

Аутизм как проявление нарушения молекулярных механизмов регуляции развития и функций синапсов

Е.А. Трифонова , Т.М. Хлебодарова, Н.Е. Грунтенко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Расстройства аутистического спектра – отдельная группа дефектов развития с очень высокой генетической компонентой. Генетический скрининг выявил множество различных генетических вариаций, связанных с аутизмом, а биоинформатический анализ сигнальных путей и генных сетей привел к пониманию, что многие из этих мутационных изменений вовлечены в функционирование синапсов. Синапс является местом электрохимической коммуникации между нейронами и необходимой субъединицей для обучения и формирования памяти. Межнейронная коммуникативная связь пластична, и наиболее стойкие формы синаптической пластичности сопровождаются изменениями в биосинтезе белка как в теле нейрона, так и локально в дендритах. Локальная трансляция – это тонко регулируемый процесс, центральную роль в регуляции инициации которого играет сигнальный путь mTOR (mammalian or mechanistic target of rapamycin). Мутационное повреждение хотя бы одного из звеньев этого сигнального пути приводит к нарушениям синаптической пластичности и поведения. С нарушениями регуляции локальной трансляции в дендритах связаны моногенные синдромы Нунана, Костелло, Каудена, Ретта, туберозный склероз, нейрофиброматоз I типа и синдром ломкой X-хромосомы, у части носителей которых также диагностируются расстройства аутистического спектра. Данный обзор посвящен молекулярным механизмам синдромного аутизма, обусловленного моногенными мутациями, а также механизм-обоснованной терапии некоторых расстройств аутистического спектра.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра (РАС); синапс; mTOR; механизм-обоснованная терапия; синдромный аутизм.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Трифонова Е.А., Хлебодарова Т.М., Грунтенко Н.Е. Аутизм как проявление нарушения молекулярных механизмов регуляции развития и функций синапсов. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016; 20(6):959-967. DOI 10.18699/VJ16.217

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Trifonova E.A., Khlebodarova T.M., Gruntenko N.E. Molecular mechanisms of autism as a form of synaptic dysfunction. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(6):959-967. DOI 10.18699/VJ16.217

REVIEW

Received 17.11.2016

Accepted for publication 22.12.2016

© AUTHORS, 2016

Molecular mechanisms of autism as a form of synaptic dysfunction

E.A. Trifonova , T.M. Khlebodarova, N.E. Gruntenko

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Autism spectrum disorders are a separate group of defects with a very high genetic component. Genetic screening has identified hundreds of mutations and other genetic variations associated with autism, and bioinformatic analysis of signaling pathways and gene networks has led to understanding that many of these mutational changes are involved in the functioning of synapses. A synapse is a site of electrochemical communication between neurons and an essential subunit for learning and memory. Interneuronal communicative relationships are plastic. The most prominent forms of synaptic plasticity are accompanied by changes in protein biosynthesis, both in neuron body and in dendrites. Protein biosynthesis or translation is a carefully regulated process, with a central role played by mTOR (mammalian or mechanistic target of rapamycin). Normally mTOR-regulated translation is slightly inhibited, and in most cases mutational damage to at least one of the links of the mTOR signaling pathway, increases translation and leads to impaired synaptic plasticity and behavior. Deregulation of the local translation in dendrites is connected with the following monogenic autism spectrum disorders: neurofibromatosis type 1, Noonan syndrome, Costello syndrome, Cowden syndrome, tuberous sclerosis, fragile X chromosome, syndrome, and Rett syndrome. The review considers the most important mutations leading to monogenic autism, as well as the possibility of a mechanism-based treatment of certain disorders of the autism spectrum.

Key words: autism spectrum disorders (ASD); the synapse; mechanistic or mammalian target of rapamycin (mTOR); mechanism-based therapy; syndromic autism.

Расстройства аутистического спектра (РАС) – это комплексные нарушения психического развития, процент диагностирования которых непрерывно растет в последние 40 лет и в настоящее время составляет более 1 % (1 из 68) детского населения. Основные симптомы аутизма можно разделить на: 1) значительное снижение коммуникативных и социальных функций, в том числе речевой коммуникации и 2) значительное повышение стереотипии в поведении и речи, крайняя ограниченность интересов. Имеющиеся в настоящее время лекарственные препараты не способны скорректировать основные симптомы и нацелены лишь на облегчение некоторых, часто связанных с аутизмом, состояний, таких как эпилепсия, депрессия, гневливость и тревожность (Veenstra-VanderWeele, Blakely, 2012).

Изучение семейных историй и тесты на однойцевых близнецах показали крайне высокую наследуемость аутизма (в 73–95 % диагностировались оба близнеца), а генетический скрининг выявил сотни генов предрасположенности к РАС (Ebrahimi-Fakhari, Sahin, 2015).

Дальнейшие исследования позволили выделить формы расстройства, наблюдаемые у пациентов с моногенными синдромами, фенотипические проявления которых часто включают аутизм. Самые известные из этих синдромов – синдром ломкой X-хромосомы, нейрофиброматоз, синдром Ретта и туберозный склероз. Ранее считалось, что редкие формы синдромного аутизма ответственны за 10–20 % случаев аутизма, причем каждый отдельный моногенный синдром встречается не более чем у 1 % пациентов с РАС (El-Fishawy, State, 2010). Но с развитием полногеномного секвенирования и его применения для анализа геномов аутистов стало ясно, что более 25 % случаев РАС может быть объяснено моногенными мутациями (Yoo, 2015). Следовательно, около 70 % случаев так называемого типичного аутизма имеют другую генетическую природу (El-Fishawy, State, 2010), возможно, связанную с мутациями в некодирующих последовательностях ДНК.

Моногенные синдромы сыграли огромную роль в изучении молекулярных механизмов РАС. С помощью модельных животных, несущих мутации, приводящие к разным типам синдромного аутизма, было продемонстрировано, что нарушения в структуре, функциях или формировании синапсов являются основной причиной возникновения фенотипа РАС (Singh, Eroglu, 2013). Благодаря полногеномным ассоциативным исследованиям обнаружены сотни генетических вариаций, связанных с аутизмом, а биоинформатический анализ сигнальных путей и генных сетей привел к пониманию, что эти мутационные изменения вовлечены в функционирование синапсов (рис. 1). В последнее время для расстройств, связанных с нарушениями синаптической передачи, стали использовать термин «синапсопатия» (synapsopathy). Успешный поиск лекарств для лечения различных синапсопатий – прекрасная иллюстрация использования методов молекулярной биологии в медицине. Типичный путь от открытия нового гена, мутация в котором вызывает некий известный синдром, до создания механизм-обоснованной терапии представлен на рис. 2.

Для некоторых мутаций, приводящих к синдромному аутизму, вышеописанный путь пройден уже более чем на

половину, и в данном обзоре мы попытаемся обобщить все доступные на сегодняшний день экспериментальные факты, связывающие РАС с некоторыми синапсопатиями, и возможности фармакологической коррекции этих патологий.

