

Регуляция ацетилирования гистона H4 в центральной нервной системе и командных нейронах оборонительного поведения моллюска *Helix* серотонином и нейропептидом FMRFамидом

А.Н. Гринкевич , Т.Г. Зачепило

Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Вовлеченность эпигенетических механизмов в формирование долговременной памяти не вызывает сомнений. В настоящее время среди этих механизмов наиболее активно исследуются изменения уровня различных гистоновых модификаций (в первую очередь, ацетилирования и метилирования) в составе хроматина клеток центральной нервной системы (ЦНС) на различных экспериментальных моделях. Одна из наиболее удобных моделей – моллюски, их ЦНС относительно просто устроена и для ряда видов достаточно хорошо охарактеризована. В работе в качестве объекта исследования использована ЦНС виноградной улитки (*Helix lucorum*), для которой ранее была выявлена группа нейронов, участвующих в формировании различных типов поведения, включая сохраняющийся во времени ответ на различные стимулы. Целью работы было изучение влияния известных эффекторов: серотонина и FMRFамида, связанных в ЦНС с активаторными и тормозными путями соответственно, на ацетилирование гистона H4 в подглоточном комплексе ганглиев, а также в командных нейронах оборонительного поведения правого (ППа3/2) и левого (ЛПа3/2) париетальных ганглиев улитки. Исследование проводилось методом Вестерн-блот гибридазации. Полученные результаты указывают на сильную зависимость эффектов изучаемых нейромедиаторов от структур ЦНС, которые подвергались воздействию этих веществ. Так, оказалось, что в подглоточном комплексе ганглиев под действием серотонина происходило усиление суммарного ацетилирования гистона H4, а FMRFамид подавлял его эффект. В противоположность этому, в командных нейронах правого париетального ганглия серотонин и FMRFамид усиливали действие друг друга, что приводило к существенному повышению уровня ацетилирования гистона H4. Однако в симметричных нейронах левого париетального ганглия никаких изменений в уровне ацетилирования под действием обоих веществ не наблюдалось, что служит новым свидетельством наличия функциональной асимметрии у *Helix*. Результаты исследования позволяют сделать заключение о двоякой роли тормозных путей, опосредуемых FMRFамидом, в зависимости от контекста нейрональных комплексов, они могут как подавлять действие активаторных путей, что было зафиксировано нами в подглоточном комплексе ганглиев улитки, так и выступать в роли их синергистов, как в командных нейронах оборонительного поведения правого париетального ганглия.

Ключевые слова: моллюск *Helix*; иммуноблоттинг; эпигенетика; долговременная память; ацетилирование гистона H4; серотонин; FMRFамид; командные нейроны.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Гринкевич Л.Н., Зачепило Т.Г. Регуляция ацетилирования гистона H4 в центральной нервной системе и командных нейронах оборонительного поведения моллюска *Helix* серотонином и нейропептидом FMRFамидом. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(5):606-610. DOI 10.18699/VJ18.401

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Grinkevich L.N., Zachevilo T.G. Regulation of histone H4 acetylation in the CNS and defensive behavior command neurons of the mollusk *Helix* mediated by serotonin and neuropeptide FMRFamide. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(5):606-610. DOI 10.18699/VJ18.401 (in Russian)

УДК (57.052+57.053+577.25):612.829
Поступила в редакцию 07.03.2018
Принята к публикации 28.05.2018
© АВТОРЫ, 2018

 e-mail: Larisa_Gr_spb@mail.ru

Regulation of histone H4 acetylation in the CNS and defensive behavior command neurons of the mollusk *Helix* mediated by serotonin and neuropeptide FMRFamide

