

mTOR W FIZJOLOGII I PATOLOGII UKŁADU NERWOWEGO

mTOR IN PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY OF THE NERVOUS SYSTEM

Małgorzata PERYCZ*, Łukasz ŚWIECH*, Anna MALIK, Jacek JAWORSKI

Pracownia Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej,
Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej, Warszawa

Streszczenie: Kinaza serynowo-treoninowa – mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*) jest regulatorem tempa wielu procesów wewnątrzkomórkowych w odpowiedzi na sygnały zewnętrzne, dostępność substancji odżywczych oraz informacje o stanie metabolicznym komórki. mTOR w komórkach nerwowych reguluje zarówno przeżywanie, jak i różnicowanie tych komórek. Pośród procesów, których aktywność jest regulowana przez mTOR, można wymienić rozwój drzewa aksonalnego i dendrytycznego, synaptogenezę, plastyczność synaptyczną oraz uczenie się i pamięć. Badania przeprowadzone ostatnio wskazują również, iż nieprawidłowa aktywność mTOR może być jedną z przyczyn licznych neuropatologii, w tym nowotworów oraz chorób neurodegeneracyjnych, takich jak: choroby Alzheimera, Parkinsona i Huntingtona. Celem tego artykułu jest przedstawienie obecnego stanu wiedzy zarówno na temat ścieżek przekazywania sygnału angażujących kinazę mTOR, jak również opisanie jej istotnego udziału w regulacji prawidłowej fizjologii tak różnicującej się, jak i dojrzałej komórki nerwowej oraz zmian jej aktywności obserwowanych w sytuacjach patologicznych w mózgu.

Słowa kluczowe: kinaza mTOR, różnicowanie komórek nerwowych, plastyczność neuronalna, stwardnienie guzowe, choroby neurodegeneracyjne.

Summary: Mammalian target of rapamycin (mTOR) is a serine-threonine protein kinase that regulates rate of several intracellular processes in response to extracellular signals, nutrients availability and energy status of the cell. mTOR regulates survival, differentiation and development of neurons including processes such as development of axon and dendritic arbor and synaptogenesis. In adult brain mTOR is crucial for synaptic plasticity as well as for learning and memory formation. Recent studies show that inappropriate activation of mTOR might be linked to several pathologies of the nervous system including brain tumors and neurodegenerative disorders such as Alzheimer's, Parkinson's and Huntington's diseases. This review presents current knowledge about a role of mTOR in physiology and pathology of the nervous system.

Keywords: mTOR kinase, differentiation of neurons, tumors, neurodegenerative disorders.

* Autorzy wnieśli równy wkład pracy w przygotowanie manuskryptu.

WSTĘP

Białkowa kinaza serynowo-treoninowa – mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*), do niedawna była znana głównie z powodu jej zaangażowania w kontrolę procesów wzrostu i podziału komórki. Dotychczasowe badania wskazują na to, iż rolą mTOR jest regulacja tempa wielu procesów wewnątrzkomórkowych w zależności od stanu metabolicznego komórki, dostępności substancji odżywczych oraz sygnałów zewnątrzkomórkowych, takich jak czynniki troficzne. Badania prowadzone w ciągu ostatnich kilku lat pokazały, iż mTOR reguluje transkrypcję, translację, degradację białek, transport pęcherzyków komórkowych, organizację cytoszkieletu oraz niektóre aspekty metabolizmu mitochondriów [16, 24, 55]. Jednak aktywność kinazy mTOR jest kluczowa nie tylko dla dzielących się komórek. Również funkcjonowanie komórek końcowo zróżnicowanych i nieulegających podziałom, takich jak na przykład komórki nerwowe, jest regulowane przez tę kinazę. mTOR w komórkach nerwowych kontroluje zarówno przeżywanie tych komórek, jak i ich różnicowanie. Ponadto aktywność mTOR jest istotna dla rozwoju drzewa aksonalnego i dendrytycznego oraz synaptogenezy. Prawdopodobnie poprzez swoje zaangażowanie w kontrolę procesu translacji, szczególnie lokalnej, zachodzącej w bliskim sąsiedztwie synaps, kinaza ta jest kluczowa w zjawiskach plastyczności synaptycznej, uczenia się i formowania pamięci.

Celem poniższego artykułu jest przedstawienie obecnego stanu wiedzy na temat szlaków przekazywania sygnału z udziałem kinazy mTOR oraz jej roli w regulacji prawidłowej fizjologii zarówno różnicującej się, jak i dojrzałej komórki nerwowej. Badania przeprowadzone ostatnio wskazują również, iż nieprawidłowa aktywność mTOR może być jedną z przyczyn patologii układu nerwowego, w tym chorób neurodegeneracyjnych.

mTOR I SZLAKI PRZEKAŹNICTWA SYGNAŁU W KOMÓRCIE

Kinaza mTOR jest zaangażowana w regulację wielu istotnych procesów komórkowych. Dlatego też, w ostatnich latach szczególnie intensywnie badane były ścieżki sygnałowe regulujące aktywność tej kinazy, jak i białka docelowe dla mTOR. Kinaza mTOR jest regulowana w odpowiedzi na różnorodne sygnały, takie jak: czynniki wzrostu, hormony, dostępność składników odżywczych i poziom energetyczny komórki oraz czynniki stresogenne, takie jak np. niedotlenienie, szok temperaturowy, uszkodzenia DNA oraz infekcje wirusowe [2, 24, 43, 58, 65]. W przypadku komórek nerwowych do aktywacji mTOR dochodzi również w odpowiedzi na działanie neuroprzekazników, np. glutaminianu [49]. Ważnym narzędziem wykorzystywanym w badaniach nad mTOR jest specyficzny inhibitor tej kinazy – rapamycyna. Związek ten tworzy kompleks z białkiem FKBP12 (*FK506-binding protein*) o aktywności cis-trans izomerazy peptydylo-propylowej, które wiąże się z N-końcową domeną mTOR hamując jej aktywność.

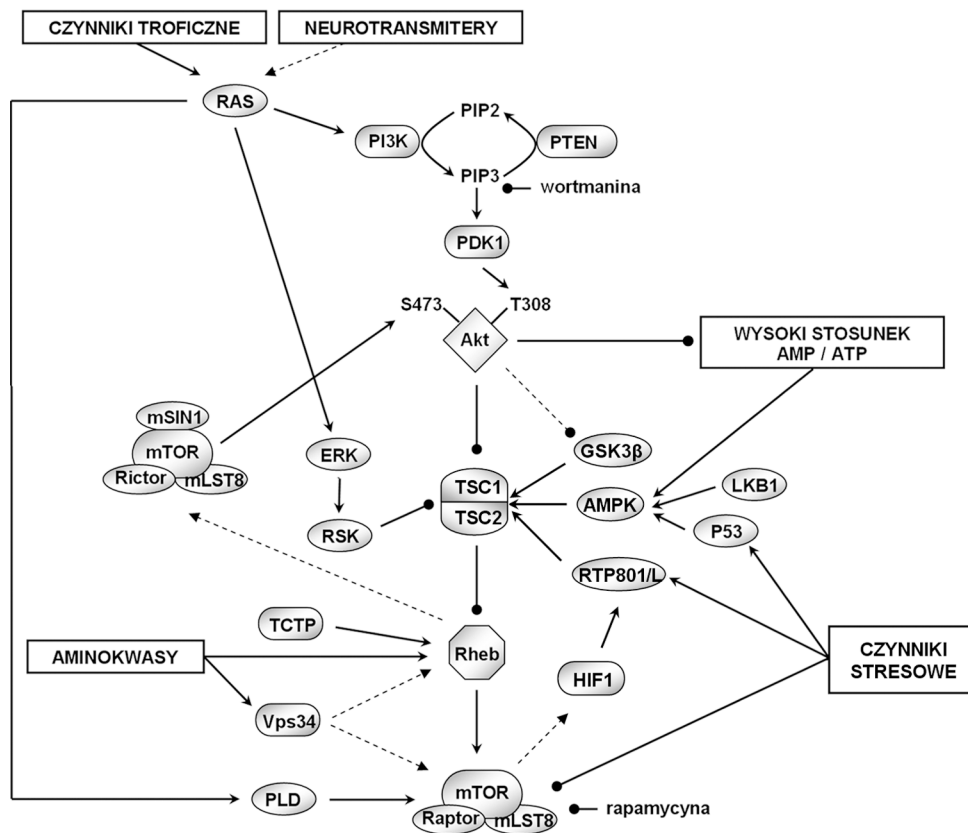
Kompleksy białkowe tworzone przez kinazę mTOR

