

*Эта работа посвящается  
выдающемуся ученому  
и моему Учителю и Наставнику  
Льву Павловичу Овчинникову*

## **ИНТЕГРИРОВАННЫЙ ОТВЕТ НА СТРЕСС ПРИ НЕЙРОННЫХ ПАТОЛОГИЯХ И В НОРМЕ**

©2022 г.

**Н. Л. КОРНЕЕВА**

*Louisiana State University Health Science Center, Shreveport,  
LA 71103, USA*

I. Введение. II. Трансляционный путь ISR. III. ISR-пути с транскрипционной и белковой активностью. IV. Киназы и фосфатазы eIF2 $\alpha$ . V. Роль ISR в реакциях на клеточные стрессы. VI. Клинические проявления ISR при нейронных патологиях. VII. Роль ISR в нейронной пластичности и поведении. VIII. Патологии, связанные с мутациями у членов семьи eIF2. IX. Фармакологические манипуляции ISR. X. Заключение.

### **I. ВВЕДЕНИЕ**

Интегрированный ответ на стресс (ISR) – это эволюционно консервативный механизм выживания у всех живых организмов, от дрожжей до млекопитающих [1]. Ключевым событием в активации ISR

---

*Принятые сокращения:* AD – болезнь Альцгеймера; ALS – боковой амиотрофический склероз; ATF4 – фактор транскрипции, связывающий элемент цАМФ 4; BiP – связывающий белок иммуноглобулина или белок, регулируемый глюкозой 78 кДа; CHOP – задержка роста и повреждение ДНК/белок гомологии C/EBP (также GADD153); CJD – болезнь Крейтцфельда–Якоба; eIF – фактор инициации трансляции; ER – эндоплазматический ретикулум; FTD – лобно-височная деменция; GADD34 – белок 34, вызывающий остановку роста и индуцируемый повреждением ДНК; GCN2 – недерепрессируемая 2-киназа общего контроля; HD – болезнь Хантингтона; ISR, интегрированный ответ на стресс; ISRIB – ингибитор интегрированного ответа на стресс; PD, болезнь Паркинсона; PERK – PKR-подобная киназа эндоплазматического ретикулума; PKR – протеинкиназа R; АФК – активные формы кислорода; SG – стресс-гранулы; TC – тройственный комплекс; TIA-1 – внутриклеточный антиген 1 Т-клеток; uORF – короткая открытая рамка считывания, находящаяся перед основной рамкой считывания; UPR – ответ на несвернутые белки; НТО – нетранслируемый регион.

*Адрес для корреспонденции:* Корнеева Надежда, nadejda.korneeva@lsuhs.edu

является фосфорилирование субъединицы  $\alpha$  фактора инициации трансляции 2 (eIF2 $\alpha$ ), которое подавляет общий синтез белка, но стимулирует трансляцию определенных мРНК. Это запускает каскад событий, необходимых для поддержки функций клеток во время стресса и восстановления. Однако чрезмерно активированный или продолжительный ISR может привести к изменению белкового синтеза, а также к дисфункции эндоплазматического ретикулума (ER) и митохондрий, заставляя клетки вступать в стадию старения или подвергаться апоптозу. Таким образом, тяжесть стресса и продолжительность ISR определяют, будет ли клетка адаптироваться к стрессовым условиям и выживать или умрет. Во время активации интегрированного стрессового ответа существует несколько взаимозависимых путей, связанных с трансляционной, транскрипционной и белковой активностями, которые влияют на судьбу клеток (рис. 1). Трансляционный путь регулируется фосфорилированием eIF2 $\alpha$ , которое индуцирует: (i) подавление общей трансляции; (ii) стимуляцию трансляции селективных мРНК, включая мРНК, кодирующие факторы транскрипции ATF4 и ATF5. Транскрипционный путь запускается новосинтезированными факторами транскрипции, что приводит к экспрессии новых мРНК. Некоторые из этих мРНК могут транслироваться в присутствии eIF2 $\alpha$ -P, но для других мРНК может потребоваться дефосфорилирование eIF2 $\alpha$ -P и восстановление общей трансляции. Белковый путь включает в себя активность

Рис. 1: ISR пути, связанные с трансляционной, транскрипционной и белковой активностями.

*Трансляционный путь* регулируется фосфорилированием eIF2 $\alpha$ , которое подавляет общую трансляцию, но стимулирует трансляцию селективных мРНК, включая мРНК, кодирующие факторы транскрипции ATF4 и ATF5.

*Транскрипционный путь* запускается новосинтезированными факторами транскрипции, что приводит к экспрессии новых мРНК.

*Белковый путь* включает в себя активность новосинтезированных белков, таких как шапероны, белки участвующие в аутофагии, а также в укладке и созревании белков и т. д. На этой стадии ISR предназначен для восстановления надлежащего гомеостаза белка, адаптации к стрессу, формированию памяти, и восстановлению после стресса (путь указанный слева).

Во время продолжительного или сильного стресса факторы транскрипции ATF4 и CHOP запускают синтез eIF2 $\alpha$  фосфатазы, что приводит к дефосфорилированию eIF2 $\alpha$  и способствует восстановлению трансляции (путь указанный справа). Увеличение скорости синтеза белка может приводить к накоплению белковых агрегатов, которые в конечном итоге вызывают клеточное старение или апоптоз. Так же длительное подавление белкового синтеза во время фосфорилирования eIF2 $\alpha$  приводит к дефектам в продукции белков синапсов.

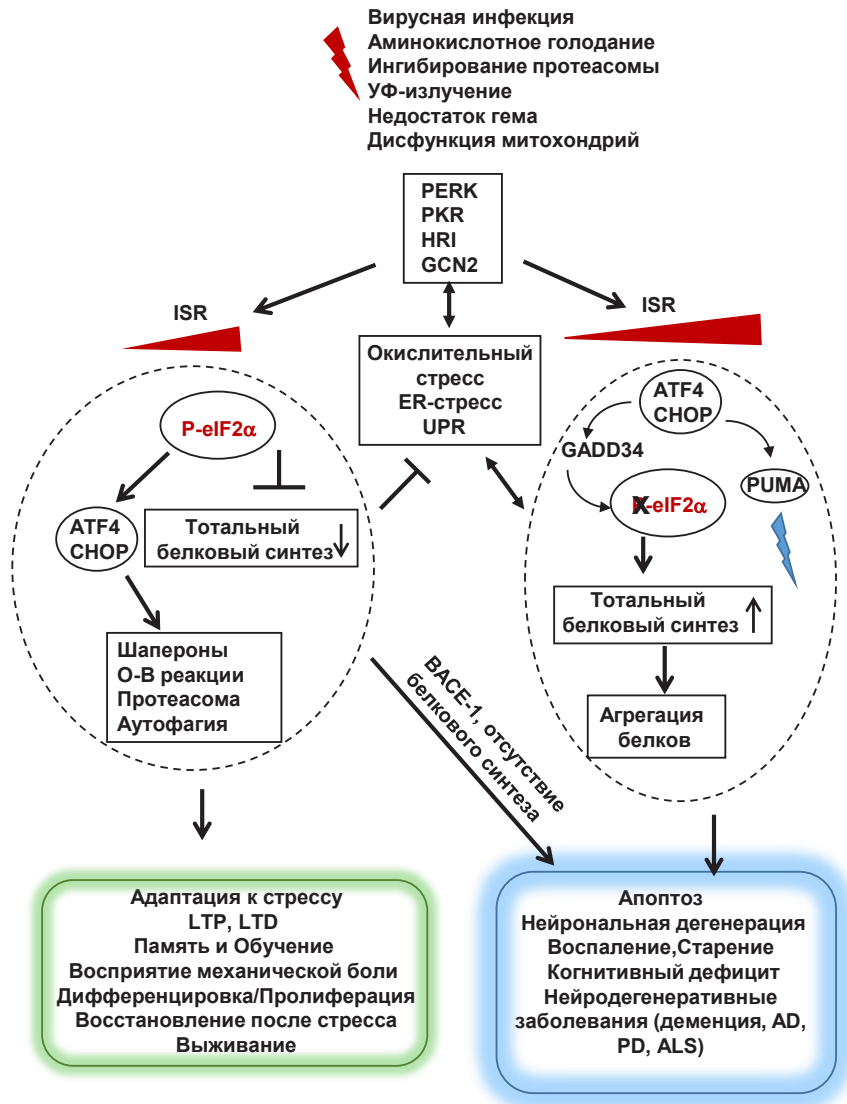


Рис. 1: Попись к рис. 1 дана слева.

новосинтезированных белков, таких как шапероны, белки участвующие в аутофагии, а также в укладке и созревании белков, eIF2 $\alpha$  фосфатаза, синаптические белки и т. д. Существует несколько замечательных обзоров, отражающих текущее понимание роли ISR в физиологических и патологических процессах [2–4]. В этом обзоре мы сосредоточимся на основных механизмах ISR-индуцированного трансляционного репрограммирования, которые способствуют изменению сигналов мозга, лежащих в основе нейронной патологии, а также в модификации восприятия и поведения.

## II. ТРАНСЛЯЦИОННЫЙ ПУТЬ ISR

### ИНИЦИАЦИЯ ТРАНСЛЯЦИИ мРНК В НОРМАЛЬНЫХ И СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

Инициация трансляции – один из наиболее регулируемых этапов синтеза белка. Он включает в себя последовательную сборку комплекса инициации (43S, 48S и 80S) посредством связывания рибосомных субъединиц с другим классом факторов инициации (eIF1–eIF6) и мРНК (рассмотрено в [5]). eIF2 представляет собой комплекс, состоящий из субъединиц eIF2 $\alpha$  (*eIF2S1*), eIF2 $\beta$  (*eIF2S2*) и eIF2 $\gamma$  (*eIF2S3*). Эти субъединицы присутствуют во всех эукариотических клетках и являются высококонсервативными. На этапе инициации трансляции eIF2 образует тройственный комплекс (ТС) с инициаторной tRNA<sup>iMet</sup> и ГТФ, eIF2•ГТФ•tRNA<sup>iMet</sup>. ТС связывает 40S рибосомную субъединицу, образуя инициаторный комплекс 43S. Другие факторы инициации, такие как eIF1, 1A и 3, способствуют образованию преинициаторного комплекса 43S (см. обзор [6]).

Следующий шаг, образование 48S комплекса, который включает в себя присоединение мРНК к преинициаторному комплексу 43S, является лимитирующим этапом при нормальных условиях (то есть при отсутствии стресса, вирусной инфекции, недостатка питательных веществ или кислорода, химического отравления и т. д.). Он катализируется группой факторов eIF4: eIF4E, кэп-связывающий белок; eIF4A, АТФ-зависимая РНК-хеликаза; и eIF4G, белок-платформа, который связывает большинство факторов, участвующих в присоединении мРНК, и доставляет их к субъединице 40S посредством связывания с eIF3 [7, 8]. Эти факторы обеспечивают распознавание 5'-конца мРНК (через eIF4E•кэп) и АТФ-зависимое разворачивание вторичной структуры в 5'-НТО (посредством активности eIF4A совместно с eIF4B и eIF4H), что необходимо для образования 48S инициаторного комплекса и продвижения рибосомы вдоль мРНК

для определения местоположения иницирующего кодона AUG [9, 10]. Как только инициаторная tRNAi<sup>Met</sup> встречается с AUG, eIF5, белок, обладающий ГТФ-азной активностью, присоединяется к комплексу 48S, что запускает гидролиз ГТФ, связанного с eIF2, и высвобождение комплекса eIF2•ГДФ. Затем 60S рибосомная субъединица присоединяется к 48S инициаторному комплексу, образуя 80S трансляционный комплекс. При образовании 80S ГТФ-азная активность eIF5B вызывает высвобождение факторов eIF1, 1A, 4F и 3 из комплекса с мРНК и обеспечивает правильный переход от стадии инициации к стадии элонгации трансляции [6]. Трансляция мРНК может быть повторно иницирована с помощью новых 43S и 60S и, таким образом, мРНК может быть связана с несколькими 80S рибосомами, образующими полисомный комплекс.

Факторы, высвобождаемые при образовании 48S и 80S, рециркулируют и участвуют в новом цикле инициации трансляции. Чтобы сформировать новый ТС комплекс, eIF2, связанный с eIF5 и ГДФ, должен быть высвобожден, а затем ГДФ должен быть заменен на ГТФ. Все это осуществляется фактором, обладающим гуанин-обменной активностью (GEF), eIF2B, который представляет собой белковый комплекс, состоящий из пяти субъединиц, называемых eIF2B $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$  [11]. Фосфорилирование самой большой каталитической субъединицы eIF2B (eIF2B $\epsilon$ ) по нескольким сайтам может усиливать или подавлять его активность [12]. В различных стрессовых условиях eIF2 $\alpha$  фосфорилируется по Ser-51, что резко увеличивает сродство eIF2•ГДФ к eIF2B, предотвращая его GEF активность. В то же время уровень свободного eIF2B, доступного для преобразования неактивного eIF2•ГДФ в активный комплекс eIF2•ГТФ, является лимитирующим этапом инициации трансляции в стрессовых условиях. Поскольку клеточный уровень eIF2B намного ниже, чем уровень eIF2, фосфорилированный eIF2 $\alpha$  удерживает доступный eIF2B в комплексе с eIF2•ГДФ, тем самым ограничивая образование новых ТС. Низкая клеточная концентрация ТС предотвращает образование преинициаторного комплекса 43S, что влияет на спектр мРНК, транслируемых посредством отбора стартовых кодонов.

