

Received: 2012.10.05  
Accepted: 2014.01.27  
Published: 2014.04.10

## Dysregulacja szlaku sygnałowego mTOR w patogenezie zaburzeń ze spektrum autystycznego

### Dysregulation of the mTOR signaling pathway in the pathogenesis of autism spectrum disorders

Bożena Gabryel<sup>1</sup>, Agata Kapałka<sup>1</sup>, Wojciech Sobczyk<sup>1</sup>, Krzysztof Łabuzek<sup>2</sup>,  
Agnieszka Gawęda<sup>3</sup>, Małgorzata Janas-Kozik<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Zakład Farmakologii Katedry Farmakologii, Wydział Lekarski w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> Klinika Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej Katedry Farmakologii, Wydział Lekarski w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> Oddział Kliniczny Psychiatrii i Psychoterapii Wieku Rozwojowego, Śląski Uniwersytet Medyczny

<sup>4</sup> Katedra Psychiatrii i Psychoterapii, Śląski Uniwersytet Medyczny

#### Streszczenie

Białkowa kinaza serynowo-treoninowa mTOR (mammalian target of rapamycin) pełni w komórkach OUN wiele funkcji związanych z regulacją ich żywotności i różnicowania, transkrypcji, translacji, degradacji białek, organizacji cytoszkieletu i autofagii. Pojawiające się w ostatnich latach prace doświadczalne i kliniczne dotyczące szlaku sygnalizacji mTOR dowodzą, iż jego dysregulacja może się wywodzić z zaburzeń autystycznych (autism spectrum disorders – ASD). W artykule omówiono dane odnoszące się do zmian w kaskadzie sygnalizacyjnej mTOR, które mogą być przyczyną zaburzeń neurobehawioralnych typowych dla ASD. Przytoczono także wyniki najnowszych badań wskazujących na potencjalne zastosowanie inhibitorów szlaku mTOR w terapii ASD.

Słowa kluczowe:

zaburzenia ze spektrum autystycznego • szlak sygnałowy mTOR • rapamycyna

#### Summary

Mammalian target of rapamycin (mTor) plays multiple role in central nervous system and is involved in regulation of cell viability, differentiation, transcription, translation, protein degradation, actin cytoskeletal organization and autophagy. Recent experimental and clinical studies reveal that disturbances of mTOR signaling are involved in the pathogenesis of autism spectrum disorders (ASD). This article reviews current data on the alteration in the mTOR transduction cascade, which may contribute to common neurobehavioral disorders typical for ASD. Moreover, the results of the latest experimental studies on the potential of mTOR inhibitors for the treatment of ASD are reviewed.

Key words:

autism spectrum disorders • mTOR signaling pathway • rapamycin

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1098143>

**Word count:** 2862

**Tables:** –

**Figures:** 1

**References:** 81

**Adres autorki:** dr hab. n. med. Bożena Gabryel, Zakład Farmakologii Katedry Farmakologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice, e-mail: bgabryel@interia.pl

**Wykaz skrótów:** **Akt/PKB** – kinaza białkowa B; **AMP** – adenylozynomonofosforan; **AMPK** – kinaza aktywowana AMP; **ASD** – zaburzenia ze spektrum autystycznego; **ATP** – adenylozotrifosforan; **CaMKK** – kinaza kinaz kalmodulinozależnych; **4E-BP1** – białko wiążące eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E; **eIF4E** – eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E; **FMRP** – białko upośledzenia umysłowego łamliwego chromosomu X; **GDP** – guanozynyldifosforan; **Glt-1** – glejowy transporter glutaminy 1; **GTP** – guanozotrifosforan; **LKB1** – serynowo-treoninowa kinaza 1; **LTP** – długotrwałe wzmocnienie synaptyczne; **mLST8/GβL** – białko podobne do podjednostki b białka G; **mTOR** – ssaczy cel rapamycyny; **mTORC1** – kompleks 1 kinazy mTOR składający się z kinazy mTOR oraz białek Raptor, mLST8/GβL i PRAS40; **mTORC2** – kompleks 2 kinazy mTOR składający się z kinazy mTOR oraz białek Rictor, mLST8/GβL i mSin1; **mSIN1** – ssacze białko oddziałujące z białkową kinazą zależną od stresu; **NF1** – neurofibromatoza typu 1; **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **PDD-NOS** – całościowe zaburzenie rozwoju niezdiagnozowane inaczej; **PKA** – kinaza białkowa zależna od fosforyloinozytoli; **PKCα** – kinaza białkowa Ca; **PRAS40** – bogaty w prolinę substrat AKT; **PTEN** – homolog fosfatazy i tensyny; **Raptor** – białko regulatorowe związane z mTOR; **Rheb** – homolog białka Ras wzbogacony w mózgu; **Rictor** – białko niewrażliwe na rapamycynę towarzyszące mTOR; **S6K** – kinaza rybosomalna S6; **TS** – stwardnienie guzowate; **TSC1** – hamartyna; **TSC2** – tuberyna.

## WSTĘP

Leo Kanner już w 1943 r. opisał 11 dzieci z zaburzeniami, które wtedy nazwał „wczesnym dziecięcym autyzmem” („early infantile autism”) [39]. Przedstawiając autystyczną izolację Kanner pisał, że jest to podstawowe zaburzenie zdolności tworzenia relacji z osobami i sytuacjami, występujące od początku życia. Mamy wówczas do czynienia z ekstremalnie autystyczną samotnością, która sprawia, że dziecko lekceważy, ignoruje i zamyka się na wszystko co pochodzi ze świata zewnętrznego [9]. Jednoczesne prace Hansa Aspergera zapoczątkowały rozwój psychiatrii w kierunku autyzmu dziecięcego. W dwóch pierwszych wydaniach Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób i Zaburzeń Psychiczych (DSM-I i DSM-II) Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego autyzm charakteryzowano jako postać schizofrenii dziecięcej. Dopiero w latach 80 ub.w. wprowadzono termin całościowych zaburzeń rozwoju, podkreślając w ten sposób jego rozległy, rozwojowy charakter [26].

Obecnie autyzm jest definiowany jako zaburzenie neurorozwojowe, uwarunkowane biologicznie, zaliczane wraz z zespołem Aspergera, całościowym zaburzeniem rozwoju niezdiagnozowanym inaczej (pervasive developmental disorder not otherwise specified – PDD-NOS) oraz dezintegracyjnym zaburzeniem dziecięcym do zaburzeń ze spektrum autystycznego (autism spectrum disorders,

ASD). ASD charakteryzują ograniczone interakcje społeczne, problemy z komunikacją, wyrażaniem emocji i uczuć, ograniczone zainteresowania oraz powtarzalne zachowania. W typowych przypadkach ASD pojawia się w pierwszym trzech latach życia (DSM-IV, ICD-10) [1].