Синдром Фелан–МакДемид и связанные с геном *SHANK3* заболевания аутистического спектра

Синдром Фелан–МакДемид (СФМ) является результатом микроделеции 22q13 и характеризуется снижением интеллекта, задержкой или отсутствием речи, гипотонией, РАС и часто эпилепсией (Phelan, 2001). Ключевой ген, мутация в котором ответственна за формирование СФМ, – *SHANK3*, – кодирует структурный белок, отвечающий за фиксацию рецепторов глутамата и нейролиггин-нейрексиновых комплексов в постсинаптическом пространстве (Sheng, Kim, 2000). Чаще всего СФМ встречается у гетерозигот по делеции *SHANK3*, причем протяженность этой делеции может существенно варьировать и иногда сводиться к точечной мутации. Кроме того, было зафиксировано несколько случаев дупликаций данного гена, приводящих к синдрому Аспергера или снижению интеллекта (Durand et al., 2007; Okamoto et al., 2007).

Белок Shank3 входит в семейство, состоящее из Shank 1, 2 и 3 белков, являющихся структурными компонентами постсинаптического пространства, которые также называются обогащенными пролином синапс-связанными белками (ProSAPs). Shank-белки содержат несколько доменов белок-белкового взаимодействия, позволяющих им связываться со множеством белков в постсинаптическом пространстве, в том числе с рецепторами глутамата, нейролиггин-нейрексиновыми комплексами и компонентами актинового цитоскелета (Böckers et al., 2001). В результате этих взаимодействий Shank-белки модулируют морфологию дендритных шипиков и синаптическую передачу.

Эксперименты подтвердили важную роль Shank3-белка для функционирования синапсов. Так, в культуре нейронов гиппокампа нокаун гена *SHANK3* привел к увеличению длины и уменьшению количества дендритных шипиков (Roussignol et al., 2005). У модельных мышей с мутантным вариантом гена *SHANK3* была снижена АМРА-опосредованная синаптическая передача, нарушена длительная потенциация в гиппокампе (Bozdagi et al., 2010), изменены соотношения белков в постсинаптическом пространстве и морфология дендритов (Kouser et al., 2013; Peça et al., 2011).

Для изучения механизмов болезни были созданы линии плюрипотентных стволовых клеток от пациентов с СФМ, на которых было показано, что потеря функциональности Shank3 приводит в нейронах к снижению амплитуды и частоты постсинаптического возбуждения и уменьшает количество возбуждающих синапсов. Обработка инсулиноподобным фактором роста 1 (IGF-1) восстанавливала нормальную функциональность синапсов. В настоящее время IGF-1 проходит вторую фазу клинических испытаний для лечения СФМ и РАС (Shcheglovitov et al., 2013), хотя молекулярные механизмы действия IGF-1 не ясны.

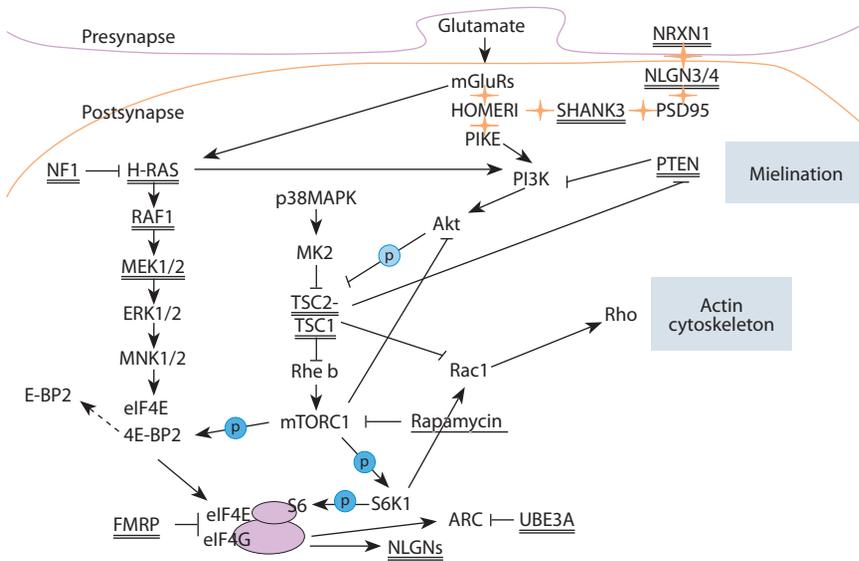


Fig. 1. The signaling pathway in an axodendritic glutamergic synapse, examples of the cell location of gene products associated with different types of typical and syndromic autism, and examples of signaling pathways involved in the formation of the ASD phenotype.

Products of mutant genes increasing ASD probability are shown with double underlining. SHANK3, Phelan–McDermid syndrome; PTEN, Cowden syndrome; NF1, type I neurofibromatosis; H-RAS, RAF1, and MEK1, Costello–Noonan syndrome; TSC2–TSC1, tuberous sclerosis; FMRP, fragile X syndrome; UBE3A, Angelman syndrome; NLGN3/4 and NRXN1, typical autism (from (Zoghbi, Bear, 2012), with modifications).

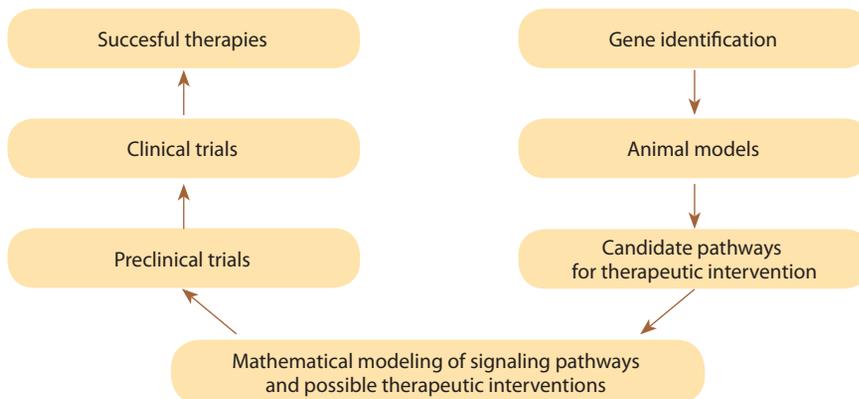


Fig. 2. Approach to mechanism-based treatment.