Предпочтение конкретного кодона AUG для инициации, как правило, определяется его близостью к 5'-концу мРНК и окружающей последовательностью. Первый кодон AUG считается «сильным» сайтом инициации трансляции, если он является частью консервативной последовательности (для всех видов животных и растений), которая была обнаружена Мэрилин Козак: 5'-[A/G] CCAUGG-3' (стартовый кодон подчеркнут). Высококонсервативные нуклеотиды, пурин в положении -3 (А или G) и гуанин в положении

+4, способствуют отбору первого кодона AUG для инициации. Если нуклеотиды в этих положениях отличаются от указанных, то иницирующая последовательность считается «слабой», и 40S может продолжать сканирование до тех пор, пока не встретит «сильный» стартовый кодон в 5'НТО мРНК. Этот процесс называется «проскальзывающее сканирование» от английского «leaky scanning». Этап инициации трансляции, требующий разворачивания вторичной структуры 5'НТО в мРНК и рибосомного сканирования вдоль 5'НТО для обнаружения стартового кодона, является наиболее энергоемким этапом, на котором используется гидролиз АТФ. В условиях стресса спрос на АТФ возрастает в связи с реализацией других клеточных процессов. Поэтому в клетках выработался механизм, позволяющий инициировать трансляцию при ограниченном поступлении АТФ. Фосфорилирование eIF2 $\alpha$  и низкая концентрация ТС ограничивают скорость инициации большинства мРНК, но позволяют 40S использовать «слабый» стартовый кодон посредством диффузии или проскальзывающего сканирования, жертвуя точностью выбора сайта начала трансляции. Например, было продемонстрировано, что низкая концентрация ТС позволяет 40S инициировать используя стартовые кодоны отличные от AUG, такие как UUG и CUG, кодирующие лейцин, с помощью другого фактора инициации индуцированного стрессом eIF2A [13].

#### ТРАНСЛЯЦИЯ мРНК С uORF

Кроме того, низкая концентрация ТС облегчает трансляционное репрограммирование мРНК, содержащих короткую открытую рамку считывания (uORF), находящуюся перед основной рамкой считывания. Сообщалось, что примерно 50% мРНК человека и мыши содержат uORF в своих 5'НТО и что в нормальных условиях присутствие uORF связано с ингибированием трансляции с основного канонического стартового кодона [14]. Существует несколько сценариев того, как uORFs могут ингибировать инициацию трансляции с канонического стартового кодона в нормальных условиях. Один из вариантов состоит в том, что рибосома высвобождается из комплекса с мРНК после прочтения последовательности с uORF и таким образом не может повторно инициировать трансляцию со следующего старт-кодона (рис. 2, вариант 1). Второй вариант – когда рибосомы застревают во время стадий элонгации или терминации трансляции последовательности с uORF и, таким образом, предотвращают дальнейшее сканирование рибосом и повторную инициацию в канонической ORF. В некоторых случаях такое ингибирование опосредуется пептидом, синтезируемым на uORF (рис. 2, вариант 2), например, в мРНК,

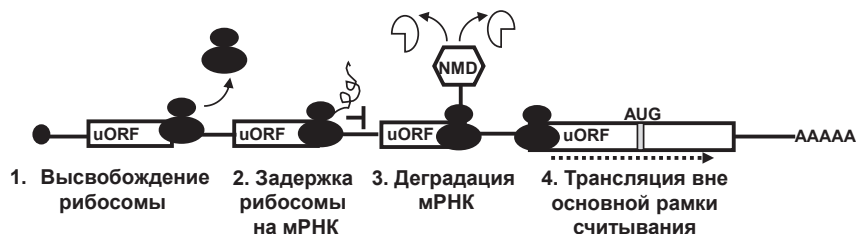


Рис. 2: Четыре сценария воздействия uORF на инициацию трансляции в нормальных условиях.

*Вариант 1*, рибосома после терминации uORF высвобождается от мРНК и, таким образом, не может повторно инициировать на нижележащем стартовом кодоне.

*Вариант 2*, рибосомы останавливаются на стадиях элонгации или терминации трансляции uORF и, таким образом, предотвращают дальнейшее сканирование и повторную инициацию на канонической ORF.

*Вариант 3*, трансляция uORF запускает распад мРНК по механизму NMD.

*Вариант 4*, после прочтения первой uORF, 40S продолжает сканирование и повторно иницирует на следующей uORF, находящийся вне рамки с канонической ORF (серая рамка с AUG наверху).

которые кодируют рецептор ретиноевой кислоты  $\beta 2$ ,  $\beta 2$ -адренергический рецептор и S-адено-силметиониндекарбоксилазу (обзор в [15]). Третий сценарий – когда трансляция с uORF запускает деградикацию мРНК по механизму nonsense-опосредованного распада (NMD), как это было продемонстрировано на *S. cerevisiae* и на делящихся дрожжах *S. pombe* (рис. 2, вариант 3) (обзор в [16]). И четвертый сценарий – после трансляции первой uORF, 40S продолжает сканирование и повторно иницирует следующую uORF, которая перекрывается с основной рамкой считывания (рис. 2, вариант 4). Однако при низкой концентрации ТС 40S способен достигать канонического стартового кодона посредством проскальзывающего сканирования и инициировать трансляцию некоторых регулируемых стрессом мРНК [17], таких как мРНК ATF4 (GCN4 у дрожжей) и ATF5 [18] (рис. 3). Таким образом, основное событие ISR, фосфорилирование фактора инициации трансляции eIF2 по Ser-51 его  $\alpha$ -субъединицы, приводит к ослаблению глобального синтеза белка, но к стимуляции трансляции специфической мРНК, включая ATF4 [19–21], ATF5 [22] у млекопитающих и GCN4 в дрожжах [18]. Эти мРНК содержат uORF в своем 5'НТО и используют механизм отложенной повторной инициации трансляции. Недавно были открыты два новых фактора, eIF2D и DENR, которые участвуют в трансляционной активации

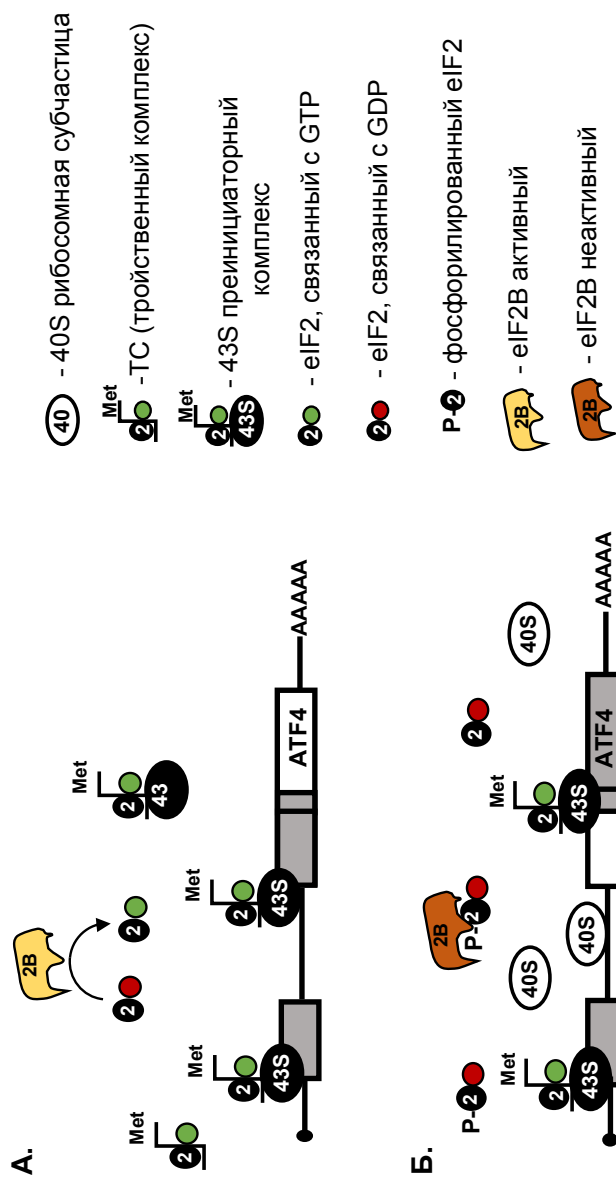


Рис. 3. Инициация трансляции в нормальных и стрессовых условиях.

**А.** В нормальных условиях концентрация ТС высока. Это приводит к образованию 43S преинициаторного комплекса и инициации трансляции. После трансляции первой uORF 40S может взаимодействовать с доступным ТС и начать трансляцию следующей uORF со стартового кодона, который находится вне рамки с каноническим стартовым кодоном мРНК ATF4. eIF2B преобразует комплекс eIF2-GDP в eIF2-GTP для поддержания высокого уровня ТС.

**Б.** В стрессовых условиях eIF2B оказывается в ловушке, взаимодействуя с комплексом с p-eIF2-GDP, что снижает концентрацию ТС и его связывание с 40S. При низкой концентрации ТС 43S способен достигать канонического стартового кодона посредством просканирующего сканирования и инициировать трансляцию мРНК ATF4 (GCN4 в дрожжах).



ATF4 мРНК в дрозофиле и в человеческих клетках HAP1, а также в различных формах рака [23–25]. У дрозофилы eIF2D защищает фоторецепторы от дегенерации, вызванной стрессом эндоплазматического ретикулума (ER-стресс) [24].

### III. ISR-ПУТИ С ТРАНСКРИПЦИОННОЙ И БЕЛКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Новосинтезированные факторы транскрипции ATF4 и ATF5 перемещаются в ядро и способствуют транскрипции генов, обычно участвующих в адаптации к стрессу или устранении последствий стресса для восстановления физиологического гомеостаза [26–28]. Транскрипционная активность ATF4 регулируется посредством взаимодействия с другими факторами транскрипции и их кофакторами (см. обзор [29]). ATF4 запускает экспрессию GADD153/CHOP мРНК [19, 30], которая затем трансляционно активируется в условиях фосфорилированного eIF2 $\alpha$  [26, 31]. CHOP – это фактор транскрипции, который запускает экспрессию нескольких мРНК, участвующих в росте, регенерации, дифференцировке и апоптозе клеток [32–34]. На этой «ранней» стадии ISR передача сигналов предназначена для восстановления надлежащего гомеостаза белка путем стимулирования трансляции специфических мРНК и активации путей, генерирующих молекулярные шапероны, участвующие в укладке белка (рис. 1, путь указанный слева).

Трансляция некоторых вновь синтезированных мРНК требует восстановления механизма трансляции. Сообщалось, что на «поздней» ISR стадии уровень фосфорилированного eIF2 $\alpha$  значительно снижается [35, 36]. На этой стадии факторы транскрипции ATF4 и CHOP индуцируют экспрессию мРНК, кодирующую GADD34 – фосфатазу eIF2 $\alpha$  [36, 37]. Экспрессия GADD34 приводит к дефосфорилированию eIF2 $\alpha$  и способствует восстановлению трансляции. Однако, если восстановление трансляции происходит до снятия ER стресса, тогда опосредованное ATF4-CHOP-GADD34 увеличение скорости синтеза белка может приводить к накоплению белковых агрегатов, которые в конечном итоге вызывают клеточное старение или апоптоз [38] (рис. 1, путь указанный справа). Таким образом, путь ATF4-CHOP способен переключать ISR-механизм, со способствующего выживанию на апоптотический (рис. 1). Также сообщалось, что продолжительная активация ISR вовлечена в индукцию воспаления, поскольку фактор транскрипции CHOP запускает экспрессию провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-6 в реперфузированной ткани [39].

#### IV. КИНАЗЫ И ФОСФАТАЗЫ eIF2 $\alpha$

Фосфорилирование eIF2 $\alpha$  является ключевым событием в активации интегрированного ответа на стресс. eIF2 $\alpha$  фосфорилируется в ответ на различные стрессовые состояния, включая ER- и окислительный стресс, ограничение питательных веществ, протеотоксический шок и вирусную инфекцию. eIF2 $\alpha$  может фосфорилироваться четырьмя киназами: (1) PKR, протеинкиназа R, которая активируется двухцепочечной РНК, возникающей при вирусной инфекции; (2) PERK, PKR-подобная киназа эндоплазматического ретикулума (ER), активируется как часть ответа на накопление несвёрнутых белков при ER-стрессе (UPR, unfolded protein response); (3) HRI, гем-регулируемая ингибиторная киназа, активируется дефицитом железа, арсенидом, тепловым шоком или осмотическим стрессом в предшественниках эритроидов; и (4) GCN2, недерепрессируемая киназа 2 общего контроля, активируется в ответ на недостаток аминокислот, УФ-облучение, ингибирование протеасомы и во время столкновений рибосом (от англ. ribosome collisions) [40, 41]. Эти киназы содержат консервативные киназные домены и различные регуляторные домены, которые обнаруживают сигнал стресса и индуцируют соответствующую димеризацию киназ и транс-автофосфорилирование, что приводит к их активации [42].