Częstość występowania ASD w populacji wynosi przeważnie około 1 na 1000, z czterokrotną przewagą chłopców nad dziewczynkami. W zależności od szerokości geograficznej oraz kryteriów klinicznych częstotliwość waha się w granicach 0,05-0,6% [22].

Spśród schorzeń neuropsychiatrycznych ASD jest zaburzeniem o największym obciążeniu genetycznym. Znane podłoże genetyczne występuje u 10-15% chorych jako autyzm wtórny - najczęściej w stwardnieniu guzowatym (TS) oraz zespole łamliwego chromosomu X [45]. Na podłoże genetyczne wskazuje też to, iż ryzyko urodzenia drugiego dziecka z ASD jest 20-50 razy większe niż w ogólnej populacji [56]. W przypadku bliźniąt monozygotycznych ryzyko to wynosi 60-90%, a bliźniąt dizygotycznych 10% [5].

Pojawiające się w ostatnich latach prace doświadczalne i kliniczne dotyczące szlaku sygnalizacji mTOR dowodzą, iż zaburzenia w jego obrębie mogą być zaangażowane w patogenezę znaczącej liczby przypadków ASD. Ponadto, poznanie miejsc mutacji genów kodujących białka leżące

na szlaku sygnalizacyjnym mTOR i ich konsekwencji neurobiologicznych otwierają drogę poszukiwaniom nowych, skuteczniejszych metod leczenia.

## SZLAK SYGNAŁOWY KINAZY mTOR

Białkowa kinaza serynowo-treoninowa mTOR (mammalian target of rapamycin) pełni w komórkach OUN wiele funkcji związanych z regulacją ich żywotności i różnicowania, transkrypcji, translacji, degradacji białek, organizacji cytoskietetu i autofagii [32,44]. Kinaza mTOR jest uważana za członka nadrodziny kinaz zależnych od kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PIKK) ponieważ C-koniec mTOR wykazuje silną homologię do domeny katalitycznej kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K) [40,81]. Aktywność kinazy mTOR jest regulowana przez sygnały, takie jak: czynniki wzrostu, dostępność składników odżywczych, hormony, stan energetyczny komórki oraz czynniki stresogenne (np. niedotlenienie, infekcje wirusowe, szok cieplny, uszkodzenie DNA) [4,61,68].

W komórkach ssaków mTOR występuje w postaci dwóch, funkcjonalnie odrębnych kompleksów białkowych: mTORC1 i mTORC2 [77]. Składnikami obu kompleksów są kinaza mTOR i białko mLST8/GβL (mammalian LST8/G protein β-subunit like protein). Dodatkowo w skład kompleksu mTORC1 wchodzi białko Raptor (regulatory associated protein of mTOR) oraz PRAS40 (proline-rich Akt substrate 40 kDa), a w skład mTORC2 białka Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR) i mSin1 (mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1) [25,41,62,77].

Kompleks mTORC1 jest bardzo wrażliwy na rapamycynę (sirolimus) i odgrywa główną rolę w regulacji autofagii, wzrostu, proliferacji, przeżycia i ruchliwości komórek przez fosforylację dwóch najlepiej scharakteryzowanych cząsteczek docelowych: kinazy rybosomalnej S6 (S6K1) oraz białka wiążącego eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E (4E-BP1), co promuje translację mRNA i biogenezę rybosomów [31,41,42].

Rapamycyna, pierwszy zdefiniowany inhibitor mTORC1, przez swoiste i silne zahamowanie mTOR w wyniku tworzenia kompleksu z białkiem FKBP12 (FK506-binding protein) wstrzymuje progresję cyklu komórkowego, wzrost i proliferację komórek [11,33]. Dokładny mechanizm, przez który rapamycyna osłabia sygnalizację mTOR nie jest znany. Uważa się, że kompleks rapamycyna-FKBP12 może hamować funkcje mTOR przez inhibicję oddziaływania Raptor z mTOR i przez to zaburzać połączenia mTORC1 ze swoistymi substratami [58].

Kompleks mTORC2 w zasadzie nie jest hamowany przez rapamycynę i odpowiada za regulację cytoskietetu aktywnego oraz aktywność kinaz PKCa i Akt [63,65]. Szczególnie istotne wydaje się odkrycie, iż mTORC2 odgrywa krytyczną rolę w aktywacji Akt, jednej z najważniejszych kinaz prożyciowych, przez jej bezpośrednią fosforylację

na serynie 473 (S473) [65]. Aktywna Akt reguluje różne procesy komórkowe w tym wzrost, proliferację, cykl komórkowy, apoptozę i metabolizm glukozy [54].