РАС, связанные с дисфункциями нейролигинов и нейрексинов

Нейролигины и нейрексины являются молекулами клеточной адгезии, необходимыми для функционирования синапсов. Нейролигины расположены на постсинаптической мембране, а нейрексины – на пресинаптической мембране (см. рис. 1). Мутации в генах *NLGN3* и *NLGN4* были описаны в числе первых, связанных с проявлениями РАС. Эти гены локализованы в X-хромосоме, их мутации имеют рецессивный характер, поэтому фенотипические проявления аутизма заметны только у мужчин. Для носителей мутаций в генах нейролигинов характерны различные проявления – от синдрома Аспергера до аутизма со значительно сниженным интеллектом, судорожными приступами и тиками, что связано, по-видимому, с различной функциональностью мутантных белков (Jamain et al., 2003). Мутации в генах нейрексинов также приводят к фенотипу РАС (Zweiger et al., 2009). Три гена нейрексинов, *NRXN1*, *NRXN2* и *NRXN3*, кодируют по две изоформы белков каждый, которые считы-

ваются с независимых промоторов, а сложный альтернативный сплайсинг генерирует тысячи вариантов белков (Missler, Südhof, 1998). Нейролигины являются эндогенными лигандами нейрексинов и кодируются четырьмя генами: *NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3* и *NLGN4*, мРНК которых также подвергаются альтернативному сплайсингу. Как нейрексины, так и нейролигины имеют по одному трансмембранному и короткому цитоплазматическому домену, последний содержит PDZ-мотив на карбоксильном конце (Hata et al., 1996; Irie et al., 1997). В норме нейролигины и нейрексины формируют транс-синаптический комплекс, организующий постсинаптический и пресинаптический компартменты путем связывания с белками CASK, MAGUK и PSD95 (Südhof, 2008).

Эксперименты с модельными животными показали, что отсутствие трех нейролигинов, *Nlgn1*, *Nlgn2* и *Nlgn3*, приводит к перинатальной гибели эмбрионов из-за респираторной недостаточности (Vagoqueaux et al., 2006). Полное отсутствие α -нейрексинов также приводит к гибели эмбрионов из-за проблем с дыханием, но уже пренатально (Missler et al., 2003). У мышей, несущих аллель *NLGN3* с мутацией R451C, впервые обнаруженной у одного из пациентов с РАС, было зафиксировано поведение, аналогичное аутизму без снижения обучаемости, но с нарушением социального взаимодействия (Tabuchi et al., 2007). Делеция ортолога *NLGN4* гена человека у мышей вызывала нарушение социального взаимодействия и уменьшение ультразвуковых сигналов, что является аналогией РАС у человека (Jamain et al., 2008).

Синдром Энгельмана (синдром счастливой куклы)

Синдром Энгельмана (СЭ) характеризуется задержкой развития, сниженным интеллектом, задержкой речевого развития, проблемами со сном и уникальным типом постоянно счастливой и дружелюбного поведения, которое и объясняет второе название расстройства – «синдром счастливой куклы». В большинстве случаев СЭ связывают с делецией 15q11-q13, в районе расположения которой локализуется ген убиквитин-лигазы *E3 (UBE3A)*. Именно его считают от-

ветственным за появление данного синдрома (Kishino et al., 1997; Matsuura et al., 1997).

У модельных мышей, нокаутов по гену *UBE3A*, снижены плотность и сила возбуждающих синапсов, нарушены длительная потенцияция в гиппокампе и способность к обучению (Jiang et al., 1998).

Очевидно, что проблемы в СЭ возникают в результате избытка белков-мишеней убиквитин-лигазы E3 в пост-синаптическом пространстве, одним из которых является ассоциированный с цитоскелетом белок Arc. У мышей, мутантных по *UBE3A*, экспрессия *Arc* повышена. Функции белка *Arc* связаны с интернализацией AMPA подтипа рецепторов глутамата в возбуждающих синапсах (Greer et al., 2010). Трансляция *Arc* регулируется FMRP, белком, ответственным за формирование синдрома ломкой X-хромосомы.

Предполагается, что гиперэкспрессия *Arc* является точкой пересечения в патофизиологии СЭ и синдрома ломкой X-хромосомы (Kelleher, Bear, 2008) и ингибирование mGluR5 может скорректировать фенотип СЭ так же, как и синдром ломкой X-хромосомы (Zoghbi, Bear, 2012).

Для коррекции некоторых черт мутантного фенотипа СЭ был использован препарат L-ДОФА (L-3,4-дигидроксифенилаланин, L-DOPA), предшественник катехоламинов. Он прошел клинические испытания, хотя молекулярные механизмы, обуславливающие его эффективность, еще не вполне понятны. Показано только, что мутация или делеция гена *Ube3a* у мышей нарушает функционирование дофаминэргической системы (Riday et al., 2012).

РАС, связанные с нарушением регуляции сигнального пути mTOR

Механистическая или типичная для млекопитающих мишень для рапамицина mTOR (mammalian or mechanistic target of rapamycin) – серин/треонин киназа. Киназа mTOR является ключевым регулятором инициации трансляции (Sato, 2016) и действует как центральный компонент двух мультибелковых комплексов, mTORC1 и mTORC2, которые различаются композицией белков и субстратами (Lipton, Sahin, 2014).

Сигнальный путь mTOR интегрирует множество внутриклеточных и экстраклеточных сигналов, включая факторы роста, нутриенты, стресс, инфекции (Lisse, Hewison, 2011). Он вовлечен в регуляцию иммунного ответа (Liu et al., 2015), клеточного и опухолевого роста (Zhou, Parada, 2012), а также в формирование памяти и долговременной синаптической пластичности. Большая часть доказательств связи функций mTOR с синаптической пластичностью получена с использованием рапамицина (сиролимуса), ингибитора mTOR. Исследования на генетически модифицированных животных подтвердили вовлеченность этого сигнального пути в регуляцию пластичности межнейронных связей (Ehninger et al., 2009).

Пластичность межнейронной коммуникативной связи означает, что реактивность, т.е. сила синаптического соединения, изменяется с течением времени, причем некоторые изменения происходят за секунды, а другие могут поддерживаться в течение всей жизни организма. У позвоночных долговременные изменения в силе синап-

тического соединения часто описываются как длительная потенцияция (LTP) в случае усиления синапса и длительная депрессия (LTD) при его ослаблении.

Наиболее стойкие формы синаптической пластичности сопровождаются изменениями в биосинтезе белка как в теле нейрона, так и локально в дендритах (Lipton, Sahin, 2014). Мутационное повреждение любого компонента сигнального пути mTOR приводит к нарушениям локальной трансляции, и как следствие, синаптической пластичности и поведения.

С нарушениями регуляции локальной трансляции в дендритах связаны следующие моногенные расстройства аутистического спектра: нейрофиброматоз I типа, синдром Нунана, синдром Костелло, синдром Каудена, туберозный склероз, синдром ломкой X-хромосомы и синдром Ретта (Zoghbi, Bear, 2012).

Синдром ломкой X-хромосомы

Синдром ломкой X-хромосомы (СХХ) диагностируется у 5–8 % детей с РАС и обычно характеризуется глубоким аутизмом со сниженным интеллектом. Подавляющее большинство пациентов с СХХ мужского пола. Фенотипические проявления СХХ у них весьма значительны и включают макроорхидизм, увеличенный размер ушей, асимметричные черты лица, увеличенные руки, часто аномалии соединительной ткани, митрального клапана и аорты. У трети женщин, носителей этой мутации, при отсутствии каких-либо иных фенотипических проявлений снижен интеллект.