L.N. Grinkevich , T.G. Zachevilo

Pavlov Institute of Physiology, RAS, St. Petersburg, Russia

Epigenetic mechanisms are commonly known to underlie memory formation. Presently, scientists' attention is focused on changes in the levels of histone modifications (mainly acetylation and methylation) in the chromatin of CNS cells tested in various experimental models. Owing to their relatively simple CNSs, mollusks are among the most popular models. Our experiments were conducted with the mollusk *Helix lucorum* because its CNS had been investigated in detail and most of its neurons had been proven to participate in the formation of different behavior patterns, including the prolonged response to various stimuli. This work concerns the influence of various effectors (serotonin and FMRFamide, associated with CNS activator and inhibitory pathways, respectively) on the acetylation of H4 histone in the subesophageal ganglion complex and in defensive behavior command neurons of the right and left parietal ganglia (RPa3/2 and LPa3/2) in the snail. Western blot analysis showed that FMRFamide inhibited histone H4 acetylation induced by serotonin in the subesophageal complex of CNS ganglia. However, serotonin and FMRFamide cooperatively enhanced the induction of histone H4 acetylation in RPa3/2 defensive behavior command neurons. No changes were found in the counterpart LPa3/2. It is a new piece of evidence for functional asymmetry in *Helix*. The inhibitory pathways mediated by FMRFamide not only inhibit the activatory intracellular processes in the entire CNS but can also enhance them, as in RPa3/2 defensive behavior command neurons.

Key words: mollusk *Helix*, Western blotting, epigenetics, long-term memory, histone H4 acetylation, serotonin, FMRFamide, command neurons.

Изучение механизмов формирования долговременной памяти (ДП) – одна из актуальнейших задач современной нейробиологии. В последние годы наиболее активно развивающимся направлением исследований в этой области стало изучение изменений в эпигенетическом ландшафте хроматина в различных клетках и структурах центральной нервной системы (ЦНС). При этом особое внимание уделяется посттрансляционным модификациям гистонов, регулирующим активность промоторных и энхансерных районов генов и обеспечивающим долгосрочные изменения в уровне их экспрессии (Zovkic et al., 2013; Kim, Kaang, 2017). Ацетилирование и метилирование гистонов относятся к числу наиболее «популярных модификаций». Это связано как со значительным вкладом этих модификаций в определение уровня генной экспрессии, так и с существованием терапевтических способов корректировки статуса ацетилирования и метилирования гистонов, потенциально способных восстанавливать ментальные характеристики при ряде патологий (Abel, Zukin, 2008; Gräff, Tsai, 2013). Тем не менее следует отметить, что и механизмы регуляции процессов ацетилирования и метилирования гистонов, и способы воздействия на эффективность этих процессов изучены далеко недостаточно.

Моллюски – широко используемая экспериментальная модель в исследованиях молекулярных механизмов ДП (Balaban, 2002; Гринкевич, 2012; Kandel, 2012), в первую очередь, в связи с относительной простотой организации их ЦНС и наличием чрезвычайно удобных для исследования гигантских нейронов, позволяющих вести работу с отдельными нервными клетками. Именно на моллюске (*Aplysia*) впервые была показана ключевая роль ацетилирования гистонов в формировании ДП (Guan et al., 2002), что в дальнейшем было подтверждено и на моделях позвоночных животных (Levenson, Sweatt, 2006). Ранее нами была проведена серия исследований роли ацетилирования гистона H3 в процессе обучения на модели условного оборонительного рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix*. Результаты этих исследований не только выявили повышение уровня ацетилирования гистона H3 в результате обучения, но и показали, что этот процесс запускается серотонином при участии киназного пути MAPK/ERK (Grinkevich et al., 2008; Danilova et al., 2010; Kharchenko et al., 2010; Danilova, Grinkevich, 2012; Гринкевич, Воробьева, 2014).

Однако хорошо известно, что наряду с активаторными процессами для формирования ДП необходимы также процессы торможения, осуществление которых у моллюсков связано с нейропептидом FMRFамидом (Phe-Met-Arg-Phe-NH₂) (Guan et al., 2002). В недавнем исследовании влияния серотонина и FMRFамида на содержание активаторной (H3K4me₃) и ингибиторной (H3K9me₂) модификаций гистона H3 в ЦНС *Helix* (Гринкевич, Воробьева, 2016) мы попытались подойти поближе к выяснению механизма этого явления и обнаружили противоположные эффекты указанных соединений.