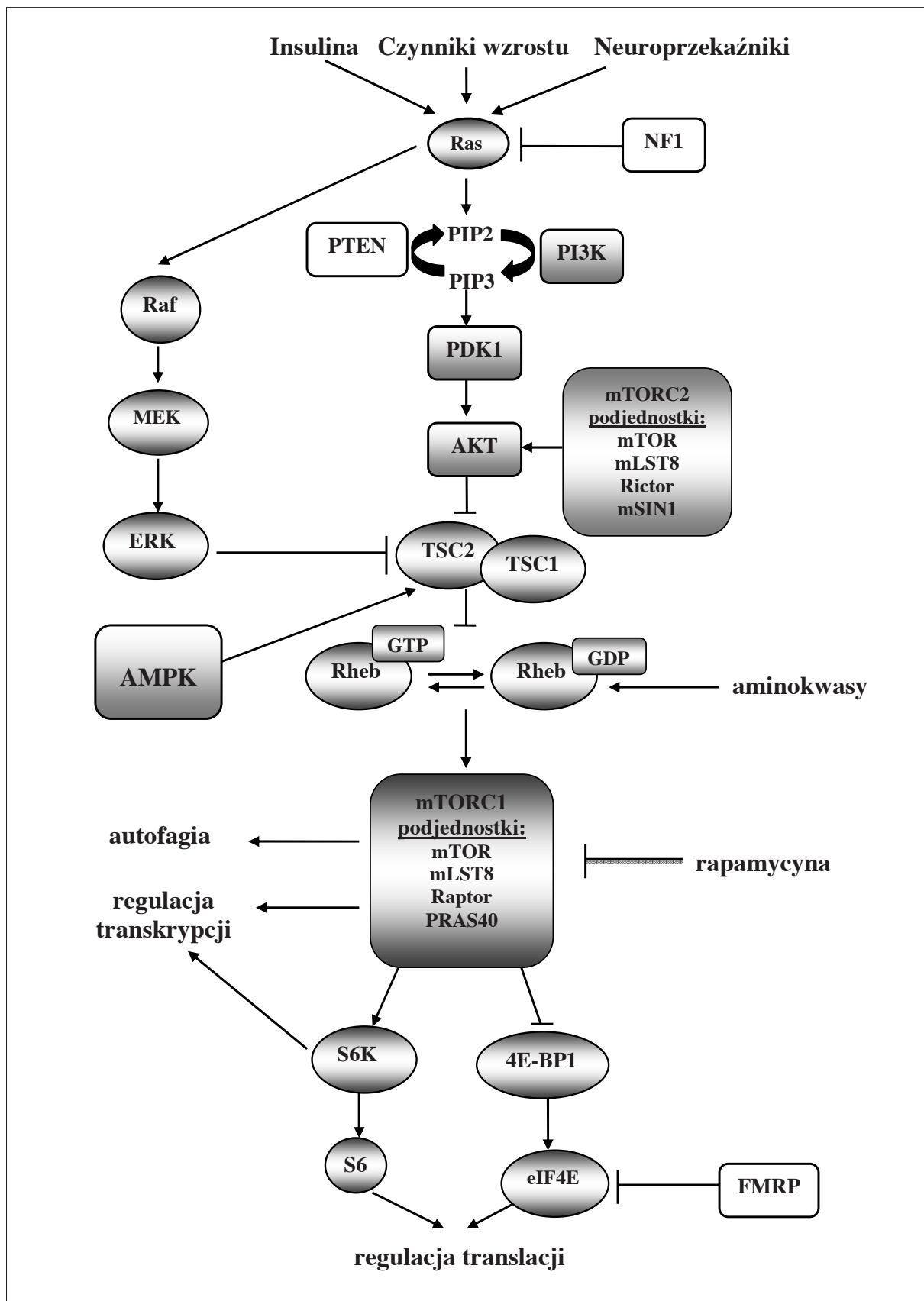
Zakładano, że rapamycyna nie wpływa na aktywność kompleksu mTORC2, dzięki czemu można farmakologicznie rozróżnić aktywność mTORC1 i mTORC2. Jednak szczegółowe badania wykazały, że długotrwale podawana rapamycyna w wielu typach komórek hamuje formowanie kompleksu mTORC2 i redukuje jego stężenie poniżej niezbędnego do utrzymania sygnalizacji Akt/PKB (zob. niżej) [66].

Specyficzność działania kompleksów mTORC1 wobec substratów docelowych S6K i 4E-BP1 oraz mTORC2 wobec Akt zwiększa obecność zawartych w nich białek Raptor i Rictor, odpowiednio dla mTORC1 i mTORC2 [41,65].

Najlepiej poznanym szlakiem prowadzącym do pobudzenia sygnalizacji mTORC1 jest szlak kinazy PI3K stymulowany przez insulinę, czynniki wzrostu, mitogeny, a w przypadku OUN również neuroprzekazniki [23,60] (ryc. 1).

W odpowiedzi na związanie liganda transbłonowy receptor z aktywnością kinazy tyrozynowej, aktywowany przez autofosforylację na wielu resztach tyrozynowych, fosforyluje białka adaptorowe zawierające domenę SHC (Src homology/collagen homology) oraz małe białko G - Ras [72]. Rekrutacja w tych warunkach podjednostki regulatorowej p85 PI3K powoduje zmiany konformacyjne i aktywację podjednostki katalitycznej p110, co powoduje pełną aktywację enzymu [72]. Aktywna kinaza PI3K katalizuje konwersję fosfatydyloinozytolu-4,5-difosforanu (PIP2) do fosfatydyloinozytolu-3,4,5-trifosforanu (PIP3). Ten etap jest negatywnie regulowany przez fosfatazę PTEN (phosphatase and tensin homolog on chromosome ten), która może odwrócić skutki działania PI3K katalizując reakcję odłączenia grupy fosforanowej od PIP3 [13]. Wzrost wewnątrzkomórkowego wytwarzania PIP3 przez PI3K wpływa na przemieszczenie się do błony komórkowej kinazy białkowej zależnej od fosfatydyloinozytolu (PDK1) oraz kinazy Akt. Aktywacja tej ostatniej zachodzi za pośrednictwem fosforylacji dwóch aminokwasów - treoniny 308 (Thr308) przez PDK1 i seryny 473 (S473) przez kompleks mTORC2.

Aktywna kinaza Akt hamuje przez fosforylację aktywność kompleksu białek hamartyny (TSC1) i tuberyny (TSC2) (tuberous sclerosis complex, TSC1/TSC2), głównego inhibitora szlaku sygnałowego mTOR, przez bezpośrednią fosforylację TSC2 [17]. Inaktywacja kompleksu TSC1/TSC2 skutkuje osłabieniem aktywności GTP-azowej małego białka G - Rheb (Ras homolog enriched in brain). Jak wykazały liczne badania *in vivo* i *in vitro*, to właśnie białko Rheb związane z GTP jest silnym stymulatorem kinazy mTOR [60]. Ale oprócz szlaku insulinowego, kinaza mTOR może także ulegać aktywacji przez aminokwasy w podobnym mechanizmie polegającym na osłabieniu GTP-azowej aktywności białka Rheb [14].



Ryc. 1. Szlak sygnałowy mTOR; → aktywacja, ⊥ blokowanie

Badania ostatnich lat jednoznacznie wskazują także, iż zahamowanie kompleksu TSC1/TSC2 jest możliwe przez szlak sygnałowy kinaz MAP (mitogen - activated protein) [53]. Aktywne białko Ras pobudzając kaskadę sygnalizacyjną Raf-MEK1/2-Erk1/2, prowadzi do fosforylacji TSC2 przez Erk1/2, a w rezultacie do aktywacji mTOR i nasilenia translacji [53].

Pozytywna regulacja mTOR, zachodząca przez modulację aktywności kompleksu TSC1/TSC2 ostatecznie powoduje wzrost fosforylacji białek S6K1 i 4E-BP1, najlepiej opisanych efektorów mTOR. Aktywowana S6K1 przez fosforylację proteiny S6 zwiększa wydajność translacji populacji mRNA mających na swoim końcu 5' łańcuch polipirymidynowy (5' TOP mRNA), zwłaszcza liczbę transkryptów kodujących białka rybosomalne oraz czynniki translacyjne (eEF1A, eIF3, eIF4B) [35,38,66]. Także fosforylacja 4E-BP1 przez mTOR aktywuje translację na skutek uwolnienia białka eIF4E od swoistego inhibitora, jakim jest 4E-BP1, umożliwiając aktywację czynnika translacyjnego eIF4E przez asocjację z eIF4G i eIF4A, i utworzenie kompleksu inicjacyjnego [12].