Фенотип СХХ вызывается транскрипционным сайленсингом гена *FMR1*, в 5'-нетранслируемом районе которого содержится нестабильный при передаче в поколениях CGG-повтор. В норме количество CGG-повторов не превышает 55, при СХХ количество повторов достигает 200 и более, что приводит к метилированию всего промоторного района гена *FMR1*, замолчанию гена, и, следовательно, отсутствию его белкового продукта FMRP. FMRP является РНК-связывающим белком, и его функции включают транспорт большого количества мРНК в дендриты, прямую регуляцию локальной трансляции и стабильности мРНК в синапсе (Bagni, Oostra, 2013).

В экспериментах с модельными мышами, у которых нокаутирован ген, гомологичный *FMR1* (*Fmr1* KO), показано повышение базального уровня белкового синтеза в гиппокампе. Попытки скорректировать избыточный биосинтез белка в синапсах *Fmr1* KO мышей были предприняты с использованием негативных регуляторов метаболитных рецепторов глутамата (mGluR1 и mGluR5). В настоящее время четыре различных препарата, являющихся негативными регуляторами mGluR5 рецепторов, находятся на различных стадиях клинических испытаний для коррекции aberrантного поведения при СХХ (Ebrahimi-Fakhari, Sahin, 2015). Другой перспективной возможностью коррекции СХХ фенотипа оказалась активация рецепторов GABA, которая смягчала проявление синдрома как у модельных мышей (Pasey et al., 2009), так и у мух дрозофил (Chang et al., 2008). R-баклофен, селективный агонист GABA-рецепторов, успешно прошел третью фазу клинических испытаний (Ebrahimi-Fakhari, Sahin, 2015). Альтернативный подход к коррекции фенотипа СХХ был

использован В. Доланом с коллегами (Dolan et al., 2013), они предположили, что коррекция структурных дефектов дендритов приведет к улучшению поведенческих аномалий у модельных животных. В экспериментах были также использованы мыши *Fmr1 KO*, а в качестве белковой мишени была выбрана p21-активируемая киназа (PAK), которая модулирует динамику актинового цитоскелета. Продемонстрировано, что даже однократного применения ингибитора PAK, небольшой молекулы, названной авторами FRAХ486, оказалось достаточно для полной коррекции СХХ-фенотипа у взрослых *Fmr1 KO* мышей. Улучшение поведения наблюдалось на фоне полной нормализации морфологии дендритных шипиков, на основании чего авторы сделали вывод, что их подход доказывает возможность быстрой коррекции СХХ даже у взрослых пациентов (Dolan et al., 2013).

Туберозный склероз

Туберозный склероз – мультисистемное расстройство, характерной чертой которого являются доброкачественные опухоли (гамартомы), расположенные во многих органах и тканях, чаще всего в мозге, на коже, глазах, в почках и сердце (Curatolo et al., 2008). Неврологические проявления туберозного склероза у пациентов очень варьируют – от полного отсутствия до значительного снижения интеллекта и появления судорог. Около половины пациентов с туберозным склерозом соответствуют критериям PAC (Allingham-Hawkins et al., 1999).

Туберозный склероз вызывают мутации в двух генах, *TSC1* и *TSC2*, причем значительная доля случаев приходится на спорадические мутации (Curatolo et al., 2008). Продукты генов *TSC1* и *TSC2*, гамартин и туберин соответственно, формируют гетеродимерный комплекс, который является негативным регулятором mTOR. В отсутствие ингибирования со стороны TSC1/2 комплекса mTOR чрезмерно стимулирует клеточный рост и пролиферацию. Мутации как *TSC1*, так и *TSC2* гена в гомозиготном состоянии летальны уже на эмбриональной стадии развития организма.

В экспериментах на модельных животных было показано, что PAC и снижение интеллекта у больных туберозным склерозом, скорее всего, не связаны с эпилепсией и формированием доброкачественных опухолей. Особенно интересный фенотип был обнаружен у мышей *Tsc2^{+/-}*, которые продемонстрировали нарушения синаптической пластичности и поведения при отсутствии судорог и избыточного разрастания нервной ткани (Ehninger et al., 2009). У данных мышей была усилена поздняя фаза длительной потенциации, как известно, требующая интенсивного белкового синтеза, но именно повышение уровня биосинтеза белка является отражением повышенной активности mTOR.

У всех модельных линий мышей, мутантных по *TSC1* или *TSC2*, поведенческие и молекулярные нарушения устранялись после применения mTOR-ингибиторов, таких как эверолимус и сиролimus (рапамидин) (Meikle et al., 2008; Ehninger, Silva, 2011; Tsai, Sahin, 2011). Примечательно, что даже у взрослых мышей *Tsc2^{+/-}* после лечения рапамидином были отмечены как восстановление длительной потенциации, так и значительное улучшение

поведения и обучаемости (Ehninger et al., 2009), что предполагает обратимость поведенческих нарушений при аутизме. В настоящее время эверолимус одобрен Food and Drug Administration для лечения не-неврологических проявлений туберозного склероза, субэпендимальных гигантоклеточных астроцитом при невозможности выполнения хирургической резекции опухоли и ангиомиолипомы почки, не требующей срочного хирургического вмешательства. Проводятся испытания этого препарата для лечения нейрокогнитивных нарушений у детей (Ebrahimi-Fakhari, Sahin, 2015).

Синдром Каудена и PAC, связанные с мутациями PTEN

PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) – липидная фосфатаза – негативный регулятор сигнального пути mTOR, расположенный выше комплекса туберозного склероза TSC1/2 (см. рис. 1). В настоящее время известна функция PTEN как супрессора опухолевого роста и показана роль инактивации этого фермента в канцерогенезе.

С мутациями в гене *PTEN* связывают синдром Каудена, иначе называемый синдромом множественных гамартом. Также такие мутации часто сопровождаются неврологическими проявлениями – макроцефалией, эпилепсией, снижением интеллекта и аутизмом.

Считается, что доля мутации *PTEN* составляет до 5 % в PAC, но она может быть и выше, поскольку, как правило, анализируются образцы крови пациентов методом полноэкзомного секвенирования, а при таком варианте анализа не учитываются мутации в некодирующих участках, включая промоторную область и районы ДНК, фланкирующие экзоны.

Интересно, что связанные с аутизмом мутации гена *PTEN* обычно не снижают липидно-фосфатазную активность фермента (Zhou, Parada, 2012). Такие мутационные изменения не приводят к формированию гамартом, и, как правило, это мутации *de novo*. Корреляция между *PTEN*-связанным аутизмом и канцерогенезом отсутствует (Zhou, Parada, 2012).