Задачей настоящей работы было изучение влияния этих эффекторов на ацетилирование гистона H4 в подглоточном комплексе ганглиев, а также командных нейронах оборонительного поведения правого (ППа3/2) и левого (ЛПа3/2) парietальных ганглиев улитки.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на взрослых виноградных улитках *Helix lucorum*. Выделение ЦНС, обработку серотонином и/или FMRF-амидом, выделение подглоточных комплексов ганглиев и отдельных командных нейронов осуществляли, как описано (Danilova et al., 2010; Гринкевич, Воробьева, 2016). Для каждого независимого эксперимента нейроны из трех животных объединяли (отдельно из левых и правых парietальных ганглиев) и получали клеточные экстракты, согласно (Monsey et al., 2011). В качестве контроля использовали ЦНС или командные нейроны из ЦНС, которую инкубировали в физиологическом растворе без добавления изучаемых препаратов. Разделение белков электрофорезом, Вестерн-блот анализ и обработку результатов также выполняли согласно описанным методам и протоколам (Гринкевич, Воробьева, 2016).

Результаты

Изучение влияния серотонина и FMRFамида на ацетилирование гистона H4 проводили в подглоточном комплексе ганглиев (ЦНС), а также в изолированных командных нейронах оборонительного поведения ЛПа3/2 и ППа3/2, расположенных в левых и правых парietальных ганглиях ЦНС *Helix* (рис. 1).

Основная функция подглоточного комплекса ганглиев заключается в формировании оборонительного поведения. Ключевую роль в этом процессе играют командные нейроны оборонительного поведения ЛПа3/2 и ППа3/2, размер которых составляет около 200 мкм.

Для анализа влияния серотонина и нейропептида FMRFамида на уровень тотального ацетилирования гистона H4 ЦНС улиток инкубировали 1.5 часа в физиологическом растворе для беспозвоночных, содержащем или серотонин (0.2 мМ), или FMRF-амид (10 мкМ), или оба вещества. Это время инкубации с серотонином приводит к долговременной сенситизации нейронов, вовлеченных в формирование оборонительных рефлексов улитки, а с FMRFамидом – вызывает развитие привыкания (Balaban, 2002; Guan et al., 2002). Оба эти процесса относятся к неассоциативным формам долговременной памяти. В качестве контроля использовали экстракты, полученные из ЦНС, инкубируемой в физиологическом растворе без добавления серотонина или FMRFамида.

Анализ влияния серотонина и нейропептида FMRFамида на ацетилирование гистона H4 в подглоточном комплексе ганглиев *Helix*. Результаты проведенных методом Вестерн-блот гибридизации экспериментов показывают, что инкубация ЦНС с серотонином приводит к достоверному увеличению уровня ацетилирования гистона H4 ($p < 0.001$) в суммарных гомогенатах подглоточного комплекса ганглиев спустя один час после обучения, а добавление в инкубационную среду нейропептида FMRFамида эффект серотонина полностью нивелирует (рис. 2).

Отличие уровня ацетилирования гистона H4 при инкубации ЦНС с серотонином и смесью серотонин + FMRFамид достоверно при $p < 0.001$. Нейропептид FMRFамид, примененный независимо, достоверного влияния на уровень ацетилирования не оказывает. Отличие ацетилирования гистона H4 при инкубации ЦНС с серотонином от контроля, серотонина с добавлением FMRFамида и просто

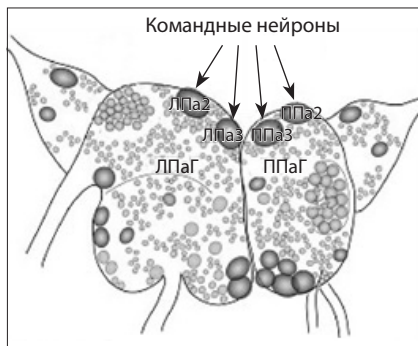


Рис. 1. Схема дорсальной поверхности подглоточного комплекса ганглиев ЦНС *Helix lucorum*.

Изображены гигантские командные нейроны оборонительного поведения ЛПа2, ЛПа3 и ППа2, ППа3, симметрично расположенные в левом (ЛПаГ) и правом (ППаГ) париеальных ганглиях соответственно (модифицировано из (Kharchenko et al., 2010)).

