
**ОБЗОРЫ,
ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ**

УДК 612.822

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МОДИФИКАЦИИ ПАМЯТИ

© 2017 г. П. М. Балабан

*Федеральное бюджетное учреждение науки Институт высшей
нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва*

e-mail: pmbalaban@gmail.com

Поступила в редакцию 28.11.2016 г.

Принята в печать 05.12.2016 г.

В настоящем обзоре на основе собственных и данных литературы предлагается гипотеза о молекулярных механизмах регуляции синаптической эффективности, которые могут лежать в основе долговременных изменений поведения и модификации памяти при реактивации. В основе гипотезы лежат данные о роли молекулы атипичной протеинкиназы мю зета в долговременных изменениях эффективности синапса через контроль доставки глутаматных AMPA рецепторов и данные о возможности нитрозилирования этих молекул оксидом азота, производимом в синапсах при активации нервной клетки.

Ключевые слова: нейроны, беспозвоночные, обучение, протеинкиназа Мзета.

DOI: 10.7868/S0044467717020046

ВВЕДЕНИЕ

Долговременная память представляет собой одно из наиболее загадочных явлений физиологии мозга. К настоящему времени исследователи в этой области сходятся только в том, что память и все формы пластичности нервной системы являются основой для адаптации к новым условиям. Относительно того, где в нервной клетке происходят изменения, выражающиеся в долговременной модификации поведения, и в чем они состоят, полного согласия нет. Существуют убедительные доказательства того, что некоторые формы памяти реализуются на уровне долговременного изменения возбудимости в ключевых нейронах нервной сети беспозвоночных для определенного поведения (несинаптические формы пластичности [Nikitin et al., 2013]), однако в исследованиях на позвоночных животных в качестве основной используется гипотеза о пластичности в синаптических контактах, которая отражает механизмы модификации реакции всей нервной сети и поведения. В ее основе лежит представление о пресинаптической пластичности как механизме для кратковременной (десятки минут) регуляции эффективности синапса [Roberts & Glanzman, 2003], тогда как долговременные изменения инициируются параллельно и

основные процессы индукции долговременной пластичности происходят в постсинаптических компартментах нейрона [Cai et al., 2008]. Появились и кандидаты на специфические для процессов долговременной памяти молекулярные системы [Sacktor, 2011]. Однако, вопрос о том, является ли долговременная память перманентной или изменяется в процессе жизнедеятельности, адаптации к новым условиям, остается открытым. До сих пор не очень ясно, как может храниться неизменной память, если совершенно точно установлено, что материальной основой памяти являются белки, время жизни которых десятки часов. Все эти вопросы вместе делают чрезвычайно актуальными исследования в области молекулярных механизмов формирования и хранения ассоциативной долговременной памяти, механизмов регуляции и модификации памяти.

В последнее время все чаще физиологи используют сравнительно недавно открытый феномен реконсолидации, который ярко показал, что при напоминании (реактивации памяти) упроченная долговременная память может исчезнуть (модифицироваться), если напоминание осуществлять в условиях блокады синтеза нового белка [Debiec et al., 2002; Nader et al., 2000; Sara, 2000], то есть напоми-

вание с необходимостью приводит к модификации существующей памяти, которая зависит от формирования новой “белковой памяти”. Феномен реконсолидации до сих пор плохо изучен и в литературе существует много противоречивых данных, что в большинстве случаев связано с различной постановкой экспериментов. Тем не менее, само явление изменения памяти при реактивации дает в руки физиологам новый способ изучения механизмов ассоциативных процессов.

В настоящей работе на основе собственных и опубликованных данных будет обоснована гипотеза о возможном молекулярном механизме, который используется природой для изменения существующей памяти и оптимальной адаптации при реактивации памяти в новых условиях.

ЛАБИЛИЗАЦИЯ/МОДИФИКАЦИЯ ПАМЯТИ ПРИ РЕАКТИВАЦИИ

В литературе детально описан фактически альтернативный угашению процесс, вызванный также напоминанием об обучении без подкрепления, однако в этом случае реактивация вызывает процесс временной протеин-зависимой лабилизации памяти и дальнейшую консолидацию. Впервые было показано в работе Мизанина и др. [Misanin et al., 1968], что крысы, обученные по простой “павловской” модели избегательного условного рефлекса (*pavlovian fear conditioning task*), при предъявлении условного стимула (напоминание), а затем немедленного электроконвульсивного воздействия, забывают, чему их учили до шока. Потеря памяти при напоминании была сравнима с потерей при нанесении электрошока сразу после собственно процедуры обучения. Электрошок без напоминания не приводил к подобным изменениям в памяти. Был сделан вывод о том, что амнестический эффект электрошока возможен не только в фазу консолидации памяти, но и в результате реактивации памяти, при которой ранее сформированная устойчивая память, переходя в лабильное состояние, может быть нарушена различными амнестическими вмешательствами [Mactutus et al., 1979]. До середины 90-х годов фактически не было публикаций по этому явлению, однако затем количество работ по описанию того, что происходит при реактивации памяти, резко возросло. В лаборатории К.В. Анохина на цыплятах было показано, что нарушения па-