W komórkach ssaków mTOR tworzy dwa heteromeryczne, funkcjonalnie odrębne kompleksy białkowe (mTORC1 i mTORC2), kontrolujące różne procesy komórkowe. mTORC1 odpowiada głównie za kontrolę transkrypcji, translacji, autofagii, cyklu komórkowego oraz dynamikę mikrotubul. Z kolei mTORC2 reguluje cytoszkielet aktynowy, a także aktywność kinaz białkowych PKC α i Akt [68, 70]. Poza kinazą mTOR stałym składnikiem obu kompleksów jest białko mLST8/G β L (ang. *G protein β -subunit like protein*). Obecność pozostałych białek w kompleksie definiuje go jako mTORC1 lub 2. W skład pierwszego z nich wchodzi białko Raptor (ang. *regulatory associated protein of mTOR*) [22]. Z kolei kompleks mTORC2 zawiera białka Rictor (ang. *rapamycin-insensitive companion of mTOR*) oraz mSin1 [17; 68]. Aktywność tych dwóch kompleksów może być rozróżniona farmakologicznie dzięki zastosowaniu rapamycyny, która hamuje mTORC1, ale nie mTORC2. Należy jednak podkreślić, że długotrwałe podawanie rapamycyny może w sposób pośredni prowadzić do hamowania aktywności mTORC2 [69].

Funkcje białek, wchodzących w skład kompleksów mTOR, nie zostały do końca poznane. Poza mTOR pozostałe białka nie wykazują właściwości katalitycznych [17, 65]. Kim i wsp. [42] wykazali, że obecność stałego składnika obu kompleksów – mLST8/G β L ułatwia interakcje mTOR z innymi białkami. mLST8/G β L zwiększa aktywność mTORC1 w stosunku do kinazy p70S6 (p70S6K) i 4E-BP1 (ang. *4E-binding protein 1*), najlepiej opisanych białek regulowanych przez mTOR, a także ułatwia polimeryzację aktyny w wyniku działania kompleksu mTORC2 [35]. Białko Raptor dzięki obecności domen RNC (ang. *Raptor N-terminal conserved domain*) i HEAT (ang. *Huntingtin, elongation factor 1A, protein phosphatase 2A A-subunit, TOR*) [41] wiąże p70S6K i 4E-BP1, umożliwiając ich fosforylację przez mTOR. Z kolei Rictor zwiększa specyficzność działania mTORC2 wobec kinazy Akt [70].

Ścieżki sygnałowe prowadzące do aktywacji mTOR

Najlepiej dotychczas opisanym szlakiem prowadzącym do aktywacji kinazy mTOR jest szlak kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K)/Akt. Pod wpływem czynników wzrostu, mitogenów oraz hormonów, takich jak np. insulina, uruchomiona zostaje kaskada reakcji indukująca mTOR (ryc.1). Wiązanie liganda (np. insuliny, czynnika neurotroficznego pochodzenia nerwowego – BDNF) do receptora będącego jednocześnie kinazą tyrozynową prowadzi do rekrutacji białek adaptorowych mających domenę SH-2 oraz małego białka G-Ras, co w efekcie aktywuje kinazę PI3K klasy I i zwiększa produkcję fosfatydylo-3-inozytolu (PIP3), co powoduje przemieszczenie się kinaz PDK1 oraz Akt do błony komórkowej i aktywację tej ostatniej przez kinazy PDK1 i 2 [23]. Obecnie wydaje się, że przynajmniej w niektórych komórkach funkcję PDK2 pełni kompleks mTORC2 [27, 70]. Aktywna kinaza Akt hamuje aktywność kompleksu białek hamartyny (TSC1) i tuberyny (TSC2) (ang. *tuberous sclerosis complex*, TSC1/TSC2), przez bezpośrednią fosforylację TSC2 [14, 32, 54]. Aktywne TSC1/TSC2 zwiększa aktywność GTPazową małego białka G-Rheb (ang. *Ras homolog enriched in brain*) indukując hydrolizę związanego z nim GTP i jego inaktywację. Liczne prace omawiające



RYCINA 1. Zaangażowanie mTOR w szlaki przekazywania sygnału w komórce. Ścieżka sygnałowa kinazy mTOR jest regulowana przez czynniki troficzne, stan energetyczny komórki, dostępność aminokwasów i czynniki stresowe, a w przypadku układu nerwowego również przez neurotransmitery. Kluczowym białkiem sygnałowym zaangażowanym w zwiększanie aktywności mTOR jest RAS, które przekazuje sygnał poprzez aktywację PI3K oraz kinazy Akt, jak również przez kinazy ERK i RSK. Aktywność tych kinaz prowadzi do hamowania aktywności kompleksu TSC1/TSC2, głównego inhibitora szlaku sygnałowego mTOR. Przeciwną funkcję do kinaz Akt i ERK w regulacji aktywności mTOR pełnią aktywatory kompleksu TSC1/2, takie jak np. GSK3β, AMPK oraz RTP801/L. Aktywowany TSC1/2 hamuje aktywność białka Rheb, które jest aktywatorem kompleksów mTORC1 i mTORC2. Alternatywną ścieżką sygnałową pobudzającą mTORC1, z pominięciem hamowania kompleksu TSC1/2, może być aktywacja fosfolipazy D (PLD) przez białko RAS: Akt/PKB – kinaza białkowa B (ang. *protein kinase B*); AMPK – kinaza białkowa zależna od adenozymonofosforanu (ang. AMP – *activated protein kinase*); ERK – kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym (ang. *extracellular signal-regulated kinases*); HIF-1 – czynnik transkrypcyjny indukowany niedotlenieniem (ang. *hypoxia inducible factor*); LKB1/STK1 – kinaza serynowo-treoninowa 1 (ang. *Ser/thr kinase 1*); mLST8 – białko podobne do podjednostki beta białka G (ang. *G protein beta subunit-like*, Gβl); mSIN1 – ssące białko 1 oddziałujące z białkową kinazą zależną od stresu (ang. *mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1*); mTOR – ssące białko docelowe dla rapamycyny (ang. *mammalian target of rapamycin*); GSK3β – kinaza 3 beta syntazy glikogenu (ang. *glycogen synthase kinase-3 beta*); PDK – kinaza białkowa zależna od fosfatydyloinozytoli (3-*phosphoinositide-dependent protein kinase 1*); PI3K – kinaza 3-fosfatydyloinozytoli (ang. *phosphatidylinositol 3-kinase*); PLD – fosfolipaza D specyficzna dla glikozylofosfatydyloinozytoli; PTEN – fosfataza i homolog tensyny (ang. *phosphatase and tensin homolog*); Raptor – białko regulatorowe związane z mTOR (ang. *regulatory associated protein of mTOR*);

badania prowadzone na komórkach ssaczy wykazały, że białko Rheb-GTP silnie stymuluje aktywność mTOR zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* [18, 31, 78]. Dlatego, hamowanie TSC2 przez aktywną kinazę Akt prowadzi poprzez zwiększenie ilości Rheb-GTP w komórce do aktywacji mTOR. Jednak TSC2 nie jest hamowana wyłącznie przez PI3K i Akt. Niedawno opublikowano badania pokazujące, że aktywacja Ras może prowadzić do zahamowania aktywności TSC2 poprzez zwiększenie aktywności kinaz ERK i RSK [52, 66]. Ostatnio zidentyfikowano białko TCTP (ang. *translationally controlled tumour protein*) jako białko bezpośrednio zwiększające aktywność Rheb [28].