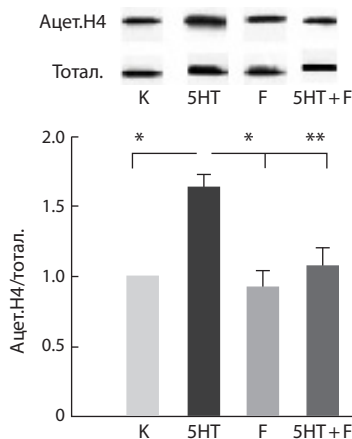


Рис. 2. Ацетилирование гистона H4 в подглоточном комплексе ганглиев при инкубации ЦНС *Helix* с FMRFамидом, серотонином и сочетанием серотонина и FMRFамида.

По оси ординат – содержание ацетилированных форм гистона H4, отнесенное к общему количеству гистона H4 и к контролю. К – контроль (инкубация в физиологическом растворе без добавления изучаемых препаратов); 5HT – инкубация ЦНС с серотонином; F – инкубация ЦНС с FMRFамидом; 5HT+F – инкубация ЦНС с серотонином и FMRFамидом; Ацет.Н4 – ацетилированный гистон H4; тотал. – тотальный гистон H4; K/5HT * $p < 0.003$; 5HT/5HT+F * $p < 0.003$; 5HT-F ** $p < 0.001$ (ANOVA). Количество независимых экспериментов: K ($n = 8$); 5HT ($n = 9$); F ($n = 5$); 5HT+F ($n = 6$). Над диаграммой – репрезентативный Вестерн-блот с антителами к ацетилированной форме гистона H4 и к тотальному гистону H4.

FMRFамида подтверждается post-hoc LSD, Scheffe, Tukey HSD (ANOVA). Полученные результаты позволяют прийти к заключению о диаметрально противоположном действии серото-

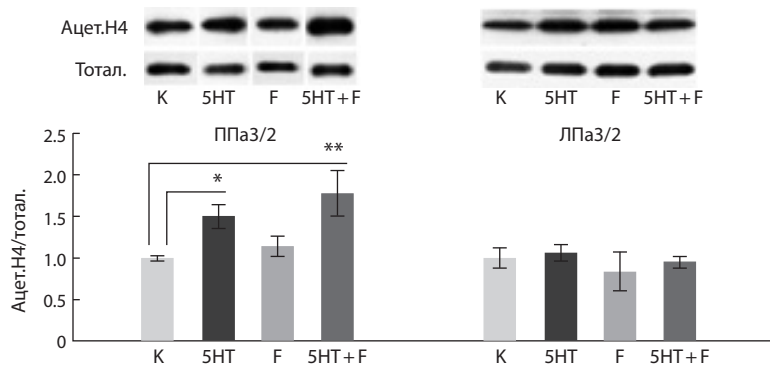


Рис. 3. Влияние FMRFамида и серотонина на ацетилирование гистона H4 в командных нейронах ЦНС *Helix* из левого и правого париеальных ганглиев.

Ось ординат – содержание ацетилированных форм гистона H4, отнесенное к общему количеству гистона и к контролю. К – контроль; 5HT – инкубация ЦНС с серотонином; F – инкубация ЦНС с FMRFамидом; 5HT+F – инкубация ЦНС с серотонином и FMRFамидом. * $p < 0.03$, post-hoc LSD; ** $p < 0.01$, post-hoc LSD, Scheffe, Tukey HSD. Количество независимых экспериментов: ППа3/2: K ($n = 4$); 5HT ($n = 5$); F ($n = 3$); 5HT+F ($n = 3$); ЛПа3/2: K ($n = 4$); 5HT ($n = 4$); F ($n = 3$); 5HT+F ($n = 3$). В каждой разгоняемой пробе объединяли нейроны из трех животных.

нина и FMRFамида на интегральный уровень ацетилирования H4 в суммарной ЦНС виноградной улитки.

