

УДК 577.25+57.052

РОЛЬ LIM-КИНАЗЫ 1 В ПРОЦЕССАХ ПАМЯТИ

© 2023 г. Е. А. Никитина^{a, b, *}, Е. С. Заломаева^{a, b, **}, А. В. Медведева^{a, ***},
А. В. Журавлев^{a, ****}, Е. В. Савватеева-Попова^{a, *****}

^aИнститут физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия

^bРоссийский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, 191186 Россия

*e-mail: 21074@mail.ru

**e-mail: Zalomaeva.E@yandex.ru

***e-mail: avmed56@mail.ru

****e-mail: beneor@mail.ru

*****e-mail: esavvateeva@mail.ru

Поступила в редакцию 05.05.2023 г.

После доработки 18.05.2023 г.

Принята к публикации 23.05.2023 г.

Согласно современным представлениям, основу интеллектуальных проблем при неврологических повреждениях мозга составляет активное забывание, регулируемое зависимыми от малых ГТФаз Ras и Rho сигнальными каскадами ремоделирования актина. Ключевой фермент этих каскадов – LIM-киназа 1 (LIMK1). Изменения экспрессии гена *limk1* приводят к нейрокогнитивным патологиям. Для экспресс-скрининга и тестирования агентов целенаправленного терапевтического воздействия, изменяющих белок-белковые взаимодействия ГТФаз и компонентов сигнальных каскадов, необходимо создание и валидация простых животных моделей. Такую возможность предоставляет дрозофила, мутантные линии которой позволяют выявить узловые моменты пересечений биохимических и нервных сетей, сопровождающие активное забывание.

Ключевые слова: обучение, память, забывание, LIMK1, нейродегенеративные заболевания

DOI: 10.31857/S0301179823040069, **EDN:** MHNKEA

ВВЕДЕНИЕ

Познание механизмов формирования памяти является актуальной проблемой нейробиологии уже несколько десятков лет. Однако только в последние годы на первый план выходит стремление понять, какую роль в становлении и сохранении памяти играет активное забывание [85]. Возникновению новых представлений, отличающихся от традиционных, во многом способствовало изучение когнитивных функций у организмов с простой нервной системой – нематоды, брюхоногого моллюска аплизии, наземной улитки и дрозофилы, поскольку сложность методик изучения памяти млекопитающих не всегда обеспечивает однозначность трактовки результатов. Однако независимо от филогенетического уровня организма наблюдается консервативный в эволюции феномен: приобретение информации, или обучение, имеет своей противоположностью забывание. Поэтому врожденное забывание может быть “вызываемым по умолчанию” состоянием мозга, которое постоянно приводит к “стиранию памяти” – состоянием, конкурирующим с процессами консолидации памяти [41].

Эти процессы независимы и контролируются разными сигнальными каскадами: обучение и консолидация памяти – цАМФ-зависимым, компонентами которого являются CREB, С/ЕВР; активное забывание – каскадом ремоделирования актина для структурных изменений нейронов и синапсов: малая ГТФаза Ras1–LIMK1 (ключевой фермент ремоделирования актина LIM-киназа 1)–фосфорилируемый ею кофилин. У дрозофилы Ras1 опосредует как минимум четыре типа активного забывания разных видов памяти, формируемых при ольфакторном обучении с негативным подкреплением: 1) забывание, внутренне присущее мозгу; 2) забывание, индуцированное интерференцией (приобретением новой информации) или конкуренцией процессов, ведущих к воспроизведению памяти; 3) забывание следов памяти; 4) забывание, активируемое обучением на ранее неподкрепляемый стимул.

Но поскольку сохранение памяти является результатом обоих процессов – обучения и забывания – возникает конфликт традиционных и новых представлений: как понять, что является причиной когнитивной патологии – дефект обучения и

консолидации или же дефектность активного (врожденного) механизма забывания. Кроме того, невозможность активировать Ras1-зависимое забывание приводит к поведенческой ригидности у мутантов по генам риска возникновения аутизма. Изменение функций (активное или неактивное состояние) LIMK1 или же кофилина вызывает целый ряд нейропатологий, известных как “интеллектуальные проблемы” (ИП). Накопленный большой объем данных по моделированию ИП у трансгенных животных и нокаутов у мышей открывает новые возможности поиска и создания пока еще отсутствующих средств фармакотерапии. Для скрининга и тестирования таких средств модуляции активности сигнальных путей с трансляцией применительно к человеку требуется создание и валидация животных моделей [138].

В обзоре рассмотрены строение и функции LIM-киназы 1 как ключевого узла каскада ремоделирования актина, ее роль в функционировании нервной системы и реализации процессов памяти.

LIMK1: СТРОЕНИЕ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ

Регуляция динамики актинового цитоскелета играет фундаментальную роль в изменении формы клетки, подвижности и миграции в ответ на раздражители. К группе актин-связывающих белков относится семейство актин-деполимеризующий фактор (ADF)/кофилины [7]. Активность кофилина и ADF ингибируется путем фосфорилирования по серину-3 LIM киназами (семейство LIMK включает LIMK1 и LIMK2) [132] и TES киназами (семейство TESK включает TESK1 и TESK2) [121]. Неактивные фосфорилированные кофилин и ADF (P-кофилин/P-ADF) реактивируются путем дефосфорилирования белковыми фосфатазами семейства Slingshot (SSH, включает SSH1, SSH2 и SSH3) [96], протеинфосфатазами 1 и 2A (PP1 и PP2A) и хронофинами (CIN) [56].

LIMK1 открыта в 1994 г. одновременно группами Мидзуно [91] и Бернарда [27], описана как первая киназа, содержащая LIM домены. Семейство LIM киназ было расширено на год позже с открытием LIM киназы 2 (LIMK2), которая имеет на 51% сходную последовательность с LIMK1 [125]. LIMK1 и LIMK2 являются киназами с двойственной специфичностью к серин/треонину и тирозину [81]. LIMK1 и LIMK2 кодируются отдельными генами, расположенными у человека на хромосомах 7q11.23 и 22q12.2 соответственно [97].

Ген *limk1* высококонсервативен и обнаружен в геноме различных организмов, таких как *Anopheles gambiae*, *Xenopus laevis*, *Drosophila melanogaster*, *Danio rerio*, *Gallus gallus*, *Mus musculus*, *Homo sapiens* и многих других [112, 117]. Кодирует нерцепторную серин-треониновую протеинкиназу, ключе-

вой фермент ремоделирования актина [130]. Ген *limk1* человека состоит из 39593 п.н. и включает 17 экзонов. В геноме *D. melanogaster* ген *limk1* (CG1848) локализован в X-хромосоме в районе 11В. Протяженность гена *limk1* составляет 7808 п.н., он включает в себя семь экзонов. Ген *limk1* дрозофилы расположен в локусе *agnostis*, который обрамлен A/T-богатыми областями, насыщенными палиндромными последовательностями и короткими нуклеотидными повторами [10]. Вышеуказанные структурные особенности обеспечивают данному локусу возможность как для спонтанных перестроек, так и для инсерции мобильных элементов [45], в том числе и в разных природных популяциях.

В состав белка LIMK1 входят два N-концевых LIM-домена (LIM – аббревиатура от продуктов генов, где эти домены были впервые обнаружены: *Lin-11*, *Isl-1* и *Mec-3*), каждый из которых содержит два мотива цинковых пальцев; PDZ-домен (PDZ – аббревиатура от названий трех белков: PSD-95, DLG, ZO-1) и C-концевой киназный домен, способный фосфорилировать серин и треонин, а также тирозин из-за необычного строения (мотив DLNSHN) субдомена VIB каталитического сайта [97]. Пролин/серин богатый район отделяет домен PDZ от C-концевого киназного домена [117]. Структура LIMK1 человека представлена на рис. 1.

На первый взгляд, длинный неструктурированный линкер между PDZ и C-концевым киназным доменом (около 70 остатков) указывает на то, что N- и C-концы физически не взаимодействуют. Однако есть сообщения, демонстрирующие это взаимодействие [63]. LIM-домены часто встречаются в виде тандемов [21] и обеспечивают белок-белковые взаимодействия [94]. Кроме того, они способны связываться с C-концевым киназным доменом, негативно регулируя киназную активность [46, 94, 99]. PDZ-домен также участвует в белок-белковых взаимодействиях и содержит два обогащенных лейцином мотива ядерного экспорта (nuclear export signals, NES), необходимые для ядерно-цитоплазматического транспорта, при их мутационном повреждении происходит накопление LIMK1 в ядре [57]. Известно, что домены PDZ объединяют комплексы динамической передачи сигналов, как описано для PICK1 [49] и PSD-95 [101]. Белки, содержащие PDZ-домен, являются ключевыми молекулами в организации постсинаптической области в нейромышечных контактах [104]. C-концевой киназный домен содержит мотив ядерной локализации – NLS (nuclear localization signal), последовательность для перемещения из цитоплазмы в ядро [134]. За счет этого LIMK1 быстро меняет свою локализацию в ответ на стрессорные воздействия. Следует отметить, что актин также имеет два NES-мотива и способен перемещаться из ядра в

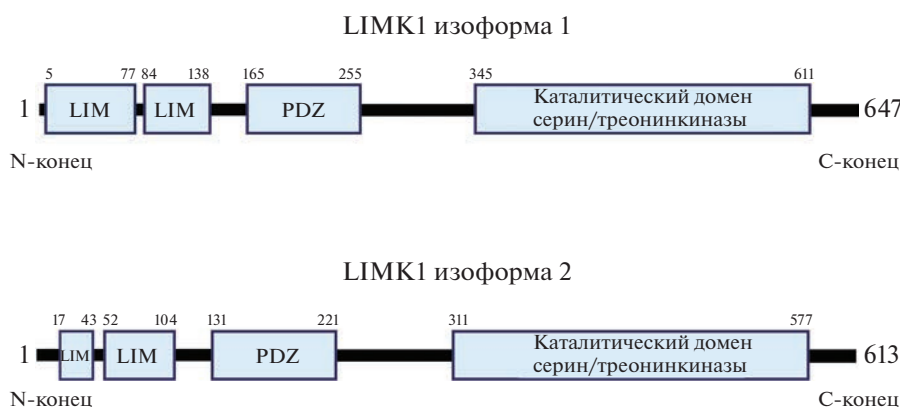


Рис. 1. Схематическая структура LIMK1 человека и ее изоформ.

цитоплазму. Обратное движение осуществляется за счет объединения актина с кофилином, у которого имеется NLS-мотив [126]. После этого свободный актин перемещается за счет NES-сигнала в цитоплазму.

LIMK1 в клетке представлена несколькими изоформами. У человека известно 4 изоформы — полноразмерный белок (647 аминокислот, а.к.) и сокращенные формы (613 и 633 а.к.), у которых укорочен первый N-концевой LIM домен; а также редкая нефункциональная изоформа длиной 305 а.к. У дрозофилы известно 5 изоформ — A (1240 а.к.), C (1257 а.к.), D (1052 а.к.), E (1235 а.к.), F (1043 а.к.). Наиболее значимыми являются C и D, различающиеся по функциональной активности, C-изоформа — полноразмерный белок, укороченная D-изоформа (отсутствуют LIM и PDZ-домены) обладает более высокой киназной активностью, поскольку LIM-домены ингибируют киназный домен [94].

Экспрессия LIMK1 выявлена во всех тканях как на эмбриональной стадии, так и у взрослых особей, но преимущественно регистрируется в нервных тканях [4, 19]. Нейроспецифический фермент LIMK1 аккумулируется в области синапсов [50]. Также LIMK1 обнаружена в области дорзальной сетчатки, в мезенхимальных клетках, окружающих периферические нервы, в эпителиально-мезенхимальных клетках млекопитающих, в клетках сердца с 10 дня развития, в клетках легкого с 12 дня развития, особенно в областях ветвления, и в клетках почек [76]. Конусы роста аксонов и дендритов и перинуклеарные области пирамидных нейронов гиппокампа богаты LIMK1 [50]. У *Apis mellifera* LIMK1 выявлена в грибовидных телах, антеннальной доле головного ганглия и центральном комплексе [8]. У *D. melanogaster* LIMK1 преимущественно выявляется в нодулях и эллипсоидном теле центрального комплекса и в зрительных долях головного мозга [18].

Субстратами LIMK1 являются три формы кофилинов: кофилин 1 (немышечный кофилин), кофилин 2 (мышечный кофилин) и дестрин (актин-деполимеризирующий фактор). Их часто обобщенно называют кофилином, хотя каждый из трех белков может иметь различные биохимические свойства, влияющие на регуляцию динамики актина в определенных типах клеток. Основной функцией белков данного семейства является регуляция структуры актинового цитоскелета клетки, а также сборки и разборки актиновых филаментов [7]. Также в качестве субстратов LIMK1 можно выделить ядерные транскрипционные факторы CREB (cAMP response element-binding protein) и Nurr1 (Nuclear receptor related-1 protein) [112]. Кроме того, был описан тримерный комплекс между LIMK1 и Orb2 и Tob, вовлеченных в формирование долгосрочной памяти (ДСП). Orb2 дрозофилы связывает РНК и регулирует трансляцию, Tob индуцирует олигомеризацию Orb2. Недавно показано, что LIMK1 фосфорилирует Tob, затем ассоциируется с ним для фосфорилирования Orb2, приводя к его стабилизации и олигомеризации. Описываемая олигомеризация Orb2 играет важную роль в ДСП [71, 129].

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ LIMK1

Широкий спектр внеклеточных и внутриклеточных событий модулирует пластичность актинового цитоскелета. LIMK1 находится на пересечении нескольких сигнальных каскадов, сопрягая их деятельность [35].

LIMK1 является частью сигнального каскада: рецепторы—малые ГТФазы—актиновый цитоскелет (рис. 2). Семейство малых ГТФаз состоит из двух подсемейств: Rac и Rho. Переходя из активного (ГТФ-связанного) в неактивное (ГДФ-связанное) состояние, малые ГТФазы Rac подсемейства контролируют широкий спектр клеточных процессов, включая пролиферацию и дифферен-

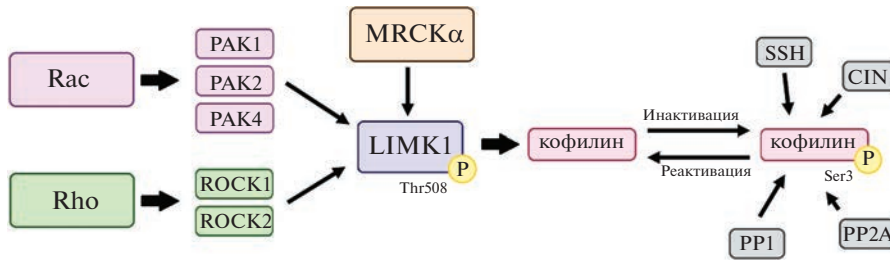


Рис. 2. Сигнальный каскад с участием LIMK1.

