almeida, R. M. M., Schwartzmann, G., Schröder, N., de Farias, C. B., and Roesler, R. (2017) Administration of a histone deacetylase inhibitor into the basolateral amygdala enhances memory consolidation, delays extinction, and increases hippocampal BDNF levels, *Front. Pharmacol.*, **8**, 415.
33. Hermey, G., Mahlke, C., Gutzmann, J. J., Schreiber, J., Blüthgen, N., and Kuhl, D. (2013) Genome-wide profiling of the activity-dependent hippocampal transcriptome, *PLoS One*, **8**, e76903.
34. Benito, E., and Barco, A. (2015) The neuronal activity-driven transcriptome, *Mol. Neurobiol.*, **5**, 1071-1088.
35. Fowler, T., Sen, R., and Roy, A. L. (2011) Regulation of primary response genes, *Mol. Cell*, **44**, 348-360.
36. Herschman, H. R. (1991) Primary response genes induced by growth factors and tumor promoters, *Annu. Rev. Biochem.*, **60**, 281-319.
37. Tyssowski, K. M., DeStefino, N. R., Cho, J. H., Dunn, C. J., Poston, R. G., Carty, C. E., Jones, R. D., Chang, S. M., Romeo, P., Wurzelmann, M. K., Ward, J. M., Andermann, M. L., Saha, R. N., Dudek, S. M., and Gray, J. M. (2018) Different neuronal activity patterns induce different gene expression programs, *Neuron*, **98**, 530-546.e11.
38. Tyssowski, K. M., Letai, K. C., Rendall, S. D., Tan, C., Nizhnik, A., Kaeser, P. S., and Gray, J. M. (2019) Firing rate homeostasis can occur in the absence of neuronal activity-regulated transcription, *J. Neurosci.*, **39**, 9885-9899.
39. Shepherd, J. D., and Bear, M. F. (2011) New views of Arc, a master regulator of synaptic plasticity, *Nat. Neurosci.*, **14**, 279-284.
40. Sacktor, T. C. (2011) How does PKM ζ maintain long-term memory? *Nat. Rev. Neurosci.*, **12**, 9-15.
41. McQuown, S. C., and Wood, M. A. (2011) HDAC3 and the molecular brake pad hypothesis, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **96**, 27-34.
42. Kelly, R. D., and Cowley, S. M. (2013) The physiological roles of histone deacetylase (HDAC) 1 and 2: complex co-stars with multiple leading parts, *Biochem. Soc. Trans.*, **4**, 741-749.
43. Fuks, F., Burgers, W. A., Godin, N., Kasai, M., and Kouzarides, T. (2001) Dnmt3a binds deacetylases and is recruited by a sequence-specific repressor to silence transcription, *EMBO J.*, **20**, 2536-2544.
44. Fischle, W., Dequiedt, F., Hendzel, M. J., Guenther, M. G., Lazar, M. A., Voelter, W., and Verdine, E. (2002) Enzymatic activity associated with class II HDACs is dependent on a multiprotein complex containing HDAC3 and SMRT/N-CoR, *Mol. Cell*, **9**, 45-57.
45. Galasinski, S. C., Resing, K. A., Goodrich, J. A., and Ahn, N. G. (2002) Phosphatase inhibition leads to histone deacetylases 1 and 2 phosphorylation and disruption of corepressor interactions, *J. Biol. Chem.*, **277**, 19618-19626.
46. Vaute, O., Nicolas, E., Vandel, L., and Trouche, D. (2002) Functional and physical interaction between the histone methyl transferase Suv39H1 and histone deacetylases, *Nucleic Acids Res.*, **30**, 475-481.
47. Bai, S., Ghoshal, K., Datta, J., Majumder, S., Yoon, S. O., and Jacob, S. T. (2005) DNA methyltransferase 3b regulates nerve growth factor-induced differentiation of PC12 cells by recruiting histone deacetylase 2, *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 751-766.