Odwrotny skutek wobec kinaz Akt i Erk1/2 na aktywność mTOR wywiera kinaza aktywowana AMP (AMPK), której aktywacja hamuje sygnalizację zależną od mTOR (ryc. 1). AMPK reguluje szlaki metaboliczne włączając procesy wytwarzające energię, a wyłączając procesy ją zużywające optymalizując tym samym wewnątrzkomórkowe procesy energetyczne i pozwalając przetrwać okresy stresu komórkowego [70]. Wzrastający komórkowy poziom AMP lub (w mniejszym stopniu) spadek wytwarzania ATP prowadzi do aktywacji AMPK w wyniku fosforylacji treoniny 172 (Thr172) przez kinazy nadrzędne, do których należą serynowo-treoninowa kinaza 11 (LKB1) i kinaza kinaz kalmodulino-zależnych (CaMKK) [70]. Aktywna AMPK hamuje kompleks mTORC1 przez bezpośrednią fosforylację co najmniej dwóch białek: TSC2 na resztkach serynowych różnych od miejsc docelowych innych kinaz oraz składowej kompleksu mTORC1 - białka Raptor [52].

### **CHOROBY GENETYCZNE Z ZABURZONĄ SYGNALIZACJĄ mTOR A ASD**

Do chorób o podłożu genetycznym związanych z deregulacją ścieżki sygnałowej mTOR, w których znacząco zwiększa się ryzyko ASD należą: stwardnienie guzowate (TS), zespół łamliwego chromosomu X, neurofibromatoza (nerwiakowłóknikowatość) typu I (NF1) oraz choroba Lhermitte'a-Duclos [45].

Stwardnienie guzowate to choroba wielonarządowa z grupy fakomatoz, dziedziczona autosomalnie dominująco i uwarunkowana mutacją z utratą funkcji w genach supresorowych *TSC1* lub *TSC2* [57]. W wyniku mutacji któregoś z genów wyeliminowany zostaje hamujący wpływ kompleksu TSC1/TSC2 na szlak mTOR z powodu braku możliwości inaktywacji kompleksu Rheb-GTP (ryc. 1). Zaburza to podział komórkowy, co sprzyja powstawaniu guzów w mózgu, nerkach, sercu, płucach, gałkach ocznych i skórze [16]. Częstość występowania TS szacuje się na

około 1 na 6000 urodzeń [57]. Ryzyko ASD w TS jest natomiast oceniane na 20-60% [24]. W TS obserwowane są także inne zaburzenia neurologiczne, takie jak padaczka czy dysfunkcje poznawcze [3].

Wyniki kilku badań klinicznych dostarczyły dowodów na związek TS z fenotypem autystycznym. Bolton i Griffits wykazali korelację między umiejscowieniem guzów w płacie skroniowym a symptomatologią ASD [8]. Guzy typu hamartoma znalezione w korowych i podkorowych częściach mózgu chorych na TS i scharakteryzowano jako malformacje rozwojowe [8]. Weber i wsp. opisali związek między guzami w mózdku a fenotypem ASD w TS [73]. Obserwacje te potwierdziły badania neuroobrazowe z użyciem pozytonowej tomografii emisyjnej (PET), w których stwierdzono, że wzrost metabolizmu glukozy w jądrach głębokich mózdku oraz nasilenie wychwytu alfa-[<sup>11</sup>C]metylo-L-tryptofanu w jądrze ogoniastym są skorelowane z zachowaniem stereotypowym i zaburzeniem interakcji społecznych [2].

Przyczyną zespołu łamliwego chromosomu X jest mutacja genu *FMR1* i związane z nią zależne od mTOR zaburzenia biosyntezy białek. Białko FMRP, kodowane przez gen *FMR1*, reguluje procesy translacji wspólnie z S6K1 i 4E-BP1 – końcowymi białkami efektorami szlaku mTOR [36] (ryc. 1). Charakterystyczne dla tej choroby są cechy wyglądu zewnętrznego (m.in. pociągła twarz, wypukłe czoło, odstające małżowiny uszne, duży obwód czaszki, makrochidyzm), liczne schorzenia dodatkowe (zaburzenia rytmu serca, padaczka, przewlekłe zapalenie zatok, zaburzenia nastroju) oraz upośledzenie umysłowe i ASD [59]. Występowanie autyzmu w zespole łamliwego chromosomu X wynosi 15-30% [53].

NF1 jest chorobą jednogenną o zwiększonym ryzyku ASD należąca (podobnie jak TS) do grupy fakomatoz. Jej podłożem jest heterozygotyczna mutacja w genie *NF1* kodującym neurofibrominę 1 - białko aktywujące GTP, które mając zdolność osłabiania sygnalizacji Ras/MAPK reguluje szlak mTOR [37]. Na skutek mutacji dochodzi do zniesienia hamującego działania neurofibrominy 1 na szlak sygnałowy Ras/MAPK, co powoduje zahamowanie TSC2 i niekontrolowaną aktywację szlaku mTOR (ryc. 1). Skutkiem klinicznym są liczne nerwiakowłókniki, guzy wewnątrzczaszkowe i inne nowotwory o umiejscowieniu pozaczaszkowym, a także zmiany w obrębie kości i gałek ocznych [34]. Częstość występowania NF1 szacuje się na około 1 na 3000 urodzeń [50]. Charakterystycznymi objawami w NF1 są także zaburzenia neuropsychiatryczne, w tym ASD, które występuje u około 4% chorych [15,50].

Choroba Lhermitte'a-Duclos (dysplastyczny zwojak mózdku) jest rzadkim schorzeniem genetycznym zaliczanym obecnie do zespołów guzów hamartomatycznych związanych z mutacjami genu *PEN* [48]. Mutacja powoduje ograniczenie aktywności supresorowej białka *PEN* wobec kinazy PI3K, co powoduje nadmierną aktywację szlaku mTOR [51]. Objawy chorobowe związane z powolnie rosnącym guzem mózdku to przede wszystkim upo-

śledzenie umysłowe, ataksja i drżenie [21]. Ocenia się, iż mutacja genu *PTEN* (w tym w przebiegu choroby Lhermitte'a-Duclosa) może stanowić podłoże genetyczne u około 1% chorych z ASD [10].