Кроме того, существуют две гетеродимерные фосфатазы eIF2 $\alpha$ , содержащие общую субъединицу каталитического ядра, протеинфосфатазу 1 (PP1c), и одну из регуляторных субъединиц: индуцируемую стрессом PPP1R15A/R15A, также известную как GADD34 [37], или конститутивную PPP1R15B (R15B), также известную как конститутивный репрессор фосфорилирования eIF2 $\alpha$ -CReP [43]. CReP поддерживает базальный уровень фосфорилирования eIF2 $\alpha$  в нормальных условиях. GADD34 представляет собой индуцируемую стрессом регуляторную субъединицу комплекса голофосфатазы, которая дефосфорилирует eIF2 $\alpha$  во время ISR. Экспрессия GADD34 зависит от активности PERK [26, 37]. GADD34 является частью механизма отрицательной обратной связи, который способствует восстановлению трансляции после прекращения стресса для восстановления физиологического гомеостаза или способствует протеотоксическому шоку, ведущему к апоптозу клеток в условиях хронического стресса [36].

## V. РОЛЬ ISR В РЕАКЦИЯХ НА КЛЕТОЧНЫЕ СТРЕССЫ

### UPR И НЕЙРОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В настоящее время распространена концепция, согласно которой чрезмерно активированный ISR из-за нарушения гомеостаза белков является общим патологическим пусковым механизмом развития и прогрессирования нейронных заболеваний (обзор в [44]). Многие нейродегенеративные заболевания, включая деменцию, болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Паркинсона (PD), болезнь Хантингтона (HD), рассеянный склероз (MS), боковой амиотрофический склероз (ALS) и таупатии, связаны с накоплением аномально свернутых и/или окисленных белков и превращением растворимых белков в нерастворимые агрегаты, что вызывает протеотоксический стресс в эндоплазматическом ретикулуме и активацию UPR [45–47]. Интересно, что раннее исследование раковых клеток *in vitro* продемонстрировало, что многие типы стрессов, такие как тепловой шок, истощение АТФ, окислительный стресс, перегрузка  $\text{Ca}^{2+}$  и лечение йодацетамидом, вызывают агрегацию белка, ведущую к накоплению нерастворимых агрегатов [48]. Это открытие предполагает, что вызванная стрессом агрегация белков является универсальным механизмом, используемым клетками для борьбы со стрессом.

Эндоплазматический ретикулум – это место синтеза, свертывания, транспорта и секреции белка. Его правильное функционирование зависит от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , поступления кислорода и окислительно-восстановительного гомеостаза. Белки-шапероны, такие как BiP (он же Grp78 или HSPA5), Grp94, кальретикулин, калнексин и протеин-дисульфид-изомераза (DPI) требуют высокой концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  для правильного функционирования в ER. Окислительно-восстановительные условия регулируют образование дисульфидных связей во время процесса сворачивания белка. Развернутые или неправильно свернутые белки накапливаются в ER из-за невозможности доставки в аппарат Гольджи. Патологические стимулы, такие как окислительный стресс, недостаток питательных веществ или энергии, вызывают ER-стресс из-за накопления белков и запускают два механизма восстановления гомеостаза: UPR и аутофагию. UPR контролирует уровень белка в ER посредством регулирования скорости синтеза и свертывания белка. Аутофагия – это консервативный механизм, позволяющий деградацию и удаление ненужных или нефункциональных белков и органелл через лизосом-зависимый механизм.

UPR имеет три основных механизма для поддержания гомеостаза ER, основанные на активности трех белков: PERK, активирующего

фактора транскрипции-6 (ATF6) и инозитол-зависимый фермент 1 (IRE1, Inositol-requiring enzyme 1). В нормальных условиях эти три трансмембранных белка связаны с BiP, который удерживает их в неактивном состоянии. При накоплении неправильно свернутых белков в ER PERK, ATF6 и IRE1 диссоциируют от BiP, таким образом активируя три ветви UPR. Это приводит к снижению синтеза белка (через PERK-eIF2 $\alpha$ -P), увеличению способности ER в свёртывании белков (через ATF6) и к удалению неправильно свернутых белков из ER посредством аутофагии (через IRE1 и PERK). Активация всех трех ветвей вызывает активацию транскрипции. Но ветвь PERK-eIF2 $\alpha$ -P также регулирует гомеостаз белка, подавляя общий синтез белка и способствуя аутофагии и деградации белка. Активация UPR индуцирует экспрессию генов, которые кодируют белки, участвующие в сворачивании протеинов, в аутофагии и везикулярном транспорте, в деградации неправильно свернутых белков (ER-ассоциированная деградация, ERAD), метаболизме аминокислот, синтезе липидов и в контроле окислительно-восстановительного гомеостаза в ER (см. обзор [44]). Активированный PERK-eIF2 $\alpha$ -P путь в UPR активирует гены, связанные с аутофагией (ATG), особенно экспрессию Atg12, превращает LC3-I в липидированную форму, LC3-II, и индуцирует образование аутофагосом [49]. Было продемонстрировано, что при тяжелой гипоксии ATF4 транскрипционно активирует ген, кодирующий один из ключевых компонентов аутофагосомной мембраны, LC3B [50].

#### ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И НЕЙРОННАЯ ПАТОЛОГИЯ

Многие нейродегенеративные расстройства, включая AD, PD и ALS, связаны с дисфункцией митохондрий, повышенным образованием свободных радикалов и окислительным стрессом. ISR играет важную роль в поддержании баланса между окислительно-восстановительным гомеостазом и гомеостазом белка. Этот механизм адаптации к окислительному стрессу сохраняется у разных видов, включая дрожжи, червей, грызунов и людей [27, 51, 52]. Для устранения окислительного стресса ISR использует три взаимозависимых пути: он снимает ER-стресс посредством индукции UPR, он снижает потребление АТФ за счет снижения скорости синтеза белка и предотвращает увеличение образования активных форм кислорода (ROS). Поскольку ER и митохондрии расположены в непосредственной близости, предполагается, что активация оси UPR-PERK-eIF2 $\alpha$ -P участвует в регуляции митохондриальных ROS. При окислительном стрессе активированная PERK-eIF2 $\alpha$ -P ветвь временно ингибирует общую трансляцию, что позволяет снизить

уровень белковой нагрузки в ER и предотвращает образование aberrantных дисульфидных связей, которые являются признаком неправильно свернутых белков. Более низкий уровень белковой нагрузки также снижает отток  $Ca^{2+}$  из ER в цитозоль в результате стресса. Во-вторых, снижение потребности в АТФ во время трансляции предотвращает истощение клеточного АТФ и, таким образом, снижает скорость митохондриального окислительного фосфорилирования, продуцирующего внутриклеточные активные формы кислорода [53]. Было высказано предположение, что активированные PERK и GCN2 регулируют ISR пути, способствующие выживанию, во время окислительного стресса, в отличие от PKR, который способствует апоптозу, индуцированному ROS в различных клетках. HRI защищает первичные предшественники эритроцитов при окислительном стрессе.

#### СТРЕСС-ГРАНУЛЫ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ISR

Растущее количество исследований указывает на то, что стресс-гранулы (SG), которые содержат мРНК-белковые комплексы (мРНП), могут участвовать в множестве нейродегенеративных расстройств, включая AD, ALS, мультисистемную протеинопатию, болезнь Педжета и лобно-височную долеую дегенерацию [54].

В эукариотических клетках правильная организация и локализация мРНК важны для эффективного функционирования. Нейронные клетки демонстрируют строгое разделение синтеза белка между дендритами, аксонами и сомой клеток. Было идентифицировано более 200 мРНК, присутствующих в дендритной и аксональной частях нейронов. В дендритах локальная трансляция в синапсах лежит в основе стойких изменений нейрональной передачи, что имеет решающее значение для синаптической пластичности и, следовательно, обучения и памяти [55]. Некоторые из дендритных мРНК трансляционно подавлены большую часть времени и хранятся в нейрональных РНК-гранулах. Эти мРНК могут проходить несколько раундов трансляции и репрессии в зависимости от синаптической активности. Точно так же значительная часть аксональной мРНК хранится в репрессированных комплексах и трансляционно активируется при повреждении аксонов или в ответ на управляющие сигналы в развивающихся нейронах. В периферической нервной системе активация аксональной мРНК приводит к локальному синтезу белков, необходимых для передачи ретроградных сигналов повреждений и регенеративного роста [56]. В нейронах существует по крайней мере три типа гранул мРНП, которые регулируют трансляцию, локализацию и обмен мРНК: стрессовые гранулы (SG), которые временно удерживают мРНК во время стресса [57], гранулы РНК, которые участвуют в транспорте нейронов [58], и

P-тельца (P-bodies, processing bodies), которые направляют мРНК на деградацию [59]. Несмотря на различный состав и функции, эти РНК гранулы имеют общие черты: они содержат нетранслируемые мРНК и некоторые РНК-связывающие белки, которые перемещаются между различными типами РНК гранул, и, наконец, они взаимодействуют друг с другом, превращая один тип гранул РНК в другой [60].

После активации ISR фосфорилирование eIF2 $\alpha$  приводит к выводу мРНК из трансляции в стрессовые гранулы. SG состоят из комплексов мРНК, которые временно хранят нетранслируемую мРНК, факторы инициации и РНК-связывающие белки, в том числе коровые белки SG: TIA-1 (РНК-связывающий белок, называемый внутриклеточным антигеном 1 T-клеток), TIAR (белок, связанный с TIA-1), TTP (тристетрапролин) и G3BP1 (белок 1, активирующий ГТФазу Ras). После созревания SG присоединяют другие белки, участвующие в реакции на стресс. В целом SG функционируют как цитопротекторные органеллы, предназначенные для предотвращения необратимых клеточных повреждений во время стресса. После снятия стресса и дефосфорилирования eIF2 $\alpha$  SG разбираются и высвобождают мРНК и факторы трансляции для нового раунда трансляции или перенаправляют мРНК в P-тельца для деградации. В нейронах SG обычно накапливаются в соме и дендритах в виде небольших РНК-белковых комплексов в ответ на стресс. Однако SG могут стать нейротоксичными во время сверхактивного или длительного ISR. По мере развития неврологических патологий в головном мозге SG в нейрональных клетках увеличиваются в размерах и количестве. Один из основных компонентов SG, TIA1, был обнаружен в патологических областях мозга пациентов с AD, HD, болезнью Крейтцфельдта-Якоба (CJD), лобно-височной деменцией (FTD) и спинномышечной атрофией, а также на животных моделях этих заболеваний. [54, 61–63]. Таупатия или накопление агрегатов тау-белка в головном мозге является признаком более 20 неврологических расстройств. Было высказано предположение, что взаимодействие между TIA1 и тау-белка, которые совместно накапливаются в головном мозге человека и на животной модели таупатий, способствует дегенерации нейронов [63, 64]. Исследования показывают, что связывание тау-белка с TIA-1 способствует неправильному сворачиванию тау-белка, сборке SG и потере аксональных окончаний в нейронах гиппокампа, что приводит к апоптозу нейронов [64]. Считается, что взаимодействие между неправильно локализованным тау-белком (свободным или диссоциировавшим от микротрубочек при фосфорилировании) и TIA1, который склонен к агрегации из-за присутствия прионоподобных доменов, богатых полиглицином, вызывает неправильное свора-

чивание тау-белка и образование нерастворимых SG. Более того, было продемонстрировано, что тау также влияет на смещение и скорость стрессовых гранул, ингибируя их ретроградное движение в большей степени, чем антероградное [64]. Подавление образования SG за счет снижения уровня TIA1 или химического ингибирования активации PERK или PKR ведет к подавлению неправильной укладки тау-белка и дегенерации нейронов гиппокампа [64]. Другими патологическими белками, которые, как было продемонстрировано, связаны с SG и с нейронными транспортными гранулами, являются TDP-43 и FUS. Эти белки откладываются в нейронных и глиальных цитоплазматических включениях в посмертном мозге людей с FTD и ALS [61] (также обзор в [65]). Интересно, что белки SG YB-1 или G3BP1, которые конкурируют с TDP-43 или FUS за связывание мРНК, способствуют высвобождению TDP-43 и FUS из мРНК [66].