Эксперименты на модельных животных подтвердили роль PTEN в формировании PAC. Делеция гена *PTEN* приводила в нейронах мышей к увеличению размеров тела нейронов, гипертрофии аксонов и дендритов, и, как следствие, размеров синапсов. Социальное взаимодействие таких животных также было нарушено (Kwon et al., 2006).

В экспериментах с избирательно нокаутированным геном *PTEN* в нейронах слухового пути наблюдалось значительное усиление возбуждающего входного синаптического сигнала по сравнению с нейронами с нормальной экспрессией *PTEN* (Xiong et al., 2012). Дендриты *PTEN*-нокаутированных нейронов были длиннее нормы, и плотность расположения шипиков на них была повышена. Как морфологические, так и функциональные нарушения данных нейронов блокировались рапамидином, поэтому авторы сделали вывод, что все фенотипические проявления делеции *PTEN* в нейронах происходят в результате гиперактивации сигнального пути mTOR (Xiong et al., 2012).

Синдром Ретта и PAC, связанные с мутациями MECP2

Синдром Ретта обычно диагностируется у девочек после 6–18 мес нормального развития. Первыми проявлениями становятся бесцельные стереотипные движения руками, потеря речи, глазного контакта и выразительности лица. Практически все пациенты соответствуют критериям PAC, с отягощениями в виде нарушения дыхания, судорог, тахикардии, брадикардии и сколиоза.

Синдром Ретта (CP) связан с мутацией в гене *MECP2* (methyl-CpG-binding protein 2), локализованном на X-хромосоме. Для мальчиков null-мутация *MECP2* летальна, ее носители обычно не доживают до двух лет. В настоящее время описано достаточно много различных мутаций *MECP2*, в том числе и синдром Xq28, причиной которого является дупликация гена *MECP2*. Последствиями этих мутаций являются самые разнообразные нейropsychические заболевания: аутизм, эпилепсия, шизофрения, биполярное расстройство, болезнь Паркинсона, тремор и снижение интеллекта (Zoghbi, Bear, 2012).

MeCP2 – это белок, который локализован в ядре клеток и связывается с метилированным цитозином. Взаимодействуя с промоторными областями некоторых генов, включая *BDNF* (brain-derived neurotrophic factor), MeCP2 активирует их транскрипцию. Было продемонстрировано также, что MeCP2 конкурирует с гистоном H1 за сайты связывания с ДНК, но молекулярные механизмы, приводящие к формированию фенотипов CP и Xq28, пока не выяснены (Ghosh et al., 2010).

Мыши, лишённые функционального MeCP2-белка, воспроизводили фенотип CP (Chen et al., 2001; Guy et al., 2001). Морфологически мозг таких мышей выглядел нормальным, за исключением микроцефалии, но дендритов у нейронов было меньше нормы и наблюдалось их распухание (Belichenko et al., 2009). На молекулярном уровне у модельных мышей MeCP2 было обнаружено чрезмерное ингибирование mTOR сигнального пути – гипофосфорилирование протеинкиназы B (Akt), mTOR киназы, рибосомного белка S6, p70S6K киназы и, как следствие, снижение биосинтеза белка (Ricciardi et al., 2011). Ген *BDNF* был среди первых изученных мишеней MeCP2. Белок BDNF связывается с рецептором тропомиозин-подобной киназы B (TrkB) и активирует целый ряд внутриклеточных сигнальных путей, включая mTOR (Segal, Greenberg, 1996). Считается, что снижение уровня белка и мРНК BDNF вносит основной вклад в патофизиологию синдрома Ретта (Katz, 2014).

Использование рекомбинантного BDNF в терапии CP осложнено низкой проницаемостью гематоэнцефалического барьера для этого белка, поэтому исследования сосредоточены на бустерах и миметиках BDNF. В настоящее время на стадии клинических испытаний находятся два бустера BDNF – финголимод и копаксон, оба препарата ранее были одобрены для лечения рассеянного склероза. Финголимод является модулятором сфингозин-1-фосфатных рецепторов, который приводит к увеличению экспрессии BDNF и активации TrkB-зависимых сигнальных путей (Deogracias et al., 2012). Копаксон известен как иммуномодулятор. Один из предполагаемых механизмов его действия – увеличение экспрессии и высво-

бождения BDNF из аутореактивных T-клеток (Ziemssen et al., 2002).

Нарушение регуляции сигнального пути mTOR как связующее звено между поведенческими и иммунными проблемами, наблюдаемыми у пациентов с PAC

Центральная роль mTOR в интегрировании множества экстраклеточных и внутриклеточных сигналов объясняет сложную картину симптоматики аутизма у человека, которая часто включает аллергии и иммунные нарушения (Angelidou et al., 2011). Многие родители детей-аутистов замечают улучшения в поведении и развитии своих детей после перехода на диеты, исключающие основной белок многих злаков – глютен и молочный белок – казеин. Долгое время эти диеты не находили поддержки у врачей и исследователей аутизма, но в последнее время положение изменилось. Было показано, что сигнальный путь mTOR также связан с индуцируемыми пищевой аллергией поведенческими и иммунологическими нарушениями (Wu et al., 2015). У орально сенсibilизированных модельных мышей была вызвана аллергическая реакция на молочную сыворотку, которая приводила к снижению социального взаимодействия и нарастанию повторяющегося поведения. Активация mTOR была выявлена в кишечнике и в мозге данных модельных животных и, как и в случае с аутизмом, рапамицин снимал как поведенческие, так и иммунологические проявления аллергии на молочный белок (Wu et al., 2015). Таким образом, возможно, mTOR является тем сигнальным путем, который объединяет поведенческие и иммунологические проблемы PAC и, следовательно, может оказаться оптимальной мишенью для коррекции фенотипа PAC и всех коморбидных расстройств, например пищеварительных и иммунных.

Среди факторов среды, влияющих на формирование фенотипа PAC, часто упоминается витамин D3. Известно, что дефицит этого витамина приводит к увеличению размеров головного мозга и изменению его формы, подобным тем, которые наблюдаются у некоторых аутистов, а у детей с PAC часто диагностируется пониженный уровень витамина D3.

Предположение, что добавление в диету витамина D3 может улучшить состояние детей с PAC, было проверено в исследованиях F. Jia с коллегами (2015). У 32-месячного ребенка, принимавшего этот витамин в терапевтических дозах, было отмечено ослабление основных симптомов аутизма (Jia et al., 2015).

Механизм действия витамина D3 на симптоматику PAC также может быть связан с его способностью ингибировать mTOR посредством усиления экспрессии активируемого повреждениями ДНК транскрипта 4 (DNA damage-inducible transcript 4 (DDIT4)), который является сильным супрессором mTOR (Lisse et al., 2011). В целом ингибирование mTOR играет ключевую роль в адаптивном иммунитете, так как способствует формированию автофагосом, уничтожающих бактерии, и влияет на метаболизм и функции T-лимфоцитов (Lisse, Hewison, 2011). Витамин D3 и рапамицин имеют общую мишень – mTOR, следовательно, необходимы более широкие исследования витамина D3 как, возможно, менее эффек-

тивного, но гораздо более доступного препарата для коррекции PAC.