### KONSEKWENCJE NEUROBIOLOGICZNE ZABURZEŃ SYGNALIZACJI mTOR I ICH ZNACZENIE DLA ASD

Podstawowym pytaniem pozostaje jak zaburzenia w sygnalizacji szlaku mTOR wpływają na rozwój objawów ze spektrum autystycznego. Wiadomo, iż szlak ten jest zaangażowany w regulację licznych procesów komórkowych zarówno w rozwijającym się, jak i dojrzałym mózgu. Ze względu na udział ścieżki sygnałowej mTOR w proliferacji komórek, synaptogenezie, wzroście dendrytów i aksonów - zmiany w jej obrębie mogą prowadzić do wytworzenia nieprawidłowych połączeń neuronalnych i tym samym do zaburzeń behawioralnych typowych dla ASD [27,46].

Na istotne znaczenie szlaku mTOR dla patogenezy ASD wskazuje występowanie makrocefalii u 10-30% dzieci z tym zaburzeniem. Obwód głowy, prawidłowy przy urodzeniu, powiększa się nieproporcjonalnie w ciągu pierwszych czterech lat życia [49]. Współwystępowanie makrocefalii i autyzmu opisano dla wszystkich wymieniowanych w poprzednim rozdziale chorób uwarunkowanych genetycznie [75]. Związek ten potwierdzają także obserwacje u myszy z mutacją w genie *PTEN* zaburzeń neurologicznych, zmian behawioralnych i makrocefalii podobnych do ASD u ludzi [80]. Makrocefalię i znaczne deficyty neurologiczne obserwowano u myszy z homozygotyczną neuronalnoswoistą delecją *Tsc1* [19,20]. Wykazano także, iż delecja genu *Tsc1* u myszy prowadzi do hipertrofii neuronów, zmniejszenia gęstości kolców dendrytycznych i powiększenia dendrytów [69].

Delecja *Tsc2* przejawia się natomiast obniżeniem plastyczności synaps w obrębie hipokampa, co jest niezwykle istotne ze względu na rolę jaką odgrywa szlak mTOR w zależnej od syntezy białek późnej fazie długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP) [69]. Obecnie uważa się, iż w rozwoju ASD u osób z mutacją w genach *TSC1/TSC2* lub *PTEN* ma znaczenie nieprawidłowy kształt i wielkość neuronów oraz zaburzenia synaptyczne, a nie jak wcześniej sądzono guzy OUN [47,69].

Powszechnym objawem klinicznym u chorych z ASD jest padaczka, której przyczyny upatruje się także w zaburzeniu sygnalizacji mTOR. U myszy z homozygotyczną delecją genu *Tsc1* w astrocytach obserwowano drgawki i zaburzenia behawioralne w 1-2 miesiącu życia, a śmierć zwierząt następowała między trzecim a szóstym miesiącem [71]. Delecja ta powodowała zaburzenie funkcji astrocytów związane ze zmniejszeniem ekspresji glejowego transportera glutaminianu 1 (Glt-1). Następstwem był znaczny wzrost zewnątrzkomórkowego stężenia glutaminianu przyczyniający się do wystąpienia drgawek [76].

Fenotyp zespołu łamliwego chromosomu X obejmuje m.in. niepełnosprawność intelektualną [30]. Białko FMRP,

produkt genu *Fmr1*, jest zaangażowane w regulację syntezy białek przekazujących sygnał do komórki od metabolitów receptorów glutaminianergicznych (mGluR). Pośrednio FMRP kontroluje w ten sposób morfologię kolców dendrytycznych i funkcje synaps [6].

W patofizjologii zespołu łamliwego chromosomu X (w tym zaburzeń poznawczych) podstawową rolę wydaje się odgrywać nasilone przekazywanie przez receptory mGluR grupy 1 [7]. Wykazano bowiem, że mutacja zarodkowa *mGluR5* u myszy ze znokautowanym genem *Fmr1* (KO) zapobiega wielu behawioralnym i fizjologicznym cechom fenotypowym, charakterystycznym dla tej choroby. U zwierząt *Fmr1* KO stwierdzono odhamowanie sygnalizacji mTOR w hipokampie będące (przynajmniej w części) skutkiem zwiększonej translacji mRNA kodującego podjednostkę katalityczną p110 kinazy PI3K - regulatora szlaku mTOR [67].

Upośledzenie poznawcze oraz brak zdolności do uczenia się charakterystyczne dla ASD są także częstym problemem u chorych z NF1 [34,50]. Costa i wsp. obserwowali u myszy z heterozygotyczną delecją genu *Nf1* (*Nf1*<sup>-/-</sup>) deficyty pamięci przestrzennej oraz upośledzenie uwagi i funkcji wykonawczych [15]. Autorzy sugerują, iż brak zdolności uczenia się w przebiegu NF1 jest spowodowany nadmierną aktywnością białka Ras, która prowadzi do osłabienia LTP i nasilenia hamowania GABA-ergicznego.

### POTENCJALNE ZASTOSOWANIE INHIBITORÓW SZLAKU mTOR W TERAPII ASD

Wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach transgenicznym wskazują na związek mutacji genów *TSC1/2*, *FMR1*, *PTEN* i *NF1*, których produkty białkowe są zaangażowane w regulację szlaku mTOR, z fenotypem autystycznym. Wykazano także, iż objawy patologiczne typowe dla ASD mogą zostać złagodzone przez zastosowanie inhibitorów mTOR, nawet jeśli leczenie wdrożono u zwierząt dorosłych. Odkrycia te mogą mieć istotne implikacje praktyczne w leczeniu autyzmu wtórnego, o znanym podłożu genetycznym, spowodowanego zmianami w sygnalizacji mTOR.

Najbardziej znanym inhibitorem szlaku mTOR jest rapamycyna - naturalny antybiotyk makrolidowy syntetyzowany przez *Streptomyces hygroscopicus*. Klinicznie rapamycyna jest stosowana w transplantologii w celu zapobiegania odrzucenia przeszczepów nerek oraz do powlekania stenów używanych w zabiegach angioplastyki tętnic wieńcowych [78].

Jednym z aspektów badań podstawowych i klinicznych nad rapamycyną jest ocena jej wpływu na łagodzenie objawów ASD w chorobach uwarunkowanych genetycznie związanych z zaburzeniem sygnalizacji mTOR. U myszy *Tsc1*<sup>+/-</sup> i *Tsc2*<sup>+/-</sup> traktowanych rapamycyną obserwowano cofanie się zaburzeń w uczeniu się i zapamiętywaniu, poprawę zachowań społecznych, dłuższe przeżycie oraz zmniejszenie wielkości mózgu [19,20,28]. Także u myszy

z mutacją w genie *PTEN* po podaniu rapamycyny zauważono, że jej podanie we wczesnym okresie życia zapobiega rozwojowi zaburzeń zachowań społecznych i stanów lękowych [15,80]. Ponadto, Kwon i wsp. u myszy z całkowitym knockoutem genu *PTEN* wykazali, że rapamycyna zapobiega makrocefalii i hipertrofii neuronów, co w efekcie skutkuje osłabieniem zaburzeń behawioralnych typowych dla mutacji genu *PTEN* [47].