#### ISR-ИНДУЦИРОВАННОЕ КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ И СМЕРТЬ НЕЙРОНОВ

Длительная активация ISR может в конечном итоге привести к клеточному старению и гибели клеток. В условиях повышенного стресса, когда клетки не могут приспособиться к протеотоксическому шоку из-за длительного UPR ответа и/или повышенного уровня ROS, ISR вызывает клеточное старение или апоптоз клеток посредством активности ATF4, которые приводят к избирательному устранению поврежденных клеток [67]. Было продемонстрировано, что избыточная экспрессия ATF4 приводит к индукции апоптоза нейронов [68] и гибели клеток [38, 67]. Существует по крайней мере три сигнальных пути, по которым ATF4 может вызывать гибель нейронных клеток: (i) через повышенную экспрессию eIF2 $\alpha$ -фосфатазы GADD34, (ii) через экспрессию модулятора апоптоза PUMA, и (iii) через подавление ингибитора апоптоза, XIAP.

Сообщалось, что факторы транскрипции ATF4 и CHOP участвуют в стимулировании индуцированного ER-стрессом апоптоза нейронов и дегенерации нейронов. Во время стресса ATF4-индуцированный фактор CHOP транскрипционно активирует ключевой про-апоптотический белок PUMA [68], что приводит к апоптозу корковых нейронов через активацию про-апоптотического аппарата, включая Вах и каспазы [69] (рис. 1). Было высказано предположение, что путь ATF4–CHOP–PUMA играет ключевую роль в стимулировании дегенерации нейронов вызванной ER-стрессом. В моделях церебральной ишемии экспрессия всех трех белков обнаруживалась в пораженных участках мозга [70–73]. В моделях PD на животных CHOP и PUMA участвовали в гибели дофаминергических нейронов

[74, 75]. В модели мышей с ALS экспрессия PUMA индуцировалась в дегенерирующих мотонейронах, а генетическая делеция PUMA снижала апоптоз мотонейронов [76]. Активация ISR может также снижать уровень анти-апоптотического белка XIAP: было показано, что фосфорилирование eIF2 $\alpha$  ингибирует трансляцию XIAP мРНК, тогда как ATF4 индуцирует деградацию XIAP посредством убиквитинирования [77].

## VI. КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ISR ПРИ НЕЙРОННЫХ ПАТОЛОГИЯХ

Клинические проявления активированного ISR были зарегистрированы при многих нейродегенеративных патологиях, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, ALS, черепно-мозговые травмы, синдром Дауна, таупатии и болезнь Шарко-Мари-Тута [78–81]. Накопление специфических для заболевания нерастворимых неправильно свернутых белковых агрегатов является признаком многих нейродегенеративных заболеваний: фосфорилированный тау-белок и  $\beta$ -амилоидный пептид – при AD,  $\alpha$ -синуклеин – при PD, TDP-43, FUS или супероксиддисмутаза 1 (SOD1) – при ALS и прионный белок (PrP) – при прионном заболевании, таком как CJD.

Считается, что при AD фосфорилированный тау-белок сначала связывается с  $\text{ViP}$  и PERK до образования нейрофибрилярного клубка [82]. Кроме того, было показано, что  $\beta$ -амилоидный пептид накапливается в просвете ER нейронов височных отделов коры головного мозга после смерти пациентов с AD [83]. В культуре первичных нейронов было продемонстрировано, что фосфорилирование eIF2 $\alpha$  коррелирует с повышенной трансляцией мРНК BACE-1, продуцирующей фермент, который генерирует  $\beta$ -амилоидные пептиды [84, 85]. Положительная корреляция между уровнем eIF2 $\alpha$ -P и BACE-1 и амилоидной нагрузкой наблюдалась в посмертных тканях лобной коры пациентов с AD [84]. Кроме того, повышенное фосфорилирование eIF2 $\alpha$  коррелировало с дегенерацией нейронов, наблюдаемой в образцах мозга пациентов с AD [78, 85, 86]. Точно так же высокие уровни ATF4 наблюдались в аксонах и аксоноподобных структурах мозга пациентов с AD [87]. Было высказано предположение, что ATF4 вызывает клеточный апоптоз посредством повышения чувствительности нейронов к окислительному стрессу [88]. В соответствии с этим, нокдаун ATF4 предотвращал потерю нейронов в модели нейродегенерации, индуцированной  $\beta$ -амилоидным пептидом [87]. Другие таупатии, такие как прогрессирующий надъядерный паралич и болезнь Пика, а также FTD и паркинсонизм, связанные с мутациями в тау-белке, также



характеризовались активированной передачей сигналов UPR–PERK [82]. Генетическая делеция PERK в модели мышей с AD снижала дефицит памяти и улучшала долгосрочное потенцирование [86, 89]. При болезни Паркинсона (PD) дофаминергические нейроны черной субстанции, содержащие включения  $\alpha$ -синуклеина, также демонстрировали высокую активность пути PERK–eIF2 $\alpha$ –P [79]. В модели крыс с PD вирусно-опосредованная сверхэкспрессия ATF4 приводила к дегенерации черного и полосатого тела, предположительно за счет активации каспазы 3/7 [90]. В другой экспериментальной модели PD было показано, что агрегаты  $\alpha$ -синуклеина ассоциированы с неправильно свернутым BiP в просвете ER [91]. У дрожжей экспрессия  $\alpha$ -синуклеина блокирует везикулярный транспорт из ER в аппарат Гольджи, вызывая ER-стресс [92]. При ALS активация всех трех ветвей UPR была обнаружена в нейронах спинного мозга пациентов со спорадической и семейной формами заболевания. ER-стресс и окислительный стресс вносят вклад в протеотоксический шок в развитии ALS [93]. В экспериментальной модели ALS мутантный SOD1 образовывал нерастворимые высокомолекулярные агрегаты с BiP, расположенным в просвете ER [94, 95]. Мутантный FUS локализуется совместно с Атаксином-2, полиглутаминовым белком, в мотонейронах пациентов со спорадическим и FUS-связанным семейным ALS и в ER-Гольджи отсеках в культурах нейронных клеток. Более того, Атаксин-2 стимулирует транслокацию мутантного FUS из ядра в цитоплазму, что было связано с ER-стрессом и фрагментацией аппарата Гольджи [96]. Прионные патологии характеризуются накоплением неправильно свернутого прионного белка в ER и гибелью нейронов. Активация ER-стресса и каспазы-12 наблюдалась в нейронных клетках, обработанных неправильно свернутым прионным белком, и в корковых образцах пациентов со спорадической и вариантной болезнью Крейтцфельда-Якоба (CJD). У пациентов с CJD также наблюдалась активированная передача UPR сигналов [97]. Болезнь Хантингтона (HD) характеризуется экспрессией мутантного белка хантингтина, участвующего в аксональном транспорте митохондрий и других везикул. Мутация в гене хантингтина вызывает увеличение количества полиглутаминовых повторов в белке, что влияет на митохондриальный транспорт в аксоне и приводит к нейродегенерации, которая является наиболее тяжелой в полосатом теле. Активация UPR с повышенной экспрессией BiP, CHOP и ERAD наблюдалась в посмертном мозге пациентов с HD и в моделях животных с HD [98, 99].

## ВИ. РОЛЬ ISR В НЕЙРОННОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ И ПОВЕДЕНИИ

Синаптическая пластичность характеризуется способностью нейронов изменять эффективность (усиление или ослабление) соединений между нейронами, позволяя им общаться. Этот процесс лежит в основе обучения и формирования памяти. Устойчивые изменения синаптической силы модулируются белками, синтезируемыми путем локальной трансляции. Активный синтез белка необходим для того, чтобы ассоциативное обучение закрепилось в долговременной памяти [100]. При синаптической стимуляции локальная трансляция в дендритах нейронов приводит к синтезу белков, которые модулируют синаптические связи, формирующие долговременную память (обзор в [101]). ISR играет одну из главных ролей в регуляции пластичности нейронов наряду с другими механизмами трансляции (см. обзор [102]). Перепрограммирование трансляции во время ISR способствует изменению сигналов мозга, лежащих в основе развития определенных сенсорных и поведенческих паттернов, включая восприятие боли и наркоманию.

### ФОРМИРОВАНИЕ ПАМЯТИ

Несколько исследований продемонстрировали связь между ISR и обучением и памятью (см. обзор [102]). Активность ISR участвует в развитии долговременного потенцирования (LTP) и долговременной депрессии (LTD) [103–106]. Существует три механизма, с помощью которых ISR подавляет синаптическую пластичность: (i) посредством eIF2 $\alpha$ -опосредованного ингибирования локальной трансляции; (ii) через ATF4-опосредованную репрессию транскрипционного фактора CREB (cAMP response element binding protein), которая требуется для поздней фазы LTP [100, 107–110], и (iii) посредством повышенной экспрессии олигофренина-1 (OPHN1), Rho-ГТФаза-активирующий белок, вовлеченный в организацию актинового цитоскелета и репрессию AMPA рецептора [103, 111, 112] (также рассмотрено в [2]).

Генетическое подавление GCN2 и PERK или экспрессия eIF2 $\alpha$ , который не может быть фосфорилирован (у гетерозиготных мышей Eif2 $\alpha^{+/S51A}$ , содержащих один мутантный аллель), продемонстрировали измененный состав новосинтезированных синаптических белков и измененное формирование долговременной памяти [86, 104, 113, 114]. В соответствии с этим, удаление PERK в нейронах переднего мозга мышей снижает экспрессию ATF4 и нарушает поведенческую гибкость [115]. Сообщалось, что во фронтальной коре головного мозга больных

шизофренией наблюдаются пониженные уровни PERK и ATF4. На клеточном уровне нокдаун *ATF4* значительно снижает плотность грибовидных дендритных шипиков в культурах нейронов коры и гиппокампа, а также *in vivo* в нейронах гиппокампа взрослых мышей, что указывает на снижение возбуждающих синапсов [116]. Однако чрезмерно активированный ISR также изменяет синаптическую пластичность. У мышей, инфицированных прионами, длительное фосфорилирование eIF2 $\alpha$  подавляет экспрессию синаптических белков. Более того, сверхэкспрессия eIF2 $\alpha$ -фосфатазы GADD34 приводит к восстановлению трансляции и снижению синаптического дефицита в гиппокампе мышей, инфицированных прионами [117].

#### ЗАВИСИМОСТЬ ОТ НАРКОТИКОВ

Несколько исследований продемонстрировали корреляцию между приемом наркотиков и активацией ISR. Амфетамин и сдерживающий стресс вызывают устойчивую экспрессию ATF4 и его мишени – ATF3 в прилежащем ядре крысы (NuAcc) и спинном полосатом теле. Более того, вирусно-опосредованная сверхэкспрессия ATF4 и ATF3 в NuAcc во время введения амфетамина снижало поведенческую реакцию на амфетамин, что предполагает вклад этих белков в развитие толерантности, вызванной амфетамином у крыс [118]. Хроническое введение опиоидов вызывает активацию пути eIF2 $\alpha$ -P-ATF4 [119] и потерю целостности миелина и аксонов в различных областях мозга у крыс [120]. Более того, это было связано с накоплением нерастворимых карбонилированных белковых агрегатов в головном мозге и плазме крыс [121]. Сообщалось, что повторное введение опиоидов влияет на структуру пирамидальных клеток в головном мозге крысы, которые участвуют в обработке сенсорных модальностей [122].

Было продемонстрировано, что пониженный уровень фосфорилированного eIF2 $\alpha$  усиливает подобное зависимости поведение, особенно у животных-подростков. Индуцированная кокаином долгосрочная депрессия (LTD), опосредованная mGluR, в вентральной тегментальной области (VTA) сопровождается снижением уровня eIF2 $\alpha$ -P. Это было связано с синаптической потенциацией и зависимостью у животных подросткового возраста [111]. Более того, ингибирование передачи сигналов eIF2 $\alpha$ -P с помощью низкомолекулярного ISR ингибитора (ISRIB) привело к длительному LTP, индуцированному кокаином, что свидетельствует о том, что активность eIF2 $\alpha$  регулирует индуцированное кокаином прогрессирование LTP от переходного к постоянному состоянию [123]. В другом исследовании снижение уровня фосфорилированного eIF2 $\alpha$  у мышей-под-

ростков было связано с более чувствительными синаптическими эффектами к никотину [124]. Точно так же агонист каннабиноидного рецептора (мезилат WIN 55,212-2 [WIN]) снижает уровень eIF2 $\alpha$ -P в нейрональных клетках PC12 за счет усиления экспрессии GADD34. У крыс WIN снижает уровень фосфорилированного eIF2 $\alpha$  в NuAcc у подростков, но не у взрослых животных [125]. Это позволило авторам предположить, что передача сигналов ISR участвует в регуляции перекрестной сенсibilизации лекарств, индуцируемой каннабиноидами.