Podczas gdy aktywacja PI3K i kinaz ERK prowadzi do zwiększenia aktywności mTOR poprzez hamowanie TSC1/2, fosforylacja TSC2 przez kinazę zależną od adenozymonofosforanu (AMPK) ma efekt odwrotny [34]. Aktywność AMPK jest wynikiem wysokiego poziomu adenozymonofosforanu (AMP), wskazującego na deficyt energetyczny w komórce. Ostatnio Inoki i wsp. [33] badając ścieżkę sygnałową Wnt wykazali, że tylko równoczesna fosforylacja podjednostki TSC2 przez kinazę AMPK i kinazę syntazy glikogenu (GSK3 β) jest w stanie silnie blokować aktywność białka Rheb.

Ponieważ kinaza mTOR jest filogenetycznie starsza niż elementy szlaku przekazywania od receptora insuliny, wydaje się, że sygnał pierwotnie musiał biec innym torem. Np. aktywacja mTORC1 przez wysoki poziom aminokwasów odbywa się poprzez PI3K typu 3, białko VPS34 (ang. *vacuolar protein sorting-de associated protein 34*), które prowadzi do aktywacji Rheb [9, 51, 57].

Efektory komórkowe aktywacji mTOR

Tak naprawdę niewiele wiadomo na temat genów i białek regulowanych przez mTOR, choć ich lista systematycznie się poszerza, szczególnie w przypadku drożdży, u których odkryto pierwotnie tę kinazę.

Tradycyjne metody badawcze polegające na badaniu pojedynczych białek pozwoliły zidentyfikować kilkanaście efektorów aktywności mTOR. Do najlepiej opisanych należą p70S6K oraz 4E-BP1, białka regulujące proces translacji. Istnieją także dowody na interakcje mTOR z innymi białkami, takimi jak np. kinaza białkowa C, inhibitory kinaz zależnych od cyklin p21 i p27, fosfatazy białkowe PP2 i PP4 oraz białko wiążące mikrotubule CLIP170 [36]. Jednak lista białek, których ekspresja lub aktywność zależy od funkcjonowania mTOR, stale rośnie, dzięki zastosowaniu genomiki funkcjonalnej oraz proteomiki.

Wykorzystując rapamycynę przeszukano cały genom drożdży w celu identyfikacji potencjalnych genów regulujących bądź regulowanych przez kinazę TOR. W tym celu

cd. RYCINA 1

Rheb – homolog białka Ras wzbogacony w mózgu (ang. *ras homolog enriched in brain*); Rictor – białko niewrażliwe na rapamycynę towarzyszące mTOR (ang. *rapamycin-insensitive companion of mTOR*); RSK – rybosomalna kinaza S6 p90 (ang. *ribosomal s6 kinase p90*); TCTP – translacyjnie kontrolowane białko nowotworu (ang. *translationally controlled tumor protein*); TSC1 – hamartyna (ang. *tuberous sclerosis complex protein 1*), TSC2 – tuberyna (ang. *tuberous sclerosis complex protein 2*), VPS34 – kinaza 3-fosfatydylinozytolu (ang. *phosphatidylinositol 3-kinase*); strzałkami zaznaczono aktywację; strzałkami owalnymi inhibicję; liniami przerywanymi potencjalne oddziaływanie

wykorzystano biblioteki mutantów drożdżowych, pozbawionych lub wykazujących wzmożoną ekspresję poszczególnych genów, hodując je w obecności rapamycyny [8, 85]. Stosując tę technikę zidentyfikowano kilkaset genów potencjalnie zaangażowanych w regulację kinazy TOR bądź przez nią regulowanych. Poszukiwania genów regulowanych przez kinazę TOR prowadzono również przy wykorzystaniu takich organizmów, jak muszka owocowa [20]. Zidentyfikowano 90 mRNA, których ekspresja ulegała zmianie w obecności rapamycyny. Zidentyfikowane w powyższych badaniach białka są zaangażowane w szereg procesów komórkowych, jednak większość z nich to regulatory transkrypcji i translacji [20].

UDZIAŁ mTOR W REGULACJI TRANSKRYPCJI I TRANSLACJI

Kinaza mTOR jest zaangażowana w biosyntezę rybosomów [42], regulując syntezę białek rybosomalnych i produkcję rybosomalnego RNA. Procesy te są bezpośrednio zależne od aktywności wszystkich trzech polimeraz RNA, a badania z użyciem rapamycyny wskazują, że mTOR kontroluje ich aktywność [11, 21, 83].

Większość dojrzałych eukariotycznych mRNA ma czapkę 7-metylo-GTP na końcu 5' oraz łańcuch poli(A) na końcu 3', które uczestniczą w inicjacji translacji. Czapka jest rozpoznawana przez kompleks eIF4F, składający się między innymi z wiążącego czapkę białka eIF4E. Aktywność tego czynnika jest blokowana poprzez związanie ze specyficznym inhibitorem białkowym – 4E-BP1. W wyniku fosforylacji 4E-BP1 przez mTOR, dochodzi do uwolnienia eIF4E i aktywacji translacji [19]. Również inne czynniki inicjacji translacji – eIF3 oraz eIF4B są kontrolowane przez ścieżkę sygnałową mTOR – p70S6K [25, 61, 73]. Jednak bardziej znaną do tej pory, choć ostatnio poddawaną w wątpliwość, rolę p70S6 kinazy jest regulacja translacji mRNA mających na swoim 5' końcu łańcuch polipirymidynowy (5' TOP mRNA) [67]. Są to głównie mRNA kodujące białka rybosomalne, jak również białka zaangażowane w kontrolę translacji, np. eEF1A. Aktywna kinaza p70S6 fosforyluje białko S6, co prowadzi do zwiększonej translacji białek kodowanych przez 5'TOP mRNA [67].

Kinaza mTOR jest również zaangażowana w kontrolę procesu translacji poprzez regulację aktywności czynników elongacyjnych. Poziom aktywności kinazy czynnika elongacyjnego eEF2 – eEF2K jest zależny od rapamycyny, co sugeruje, iż jest ona substratem dla mTOR lub zależnej od niej kinazy, a jej fosforylacja zwiększa poziom translacji [62].