мяти можно вызвать интракраниальным применением ингибиторов синтеза белка только в определенный период после напоминания об обучении [Litvin, Anokhin, 1999]. В работе [Nader et al., 2000] было обнаружено, что инфузия блокатора синтеза белка (БСБ) в базолатеральную амигдалу крыс сразу после реактивации памяти об электрошоке вызывала значительное уменьшение реакции замирания (*freezing*) в ответ на условный стимул. Отставление реактивации от обучения в этих опытах могла составлять до 14 дней, но время эффективного действия БСБ после напоминания не превышало шести часов, что указывает на временные границы реконсолидации памяти. Эти данные были подтверждены с разными БСБ, с разными парадигмами обучения на крысах [Debiec et al., 2002; Duvarci et al., 2006]. Появились работы с описанием феномена реконсолидации и на самых разных животных [Eisenberg et al., 2003; Pedreira & Maldonado, 2003; Suzuki, 2004; Gainutdinova et al., 2005].

Ответ на вопрос о том, стирается ли при напоминании и последующей реконсолидации существующая память или блокируется ее использование [Anokhin et al., 2002] дан в очень интересной работе К. Альберини с соавт. [Inda et al., 2011]. В этой работе экспериментально показано, что в зависимости от времени, прошедшего после выработки у крыс пассивного избегания (*inhibitory avoidance*, в эксперименте измеряется латентность входа в темную камеру после удара в ней токком), напоминание может либо укреплять память (до двух недель после обучения), либо угашать память при последовательных тестах (через четыре недели после обучения). По данным этих авторов, загадочным способом исчезает со временем и зависимость реконсолидации от синтеза белка [Inda et al., 2011].

Реконсолидация памяти представляет собой эволюционно консервативное явление, которое описано у большинства позвоночных и многих беспозвоночных животных, что позволяет предположить, что этот феномен отражает основные характеристики образования и хранения памяти. Большое разнообразие строения мозга у различных видов позвоночных и беспозвоночных животных не позволяет считать феномен реконсолидации системным свойством мозга, а скорее **базовым нейронным механизмом, который может быть обнаружен у любых животных** с достаточ-

но развитой нервной системой, независимо от конкретной архитектуры мозга.

Парадигма реконсолидации является чрезвычайно удобной для исследования механизмов модификации памяти, и в следующих разделах будет сделана попытка продемонстрировать, как природа обеспечила возможность избирательного изменения эффективности синаптических связей только в нейронных сетях, ответственных за конкретную форму памяти.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ХРАНЕНИЯ ПАМЯТИ

Прежде чем разбирать возможные механизмы изменения памяти, логично описать возможные субстраты хранения памяти. Ретроспективно можно сказать, что все попытки заблокировать практически любую нейрохимическую систему нарушало память и последовательно основой памяти называлось большинство работающих в нервной клетке биохимических систем. Крайне существенно, что при этом в 100% случаев нарушалась и способность к формированию памяти, то есть все эти молекулярные системы не были специфичны для хранения памяти.

Сравнительно недавно впервые появились данные о возможности существования молекулы памяти, блокада которой нарушала долговременную память, но не изменяла возможность к образованию новой памяти. Было показано, что изоформа постоянно активной протеин-киназы С (PKC), протеин-киназа Mzeta (PKM ζ) необходима для хранения аверзивной долговременной памяти. В частности, была показана необходимость протеин-киназы Mzeta для хранения пространственной памяти именно в гиппокампе [Pastalkova et al., 2006] и условной вкусовой аверзии в неокортексе [Shema et al., 2007].

Первоначально протеин-киназа Mzeta была описана как постоянно активная благодаря своей уникальной структуре киназа, которая необходима и достаточна для поддержания долговременной потенциации [Sacktor et al., 1993; Ling et al., 2002]. Большая часть изоформ PKC содержит на N-терминали регуляторные домены с сайтами связывания для вторичных посредников и аутоингибиторную псевдосубстратную последовательность, тогда как на C-терминали содержатся каталитические домены [Nishizuka, 1995]. В условиях отсутствия активации псевдосубстрат взаимодействует с каталитическим до-

меном и фермент находится в аутоингибированном состоянии покоя. Вторичные посредники, такие как диацилглицерол или кальций, активируют полноценную PKC путем связывания регуляторного домена, вызывая конформационные изменения, снимающие аутоингибирование. Протеин-киназа Mzeta имеет в своем составе только независимый каталитический домен без регуляторного домена и поэтому этот фермент постоянно автономно активен. В мозге позвоночных протеин-киназа Mzeta генерируется собственным промотором, находящимся в гене PKC ζ , который запускает транскрипцию PKM ζ mRNA, кодирующую только каталитический домен ζ [Hernandez et al., 2003].

Во время индукции пластических изменений тетаническая стимуляция запускает *de novo* синтез PKM ζ , увеличивая количество постоянно активной киназы [Kelly et al., 2007]. Постоянная активность этой киназы является критическим условием для поддержания усиления эффективности синапса, что показано путем блокады активности PKM ζ мембранно-проницаемым зета ингибиторным пептидом (ZIP), который воспроизводит структуру псевдосубстрата отсутствующего регуляторного домена PKC ζ . При блокаде PKM ζ синаптическая потенциация в гиппокампе исчезает [Pastalkova et al., 2006] даже через сутки после индукции. Этот эффект специфичен для потенцированных синапсов, так как этот блокатор не изменяет синаптическую эффективность без потенциации.