цировку клеток, поэтому их мутационные нарушения способствуют онкогенезу. Члены Rho подсемейства посредством переключения неактивного (ГДФ-связанное) в активное (ГТФ-связанное) состояние регулируют структуру актинового цитоскелета, транскрипцию генов и пролиферацию. Подобно многим другим киназам, фосфорилирование в районе петли активации киназного домена LIMK1 приводит к ее активации. Этот процесс начинается с активации NMDAR и AMPAR при участии малых ГТФаз Rho подсемейства (ROCK1 и ROCK2) и Rac подсемейства (p21 activated kinases, PAK1, PAK2 и PAK4), а также MRCK α (myotonic dystrophy kinase-related Cdc42-binding kinase α) посредством прямого фосфорилирования Thr508 [39, 46, 79, 89, 118].

LIMK1 играет центральную роль в регуляции цитоскелета актина путем фосфорилирования кофилина по серину-3, ослабляя его актин-связывающую, расщепляющую и деполимеризующую активность [90, 128]. Поскольку ремоделирование цитоскелета играет жизненно важную роль в жизни клетки, LIMK1 вовлечена в реализацию многих физиологических процессов, включая миграцию клеток, клеточный цикл, апоптоз и дифференциацию нейронов.

Ремоделирование актинового цитоскелета тесно связано с динамикой микротрубочек (MT), которые не только определяют внутриклеточную локализацию органелл и их перемещение в цитоплазме в процессе функционирования, но и являются компонентами сигнальной трансдукции [61]. Агенты, разрушающие MT, стимулируют быструю сборку актиновых филаментов и фокальную адгезию. Именно LIMK1 координирует разборку MT и полимеризацию актиновых филаментов, влияет на динамику MT в интерфазных клетках и организацию митотического веретена [99]. Ингибирование активности LIMK1 во время митоза вызывает активацию кофилина и приводит к задержке перехода от метафазы к анафазе и неправильноному расположению веретена [82]. LIMK1 связывается с тубулином посредством PDZ домена [57]. Динамика MT регулируется двумя группами белков: стабилизирующие (microtubule-associated proteins MAPs, tau) и дестабилизирующие

(stathmin, SCG10 (superior cervical ganglia 10)). Кроме прямого участия LIMK1 в реорганизации MT, возможно и опосредованное действие через фосфорилирование этих белков. LIMK1 опосредует стрессорную реакцию клетки, что выражается в появлении стресс-фибрилл, деассоциации микротрубочек и изменении морфологии клетки [58].

У млекопитающих ход клеточного цикла управляется формированием, активацией и инактивацией серии циклин-циклин-зависимых киназ (cyclin-cyclin-dependent kinase, cyclin-Cdk). Активность cyclin-Cdk, в свою очередь, регулируется позитивно или негативно с помощью фосфорилирования. При позитивной регуляции cyclin-Cdk управляет продвижением клеточного цикла, в то время как ингибиторные белки осуществляют задержку клеточного цикла, присоединяясь к cyclin-Cdk комплексу. Ингибитор p57Kip2 подсоединяется к N-концу LIMK1 с двумя LIM-доменами. Таким образом, p57Kip2 осуществляет одновременный контроль протекания клеточного цикла и локализации LIMK1, то есть сопрягает прохождение клеткой клеточного цикла с динамикой актинового цитоскелета [136].

Миграция клеток необходима для многочисленных физиологических процессов, таких как эмбриогенез, развитие нейронов, иммунный ответ и регенерация. Характеристика LIMK1 как киназы, фосфорилирующей кофилин, указывает на ее роль в осуществлении миграции клеток [133]. Участие LIMK1 в реорганизации микротрубочек является еще одним способом ее вовлечения в миграцию клеток [57]. Поскольку регуляция клеточной миграции нарушена при раке, сбой таковой регуляции, опосредованной LIMK1, может приводить к онкогенезу [137]. Действительно, многие ингибиторы активности LIMK1 изменяют процессы миграции клеток [26].

LIMK1 принимает участие в регуляции внутриклеточного транспорта белков к аппарату Гольджи, стимулируя реорганизацию актиновых филаментов. Это показано для развивающихся нейронов [105] и клеток почки [109].

Идентификация факторов транскрипции CREB и Nurr1 в качестве субстратов LIMK1 позволяет предположить участие LIMK1 в регуляции

транскрипции. В случае CREB, который регулирует экспрессию цАМФ-зависимых генов, активация LIMK1 фактором роста фибробластов в клетках-предшественниках гиппокампа привела к увеличению фосфорилирования CREB и CREB-опосредованной промоторной активности [135]. Анализ Nurr1-связывающихся белков из CSM14.1 мезенцефалических нейронов выявил фосфорилирование Nurr1 LIMK1, что приводило к снижению транскрипционной активности [108].

РОЛЬ LIMK1 В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Функционирование нервной системы тесно связано с передачей сигнала через рецепторы нервных клеток, сигнальная функция которых также связана с малыми ГТФазами, являющимися G-белками метаболитных рецепторов [119]. В синапсомной фракции мозга ГТФаза Rho A ассоциируется с глутаматными рецепторами в плазматической мембране шипиков дендритов. Активация ионотропных рецепторов, в частности NMDAR, стимулирует транслокацию Rho A на метаболитные глутаматные рецепторы, что влияет на форму шипиков дендритов, а, следовательно, на синаптическую эффективность и процессы формирования памяти [113]. С активностью глутаматных рецепторов, в частности NMDAR, связаны не только Rho A ГТФаза, но и другие представители Rho семейства. Активация Rac1 и Cdc42 способствует полимеризации актина, увеличению сложности ветвления дендритов, стимулирует формирование шипиков. Активность Rho ГТФаз модифицируется факторами обмена гуаниновых нуклеотидов и белков, активирующих ГТФазы, изменяющих активность Rho мишени [114].

LIMK1 играет важную роль в обеспечении такого важного свойства нервной системы, как пластичность — способность к адекватным перестройкам функциональной организации мозга в ответ на значимые изменения внешних и внутренних факторов. Высокую степень пластичности нервной системы обеспечивает реорганизация актинового цитоскелета [7]. Цитоскелет нейронов представлен преимущественно актиновыми филаментами и микротрубочками. При этом важно учитывать, что актин может находиться либо в мономерной (G-актин), либо полимеризованной (F-актин) форме. F-актиновые филаменты, составляющие основу актинового цитоскелета, могут объединяться вместе или образовывать разветвленную сеть, включающую также многочисленные вспомогательные белки, контролирующие ее динамику и механику. Динамическое равновесие G-актин/F-актин крайне важно для обеспечения подвижности конусов роста, разрастания нейритов и наведения аксонов. В зрелых нейронах актин способствует формированию синапсов [38].

Ключевым регулятором динамики актина является кофилин. При низких концентрациях ко-

филин способствует разборке F-актина путем увеличения диссоциации до мономерного G-актина. F-актин осуществляет контроль над изменением морфологии шипиков. Инактивация кофилина способствует снижению обучения и вызывает тяжелые поведенческие аномалии. LIMK1 способствует инактивации кофилина при долговременной потенциации. Следовательно, дефект синтеза LIMK1 увеличивает активность кофилина, изменяет морфологию и плотность шипиков, нарушая синаптическую пластичность [7, 32]. Избыточная экспрессия конститутивно неактивной формы кофилина в культурах клеток гиппокампа приводит к образованию более зрелых шипиков и их повышенной плотности, тогда как сверхэкспрессия конститутивно активной формы кофилина индуцирует образование незрелых шипиков [114]. Недавние исследования показали, что снижение уровня LIMK1, кофилина-1, фосфокофилина и β -актина в мозге, а также образование актин-кофилиновых палочек коррелируют с уменьшением ветвления дендритов, значительной потерей дендритных шипиков, нарушением их морфологии в корковых нейронах головного мозга мышей с церебральной малярией [116].

Велика роль динамики актинового цитоскелета в функционировании рецепторов. Факторы роста нейрегулины напрямую взаимодействуют с LIMK1 и стимулируют ErbB (erythroblastic leukemia viral oncogene homolog) рецепторы, влияя на активность NMDAR через ремоделирование актинового цитоскелета [59]. F-актин является существенным компонентом цитоскелета в постсинаптической плотности (postsynaptic density, PSD) глутаматергического синапса. Показана связь PSD-95 с актиновыми фибриллами цитоскелета [28]. Постсинаптическая плотность играет не только структурную, но и регуляторную функцию, облегчая кластеризацию и интернализацию рецепторов. Так как ErbB и NMDA рецепторы локализованы в PSD, то ремоделирование актинового цитоскелета, активированное одним из рецепторов, сказывается на работе другого. Таким образом, целостность актинового цитоскелета обеспечивает функционирование NMDAR [59]. В свою очередь, активация NMDAR и AMPAR, стимулируя ток кальция в клетку, также приводит к деполимеризации F-актина, опосредованной протеинкиназой C (PKC) [37].

Синаптическое переключение рецепторов AMPA (AMPA) имеет решающее значение как для долгосрочной потенциации (long-term potentiation, LTP), так и для долгосрочной депрессии (long-term depression, LTD), т.е. усиления либо ослабления синаптической передачи между нейронами, рассматриваемых как клеточные механизмы памяти [80]. Было обнаружено, что кофилин опосредует динамику актина в постсинаптическом транспорте AMPAR после индукции LTP [60]. Более того, подвижность AMPAR требует активности кофилина во время угасания памяти, фосфорилирование кофилина вызывает его нарушение

[127]. Следовательно, оптимальная активность кофилина важна для опосредования структурных и функциональных изменений синаптической пластичности.

Формирование нейритов, незрелых отростков, возникающих из тела нейронной клетки, является уникальным и важным этапом нейрогенеза. Развитие и функции мозга в значительной степени зависят от образования нейритов, для чего требуется множество сигналов роста, рецепторных стимулов и сложное взаимодействие между внутриклеточными и внеклеточными сигналами [95].

У развивающихся мышей, нокаутированных по *limk1*, наблюдаются нарушения пролиферации и миграции нейронов, а также апоптоза, что говорит о вовлеченности LIMK1 в эти процессы и ее важной роли в эмбриональном развитии мозга [82]. LIMK1 также важна для Nogo-A сигнального пути. Nogo-A является ингибитором роста аксонов в ЦНС взрослых после травм и регулирует прогрессирующее ограничение пластичности во время развития. В ЦНС взрослого организма Nogo-A в основном обнаруживается в олигодендроцитах и миелине, но также присутствует в нейронах гиппокампа и обонятельной системы. Nogo-66, ингибиторный фрагмент Nogo-A, вовлечен в регуляцию кофилина в конусе роста и аксонах нейронов за счет быстрой активации LIMK1, приводящей к ингибированию кофилина [38]. Показано, что расширение нейритов нейронов гиппокампа усиливается экспрессией LIMK1 и подавляется блокадой активации LIMK1 [73, 105, 135]. Эти наблюдения указывают на то, что LIMK1 стимулирует удлинение нейритов посредством фосфорилирования кофилина. Напротив, сверхэкспрессия LIMK1 в куриных DRG-нейронах подавляет подвижность и растяжение конусов роста [48]. Это позволяет предположить, что LIMK1 может действовать как негативный регулятор роста нейритов, ингибируя активность ADF/кофилина [47].

Одно из самых ранних исследований, выявляющих участие LIMK1 в регуляции шипиков дендритов, было проведено Менгом с коллегами в 2002 г. У взрослых нокаутированных по гену *limk1* мышей наблюдаются нарушения морфологии шипиков дендритов в пирамидных нейронах гиппокампа — они длиннее и тоньше. В норме соотношение диаметра головки к шейному отделу шипиков дендритов больше двух, а у нокаутированных по гену *limk1* мышей — от 1 до 2. Уровень фосфокофилина у таких мышей выше. В соответствии с этим, несмотря на одинаковую плотность синапсов, постсинаптическое уплотнение у нокаутированных мышей редуцировано, что приводит к изменению структуры нейронов и LTP. На уровне поведения эти нарушения приводят к увеличению подвижности особей и редукации пространственного обучения нокаутированных по гену *limk1* мышей [88]. Недавние исследования с использованием нокдауна коротких РНК показали, что LIMK1, а именно пальмитирование LIMK1

по цистеину 7/8, играет важную роль в ремоделировании актина и образовании шипиков. Кроме того, хроническое снижение уровня LIMK1 приводило к элиминации шипиков и снижению их плотности приблизительно на 40% [54]. Аналогичные изменения шипиков наблюдаются у мышей, нокаутированных по PAK1/3, вовлеченным в регуляцию LIMK1 [65]. Кроме того, у PAK2 гетерозиготных мышей выявлено снижение плотности шипиков на 30%, сопровождающееся падением уровня LIMK1 и нарушением полимеризации актина в коре и гиппокампе [129]. Эти данные свидетельствуют о том, что малые ГТФазы PAK вовлечены в регуляцию дендритных шипиков через LIMK1-зависимые механизмы. Другой активатор LIMK1, ROCK2, также может регулировать дендритные шипики через LIMK1 и кофилин. Мыши, нокаутированные по гену ROCK2, демонстрировали пониженную синаптическую плотность (на 30%), увеличенную длину шипиков (на 40%), связанные с нарушением ремоделирования актина и снижением фосфорилирования кофилина [142]. PAK/ROCK—LIMK1—кофилин сигнальный путь может представлять собой ключевой механизм регулирования дендритных шипиков.

Помимо постсинаптической, LIMK1 также участвует и в пресинаптической регуляции. Мыши, нокаутированные по гену *limk1*, продемонстрировали усиление синаптической депрессии в ответ на интенсивную нейрональную активность и увеличение частоты миниатюрных возбуждающих постсинаптических токов (mEPSC) [88]. В пользу этого предположения свидетельствует и тот факт, что дефекты ROCK2 и PAK также влияли на экзоцитоз синаптических везикул [23, 65, 87].

Ремоделирование актина с формированием шипиков дендритов является характерной чертой начальных этапов пластичности LTP на уровне созревания синапсов и их ремоделирования [36, 135]. Таким образом, LIMK1 является ключевой молекулой в обеспечении взаимосвязи актинового и тубулинового цитоскелета в клетке и оказывается на перекрестке многих регуляторных путей [57]. LIMK1 играет роль в долгосрочной потенциации (LTP) и долгосрочной депрессии (LTD). А эти формы синаптической пластичности являются ключевыми механизмами обучения и памяти [29, 68].