#### ВОСПРИЯТИЕ БОЛИ

Трансляционная регуляция управляет синаптическими изменениями в сенсорной нервной системе, которая участвует в развитии восприятия боли [126–129]. Более того, было продемонстрировано, что фармакологическое ингибирование синтеза белка с помощью рапамицина, который блокирует активацию mTORC1, снижает гиперчувствительность к механической боли у мышей в моделях с воспалительной и невропатической болями [130–132]. Недавно было сообщено, что регуляция фосфорилирования eIF2 $\alpha$  важна при развитии тепловой, но не механической, болевой чувствительности, опосредованной рецептором TRPV1 (Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1) [133]. Мыши с генетическим снижением уровня eIF2 $\alpha$ -P (eIF2 $\alpha$ <sup>+S51A</sup>) демонстрировали пониженную тепловую болевую чувствительность. В первичных сенсорных нейронах повышение уровня фосфорилированного eIF2 $\alpha$  способствует тепловой гиперчувствительности в модели хронической воспалительной боли [133]. Было продемонстрировано, что индукция ATF3, одной из мишеней гена ATF4, наблюдается в большом количестве сенсорных нейронов во время повреждения нейронов [134]. Было высказано предположение, что передача сигналов ISR через ATF4 не вносит прямого вклада в развитие боли, но может сенсibilизировать нейроны, ответственные за возникновение боли. [135].

### VIII. ПАТОЛОГИИ, СВЯЗАННЫЕ С МУТАЦИЯМИ У ЧЛЕНОВ СЕМЬИ eIF2

#### МУТАЦИИ eIF2B

Мутации в любой из пяти субъединиц eIF2B ( $\alpha$ – $\epsilon$ ) вызывают редкую аутосомно-рецессивную лейкоэнцефалопатию с исчезающим белым веществом (vanishing white matter, VWM) [136–138]. VWM – наследственное заболевание головного мозга, которое возникает в

основном у детей и характеризуется прогрессирующей потерей миелина и замещением аномального белого вещества спинно-мозговой жидкостью [136]. Мутации VWM влияют на множество различных активностей eIF2B: снижают целостность комплекса, связывание с регуляторной  $\alpha$ -субъединицей; связывание субстрата; гуанин-обменную активность eIF2B [139], что приводит к низким концентрациям тройственного комплекса. В результате сниженная активность eIF2B приводит к длительной гиперактивации ISR и неврологическому ухудшению из-за дегенерации белого вещества, дефектов миелинизирующих олигодендроцитов с потерей олигодендроцитов в результате апоптоза и астроглиоза с дисморфными астроцитами [138]. Пациенты с болезнью VWM испытывают мозжечковую атаксию или нестабильность походки из-за повреждений мозжечка, при которых незначительный стресс может спровоцировать серьезные эпизоды неврологического ухудшения. На мышинной модели было продемонстрировано, что активация ISR предшествует демиелинизации и моторному дефициту [140]. Недавно сообщалось, что ISR1B восстанавливает остаточную каталитическую активность eIF2B до уровня eIF2B дикого типа и блокирует активацию ISR в клетках, несущих мутации eIF2B [141]. Другое соединение, 2BAct, избирательно активирует GEF-активность мутантного eIF2B, блокирует ISR, приводя к нормализации содержания миелина и активации микроглии на мышинной модели VWM [140]. Однако соединение 2BAct демонстрирует сердечно-сосудистую токсичность при минимальной дозе, вызывающей биологический ответ, что делает его непригодным в качестве терапевтического препарата.

#### МУТАЦИИ eIF2 $\gamma$

Миссенс-мутация I222T в гене eIF2 $\gamma$  в X-хромосоме человека вызывает синдром МЕМНО (умственная отсталость, эпилепсия, микроцефалия, гипогенитализм и ожирение), характеризующийся умеренной или тяжелой умственной отсталостью. eIF2 $\gamma$  – это основная субъединица, которая связывает ГТФ в гетеротримерном комплексе eIF2. Мутация в eIF2 $\gamma$  вызывает дефект в его взаимодействии с eIF2 $\beta$ , влияя на целостность комплекса eIF2, снижая концентрацию ТС и ставя под угрозу точность отбора стартовых кодонов трансляции [142]. У дрожжей эта мутация приводила к усиленной инициации трансляции в кодоне UUG. Магнитно-резонансная томография выявила утончение мозолистого тела и увеличение боковых желудочков в головном мозге пациентов с этой миссенс-мутацией [142].

#### МУТАЦИИ *PERK* И *GCN2*

Мутации в генах, кодирующих *PERK* и *GCN2*, влияют на их функции. Синдром Уолкотта-Раллисона (WRS) – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное мутацией в гене, кодирующем *PERK*, и характеризующееся неонатальным инсулинозависимым диабетом, связанным с дисплазией скелета, задержкой роста и другими клиническими проявлениями [143]. Было высказано предположение, что ткани с высокой скоростью секреции белка не способны справиться с ER-стрессом в отсутствие активной *PERK*, что приводит к развитию различных патологий у пациентов с WRS. Мутации в гене, кодирующем *GCN2*, вызывают редкую форму артериальной гипертензии, характеризующуюся аномальной дилатацией и пролиферацией легочных капилляров [144]. Такое патологическое проявление можно объяснить проангиогенной функцией *GCN2/ATF4* во время аминокислотного голодания [145].

#### IX. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ МАНИПУЛЯЦИИ ISR

Фармакологическая модуляция комплексной передачи сигналов стрессового ответа рассматривается как многообещающая терапевтическая процедура для лечения различных патологических состояний, характеризующихся повышенным *eIF2 $\alpha$ -P*.

##### ИНГИБИТОР ФОСФАТАЗЫ *GADD34* – САЛУБРИНАЛ

Салубринал – селективный ингибитор, подавляющий дефосфорилирование *eIF2 $\alpha$*  путем ингибирования комплекса *PP1/GADD34*. Салубринал вызывает быстрое фосфорилирование *eIF2 $\alpha$*  и продукцию белков *GADD34* и *CHOP*. Черепно-мозговые травмы (ТВИ) характеризуются индукцией ISR, ведущей к апоптозу нейронов и когнитивному дефициту. Введение салубринала мышам после травмы головы повышает уровень фосфорилированного *eIF2 $\alpha$* , предотвращает нервную дегенерацию в коре головного мозга и значительно улучшает дефицит памяти из-за ТВИ [146].

##### ГИДРОХЛОРИД ТРАЗОДОНА И ДИБЕНЗОИЛМЕТАН

Было показано, что два одобренных FDA препарата, гидрохлорид тразодона и дибензоилметан, предотвращают ингибирование синтеза белка, вызванного фосфорилированием *eIF2 $\alpha$*  *in vivo* и *in vitro*. Тразодона гидрохлорид назначают при развитии депрессивных и тревожных состояний. Дибензоилметан – это органическое соединение, содержащееся в солодке и куркумине. У мышей с прионными

заболеваниями оба препарата восстанавливали дефицит памяти и предотвращали нейродегенерацию без системной токсичности [147].

#### ИНГИБИТОРЫ PERK

Пероральное введение ингибитора PERK GSK606414 подавляет UPR-опосредованную репрессию трансляции, восстанавливает уровень синаптических белков и предотвращает развитие нейронной дегенерации в клинической модели прионной болезни у мышей [148]. Удивительно, но этот ингибитор не предотвращает неправильную укладку и агрегацию прионного белка в этой модели на животных. На животной FTD модели, опосредованной тау-белком, активация PERK способствует фосфорилированию тау-белка, которое снижается под воздействием GSK606414. Более того, ингибитор PERK восстанавливает скорость синтеза белка и предотвращает дегенерацию нейронов, которая коррелирует со снижением уровня фосфорилированного тау-белка [149]. Однако GSK606414 и другой ингибитор PERK, GSK2656157, обладают нецелевой активностью: они подавляют активность протеинкиназы 1 (RIPK1) и ингибируют TNF $\alpha$ -опосредованную RIPK1-зависимую гибель клеток [150]. Более того, хроническое лечение с GSK606414 вызывает панкреатическую токсичность у мышей [151].

#### АКТИВАТОР PERK

Недавно было продемонстрировано, что активатор PERK, CCT020312, снижает фосфорилирование тау-белка в культивируемых нейронах человека и увеличивает жизнеспособность клеток. В мышинной модели таупатии CCT020312 снижает патологию тау-белка и значительно улучшает память и опорно-двигательную функцию. [152]. Однако было отмечено, что альтернативная активность PERK в отношении NRF2 может быть ответственна за эффект CCT020312 в этих условиях.

#### ISRIB

Было показано, что вещество, которое подавляет активацию ISR, ISRIB (integrated stress response inhibitor), предотвращает ингибирование трансляции при повышенном уровне фосфорилированного eIF2 $\alpha$  за счет усиления GEF-активности eIF2B [153–157]. Интересно, что ISRIB также способен предотвращать сборку стрессовых гранул, индуцированную eIF2 $\alpha$ -P, не влияя на уровень eIF2 $\alpha$ -P. Было показано, что фармакологическое подавление ISR с помощью ISRIB улучшает формирование памяти у крыс [153], устраняет когнитивные дефициты на моделях мышей с черепно-мозговыми травмами [81] и обеспечи-

вает нейропротекцию у мышей с прионными заболеваниями. И все это без панкреатической токсичности, наблюдаемой с ингибиторами PERK [151]. Недавние исследования показывают, что ISRIB может обеспечивать нейрозащиту даже несмотря на низкую растворимость ISRIB в водных растворах. Парадоксально, но ISRIB способен подавлять ISR только при умеренном (45–70% от максимального фосфорилирования), но не при высоком уровне фосфорилированного eIF2 $\alpha$ , что может объяснить отсутствие токсических побочных эффектов ISRIB *in vivo* [158].

## Х. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Баланс между интенсивностью/продолжительностью стресса и клеточными резервами, обеспечивающими адаптацию и восстановление во время ISR, играет важную роль в судьбе клеток. Модуляция различных ISR путей является привлекательным подходом к улучшению долгосрочных результатов и замедлению прогрессирования нейрональной дегенерации и развития нейродегенеративных заболеваний. Однако наши знания о точном механизме ISR в выживании и смерти клеток все еще не достаточно полны. Мы до сих пор не знаем все мРНК, которые трансляционно активны при фосфорилировании eIF2 $\alpha$ , а также всех транскрипционных мишеней ATF4, ATF5 и CHOP. Сложность изучения ISR механизмов также связана с тем фактом, что каждая из четырех eIF2 $\alpha$  киназ имеет в среднем более 10 мишеней фосфорилирования [159]. Это говорит о том, что в ISR помимо eIF2 $\alpha$  могут быть вовлечены другие игроки. Идентификация точных молекулярных механизмов ISR, участвующих в ответах нейронов на стресс могут позволить обнаружить конкретные молекулярные мишени, которые контролируют баланс между выживанием и патологическими процессами в нейронных тканях.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Я благодарю Отделение фармакологии, токсикологии и неврологии, Отделение неотложной медицины и Онкологический центр Файста-Вейлера за их поддержку. Я очень признательна Дмитрию Лябину и Евгении Викторовне Серебровой за помощь в приготовлении манускрипта. Финансирование нашей работы, описанной здесь, было предоставлено NIH (гранты № 2R01GM20818, R01GM20818 и R01 GM20818-32).