Большинство свидетельств, указывающих на роль PKM ζ в поддержании LTP и долговременной памяти (см. выше), базируются на фармакологическом ингибировании активности протеинкиназы с помощью ZIP. В этом свете некоторые работы, в которых использовались альтернативные подходы для изучения долговременных изменений, поставили вопрос о наличии кроме PKM ζ еще и других молекул этого же семейства, активно участвующих в поддержании долговременной памяти.

Основным аргументом для пересмотра роли PKM ζ стали результаты, полученные в недавних работах на мышях с инактивированным геном PKC ζ /PKM ζ [Lee et al., 2013; Volk et al., 2013; Tsokas et al., 2016]. Парадоксально, но выключение (*conventional knockout*) гена PKC ζ /PKM ζ никак не влияло на хранение и извлечение ассоциативной, пространственной и двигательной памяти у мышей в ряде

поведенческих тестов. Данные *in vivo* были дополнены серией *in vitro* экспериментов, в которых стимуляция срезов гиппокампа этих животных приводила к развитию ЛТР, несмотря на отсутствие РКМ ζ в клетках [Volk et al., 2013; Tsokas et al., 2016]. Авторы показали, что долговременная потенция в контрольных и РКС ζ /РКМ ζ -/- срезах одинаково снималась в присутствии ZIP, а это может свидетельствовать о наличии у этого блокатора других мишеней. Одним из кандидатов на эту роль является гомолог РКМ ζ – атипичная протеинкиназа РКС λ .

Авторы обнаружили, что обе атипичные протеинкиназы могут участвовать в поддержании долговременных изменений, поскольку в пирамидных клетках поля СА1 гиппокампа мыши ZIP одинаково подавлял развитие потенции, вызванной как РКМ ζ , так и РКС λ [Tsokas et al., 2016]. Это согласуется с ранними работами, в которых было показано, что РКС λ важна во время ранней фазы синаптической потенции [Kelly et al., 2007; Ren et al., 2013], тогда как процесс поддержания ЛТР может контролироваться как РКМ ζ , так и РКС λ [Evarherhe et al., 2014; Tsokas et al., 2016].

Tsokas и коллеги [2016] показали, что в гиппокампе нокаутных РКС ζ /РКМ ζ -/- мышей наблюдается рост базового количества белковых молекул РКС λ , а также увеличивается “продолжительность жизни” молекул РКС λ в потенцированных клетках. В норме поддержание долговременной потенции *in vitro* и долговременной памяти *in vivo* опосредовано РКМ ζ (см. выше), однако, как убедительно продемонстрировано авторами, в отсутствие активной протеинкиназы лидирующая роль в поддержании длительных изменений пластичности в гиппокампе и сохранении пространственной памяти переходит к РКС λ [Tsokas et al., 2016]. Таким образом, было экспериментально подтверждено, что на смену базовому механизму поддержания долговременной потенции в мозге нокаутных РКС ζ /РКМ ζ -/- животных запускается независимо существующий РКС λ -зависимый механизм сохранения долговременных пластических перестроек.

Можно сделать вывод, что формирование и сохранение памятного следа представляет собой комплексный процесс, в котором в норме участвуют обе атипичные протеинкиназы. РКС λ , по некоторым данным, важна

для формирования ранней памяти, поскольку регулирует количество постсинаптических GluA1-содержащих AMPA рецепторов в раннюю фазу ЛТР. С другой стороны, РКМ ζ необходима и достаточна для поддержания долговременной потенции и памяти. Кроме того, при недостаточности экспрессии РКМ ζ в мозге включается компенсаторное, РКС λ -опосредованное сохранение памятного следа.

На сегодняшний день только для белковых молекул семейства атипичных протеинкиназ – протеинкиназы М ζ и С λ – точно доказано, что их присутствие необходимо и достаточно для поддержания памяти [Sacktor, 2011, 2012; ... Tsokas et al., 2016]. Более того, ингибирование РКМ ζ может приводить к стиранию старых воспоминаний [Kwapis et al., 2012; Miguez et al., 2010; Shema et al., 2009]. Однако, при изучении механизмов памяти неизбежно встает один из ключевых вопросов: если жизнь белковой молекулы ограничена довольно коротким временем, каким образом тогда осуществляется длительное хранение информации? Ответом на этот вопрос может быть только существование некоего активного процесса локального поддержания на определенном уровне измененной в результате обучения концентрации белка. Экспериментально показано, что для поддержания повышенного уровня белковых молекул РКМ ζ в дендритах обученных нейронов существует петля **положительной обратной связи**: новообразованная и конститутивно активная протеинкиназа может активировать процесс собственной трансляции путем снятия трансляционного блока [Sacktor, 2011].

В поведенческих экспериментах на виноградной улитке (*Helix lucorum*) в нашей лаборатории было убедительно показано, что введение пептидного блокатора РКМ ζ через день после обучения нарушает хранение памяти об обстановке, в которой улитку били током. Различия между реакциями животного в разных обстановках полностью исчезают [Balaban et al., 2015]. Важно отметить, что блокада РКМ ζ с одновременным запуском реконсолидации напоминанием об обстановке не приводит к исчезновению памяти, так как процессы, запускаемые реконсолидацией длятся существенно дольше, чем действие пептидного блокатора, и синтезируются новые молекулы РКМ ζ [Balaban et al., 2015].