РОЛЬ LIMK1 В ПРОЦЕССАХ ПАМЯТИ

С момента первоначального постулата Сантьяго Рамона-и-Кахаля более 100 лет назад считается, что память сохраняется за счет устойчивых изменений связей между нейронами [29, 44, 62, 67, 70]. Подход Хебба, связывавший в единой модели краткосрочную память, основанную на реверберации в нейрональных ансамблях, с долгосрочной памятью, основанной на синаптической пластичности в нейронах тех же ансамблей, оказался особенно востребованным [1]. Тем

не менее период полураспада белков, ответственных за такие изменения, относительно короткий [21]. Следовательно, считается, что эти модификации синаптической эффективности вызваны долгосрочными функциональными и структурными изменениями, влекущими за собой как образование синапсов *de novo*, так и их созревание [30]. Предполагается, что такая пластичность опирается на дендритные шипики.

LIMK1, по-видимому, играет двойственную роль в регуляции LTP: 1) регуляция ранней фазы LTP посредством AMPAR и увеличения плотности шипиков, обусловленного реорганизацией актина; 2) регуляция поздней фазы LTP посредством синтеза белка *de novo* по CREB-зависимым механизмам [25]. Примечательно, что эффект актин-деполимеризующих лекарственных средств, таких как цитохалазин-D, усиливавших раннюю фазу LTP у мышей дикого типа, был ослаблен у нокаутированных по гену LIMK1 мышей [88]. В 2015 г. Тодоровский с соавторами показали [120], что у нокаутированных по гену LIMK1 мышей резко нарушена долгосрочная память (ДСП), но не краткосрочная (КСП), и выявлены дефекты поздней фазы LTP, необходимой именно для формирования ДСП. Нарушения ДСП у таких мышей могли компенсироваться фармакологической коррекцией активности CREB [120]. CREB как фактор транскрипции, регулирующий гены, ответственные за пролиферацию, дифференцировку и выживание клеток, имеет решающее значение для формирования ДСП.

Транскрипционный фактор CREB, присоединяясь к консервативному CRE мотиву (сAMP-responsive element), действует на гены, чувствительные к стимуляции цАМФ. CREB, опосредуя сигналы факторов роста, контролирует пролиферацию и дифференцировку нервных клеток. CREB-зависимая индукция экспрессии генов необходима для процессов обучения и памяти у позвоночных и беспозвоночных [69]. При этом происходит специфическое взаимодействие LIMK1 и CREB, что приводит к стимулированию транскрипции генов. LIMK1 фосфорилирует транскрипционный фактор CREB, тем самым вызывая активацию CREB-зависимых промоторов генов, принимающих участие в формировании ДСП, таких как *c-fos*, *zif/268*, *somatostatin* и *bdnf*. Опосредованное LIMK1 фосфорилирование CREB осуществляется через Ras/Cdc42 и RAK1 сигнальный каскад, что модулирует работу множества сигнальных путей с участием PKC, Ca²⁺/калмодулин-зависимой CaMKII, Ras-зависимой p105 киназы, p90rsk и Rsk2 [135]. Интересно, что поздняя, но не ранняя, фаза LTP была нарушена у мышей, нокаутированных по RAK3, при этом наблюдалось снижение фосфорилирования CREB без изменения фосфорилирования кофилина [87]. Эти результаты показывают, что RAK3-LIMK1-CREB сигнальный путь играет роль в регуляции поздней фазы LTP. Содержание pCREB в аксонах значимо

для преобразования экстраклеточных сигналов, и pCREB можно рассматривать в качестве маркера активности LIMK1 в нейритах, оценивая вклад LIMK1 в обеспечение нейрональной пластичности.

Вовлеченность LIMK1 в обеспечение синаптической пластичности предполагает ее участие в процессах памяти, что подтверждается многими исследованиями. При изучении условной реакции страха у мышей обнаружено, что ингибирование LIMK1, влекущее за собой деполимеризацию актиновых филаментов, вызывает нарушение как консолидации, так и реконсолидации памяти [84]. Медина с соавторами полагают [84], что точная регуляция LIMK1 является ключевым фактором повторной стабилизации долгосрочных воспоминаний о страхе у мышей, а динамика актина играет критическую роль в процессах угасания памяти (путем нарушения или усиления поведенческих реакций). Также введение ингибитора LIMK1 в гиппокамп мешало приобретению, консолидации, извлечению и реконсолидации воспоминаний о страхе, не влияя на угасание памяти [78]. Экспрессия LIMK1 в возбуждающих нейронах гиппокампа у трансгенных APP/PS1 мышей увеличивает фосфорилирование кофилина (т.е. снижает его активность), устраняет нарушения LTP и приводит к улучшению социальной памяти [141]. У мышей, нокаутированных по *limk1*, наблюдается усиленная реакция страха при условном рефлексе страха и нарушение пространственного обучения [88]. Кроме того, у нокаутированных по *limk1* мышей нарушены долговременная пространственная память и память о страхе [120], что согласуется с ролью LIMK1 в поздней фазе LTP, как обсуждалось ранее. В других формах памяти могут играть роль иные механизмы, включая LTD и пластичность шипиков.

Косвенные доказательства, подтверждающие участие LIMK1 в процессах памяти, получены в исследованиях белков-регуляторов LIMK1. Нарушения обучения и памяти были зарегистрированы у мышей, лишенных RAK1/2/3, ROCK2, Rho GTPases и кофилина. Например, у мышей с двойным нокаутом RAK1 и RAK3 наблюдали серьезные нарушения памяти, обусловленной страхом, связанные с изменениями LIMK1-кофилина [65]. Дефект экспрессии RAK3 в энторинальной коре нарушал память социального распознавания [74]. Фармакологическое ингибирование ROCK2 в латеральном миндалевидном теле перед тренировкой значительно ухудшало ДСП при выработке условного рефлекса страха [72]. Ингибирование активности кофилина нарушало угасание памяти о страхе у крыс [106, 107, 127].

Для детального понимания роли LIMK1 в реализации процессов обучения и памяти необходимы животные модели, дающие возможность изучения этих процессов одновременно в физиологическом и генетическом контексте. С этой точки зрения уникальным инструментом в руках экспериментатора является дрозофила, позволяющая

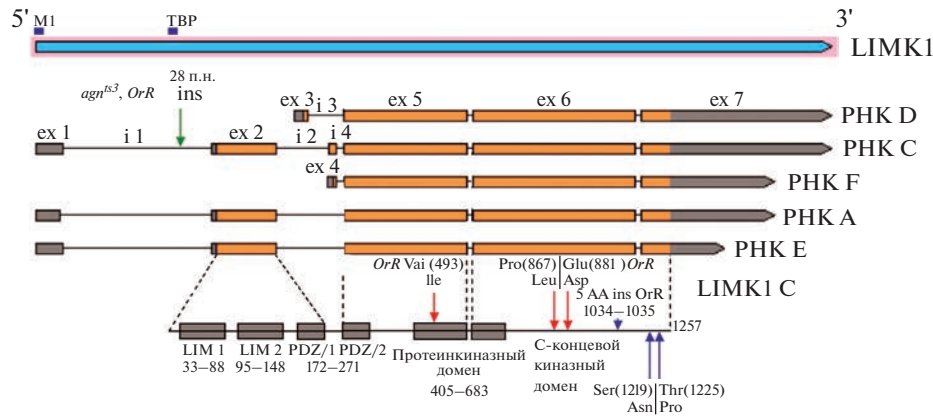


Рис. 3. Структура гена *limk1* *Drosophila melanogaster*. Положения экзонов и интронов приведены в соответствии с данными FlyBase (<http://flybase.org/>), ex – экзон, i – интрон, ins – инсерция. Границы доменов белка и мутантные аминокислотные остатки показаны для изоформы LIMK1 C, у. е. Сайты связывания двух транскрипционных факторов: TBP (TATA-binding protein) и M1 (Forkhead M1) показаны синими прямоугольниками [111].

осуществлять комплексные и в то же время оригинальные исследования.

Нами впервые у дрозофилы создана мутационная модель нейрокогнитивной патологии (геномного заболевания синдрома Вильямса–Бойрена), зависимой от экспрессии гена LIMK1 – мутант *agnostic^{ts3}* (*agn^{ts3}*) [16]. Специфическое свойство ДНК-последовательности *agn^{ts3}* – вставка транспозона семейства Tc1/mariner наряду с А/Т-богатой инсерцией 28 п.н. в 1 интроне гена для LIMK1, что влияет на распределение нуклеосом и связывание транскрипционных факторов. Общий уровень экспрессии микроРНК, так же, как и уровень микроРНК-биомаркеров неврологических заболеваний человека, резко снижен у *agn^{ts3}*, что, вероятно, обуславливает множественные физиологические проявления мутации, в том числе нарушения когнитивных процессов – обучения и памяти. Новая стратегия терапии нейропсихических болезней человека подразумевает контроль 3D архитектуры хроматина ядра нервных клеток, так как каждый пациент имеет свой структурный вариант последовательности ДНК с инсерциями и делециями (INDELS). Эти районы несут транспозоны семейства Tc1/mariner, что вызывает изменение сайтов связывания микро-РНК, маркеров болезней Паркинсона, Альцгеймера, Хантингтона и делеционно-дупликационных синдромов со множественными, в том числе когнитивными, проявлениями. В линиях природных популяций *Canton-S* (CS), *Berlin*, *Oregon-R* (OrR) и мутантной линии *agn^{ts3}* по результатам секвенирования выявлен полиморфизм по гену *limk1*, локус *agnostic* (X-хромосома, 11В). Для каждой линии характерно специфичное распределение однонуклеотидных замен, коротких инсерций и делеций (рис. 3) [111]. Ген обрамлен протяженными АТ-богатыми повторами, поэтому, возможно, именно негомологичным кроссинговером обусловлен высокий полиморфизм

спонтанных и мутантных аллелей этого гена [10]. По-видимому, локус *agn^{ts3}* осуществляет трансрегуляцию пространственной организации ядра, тем самым влияя на количественные признаки (поведение) [86].

Обнаруженный полиморфизм имеет своим следствием когнитивные дисфункции, выявляемые в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ). При ухаживании самца за нерцептивной оплодотворенной самкой происходит сочетание двух безусловных стимулов – привлекающего (стимулирующего ухаживание) и аверсивного (подавляющего ухаживание) феромонов. В результате привлекающий феромон становится аверсивным условным стимулом – сигналом предъявления аверсивного раздражителя, и его исходная привлекательность снижается [2]. Преимуществом метода УРПУ по сравнению с распространенным методом ольфакторного обучения с негативным подкреплением [123] является его естественность и физиологичность. Кроме того, УРПУ позволяет проводить индивидуальное обучение. Данный тест позволяет фиксировать особенности как краткосрочной и среднесрочной, так и долгосрочной памяти. При этом мутационное повреждение гена *limk1* у *agn^{ts3}* нарушает все типы памяти [5, 6, 10, 11, 14, 15].

Наличие нескольких изоформ LIMK1 предполагает, что они могут быть по-разному использованы для реализации различных стратегий поведения. Содержание D-изоформы у линии дикого типа *Berlin* двукратно превышает ее уровень у линии дикого типа *Canton-S*. Для линии *Berlin* также свойственно уникальное 5-кратное увеличение соотношения D/C изоформ. Наоборот, для линии дикого типа *Oregon-R* характерно 5-кратное уменьшение соотношения D/C изоформ относительно *Canton-S*. И только мутант *agn^{ts3}* проявляет повышенное содержание обеих изоформ в 2.5 раза, хотя их соотношение сопоставимо с таковым у

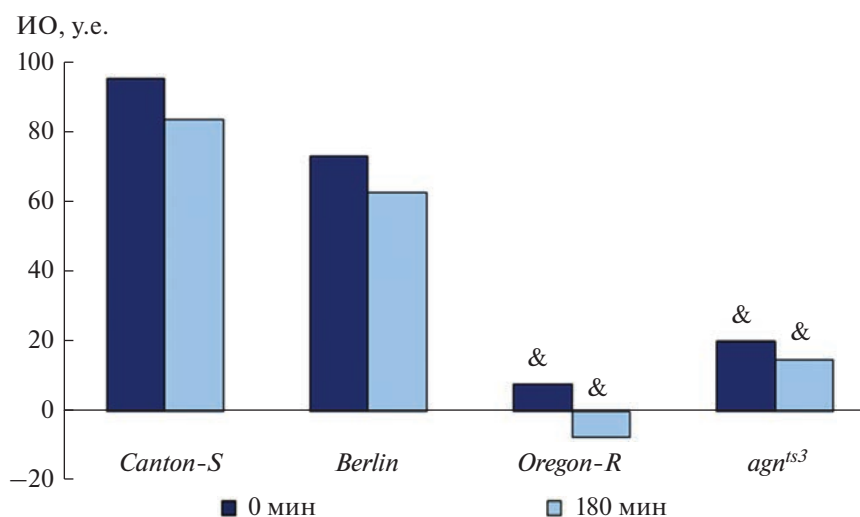


Рис. 4. Динамика сохранения условно-рефлекторного подавления ухаживания при тестировании среднесрочной памяти у линий *Canton-S*, *Berlin*, *Oregon-R* и *agn^{ts3}*. По оси абсцисс: время после завершения тренировки, мин; по оси ординат: ИО – индекс обучения, у.е. & – ИО достоверно ниже, чем у линии дикого типа *Canton-S* в аналогичных условиях (двусторонний тест рандомизации, $p < 0.05$).

Canton-S. Выявляемое изменение соотношения изоформ LIMK1 в мозгу самцов *Berlin* и *Oregon-R*, возможно, является результатом изменений альтернативного сплайсинга гена *limk1*, причиной которого служат точковые мутации, а также инсерции и делеции у этих линий. Рис. 4 иллюстрирует, что не только у мутантов *agn^{ts3}*, но и у самцов линии *Oregon-R* драматически нарушены процессы обучения и формирования среднесрочной 3-часовой памяти, что может быть обусловлено резким 5-кратным уменьшением относительно *Canton-S* соотношения D/C изоформ LIMK1 [6].