Uwagę zwraca też pośrednie działanie przeciwdrgawkowe rapamycyny wynikające ze zwiększenia poziomu transportera GluT-1 na astrocytach. U myszy z homozygotyczną glejowoswoistą delecją *Tsc1* podanie rapamycyny na wczesnym etapie życia wstrzymywało rozwój epilepsji. Natomiast traktowanie lekiem zwierząt dojrzałych zapobiegało drgawkom i wydłużało ich przeżycie [79]. Planowane i przeprowadzane są dalsze badania (w tym kliniczne) nad oceną wpływu rapamycyny na zaburzenia poznawcze, behawioralne i neurologiczne, głównie w TS [18].

Pochodną rapamycyny o podobnym działaniu jest ewerolimus (RAD001), również hamujący kinazę mTOR. Ewerolimus ma korzystniejsze właściwości farmakokinetyczne w porównaniu do rapamycyny: większą biodostępność i krótszy okres półtrwania. Jest stosowany w transplantologii jako lek immunosupresyjny zapobiegający odrzucaniu przeszczepu [43]. Obecnie są prowadzone prace nad potencjalnymi, innymi jego zastosowaniami. W styczniu 2011 r. rozpoczęto próby kliniczne w Szpitalu Dziecięcym w Bostonie (Children's Boston Hospital) oceniające m.in. wpływ ewerolimusa na objawy spektrum autystycznego

u chorych na TS. Planowany termin zakończenia badań to czerwiec 2013 r.

Przeprowadzono także pierwsze badanie kliniczne nad ASD w zespole łamliwego chromosomu X mające na celu ocenę czy korekta zaburzeń zachodzących na poziomie molekularnym powoduje poprawę funkcjonalną u ludzi. Testowano wpływ inhibitora receptora mGluR5 – fenobamu – na fenotyp neurologiczny zespołu łamliwego chromosomu X. Wyniki badania w otwartej pilotowej próbie po podaniu pojedynczej dawki fenobamu sugerują zmniejszenie deficytów neurologicznych [29,34]. Istotnymi ograniczeniami w tym badaniu są jednak mała liczebność grup oraz brak grupy kontrolnej z placebo. Mimo to, zachęcające wyniki badań pilotowych stanowiły wystarczającą podstawę do podjęcia kolejnych prób klinicznych w celu określenia czy inhibitory mGluR5 mogą mieć korzystny wpływ na objawy ASD w tej grupie chorych.

## PODSUMOWANIE

Przedstawione dane wskazują, że dysregulacja sygnalizacji mTOR może się przyczyniać do rozwoju zaburzeń ze spektrum autystycznego. Dotychczasowe wyniki badań z użyciem inhibitorów szlaku mTOR zapowiadają się obiecująco i dają nadzieję na możliwość leczenia przyczynowego zaburzeń neurobehawioralnych występujących w chorobach związanych z mutacjami genów zaburzającymi prawidłowe jego funkcjonowanie. Niewyjaśnioną kwestią pozostaje czy zaburzenia szlaku mTOR występują również w przypadkach ASD niezwiązanych z mutacjami genetycznymi *TSC1/2*, *PTEN*, *NF1* czy *FMR1*.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed., text revision. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000
- [2] Asano E., Chugani D.C., Muzik O., Behen M., Janisse J., Rothermel R., Mangner T.J., Chakraborty P.K., Chugani H.T.: Autism in tuberous sclerosis complex is related to both cortical and subcortical dysfunction. *Neurology*, 2001; 57: 1269-1277
- [3] Asato M.R., Hardan A.Y.: Neuropsychiatric problems in tuberous sclerosis complex. *J. Child Neurol.*, 2004; 19: 241-249
- [4] Avruch J., Lin Y., Long X., Murthy S., Ortiz-Vega S.: Recent advances in the regulation of the TOR pathway by insulin and nutrients. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2005; 8: 67-72
- [5] Bailey A., Le Couteur A., Gottesman I., Bolton P., Simonoff E., Yuzda E., Rutter M.: Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol. Med.*, 1995; 25: 63-77
- [6] Bassell G.J., Warren S.T.: Fragile X syndrome: loss of local mRNA regulation alters synaptic development and function. *Neuron*, 2008; 60: 201-214
- [7] Bear M.F., Huber K.M., Warren S.T.: The mGluR theory of fragile X mental retardation. *Trends Neurosci.*, 2004; 27: 370-377
- [8] Bolton P.F., Griffiths P.D.: Association of tuberous sclerosis of temporal lobes with autism and atypical autism. *Lancet*, 1997; 349: 392-395
- [9] Bryson S.E., Rogers S.J., Fombonne E.: Autism spectrum disorders: early detection, intervention, education, and psychopharmacological management. *Can. J. Psychiatry*, 2003; 48: 506-516
- [10] Butler M.G., Dasouki M.J., Zhou X.P., Talebizadeh Z., Brown M., Takahashi T.N., Miles J.H., Wang C.H., Stratton R., Pilarski R., Eng C.: Subset of individuals with autism spectrum disorders and extreme macrocephaly associated with germline *PTEN* tumour suppressor gene mutations. *J. Med. Genet.*, 2005; 42: 318-321
- [11] Chen J., Zheng X.F., Brown E.J., Schreiber S.L.: Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 4947-4951
- [12] Choo A.Y., Yoon S.O., Kim S.G., Roux P.P., Blenis J.: Rapamycin differentially inhibits S6Ks and 4E-BP1 to mediate cell-type-specific repression of mRNA translation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 17414-17419
- [13] Chu E.C., Tarnawski A.S.: *PTEN* regulatory functions in tumor suppression and cell biology. *Med. Sci. Monit.*, 2004; 10: RA235-RA241
- [14] Codogno P., Meijer A.J.: Autophagy and signaling: their role in cell survival and cell death. *Cell Death Differ.*, 2005; 12 (Suppl. 2): 1509-1518
- [15] Costa R.M., Federov N.B., Kogan J.H., Murphy G.G., Stern J., Ohno M., Kucherlapati R., Jacks T., Silva A.J.: Mechanism for the learning deficits in a mouse model of neurofibromatosis type 1. *Nature*, 2002; 415: 526-530