В электрофизиологических экспериментах *in vitro* было также продемонстрировано,

что блокатор РКМ ζ снимает проявления долговременной потенциации если его применять через 90–120 мин после тетанизации [Balaban et al., 2015]. Полученные результаты полностью совпадают с данными на позвоночных животных, и позволяют считать, что и феномен реконсолидации и механизм хранения памяти с помощью семейства атипичных киназ являются эволюционно консервативными и не зависят от структуры нервной системы.

Сопоставляя полученные данные, можно выстроить следующую картину: активация нейронов и рост внутриклеточного кальция приводит в активное состояние многие киназы (СаМКII, PI3K, ERK, PKA и mTOR) и сопряженные с ними внутриклеточные каскады, в результате чего происходит фосфорилирование мишеней, среди которых есть PIN1. Его фосфорилирование снимает трансляционный блок и увеличивает количество белка РКМ ζ в активных нейронах. Синтезированная *de-novo* РКМ ζ подвергается фосфорилированию PDK1 и становится конститутивно активной. Далее эта РКМ ζ через петлю положительной обратной связи пропорционально увеличивает свою трансляцию в активированных клетках, тем самым способствуя длительному поддержанию концентрации белка РКМ ζ на новом уровне и сохранению памятного следа.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ПАМЯТИ

В последние годы накопилось огромное количество данных о роли нитроксида в работе практически всех органов, включая мозг. Ранее считалось, что NO-синтаза в больших количествах содержится только в некоторых нервных клетках у позвоночных и беспозвоночных животных, но при блокаде синтеза NO или при применении скавенджеров (связывающих свободную молекулу NO) практически во всех случаях показана необходимость присутствия NO для многих процессов, включая формирование, консолидацию памяти и пластичность нейронных систем [Jacklet, 1997; Müller, 1997; Fedele & Raiteri, 1999; Hawkins et al., 1998; Rose, 2000; Schweighofer & Ferriol, 2000; Katzoff et al., 2002; Antonov et al., 2007]. Универсальность участия липофильной молекулы NO почти во всех процессах жизнедеятельности и очень большой разбой данных, часто противоречащих друг другу, сильно подрывает желание

исследователей изучать роль NO в обучении и памяти, однако поставив во главу угла зрения локальность действия NO и двойственность его действия, хорошо известную биохимикам, нам удалось сформулировать и проверить на практике следствия гипотезы участия NO в обучении и хранении памяти.

Первым основанием для формулирования гипотезы было имеющееся во всех учебниках органической химии свойство свободного радикала NO вступать в ковалентную связь со многими соединениями, включая ферменты (гуанилатциклаза) или с другими белковыми и небелковыми соединениями. Одним из основных способов взаимодействия с белками является S-нитрозилирование, ковалентное связывание NO с тиоловой группой цистеина, которое изменяет физиологическую функцию белка, в большинстве случаев приводя к подавлению его функциональной роли. Второй путь взаимодействия через систему гуанилатциклазы активирует каскады внутриклеточных посредников и запускает увеличенный синтез белков, в том числе именно тех, которые подверглись нитрозилированию. Таким образом, фактически одновременно NO подавляет функцию белков и активирует синтез новых белков. Эта двуличность действия NO навела нас на мысль о его роли в процессе реконсолидации памяти, во время которой, как считают многие авторы, происходит стирание/блокировка существующей памяти и формирование новой [Nader et al., 2000; Anokhin et al., 2002; Duvarci et al., 2008]. Не так давно нами была показана возможность реконсолидации памяти в сравнительно простых поведенческих экспериментах на виноградной улитке [Gainutdinova et al., 2005]. В этих экспериментах было установлено, что введение блокатора синтеза новых белков обученным избегать определенную обстановку улиткам и напоминание на фоне БСБ об этой обстановке приводило к полному исчезновению памяти при тестировании через несколько дней. Из этого можно сделать вывод (1) о необходимости синтеза новых белков, то есть о формировании новой памяти, при напоминании, и к выводу о (2) наличии процесса дестабилизации (или лабилизации, или стирания) “старой” памяти при реактивации. Мы предположили, что если NO участвует в феномене исчезновения существовавшей памяти в этих условиях, то блокада синтеза NO может сохранить эту память. В проведенных не так давно экспери-

ментах на улитках [Balaban et al., 2014] убедительно продемонстрировано, что блокада производства NO или применение скарвенджеров NO препятствует исчезновению долговременной памяти при реактивации на фоне БСБ, что подтверждает высказанную гипотезу о роли NO в стирании памяти.

В литературе нам удалось найти только одну работу, в которой блокатор NO-синтазы использовался одновременно с другими фармакологическими агентами при анализе обучения и памяти. В этой работе [Wass et al., 2006] показано, что фенциклидин нарушает память об обстановке, в которой проводилось обучение, а совместное применение блокатора NO-синтазы и фенциклидина не приводило к нарушениям памяти, то есть эти данные можно интерпретировать как необходимость NO для нарушений памяти. Авторы говорят только о протекторном действии блокады производства NO для памяти, не разделяя память об обстановке и память о ключевых стимулах.