Процесс формирования памяти можно условно подразделить на ряд периодов. Несмотря на то, что изначально классификация этапов формирования памяти была основана на результатах полученных на дрозофиле при классическом павловском ассоциативном обучении [122], на современном этапе эта классификация приобрела универсальный характер вне зависимости от объекта и методических способов анализа обучения и памяти [43]. Первым этапом представляется немедленная память, фиксирующая нововоспринятую информацию – обучение. Вторым – краткосрочная память, сохраняющаяся в течение 3–7 мин после обучения. Третий этап определяет среднесрочная память – от 30 мин до 3 ч. Четвертым является долгосрочная память, сохраняющаяся более 3–6 ч – до 9 сут. Таким образом, каждый из предшествующих этапов является необходимым условием формирования последующих [123]. В то же время формирование краткосрочной и долгосрочной памяти может осуществляться параллельными путями [103]. Известно, что 30 мин тренировки самца с оплодотворенной самкой достаточно для формирования среднесрочной памяти, а 5 ч – для выработки долгосрочной [83]. При 5-

часовом режиме тренировки мутантная линия *agn^{ts3}* оказалась способной к обучению, однако через 2 и 8 суток индекс обучения (ИО) резко снижался (рис. 5). Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что у *agn^{ts3}* нарушены процессы как формирования, так и сохранения долгосрочной памяти. У линии *Oregon-R* нарушена краткосрочная и среднесрочная память, но долгосрочная соответствует уровню дикого типа. Базовый более низкий уровень мРНК LIMK1 у самцов *Oregon-R* по сравнению с таковым у *Canton-S*, по-видимому, приводит к недостатку синтеза белка, сопровождаемого дисбалансом LIMK1-зависимых сигнальных каскадов и неспособностью самцов к обучению после 30 мин тренировки. При тренировке в течение 5 ч осуществляется синтез необходимого количества мРНК LIMK1 у линии *Oregon-R*, что делает возможным обучение и формирование долгосрочной памяти. У *Berlin* показана дефектность ДСП [5]. Тут необходимо напомнить о дисбалансе D/C изоформ LIMK1 в пользу D-изоформы у данной линии. Выявлен интригующий парадокс – 5-кратное уменьшение соотношения D/C изоформ LIMK1 относительно *Canton-S* (линия *Oregon-R*) приводит к нарушению краткосрочной и среднесрочной памяти, а 5-кратное увеличение соотношения D/C изоформ (линия *Berlin*) – к нарушению долгосрочной памяти. Это позволяет предположить различную роль изоформ LIMK1 в реализации разных видов памяти и по-новому взглянуть на участие LIMK1 в формировании долгосрочной памяти.

Регистрация поведения при УРПУ позволяет вычислять индекс обучения не только на основе учета всех элементов неполового (двигательная активность, прининг, отдых) и полового поведе-

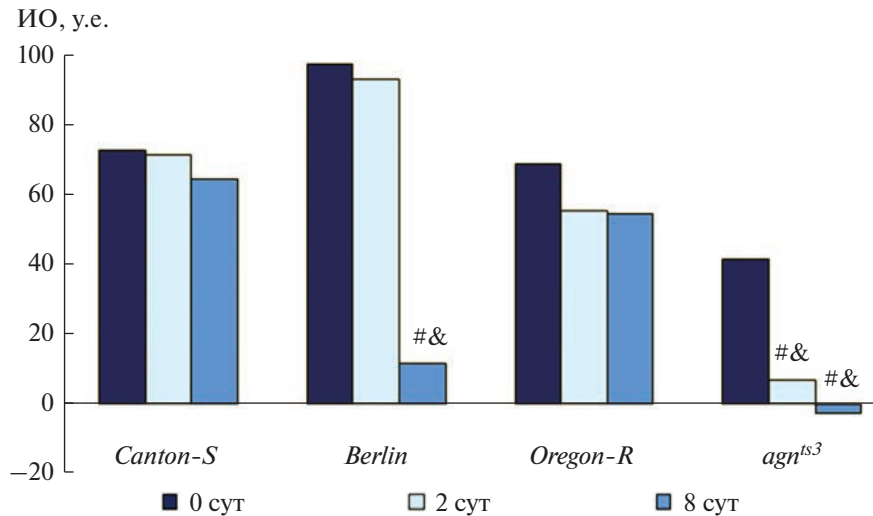


Рис. 5. Динамика сохранения условно-рефлекторного подавления ухаживания при тестировании долгосрочной памяти у линий *Canton-S*, *Berlin*, *Oregon-R* и *agn^{ts3}*. По оси абсцисс: время после завершения тренировки, сут; по оси ординат: ИО – индекс обучения, у.е. # – ИО в отсроченном тесте достоверно ниже, чем в тесте сразу после тренировки; & – ИО достоверно ниже, чем у линии дикого типа *Canton-S* в аналогичных условиях (двусторонний тест рандомизации, $p < 0.05$).

ния (ориентация/преследование, вибрация крылом – брачная песня, лизание, попытка копуляции), но и анализировать записанные этограммы поведения отдельно для каждого параметра. Если вычислить ИО с учетом какого-либо одного элемента полового поведения, то можно определить, за счет чего возникают дефекты обучения и памяти. Оказалось, что основной вклад в общее подавление ухаживания вносит подавление ориентации/преследования. По данному параметру самцы *Oregon-R* и *agn^{ts3}* оказались неспособны к обучению – сразу после тренировки выработки условно-рефлекторного подавления ухаживания не происходило. Через 3 ч после тренировки индекс обучения сохранялся на том же уровне и также статистически значимо отличался от ИО у *Canton-S*. На рис. 6 видно, что дефекты обучения и памяти у линий *Oregon-R* и *agn^{ts3}* обусловлены нарушениями ориентации/преследования [15]. Это вполне согласуется с выявленным у мышей, нокаутированных по гену *limk1*, нарушением пространственного обучения за счет физиологических и морфологических дисфункций гиппокампа [88]. Первые проявляются в нарушениях синаптической пластичности – длительной потенциации, вызываемой дефектностью NMDA-рецепторов, вторые – в изменениях морфологии шипиков дендритов пирамидных клеток гиппокампа, что указывает на непосредственную вовлеченность LIMK1, ключевого фермента ремоделирования актина, определяющего морфологию шипиков. Более того, следует вспомнить, что нарушение зрительно-пространственного ориентирования является одним из проявлений синдрома Вильямса – Бойрена, возникающего в результате делеции в районе 7q11.23, включающей ген *limk1*.

Это убедительно свидетельствует об эффективности использования простых модельных систем, позволяющих анализировать вклад определенных генов в становление когнитивного профиля при неврологических заболеваниях.

Воздействие на живой организм различных внешних факторов может приводить к изменениям жизнедеятельности клетки. Если те или иные факторы среды (температура, электромагнитное излучение, химические вещества и др.) выходят за пределы физиологической нормы, то возникает состояние физиологического стресса, характеризующееся модификацией метаболизма и функционирования генома. При этом в клетке происходят как неспецифические изменения, так и специфические реакции на каждое конкретное воздействие [9]. В условиях стресса поддержание баланса компонентов внутриклеточных путей сигнальной трансдукции в нейронах необходимо для обеспечения как врожденных – поведения ухаживания и звукопродукции, так и приобретенных форм поведения, включая обучение и формирование памяти. Способность клетки после стрессорных воздействий возвращаться к исходному состоянию обеспечивается функционированием защитных систем, хорошо изученных на примере теплового шока. Одним из первых клеточных ответов на стресс является синтез высококонсервативных белков теплового шока (БТШ) [33]. Синаптическая пластичность при реализации поведения обеспечивается в том числе ремоделированием актина в нейронах. Основным регулятором ремоделирования актина является LIMK1. БТШ, в частности БТШ70, также участвуют в организации цитоскелета. БТШ70 конститутивно связывается с актином и, возможно, играет роль шап-

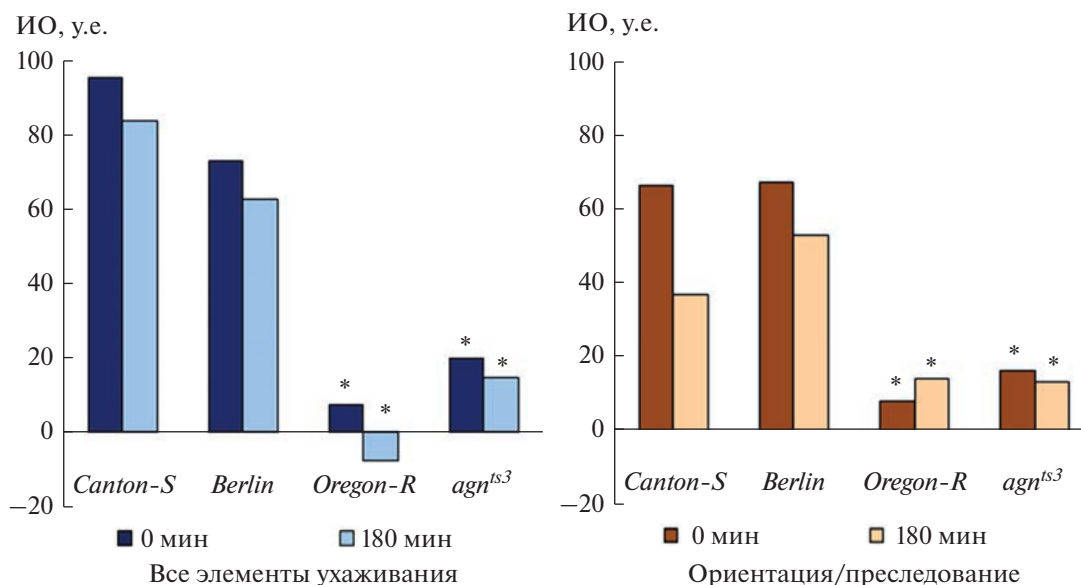


Рис. 6. Дефекты ориентации и преследования при нарушениях обучения и памяти у линий *Canton-S*, *Berlin*, *Oregon-R* и *agn^{ts3}*. По оси абсцисс: время после завершения тренировки, мин; по оси ординат: ИО — индекс обучения, у.е. * — ИО достоверно ниже, чем у линии дикого типа *Canton-S* в аналогичных условиях (двусторонний тест рандомизации, $p < 0.05$).

рона при сборке микротрубочек [58]. БТШ90 необходим для поддержания стабильности LIMK1, вызывая димеризацию и трансфосфорилирование фермента [75]. При действии теплового шока наблюдается перемещение комплекса LIMK1—кофилин—актин в ядро. Возможно, именно это служит одной из причин избирательного запуска транскрипции и, следовательно, изменения функционирования генома, что в конечном итоге приводит к восстановлению способности к обучению и формированию памяти. Таким образом, функционирование системы БТШ тесно связано с работой LIMK1 и необходимо для обеспечения нейрональной пластичности.

По имевшимся ранее представлениям, тепловой шок как стрессорный фактор оказывает на живые объекты только негативное воздействие, в том числе путем модификации продуктов мутантных аллелей [12]. Однако детальное изучение БТШ и установление их шаперонной функции привело к переосмыслению роли теплового шока. Выяснилось, что система синтеза БТШ представляет собой основу внутриклеточной адаптации и устойчивости к неблагоприятным воздействиям. Наши данные подтверждают это положение. Нами показано восстановление способности к обучению и формированию памяти под действием теплового шока у мутанта *agn^{ts3}* (рис. 7) [11, 14]. Примечательно, что этот мутант является температурочувствительным [110]. Возможно, именно температурочувствительность *agn^{ts3}* при 29°C предрасполагает к восстановлению способности к обучению после действия теплового шока 37°C, что коррелирует с исчезновением амилоидопо-

добных включений [10]. Таким образом, инициация синтеза БТШ через активацию системы компенсации клетки и всего организма на стресс обеспечивает способность организма не только переносить экстремальные воздействия [92], но и изменять врожденные формы поведения, а также восстанавливать функционирование процессов, лежащих в основе обучения и памяти.

В этой связи встает закономерный вопрос — приводит ли действие других экстремальных воздействий к восстановлению обучения и памяти у мутанта *agn^{ts3}*? Для ответа на этот вопрос нами было исследовано влияние ослабления магнитного поля Земли на способность к обучению и формированию среднесрочной памяти у *D. melanogaster*. Согласно нашим данным, ослабление магнитного поля, как и тепловой шок, восстанавливает у *agn^{ts3}* способность к обучению и формированию памяти (рис. 7) [13]. Таким образом, стрессорные воздействия оказываются необходимыми и достаточными для восстановления способности к обучению и формированию памяти мутанта *agn^{ts3}*. Известно, что при стрессорном воздействии кофилин становится гиперактивным [93], то есть после стресса активность LIMK1 снижается. Напомним, что у мутанта *agn^{ts3}* содержание LIMK1 в 2.5 раза превышает таковое у *Canton-S*. По-видимому, именно это служит причиной восстановления способности к обучению у мутантов *agn^{ts3}*.

В настоящее время экспериментально доказано наличие общих механизмов, лежащих в основе формирования адаптивных процессов — стрессорной реакции и обучения. В частности, выявлена

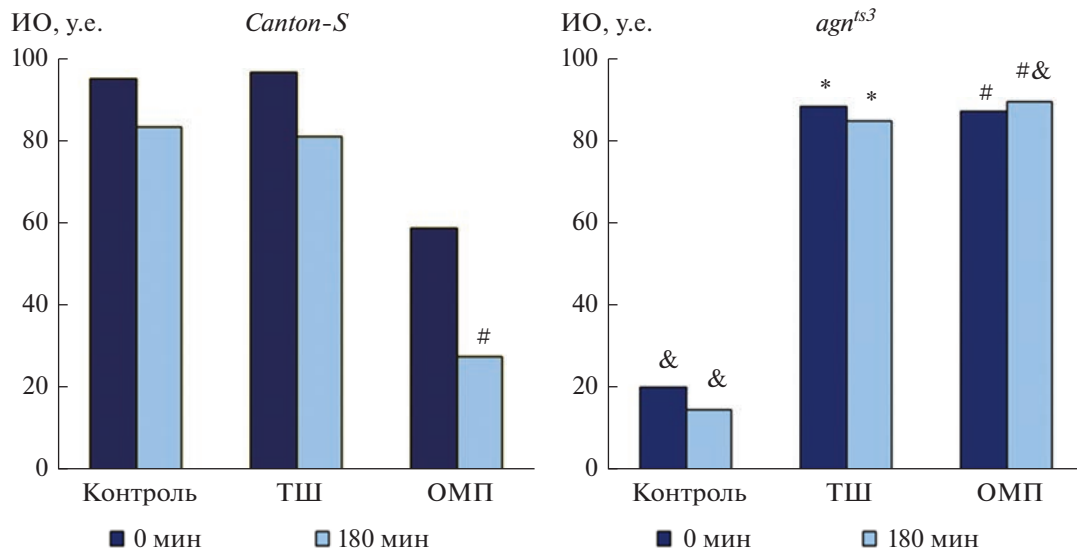


Рис. 7. Влияние теплового шока (ТШ) и ослабления магнитного поля (ОМП) Земли на обучение и среднесрочную память у линий *Canton-S* и *agn^{ts3}*. По оси абсцисс: время после завершения тренировки, мин; по оси ординат: ИО – индекс обучения, у.е. * – ИО после воздействия ТШ достоверно отличается от интактного контроля; # – ИО после воздействия ОМП достоверно отличается от интактного контроля; & – ИО достоверно ниже, чем у линии дикого типа *Canton-S* в аналогичных условиях (двусторонний тест рандомизации, $p < 0.05$).