- [16] Crino P.B., Nathanson K.L., Henske E.P.: The tuberous sclerosis complex. *N. Engl. J. Med.*, 2006; 355: 1345-1356
- [17] Dan H.C., Sun M., Yang L., Feldman R.I., Sui X.M., Ou C.C., Nellist M., Yeung R.S., Halley D.J., Nicosia S.V., Pledger W.J., Cheng J.Q.: Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates tuberous sclerosis tumor suppressor complex by phosphorylation of tuberin. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 35364-35370
- [18] de Vries P.J.: Targeted treatments for cognitive and neurodevelopmental disorders in tuberous sclerosis complex. *Neurotherapeutics*, 2010; 7: 275-282
- [19] Ehninger D., Han S., Shilyansky C., Zhou Y., Li W., Kwiatkowski D.J., Ramesh V., Silva A.J.: Reversal of learning deficits in a *Tsc2*<sup>+/-</sup> mouse model of tuberous sclerosis. *Nat. Med.*, 2008; 14: 843-848
- [20] Ehninger D., Silva A.J.: Rapamycin for treating tuberous sclerosis and autism spectrum disorders. *Trends Mol. Med.*, 2011; 17: 78-87
- [21] Eng C.: Will the real Cowden syndrome please stand up: revised diagnostic criteria. *J. Med. Genet.*, 2000; 37: 828-830
- [22] Fingar D.C., Blenis J.: Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene*, 2004; 23: 3151-3171
- [23] Fombonne E.: The prevalence of autism. *JAMA*, 2003; 289: 87-89
- [24] Fombonne E.: Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: an update. *J. Autism Dev. Disord.*, 2003; 33: 365-382
- [25] Frias M.A., Thoreen C.C., Jaffe J.D., Schroder W., Sculley T., Carr S.A., Sabatini D.M.: *mSin1* is necessary for Akt/PKB phosphorylation, and its isoforms define three distinct mTORC2s. *Curr. Biol.*, 2006; 16: 1865-1870
- [26] Gawęda A., Janas Kozik M.: Autyzm w rozumieniu teorii umysłu. *Neuroscience Fakty*, 2012; 3: 40-47
- [27] Geschwind D.H., Levitt P.: Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2007; 17: 103-111
- [28] Goorden S.M., van Woerden G.M., van der Weerd L., Cheadle J.P., Elgersma Y.: Cognitive deficits in *Tsc1*<sup>+/-</sup> mice in the absence of cerebral lesions and seizures. *Ann. Neurol.*, 2007; 62: 648-655
- [29] Gross C., Berry-Kravis E.M., Bassell G.J.: Therapeutic strategies in fragile X syndrome: dysregulated mGluR signaling and beyond. *Neuropsychopharmacology*, 2012; 37: 178-195
- [30] Hagerman R.J., Hagerman P.J.: The fragile X premutation: into the phenotypic fold. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2002; 12: 278-283
- [31] Hara K., Maruki Y., Long X., Yoshino K., Oshiro N., Hidayat S., Tokunaga C., Avruch J., Yonezawa K.: Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action. *Cell*, 2002; 110: 177-189
- [32] Harris T.E., Lawrence J.C.Jr.: TOR signaling. *Sci STKE*, 2003; 2003: re15
- [33] Huang S., Bjornsti M.A., Houghton P.J.: Rapamycins: mechanism of action and cellular resistance. *Cancer Biol. Ther.*, 2003; 2: 222-232
- [34] Hyman S.L., Shores A., North K.N.: The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1. *Neurology*, 2005; 65: 1037-1044
- [35] Jefferies H.B., Reinhard C., Kozma S.C., Thomas G.: Rapamycin selectively represses translation of the "polypyrimidine tract" mRNA family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 4441-4445
- [36] Jin P., Warren S.T.: New insights into fragile X syndrome: from molecules to neurobehaviors. *Trends Biochem. Sci.*, 2003; 28: 152-158
- [37] Johannessen C.M., Reczek E.E., James M.F., Brems H., Legius E., Cichowski K.: The NF1 tumor suppressor critically regulates TSC2 and mTOR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 8573-8578
- [38] Józwiak P., Lipińska A.: Rola transportera glukozy 1 (GLUT1) w diagnostyce i terapii nowotworów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 165-174
- [39] Kanner L.: Autistic disturbances of affective contact. *Nerv. Child*, 1943; 2: 217-250
- [40] Keith C.T., Schreiber S.L.: PIK-related kinases: DNA repair, recombination, and cell cycle checkpoints. *Science*, 1995; 270: 50-51
- [41] Kim D.H., Sarbassov D.D., Ali S.M., King J.E., Latek R.R., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Sabatini D.M.: mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell*, 2002; 110: 163-175
- [42] Kim D.H., Sarbassov D.D., Ali S.M., Latek R.R., Guntur K.V., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Sabatini D.M.: GβL, a positive regulator of the rapamycin-sensitive pathway required for the nutrient-sensitive interaction between raptor and mTOR. *Mol. Cell*, 2003; 11: 895-904
- [43] Kirchner G.I., Meier-Wiedenbach I., Manns M.P.: Clinical pharmacokinetics of everolimus. *Clin. Pharmacokin.*, 2004; 43: 83-95
- [44] Kost A., Kasprowska D., Labuzek K., Wiaderekiewicz R., Gabryel B.: Autofagia w niedokrwieniu mózgu. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 524-533
- [45] Kumar R.A., Christian S.L.: Genetics of autism spectrum disorders. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 2009; 9: 188-197
- [46] Kumar V., Zhang M.X., Swank M.W., Kunz J., Wu G.Y.: Regulation of dendritic morphogenesis by Ras-PI3K-Akt-mTOR and Ras-MAPK signaling pathways. *J. Neurosci.*, 2005; 25: 11288-11299
- [47] Kwon C.H., Luikart B.W., Powell C.M., Zhou J., Matheny S.A., Zhang W., Li Y., Baker S.J., Parada L.F.: Pten regulates neuronal arborization and social interaction in mice. *Neuron*, 2006; 50: 377-388
- [48] Lachlan K.L., Lucassen A.M., Bunyan D., Temple I.K.: Cowden syndrome and Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome represent one condition with variable expression and age-related penetrance: results of a clinical study of PTEN mutation carriers. *J. Med. Genet.*, 2007; 44: 579-585
- [49] Lainhart J.E., Bigler E.D., Bocian M., Coon H., Dinh E., Dawson G., Deutsch C.K., Dunn M., Estes A., Tager-Flusberg H., Folstein S., Hepburn S., Hyman S., McMahon W., Minshew N. i wsp.: Head circumference and height in autism: a study by the Collaborative Program of Excellence in Autism. *Am. J. Med. Genet. A*, 2006; 140: 2257-2274
- [50] Laycock-van Spyk S., Thomas N., Cooper D.N., Upadhyaya M.: Neurofibromatosis type 1-associated tumours: their somatic mutational spectrum and pathogenesis. *Hum. Genomics*, 2011; 5: 623-690
- [51] Levitt P., Campbell D.B.: The genetic and neurobiologic compass points toward common signaling dysfunctions in autism spectrum disorders. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 747-754
- [52] Li J., McCullough L.D.: Effects of AMP-activated protein kinase in cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2010; 30: 480-492
- [53] Ma L., Chen Z., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Pandolfi P.P.: Phosphorylation and functional inactivation of TSC2 by Erk implications for tuberous sclerosis and cancer pathogenesis. *Cell*, 2005; 121: 179-193
- [54] Manning B.D., Cantley L.C.: AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*, 2007; 129: 1261-1274
- [55] Muhle R., Trentacoste S.V., Rapin I.: The genetics of autism. *Pediatrics*, 2004; 113: e472-e486
- [56] O'Roak B.J., State M.W.: Autism genetics: strategies, challenges, and opportunities. *Autism Res.*, 2008; 1: 4-17
- [57] Osborne J.P., Fryer A., Webb D.: Epidemiology of tuberous sclerosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1991; 615: 125-127
- [58] Oshiro N., Yoshino K., Hidayat S., Tokunaga C., Hara K., Eguichi S., Avruch J., Yonezawa K.: Dissociation of raptor from mTOR is