В литературе уже существует представление об NO как о двуликой молекуле, так как эта молекула обладает одновременно цитотоксическим и цитопротекторным действием (“*a Janus molecule*”, см. [Calabrese et al., 2009]).

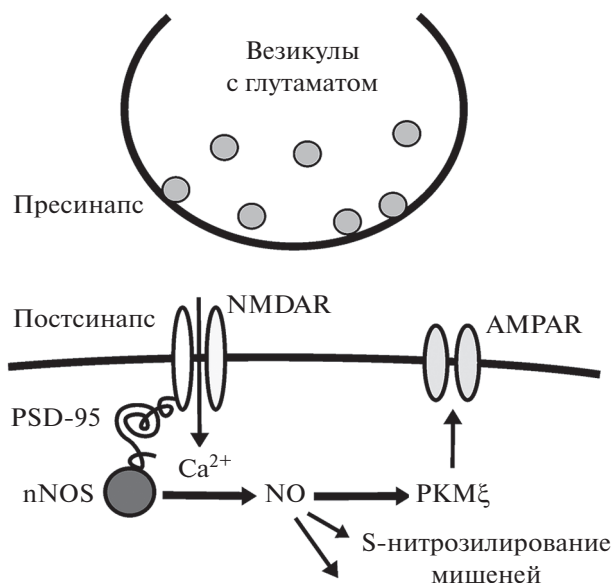
Формирование новой памяти обычно не рассматривается как зависимое от существования или исчезновения “старой” памяти, поэтому этот пласт работ мы анализировать не будем. Однако, в ситуации переучивания “старая” память должна быть либо заблокирована, либо стерта. Нам удалось показать, что именно в этой ситуации для исчезновения проявлений старой памяти необходимо участие NO. Учитывая известные данные о периоде консолидации памяти и необходимости синтеза белка, самым простым предположением было бы постулировать локальное изменение функций белковых молекул, которое на поведенческом уровне при реконсолидации на фоне блокады синтеза нового белка проявится в виде исчезновения старой памяти. Если же в тех же условиях дополнительно заблокировать производство NO, то наблюдается сохранение существующей памяти [Balaban et al., 2014]. Существенно, что нам удалось повторить эксперименты в той же парадигме и на млекопитающих. Применение блокатора синтеза белка вызывало во время реактивации памяти у крыс на условный стимул (звук) достоверное ослабление памяти, тогда как добавление блокато-

ра синтеза оксида азота снимало этот эффект и память была даже лучше, чем в контроле [Bal et al., 2016].

Феномен реконсолидации памяти при напоминании непосредственно включает идею о блокировке/стирании/дестабилизации старой памяти и формировании на ее месте новой [Duvarci & Nader, 2004; Nader et al., 2000; Anokhin et al., 2002; Sara, 2000], в связи с чем мы и использовали именно этот подход для исследования роли NO в памяти. Полученные данные о сохранении старой памяти при блокаде производства NO во время процедуры напоминания прямо указывают на необходимость NO для стирания/блокировки старой памяти [Balaban et al., 2014].

ГИПОТЕЗА О МОЛЕКУЛЯРНОМ МЕХАНИЗМЕ МОДИФИКАЦИИ ПАМЯТИ

Попробуем на основании известных данных выстроить последовательность событий в глутаматергическом синапсе, которые приводят к образованию памяти, сделав допущение о том, что образование новой молекулы РКМ ζ является результатом процесса обучения и показателем формирования новой памяти. Прежде всего, при индукции пластических сдвигов в активированном синапсе активируются рецепторы глутамата (рисунок), причем хорошо известно, что молекула нейрональной синтазы оксида азота (*nNOS*) расположена в постсинапсе в непосредственном контакте с белком постсинаптической плотности (PSD95), который контактирует также и с NMDA рецептором, поэтому *nNOS* в первую очередь активируется кальцием, входящим через NMDA рецепторы [Christopherson, Bredt, 1997; Bredt, 2003]. Образующийся оксид азота в небольших концентрациях активирует синтез новых белков через гуанилатциклазную систему, а в локально больших концентрациях (при потенциации) нитрозилирует белки непосредственно вокруг себя в постсинапсе. Безусловно, молекулы РКМ ζ могут быть субстратом нитрозилирования и при реактивации памяти, учитывая их локализацию в постсинапсе (рисунок). Локальное выделение оксида азота в синапсах нейронов сети, участвующей в извлечении памяти, может происходить на таком же уровне, как и при обучении, так как убедительно показано, что нейроны при напоминании активированы с такой же интенсивностью, как и при обучении [Gelbard-Sagiv et al., 2008].



Схематическое изображение отношений участников процесса пластических изменений в синапсе. Нейрональная nNOS активируется кальцием, проходящим через NMDA рецепторы максимально быстро, так как nNOS колокализована на белке постсинаптической плотности PSD-95. Таким образом, белок PSD-95 физически связывает nNOS с NMDA рецепторами.

Associations with PSD-95 mediates coupling of nNOS to NMDA receptor activity. nNOS activity is primarily regulated by local increases in intracellular calcium, which stimulates nNOS through interaction with calmodulin. PSD-95 and related proteins thereby function as molecular scaffolds and physically link nNOS to NMDA receptors.