роль белка теплового шока БТШ70 в формировании памяти, помимо его важной роли в фолдинге и деградации белков. В экспериментах с использованием различного числа копий гена *hsp70* у самцов дрозофилы показано, что для обучения и формирования краткосрочной и долгосрочной памяти в парадигме УРПУ необходим низкий конститутивный уровень БТШ70 [139]. Проведенные транскриптомные исследования подтвердили, что самцы, различающиеся по числу копий *hsp70*, демонстрируют дифференциальную экспрессию нескольких групп генов, вовлеченных в спаривание, участвующих в формировании и консолидации памяти, включая цАМФ-каскад передачи сигналов. Показано, что транскрипционный фактор, который индуцирует экспрессию *hsp70* и других генов теплового шока, играет центральную роль в синаптической пластичности и консолидации памяти [139]. Все это приводит к выводу о совместном эволюционировании механизмов стрессорной реакции и формирования памяти.

LIMK1 И ЗАБЫВАНИЕ

Одной из наиболее фундаментальных задач современной нейронауки является познание того, как мозг участвует в приобретении, хранении и воспроизведении различных форм памяти [17]. Недавние пионерские исследования на дрозофиле способствовали смещению и пересмотру фокуса внимания: акцент теперь делается не на приобретении памяти, т.е. обучении и консолидации, а на непосредственном вычленении звеньев моле-

кулярной и клеточной биологии активного забывания. Новый взгляд блистательно отражен в обзоре выдающегося нейрогенетика Рона Дэвиса и его коллеги Жонга [41]. Дэвис одним из первых стал изучать влияние мутаций дрозофилы, нарушающих цАМФ-сигнальный каскад, на способность к обучению и сохранению памяти при классическом павловском оборонительном обучении на ольфакторный раздражитель [40]. Если ранее мы говорили о путеводной нити Ариадны, то сейчас, перестраивая свои представления о “когнитивных дефектах”, уместно вспомнить о весах в руках Фемиды, на чашах которых балансируют “обучение и консолидация” и “забывание”, “необходимое и достаточное двуединство” для долговременного, зачастую пожизненного, сохранения памяти. По Дэвису, биологические процессы в большинстве своем реализуются при действии биохимических путей, специально предназначенных для синтеза или деградации. Примеры таких противодействующих процессов: митоз для порождения новых клеток и программируемая клеточная смерть, синтез и деградация белков, фосфорилирование и дефосфорилирование. Следуя этой логике, наряду с путями, ведущими к приобретению памяти, должны существовать пути ее стирания. Та же логика применима и к гомеостазу биологических систем. Эти факты служат основой для признания того, что забывание – это активный процесс, осуществляемый с вовлечением иных биологических путей, нежели те, что задействованы при приобретении и консолидации памяти. То есть “внутреннее” (intrinsic) забывание – это механизм гомеостаза для возвра-

шения мозга к его исходному состоянию. В английской терминологии забывание — это *passive forgetting* (пассивное забывание; происходит само по себе с ходом времени), *interference-based forgetting* (забывание, обусловленное интерференцией; ему способствует конкуренция со вновь возникающими стимулами при обучении), *motivated forgetting* (забывание, мотивированное желанием забыть неприятный предшествующий опыт) и *retrieval-induced forgetting* (забывание, когда извлечение некоего аспекта памяти подавляет иные ее аспекты).

Хороший пример необходимости и ценности забывания, стирания памяти — две линии дрозофилы, *rovers* и *sitters*. *Rovers*, в отличие от аллельного варианта мутации *sitters*, не сидят на месте и очень активно исследуют окружающую среду в поисках пищи (личинки). Мухи *rovers* демонстрируют очень прочное забывание типа *reversal learning*, тогда так у мух *sitters* оно подавлено [102]. Более высокий уровень забывания у *rovers* может отражать повышенную способность обновлять память для применения более гибких стратегий поиска еды. Это породило предположение, что адаптивное забывание может быть свойством (в генетической терминологии — признаком) креативных индивидов, позволяющим быстро переключаться с воплощения безуспешных идей на более успешные [51].

Для формирования ассоциативной памяти у дрозофилы используют несколько парадигм. Наиболее широко применяют метод классического павловского обучения с негативным подкреплением электрошоком, или аверсивное ольфакторное обучение (АОО). С использованием данного метода были открыты гены, ответственные за формирование различных типов памяти, гомологичные генам млекопитающих [123], а также показана ключевая роль в процессах активного забывания такого компонента актин-ремоделирующего каскада, как *Rac1* [42, 115]. Данный белок также участвует в активном забывании у млекопитающих [77], что указывает на эволюционную консервативность механизма и возможность экстраполировать на человека данные, полученные на дрозофиле. При этом за стирание различных видов памяти отвечают разные сигнальные белки [53, 140].

Rac1 является одним из активаторов LIMK1, ингибирующей кофилин. Активация кофилина препятствует стиранию памяти [34] не только за счет участия в ремоделировании актина, но и потому, что комплекс АДФ (аденозиндифосфат)/кофилин является функциональным узлом клеточной биологии, регулятором клеточного гомеостаза, сенсор-стрессорных воздействий [60]. Среди таких воздействий и тепловой шок, и окислительный стресс, и гипоксия, и изменения солевого содержания, и засуха, воздействующие на различных представителей живого мира [64]. Таким образом, актин-деполимеризующий каскад

напрямую задействован в активном забывании у дрозофилы при ольфакторном обучении с подкреплением электрошоком. Важность же роли компонентов этого каскада в становлении интеллектуальных проблем при различных нейропатологиях обозначена в недавнем исследовании о том, что активность LIMK1/2 в медиальной префронтальной коре мышей ответственна за развитие непредсказуемого мягкого хронического стресса, обездвиживания и социальных поражений, ведущих к таким интеллектуальным проблемам, как депрессия [52].

Напомним, что *Rac1*-зависимое забывание является эволюционно консервативным, присутствуя как у беспозвоночных, так и у позвоночных, что позволяет сопоставлять данные, полученные на разных видах. Так, у аплизии обучение с легким напоминанием восстанавливает ДСП при сенситизации [98]. Кроме того, уровень активации *Rac1*, регулируя полимеризацию актина, влияет на распространение конусов роста ламеллоподий развивающихся нейронов и определяет размер и форму синаптических шипиков взрослых нейронов. Поэтому он влияет на забывание, зависимое от нейрогенеза (*neurogenesis-based forgetting*). Это основано на данных о том, что в течение жизни млекопитающих к зубчатой извилине гиппокампа (*dentate gyrus*) постоянно добавляются новые нейроны с интенсивностью, модулируемой стимулами от окружающей среды [20]. Нейрогенез ремоделирует нервные сети гиппокампа, что служит механизмом стирания следов памяти [55].

Наряду с этим и у моллюсков, и у млекопитающих важную роль в процессах обучения, консолидации и сохранения памяти играют атипичные протеинкиназы PKC ζ , PKM ζ и PKC ι/λ . Достаточно сложные белок-белковые взаимодействия с участием PKM ζ , ее ингибиторного белка ZIP, эндоцитоза AMPA GluA2 рецепторов из мембраны синапса обеспечивают процессы активного (*intrinsinc*) забывания. Необычные механизмы транскрипционного и трансляционного контроля действия атипичных протеинкиназ и их участия в эпигенетических изменениях (ацетилирование гистонов и метилирование ДНК) наилучшим образом описаны в работах П.М. Балабана [24, 31, 132]. Важно понимать, какие именно ключевые гены могут быть мишенями для изменения фенотипа организма — “норма” или “болезнь”, а также мишенями для поиска средств терапии для возвращения из состояния “болезнь” к состоянию “норма”. Действительно, многие неврологические дефекты мозга нарушают когнитивные функции, вызывая интеллектуальные проблемы расстройств аутистического спектра, болезнь Альцгеймера и др. [66]. И хотя при каждом отдельном расстройстве наблюдается уникальная картина патофизиологии, однако же общим связующим звеном всех заболеваний является структура сигналов и их функция [100]. Согласно новейшим представлениям, это связующее звено — активное забывание.

До настоящего времени активное забывание у дрозофилы исследовали с использованием метода классического павловского обучения с негативным подкреплением электрошоком. Вместе с тем остается неизвестной роль актин-ремоделирующего каскада в активном забывании при иных типах обучения у мух. Важнейшим из них является уже упомянутый выше метод условно-рефлекторного подавления ухаживания.

Таковые исследования, направленные на познание феномена активного забывания в парадигме УРПУ, впервые проведены нами у уже описанных выше линий дикого типа и температурочувствительного мутанта *agn^{ts3}* с полиморфизмом по гену *limk1*. Поскольку интенсивность процессов забывания определяется динамикой (скоростью) изменения индекса обучения на протяжении тестируемого периода времени, был проведен анализ динамики краткосрочной и среднесрочной памяти в парадигме УРПУ у самцов линий дрозофилы, полиморфных по гену *limk1*, через 15, 30, 60 мин и 24 ч после 30-минутной тренировки (рис. 8) [3]. Обнаружено, что у *CS* ИО снижается через сутки в интактном контроле в 2 раза, а после стрессорного воздействия ТШ – в 11 раз. Таким образом, забывание проявляется только через сутки после обучения.

У линии *Berlin*, для которой определенная нами последовательность ДНК для LIMK1 наиболее соответствует приведенной во FlyBase, наблюдаются достаточно существенные отличия от *CS* во временной динамике ИО: через 15 мин, 60 мин и 24 ч в 2.5–2.6 раза ниже. При этом ТШ устраняет отличия ИО от *CS*. Напомним, что у *Berlin* ранее были показаны нарушения сохранения ДСП [5]. Возможно, именно интенсивность забывания является в данном случае причиной этого дефекта. У линии *Oregon-R* ИО последовательно снижался с увеличением интервала времени после тренировки, достигая драматического 23-кратного падения через 24 ч. ТШ устраняет отличия ИО от *CS* только через 60 мин и 24 ч. Таким образом, можно говорить о том, что эта линия неспособна как к обучению, так и формированию КСП и ССП, что согласуется с ранними исследованиями [5]. Мутационное повреждение гена *limk1* у *agn^{ts3}* также нарушает способность к обучению и формированию КСП и ССП. Динамика ИО мутанта в сравнении с *CS* такова: в нормальных условиях он имеет самые низкие показатели – в 23 и 24.5 раза хуже через 0 и 15 мин после тренировки, в 14 раз хуже через 30 мин, в 6 и 10 раз соответственно через 60 мин и 24 ч. Парадоксально, но факт – действие ТШ снимает эти фантастические отличия, восстанавливая присущую в норме *CS* динамику ИО, что и делает *agn^{ts3}* наиболее адекватной моделью для изучения процессов забывания. Объяснением этому служит то, что одна из форм забывания – забывание, индуцированное интерференцией (приобретением новой ин-

формации) или конкуренцией процессов, ведущих к воспроизведению памяти.

Как и при анализе забывания в парадигме обучения с негативным подкреплением электрошоком [115], для оценки активности процессов забывания в парадигме УРПУ необходимо учитывать скорость снижения ИО на некотором временном интервале X после тренировки. Если у двух линий дрозофилы (1 и 2) ИО непосредственно после тренировки одинаковы, можно говорить о том, что обе линии обучаются одинаково хорошо. В данном случае это линии *Canton-S* и *Berlin*. Если при этом кривая ИО для линии 1 на интервале X лежит ниже кривой ИО для линии 2, можно заключить, что угасание памяти у линии 1 происходит быстрее, т.е. процесс активного забывания выражен сильнее. Таким образом, интенсивность процессов забывания определяется не абсолютными величинами ИО в каждый момент времени, а динамикой (скоростью) его изменения. При этом, если у линии 1 ИО в начале и в конце периода X выше, чем у линии 2, а углы наклона кривых одинаковы, можно заключить, что линия 2 обучается хуже, но активность процесса забывания у нее не отличается от таковой у линии 1. В нашем случае кривая ИО *Berlin* лежит ниже, чем для *CS*, начиная с 15 мин после обучения. Драматическое угасание памяти (активное забывание) очевидно для *Oregon-R* и *agn^{ts3}*, однако их изначальный ИО многократно ниже, чем у *Canton-S* (соответственно в 4 и 23 раза). Вместе с тем, стрессорное воздействие ТШ интенсифицирует забывание у *CS* и, наоборот, восстанавливает обучение и память у *agn^{ts3}*, что является косвенным подтверждением роли факторов стрессорного ответа в формировании памяти и забывании.