W komórkach nerwowych stwierdzono obecność polisomów, aparatu Golgiego i licznych mRNA w pobliżu synaps i w stożkach wzrostu aksonów. Ta obserwacja sugeruje, iż synteza białek w komórkach nerwowych może się odbywać lokalnie, niezależnie od translacji zachodzącej w centralnej części komórki [44]. Wiele danych wskazuje na to, iż mTOR może być jednym z kluczowych enzymów kontrolujących w neuronach zjawisko lokalnej syntezy białek w dendrytach i aksonach [75]. Wykazano, że w dendrytach neuronów korowych aktywacja translacji po podaniu BDNF jest wrażliwa na rapamycynę i małe interferujące RNA przeciw mTOR. Pokazano, że BDNF indukuje fosforylację tuberyny

i aktywację mTOR w dendrytach we frakcji synaptosomów, a aktywacja mTOR stymuluje inicjację translacji za pośrednictwem 4E-BP i p70S6K. Wpływ mTOR na poziom lokalnej translacji w neuronach zachodzi również na etapie elongacji. Inamura i wsp. [29] stwierdzili, iż zwiększenie tempa elongacji translacji w neuronach korowych po stymulacji BDNF jest zależne od hamowania fosforylacji eEF2 przez mTOR.

Badania Schratt i wsp. [72] wykazały, iż ok. 80 mRNA asocjuje z polisomami we frakcji synaptodendrytycznej pod wpływem działania BDNF w sposób zależny od mTOR. Wiele z nich koduje białka istotne dla procesów plastyczności synaptycznej, takie jak CamKII α (kinaza II zależna od kalmoduliny), podjednostki receptorów dla glutaminianu typu NMDA i AMPA, Homer 2 oraz LIMK1 (ang. *LIM domain kinase 1*), co sugeruje, iż mTOR reguluje zjawiska plastyczności synaptycznej poprzez swoje zaangażowanie w lokalną syntezę kluczowych dla tego procesu białek.

ROLA mTOR W FIZJOLOGII UKŁADU NERWOWEGO

Kinaza mTOR pełni szereg istotnych funkcji w komórkach nerwowych, regulując ich przeżywalność, różnicowanie i rozwój. Jest także istotna dla zjawisk plastyczności neuronalnej, co odgrywa rolę m.in. w mechanizmach związanych z pamięcią lub regulacją lęknienia. W większości przypadków uważa się, że działanie mTOR polega na kontroli syntezy białek w odpowiedzi na bodźce ze środowiska zewnętrznego.

Udział mTOR w rozwoju układu nerwowego

Wu i wsp. [84] zademonstrowali, że w zróżnicowanych szczurzych neuronach siatkówki linii R28 podanie insuliny indukuje fosforylację kinaz Akt, mTOR i p70S6K, jednocześnie hamując apoptozę wywołaną deprywacją surowicy. Inhibicja p70S6K przez dominującą negatywną mutację, jak również obecność rapamycyny zapobiegała anty-apoptotycznemu efektowi działania insuliny [84].

Z kolei, Bateman i McNeill [6] w badaniach na muszce owocowej wykazali, że TOR bierze udział w regulacji czasu różnicowania omatidiów, fotoreceptorów oczu złożonych owadów, w których skład wchodzi między innymi komórki siatkówki. U mutantów pozbawionych genu *tsc1*, stwierdzono nieprawidłowości w budowie oka. Analiza mutantów Tor, Rheb i S6 kinazy wykazała, że wzmocnienie tej ścieżki sygnalizacyjnej prowadzi do przedwczesnego różnicowania omatidiów, podczas gdy jej osłabienie opóźnia ten proces.

Podczas różnicowania neuronu, akson rośnie w kierunku określonym przez obecność w środowisku atraktantów (jak netryna-1) i repelentów (netryna-1, semaforyna-3A, Slit-2). W neuronach siatkówki żaby szponiastej *Xenopus*, zarówno inhibitory syntezy białek – cykloheksimid i anizomycyna, jak i inhibitor mTOR – rapamycyna, powodują nieprawidłowości w rozwoju aksonu, hamując jego prawidłowe odpowiedzi na semaforynę-3A [36]. Inhibicja translacji przez rapamycynę zachodzi również w izolowanych stożkach wzrostu aksonów, co dowodzi, że mTOR jest zaangażowana w lokalną regulację translacji w procesie ukierunkowanego wzrostu aksonu [36]. Ostatnie

badania wskazują także na udział mTOR w regeneracji aksonu po aksotomii [80], ponieważ wykazano, iż rapamycyna hamuje regenerację neuronów grzbietowych zwojów czuciowych u szczura i aksonów neuronów siatkówki.

Rozwój drzewa dendrytycznego jest procesem regulowanym m.in. przez czynniki troficzne, interakcje międzykomórkowe i neurotransmitery. Czynniki te wywierają wpływ na neurony poprzez aktywację szeregu kinaz [56]. Zahamowanie aktywności mTOR w neuronach hipokampalnych w hodowli *in vitro*, przy użyciu rapamycyny prowadzi do zmniejszenia liczby dendrytów [37; 45]. Podobny efekt przynosi wyciszenie ekspresji mTOR za pomocą małych interferujących RNA (siRNA, ang. *small interfering RNA*) [37]. Udział mTOR w regulacji rozwoju drzewa dendrytycznego jest tak znaczący, że hamowanie mTOR ogranicza wzrost drzewa dendrytycznego nawet w warunkach promujących jego rozwój, takich jak np. wzmożona ekspresja BDNF, Ras, PI3K i Akt [37].

Kolce dendrytyczne to bogate w aktywną wyrostki pokrywające dendryty neuronów pobudzających, w zakończeniu których znajdują się części postsynaptyczne synaps glutamatergicznych. Ich formowanie jest jednym z końcowych etapów rozwoju drzewa dendrytycznego. Niedojrzałe kolce są cienkie i ruchliwe, dojrzałe skracają się i poszerzają. Zmiany w liczbie i morfologii kolców dendrytycznych wiązane są z plastycznością synaptyczną [74, 87]. W neuronach hipokampalnych ssaków długotrwale działanie rapamycyny prowadzi do spadku liczby zarówno kolców dendrytycznych, jak i filopodiów (prekursorów kolców dendrytycznych). Rapamycyna znosi również efekt zwiększenia liczby filopodiów wywołany aktywacją szlaków kinaz MAPK i PI3K [45]. W hodowlach organotypowych zmiany strukturalne w obrębie kolców w warunkach inhibicji mTOR polegają na wydłużeniu kolców. Natomiast przy zwiększonej aktywności mTOR (wskutek zahamowania ekspresji *Tsc2*) obserwuje się zależne od rapamycyny poszerzenie kolców dendrytycznych [77].

Cytowane badania pokazują, że mTOR bierze udział w regulacji morfologii kolców dendrytycznych, co sugeruje udział tej kinazy w mechanizmach związanych z plastycznością synaptyczną.

mTOR w plastyczności synaptycznej, uczeniu się i formowaniu pamięci

U podstaw zarówno pamięci długoterminowej, jak i niektórych form długotrwałej plastyczności synaptycznej, takich jak długotrwałe wzmocnienie (LTP) lub osłabienie (LTD) synaptyczne, może leżeć synteza białek *de novo* [39]. Zaangażowanie mTOR w regulację plastyczności synaptycznej jest uniwersalne; stwierdzono je w tak różnych organizmach modelowych, jak *Aplysia* i ssaki.

Długotrwałe wzmocnienie i osłabienie synaptyczne (LTP i LTD) są zjawiskami zachodzącymi w komórkach nerwowych, które polegają odpowiednio na zwiększeniu lub zmniejszeniu przez dłuższy okres (od godzin do dni) wydajności przewodzenia synaptycznego poszczególnych synaps w wyniku ich odpowiedniej aktywacji. Pokazano, że w skrawkach hipokampalnych aktywność mTOR jest niezbędna dla zaistnienia długotrwałych form LTP (ang. *long lasting long term potentiation*; L-LTP) indukowanego podaniem BDNF lub stymulacją wysoką częstotliwością [10, 76]. Wydaje się, że rola mTOR w indukcji L-LTP polega na kontrolowaniu lokalnej syntezy białek w okolicy

synaps, co pokazano na dwa sposoby: po pierwsze wywołując LTP w izolowanych dendrytach, po drugie zaś monitorując poziom fosforylowanej formy p70S6K w pobliżu synaps [10, 13, 81].