Анализ влияния серотонина и нейропептида FMRFамида на ацетилирование гистона H4 в командных нейронах оборонительного поведения ЦНС *Helix*. Для более детального изучения влияния серотонина и FMRFамида на ацетилирование гистона H4 в ЦНС улитки на следующем этапе работы нами были исследованы изолированные командные нейроны ЛПа3/2 и ППа3/2, симметрично расположенные в левых и правых париеальных ганглиях (см. рис. 1).

Показано, что под действием серотонина возрастает уровень ацетилирования гистона H4 в командных нейронах ППа3/2 (достоверно при $p < 0.03$), а в ЛПа3/2 он не меняется (рис. 3). Добавление только FMRFамида в культуральную среду достоверного изменения ацетилирования не вызывает (см. рис. 3). Однако обнаружена аддитивность в действии серотонина и FMRFамида в командных нейронах ППа3/2, в случае если оба вещества присутствовали в культуральной среде. Показано, что совместное внесение в среду серотонина и FMRFамида вызывает значительное увеличение ацетилирования гистона H4 относительно контроля (1.78 ± 0.27 , $p < 0.01$, ANOVA). При этом на уровень ацетилирования гистона H4 в нейронах ЛПа3/2 смесь серотонина и FMRFамида влияния не оказывает (0.92 ± 0.03).

Следовательно, серотонин и FMRFамид оказывают аддитивный положительный эффект на тотальный уровень ацетилирования гистона H4 в командных нейронах оборонительного поведения правых париеальных ганглиев, не влияя при этом на уровень ацетилирования гистона H4 в симметрично расположенных командных нейронах левых париеальных ганглиев.

Обсуждение

Полученные нами результаты четко показывают влияние сочетания серотонина и FMRFамида на ацетилирование гистона H4 как в суммарной ЦНС, так и в командных нейронах оборонительного поведения ППа3/2 виноградной улитки. Однако эффекты взаимодействия этих веществ кардинально различны. В суммарной ЦНС (подглоточный комплекс ганглиев) индуцированное серотонином возрастание уровня ацетилирования H4 снимается нейропептидом FMRFамидом, а в командных нейронах оборонительного поведения правых париеальных ганглиев наблюдается синергизм в действии этих медиаторов на ацетилирование гистона H4.

Таким образом, оказывается, что FMRFамид способен не только тормозить действие серотонина на ацетилирование гистона H4 (сходный результат был получен и в суммарных экстрактах ЦНС моллюска *Aplysia*) (Guan et al.,

2002), но и в отдельных функционально важных нейронах оборонительной сети усиливать его. С одной стороны, подавление FMRFамидом ацетилирования, индуцируемого серотонином в ЦНС моллюсков, свидетельствует о возможности тормозного влияния FMRFамида на нервные сети, в дальнейшем не вовлекаемые в пластические перестройки, что в конечном итоге тормозит поведенческие реакции на стимулы, не значимые для изучаемого типа памяти. С этим положением хорошо согласуются данные о том, что FMRFамид представляет собой тормозной медиатор, играющий существенную роль в формировании депрессии или привыкания (Guan et al., 2002). С другой стороны, как показано нами, в отдельных идентифицированных нейронах FMRFамид способен выступать в качестве синергиста серотонина и оказывать активирующее влияние на так называемые зоны пластичности. Наши результаты согласуются с работой (Дьяконова, Ш.-Рожа, 1986), в которой показано, что серотонин и FMRFамид могут оказывать однонаправленное действие на пластические характеристики изучаемых командных нейронов.

На существование зависящих как от структуры головного мозга, так и от формы обучения различий в уровне ацетилирования гистонов H3 и H4 при формировании долговременной памяти указывают также результаты исследований этих процессов, проведенных на позвоночных животных (Levenson et al., 2004; Bredy et al., 2007; Takase et al., 2013). Такая специфика, вероятнее всего, обусловлена клеточной индивидуальностью экспрессии различных гистон-ацетилаз, а также особенностями регуляторных путей, связанных с модуляцией активности этих ферментов и их привлечением к определенным участкам хроматина.