Полученные нами данные, безотносительно к тому, насколько у каждой линии изменена активность LIMK1 и последовательности кодирующего ее гена, служат призывом к критическому осмыслению приводимых в литературе результатов об обучении/забывании. Следует учитывать, что 1) большинство маркеров и балансирных линий у дрозофилы получены на генетическом фоне линии *Oregon-R*; 2) высоко оправдано использование в качестве контрольной линии *Berlin*; 3) линия *Canton-S* не всегда сопоставима в поведенческих экспериментах с линией *Berlin*, но в данном случае заслуживает пристального внимания, так как температурочувствительная мутация *agn^{ts3}* была индуцирована этилметансульфонатом (ЭМС) в линии *Canton-S*, то есть имела и имеет генетический фон *CS*. Также важно помнить, что упомянутые линии дикого типа широко используются в генетических исследованиях, поддерживаются в различных лабораториях по всему миру на протяжении многих десятилетий и могут накапливать различные мутации и/или подвергаться дрейфу генов, в результате чего могут отличаться по признакам, анализируемым в данной работе. Поэтому сравнения показателей

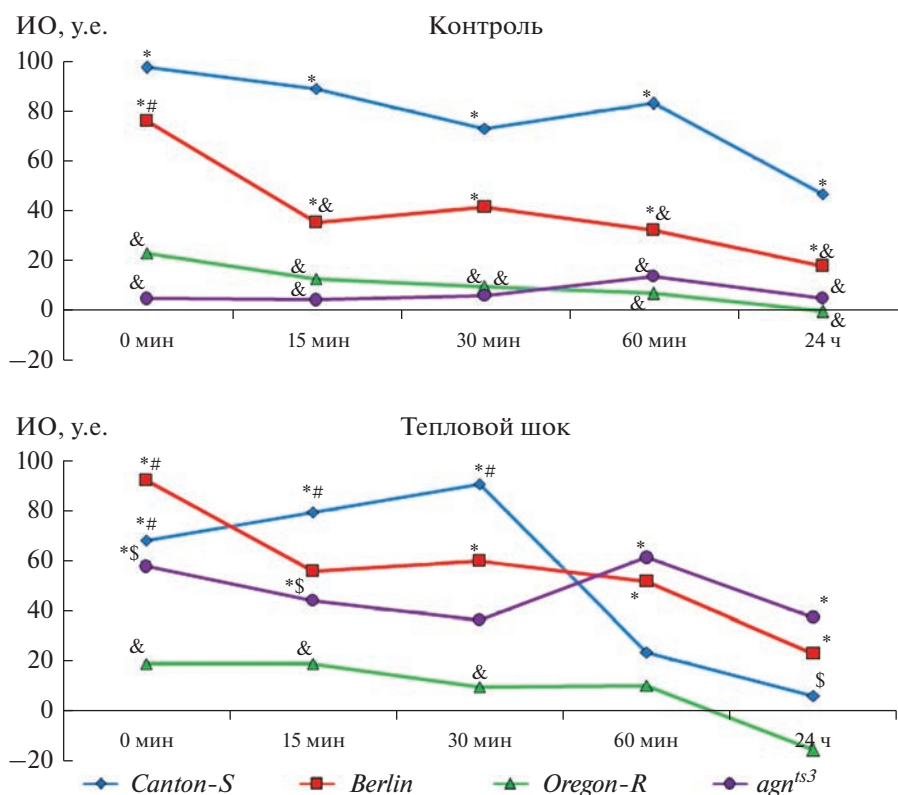


Рис. 8. Динамика сохранения условно-рефлекторного подавления ухаживания при тестировании краткосрочной и среднесрочной памяти у самцов линий *Canton-S*, *Berlin*, *Oregon-R* и *agn^{ts.3}* *Drosophila melanogaster*. По оси абсцисс: время после завершения тренировки, мин; по оси ординат: ИО – индекс обучения, у.е. * – ИО достоверно отличается от нуля; # – ИО достоверно отличается от 24 ч; & – ИО достоверно отличается от линии дикого типа *Canton-S* в аналогичных условиях; § – ИО достоверно отличается от интактного контроля (двусторонний тест рандомизации, $p < 0.05$).

обучения/забывания высоко оправданы именно в этом случае.

В этом контексте настоящее исследование, предпринятое с целью изучения влияния полиморфизма гена *limk1* на активное забывание у самцов дрозофилы в парадигме УРПУ, является первым и необходимым шагом для выяснения того, как сказывается на процессах забывания изменение активности ключевого элемента каскада ремоделирования актина LIMK1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Формирование памяти и забывание являются основой поведенческой пластичности. Пассивное забывание представляет собой процесс неспецифического угасания следов памяти, обусловленное случайными, стохастическими процессами в нервной системе. Активное забывание получило следующее определение: “механизм или серия механизмов удаления ненужных воспоминаний” [41]. Выделяют несколько механизмов активного забывания: 1. Забывание, основанное на интерференции, при котором старая и вновь приобретенная энграмма памяти конкурируют между собой. 2. Мотивированное забывание, при

котором специфически удаляется некоторая негативная информация. 3. Забывание, индуцируемое воспоминанием, при котором имеет место антагонизм между воспроизведением различных энграмм памяти. 4. Забывание, обусловленное внутренними механизмами. Последнее, предположительно, индуцируется при обучении параллельно с формированием памяти, конкурируя с процессами ее консолидации и сохранения. Конечный эффект зависит от баланса сигнальных стимулов, регулирующих запоминание и забывание, и активности внутриклеточных сигнальных каскадов, индуцируемых этими стимулами.

Важнейшую роль в реализации процессов обучения, забывания и формирования памяти играет сигнальный каскад ремоделирования актина, ключевым ферментом которого выступает LIMK1. LIMK1 представляет собой одно из узловых пересечений биохимических и нервных сетей, сопровождающих активное забывание. Поиск и всестороннее изучение таких важных перекрестков сигнальных путей необходимы для целенаправленного терапевтического воздействия в случае заболеваний, характеризующихся когнитивными нарушениями. Но какова стратегия поиска средств терапии? Коррекция интел-

лектуальных проблем в настоящее время сводится к оптимизации среды пациента и использованию персонифицированных схем обучения, фармакотерапия практически отсутствует. Однако в тех случаях, когда в результате каких-либо мутаций наблюдается повышенная или пониженная активность Ras- или Rho-зависимых сигнальных путей, возможно эту активность отрицательно либо положительно ремодулировать. Например, за счет использования каких-либо агентов, малых молекул или пептидов, изменяющих белок-белковые взаимодействия (ББВ) ГТФаз и компонентов сигнальных каскадов. Предлагаемая Замбони с соавторами схема для поиска таких агентов такова: структурная информация об участниках ББВ, применение новейших компьютерных методов молекулярного (белкового) докинга и скрининга агентов *in silico* [138]. Основанный на ББВ дизайн малых молекул и пептидов может обеспечить: 1) тканеспецифичность, 2) специфичность для определенной ГТФазы или компонента сигнального пути, 3) мягкую регуляцию для повышения пониженной, или снижения повышенной активности.

Для скрининга и тестирования агентов фармакотерапии с трансляцией применительно к человеку требуется создание и валидация животных моделей, в качестве которых можно использовать не только млекопитающих, но и беспозвоночных. Наличие гомологичных генов болезней человека, высокоорганизованной нервной системы, обеспечивающей реализацию всех базовых форм когнитивной активности, высокая скорость исследований на дрозофиле служат неоспоримыми преимуществами для использования ее в качестве объекта предварительного экспериментального тестирования терапевтических средств. Именно в русле “от генетики и физиологии к терапевтическим возможностям” лежит использование мутационной модели дрозофилы для нейрокогнитивной патологии, зависимой от экспрессии гена *limk1*, ключевого фермента ремоделирования актина. Эти исследования открывают широкие перспективы для сопряжения физиологических (ремоделирование шипиков, рост нейритов, перенос внутриклеточных компонентов, изменение постсинаптической плотности) и генетических процессов (механизм транскрипции, факторы ремоделирования хроматина).

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП “Научно-технологическое развитие Российской Федерации” (2019-2030) (тема 0134-2019-0004).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Берлов Д.Н., Никитина Е.А. Функциональные ансамбли в мозге человека и животных // Физиоло-

- гия человека. 2021. Т. 47. № 5. С. 118. <https://doi.org/10.31857/S0131164621050039>
2. Журавлев А.В., Никитина Е.А., Савватеева-Попова Е.В. Обучение и память у дрозофилы: физиолого-генетические основы // Успехи физиол. наук. 2015. Т. 46. № 1. С. 76.
3. Заломая Е.С., Фалина В.С., Медведева А.В., Никитина Е.А., Савватеева-Попова Е.В. Обучение и забывание у *Drosophila melanogaster* при полиморфизме по гену *limk1* // Интегративная физиология. 2021. Т. 2. № 3. С. 318. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-3-318-327>
4. Каминская А.Н., Медведева А.В. LIM-киназа 1 в регуляции когнитивных и локомоторных и функций *Drosophila melanogaster* // Экологическая генетика. 2013. Т. 11. № 3. С. 63.
5. Каминская А.Н., Никитина Е.А., Герасименко М.С. и др. Обучение и формирование памяти в сопоставлении с распределением pCREB и белковых агрегатов в нейромышечных контактах у *Drosophila melanogaster* при полиморфизме *limk1* // Генетика. 2015. Т. 51. № 6. С. 685. <https://doi.org/10.7868/S0016675815060077>
6. Каминская А.Н., Никитина Е.А., Паялина Т.Л. и др. Влияние соотношения изоформ LIMK1 на поведение ухаживания *Drosophila melanogaster*: комплексный подход // Экологическая генетика. 2011. Т. 9. № 4. С. 3. <https://doi.org/10.17816/ecogen943-14>
7. Ковалева Т.Ф., Максимова Н.С., Жуков И.Ю. и др. Кофилин: молекулярно-клеточные функции и роль в функционировании нервной системы // Нейрохимия. 2019. Т. 36. № 1. С. 14. <https://doi.org/10.1134/S1027813319010126>
8. Лопатина Н.Г., Зачепило Т.Г., Чеснокова Е.Г., Савватеева-Попова Е.В. Поведенческие и молекулярные последствия дефицита эндогенных кинуренинов у медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) // Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2010. Т. 60. № 2. С. 229.
9. Мамон Л.А., Бондаренко Л.В., Третьякова И.В. и др. Последствия клеточного стресса при нарушенном синтезе белков теплового шока у дрозофилы // Вестник СПбГУ. 1999. Сер. 3. Вып. 4. № 24. С. 94.
10. Медведева А.В., Молотков Д.А., Никитина Е.А. и др. Регуляция генетических и цитогенетических процессов сигнальным каскадом ремоделирования актина: структура гена LIMK1, архитектура хромосом и способность к обучению спонтанных и мутантных вариантов локуса *agnostic* дрозофилы // Генетика. 2008. Т. 44. № 6. С. 669.
11. Никитина Е.А., Каминская А.Н., Молотков Д.А., Попов А.В., Савватеева-Попова Е.В. Влияние теплового шока на обучение, формирование памяти и содержание LIMK1 в мозге самцов *Drosophila melanogaster* с измененной структурой гена *limk1* // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 2014. Т. 50. № 2. С. 137.
12. Никитина Е.А., Комарова А.В., Голубкова Е.В., Третьякова И.В., Мамон Л.А. Полудоминантное влияние мутации *l(1)ts403 (sbr¹⁰)* на нерасхождение половых хромосом в мейозе у самок *Drosophila melanogaster* при тепловом воздействии // Генетика. 2003. Т. 39. № 3. С. 341.
13. Никитина Е.А., Медведева А.В., Герасименко М.С. и др. Ослабленное магнитное поле Земли: влияние на транскрипционную активность генома, обуче-

- ние и память у *Dr. melanogaster* // Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2017. Т. 67. № 2. С. 246.
<https://doi.org/10.7868/S0044467717020101>
14. Никитина Е.А., Медведева А.В., Долгая Ю.Ф. и др. Участие GDNF, LIMK1 и белков теплового шока в формировании процессов обучения и памяти у дрозофилы // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 2012. Т. 48. № 6. С. 588.
 15. Никитина Е.А., Медведева А.В., Захаров Г.А., Савватеева-Попова Е.В. Локус *agnostic* дрозофилы: вовлеченность в становление когнитивных нарушений при синдроме Уильямса // Acta Naturae. 2014. Т. 6. № 2(21). С. 58.
 16. Никитина Е.А., Медведева А.В., Захаров Г.А., Савватеева-Попова Е.В. Синдром Уильямса как модель изучения пути гены—мозг—когнитивные функции: генетика и эпигенетика // Acta Naturae. 2014. Т. 6. № 1(20). С. 9.
 17. Савватеева-Попова Е.В., Никитина Е.А., Медведева А.В. От нейрогенетики к нейроэпигенетике // Генетика. 2015. Т. 51. № 5. С. 613.
<https://doi.org/10.7868/S0016675815050070>
 18. Савватеева-Попова Е.В., Переслени А.И., Шарагина Л.М. и др. Особенности архитектуры X-хромосомы, экспрессии LIM-киназы 1 и рекомбинации у мутантов дрозофилы локуса *agnostic*: модель синдрома Вильямса человека // Генетика. 2004. Т. 40. № 6. С. 749.
 19. Acevedo K., Moussi N., Li R., Soo P., Bernard O. LIM kinase 2 is widely expressed in all tissues // J. Histochem. Cytochem. 2006. V. 54. № 5. P. 487.
<https://doi.org/10.1369/jhc.5C6813.2006>
 20. Altman J. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats // Anat. Rec. 1963. V. 145. P. 573.
<https://doi.org/10.1002/ar.1091450409>
 21. Alvarez-Castelao B., Schuman E.M. The regulation of synaptic protein turnover // J. Biol. Chem. 2015. V. 290. №48. P. 28623.
<https://doi.org/10.1074/jbc.R115.657130>
 22. Anderson C.A., Kovar D.R., Gardel M.L., Winkelman J.D. LIM domain proteins in cell mechanobiology // Cytoskeleton. 2021. V. 78. № 6. P. 303.
<https://doi.org/10.1002/cm.21677>
 23. Asrar S., Meng Y., Zhou Z. et al. Regulation of hippocampal long-term potentiation by p21-activated protein kinase 1 (PAK1) // Neuropharmacology. 2009. V. 56. P. 73.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.06.055>
 24. Balaban P.M., Roshchin M., Timoshenko A.K. et al. Homolog of protein kinase Mζ maintains context aversive memory and underlying long-term facilitation in terrestrial snail Helix // Front. Cell Neurosci. 2015. V. 9. Art. 222.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00222>
 25. Ben Zablah Y., Zhang H., Gugustea R., Jia Z. LIM-Kinases in synaptic plasticity, memory, and brain diseases // Cells. 2021. V. 10. P. 2079.
<https://doi.org/10.3390/cells10082079>
 26. Berabez R., Routier S., Bénédicti H., Plé K., Vallée B. LIM Kinases, promising but reluctant therapeutic targets: chemistry and preclinical validation *in vivo* // Cells. 2022. V. 11. P. 2090.
<https://doi.org/10.3390/cells11132090>
 27. Bernard O., Ganiatsas S., Kannourakis G., Dringen R. Kiz-1, a protein with LIM zinc finger and kinase domains, is expressed mainly in neurons // Cell Growth Differ. 1994. V. 5. P. 1159.
 28. Blanpied T.A., Kerr J.M., Ehlers M.D. Structural plasticity with preserved topology in the postsynaptic protein network // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. № 34. P. 12587.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0711669105>
 29. Bliss T.V., Collingridge G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus // Nature. 1993. V. 361. P. 31.
<https://doi.org/10.1038/361031a0>
 30. Bosch M., Hayashi Y. Structural plasticity of dendritic spines // Curr. Opin. Neurobiol. 2012. V. 22. № 3. P. 383.
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.09.002>
 31. Borodinova A.A., Zuzina A.B., Balaban P.M. Role of atypical protein kinases in maintenance of long-term memory and synaptic plasticity // Biochemistry (Mosc). 2017. V. 82. № 3. P. 243.
<https://doi.org/10.1134/S0006297917030026>
 32. Borovac J., Bosch M., Okamoto K. Regulation of actin dynamics during structural plasticity of dendritic spines: Signaling messengers and actin binding proteins // Mol. Cell Neurosci. 2018. V. 91. P. 122.
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2018.07.001>
 33. Burston S.G., Clarke A.R. Molecular chaperones: physical and mechanistic properties // Essay Biochem. 1995. V. 29. P. 125.
 34. Cervantes-Sandoval I., Chakraborty M., MacMullen C., Davis R.L. Scribble scaffolds a signalosome for active forgetting // Neuron. 2016. V. 90. № 6. P. 1230.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.05.010>
 35. Chatterjee D., Preuss F., Dederer V., Knapp S., Mathea S. Structural aspects of LIMK regulation and pharmacology // Cells. 2022. V. 11. № 1. Art. 142.
<https://doi.org/10.3390/cells11010142>
 36. Cingolani L.A., Goda Y. Actin in action: the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy // Nat. Rev. Neurosci. 2008. V. 9. P. 344.
<https://doi.org/10.1038/nrn2373>
 37. Cristofanilli M., Akopian A. Calcium channel and glutamate receptor activities regulate actin organization in the salamander retinal neuron // J. Physiol. 2006. V. 575. Pt. 2. P. 543.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.114108>
 38. Cuberos H., Vallée B., Your'k P. et al. Roles of LIM kinases in central nervous system function and dysfunction // FEBS Lett. 2015. V. 589. № 24. Pt B. P. 3795.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.10.032>
 39. Dan C., Kelly A., Bernard O., Minden A. Cytoskeletal changes regulated by the PAK4 serine/threonine kinase are mediated by LIM kinase 1 and cofilin // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. № 34. P. 32115.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M100871200>
 40. Davis R.L., Kiger Jr J.A. Genetic manipulation of cyclic AMP levels in *Drosophila melanogaster* // Biochem Biophys Res Commun. 1978. V. 81. № 4. P. 1180.
[https://doi.org/10.1016/0006-291x\(78\)91261-5](https://doi.org/10.1016/0006-291x(78)91261-5)
 41. Davis R.L., Zhong Y. The Biology of Forgetting—A Perspective // Neuron. 2017. V. 95. № 3. P. 490.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.05.039>
 42. Dong, T., He, J., Wang, S. et al. Inability to activate Rac1-dependent forgetting contributes to behavioral inflexibility in mutants of multiple autism-risk genes // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2016. V. 113. № 27. P. 7644.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1602152113>