Podobnie jak w przypadku L-LTP, niektóre formy LTD są zależne od syntezy białka i aktywności mTOR [26]. LTD wywołanemu stymulacją receptorów metabotropowych dla glutaminianu (mGluR) towarzyszą zarówno zwiększona fosforylacja mTOR, jak i wzmożona translacja, a zastosowanie rapamycyny uniemożliwia indukcję tego typu plastyczności synaptycznej [26]. Pokazano również, iż stymulacja skrawków hipokampalnych agonistą mGluR typu I powoduje wzrost poziomu fosforylacji 4E-BP w sposób zależny od PI3K i mTOR [5].

Ponieważ LTP i LTD są uważane za elektrofizjologiczne modele uczenia się i pamięci, mTOR może odgrywać rolę w tych procesach. Pokazano, że domózgowa iniekcja rapamycyny w okolicy kory słuchowej mongolskich gerbili, krótko po treningu rozróżniania dźwięków o modulowanej liniowo częstotliwości, blokowała pamięć długotrwałą u poddanych treningowi zwierząt [79].

Parsons i Gafford [60] wykazali z kolei wzrost aktywności kinazy mTOR, mierzonej poziomem fosforylacji p70S6 kinazy w trakcie formowania się pamięci u szczurów poddanych uwarunkowaniu od strachu. Wykazali jednocześnie, że zahamowanie aktywności mTOR i aktywacji p70S6K po treningu poprzez domózgowe podanie rapamycyny do ciała migdałowatego, prowadzi do zablokowania procesu formowania śladu pamięciowego.

Podobne wnioski na temat roli mTOR w formowaniu pamięci u zwierząt wypływają z najnowszych badań Dash i wsp. [15]. Dotyczyły one korelacji pomiędzy poziomem glukozy, aktywnością mTOR w hipokampie oraz pamięcią przestrzenną u szczurów. Określając poziom fosforylacji p70S6K i 4E-BP1 wykazano, że glukoza i aktywator AMPK - AICAR (*5-aminoimidazole-4-carboxamide-1 β -4-ribonucleoside*) wywierają przeciwstawne efekty na aktywację kaskady kompleksu TSC-mTOR. Podane domózgowo do hipokampa zarówno AICAR, jak i rapamycyna osłabiają długoterminową pamięć przestrzenną, podczas gdy glukoza ją wzmacnia [15].

Inne fizjologiczne funkcje mTOR w układzie nerwowym

mTOR bierze udział w regulacji równowagi energetycznej organizmu poprzez udział w regulacji łaknienia w zależności od dostępności składników odżywczych. Zaobserwowano, że wywołane L-leucyną lub leptyną zahamowanie łaknienia i spadek masy ciała u badanych zwierząt koreluje ze zwiększoną aktywnością mTOR w neuronach jądra łukowego podwzgórza [12]. Co więcej rapamycyna, podana domózgowo, zapobiega proanorektycznemu działaniu leptyny i leucyny [12]. Dodatkowo, głodzenie zwierząt powoduje specyficzny dla jądra łukowego spadek aktywności mTOR w neuronach wydzielających neuropeptyd Y i AgRP (*Agouti-related protein*) – substancje zwiększające łaknienie.

ZMIANY FUNKCJONOWANIA ŚCIEŻKI SYGNAŁOWEJ mTOR W CHOROBAH UKŁADU NERWOWEGO

Jeśli weźmie się pod uwagę szereg istotnych funkcji pełnionych przez mTOR w komórkach nerwowych, nie budzi zdziwienia fakt, że zaburzenia aktywności ścieżek sygnałowych angażujących tę kinazę korelują z występowaniem różnego rodzaju patologii w układzie nerwowym.

Najlepiej opisany jest udział nadmiernej aktywacji szlaku mTOR w rozwoju nowotworów, w tym tworzących się w obrębie układu nerwowego, w których obserwuje się nadmierną aktywność takich białek, jak: PTEN, AKT czy PI3K [30, 71]. Inną z chorób układu nerwowego (która występuje też w innych organach) jest stwardnienie guzowe, którego przyczyną są mutacje w genach *TSC1* lub *TSC2*, powodujące nadmierną aktywność mTOR [46]. Wykazano, iż podanie rapamycyny lub innych inhibitorów mTOR może przeciwdziałać rozwojowi tej choroby [48]. Podanie rapamycyny może być potencjalnie skuteczne również w terapii neurofibromatozy typu I. Jest to choroba genetyczna, w której mutacji ulega gen *NF1*, kodujący neurofibrominę. Mutacje w *NF1* znoszą hamujący wpływ neurofibrominy na białko Ras, w konsekwencji czego wzrasta aktywność mTOR, co prowadzi do nadmiernego wzrostu komórek [38].

Ostatnio coraz częściej postuluje się udział ścieżki mTOR w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Huntingtona, choroba Parkinsona oraz choroba Alzheimera, w których za główną przyczynę śmierci neuronów uważa się powstawanie złogów patologicznych białek. Jedną z dróg usuwania agregatów tych białek z komórki może być autofagia, której negatywnym regulatorem jest mTOR [4, 63, 82]. W modelach komórkowych i zwierzęcych chorób Huntingtona i Parkinsona wykazano, iż podanie rapamycyny lub jej analogów zmniejsza ilość złogów patologicznych białek [64, 82]. Inne badania sugerują jednak, iż utrata neuronów w przebiegu choroby Parkinsona zależy od obniżenia aktywności mTOR. Zarówno w zwierzęcych modelach choroby Parkinsona, w hodowlach *in vitro*, jak i w tkance mózgowej pochodzącej od pacjentów z chorobą Parkinsona obserwuje się wzrost poziomu białka RTP801, co prowadzi do wzrostu aktywności TSC2 [53]. Także w przypadku choroby Alzheimera ochronna rola inhibicji mTOR i indukcji autofagii nie jest jednoznaczna. Z jednej strony rapamycyna powoduje obniżenie poziomu nierozpuszczalnego białka Tau w komórkach COS-7 z wprowadzonym zmutowanym genem dla *tau*, czyli odwraca zmiany charakterystyczne dla choroby Alzheimera [7]. Z drugiej strony, obserwowana we wczesnych stadiach choroby autofagia paradoksalnie może się przyczyniać do zwiększenia poziomu drugiego z toksycznych w chorobie Alzheimera białek β -amyloidu ($A\beta$) [86].

Większość badań wykonanych dotychczas nad rolą mTOR w chorobie Alzheimera koncentruje się raczej na zależnej od mTOR kontroli translacji. W mózgu chorych obserwuje się spadek syntezy białek, który może prowadzić do upośledzenia pamięci oraz do neurodegeneracji [47]. Stąd hipoteza, że do rozwoju choroby Alzheimera przyczynia się inaktywacja ścieżki mTOR. Spadek aktywności mTOR stwierdzono w komórkach poddanych działaniu $A\beta$, jak również w korze mózgowej myszy transgenicznych produkujących zmutowane białko prekursorowe amyloidu i zmutowaną Presenilinę

1 (APP/PS1), będących jednym ze zwierzęcych modeli choroby, oraz w limfocytach osób chorych [47, 59]. Co ciekawe, w modelu zwierzęcym kluczowa dla zahamowania aktywności mTOR wydaje się mutacja w genie *PS1*, co jest zgodne z doniesieniami o wpływie PS1 na ścieżkę sygnałową PI3K/Akt [3].