Предположение о том, что прививки, в особенности АКДС (против коклюша, дифтерии и столбняка) в России и MMR (против кори, свинки и краснухи) в США вызывают аутизм, постоянно обсуждается на форумах родителей детей-аутистов. Многократные статистические исследования и даже эксперименты на приматах не подтвердили эти предположения (Gadad et al., 2015). Однако новые данные о мутациях в сигнальном пути mTOR, приводящих к PAC, и связь этого сигнального пути с иммунитетом выводят эту проблему на совершенно новый уровень. Действительно, иммунологи, занимающиеся проблемой Т-лимфоцит-обусловленного иммунитета, продемонстрировали (Liu et al., 2015), что в норме слегка ингибированный mTOR поддерживает гомеостаз Т-лимфоцитов. Однако распознавание антигена «необученным» Т-лимфоцитом приводит к немедленной активации mTOR и последующему дифференцированию этих клеток в определенный тип лимфоцитов-эффекторов (Liu et al., 2015). Возникает очевидный вопрос: как отразится на ребенке с генетически обусловленным гиперактивированным mTOR поливалентная иммунизация или тяжелое инфекционное заболевание в критические периоды развития ЦНС? Следовательно, необходимы дополнительные исследования о взаимосвязи иммунной системы, социального поведения и адаптивности животных с гиперактивированным mTOR.

Заключение

Синапсопатии, и в частности гиперактивация сигнального пути mTOR, являются общей характеристикой для постоянно растущего числа психических и неврологических заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера (Pei, Hugon, 2008), эпилепсия (Wong, 2010), расстройства аутистического спектра и даже синдром Дауна (Троса-Марин et al., 2012). Гипоактивация mTOR также приводит к снижению интеллекта и невропатологии, как было показано для синдрома Ретта. Успешное применение таких ингибиторов mTOR, как сиролimus и эверолимус, приводящее к значительному улучшению клинической картины на модельных животных и в ходе клинических испытаний на человеке, вселяет надежду на разработку адекватной механизм-обоснованной терапии расстройств аутистического спектра как связанных с нарушениями активности сигнального пути mTOR, так и обусловленных другими нарушениями структуры и функции синапсов.

Acknowledgments

This work was supported by State Budgeted Project 0324-2015-0004.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Allingham-Hawkins D.J., Babul-Hirji R., Chitayat D., Holden J.J., Yang K.T., Lee C., ... Costa S.S., Otto P.A., Mingroni-Netto R.C., Murray A., Webb J., Vieri F. Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: The International Collaborative POF in Fragile X study-preliminary data. *Am. J. Med. Genet.*

1999;83(4):322-325. DOI 10.1002/(SICI)1096-8628(19990402)83:4<322::AID-AJMG17>3.0.CO;2-B [pii].

Angelidou A., Alysandratos K.-D., Asadi S., Zhang B., Francis K., Vasiadi M., ... Theoharides T.C. Brief Report: "Allergic Symptoms" in Children with Autism Spectrum Disorders. More than Meets the Eye? *J. Autism Dev. Disord.* 2011;41(11):1579-1585. DOI 10.1007/s10803-010-1171-z.

Bagni C., Oostra B.A. Fragile X syndrome: from protein function to therapy. *Am. J. Med. Genet. Part A.* 2013;161(11):2809-2821. DOI 10.1002/ajmg.a.36241.

Belichenko P.V., Wright E.E., Belichenko N.P., Masliah E., Li H.H., Mobley W.C., Francke U. Widespread changes in dendritic and axonal morphology in Mecp2-mutant mouse models of Rett syndrome: Evidence for disruption of neuronal networks. *J. Comp. Neurol.* 2009;514(3):240-258. DOI 10.1002/cne.22009.

Böckers T.M., Mameza M.G., Kreutz M.R., Bockmann J., Weise C., Buck F., ... Kreienkamp H.J. Synaptic scaffolding proteins in rat brain: Ankyrin repeats of the multidomain Shank protein family interact with the cytoskeletal protein α -fodrin. *J. Biol. Chem.* 2001;276(43):40104-40112. DOI 10.1074/jbc.M102454200.

Bozdagi O., Sakurai T., Papapetrou D., Wang X., Dickstein D.L., Takahashi N., ... Buxbaum J.D. Haploinsufficiency of the autism-associated Shank3 gene leads to deficits in synaptic function, social interaction, and social communication. *Mol. Autism.* 2010;1(1):15. DOI 2040-2392-1-15 [pii]n10.1186/2040-2392-1-15.

Chang S., Bray S.M., Li Z., Zarnescu D.C., He C., Jin P., Warren S.T. Identification of small molecules rescuing fragile X syndrome phenotypes in *Drosophila*. *Nat. Chem. Biol.* 2008;4(4):256-263. DOI 10.1038/nchembio.78.

Chen R.Z., Akbarian S., Tudor M., Jaenisch R. Deficiency of methyl-CpG binding protein-2 in CNS neurons results in a Rett-like phenotype in mice. *Nat. Genet.* 2001;27(3):327-331. DOI 10.1038/85906.

Curatolo P., Bombardieri R., Jozwiak S. Tuberous sclerosis. *Lancet.* 2008;372(9639):657-668. DOI 10.1016/S0140-6736(08)61279-9.

Deogracias R., Yazdani M., Dekkers M.P.J., Guy J., Ionescu M.C.S., Vogt K.E., Barde Y.-A. Fingolimod, a sphingosine-1 phosphate receptor modulator, increases BDNF levels and improves symptoms of a mouse model of Rett syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012;109(35):14230-14235. DOI 10.1073/pnas.1206093109.

Dolan B.M., Duron S.G., Campbell D.A., Vollrath B., Shankaranarayana Rao B.S., Ko H.-Y., ... Tonegawa S. Rescue of fragile X syndrome phenotypes in *Fmr1* KO mice by the small-molecule PAK inhibitor FRAX486. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013;110(14):5671-5676. DOI 10.1073/pnas.1219383110.

Durand C.M., Betancur C., Boeckers T.M., Bockmann J., Chaste P., Fauchereau F., ... Bourgeron T. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat. Genet.* 2007;39(1):25-27. DOI 10.1038/ng1933.

Ebrahimi-Fakhari D., Sahin M. Autism and the synapse: emerging mechanisms and mechanism-based therapies. *Curr. Opin. Neurol.* 2015;1(617):1-12. DOI 10.1097/WCO.000000000000186.

Ehninger D., Han S., Shilyansky C., Zhou Y., Li W., David J. Reversal of learning deficits in a *Tsc2*[±] mouse model of tuberous sclerosis. *Nat. Med.* 2009;14(8):843-848. DOI 10.1038/nm1788.Reversal.