Довольно интересно отметить, что процесс реактивации консолидированной памяти сопровождается активным распадом белков, при котором происходит полиубиквитинирование белков с их дальнейшей деградацией в протеасомах [Hegde et al., 2014]. Деградация белков — условие необходимое, так как при ингибировании протеасомального распада белков нарушение памяти при применении БСБ при реактивации памяти отсутствует [Lee et al., 2008; Jarome et al., 2011; Ren et al., 2013]. Существенно отметить, что распад белков необходим не только для реконсолидации, но и для процесса консолидации долговременной памяти [Artinian et al., 2008].

Недавно показано, что оксид азота участвует также и в запуске протеасомной деградации белка, необходимость которой при долговременных пластических синаптических изменениях также показана [Баль, Балабан, 2015; Val et al., 2016]. Таким образом, при ак-

тивации нервной клетки при индукции долговременной пластичности неизбежно образуется оксид азота, запускающий процессы разрушения белка именно в данном синапсе. Известно, что при реактивации памяти и запуске процессов реконсолидации (обзор см. [Зюзина, Балабан, 2015]) активность нейронной сети, вовлеченной в воспроизведение данной памяти, не ниже, чем при формировании памяти, то есть запускаются те же процессы, которые запускались и при формировании памяти [Gelbard-Sagiv et al., 2008]. Это означает, что при стабильной реконсолидации с необходимостью включается как процесс запуска синтеза новых белков при малых концентрациях нитроксида, так и процесс разрушения части белков в синапсе путем нитрозилирования и активации протеасомной деградации белка (рисунок).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ известных данных позволяет предположить, что при реактивации долговременной памяти происходит процесс локальной лабильности/дестабилизации/стирания имеющейся памяти в синапсах нейронной сети, лежащей в основе этого вида памяти, с участием оксида азота. При этом запускается механизм синтеза тех же белков, нарушения которого проявляются в виде исчезновения памяти при последующем тестировании. Субстратом действия нитроксида может быть атипичная протеинкиназа М зета, необходимость участия которой для многих видов памяти убедительно показана. Активность протеинкиназы М зета необходима для эффективного транспорта AMPA рецепторов к глутамату в постсинаптическую мембрану, причем эффективность синапса прямо определяется количеством AMPA рецепторов. Таким образом, механизм поддержания долговременной памяти может быть опосредован протеинкиназой М зета, а модификация памяти может быть связана с разрушением этого белка с участием оксида азота.

Работа поддержана грантом РФФ 14-25-00072.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Баль Н.В., Балабан П.М. Убиквитин-зависимый распад белков необходим для долговременной пластичности и памяти. *Нейрохимия*. 2015. 32(4): 275–284.