Jednak poziom niektórych białek (białek cyklu komórkowego, białka Tau) w mózgu wzrasta w przebiegu choroby Alzheimera. Konkurencyjna hipoteza zakłada, że w chorobie tej następuje wzrost aktywności mTOR i nasilenie translacji. Istnieją dane wskazujące, iż rzeczywiście we wczesnych stadiach choroby następuje aktywacja ścieżki mTOR, poprzedzająca pojawienie się hiperfosforylacji Tau i splotów neurofibrilarnych [1, 50]. Według autorów aktywacja mTOR miałaby powodować nadmierną produkcję Tau, co w efekcie prowadziłoby do jego hiperfosforylacji i powstawania splotów neurofibrilarnych. Alternatywną sekwencję zdarzeń proponują Khurana i wsp. [40]. Z ich badań z wykorzystaniem modelu muszki owocowej wynika, że hiperfosforylacja Tau jest raczej przyczyną, a nie skutkiem aktywacji ścieżki TOR. Z kolei nadmierna aktywacja TOR prowadzi do wzrostu aktywności białek cyklu komórkowego i apoptozy komórek nerwowych [40].

UWAGI KOŃCOWE

W powyższym artykule staraliśmy się w sposób wyczerpujący przedstawić obecną wiedzę na temat udziału kinazy mTOR w różnych aspektach funkcjonowania komórek nerwowych. Należy jednak podkreślić, iż pomimo tego, że w ciągu kilku ostatnich lat nasza wiedza na ten temat znacznie się poszerzyła, wciąż wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi. Chyba najbardziej palące spośród nich to pytanie o udział ścieżek sygnałowych mTOR w zaburzeniach funkcjonowania układu nerwowego. Choć na razie brak bezpośrednich danych, coraz więcej poszlak wskazuje, iż aktywność mTOR może być zaburzona nie tylko w chorobach neurodegeneracyjnych, ale również w chorobach neurorozwojowych, takich jak np. schizofrenia czy autyzm. Innym istotnym zagadnieniem jest identyfikacja genów i białek, których aktywność jest regulowana przez kinazę mTOR w mózgu zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologii. Wydaje się to szczególnie ważne w związku z coraz powszechniejszym zastosowaniem inhibitorów kinazy mTOR w praktyce klinicznej.

LITERATURA

- [1] AN WL, COWBURN RF, LIL, BRAAK H, ALAFUZOFF I, IQBAL K, IQBAL IG, WINBLAD B, PEI JJ. Up-regulation of phosphorylated/activated p70 S6 kinase and its relationship to neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 2003; **163**: 591–607.
- [2] 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.
- [3] BAKIL, SHIOI, WENP, SHAOZ, SCHWARZMANA, GAMA-SOSAM, NEVER, ROBAKISNK. PS1 activates PI3K thus inhibiting GSK-3 activity and tau overphosphorylation: effects of FAD mutations. *Embo J* 2004; **23**: 2586–2596.

- [4] BANDHYOPADHYAY U, CUERVO AM. Chaperone-mediated autophagy in aging and neurodegeneration: lessons from alpha-synuclein. *Exp Gerontol* 2007; **42**: 120–128.
- [5] BANKO JL, HOU L, POULIN F, SONENBERG N, KLANN E. Regulation of eukaryotic initiation factor 4E by converging signaling pathways during metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression. *J Neurosci* 2006; **26**: 2167–2173.
- [6] BATEMAN JM, MCNEILL H. Temporal control of differentiation by the insulin receptor/tor pathway in *Drosophila*. *Cell* 2004; **119**: 87–96.
- [7] BERGER Z, RAVIKUMAR B, MENZIES FM, OROZ LG, UNDERWOOD BR, PANGALOS MN, SCHMITT I, WULLNER U, EVERT BO, O’KANE CJ, RUBINSZTEIN DC. Rapamycin alleviates toxicity of different aggregate-prone proteins. *Hum Mol Genet* 2006; **15**: 433–442.
- [8] BUTCHER RA, BHULLAR BS, PERLSTEIN EO, MARSISCHKY G, LABAER J, SCHREIBER SL. Microarray-based method for monitoring yeast overexpression strains reveals small-molecule targets in TOR pathway. *Nat Chem Biol* 2006; **2**: 103–109.
- [9] BYFIELD MP, MURRAY JT, BACKER JM. hVps34 is a nutrient-regulated lipid kinase required for activation of p70 S6 kinase. *J Biol Chem* 2005; **280**: 33076–33082.
- [10] CAMMALLERI M, LUTJENS R, BERTON F, KING AR, SIMPSON C, FRANCESCONI W, SANNA PP. Time-restricted role for dendritic activation of the mTOR-p70S6K pathway in the induction of late-phase long-term potentiation in the CA1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 14368–14373.
- [11] CLAYPOOL JA, FRENCH SL, JOHZUKA K, ELIASON K, VU L, DODD JA, BEYER AL, NOMURA M. Tor pathway regulates Rrn3p-dependent recruitment of yeast RNA polymerase I to the promoter but does not participate in alteration of the number of active genes. *Mol Biol Cell* 2004; **15**: 946–956.
- [12] COTA D, PROULX K, SMITH KA, KOZMA SC, THOMAS G, WOODS SC, SEELEY RJ. Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake. *Science* 2006; **312**: 927–930.
- [13] CRACCO JB, SERRANO P, MOSKOWITZ SI, BERGOLD PJ, SACKTOR TC. Protein synthesis-dependent LTP in isolated dendrites of CA1 pyramidal cells. *Hippocampus* 2005; **15**: 551–556.
- [14] DAN HC, SUN M, YANG L, FELDMAN RI, SUI XM, OU CC, NELLIST M, YEUNG RS, HALLEY DJ, NICOSIA SV, PLEDGER WJ, CHENG JQ. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates tuberous sclerosis tumor suppressor complex by phosphorylation of tuberlin. *J Biol Chem* 2002; **277**: 35364–35370.
- [15] DASH PK, ORSI SA, MOORE AN. Spatial memory formation and memory-enhancing effect of glucose involves activation of the tuberous sclerosis complex-Mammalian target of rapamycin pathway. *J Neurosci* 2006; **26**: 8048–8056.
- [16] FINGAR DC, 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.
- [17] FRIAS MA, THOREEN CC, JAFFE JD, SCHRODER W, SCULLEY T, CARR SA, SABATINI DM. mSin1 is necessary for Akt/PKB phosphorylation, and its isoforms define three distinct mTORC2s. *Curr Biol* 2006; **16**: 1865–1870.
- [18] GARAMI A, ZWARTKRUIS FJ, NOBUKUNI T, JOAQUIN M, ROCCIO M, STOCKER H, KOZMA SC, HAFEN E, BOS JL, THOMAS G. Insulin activation of Rheb, a mediator of mTOR/S6K/4E-BP signaling, is inhibited by TSC1 and 2. *Mol Cell* 2003; **11**: 1457–1466.
- [19] GROLLEAU A, BOWMAN J, PRADET-BALADE B, PURAVS E, HANASH S, GARCIA-SANZ JA, BERETTA L. Global and specific translational control by rapamycin in T cells uncovered by microarrays and proteomics. *J Biol Chem* 2002; **277**: 22175–22184.
- [20] GUERTIN DA, GUNTUR KV, BELL GW, THOREEN CC, SABATINI DM. Functional genomics identifies TOR-regulated genes that control growth and division. *Curr Biol* 2006; **16**: 958–970.
- [21] HANNAN KM, BRANDENBURGER Y, JENKINS A, SHARKEY K, CAVANAUGH A, ROTHBLUM L, MOSS T, POORTINGA G, MCARTHUR GA, PEARSON RB, HANNAN RD. mTOR-dependent regulation of ribosomal gene transcription requires S6K1 and is mediated by phosphorylation of the carboxy-terminal activation domain of the nucleolar transcription factor UBF. *Mol Cell Biol* 2003; **23**: 8862–8877.
- [22] 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.
- [23] HAY N. The Akt-mTOR tango and its relevance to cancer. *Cancer Cell* 2005; **8**: 179–183.
- [24] HAY N, SONENBERG N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev* 2004; **18**: 1926–1945.
- [25] HOLZ MK, BALLIF BA, GYGI SP, BLENIS J. mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events. *Cell* 2005; **123**: 569–580.