Кроме того, в настоящей работе мы обнаружили, что серотонин и FMRFамид изменяют уровень ацетилирования гистона H4 в командных нейронах оборонительного поведения правых ганглиев ППа3, но не оказывают никакого действия на аналогичные нейроны в левых (ЛПа3). Ранее такая асимметрия была зафиксирована и при изучении влияния FMRFамида на пластические процессы в командных нейронах (Дьяконова, Ш.-Рожа, 1986). Показано, что FMRFамид вызывает блокирование привыкания к ритмической внутриклеточной стимуляции импульсами тока в нейроне ЛПа3 и не вызывает блокирования в клетке ППа3. На наличие функциональной асимметрии в этих нейронах свидетельствует и работа В.А. Дятлова (1988), в которой выявлено усиление ацетилхолинового ответа в ППа3 под действием серотонина и ослабление его в ЛПа3. Можно предполагать, что различия связаны с тем, что исследуемые нейроны содержат индивидуальные подтипы серотониновых и/или FMRFамидных рецепторов, однако этот вопрос требует специального изучения.

В наших предыдущих работах было установлено наличие асимметрии в командных нейронах ППа3/2 и ЛПа3/2 также на уровне активации серотонин-индуцируемого каскада MAPK/ERK и ацетилирования гистона H3 при формировании у *Helix* условного оборонительного рефлекса пищевой аверзии (Danilova et al., 2010; Kharchenko et al., 2010) и выдвинуто предположение о том, что, возможно, такая асимметрия способна отражать латерализацию памяти у беспозвоночных. В последние годы показано, что асимметрия играет важную роль не только у чело-

века и позвоночных, но и у беспозвоночных животных. Восстановление симметрии приводит к значительным функциональным нарушениям (Hobert et al., 2002; Rogers, Vallortigara, 2008). Однако как генетические, так и эволюционные механизмы такой организации все еще остаются мало исследованными.

На феноменологическом уровне роль FMRFамида в функционировании ЦНС ряда других беспозвоночных и позвоночных животных уже довольно хорошо изучена. Эта роль многогранна и включает участие в процессах развития и апоптоза, формирования памяти и снижения болевой чувствительности, а также стимуляции сна (Telegdy, Bollók, 1987; Raffa, 1988; Röszer, Bánfalvi, 2012; Zatylny-Gaudin, Favrel, 2014; Lenz et al., 2015). В то же время молекулярные механизмы действия этого нейропептида пока изучены недостаточно.

В ганглиях виноградной улитки содержится около 1100 FMRFамид-содержащих нейронов. К ним относятся и исследуемые нами командные нейроны (Elekes, Ude, 1993; Balaban, 2002). Регуляторное действие серотонина и FMRFамида на геном может опосредоваться через внутриклеточные сигнальные каскады MAPK/ERK (Гринкевич, 2012; Гринкевич, Воробьева, 2016) и p38 MAPK (Guan et al., 2003; Гринкевич, 2017). При этом известно, что p38 MAPK участвует в механизмах синаптической депрессии у позвоночных животных (Zhen et al., 2001), что делает возможным проводить параллели с нашей экспериментальной моделью.

В целом полученные в настоящей и предыдущей (Гринкевич, Воробьева, 2016) работах данные позволяют заключить, что запускаемые нейромедиатором серотонином и нейропептидом FMRFамидом сигнальные пути имеют точки пересечения на уровне эпигенетических модификаций гистонов H3 и H4 (с последующими изменениями транскриптомов) и что синергизм или антогонизм действия изученных эффекторов на этом уровне зависит от контекста нейрональных структур. Дальнейшее развитие таких исследований в отдельных идентифицированных нейронах с известной функцией может пролить свет на сложнейшие взаимодействия регуляторных систем, задействованных в формировании долговременной памяти.

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01681 и Программой фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 63).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

- Гринкевич Л.Н. Эпигенетика и формирование долговременной памяти. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2012;98(5):553-574. [Grinkevich L.N. Epigenetics and long-term memory formation. Rossiyskiy Fiziologicheskii Zhurnal im. I.M. Sechenova = I.M. Sechenov Physiological Journal. 2012;98(5):553-574. (in Russian)]
- Гринкевич Л.Н. p38 MAPK вовлечена в регуляцию эпигенетических механизмов пищевого аверсивного обучения. Бюл. эксп.