**Конфликт интересов** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Ron, D. (2002) Translational control in the endoplasmic reticulum stress response. *Journal of Clinical Investigation*, **110**(10):1383–1388.
2. Chesnokova, E., Bal, N., Kolosov, P. (2017). Kinases of eIF2a Switch Translation of mRNA Subset during Neuronal Plasticity. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**(10), 2213.
3. Costa-Mattioli, M., Walter, P. (2020) The integrated stress response: From mechanism to disease. *Science*, **368**(6489), eaat5314.
4. Shacham, T., Patel, C., Lederkremer, G.Z. (2021) PERK Pathway and Neurodegenerative Disease: To Inhibit or to Activate? *Biomolecules*, **11**(3), 354.
5. Hershey, J.W.B., Merrick, W.C. (2000) Pathway and mechanism of initiation of protein synthesis. In: *Translational Control of Gene Expression*. edn. Edited by Sonenberg N, Hershey JWB, Mathews MB. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 33–88.
6. Jackson, R.J., Hellen, C.U., Pestova, T.V. (2010) The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **11**(2), 113–127.
7. Korneeva, N.L., Lamphear, B.J., Hennigan, F.L., Rhoads, R.E. (2000) Mutually cooperative binding of eukaryotic translation initiation factor (eIF) 3 and eIF4A to human eIF4G-1. *Journal of Biological Chemistry*, **275**(52), 41369–41376.
8. LeFebvre, A.K., Korneeva, N.L., Trutschl, M., Cvek, U., Duzan, R.D., Bradley, C.A., Hershey, J.W., Rhoads, R.E. (2006) Translation initiation factor eIF4G-1 binds to eIF3 through the eIF3e subunit. *Journal of Biological Chemistry*, **281**(32), 22917–22932.
9. Slepnev, S.V., Korneeva, N.L., Rhoads, R.E. (2008). Kinetic mechanism for assembly of the m7GpppG. eIF4E.eIF4G complex. *Journal of Biological Chemistry*, **283**(37), 25227–25237.
10. Korneeva, N.L., First, E.A., Benoit, C.A., Rhoads, R.E. (2005) Interaction between the NH2-terminal domain of eIF4A and the central domain of eIF4G modulates RNA-stimulated ATPase activity. *Journal of Biological Chemistry*, **280**(3):1872–1881.
11. Jennings, M.D., Zhou, Y., Mohammad-Qureshi, S.S., Bennett, D., Pavitt, G.D. (2013). eIF2B promotes eIF5 dissociation from eIF2\*GDP to facilitate guanine nucleotide exchange for translation initiation. *Genes & Development*, **27**(24), 2696–2707.
12. Wang, X., Paulin, F.E., Campbell, L.E., Gomez, E., O'Brien, K., Morrice, N., Proud, C.G. (2001) Eukaryotic initiation factor 2B: identification of multiple phosphorylation sites in the epsilon-subunit and their functions in vivo. *The EMBO Journal*, **20**(16), 4349–4359.
13. Starck, S.R., Tsai, J.C., Chen, K., Shodiya, M., Wang, L., Yahiro, K., Martins-Green, M., Shastri, N., Walter, P. (2016) Translation from the 5' untranslated region shapes the integrated stress response. *Science*, **351**(6272), aad3867.
14. Calvo, S.E., Pagliarini, D.J., Moortha, V.K. (2009) Upstream open reading frames cause widespread reduction of protein expression and are polymorphic among humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **106**(18), 7507–7512.
15. Morris, D.R., Geballe, A.P. (2000) Upstream open reading frames as regulators of mRNA translation. *Mol-*

- lecular and Cellular Biology*, **20**(23), 8635–8642.
16. Peccarelli, M., Kebaara, B.W. (2014) Regulation of natural mRNAs by the nonsense-mediated mRNA decay pathway. *Eukaryotic Cell*, **13**(9), 1126–1135.
  17. Andreev, D.E., O'Connor, P.B., Fahey, C., Kenny, E.M., Terenin, I.M., Dmitriev, S.E., Cormican, P., Morris, D.W., Shatsky, I.N., Baranov, P.V. (2015) Translation of 5' leaders is pervasive in genes resistant to eIF2 repression. *eLife*, **4**, :e03971.
  18. Hinnebusch, A.G. (2005) Translational regulation of GCN4 and the general amino acid control of yeast. *Annual Review of Microbiology*, **59**, 407–450.
  19. Harding, H.P., Novoa, I., Zhang, Y., Zeng, H., Wek, R., Schapira, M., Ron, D. (2000) Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Molecular Cell*, **6**(5), 1099–1108.
  20. Vattem, K.M., Wek, R.C. (2004) Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101**(31), 11269–11274.
  21. Lu, P.D., Harding, H.P., Ron, D. (2004) Translation reinitiation at alternative open reading frames regulates gene expression in an integrated stress response. *Journal of Cell Biology*, **167**(1), 27–33.
  22. Watatani, Y., Ichikawa, K., Nakaniishi, N., Fujimoto, M., Takeda, H., Kimura, N., Hirose, H., Takahashi, S., Takahashi, Y. (2008) Stress-induced translation of ATF5 mRNA is regulated by the 5'-untranslated region. *Journal of Biological Chemistry*, **283**(5), 2543–2553.
  23. Dmitriev, S.E., Terenin, I.M., Andreev, D.E., Ivanov, P.A., Dunaevsky, J.E., Merrick, W.C., Shatsky, I.N. (2010) GTP-independent tRNA delivery to the ribosomal P-site by a novel eukaryotic translation factor. *Journal of Biological Chemistry*, **285**(35), 26779–26787.
  24. Vasudevan, D., Neuman, S.D., Yang, A., Lough, L., Brown, B., Bashirullah, A., Cardozo, T., Ryoo, H.D. (2020) Translational induction of ATF4 during integrated stress response requires noncanonical initiation factors eIF2D and DENR. *Nature Communications*, 2020, **11**(1), 4677.
  25. Bohlen, J., Harbrecht, L., Blanco, S., Clemm von Hohenberg, K., Fenzl, K., Kramer, G., Bukau, B., Teleman, A.A. (2020) DENR promotes translation reinitiation via ribosome recycling to drive expression of oncogenes including ATF4. *Nature Communications*, **11**(1), 4676.
  26. Lu, P.D., Jousse, C., Marciniak, S.J., Zhang, Y., Novoa, I., Scheuner, D., Kaufman, R.J., Ron, D., Harding, H.P. (2004) Cytoprotection by preemptive conditional phosphorylation of translation initiation factor 2. *The EMBO Journal*, **23**(1), 169–179.
  27. Harding, H.P., Zhang, Y., Zeng, H., Novoa, I., Lu, P.D., Calfon, M., Sadri, N., Yun, C., Popko, B., Paules, R., *et al.* (2003) An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Molecular Cell*, **11**(3), 619–633.
  28. Back, S.H., Scheuner, D., Han, J., Song, B., Ribick, M., Wang, J., Gildersleeve, R.D., Pennathur, S., Kaufman, R.J. (2009) Translation attenuation through eIF2 $\alpha$  phosphorylation prevents oxidative stress and maintains the differentiated state in beta cells. *Cell Metabolism*, **10**(1), 13–26.
  29. Pakos-Zebrucka, K., Koryga, I., Mnich, K., Ljujic, M., Samali, A., Gorman, A.M. (2016) The integrated stress response. *EMBO Reports*, **17**(10), 1374–1395.
  30. Fawcett, T.W., Martindale, J.L., Guyton, K.Z., Hai, T., Holbrook, N.J. (1999) Complexes containing acti-

- vating transcription factor (ATF)/cAMP-responsive-element-binding protein (CREB) interact with the CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP)-ATF composite site to regulate Gadd153 expression during the stress response. *Biochemical Journal*, **339** (Pt 1), 135–141.
31. Palam, L.R., Baird, T.D., Wek, R.C. (2011) Phosphorylation of eIF2 Facilitates Ribosomal Bypass of an Inhibitory Upstream ORF to Enhance CHOP Translation. *Journal of Biological Chemistry*, **286**(13), 10939–10949.
32. Zinszner, H., Kuroda, M., Wang, X., Batchvarova, N., Lightfoot, R.T., Remotti, H., Stevens, J.L., Ron, D. (1998) CHOP is implicated in programmed cell death in response to impaired function of the endoplasmic reticulum. *Genes & Development*, **12**(7), 982–995.
33. Wang, X.Z., Kuroda, M., Sok, J., Batchvarova, N., Kimmel, R., Chung, P., Zinszner, H., Ron, D. (1998) Identification of novel stress-induced genes downstream of chop. *The EMBO Journal*, **17**(13), 3619–3630.
34. Jauhiainen, A., Thomsen, C., Strombom, L., Grundevik, P., Andersson, C., Danielsson, A., Andersson, M.K., Nerman, O., Rorkvist, L., Stahlberg, A. *et al.* (2012) Distinct cytoplasmic and nuclear functions of the stress induced protein DDIT3/CHOP/GADD153. *PLoS One*, **7**(4), e33208.
35. Brostrom, M.A., Lin, X., Cade, C., Gmitter, D., Brostrom, C.O. (1989) Loss of a calcium requirement for protein synthesis in pituitary cells following thermal or chemical stress. *Journal of Biological Chemistry*, **264**(3), 1638–1643.
36. Novoa, I., Zhang, Y., Zeng, H., Jungreis, R., Harding, H.P., Ron, D. (2003) Stress-induced gene expression requires programmed recovery from translational repression. *The EMBO Journal*, **22**(5), 1180–1187.
37. Novoa, I., Zeng, H., Harding, H.P., Ron, D. (2001) Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of eIF2alpha. *Journal of Cell Biology*, **153**(5), 1011–1022.
38. Marciniak, S.J., Yun, C.Y., Oyadomari, S., Novoa, I., Zhang, Y., Jungreis, R., Nagata, K., Harding, H.P., Ron, D. (2004) CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes & Development*, **18**(24), 3066–3077.
39. Endo, M., Mori, M., Akira, S., Gotoh, T. (2006) C/EBP homologous protein (CHOP) is crucial for the induction of caspase-11 and the pathogenesis of lipopolysaccharide-induced inflammation. *Journal of Immunology*, **176**(10), 6245–6253.
40. Wek, R.C., Jiang, H.Y., Anthony, T.G. (2006) Coping with stress: eIF2 kinases and translational control. *Biochemical Society Transactions*, **34**(Pt 1), 7–11.
41. Wu, C.C., Peterson, A., Zinshteyn, B., Regot, S., Green, R. (2020) Ribosome Collisions Trigger General Stress Responses to Regulate Cell Fate. *Cell*, **182**(2), 404–416.e14.
42. Lavoie, H., Li, J.J., Thevakumaran, N., Therrien, M., Sichei, F. (2014) Dimerization-induced allostery in protein kinase regulation. *Trends in Biochemical Sciences*, **39**(10), 475–486.
43. Jousse, C., Oyadomari, S., Novoa, I., Lu, P., Zhang, Y., Harding, H.P., Ron, D. (2003) Inhibition of a constitutive translation initiation factor 2alpha phosphatase, CReP, promotes survival of stressed cells. *Journal of Cell Biology*, **163**(4), 767–775.
44. Hetz, C., Saxena, S. (2017) ER stress and the unfolded protein response in neurodegeneration. *Nature Reviews Neurology*, **13**(8), 477–491.
45. Hamos, J.E., Oblas, B., Pulaski-Salo, D., Welch, W.J., Bole, D.G.,

- Drachman, D.A. (1991) Expression of heat shock proteins in Alzheimer's disease. *Neurology*, **41**(3), 345–350.
46. Welch, W.J., Gambetti, P. (1998) Chaperoning brain diseases. *Nature*, **392**(6671), 23–24.
47. Haass, C., Selkoe, D.J. (2007) Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **8**(2), 101–112.
48. Kabakov, A.E., Gabai, V.L. (1993) Protein Aggregation as Primary and Characteristic Cell Reaction to Various Stresses. *Experientia*, **49**(8), 706–710.
49. Kouroku, Y., Fujita, E., Tanida, I., Ueno, T., Isoai, A., Kumagai, H., Ogawa, S., Kaufman, R.J., Kominami, E., Momoi, T. (2007) ER stress (PERK/eIF2alpha phosphorylation) mediates the polyglutamine-induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation. *Cell Death & Differentiation*, **14**(2), 230–239.
50. Rzymiski, T., Milani, M., Pike, L., Buffa, F., Mellor, H.R., Winchester, L., Pires, I., Hammond, E., Ragoussis, I., Harris, A.L. (2010) Regulation of autophagy by ATF4 in response to severe hypoxia. *Oncogene*, **29**(31), 4424–4435.
51. Nemoto, N., Udagawa, T., Ohira, T., Jiang, L., Hirota, K., Wilkinson, C.R., Bähler, J., Jones, N., Ohta, K., Wek, R.C., *et al.* (2010) The roles of stress-activated Sty1 and Gcn2 kinases and of the protooncogene Int6/eIF3e in responses to endogenous oxidative stress during histidine starvation. *Journal of Molecular Biology*, **404**(2), 183–201.
52. Zhan, K., Vattam, K.M., Bauer, B.N., Dever, T.E., Chen, J.J., Wek, R.C. (2002) Phosphorylation of eukaryotic initiation factor 2 by heme-regulated inhibitor kinase-related protein kinases in *Schizosaccharomyces pombe* is important for resistance to environmental stresses. *Molecular and Cellular Biology*, **22**(20), 7134–7146.
53. Feissner, R.F., Skalska, J., Gaum, W.E., Sheu, S.S. (2009) Crosstalk signaling between mitochondrial Ca<sup>2+</sup> and ROS. *Front Biosci (Landmark Ed.)*, **14**, 1197–1218.
54. Wolozin, B. (2012) Regulated protein aggregation: stress granules and neurodegeneration. *Molecular Neurodegeneration*, **7**, 56.
55. Buxbaum, A.R., Haimovich, G., Singer, R.H. (2015) In the right place at the right time: visualizing and understanding mRNA localization. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **16**(2), 95–109.
56. Terenzio, M., Schiavo, G., Fainzilber, M. (2017) Compartmentalized Signaling in Neurons: From Cell Biology to Neuroscience. *Neuron*, **96**(3), 667–679.
57. Anderson, P., Kedersha, N. (2008) Stress granules: the Tao of RNA triage. *Trends in Biochemical Sciences*, **33**(3), 141–150.
58. Kiebler, M.A., Bassell, G.J. (2006) Neuronal RNA granules: movers and makers. *Neuron*, **51**(6), 685–690.
59. Jain, S., Parker, R. (2013) The discovery and analysis of P Bodies. *Advances in experimental medicine and biology*, **768**, 23–43.
60. Buchan, J.R. (2014) mRNP granules. Assembly, function, and connections with disease. *RNA Biology*, **11**(8), 1019–1030.
61. Liu-Yesucevitz, L., Bilgutay, A., Zhang, Y.J., Vanderweyde, T., Citro, A., Mehta, T., Zaarur, N., McKee, A., Bowser, R., Sherman, M., *et al.* (2010) Tar DNA binding protein-43 (TDP-43) associates with stress granules: analysis of cultured cells and pathological brain tissue. *PLoS One*, **5**(10), e13250.
62. Thomas, M.G., Loschi, M., Desbats, M.A., Boccaccio, G.L. (2011) RNA granules: the good, the bad and the