48. Koshibu, K., Graff, J., Beullens, M., Heitz, F. D., Berchtold, D., Russig, H., Farinelli, M., Bollen, M., and Mansuy, I. M. (2009) Protein phosphatase 1 regulates the histone code for long-term memory, *J. Neurosci.*, **29**, 13079-13089.
49. Kundakovic, M., Chen, Y., Guidotti, A., and Grayson, D. R. (2009) The reelin and GAD67 promoters are activated by epigenetic drugs that facilitate the disruption of local repressor complexes, *Mol. Pharmacol.*, **75**, 342-354.
50. Toffolo, E., Rusconi, F., Paganini, L., Tortorici, M., Pilotto, S., Heise, C., Verpelli, C., Tedeschi, G., Maffioli, E., Sala, C., Mattevi, A., and Battaglioli, E. (2014) Phosphorylation of neuronal lysine-specific demethylase LSD1/KDM1A impairs transcriptional repression by regulating interaction with CoREST and histone deacetylases HDAC1/2, *J. Neurochem.*, **128**, 603-616.
51. Mathias, R. A., Guise, A. J., and Cristea, I. M. (2015) Post-translational modifications regulate class IIa histone deacetylase (HDAC) function in health and disease, *Mol. Cell. Proteomics.*, **14**, 456-470.
52. Bayraktar, G., and Kreutz, M. R. (2018) Neuronal DNA methyltransferases: epigenetic mediators between synaptic activity and gene expression? *Neuroscientist*, **24**, 171-185.
53. Riccio, A., Alvania, R. S., Lonze, B. E., Ramanan, N., Kim, T., Huang, Y., Dawson, T. M., Snyder, S. H., and Ginty, D. D. (2006) A nitric oxide signaling pathway controls CREB-mediated gene expression in neurons, *Mol. Cell*, **21**, 283-294.
54. Nott, A., Watson, P. M., Robinson, J. D., Crepaldi, L., and Riccio, A. (2008) S-Nitrosylation of histone deacetylase 2 induces chromatin remodelling in neurons, *Nature*, **455**, 411-415.
55. Louis Sam Titus, A. S. C., Sharma, D., Kim, M. S., and D'Mello, S. R. (2019) The Bdnf and Npas4 genes are targets of HDAC3-mediated transcriptional repression, *BMC Neurosci.*, **20**, 65.
56. Guenther, M. G., Barak, O., and Lazar, M. A. (2001) The SMRT and N-CoR corepressors are activating cofactors for histone deacetylase 3, *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 6091-6101.
57. Broide, R. S., Redwine, J. M., Aftahi, N., Young, W., Bloom, F. E., and Winrow, C. J. J. (2007) Distribution of histone deacetylases 1-11 in the rat brain, *Mol. Neurosci.*, **31**, 47-58.
58. Sando, R. 3rd, Gouko, N., Pieraut, S., Liao, L., Yates, J. 3rd, and Maximov, A. (2012) HDAC4 governs a transcriptional program essential for synaptic plasticity and memory, *Cell*, **151**, 821-834.
59. Zhu, Y., Huang, M., Bushong, E., Phan, S., Uytiepo, M., Beutter, E., Boemer, D., Tsui, K., Ellisman, M., and Maximov, A. (2019) Class IIa HDACs regulate learning and memory through dynamic experience-dependent repression of transcription, *Nat. Commun.*, **10**, 3469.
60. Chawla, S., Vanhoutte, P., Arnold, F. J., Huang, C. L., and Bading, H. (2003) Neuronal activity-dependent nucleocytoplasmic shuttling of HDAC4 and HDAC5, *J. Neurochem.*, **85**, 151-159.
61. Schlumm, F., Mauceri, D., Freitag, H. E., and Bading, H. (2013) Nuclear calcium signaling regulates nuclear export of a subset of class IIa histone deacetylases following synaptic activity, *J. Biol. Chem.*, **288**, 8074-8084.
62. Josselyn, S. A., and Frankland, P. W. (2018) Memory allocation: mechanisms and function, *Annu. Rev. Neurosci.*, **41**, 389-413.
63. Zhang, C. L., McKinsey, T. A., and Olson, E. N. (2002) Association of class II histone deacetylases with heterochromatin protein 1: potential role for histone methylation in control of muscle differentiation, *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 7302-7312.