- биол. и мед. 2017;163(4):404-407. [Grinkevich L.N. p38 MAPK is involved in the regulation of epigenetic mechanisms of food aversion learning. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2017;163(4):412-414. DOI 10.1007/s10517-017-3816-9.]
- Гринкевич Л.Н., Воробьева О.В. Роль модуляторного медиатора серотонина в индукции эпигенетических процессов при формировании долговременной памяти у *Helix*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014;18(2):298-307. [Grinkevich L.N., Vorobiova O.V. Role of modulatory mediator serotonin in induction of epigenetic processes during long-term memory formation in *Helix*. Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2014;4(6):526-532. DOI 10.1134/S2079059714060094.]
- Гринкевич Л.Н., Воробьева О.В. Серотонин и нейропептид FMRFамид играют противоположную роль в регуляции эпигенетических процессов, вовлеченных в формирование долговременной памяти. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(2):262-268. [Grinkevich L.N., Vorobiova O.V. Opposing roles of serotonin and neuropeptide FMRFamide in the regulation of epigenetic processes involved in the long-term memory. Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2017;7(3):273-280. DOI 10.1134/S2079059717030054.]
- Дьяконова Т.Л., Ш.-Рожа К. Действие FMRFамида на электрические и пластические свойства идентифицированных нейронов виноградной улитки. Журн. высш. нервн. деят. 1986;36(4):751-759. [Dyakonova T.L., Sh.-Rozha K. Effect of FMRFamide on electrical and plastic properties of identified neurons of grape snail. Zhurnal Vyshey Nervnoy Deyatelnosti im. I.P. Pavlova = I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity. 1986;36(4):751-759. (in Russian)]
- Дятлов В.А. Роль ионов кальция в процессах модуляции серотонином ответов нейронов виноградной улитки на аппликацию ацетилхолина. Нейрофизиология. 1988;20(5):666-671. [Dyatlov V.A. Role of calcium ions in processes of serotonin-induced modulation of neuronal response to acetylcholine application in *Helix pomatia*. Neurophysiology. 1988;5:489-492.]
- Abel T., Zukin R.S. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. Curr. Opin. Pharmacol. 2008; 8(1):57-64. DOI 10.1016/j.coph.2007.12.002.
- Balaban P.M. Cellular mechanisms of behavioral plasticity in terrestrial snail. Neurosci. Biobehav. Rev. 2002;26(5):597-630.
- Bredy T.W., Wu H., Crego C., Zellhoefer J., Sun Y.E., Barad M. Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. Learn. Mem. 2007;14(4):268-276. DOI 10.1101/lm.500907.
- Danilova A.B., Grinkevich L.N. Inability of juvenile snails for long-term memory formation depends on acetylation status of histone H3 and can be improved by NaB treatment. PLoS One. 2012;7(7):1-8. e41828. DOI 10.1371/journal.pone.0041828.
- Danilova A.B., Kharchenko O.A., Shevchenko K.G., Grinkevich L.N. Histone H3 acetylation is asymmetrically induced upon learning in identified neurons of the food aversion network in the mollusk *Helix lucorum*. Front. Behav. Neurosci. 2010;4(180):1-7.
- Elekes K., Ude J. An immunogold electron microscopic analysis of FMRFamide-like immunoreactive neurons in the CNS of *Helix pomatia*: ultrastructure and synaptic connections. J. Neurocytol. 1993; 22(1):1-13.
- Gräff J., Tsai L.H. The potential of HDAC inhibitors as cognitive enhancers. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2013;53:311-330. DOI 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140216.