- ugly. *Cellular Signalling*, **23**(2), 324–334.
63. Vanderweyde, T., Yu, H., Varnum, M., Liu-Yesucevitz, L., Citro, A., Ikezu, T., Duff, K., Wolozin, B. (2012) Contrasting pathology of the stress granule proteins TIA-1 and G3BP in tauopathies. *The Journal of Neuroscience*, **32**(24), 8270–8283.
64. Vanderweyde, T., Apicco, D.J., Youmans-Kidder, K., Ash, P.E., Cook, C., Lummertz da Rocha, E., Jansen-West, K., Frame, A.A., Citro, A., Leszyk, J.D. *et al.* (2016) Interaction of tau with the RNA-Binding Protein TIA1 Regulates tau Pathophysiology and Toxicity. *Cell Reports*, **15**(7), 1455–1466.
65. Bentmann, E., Haass, C., Dormann, D. (2013) Stress granules in neurodegeneration—lessons learnt from TAR DNA binding protein of 43 kDa and fused in sarcoma. *The FEBS Journal*, **280**(18), 4348–4370.
66. Abrakhi, S., Kretov, D.A., Desforges, B., Dobra, I., Bouhss, A., Pastré, D., Hamon, L. (2017) Nanoscale Analysis Reveals the Maturation of Neurodegeneration-Associated Protein Aggregates: Grown in mRNA Granules then Released by Stress Granule Proteins. *ACS Nano*, **11**(7), 7189–7200.
67. Han, J., Back, S.H., Hur, J., Lin, Y.H., Gildersleeve, R., Shan, J., Yuan, C.L., Krokowski, D., Wang, S., Hatzoglou, M., *et al.* (2013) ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nature Cell Biology*, **15**(5), 481–490.
68. Galehdar, Z., Swan, P., Fuerth, B., Callaghan, S.M., Park, D.S., Cregan, S.P. (2010) Neuronal apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress is regulated by ATF4-CHOP-mediated induction of the Bcl-2 homology 3-only member PUMA. *The Journal of Neuroscience*, **30**(50), 16938–16948.
69. Ren, D., Tu, H.C., Kim, H., Wang, G.X., Bean, G.R., Takeuchi, O., Jeffers, J.R., Zambetti, G.P., Hsieh, J.J., Cheng, E.H. (2010) BID, BIM, and PUMA are essential for activation of the BAX- and BAK-dependent cell death program. *Science*, **330**(6009), 1390–1393.
70. Paschen, W., Gissel, C., Linden, T., Althausen, S., Doutheil, J. (1998) Activation of gadd153 expression through transient cerebral ischemia: evidence that ischemia causes endoplasmic reticulum dysfunction. *Molecular Brain Research*, **60**(1), 115–122.
71. Jin, K., Mao, X.O., Eshoo, M.W., Nagayama, T., Minami, M., Simon, R.P., Greenberg, D.A. (2001) Microarray analysis of hippocampal gene expression in global cerebral ischemia. *Annals of Neurology*, **50**(1), 93–103.
72. Morimoto, N., Oida, Y., Shimazawa, M., Miura, M., Kudo, T., Imaizumi, K., Hara, H. (2007) Involvement of endoplasmic reticulum stress after middle cerebral artery occlusion in mice. *Neuroscience*, **147**(4), 957–967.
73. Niizuma, K., Endo, H., Nito, C., Myer, D.J., Chan, P.H. (2009) Potential role of PUMA in delayed death of hippocampal CA1 neurons after transient global cerebral ischemia. *Stroke*, **40**(2), 618–625.
74. Holtz, W.A., O'Malley, K.L. (2003) Parkinsonian mimetics induce aspects of unfolded protein response in death of dopaminergic neurons. *Journal of Biological Chemistry*, **278**(21), 19367–19377.
75. Silva, R.M., Ries, V., Oo, T.F., Yarygina, O., Jackson-Lewis, V., Ryu, E.J., Lu, P.D., Marciniak, S.J., Ron, D., Przedborski, S., *et al.* (2005) CHOP/GADD153 is a mediator of apoptotic death in substantia nigra dopamine neurons in an in vivo neurotoxin model of parkinsonism. *Journal of Neurochemistry*, **95**(4), 974–986.

76. Kieran, D., Woods, I., Villunger, A., Strasser, A., Prehn, J.H. (2007) Deletion of the BH3-only protein puma protects motoneurons from ER stress-induced apoptosis and delays motoneuron loss in ALS mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **104**(51), 20606–20611.
77. Hiramatsu, N., Messah, C., Han, J., LaVail, M.M., Kaufman, R.J., Lin, J.H. (2014) Translational and posttranslational regulation of XIAP by eIF2alpha and ATF4 promotes ER stress-induced cell death during the unfolded protein response. *Molecular Biology of the Cell*, **25**(9), 1411–1420.
78. Chang, R.C., Wong, A.K., Ng, H.K., Hugon, J. (2002) Phosphorylation of eukaryotic initiation factor-2alpha (eIF2alpha) is associated with neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuroreport*, **13**(18), 2429–2432.
79. Hoozemans, J.J., van Haastert, E.S., Eikelenboom, P., de Vos, R.A., Rozemuller, J.M., Scheper, W. (2007) Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **354**(3), 707–711.
80. Atkin, J.D., Farg, M.A., Walker, A.K., McLean, C., Tomas, D., Horne, M.K. (2008) Endoplasmic reticulum stress and induction of the unfolded protein response in human sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of Disease*, **30**(3), 400–407.
81. Chou, A., Krukowski, K., Jopson, T., Zhu, P.J., Costa-Mattioli, M., Walter, P., Rosi, S. (2017) Inhibition of the integrated stress response reverses cognitive deficits after traumatic brain injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **114**(31), E6420–e6426.
82. Nijholt, D.A., van Haastert, E.S., Rozemuller, A.J., Scheper, W., Hoozemans, J.J. (2012) The unfolded protein response is associated with early tau pathology in the hippocampus of tauopathies. *The Journal of Pathology*, **226**(5), 693–702.
83. Fernández-Vizarra, P., Fernández, A.P., Castro-Blanco, S., Serrano, J., Bentura, M.L., Martínez-Murillo, R., Martínez, A., Rodrigo, J. (2004) Intra- and extracellular Abeta and PHF in clinically evaluated cases of Alzheimer's disease. *Histology & Histopathology*, **19**(3), 823–844.
84. O'Connor, T., Sadleir, K.R., Maus, E., Velliquette, R.A., Zhao, J., Cole, S.L., Eimer, W.A., Hitt, B., Bembinster, L.A., Lammich, S., *et al.* (2008) Phosphorylation of the translation initiation factor eIF2alpha increases BACE1 levels and promotes amyloidogenesis. *Neuron*, **60**(6), 988–1009.
85. Mouton-Liger, F., Paquet, C., Dumurgier, J., Bouras, C., Pradier, L., Gray, F., Hugon, J. (2012) Oxidative stress increases BACE1 protein levels through activation of the PKR-eIF2alpha pathway. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1822**(6), 885–896.
86. Ma, T., Trinh, M.A., Wexler, A.J., Bourbon, C., Gatti, E., Pierre, P., Cavener, D.R., Klann, E. (2013) Suppression of eIF2alpha kinases alleviates Alzheimer's disease-related plasticity and memory deficits. *Nature Neuroscience*, **16**(9), 1299–1305.
87. Baleriola, J., Walker, C.A., Jean, Y.Y., Crary, J.F., Troy, C.M., Nagy, P.L., Hengst, U. (2014) Axonally synthesized ATF4 transmits a neurodegenerative signal across brain regions. *Cell*, **158**(5), 1159–1172.
88. Lange, P.S., Chavez, J.C., Pinto, J.T., Coppola, G., Sun, C.W., Townes, T.M., Geschwind, D.H., Ratan, R.R. (2008) ATF4 is an oxidative stress-inducible, prodeath transcription factor in neurons in vitro and in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, **205**(5), 1227–1242.

89. Yang, W., Zhou, X., Zimmermann, H.R., Cavener, D.R., Klann, E., Ma, T. (2016) Repression of the eIF2 $\alpha$  kinase PERK alleviates mGluR-LTD impairments in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, **41**, 19–24.
90. Gully, J.C., Sergeyev, V.G., Bhootada, Y., Mendez-Gomez, H., Meyers, C.A., Zolotukhin, S., Gorbatyuk, M.S., Gorbatyuk, O.S. (2016) Up-regulation of activating transcription factor 4 induces severe loss of dopamine nigral neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, **627**, 36–41.
91. Bellucci, A., Navarria, L., Zaltieri, M., Falarti, E., Bodei, S., Sigala, S., Battistin, L., Spillantini, M., Missale, C., Spano, P. (2011) Induction of the unfolded protein response by  $\alpha$ -synuclein in experimental models of Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*, **116**(4), 588–605.
92. Cooper, A.A., Gitler, A.D., Cashikar, A., Haynes, C.M., Hill, K.J., Bhullar, B., Liu, K., Xu, K., Strathearn, K.E., Liu, F., *et al.* (2006) Alpha-synuclein blocks ER-Golgi traffic and Rab1 rescues neuron loss in Parkinson's models. *Science*, **313**(5785), 324–328.
93. Ilieva, E.V., Ayala, V., Jové, M., Dalfó, E., Cacabelos, D., Povedano, M., Bellmunt, M.J., Ferrer, I., Pamplona, R., Portero-Otín, M. (2007) Oxidative and endoplasmic reticulum stress interplay in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, **130**(Pt 12), 3111–3123.
94. Kikuchi, H., Almer, G., Yamashita, S., Guégan, C., Nagai, M., Xu, Z., Sosunov, A.A., McKhann, G.M., 2nd, Przedborski, S. (2006) Spinal cord endoplasmic reticulum stress associated with a microsomal accumulation of mutant superoxide dismutase-1 in an ALS model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **103**(15), 6025–6030.
95. Urushitani, M., Ezzi, S.A., Matsuo, A., Tooyama, I., Julien, J.P. (2008) The endoplasmic reticulum-Golgi pathway is a target for translocation and aggregation of mutant superoxide dismutase linked to ALS. *FASEB Journal*, **22**(7), 2476–2487.
96. Farg, M.A., Soo, K.Y., Warraich, S.T., Sundaramoorthy, V., Blair, I.P., Atkin, J.D. (2013) Ataxin-2 interacts with FUS and intermediate-length polyglutamine expansions enhance FUS-related pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Human Molecular Genetics*, **22**(4), 717–728.
97. Hetz, C., Russelakis-Carneiro, M., Maundrell, K., Castilla, J., Soto, C. (2003) Caspase-12 and endoplasmic reticulum stress mediate neurotoxicity of pathological prion protein. *The EMBO Journal*, **22**(20), 5435–5445.
98. Carnemolla, A., Fossale, E., Agostoni, E., Michelazzi, S., Calligaris, R., De Maso, L., Del Sal, G., MacDonald, M.E., Persichetti, F. (2009) Rrs1 is involved in endoplasmic reticulum stress response in Huntington disease. *Journal of Biological Chemistry*, **284**(27), 18167–18173.
99. Vitet, H., Brandt, V., Saudou, F. (2020) Traffic signaling: new functions of huntingtin and axonal transport in neurological disease. *Current Opinion in Neurobiology*, **63**, 122–130.
100. Kandel, E.R. (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, **294**(5544), 1030–1038.
101. Klann, E., Sweatt, J.D. (2008) Altered protein synthesis is a trigger for long-term memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, **89**(3) 247–259.
102. Trinh, M.A., Klann, E. (2013) Translational control by eIF2 $\alpha$  kinases in long-lasting synaptic plasticity and