- Зюзина А.Б., Балабан П.М.* Угашение и реконсолидация памяти. Журнал высш. нервн. деят. им. И.В. Павлова. 2015 65(5): 564–576.
- Anokhin K.V., Tiunova A.A., Rose S.P.R.* Reminder effects – reconsolidation or retrieval deficit? Pharmacological dissection with protein synthesis inhibitors following reminder for a passive-avoidance task in young chicks. *Eur. J. Neurosci.* 2002. 15(11): 1759–65.
- Antonov I., Ha T., Antonova I., Moroz L.L., Hawkins R.D.* Role of nitric oxide in classical conditioning of siphon withdrawal in *Aplysia*. *J. Neurosci.* 2007. 27:10993–11002.
- Artinian J., McGauran A.-M.T., De Jaeger X., Mouldous L., Frances B., Rouillet P.* Protein degradation, as with protein synthesis, is required during not only long-term spatial memory consolidation but also reconsolidation. *Eur. J. Neurosci.* 2008. 27: 3009–3019.
- Bal N., Roshchin M., Salozhin S., Balaban P.* Nitric Oxide Upregulates Proteasomal Protein Degradation in Neurons. *Cell Mol. Neurobiol.* 2016. doi 10.1007/s10571-016-0413-9
- Balaban P.M., Roshchin M., Timoshenko A.K., Gainutdinov K.L., Bogodvid T.K., Muranova L.N., Zuzina A.B., Korshunova T.A.* Nitric oxide is necessary for labilization of a consolidated context memory during reconsolidation in terrestrial snails. *Eur. J. Neurosci.* 2014. 40: 2963–2970.
- Balaban P.M., Roshchin M., Timoshenko A.K., Zuzina A.B., Lemak M., Ierusalimsky V.N., Aseyev N.A., Malyshch A.Y.* Homolog of protein kinase Mζ maintains context aversive memory and underlying long-term facilitation in terrestrial snail *Helix*. *Front. Cell. Neurosci.* 2015. 9: 222.
- Bredt D.S.* Nitric oxide signaling specificity – the heart of the problem. *J. Cell. Sci.* 2003. 116: 9–15.
- Cai D., Chen S., Glanzman D.L.* Postsynaptic regulation of long-term facilitation in *Aplysia*. *Curr. Biol.* 2008. 18: 920–925.
- Calabrese V., Cornelius C., Rizzarelli E., Owen J.B., Dinkova-Kostova A.T., Butterfield D.A.* Nitric oxide in cell survival: a janus molecule. *Antioxid. Redox. Signal.* 2009. 11: 2717–2739.
- Christopherson K.S., Bredt D.S.* Nitric oxide in excitable tissues: physiological roles and disease. *J. Clin. Invest.* 1997. 100: 2424–2429.
- Debiec J., LeDoux J.E., Nader K.* Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron.* 2002. 36: 527–538.
- Duvarci S., Mamou C.Ben, Nader K.* Extinction is not a sufficient condition to prevent fear memories from undergoing reconsolidation in the basolateral amygdala. *Eur. J. Neurosci.* 2006. 24: 249–260.
- Duvarci S., Nader K.* Characterization of fear memory reconsolidation. *J. Neurosci.* 2004. 24: 9269–9275.
- Duvarci S., Nader K., LeDoux J.E.* De novo mRNA synthesis is required for both consolidation and reconsolidation of fear memories in the amygdala. *Learn. Mem.* 2008. 15: 747–755.
- Eisenberg M., Kobilo T., Berman D.E., Dudai Y.* Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science.* 2003. 301: 1102–1104.
- Evuarherhe O., Barker G.R.I., Savalli G., Warburton E.C., Brown M.W.* Early memory formation disrupted by atypical PKC inhibitor ZIP in the medial prefrontal cortex but not hippocampus. *Hippocampus.* 2014. 24: 934–942.
- Fedele E., Raiteri M.* In vivo studies of the cerebral glutamate receptor/NO/cGMP pathway. *Prog. Neurobiol.* 1999. 58: 89–120.
- Gainutdinova T.H., Tagirova R.R., Ismailova A.I., Muranova L.N., Samarova E.I., Gainutdinov K.L., Balaban P.M.* Reconsolidation of a context long-term memory in the terrestrial snail requires protein synthesis. *Learn. Mem.* 2005. 12: 620–625.
- Gelbard-Sagiv H., Mukamel R., Harel M., Malach R., Fried I.* Internally generated reactivation of single neurons in human hippocampus during free recall. *Science.* 2008. 322: 96–101.
- Hawkins R.D., Son H., Arancio O.* Nitric oxide as a retrograde messenger during long-term potentiation in hippocampus. *Prog. Brain. Res.* 1998. 118: 155–172.
- Hegde A.N., Haynes K.A., Bach S.V., Beckelman B.C.* Local ubiquitin-proteasome-mediated proteolysis and long-term synaptic plasticity. *Front. Mol. Neurosci.* 2014. 7:fnmol.2014.00096.
- Hernandez A.I., Blace N., Crary J.F., Serrano P.A., Leitges M., Libien J.M., Weinstein G., Tcherapanov A., Sacktor T.C.* Protein Kinase M Synthesis from a Brain mRNA Encoding an Independent Protein Kinase C Catalytic Domain: implications for the molecular mechanism of memory. *J. Biol. Chem.* 2003. 278: 40305–40316.
- Inda M.C., Muravieva E.V., Alberini C.M.* Memory retrieval and the passage of time: From reconsolidation and strengthening to extinction. *J. Neurosci.* 2011. 31: 1635–1643.
- Jacklet J.W.* Nitric oxide signaling in invertebrates. *Invert. Neurosci.* 1997. 3: 1–14.
- Jarome T.J., Werner C.T., Kwapis J.L., Helmstetter F.J.* Activity dependent protein degradation is critical for the formation and stability of fear memory in the amygdala. *PLoS One.* 2011. 6: e24349.
- Katzoff A., Ben-Gedalya T., Susswein A.J.* Nitric oxide is necessary for multiple memory processes after learning that a food is inedible in *Aplysia*. *J. Neurosci.* 2002. 22: 9581–9594.
- Kelly M.T., Crary J.F., Sacktor T.C.* Regulation of Protein Kinase M Synthesis by Multiple Kinases in Long-Term Potentiation. *J. Neurosci.* 2007. 27: 3439–3444.