- Grinkevich L.N., Lisachev P.D., Kharchenko O.A., Vasil'ev G.V. Expression of MAP/ERK kinase cascade corresponds to the ability to develop food aversion in terrestrial snail at different stages of ontogenesis. Brain Res. 2008;1187:12-19. DOI 10.1016/j.brainres.2007.08.029.
- Guan Z., Giustetto M., Lomvardas S., Kim J.H., Miniaci M.C., Schwartz J.H., Thanos D., Kandel E.R. Integration of long-term-memory-related synaptic plasticity involves bidirectional regulation of gene expression and chromatin structure. Cell. 2002;111(4): 483-493.
- Guan Z., Kim J.H., Lomvardas S., Holick K., Xu S., Kandel E.R., Schwartz J.H. p38 MAP kinase mediates both short-term and long-term synaptic depression in aplysia. J. Neurosci. 2003;23(19):7317-7325.
- Hobert O., Johnston R.J., Chang S. Left-right asymmetry in the nervous system: the *Caenorhabditis elegans* model. Nat. Rev. Neurosci. 2002;3(8):629-640. DOI 10.1038/nrn897.
- Kandel E. The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. Mol. Brain. 2012;5(14):1-12. DOI 10.1186/1756-6606-5-14.
- Kharchenko O.A., Grinkevich V.V., Vorobiova O.V., Grinkevich L.N. Learning-induced lateralized activation of the MAPK/ERK cascade in identified neurons of the food aversion network in the mollusk *Helix lucorum*. Neurobiol. Learn. Mem. 2010;94:158-166. DOI 10.1016/j.nlm.2010.05.002.
- Kim S., Kaang B.K. Epigenetic regulation and chromatin remodeling in learning and memory. Exp. Mol. Med. 2017;49(1):e281. DOI 10.1038/emm.2016.140.
- Lenz O., Xiong J., Nelson M.D., Raizen D.M., Williams J.A. FMRFamide signaling promotes stress-induced sleep in *Drosophila*. Brain Behav. Immun. 2015;47:141-148. DOI 10.1016/j.bbi.2014.12.028.
- Levenson J.M., O'Riordan K.J., Brown K.D., Trinh M.A., Molfese D.L., Sweatt J.D. Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. J. Biol. Chem. 2004;279:40545-40559. DOI 10.1074/jbc.M402229200.
- Levenson J.M., Sweatt J.D. Epigenetic mechanisms: a common theme in vertebrate and invertebrate memory formation. Cell Mol. Life Sci. 2006;63:1009-1016. DOI 10.1007/s00018-006-6026-6.
- Monsey M.S., Ota K.T., Akingbade I.F., Hong E.S., Schafe G.E. Epigenetic alterations are critical for fear memory consolidation and synaptic plasticity in the lateral amygdala. PLoS One. 2011;6(5):e19958. DOI 10.1371/journal.pone.0019958.
- Raffa R.B. The action of FMRFamide (Phe-Met-Arg-Phe-NH₂) and related peptides on mammals. Peptides. 1988;9(4):915-922.
- Rogers L.J., Vallortigara G. From antenna to antenna: lateral shift of olfactory memory recall by honeybees. PLoS One. 2008;3(6):1-5. DOI 10.1371/journal.pone.0002340.
- Röszer T., Bánfalvi G. FMRFamide-related peptides: anti-opiate transmitters acting in apoptosis. Peptides. 2012;34(1):177-185. DOI 10.1016/j.peptides.2011.04.011.
- Takase K., Oda S., Kuroda M., Funato H. Monoaminergic and neuro-peptidergic neurons have distinct expression profiles of histone deacetylases. PLoS One. 2013;8(3):e58473. DOI 10.1371/journal.pone.0058473.
- Telegdy G., Bollók I. Amnesic action of FMRFamide in rats. Neuro-peptides. 1987;10(2):157-163.
- Zatylny-Gaudin C., Favrel P. Diversity of the RFamide peptide family in mollusks. Front. Endocrinol. (Lausanne). 2014;5(178):1-14. DOI 10.3389/fendo.2014.00178.
- Zhen X., Du W., Romano A.G., Friedman E., Harvey J.A. The p38 mitogen-activated protein kinase is involved in associative learning in rabbits. J. Neurosci. 2001;21(15):5513-5529.
- Zovkic I.B., Guzman-Karlsson M.C., Sweatt J.D. Epigenetic regulation of memory formation and maintenance. Learn. Mem. 2013;20:61-74. DOI 10.1038/npp.2012.79.