43. *Dubnai J., Chiang A.-S., Tully T.* Neural substrates of memory: from synapse to system // *J. Neurobiol.* 2003. V. 54. № 1. P. 238.
<https://doi.org/10.1002/neu.10170>
44. *Dudai Y.* The Neurobiology of memory: concepts, findings, trends. 1st edition. Oxford University Press: 1989. 352 p.
45. *Edelmann L., Spiteri E., Koren K. et al.* AT-rich palindromes mediate the constitutional t (11;22) translocation // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 68. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1086/316952>
46. *Edwards D.C., Gill G.N.* Structural features of LIM kinase that control effects on the actin cytoskeleton // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 11352.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.16.11352>
47. *Endo M., Ohashi K., Mizuno K.* LIM Kinase and slingshot are critical for neurite extension // *The J. Biological Chemistry.* 2007 V. 282. № 18. P. 13692.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M610873200>
48. *Endo M., Ohashi K., Sasaki Y. et al.* Control of growth cone motility and morphology by LIM kinase and Slingshot via phosphorylation and dephosphorylation of cofilin // *J. Neurosci.* 2003. V. 23. P. 2527.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-07-02527.2003>
49. *Erlendsson S., Thorsen T.S., Vauquelin G. et al.* Mechanisms of PDZ domain scaffold assembly illuminated by use of supported cell membrane sheets // *eLife* 2019. V. 8. e39180.
<https://doi.org/10.7554/eLife.39180>
50. *Foletta V.C., Moussi N., Sarmiere P.D., Bamberg J.R., Bernard O.* LIM kinase 1, a key regulator of actin dynamics, is widely expressed in embryonic and adult tissues // *Exp. Cell Res.* 2004. V. 294. № 2. P. 392.
<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2003.11.024>
51. *Forthmann B., Bürkner P.-C., Szardenings C., Benedek M., Holling H.* A New perspective on the multidimensionality of divergent thinking tasks // *Front. Psychol.* 2019. V. 10. Art. 985.
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.00985>
52. *Gao T.-T., Wang Y., Liu L. et al.* LIMK1/2 in the mPFC plays a role in chronic stress-induced depressive-like effects in mice // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2020. V. 23. № 12. P. 82.
<https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa067>
53. *Gao Y., Shuai Y., Zhang X. et al.* Genetic dissection of active forgetting in labile and consolidated memories in *Drosophila* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019. V. 116. № 42. P. 21191.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1903763116>
54. *George J., Soares C., Montersino A., Beique J.-C., Thomas G.M.* Palmitoylation of LIM Kinase-1 ensures spine-specific actin polymerization and morphological plasticity // *eLife.* 2015. V. 4. e06327.
<https://doi.org/10.7554/eLife.06327>
55. *Ghosh H.S.* Adult neurogenesis and the promise of adult neural stem cells // *J. Exp. Neurosci.* 2019. V. 13. Art. 1179069519856876.
<https://doi.org/10.1177/1179069519856876>
56. *Gohla A., Birkenfeld J., Bokoch G.M.* Chronophin, a novel HAD-type serine phosphatase, regulates cofilin-dependent actin dynamics // *Nat. Cell Biol.* 2005. V. 7. № 1. P. 21.
<https://doi.org/10.1038/ncb1201>
57. *Gorovoy M., Niu J., Bernard O. et al.* LIM Kinase 1 coordinates microtubule stability and actin polymerization in human endothelial cells // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 26533.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M502921200>
58. *Gromov P.S., Celis J.E.* Identification of two molecular chaperons (HSX70, HSC70) in mature human erythrocytes // *Exp. Cell Res.* 1991. V. 195. № 2. P. 556.
[https://doi.org/10.1016/0014-4827\(91\)90412-n](https://doi.org/10.1016/0014-4827(91)90412-n)
59. *Gu Z., Jiang Q., Fu A.K.Y., Ip N.Y., Yan Z.* Regulation of NMDA receptors by neuregulin signaling in prefrontal cortex // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. № 20. P. 4974.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1086-05.2005>
60. *Gu J., Lee C.W., Fan Y. et al.* ADF/Cofilin-mediated actin dynamics regulate AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity // *Nat. Neurosci.* 2010. V. 13. № 10. P. 1208.
<https://doi.org/10.1038/nn.2634>
61. *Gundersen G.G., Cook T.A.* Microtubules and signal transduction // *Curr. Opin. Cell Biol.* 1999. V. 11. № 1. P. 81.
[https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(99\)80010-6](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(99)80010-6)
62. *Hebb D.* The organization of behavior. Wiley: New York. 1949. 335 p.
63. *Hiraoka J., Okano I., Higuchi O., Yang N., Mizuno K.* Self-association of LIM-kinase 1 mediated by the interaction between an N-terminal LIM domain and a C-terminal kinase domain // *FEBS Lett.* 1996. V. 399. № 1–2. P. 117.
[https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(96\)01303-8](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(96)01303-8)
64. *Huang J., Sun W., Ren J. et al.* Genome-Wide Identification and characterization of actin-depolymerizing factor (ADF) family genes and expression analysis of responses to various stresses in *Zea Mays L.* // *International Journal of Molecular Sciences.* 2020. V. 21. № 5. Art 1751.
<https://doi.org/10.3390/ijms21051751>
65. *Huang, W., Zhou Z., Asrar S. et al.* p21-Activated Kinases 1 and 3 control brain size through coordinating neuronal complexity and synaptic properties // *Mol. Cell. Biol.* 2011. V. 31. № 3. P. 388.
<https://doi.org/10.1128/MCB.00969-10>
66. *Humble J., Hiratsuka K., Kasai H., Toyozumi T.* Intrinsic spine dynamics are critical for recurrent network learning in models with and without autism spectrum disorder // *Front. Comput. Neurosci.* 2019. V. 13. Art. 38.
<https://doi.org/10.3389/fncom.2019.00038>
67. *Kandel E.R.* The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses // *Science.* 2001. V. 294. № 5544. P. 1030.
<https://doi.org/10.1126/science.1067020>
68. *Kandel E.R., Dudai Y., Mayford M.R.* The molecular and systems biology of memory // *Cell.* 2014. V. 157. P. 163.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.001>
69. *Kida S.* A Functional Role for CREB as a Positive Regulator of Memory Formation and LTP // *Exp. Neurobiol.* 2012. V. 21. № 4. P. 136.
<https://doi.org/10.5607/en.2012.21.4.136>
70. *Konorski J.* Conditioned Reflexes and Neuron Organization. Cambridge University Press, Cambridge. 1948. 267 p.
71. *Kozlov E.N., Tokmatcheva E.V., Khrustaleva A.M. et al.* Long-term memory formation in *Drosophila* depends on the 3'UTR of CPEB Gene *orb2* // *Cells.* 2023. V. 12. P. 318.
<https://doi.org/10.3390/cells12020318>
72. *Lamprecht R., Farb C.R., LeDoux E.J.* Fear Memory Formation Involves p190 RhoGAP and ROCK pro-

- teins through a GRB2-mediated complex // *Neuron*. 2002. V. 36. № 4. P. 727.
[https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)01047-4](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)01047-4)
73. *Lee-Hoeflich S.T., Causing C.G., Podkowa M. et al.* Activation of LIMK1 by binding to the BMP receptor, BMPRII, regulates BMP-dependent dendritogenesis // *EMBO J.* 2004. V. 23. № 24. P. 4792.
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600418>
 74. *Leung C., Cao F., Nguyen R. et al.* Activation of entorhinal cortical projections to the dentate gyrus underlies social memory retrieval // *Cell Rep.* 2018. V. 23. № 8. P. 2379.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.04.073>
 75. *Li R., Soosairajah J., Harari D. et al.* Hsp90 increases LIM kinase activity by promoting its homo-dimerization // *FASEB J.* 2006. V. 20. № 8. P. 1218.
<https://doi.org/10.1096/fj.05-5258fje>
 76. *Lindström N.O., Neves C., McIntosh R. et al.* Tissue specific characterisation of Lim-kinase 1 expression during mouse embryogenesis // *Gene Expr. Patterns.* 2010. V. 11. № 3–4. P. 221.
<https://doi.org/10.1016/j.gep.2010.12.003>
 77. *Liu Y., Du S., Lv L. et al.* Hippocampal activation of Rac1 regulates the forgetting of object recognition memory // *Curr Biol.* 2016. V. 26. № 17. P. 2351.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.056>
 78. *Lunardi P., Sachser R.M., Sierra R.O. et al.* Effects of hippocampal LIMK inhibition on memory acquisition, consolidation, retrieval, reconsolidation, and extinction // *Mol. Neurobiol.* 2017. V. 55. № 2. P. 958.
<https://doi.org/10.1007/s12035-016-0361-x>
 79. *Maekawa M., Ishizaki T., Boku S. et al.* Signaling from Rho to the actin cytoskeleton through protein kinases ROCK and LIM-kinase // *Science.* 1999. V. 285. №5429. P. 895.
<https://doi.org/10.1126/science.285.5429.895>
 80. *Malinow R., Malenka R.C.* AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity // *Annu. Rev. Neurosci.* 2002. V. 25. P. 103.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.112701.142758>
 81. *Manetti F.* LIM kinases are attractive targets with many macromolecular partners and only a few small molecule regulators // *Med. Res. Rev.* 2011. V. 32. № 5. P. 968.
<https://doi.org/10.1002/med.20230>
 82. *Mao R., Deng R., Wei Y. et al.* LIMK1 and LIMK2 regulate cortical development through affecting neural progenitor cell proliferation and migration // *Mol. Brain.* 2019. V. 12. № 1. Art. 67.
<https://doi.org/10.1186/s13041-019-0487-7>
 83. *McBride S.M.J., Giuliani G., Choi C. et al.* Mushroom body ablation impairs short-term memory and long-term memory of courtship conditioning in *Drosophila melanogaster* // *Neuron.* 1999. V. 24. № 4. P. 967.
[https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)81043-0](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81043-0)
 84. *Medina C., de la Fuente V., Dieck T.S. et al.* LIMK, Cofilin 1 and actin dynamics involvement in fear memory processing // *Neurobiol Learn Mem.* 2020. V. 173. P. 107275.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2020.107275>
 85. *Medina J.H.* Neural, cellular and molecular mechanisms of active forgetting // *Front. Syst. Neurosci.* 2018. V. 12. Art. 3.
<https://doi.org/10.3389/fnsys.2018.00003>
 86. *Medvedeva A.V., Tokmatcheva E.V., Kaminskaya A.N. et al.* Parent-of-origin effects on nuclear chromatin organization and behavior in a *Drosophila* model for Williams–Beuren Syndrome // *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii.* 2021. V. 25. № 5. P. 472.
<https://doi.org/10.18699/VJ21.054>
 87. *Meng J., Meng Y., Hanna A., Janus C., Jia Z.* Abnormal long-lasting synaptic plasticity and cognition in mice lacking the mental retardation gene Pak3 // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. № 28. P. 6641.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0028-05.2005>
 88. *Meng Y., Zhang Y., Tregoubov V. et al.* Abnormal spine morphology and enhanced LTP in LIMK1 knockout mice // *Neuron.* 2002. V. 35. № 1. P. 121.
[https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00758-4](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00758-4)
 89. *Misra U.K., Deedwania R., Pizzo S.V.* Binding of activated alpha 2-macroglobulin to its cell surface receptor GRP78 in 1-LN prostate cancer cells regulates PAK-2 dependent activation of LIMK // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 28. P. 26278.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M414467200>
 90. *Mizuno K.* Signaling mechanisms and functional roles of cofilin phosphorylation and dephosphorylation // *Cell. Signal.* 2013. V. 25. № 2. P. 457.
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.11.001>
 91. *Mizuno K., Okano I., Ohashi K. et al.* Identification of a human cDNA encoding a novel protein kinase with two repeats of the LIM/Double zinc finger motif // *Oncogene.* 1994. V. 9. № 6. P. 1605.
 92. *Morimoto R.I.* Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators // *Genes Dev.* 1998. V. 12. № 24. P. 3788.
<https://doi.org/10.1101/gad.12.24.3788>
 93. *Munsie L., Caron N., Atwal R.S. et al.* Mutant huntingtin causes defective actin remodeling during stress: defining a new role for transglutaminase 2 in neurodegenerative disease // *Hum. Mol. Genet.* 2011. V. 20. № 10. P. 1937.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddr075>
 94. *Nagata K., Ohashi K., Yang N., Mizuno K.* The N-terminal LIM domain negatively regulates the kinase activity of LIM-kinase 1 // *Biochem. J.* 1999. V. 343. Pt 1. P. 99.
 95. *Namme J.N., Bepari A.K., Takebayashi H.* Cofilin signaling in the CNS physiology and neurodegeneration // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 19. P. 10727.
<https://doi.org/10.3390/ijms221910727>
 96. *Ohta Y., Kousaka K., Nagata-Ohashi K. et al.* Differential activities, subcellular distribution and tissue expression patterns of three members of slingshot family phosphatases that dephosphorylate cofilin // *Genes Cells.* 2003 V. 8. № 10. P. 811.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2443.2003.00678.x>
 97. *Okano I., Hiraoka J., Otera H. et al.* Identification and characterization of a novel family of serine/threonine kinases containing two N-Terminal LIM motifs // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 31321.
 98. *Patel U., Perez L., Farrell S. et al.* Transcriptional changes before and after forgetting of a long term sensitization memory in *Aplysia californica* // *Neurobiol. Learn. Mem.* 2018. V. 155. P. 474.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.09.007>
 99. *Prunier C., Prudent R., Kapur R., Sadoul K., Lafanchère L.* LIM kinases: cofilin and beyond // *Oncotarget.* 2017. V. 8. № 25. P. 41749.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.16978>
 100. *Qu X., Kumar A., Blockus H., Waites C., Bartolini F.* Activity-Dependent nucleation of dynamic microtubules at presynaptic boutons controls neurotransmis-