a mechanism of rapamycin-induced inhibition of mTOR function. *Genes Cells*, 2004; 9: 359-366

- [59] Penagarikano O., Mulle J.G., Warren S.T.: The pathophysiology of fragile x syndrome. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2007; 8: 109-129
- [60] Perycz M., Świech Ł., Malik A., Jaworski J.: mTOR w fizjologii i patologii układu nerwowego. *Postępy Biol. Kom.*, 2007; 34: 511-525
- [61] Reiling J.H., Sabatini D.M.: Stress and mTOR signaling. *Oncogene*, 2006; 25: 6373-6383
- [62] Sancak Y., Thoreen C.C., Peterson T.R., Lindquist R.A., Kang S.A., Spooner E., Carr S.A., Sabatini D.M.: PRAS40 is an insulin-regulated inhibitor of the mTORC1 protein kinase. *Mol. Cell*, 2007; 25: 903-915
- [63] Sarbassov D.D., Ali S.M., Kim D.H., Guertin D.A., Latek R.R., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Sabatini D.M.: Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Curr. Biol.*, 2004; 14: 1296-1302
- [64] Sarbassov D.D., Ali S.M., Sengupta S., Sheen J.H., Hsu P.P., Bagley A.F., Markhard A.L., Sabatini D.M.: Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB. *Mol. Cell*, 2006; 22: 159-168
- [65] Sarbassov D.D., Guertin D.A., Ali S.M., Sabatini D.M.: Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*, 2005; 307: 1098-1101
- [66] Shahbazian D., Roux P.P., Mieulet V., Cohen M.S., Raught B., Taunton J., Hershey J.W., Blenis J., Pende M., Sonenberg N.: The mTOR/PI3K and MAPK pathways converge on eIF4B to control its phosphorylation and activity. *EMBO J.*, 2006; 25: 2781-2791
- [67] Sharma A., Hoeffler C.A., Takayasu Y., Miyawaki T., McBride S.M., Klann E., Zukin R.S.: Dysregulation of mTOR signaling in fragile X syndrome. *J. Neurosci.*, 2010; 30: 694-702
- [68] Świech Ł., Perycz M., Malik A., Jaworski J.: Role of mTOR in physiology and pathology of the nervous system. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008; 1784: 116-132
- [69] Tavazoie S.F., Alvarez V.A., Ridenour D.A., Kwiatkowski D.J., Sabatini B.L.: Regulation of neuronal morphology and function by the tumor suppressors Tsc1 and Tsc2. *Nat. Neurosci.*, 2005; 8: 1727-1734
- [70] Towler M.C., Hardie D.G.: AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ. Res.*, 2007; 100: 328-341
- [71] Uhlmann E.J., Wong M., Baldwin R.L., Bajenaru M.L., Onda H., Kwiatkowski D.J., Yamada K., Gutmann D.H.: Astrocyte-specific TSC1 conditional knockout mice exhibit abnormal neuronal organization and seizures. *Ann. Neurol.*, 2002; 52: 285-296
- [72] Valentinis B., Baserga R.: IGF-I receptor signalling in transformation and differentiation. *Mol. Pathol.*, 2001; 54: 133-137
- [73] Weber A.M., Egelhoff J.C., McKellop J.M., Franz D.N.: Autism and the cerebellum: evidence from tuberous sclerosis. *J. Autism Dev. Disord.*, 2000; 30: 511-517
- [74] WHO. The ICD-10 classification of mental and behavioral disorders: diagnostic criteria for research. Geneva: World Health Organization, 1993
- [75] Williams C.A., Dagli A., Battaglia A.: Genetic disorders associated with macrocephaly. *Am. J. Med. Genet. A*, 2008; 146A: 2023-2037
- [76] Wong M., Ess K.C., Uhlmann E.J., Jansen L.A., Li W., Crino P.B., Mennerick S., Yamada K.A., Gutmann D.H.: Impaired glial glutamate transport in a mouse tuberous sclerosis epilepsy model. *Ann. Neurol.*, 2003; 54: 251-256
- [77] Wullschlegel S., Loewith R., Hall M.N.: TOR signaling in growth and metabolism. *Cell*, 2006; 124: 471-484
- [78] Yakupoglu Y.K., Kahan B.D.: Sirolimus: a current perspective. *Exp. Clin. Transplant.*, 2003; 1: 8-18
- [79] Zeng L.H., Xu L., Gutmann D.H., Wong M.: Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Ann. Neurol.*, 2008; 63: 444-453
- [80] Zhou H., Luo Y., Huang S.: Updates of mTOR inhibitors. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2010; 10: 571-581
- [81] Zhou J., Blundell J., Ogawa S., Kwon C.H., Zhang W., Sinton C., Powell C.M., Parada L.F.: Pharmacological inhibition of mTORC1 suppresses anatomical, cellular, and behavioral abnormalities in neural-specific Pten knock-out mice. *J. Neurosci.*, 2009; 29: 1773-1783

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.