64. Paroni, G., Cernotta, N., Dello Russo, C., Gallinari, P., Pallaoro, M., Foti, C., Talamo, F., Orsatti, L., Steinkühler, C., and Brancolini, C. (2008) PP2A regulates HDAC4 nuclear import, *Mol. Biol. Cell*, **19**, 655-667.
65. Miller, C. A., and Sweatt, J. D. (2007) Covalent modification of DNA regulates memory formation, *Neuron*, **53**, 857-869.
66. Du, J., Johnson, L. M., Jacobsen, S. E., and Patel, D. J. (2015) DNA methylation pathways and their crosstalk with histone methylation, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **16**, 519-532.
67. Denis, H., Ndlovu, M. N., and Fuks, F. (2011) Regulation of mammalian DNA methyltransferases: a route to new mechanisms, *EMBO Rep.*, **12**, 647-656.
68. Fuks, F., Hurd, P. J., Deplus, R., and Kouzarides, T. (2003) The DNA methyltransferases associate with HP1 and the SUV39H1 histone methyltransferase, *Nucleic Acids Res.*, **31**, 2305-2312.
69. Vasudevan, D., Bovee, R. C., and Thomas, D. D. (2016) Nitric oxide, the new architect of epigenetic landscapes, *Nitric Oxide*, **59**, 54-62.
70. Balaban, P. M., Koshchin, M., Timoshenko, A. K., Gainutdinov, K. L., Bogodvid, T. K., Muranova, L. N., Zuzina, A. B., and Korshunova, T. A. (2014) Nitric oxide is necessary for labilization of a consolidated context memory during reconsolidation in terrestrial snails, *Eur. J. Neurosci.*, **40**, 2963-2970.
71. Gräff, J., Joseph, N. F., Horn, M. E., Samiei, A., Meng, J., Seo, J., Rei, D., Bero, A. W., Phan, T. X., Wagner, F., Holson, E., Xu, J., Sun, J., Neve, R. L., Mach, R. H., Haggarty, S. J., and Tsai, L. H. (2014) Epigenetic priming of memory updating during reconsolidation to attenuate remote fear memories, *Cell*, **156**, 261-276.
72. Smith, J. G., Aldous, S. G., Andreassi, C., Cuda, G., Gaspari, M., and Riccio, A. (2018) Proteomic analysis of S-nitrosylated nuclear proteins in rat cortical neurons, *Sci. Signal.*, **11**, aar3396, doi: 10.1126/scisignal.aar3396.
73. Kornberg, M. D., Sen, N., Hara, M. R., Juluri, K. R., Nguyen, J. V., Snowman, A. M., Law, L., Hester, L. D., and Snyder, S. H. (2010) GAPDH mediates nitrosylation of nuclear proteins, *Nat. Cell Biol.*, **12**, 1094-1100.
74. Nakamura, T., and Lipton, S. A. (2013) Emerging role of protein-protein transnitrosylation in cell signaling pathways, *Antioxid. Redox Signal.*, **18**, 239-249.
75. Sen, N., and Snyder, S. H. (2011) Neurotrophin-mediated degradation of histone methyltransferase by S-nitrosylation cascade regulates neuronal differentiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20178-20183.
76. Pi, H. J., and Lisman, J. E. (2008) Coupled phosphatase and kinase switches produce the tristability required for long-term potentiation and long-term depression, *J. Neurosci.*, **28**, 13132-13138.
77. Koshibu, K., Graff, J., and Mansuy, I. M. (2011) Nuclear protein phosphatase-1: an epigenetic regulator of fear memory and amygdala long-term potentiation, *Neuroscience*, **173**, 30-36.
78. Borodina, A. A., Zuzina, A. B., and Balaban, P. M. (2017) Role of atypical protein kinases in maintenance of long-term memory and synaptic plasticity, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 243-256.
79. Chwang, W. B., O'Riordan, K. J., Levenson, J. M., and Sweatt, J. D. (2006) ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning, *Learn. Mem.*, **13**, 322-328.
80. Ko, H. G., Kim, J. I., Sim, S. E., Kim, T., Yoo, J., Choi, S. L., Baek, S. H., Yu, W. J., Yoon, J. B., Sacktor, T. C., and