- [26] HOU L, KLANN E. Activation of the phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin signaling pathway is required for metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression. *J Neurosci* 2004; **24**: 6352–6361.
- [27] HRESKO RC, MUECKLER M. mTOR.RICTOR is the Ser473 kinase for Akt/protein kinase B in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 2005; **280**: 40406–40416.
- [28] HSU YC, CHERN JJ, CAI Y, LIU M, CHOI KW. *Drosophila* TCTP is essential for growth and proliferation through regulation of dRheb GTPase. *Nature* 2007; **445**: 785–788.
- [29] INAMURA N, NAWA H, TAKEI N. Enhancement of translation elongation in neurons by brain-derived neurotrophic factor: implications for mammalian target of rapamycin signaling. *J Neurochem* 2005; **95**: 1438–1445.
- [30] INOKI K, CORRADETTI MN, GUAN KL. Dysregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease. *Nat Genet* 2005; **37**: 19–24.
- [31] INOKI K, LI Y, XU T, GUAN KL. Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling. *Genes Dev* 2003; **17**: 1829–1834.
- [32] INOKI K, LI Y, ZHU T, WU J, GUAN KL. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 2002; **4**: 648–657.
- [33] INOKI K, OUYANG H, ZHU T, LINDVALL C, WANG Y, ZHANG X, YANG Q, BENNETT C, HARADA Y, STANKUNAS K, WANG CY, HE X, MACDOUGALD OA, YOU M, WILLIAMS BO, GUAN KL. TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth. *Cell* 2006; **126**: 955–968.
- [34] INOKI K, ZHU T, GUAN KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell* 2003; **115**: 577–590.
- [35] JACINTO E, LOEWITH R, SCHMIDT A, LIN S, RUEGG MA, HALL A, HALL MN. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nat Cell Biol* 2004; **6**: 1122–1128.
- [36] JAWORSKI J, SHENG M. The growing role of mTOR in neuronal development and plasticity. *Mol Neurobiol* 2006; **34**: 205–219.
- [37] JAWORSKI J, SPANGLER S, SEEBURG DP, HOOGENRAAD CC, SHENG M. Control of dendritic arborization by the phosphoinositide-3'-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin pathway. *J Neurosci* 2005; **25**: 11300–11312.
- [38] JOHANNESSEN CM, RECZEK EE, JAMES MF, BREMS H, LEGIUS E, CICHOWSKI K. The NF1 tumor suppressor critically regulates TSC2 and mTOR. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 8573–8578.
- [39] KELLEHER RJ, 3RD, GOVINDARAJAN A, TONEGAWA S. Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity. *Neuron* 2004; **44**: 59–73.
- [40] KHURANA V, LU Y, STEINHILB ML, OLDHAM S, SHULMAN JM, FEANY MB. TOR-mediated cell-cycle activation causes neurodegeneration in a *Drosophila* tauopathy model. *Curr Biol* 2006; **16**: 230–241.
- [41] KIM DH, SARBASSOV DD, ALI SM, KING JE, LATEK RR, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, SABATINI DM. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell* 2002; **110**: 163–175.
- [42] KIM DH, SARBASSOV DD, ALI SM, LATEK RR, GUNTUR KV, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, SABATINI DM. GbetaL, 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] KIMURA N, TOKUNAGA C, DALAL S, RICHARDSON C, YOSHINO K, HARA K, KEMP BE, WITTERS LA, MIMURA O, YONEZAWA K. A possible linkage between AMP-activated protein kinase (AMPK) and mammalian target of rapamycin (mTOR) signalling pathway. *Genes Cells* 2003; **8**: 65–79.
- [44] KINDLER S, WANG H, RICHTER D, TIEDGE H. RNA transport and local control of translation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005; **21**: 223–245.
- [45] KUMAR V, ZHANG MX, SWANK MW, KUNZ J, WU GY. Regulation of dendritic morphogenesis by Ras-PI3K-Akt-mTOR and Ras-MAPK signaling pathways. *J Neurosci* 2005; **25**: 11288–11299.
- [46] KWIATKOWSKI DJ. Rhebbing up mTOR: new insights on TSC1 and TSC2, and the pathogenesis of tuberous sclerosis. *Cancer Biol Ther* 2003; **2**: 471–476.
- [47] LAFAY-CHEBASSIER C, PACCALIN M, PAGE G, BARC-PAIN S, PERAULT-POCHAT MC, GIL R, PRADIER L, HUGON J. mTOR/p70S6k signalling alteration by Abeta exposure as well as in APP-PS1 transgenic models and in patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2005; **94**: 215–225.
- [48] LEE L, SUDENTAS P, DONOHUE B, ASRICAN K, WORKU A, WALKER V, SUN Y, SCHMIDT K, ALBERT MS, EL-HASHEMITE N, LADER AS, ONDA H, ZHANG H, KWIATKOWSKI DJ, DABORA SL. Efficacy of a rapamycin analog (CCI-779) and IFN-gamma in tuberous sclerosis mouse models. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; **42**: 213–227.