- Kwapis J.L., Jarome T.J., Gilmartin M.R., Helmstetter F.J.* Intra-amygdala infusion of the protein kinase Mzeta inhibitor ZIP disrupts foreground context fear memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2012. 98: 148–153.
- Lee A.M., Kanter B.R., Wang D., Lim J.P., Zou M.E., Qiu C., McMahon T., Dadgar J., Fischbach-Weiss S.C., Messing R.O.* Prkcz null mice show normal learning and memory. *Nature*. 2013. 493: 416–419.
- Lee S.-H., Choi J.-H., Lee N., Lee H.-R., Kim J.-I., Yu N.-K., Choi S.-L., Lee S.-H., Kim H., Kaang B.-K.* Synaptic Protein Degradation Underlies Destabilization of Retrieved Fear Memory. *Science*. 2008. 319: 1253–1256.
- Ling D.S.F., Benardo L.S., Serrano P.A., Blace N., Kelly M.T., Crary J.F., Sacktor T.C.* Protein kinase M ζ is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nat. Neurosci.* 2002. 5: 295–296.
- Litvin O.O., Anokhin K.V.* The mechanisms of memory reorganization during the retrieval of acquired behavioral experience in chicks: the effects of protein synthesis blockade in the brain. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat.* 1999. 49(4): 554–65.
- Mactutus C.F., Riccio D.C., Ferek J.M.* Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics. *Science*. 1979. 204: 1319–1320.
- Migues P.V., Hardt O., Wu D.C., Gamache K., Sacktor T.C., Wang Y.T., Nader K.* PKM ζ maintains memories by regulating GluR2-dependent AMPA receptor trafficking. *Nat. Neurosci.* 2010. 13: 630–634.
- Misanin J.R., Miller R.R., Lewis D.J.* Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science*. 1968. 160(827): 554–555.
- Müller U.* The nitric oxide system in insects. *Prog. Neurobiol.* 1997. 51: 363–381.
- Nader K., Schafe G.E., Le Doux J.E.* Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*. 2000. 406: 722–726.
- Nikitin E.S., Balaban P.M., Kemenes G.* Nonsynaptic plasticity underlies a compartmentalized increase in synaptic efficacy after classical conditioning. *Curr. Biol.* 2013. 23(7): 614–619.
- Nishizuka Y.* Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses. *FASEB J.* 1995. 9: 484–496.
- Pastalkova E., Serrano P., Pinkhasova D., Wallace E., Fenton A.A., Sacktor T.C.* Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science*. 2006. 313: 1141–1144.
- Pedreira M.E., Maldonado H.* Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron*. 2003. 38: 863–869.
- Ren S.-Q., Yan J.-Z., Zhang X.-Y., Bu Y.-F., Pan W.-W., Yao W., Tian T., Lu W.* PKC λ is critical in AMPA receptor phosphorylation and synaptic incorporation during LTP. *EMBO J.* 2013. 32: 1365–1380.
- Roberts A.C., Glanzman D.L.* Learning in *Aplysia*: looking at synaptic plasticity from both sides. *Trends Neurosci.* 2003. 26: 662–670.
- Rose S.P.* God's organism? The chick as a model system for memory studies. *Learn. Mem.* 2000. 7: 1–17.
- Sacktor T.C.* How does PKMzeta maintain long-term memory? *Nat. Rev. Neurosci.* 2011. 12: 9–15.
- Sacktor T.C.* Memory maintenance by PKMzeta – an evolutionary perspective. *Mol. Brain*. 2012. 5: 31.
- Sacktor T.C., Osten P., Valsamis H., Jiang X., Naik M.U., Sublette E.* Persistent activation of the zeta isoform of protein kinase C in the maintenance of long-term potentiation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1993. 90: 8342–8346.
- Sara S.J.* Strengthening the shaky trace through retrieval. *Nat. Rev. Neurosci.* 2000. 1: 212–213.
- Schweighofer N., Ferriol G.* Diffusion of nitric oxide can facilitate cerebellar learning: A simulation study. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A* 2000. 97: 10661–10665.
- Shema R., Hazvi S., Sacktor T.C., Dudai Y.* Boundary conditions for the maintenance of memory by PKM in neocortex. *Learn Mem.* 2009. 16: 122–128.
- Shema R., Sacktor T.C., Dudai Y.* Rapid Erasure of Long-Term Memory Associations in the Cortex by an Inhibitor of PKM. *Science*. 2007. 317: 951–953.
- Si K., Lindquist S., Kandel E.R.* A Neuronal isoform of the *Aplysia* CPEB has prion-like properties. *Cell*. 2003. 115: 879–891.
- Suzuki A.* Memory Reconsolidation and Extinction Have Distinct Temporal and Biochemical Signatures. *J. Neurosci.* 2004. 24: 4787–4795.
- Tsokas P., Hsieh C., Yao Y., Lesburguères E., Wallace E.J.C., Tcherepanov A., Jothianandan D., Hartley B.R., Pan L., Rivard B., Farese R.V., Sajan M.P., Bergold P.J., Hernández A.I., Cottrell J.E., Shouval H.Z., Fenton A.A., Sacktor T.C.* Compensation for PKM ζ in long-term potentiation and spatial long-term memory in mutant mice. *Elife*. 2016. 5: doi 10.7554/eLife.14846
- Volk L.J., Bachman J.L., Johnson R., Yu Y., Haganir R.L.* PKM- ζ is not required for hippocampal synaptic plasticity, learning and memory. *Nature*. 2013. 493: 420–423.
- Wass C., Archer T., Pålsson E., Fejgin K., Alexandersson A., Klamer D., Engel J.A., Svensson L.* Phencyclidine affects memory in a nitric oxide-dependent manner: working and reference memory. *Behav. Brain Res.* 2006. 174: 49–55.

Molecular Mechanisms of Memory Modification

P. M. Balaban

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia
e-mail: pmbalaban@gmail.com*

In the present review a hypothesis based on our and literature data is suggested. The hypothesis concerns molecular mechanisms of long-term synaptic effectivity changes that may underlie the long-term changes in behavior and changes in memory due to reactivation. A role of atypical proteinkinase M zeta in long-term changes of synaptic effectivity via control of AMPA receptors trafficking along with a possibility of nitrosylation of these molecules by nitric oxide produced in synapses of activated nerve cells constitute a basis of the hypothesis.

Keywords: neurons, invertebrates, learning, reconsolidation, proteinkinase mzeta.