- Kaang, B. K. (2016) The role of nuclear PKM ζ in memory maintenance, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **135**, 50-56.
81. Canettieri, G., Morantte, I., Guzmán, E., Asahara, H., Herzig, S., Anderson, S. D., Yates, J. R. 3rd, and Montminy, M. (2003) Attenuation of a phosphorylation-dependent activator by an HDAC-PP1 complex, *Nat. Struct. Biol.*, **10**, 175-181.
82. Zhang, X., Ozawa, Y., Lee, H., Wen, Y. D., Tan, T. H., Wadzinski, B. E., and Seto, E. (2005) Histone deacetylase 3 (HDAC3) activity is regulated by interaction with protein serine/threonine phosphatase 4, *Genes Dev.*, **19**, 827-839.
83. Vecsey, C. G., Hawk, J. D., Lattal, K. M., Stein, J. M., Fabian, S. A., Attner, M. A., Cabrera, S. M., McDonough, C. B., Brindle, P. K., Abel, T., and Wood, M. A. (2007) Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB: CBP-dependent transcriptional activation, *J. Neurosci.*, **27**, 6128-6140.
84. Graff, J., Koshibu, K., Jouvenceau, A., Dutar, P., and Mansuy, I. M. (2010) Protein phosphatase 1-dependent transcriptional programs for long-term memory and plasticity, *Learn. Mem.*, **17**, 355-363.
85. Wooten, M. W., Zhou, G., Wooten, M. C., and Seibenhener, M. L. (1997) Transport of protein kinase C isoforms to the nucleus of PC12 cells by nerve growth factor: association of atypical zeta-PKC with the nuclear matrix, *J. Neurosci. Res.*, **49**, 393-403.
86. Sakagami, H., Kamata, A., Nishimura, H., Kasahara, J., Owada, Y., Takeuchi, Y., Watanabe, M., Fukunaga, K., and Kondo, H. (2005) Prominent expression and activity-dependent nuclear translocation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase I δ in hippocampal neurons, *Eur. J. Neurosci.*, **22**, 2697-2707.
87. Zhai, S., Ark, E. D., Parra-Bueno, P., and Yasuda, R. (2013) Long-distance integration of nuclear ERK signaling triggered by activation of a few dendritic spines, *Science*, **342**, 1107-1111.
88. Melgarejo da Rosa, M., Yuanxiang, P., Brambilla, R., Kreutz, M. R., and Karpova, A. (2016) Synaptic GluN2B/CaMKII- α signaling induces synapto-nuclear transport of ERK and Jacob, *Front. Mol. Neurosci.*, **9**, 66.
89. Lavoie, G., Estève, P. O., Laulan, N. B., Pradhan, S., and St-Pierre, Y. (2011) PKC isoforms interact with and phosphorylate DNMT1, *BMC Biol.*, **9**, 31.
90. Wegner, M., Cao, Z., and Rosenfeld, M. G. (1992) Calcium-regulated phosphorylation within the leucine zipper of C/EBP beta, *Science*, **256**, 370-373.
91. He, L., Sabet, A., Djedjos, S., Miller, R., Sun, X., Hussain, M. A., Radovick, S., and Wondisford, F. E. (2009) Metformin and insulin suppress hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of CREB binding protein, *Cell*, **137**, 635-646.
92. Wang, J., Weaver, I. C., Gauthier-Fisher, A., Wang, H., He, L., Yeomans, J., Wondisford, F., Kaplan, D. R., and Miller, F. D. (2010) CBP histone acetyltransferase activity regulates embryonic neural differentiation in the normal and Rubinstein-Taybi syndrome brain, *Dev. Cell*, **18**, 114-125.
93. Gouveia, A., Hsu, K., Niibori, Y., Seegobin, M., Cancino, G. I., He, L., Wondisford, F. E., Bennett, S., Lagace, D., Frankland, P. W., and Wang, J. (2016) The aPKC-CBP pathway regulates adult hippocampal neurogenesis in an age-dependent manner, *Stem Cell Rep.*, **7**, 719-734.
94. Kwok, R. P., Lundblad, J. R., Chrivia, J. C., Richards, J. P., Bächinger, H. P., Brennan, R. G., Roberts, S. G., Green, M. R., and Goodman, R. H. (1994) Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB, *Nature*, **370**, 223-226.
95. Briand, L. A., Lee, B. G., Lelay, J., Kaestner, K. H., and Blendy, J. A. (2015) Serine 133 phosphorylation is not required for hippocampal CREB-mediated transcription and behavior, *Learn. Mem.*, **22**, 109-115.
96. Impey, S., Fong, A. L., Wang, Y., Cardinaux, J. R., Fass, D. M., Obrietan, K., Wayman, G. A., Storm, D. R., Soderling, T. R., and Goodman, R. H. (2002) Phosphorylation of CBP mediates transcriptional activation by neural activity and CaM kinase IV, *Neuron*, **34**, 235-244.
97. Barrett, R. M., Malvaez, M., Kramar, E., Matheos, D. P., Arrizon, A., Cabrera, S. M., Lynch, G., Greene, R. W., and Wood, M. A. (2011) Hippocampal focal knockout of CBP affects specific histone modifications, long-term potentiation, and long-term memory, *Neuropsychopharmacology*, **36**, 1545-1556.
98. Chen, S., Cai, D., Pearce, K., Sun, P. Y., Roberts, A. C., and Glanzman, D. L. (2014) Reinstatement of long-term memory following erasure of its behavioral and synaptic expression in aplysia, *Elife*, **3**, e03896.
99. Rao-Ruiz, P., Couey, J. J., Marcelo, I. M., Bouwkamp, C. G., Slump, D. E., Matos, M. R., van der Loo, R. J., Martins, G. J., van den Hout, M., van IJcken, W. F., Costa, R. M., van den Oever, M. C., and Kushner, S. A. (2019) Engram-specific transcriptome profiling of contextual memory consolidation, *Nat. Commun.*, **10**, 2232.
100. Bédécarrats, A., Chen, S., Pearce, K., Cai, D., and Glanzman, D. L. (2018) RNA from trained aplysia can induce an epigenetic engram for long-term sensitization in untrained aplysia, *eNeuro*, **5**, doi: 10.1523/ENEURO.0038-18.2018.
101. Maurano, M. T., Wang, H., John, S., Shafer, A., Canfield, T., Lee, K., and Stamatoyannopoulos, J. A. (2015) Role of DNA methylation in modulating transcription factor occupancy, *Cell Rep.*, **12**, 1184-1195.
102. Phillips, J. E., and Corces, V. G. (2009) CTCF: master weaver of the genome, *Cell*, **137**, 1194-1211.
103. Sams, D. S., Nardone, S., Getselter, D., Raz, D., Tal, M., Rayi, P. R., Kaphzan, H., Hakim, O., and Elliott, E. (2016) Neuronal CTCF is necessary for basal and experience-dependent gene regulation, memory formation, and genomic structure of *BDNF* and *Arc*, *Cell Rep.*, **17**, 2418-2430.
104. Kim, S., Yu, N. K., Shim, K. W., Kim, J. I., Kim, H., Han, D. H., Choi, J. E., Lee, S. W., Choi, D. I., Kim, M. W., Lee, D. S., Lee, K., Galjart, N., Lee, Y. S., Lee, J. H., and Kaang, B. K. (2018) Remote memory and cortical synaptic plasticity require neuronal CCCTC-binding factor (CTCF), *J. Neurosci.*, **38**, 5042-5052.
105. Savell, K. E., Gallus, N. V., Simon, R. C., Brown, J. A., Revanna, J. S., Osborn, M. K., Song, E. Y., O'Malley, J. J., Stackhouse, C. T., Norvil, A., Gowher, H., Sweatt, J. D., and Day, J. J. (2016) Extra-coding RNAs regulate neuronal DNA methylation dynamics, *Nat. Commun.*, **7**, 12091, doi: 10.1038/ncomms12091.
106. Балабан П. М., Бородинова А. А. (2019) Нейрогенетические технологии исследования механизмов хранения памяти, *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, **105**, 1392-1405, doi: 10.1134/S0869813919110025.