Ehninger D., Silva A.J. Rapamycin for treating Tuberous sclerosis and Autism Spectrum disorders. *Trends Mol. Med.* 2011;17(2):78-87. DOI 10.1016/j.molmed.2010.10.002.

El-Fishawy P., State M.W. The genetics of autism: key issues, recent findings, and clinical implications. *Psychiatr. Clin. North Am.* 2010;33(1):83-105. DOI 10.1016/j.psc.2009.12.002.

Gadad B.S., Li W., Yazdani U., Grady S., Johnson T., Hammond J., ... German D.C. Administration of thimerosal-containing vaccines to infant rhesus macaques does not result in autism-like behavior or neuropathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015;112(40):12498-12503. DOI 10.1073/pnas.1500968112.

Ghosh R.P., Horowitz-Scherer R.A., Nikitina T., Shlyakhtenko L.S., Woodcock C.L. MeCP2 binds cooperatively to its substrate and

- competes with histone H1 for chromatin binding sites. *Mol. Cell Biol.* 2010;30(19):4656-4670. DOI 10.1128/MCB.00379-10.
- Greer P.L., Hanayama R., Bloodgood B.L., Mardinly A.R., Lipton D.M., Flavell S.W., ... Greenberg M.E. The Angelman syndrome protein Ube3A regulates synapse development by ubiquitinating arc. *Cell*. 2010;140(5):704-716. DOI 10.1016/j.cell.2010.01.026.
- Guy J., Hendrich B., Holmes M., Martin J.E., Bird A. A mouse Mecp2-null mutation causes neurological symptoms that mimic Rett syndrome. *Nat. Genet.* 2001;27(3):322-326. DOI 10.1038/85899.
- Hata Y., Butz S., Südhof T.C. CASK: a novel dlg/PSD95 homolog with an N-terminal calmodulin-dependent protein kinase domain identified by interaction with neuexins. *J. Neurosci.* 1996;16(8):2488-2494. DOI papers2://publication/uuid/43B65FDC-BC39-4EC1-8178-47495149E5C1.
- Irie M., Hata Y., Takeuchi M., Ichtchenko K., Toyoda A., Hirao K., ... Südhof T.C. Binding of neuroligins to PSD-95. *Science*. 1997;277:1511-1515. DOI 10.1126/science.277.5331.1511.
- Jamain S., Quach H., Betancur C., Råstam M., Colineaux C., Gillberg I.C., ... Bourgeron T. Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nat. Genet.* 2003;34(1):27-29. DOI 10.1038/ng1136.
- Jamain S., Radyushkin K., Hammerschmidt K., Granon S., Boretius S., Varoqueaux F., ... Brose N. Reduced social interaction and ultrasonic communication in a mouse model of monogenic heritable autism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008;105(5):1710-1715. DOI 10.1073/pnas.0711555105.
- Jia F., Wang B., Shan L., Xu Z., Staal W.G., Du L. Core symptoms autism improved after vitamin D supplementation. *Pediatrics*. 2015;135(1):e196-e198. DOI 10.1542/peds.2014.2121.
- Jiang Y.H., Armstrong D., Albrecht U., Atkins C.M., Noebels J.L., Eichele G., ... Beaudet A.L. Mutation of the Angelman ubiquitin ligase in mice causes increased cytoplasmic p53 and deficits of contextual learning and long-term potentiation. *Neuron*. 1998;21(4):799-811. DOI 10.1016/S0896-6273(00)80596-6.
- Katz D.M. Brain-derived neurotrophic factor and rett syndrome. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Eds. G.R. Lewin, B.D. Carter. Berlin: Springer-Verlag, 2014;220:481-495. DOI 10.1007/978-3-642-45106-5_18.
- Kelleher R.J., Bear M.F. The autistic neuron: troubled translation? *Cell*. 2008;135(3):401-406. DOI 10.1016/j.cell.2008.10.017.
- Kishino T., Lalonde M., Wagstaff J. UBE3A/E6-AP mutations cause Angelman syndrome. *Nat. Genet.* 1997;15(1):70-73. DOI 10.1038/ng0197-70.
- Kouser M., Speed H.E., Dewey C.M., Reimers J.M., Widman A.J., Gupta N., ... Powell C.M. Loss of predominant Shank3 isoforms results in hippocampus-dependent impairments in behavior and synaptic transmission. *J. Neurosci.* 2013;33(47):18448-18468. DOI 10.1523/JNEUROSCI.3017-13.2013.
- Kwon C.H., Luikart B.W., Powell C.M., Zhou J., Matheny S.A., Zhang W., ... Parada L.F. Pten regulates neuronal arborization social interaction in mice. *Neuron*. 2006;50(3):377-388. DOI 10.1016/j.neuron.2006.03.023.
- Lipton J.O., Sahin M. The neurology of mTOR. *Neuron*. 2014;84(2):275-291. DOI 10.1016/j.neuron.2014.09.034.
- Lisse T.S., Hewison M. Vitamin D: A new player in the world of mTOR signaling. *Cell Cycle*. 2011;10(12):1888-1889. DOI 10.4161/cc.10.12.15620.
- Lisse T.S., Liu T., Irmeler M., Beckers J., Chen H., Adams J.S., Hewison M. Gene targeting by the vitamin D response element binding protein reveals a role for vitamin D in osteoblast mTOR signaling. *FASEB J.* 2011;25(3):937-947. DOI 10.1096/fj.10-172577.
- Liu Y., Zhang D., Liu X. mTOR signaling in T cell immunity and autoimmunity. *Int. Rev. Immunol.* 2015;34(1):50-66. DOI 10.3109/08830185.2014.933957.
- Matsuura T., Sutcliffe J.S., Fang P., Galjaard R.J., Jiang Y.H., Benton C.S., ... Beaudet A.L. De novo truncating mutations in E6-AP ubiquitin-protein ligase gene (UBE3A) in Angelman syndrome. *Nat. Genet.* 1997;15:74-77. DOI 10.1038/ng0197-74.
- Meikle L., Pollizzi K., Egnor A., Kramvis I., Lane H., Sahin M., Kwiatkowski D.J. Response of a neuronal model of tuberous sclerosis to mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors: effects on mTORC1 and Akt signaling lead to improved survival and function. *J. Neurosci.* 2008;28(21):5422-5432. DOI 10.1523/JNEUROSCI.0955-08.2008.
- Missler M., Südhof T.C. Neuexins: Three genes and 1001 products. *Trends Genet.* 1998;14(1):20-26. DOI 10.1016/S0168-9525(97)01324-3.
- Missler M., Zhang W., Rohlmann A., Kattenstroth G., Hammer R.E., Gottmann K., Südhof T.C. Alpha-neuexins couple Ca²⁺ channels to synaptic vesicle exocytosis. *Nature*. 2003;423:939-948. DOI 10.1038/nature01755.
- Okamoto N., Kubota T., Nakamura Y., Murakami R., Nishikubo T., Tanaka I., ... Uchino S. 22q13 microduplication in two patients with common clinical manifestations: A recognizable syndrome? *Am. J. Med. Genet. Part A*. 2007;143(23):2804-2809. DOI 10.1002/ajmg.a.31771.
- Pacey L.K.K., Heximer S.P., Hampson D.R. Increased GABA(B) receptor-mediated signaling reduces the susceptibility of fragile X knockout mice to audiogenic seizures. *Mol. Pharmacol.* 2009;76(1):18-24. DOI 10.1124/mol.109.056127.posits.
- Peça J., Feliciano C., Ting J.T., Wang W., Wells M.F., Venkattraman T.N., ... Feng G. Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction. *Nature*. 2011;472(7344):437-442. DOI 10.1038/nature09965.
- Pei J.J., Hugon J. mTOR-dependent signalling in Alzheimer's disease. *J. Cell. Mol. Med.* 2008;12(6B):2525-2532. DOI 10.1111/j.1582-4934.2008.00509.x.
- Phelan M.C., Rogers R.C., Saul R.A., Stapleton G.A., Sweet K., McDermid H., ... Kelly D.P. 22Q13 deletion syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 2001;101(2):91-99. DOI 10.1002/1096-8628(20010615)101:2<91::AID-AJMG1340>3.0.CO;2-C.
- Ricciardi S., Boggio E.M., Grosso S., Lonetti G., Forlani G., Stefanelli G., ... Broccoli V. Reduced AKT/mTOR signaling and protein synthesis dysregulation in a Rett syndrome animal model. *Hum. Mol. Genet.* 2011;20(6):1182-1196. DOI 10.1093/hmg/ddq563.
- Riday T.T., Dankoski E.C., Krouse M.C., Fish E.W., Walsh P.L., Han J.E., ... Malanga C.J. Pathway-specific dopaminergic deficits in a mouse model of Angelman syndrome. *J. Clin. Invest.* 2012;122(12):4544-4554. DOI 10.1172/JCI61888.
- Roussignol G., Ango F., Romorini S., Tu J.C., Sala C., Worley P.F., ... Fagni L. Shank expression is sufficient to induce functional dendritic spine synapses in aspiny neurons. *J. Neurosci.* 2005;25(14):3560-3570. DOI 10.1523/JNEUROSCI.4354-04.2005.
- Sato A. mTOR, a potential target to treat autism spectrum disorder. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2016;15(5):533-543. DOI 10.2174/1871527315666160413120638.
- Segal R.A., Greenberg M.E. Intracellular signaling pathways activated by neurotrophic factors. *Annu. Rev. Neurosci.* 1996;19:463-489. DOI 10.1146/annurev.ne.19.030196.002335.
- Shcheglovitov A., Shcheglovitova O., Yazawa M., Portmann T., Shu R., Sebastiano V., ... Dolmetsch R.E. SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature*. 2013;503(7475):267-271. DOI 10.1038/nature12618.
- Sheng M., Kim E. The Shank family of scaffold proteins. *J. Cell Sci.* 2000;113(1):1851-1856.
- Singh S.K., Eroglu C. Neuroligins provide molecular links between syndromic and nonsyndromic autism. *Sci. Signal.* 2013;6(283):re4. DOI 10.1126/scisignal.2004102.
- Südhof T.C. Neuroligins and neuexins link synaptic function to cognitive disease. *Nature*. 2008;455(7215):903-911. DOI 10.1038/nature07456.
- Tabuchi K., Blundell J., Etherton M.R., Hammer R.E., Liu X., Powell C.M., Südhof T.C. A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice. *Science*. 2007;318(5847):71-76. DOI 10.1126/science.1146221.
- Troca-Marin J.A., Alves-Sampaio A., Montesinos M.L. Deregulated mTOR-mediated translation in intellectual disability. *Prog. Neurobiol.* 2012;96(2):268-282. DOI 10.1016/j.pneurobio.2012.01.005.