- sion // *Curr. Biol.* 2019. V. 29. № 24. P. 4231.e5.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.10.049>
101. Rademacher N., Kuroпка B., Kunde S.-A. et al. Intramolecular domain dynamics regulate synaptic MAGUK protein interactions // *eLife*. 2019. V. 13. № 8. eLife.41299.
<https://doi.org/10.7554/eLife.41299>
 102. Reaume C.J., Sokolowski M.B., Mery F. A natural genetic polymorphism affects retroactive interference in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Biol. Sci.* 2011. V. 278. P. 91.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2010.1337>
 103. Redt-Clouet C., Trannoy S., Boulanger A. et al. Mushroom body neuronal remodelling is necessary for short-term but not for long-term courtship memory in *Drosophila* // *Eur. J. Neurosci.* 2012. V. 35. № 11. P. 1684.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08103.x>
 104. Rivlin P.K., St Clair R.M., Vilinsky I., Deitcher D.L. Morphology and molecular organization of the adult neuromuscular junction of *Drosophila* // *J. Comp. Neurol.* 2004. V. 468. № 4. P. 596.
<https://doi.org/10.1002/cne.10977>
 105. Rosso S., Bollati F., Bisbal M. et al. LIMK1 regulates Golgi dynamics, traffic of Golgi-derived vesicles, and process extension in primary cultured neurons // *Mol. Biol. Cell.* 2004. V. 15. P. 3433.
<https://doi.org/10.1091/mbc.e03-05-0328>
 106. Rust M.B. Novel functions for ADF/cofilin in excitatory synapses – lessons from gene-targeted mice // *Commun. Integr. Biol.* 2015. V. 8. № 6. e1114194.
<https://doi.org/10.1080/19420889.2015.1114194>
 107. Rust M.B., Gurniak C.B., Renner M. et al. Learning, AMPA receptor mobility and synaptic plasticity depend on n-cofilin-mediated actin dynamics // *EMBO J.* 2010. V. 29. № 11. P. 1889.
<https://doi.org/10.1038/emboj.2010.72>
 108. Sacchetti P., Carpentier R., Segard P., Olive-Cren C., Lefebvre P. Multiple signaling pathways regulate the transcriptional activity of the orphan nuclear receptor NURR1 // *Nucleic Acids Res.* 2006. V. 34. № 19. P. 5515.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkl712>
 109. Salvarezza S.B., Deborde S., Schreiner R. et al. LIM Kinase 1 and cofilin regulate actin filament population required for dynamin-dependent apical carrier fission from the trans – Golgi network // *Mol. Biol. Cell.* 2009. V. 20. № 1. P. 438.
<https://doi.org/10.1091/mbc.e08-08-0891>
 110. Savvateeva E. V., Kamyshev N.G. Behavioral effects of temperature sensitive mutations affecting metabolism of cAMP in *Drosophila melanogaster* // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1981. V. 14. № 5. P. 603.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(81\)90119-2](https://doi.org/10.1016/0091-3057(81)90119-2)
 111. Savvateeva-Popova E.V., Zhuravlev A.V., Brázda V. et al. *Drosophila* model for the analysis of genesis of LIM-kinase 1-dependent Williams–Beuren syndrome cognitive phenotypes: INDELs, transposable elements of the Tc1/Mariner superfamily and microRNAs // *Frontiers in Genetics.* 2017. V. 8. Art. 123.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00123>
 112. Scott R.W., Olson M.F. LIM Kinases: function, regulation and association with human disease // *J. Mol. Med.* 2007. V. 85. № 6. P. 555.
<https://doi.org/10.1007/s00109-007-0165-6>
 113. Schubert V., Da Silva J.S., Dotti C.G. Localized recruitment and activation of RhoA underlies dendritic spine morphology in a glutamate receptor-dependent manner // *J. Cell Biol.* 2006. V. 172. № 3. P. 453.
<https://doi.org/10.1083/jcb.200506136>
 114. Shi Y., Pontrello C.G., DeFea K.A., Reichardt L.F., Ethell I.M. Focal adhesion kinase acts downstream of EphB receptors to maintain mature dendritic spines by regulating cofilin activity // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. № 25. P. 8129.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4681-08.2009>
 115. Shuai Y., Lu B., Hu Y. et al. Forgetting is regulated through Rac activity in *Drosophila* // *Cell.* 2010. V. 140. № 4. P. 579.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.12.044>
 116. Simhadri P.K., Malwade R., Vanka R. et al. Dysregulation of LIMK-1/cofilin-1 pathway: A possible basis for alteration of neuronal morphology in experimental cerebral malaria // *Ann Neurol.* V. 82. № 3. P. 429.
<https://doi.org/10.1002/ana.25028>
 117. Stanyon C.A., Bernard O. LIM-kinase1 // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1999. V. 31. № 3–4. P. 389.
[https://doi.org/10.1016/s1357-2725\(98\)00116-2](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(98)00116-2)
 118. Sumi T., Matsumoto K., Shibuya A., Nakamura T. Activation of LIM kinases by myotonic dystrophy kinase-related Cdc42-binding kinase alpha // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 25. P. 23092.
<https://doi.org/10.1074/jbc.C100196200>
 119. Tantama M., Hung Y.P., Yellen G. Optogenetic reporters: Fluorescent protein-based genetically encoded indicators of signaling and metabolism in the brain // *Progress in Brain Research.* 2012. V. 196. P. 235.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59426-6.00012-4>
 120. Todorovski Z., Asrar S., Liu J. et al. LIMK1 regulates long-term memory and synaptic plasticity via the transcriptional factor CREB // *Mol. Cell Biol.* 2015. V. 35. № 8. P. 1316.
<https://doi.org/10.1128/MCB.01263-14>
 121. Toshima J., Toshima J.Y., Amano T. et al. Cofilin phosphorylation by protein kinase testicular protein kinase 1 and its role in integrin-mediated actin reorganization and focal adhesion formation // *Mol. Biol. Cell.* 2001. V. 12. № 4. P. 1131.
<https://doi.org/10.1091/mbc.12.4.1131>
 122. Tully T. Discovery of genes involved with learning and memory: An experimental synthesis of Hirschman and Benzerian perspectives // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 24. P. 13460.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13460>
 123. Tully T., Preat T., Boynton S.C., Del Vecchio M. Genetic dissection of consolidated memory in *Drosophila* // *Cell.* 1994. V. 79. № 1. P. 35–47.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90398-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90398-0)
 124. Van de Ven T.J., Van Dongen H.M.A., Van Dongen A.M.J. The nonkinase phorbol ester receptor alpha 1-chimerin binds the NMDA receptor NR2A subunit and regulates dendritic spine density // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. № 41. P. 9488.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2450-05.2005>
 125. Villalonga E., Mosrin C., Normand T. et al. LIM Kinases, LIMK1 and LIMK2, are crucial node actors of the cell fate: molecular to pathological features // *Cells.* 2023. V. 12. № 5. P. 805.
<https://doi.org/10.3390/cells12050805>
 126. Wada A., Fukuda M., Mishima M., Nishida E. Nuclear export of actin: a novel mechanism regulating the subcellular localization of a major cytoskeletal protein // *EMBO J.* 1998. V. 17. № 6. P. 1635.
<https://doi.org/10.1093/emboj/17.6.1635>

127. Wang Y., Dong Q., Xu X.-F. et al. Phosphorylation of cofilin regulates extinction of conditioned aversive memory via AMPAR trafficking // *J. Neurosci.* 2013. V. 33. № 15. P. 6423.
https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5107-12.2013
128. Wang W., Townes-Anderson E. Lim kinase, a bi-functional effector in injury-induced structural plasticity of synapses // *Neural Regen. Res.* 2016. V. 11. № 7. P. 1029.
https://doi.org/10.4103/1673-5374.187018
129. Wang Y., Zeng C., Li J. et al. PAK2 haploinsufficiency results in synaptic cytoskeleton impairment and autism-related behavior // *Cell Rep.* 2018. V. 24. № 8. P. 2029.
https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.061
130. Weeber E.J., Levenson J.M., Sweatt J.D. Molecular genetics of human cognition // *Mol. Interv.* 2002. V. 2. № 6. P. 376.
https://doi.org/10.1124/mi.2.6.376
131. White-Grindley E., Li L., Mohammad K.R. et al. Contribution of Orb2A stability in regulated amyloid-like oligomerization of *Drosophila* Orb2 // *PLoS Biol.* 2014. V. 12. №2. e1001786.
https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001786
132. Xu C., Li Q., Efimova O. et al. Identification of Immediate Early Genes in the Nervous System of Snail Helix lucorum // *eNeuro.* 2019. V. 6. № 3. e0416-18.2019.
https://doi.org/10.1523/ENEURO.0416-18.2019
133. Yang N., Higuchi O., Ohashi K. et al. Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in Rac-mediated actin reorganization // *Nature.* 1998. V. 393. № 6687. P. 809.
https://doi.org/10.1038/31735
134. Yang N., Mizuno K. Nuclear export of LIM-kinase 1, mediated by two leucine-rich nuclear-export signals within the PDZ domain // *Biochem J.* 1999. V. 338. Pt 3. P. 793.
135. Yang E.J., Yoon J.H., Min D.S., Chung K.C. LIM kinase 1 activates cAMP-responsive element-binding protein during the neuronal differentiation of immortalized hippocampal progenitor cells // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 10. P. 8903.
https://doi.org/10.1074/jbc.M311913200
136. Yokoo T., Toyoshima H., Miura M. et al. p57Kip2 regulates actin dynamics by binding and translocating LIM-kinase 1 to the nucleus // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 52. P. 52919.
https://doi.org/10.1074/jbc.M309334200
137. You T., Gao W., Wei J. et al. Overexpression of LIMK1 promotes tumor growth and metastasis in gastric cancer // *Biomed. Pharmacother.* 2015. V. 69. P. 96.
https://doi.org/10.1016/j.biopha.2014.11.011
138. Zamboni F., Vieira S., Reis R.L., Oliveira J.M., Collins M.N. The potential of hyaluronic acid in immunoprotection and immunomodulation: Chemistry, processing and function // *Progress in Materials Science.* 2018. V. 97. P. 97.
https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2018.04.003
139. Zatssepina O.G., Nikitina E.A., Shilova V.Y. et al. Hsp70 affects memory formation and behaviorally relevant gene expression in *Drosophila melanogaster* // *Cell Stress and Chaperones.* 2021. V. 26. № 3. P. 575.
https://doi.org/10.1007/s12192-021-01203-7
140. Zhang X., Li Q., Wang L., Liu Z.-J., Zhong Y. Cdc42-Dependent forgetting regulates repetition effect in prolonging memory retention // *Cell Rep.* 2016. V. 16. № 3. P. 817.
https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.06.041
141. Zhang H., Ben Zablah Y., Liu A. et al. Overexpression of LIMK1 in hippocampal excitatory neurons improves synaptic plasticity and social recognition memory in APP/PS1 mice // *Mol. Brain.* 2021. V. 14. № 1. P. 121.
https://doi.org/10.1186/s13041-021-00833-3
142. Zhou Z., Meng Y., Asrar S., Todorovski Z., Jia Z. A critical role of Rho-kinase ROCK2 in the regulation of spine and synaptic function // *Neuropharmacology.* 2009. V. 56. № 1. P. 81.
https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.07.031

Role of LIM-Kinase 1 in Memory Processes

E. A. Nikitina^{1, 2, *}, E. S. Zalomaeva^{1, 2, **}, A. V. Medvedeva^{1, ***},
A. V. Zhuravlev^{1, ****}, and E. V. Savvateeva-Popova^{1, *****}

¹*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, 199034 Russia*

²*Herzen State Pedagogical University of Russia, Saint-Petersburg, 191186 Russia*

*e-mail: 21074@mail.ru

**e-mail: Zalomaeva.E@yandex.ru

***e-mail: avmed56@mail.ru

****e-mail: beneor@mail.ru

*****e-mail: esavvateeva@mail.ru

Abstract—According to modern ideas, the basis of intellectual problems in neurological brain damage is active forgetting, regulated by Rac and Rho small GTPases-dependent signal stages of actin remodeling. The key enzyme of these cascades is LIM kinase 1 (LIMK1). Changes in *limk1* gene expression lead to neurocognitive pathologies. Rapid screening and testing of targeted therapeutic agents modifying protein-protein interactions of GTPases and components of signaling cascades requires the development and validation of simple animal models. Such an opportunity is provided by *Drosophila*, the mutant strains of which allow you to identify the nodal moments of intersection of biochemical and neural networks, accompanying active forgetting.

Keywords: learning, memory, forgetting, LIMK1, neurodegenerative diseases