- [49] LENZ G, AVRUCH J. Glutamatergic regulation of the p70S6 kinase in primary mouse neurons. *J Biol Chem* 2005; **280**: 38121–38124.
- [50] LI X, ALAFUZOFF I, SOININEN H, WINBLAD B, PEI JJ. Levels of mTOR and its downstream targets 4E-BP1, eEF2, and eEF2 kinase in relationships with tau in Alzheimer's disease brain. *FEBS J* 2005; **272**: 4211–4220.
- [51] LONG X, ORTIZ-VEGA S, LIN Y, AVRUCH J. Rheb binding to mammalian target of rapamycin (mTOR) is regulated by amino acid sufficiency. *J Biol Chem* 2005; **280**: 23433–23436.
- [52] MA L, CHEN Z, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, PANDOLFI PP. Phosphorylation and functional inactivation of TSC2 by Erk implications for tuberous sclerosis and cancer pathogenesis. *Cell* 2005; **121**: 179–193.
- [53] MALAGELADA C, RYU EJ, BISWAS SC, JACKSON-LEWIS V, GREENE LA. RTP801 is elevated in Parkinson brain substantia nigral neurons and mediates death in cellular models of Parkinson's disease by a mechanism involving mammalian target of rapamycin inactivation. *J Neurosci* 2006; **26**: 9996–10005.
- [54] MANNING BD, TEE AR, LOGSDON MN, BLENIS J, CANTLEY LC. Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. *Mol Cell* 2002; **10**: 151–162.
- [55] MARTIN DE, HALL MN. The expanding TOR signaling network. *Curr Opin Cell Biol* 2005; **17**: 158–166.
- [56] MILLER FD, KAPLAN DR. Signaling mechanisms underlying dendrite formation. *Curr Opin Neurobiol* 2003; **13**: 391–398.
- [57] NOBUKUNI T, JOAQUIN M, ROCCIO M, DANN SG, KIM SY, GULATI P, BYFIELD MP, BACKER JM, NATT F, BOS JL, ZWARTKRUIS FJ, THOMAS G. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 14238–14243.
- [58] O'SHEA C, KLUPSCH K, CHOI S, BAGUS B, SORIA C, SHEN J, MCCORMICK F, STOKOE D. Adenoviral proteins mimic nutrient/growth signals to activate the mTOR pathway for viral replication. *Embo J* 2005; **24**: 1211–1221.
- [59] PACCALIN M, AL KHIDIR F, BARC SP, PLUCHON C, PERRAULT-POCHAT MC, GIL R, HUGON J. Peripheral p70S6k levels and emotional memory in patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2006; **410**: 162–164.
- [60] PARSONS RG, GAFFORD GM, HELMSTETTER FJ. Translational control via the mammalian target of rapamycin pathway is critical for the formation and stability of long-term fear memory in amygdala neurons. *J Neurosci* 2006; **26**: 12977–12983.
- [61] PETERSON TR, SABATINI DM. eIF3: a connectTOR of S6K1 to the translation preinitiation complex. *Mol Cell* 2005; **20**: 655–657.
- [62] PROUD CG. Signalling to translation: how signal transduction pathways control the protein synthetic machinery. *Biochem J* 2007; **403**: 217–234.
- [63] RAVIKUMAR B, DUDEN R, RUBINSZTEIN DC. Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy. *Hum Mol Genet* 2002; **11**: 1107–1117.
- [64] RAVIKUMAR B, VACHER C, BERGER Z, DAVIES JE, LUO S, OROZ LG, SCARAVILLI F, EASTON DF, DUDEN R, O'KANE CJ, RUBINSZTEIN DC. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004; **36**: 585–595.
- [65] REILING JH, SABATINI DM. Stress and mTOR signaling. *Oncogene* 2006; **25**: 6373–6383.
- [66] ROUX PP, BALLIF BA, ANJUM R, GYGI SP, BLENIS J. Tumor-promoting phorbol esters and activated Ras inactivate the tuberous sclerosis tumor suppressor complex via p90 ribosomal S6 kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 13489–13494.
- [67] RUVINSKY I, MEYUHAS O. Ribosomal protein S6 phosphorylation: from protein synthesis to cell size. *Trends Biochem Sci* 2006; **31**: 342–348.
- [68] SARBASSOV DD, ALI SM, KIM DH, GUERTIN DA, LATEK RR, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, SABATINI DM. 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.
- [69] SARBASSOV DD, ALI SM, SENGUPTA S, SHEEN JH, HSU PP, BAGLEY AF, MARKHARD AL, SABATINI DM. Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB. *Mol Cell* 2006; **22**: 159–168.
- [70] SARBASSOV DD, GUERTIN DA, ALI SM, SABATINI DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science* 2005; **307**: 1098–1101.
- [71] SARBASSOV DD, ALI SM, SABATINI DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol* 2005; **17**: 596–603.
- [72] SCHRATT GM, NIGH EA, CHEN WG, HU L, GREENBERG ME. BDNF regulates the translation of a select group of mRNAs by a mammalian target of rapamycin-phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway during neuronal development. *J Neurosci* 2004; **24**: 7366–7377.

- [73] SHAHBAZIAN D, ROUX PP, MIEULET V, COHEN MS, RAUGHT B, TAUNTON J, HERSHEY JW, 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.
- [74] TADA T, SHENG M. Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 2006; **16**: 95–101.
- [75] TAKEI N, INAMURA N, KAWAMURA M, NAMBA H, HARA K, YONEZAWA K, NAWA H. Brain-derived neurotrophic factor induces mammalian target of rapamycin-dependent local activation of translation machinery and protein synthesis in neuronal dendrites. *J Neurosci* 2004; **24**: 9760–9769.
- [76] TANG SJ, REIS G, KANG H, GINGRAS AC, SONENBERG N, SCHUMAN EM. A rapamycin-sensitive signaling pathway contributes to long-term synaptic plasticity in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 467–472.
- [77] TAVAZOIE SF, ALVAREZ VA, RIDENOUR DA, KWIATKOWSKI DJ, SABATINI BL. Regulation of neuronal morphology and function by the tumor suppressors Tsc1 and Tsc2. *Nat Neurosci* 2005; **8**: 1727–1734.
- [78] TEE AR, MANNING BD, ROUX PP, CANTLEY LC, BLENIS J. Tuberous sclerosis complex gene products, Tuberlin and Hamartin, control mTOR signaling by acting as a GTPase-activating protein complex toward Rheb. *Curr Biol* 2003; **13**: 1259–1268.
- [79] TISCHMEYER W, SCHICKNICK H, KRAUS M, SEIDENBECHER CI, STAAK S, SCHEICH H, GUNDELINGER ED. Rapamycin-sensitive signalling in long-term consolidation of auditory cortex-dependent memory. *Eur J Neurosci* 2003; **18**: 942–950.
- [80] VERMA P, CHIERZI S, CODD AM, CAMPBELL DS, MEYER RL, HOLT CE, FAWCETT JW. Axonal protein synthesis and degradation are necessary for efficient growth cone regeneration. *J Neurosci* 2005; **25**: 331–342.
- [81] VICKERS CA, DICKSON KS, WYLLIE DJ. Induction and maintenance of late-phase long-term potentiation in isolated dendrites of rat hippocampal CA1 pyramidal neurones. *J Physiol* 2005; **568**: 803–813.
- [82] WEBB JL, RAVIKUMAR B, ATKINS J, SKEPPER JN, RUBINSZTEIN DC. Alpha-Synuclein is degraded by both autophagy and the proteasome. *J Biol Chem* 2003; **278**: 25009–25013.
- [83] WHITE RJ. RNA polymerases I and III, growth control and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; **6**: 69–78.
- [84] WU X, REITER CE, ANTONETTI DA, KIMBALL SR, JEFFERSON LS, GARDNER TW. Insulin promotes rat retinal neuronal cell survival in a p70S6K-dependent manner. *J Biol Chem* 2004; **279**: 9167–9175.
- [85] XIE MW, JIN F, HWANG H, HWANG S, ANAND V, DUNCAN MC, HUANG J. Insights into TOR function and rapamycin response: chemical genomic profiling by using a high-density cell array method. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 7215–7220.
- [86] YU WH, CUERVO AM, KUMAR A, PETERHOFF CM, SCHMIDT SD, LEE JH, MOHAN PS, MERCKEN M, FARMERY MR, TJERNBERG LO, JIANG Y, DUFF K, UCHIYAMA Y, NASLUND J, MATHEWS PM, CATALDO AM, NIXON RA. Macroautophagy – a novel Beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease. *J Cell Biol* 2005; **171**: 87–98.
- [87] YUSTE R, BONHOEFFER T. Genesis of dendritic spines: insights from ultrastructural and imaging studies. *Nat Rev Neurosci* 2004; **5**: 24–34.

Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska-Kaczmarek

Otrzymano: 26.06. 2007 r.

Przyjęto: 28.06. 2007 r.

Ul. Ks. Trojdena 4, 02-193 Warszawa

e-mail: jaworski@iimcb.gov.pl