- Tsai P., Sahin M. Mechanisms of neurocognitive dysfunction and therapeutic considerations in tuberous sclerosis complex. *Curr. Opin. Neurol.* 2011;24(2):106-113. DOI 10.1097/WCO.0b013e32834451c4.
- Varoqueaux F., Aramuni G., Rawson R.L., Mohrmann R., Missler M., Gottmann K., ... Brose N. Neuroligins determine synapse maturation and function. *Neuron.* 2006;51(6):741-754. DOI 10.1016/j.neuron.2006.09.003.
- Veenstra-VanderWeele J., Blakely R.D. Networking in autism: leveraging genetic, biomarker and model system findings in the search for new treatments. *Neuropsychopharmacology.* 2012;37(1):196-212. DOI 10.1038/npp.2011.185.
- Wong M. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibition as a potential antiepileptogenic therapy: From tuberous sclerosis to common acquired epilepsies. *Epilepsia.* 2010;51(1):27-36. DOI 10.1111/j.1528-1167.2009.02341.x.
- Wu J., De Theije C.M.G., Da Silva S.L., Van Der Horst H., Reinders M.T.M., Broersen L.M., ... Kraneveld A.D. mTOR plays an important role in cow's milk allergy-associated behavioral and immunological deficits. *Neuropharmacology.* 2015;97:220-232. DOI 10.1016/j.neuropharm.2015.04.035.
- Xiong Q., Oviedo H.V., Trotman L.C., Zador A.M. PTEN regulation of local and long-range connections in mouse auditory cortex. *J. Neurosci.* 2012;32(5):1643-1652. DOI 10.1523/JNEUROSCI.4480-11.2012.
- Yoo H. Genetics of autism spectrum disorder: current status and possible clinical applications. *Exp. Neurobiol.* 2015;24(4):257-272. DOI 10.5607/en.2015.24.4.257.
- Zhou J., Parada L.F. PTEN signaling in autism spectrum disorders. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2012;22(5):873-879. DOI 10.1016/j.conb.2012.05.004.
- Ziemssen T., Kumpfel T., Klinkert W.E.F., Neuhaus O., Hohlfeld R. Glatiramer acetate-specific T-helper 1- and 2-type cell lines produce BDNF: implications for multiple sclerosis therapy. *Brain-derived neurotrophic factor.* *Brain.* 2002;125(11):2381-2391. DOI 10.1093/brain/awf252.
- Zoghbi H.Y., Bear M.F. Synaptic dysfunction in neurodevelopmental disorders associated with autism and intellectual disabilities. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012;4(3):a009886. DOI 10.1101/cshperspect.a009886.
- Zweier C., de Jong E.K., Zweier M., Orrico A., Ousager L.B., Collins A.L., ... Rauch A. CNTNAP2 and NRXN1 are mutated in autosomal-recessive Pitt-Hopkins-like mental retardation and determine the level of a common synaptic protein in *Drosophila*. *Am. J. Hum. Genet.* 2009;85(5):655-666. DOI 10.1016/j.ajhg.2009.10.004.