EPIGENETIC REGULATION AS A BASIS FOR LONG-TERM CHANGES IN THE NERVOUS SYSTEM: IN SEARCH OF SPECIFICITY MECHANISMS*

Review

A. A. Borodina and P. M. Balaban**

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences,
177485 Moscow, Russia; E-mail: borodina.msu@mail.ru*

Received June 1, 2020

Revised July 16, 2020

Accepted July 29, 2020

Adaptive long-term changes in the functioning of nervous system (plasticity, memory) are not written in the genome, but are directly associated with the changes in expression of many genes comprising epigenetic regulation. Summarizing the known data regarding the role of epigenetics in regulation of plasticity and memory, we would like to highlight several key aspects. (i) Different chromatin remodeling complexes and DNA methyltransferases can be organized into high-order multiprotein repressor complexes that are cooperatively acting as the “molecular brake pads”, selectively restricting transcriptional activity of specific genes at rest. (ii) Relevant physiological stimuli induce a cascade of biochemical events in the activated neurons resulting in translocation of different signaling molecules (protein kinases, NO-containing complexes) to the nucleus. (iii) Stimulus-specific nitrosylation and phosphorylation of different epigenetic factors is linked to a decrease in their enzymatic activity or changes in intracellular localization that results in temporary destabilization of the repressor complexes. (iv) Removing “molecular brakes” opens a “critical time window” for global and local epigenetic changes, triggering specific transcriptional programs and modulation of synaptic connections efficiency. It can be assumed that the reversible post-translational histone modifications serve as the basis of plastic changes in the neural network. On the other hand, DNA methylation and methylation-dependent 3D chromatin organization can serve a stable molecular basis for long-term maintenance of plastic changes and memory.

Keywords: memory, learning, epigenetics, gene expression, histone deacetylase, DNA methylation, nitric oxide