- long-term memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, **105**, 93–99.
103. Di Prisco, G.V., Huang, W., Bufington, S.A., Hsu, C.C., Bonnen, P.E., Placzek, A.N., Sidrauski, C., Krnjevic, K., Kaufman, R.J., Walter, P., *et al.* (2014) Translational control of mGluR-dependent long-term depression and object-place learning by eIF2alpha. *Nature Neuroscience*, **17**(8), 1073–1082.
104. Costa-Mattioli, M., Gobert, D., Stern, E., Gamache, K., Colina, R., Cuello, C., Sossin, W., Kaufman, R., Pelletier, J., Rosenblum, K., *et al.* (2007) eIF2alpha phosphorylation bidirectionally regulates the switch from short- to long-term synaptic plasticity and memory. *Cell*, **129**(1), 195–206.
105. Jiang, Z., Belforte, J.E., Lu, Y., Yabe, Y., Pickel, J., Smith, C.B., Je, H.-S., Lu, B., Nakazawa, K. (2010) eIF2{alpha} Phosphorylation-Dependent Translation in CA1 Pyramidal Cells Impairs Hippocampal Memory Consolidation without Affecting General Translation. *The Journal of Neuroscience*, **30**(7), 2582–2594.
106. Trinh, M.A., Ma, T., Kaphzan, H., Bhattacharya, A., Antion, M.D., Cavener, D.R., Hoeffler, C.A., Klann, E. (2014) The eIF2 $\alpha$  kinase PERK limits the expression of hippocampal metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, NY)*, **21**(5), 298–304.
107. Silva, A.J., Kogan, J.H., Frankland, P.W., Kida, S. (1998) CREB and memory. *Annual Review of Neuroscience*, **21**, 127–148.
108. Yin, J.C., Wallach, J.S., Del Vecchio, M., Wilder, E.L., Zhou, H., Quinn, W.G., Tully, T. (1994) Induction of a dominant negative CREB transgene specifically blocks long-term memory in *Drosophila*. *Cell*, **79**(1):49–58.
109. Bartsch, D., Ghirardi, M., Skehel, P.A., Karl, K.A., Herder, S.P., Chen, M., Bailey, C.H., Kandel, E.R. (1995) Aplysia CREB2 represses long-term facilitation: relief of repression converts transient facilitation into long-term functional and structural change. *Cell*, **83**(6), 979–992.
110. Chen, A., Muzzio, I.A., Malleret, G., Bartsch, D., Verbitsky, M., Pavlidis, P., Yonan, A.L., Vronskaya, S., Grody, M.B., Cepeda, I., *et al.* (2003) Inducible enhancement of memory storage and synaptic plasticity in transgenic mice expressing an inhibitor of ATF4 (CREB-2) and C/EBP proteins. *Neuron*, **39**(4), 655–669.
111. Huang, W., Placzek, A.N., Viana Di Prisco, G., Khatiwada, S., Sidrauski, C., Krnjević, K., Walter, P., Dani, J.A., Costa-Mattioli, M. (2016) Translational control by eIF2 $\alpha$  phosphorylation regulates vulnerability to the synaptic and behavioral effects of cocaine. *eLife*, **5**.
112. Nadif Kasri, N., Nakano-Kobayashi, A., Van Aelst, L. (2011) Rapid synthesis of the X-linked mental retardation protein OPHN1 mediates mGluR-dependent LTD through interaction with the endocytic machinery. *Neuron*, **72**(2), 300–315.
113. Costa-Mattioli, M., Gobert, D., Harding, H., Herdy, B., Azzi, M., Bruno, M., Bidinosti, M., Ben Mamou, C., Marcinkiewicz, E., Yoshida, M., *et al.* (2005) Translational control of hippocampal synaptic plasticity and memory by the eIF2alpha kinase GCN2. *Nature*, **436**(7054), 1166–1173.
114. Zhu, P.J., Huang, W., Kalikulov, D., Yoo, J.W., Placzek, A.N., Stoica, L., Zhou, H., Bell, J.C., Friedlander, M.J., Krnjević, K., *et al.* (2011) Suppression of PKR promotes network excitability and enhanced cognition by interferon- $\gamma$ -mediated disinhibition. *Cell*, **147**(6), 1384–1396.



115. Trinh, M.A., Kaphzan, H., Wek, R.C., Pierre, P., Cavener, D.R., Klann, E. (2012) Brain-specific disruption of the eIF2alpha kinase PERK decreases ATF4 expression and impairs behavioral flexibility. *Cell Reports*, **1**(6), 676–688.
116. Liu, J., Pasini, S., Shelanski, M.L., Greene, L.A. (2014) Activating transcription factor 4 (ATF4) modulates post-synaptic development and dendritic spine morphology. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **8**, 177.
117. Moreno, J.A., Radford, H., Peretti, D., Steinert, J.R., Verity, N., Martin, M.G., Halliday, M., Morgan, J., Dinsdale, D., Ortore, C.A., *et al.* (2021) Sustained translational repression by eIF2alpha-P mediates prion neurodegeneration. *Nature*, **485**(7399), 507–511.
118. Green, T.A., Alibhai, I.N., Unterberg, S., Neve, R.L., Ghose, S., Tamminga, C.A., Nestler, E.J. (2008) Induction of activating transcription factors (ATFs) ATF2, ATF3, and ATF4 in the nucleus accumbens and their regulation of emotional behavior. *The Journal of Neuroscience*, **28**(9)B 2025–2032.
119. Fan, R., Schrott, L.M., Snelling, S., Ndi, J., Arnold, T., Korneeva, N.L. (2015) Chronic oxycodone induces integrated stress response in rat brain. *BMC Neuroscience*, **16**, 58.
120. Fan, R., Schrott, L.M., Arnold, T., Snelling, S., Rao, M., Graham, D., Cornelius, A., Korneeva, N.L. (2018) Chronic oxycodone induces axonal degeneration in rat brain. *BMC Neuroscience*, **19**(1), 15.
121. Fan, R., Schrott, L.M., Snelling, S., Felty, J., Graham, D., McGauley, P.L., Arnold, T., Korneeva, N.L. (2020) Carbonyl-protein content increases in brain and blood of female rats after chronic oxycodone treatment. *BMC Neuroscience*, **21**(1), 4.
122. Ballesteros-Yanez, I., Ambrosio, E., Benavides-Piccione, R., Perez, J., Torres, I., Miguens, M., Garcia-Lecumberri, C., DeFelipe, J. (1991) The effects of morphine self-administration on cortical pyramidal cell structure in addiction-prone lewis rats. *Cerebral Cortex (New York, NY)*, **17**(1), 238–249.
123. Placzek, A.N., Prisco, G.V., Khatiwada, S., Sgritta, M., Huang, W., Krnjević, K., Kaufman, R.J., Dani, J.A., Walter, P., Costa-Mattioli, M. (2016) eIF2 $\alpha$ -mediated translational control regulates the persistence of cocaine-induced LTP in midbrain dopamine neurons. *eLife*, **5**.
124. Placzek, A.N., Molfese, D.L., Khatiwada, S., Viana Di Prisco, G., Huang, W., Sidrauski, C., Krnjević, K., Amos, C.L., Ray, R., Dani, J.A., *et al.* (2016) Translational control of nicotine-evoked synaptic potentiation in mice and neuronal responses in human smokers by eIF2 $\alpha$ . *eLife*, **5**.
125. Melas, P.A., Qvist, J.S., Deidda, M., Upreti, C., Wei, Y.B., Sanna, F., Fratta, W., Scherma, M., Fadda, P., Kandel, D.B., *et al.* (2018) Cannabinoid Modulation of Eukaryotic Initiation Factors (eIF2 $\alpha$  and eIF2B1) and Behavioral Cross-Sensitization to Cocaine in Adolescent Rats. *Cell Reports*, **22**(11), 2909–2923.
126. Price, T.J., Géranton, S.M. (2009) Translating nociceptor sensitivity: the role of axonal protein synthesis in nociceptor physiology. *Eur The Journal of Neuroscience*, **29**(12), 2253–2263.
127. Melemedjian, O.K., Khoutorsky, A. (2015) Translational control of chronic pain. *Prog Progress in Molecular Biology and Translational Science*, **131**, 185–213.
128. Khoutorsky, A., Price, T.J. (2018) Translational Control Mechanisms in Persistent Pain. *Trends Neurosci*, **41**(2), 100–114.

129. Yousuf, M.S., Shiers, S.I., Sahn, J.J., Price, T.J. (2021) Pharmacological Manipulation of Translation as a Therapeutic Target for Chronic Pain. *Pharmacological Reviews*, **73**(1), 59–88.
130. Géranton, S.M., Jiménez-Díaz, L., Torsney, C., Tochiki, K.K., Stuart, S.A., Leith, J.L., Lumb, B.M., Hunt, S.P. (2009) A rapamycin-sensitive signaling pathway is essential for the full expression of persistent pain states. *The Journal of Neuroscience*, **29**(47), 15017–15027.
131. Asante, C.O., Wallace, V.C., Dickenson, A.H. (2010) Mammalian target of rapamycin signaling in the spinal cord is required for neuronal plasticity and behavioral hypersensitivity associated with neuropathy in the rat. *The Journal of Pain*, **11**(12), 1356–1367.
132. Obara, I., Tochiki, K.K., Géranton, S.M., Carr, F.B., Lumb, B.M., Liu, Q., Hunt, S.P. (2011) Systemic inhibition of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway reduces neuropathic pain in mice. *Pain*, **152**(11), 2582–2595.
133. Khoutorsky, A., Sorge, R.E., Prager-Khoutorsky, M., Pawlowski, S.A., Longo, G., Jafarnejad, S.M., Tahmasebi, S., Martin, L.J., Pitcher, M.H., Gkogkas, C.G., *et al.* (2016) eIF2 $\alpha$  phosphorylation controls thermal nociception. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **113**(42), 11949–11954.
134. Braz, J.M., Basbaum, A.I. (2010) Differential ATF3 expression in dorsal root ganglion neurons reveals the profile of primary afferents engaged by diverse noxious chemical stimuli. *Pain*, **150**(2), 290–301.
135. Dong, L., Guarino, B.B., Jordan-Sciutto, K.L., Winkelstein, B.A. (2011) Activating transcription factor 4, a mediator of the integrated stress response, is increased in the dorsal root ganglia following painful facet joint distraction. *Neuroscience*, **193**, 377–386.
136. Leegwater, P.A., Vermeulen, G., Konst, A.A., Naidu, S., Mulders, J., Visser, A., Kersbergen, P., Mombach, D., Fonds, D., van Berkel, C.G., *et al.* (2001) Subunits of the translation initiation factor eIF2B are mutant in leukoencephalopathy with vanishing white matter. *Nature Genetics*, **29**(4), 383–388.
137. van der Knaap, M.S., Leegwater, P.A., Konst, A.A., Visser, A., Naidu, S., Oudejans, C.B., Schutgens, R.B., Pronk, J.C. (2002) Mutations in each of the five subunits of translation initiation factor eIF2B can cause leukoencephalopathy with vanishing white matter. *Annals of Neurology*, **51**(2), 264–270.
138. Bugiani, M., Boor, I., Powers, J.M., Scheper, G.C., van der Knaap, M.S. (2010) Leukoencephalopathy with vanishing white matter: a review. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, **69**(10), 987–996.
139. Liu, R., van der Lei, H.D., Wang, X., Wortham, N.C., Tang, H., van Berkel, C.G., Mufunde, T.A., Huang, W., van der Knaap, M.S., Scheper, G.C., *et al.* (2011) Severity of vanishing white matter disease does not correlate with deficits in eIF2B activity or the integrity of eIF2B complexes. *Human Mutation*, **32**(9), 1036–1045.
140. Wong YL, LeBon L, Basso AM, Kohlhaas KL, Nikkel AL, Robb HM, Donnelly-Roberts DL, Prakash J, Swensen AM, Rubinstein ND *et al.*: eIF2B activator prevents neurological defects caused by a chronic integrated stress response. *eLife* 2019, **8**.
141. Wong, Y.L., LeBon, L., Edalji, R., Lim, H.B., Sun, C., Sidrauski, C. (2018) The small molecule ISRIB rescues the stability and activity of

- Vanishing White Matter Disease eIF2B mutant complexes. *eLife*, **7**.
142. Borck, G., Shin, B.S., Stiller, B., Mimouni-Bloch, A., Thiele, H., Kim, J.R., Thakur, M., Skinner, C., Aschenbach, L., Smirin-Yosef, P., *et al.* (2012) eIF2 $\gamma$  mutation that disrupts eIF2 complex integrity links intellectual disability to impaired translation initiation. *Molecular Cell*, **48**(4), 641–646.
143. Julier, C., Nicolino, M. (2010) Wolcott-Rallison syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **5**, 29.
144. Eyries, M., Montani, D., Girerd, B., Perret, C., Leroy, A., Lonjou, C., Chelghoum, N., Coulet, F., Bonnet, D., Dorfmueller, P., *et al.* (2014) EIF2AK4 mutations cause pulmonary veno-occlusive disease, a recessive form of pulmonary hypertension. *Nature Genetics*, **46**(1), 65–69.
145. Longchamp, A., Mirabella, T., Arduini, A., MacArthur, M.R., Das, A., Treviño-Villarreal, J.H., Hine, C., Ben-Sahra, I., Knudsen, N.H., Brace, L.E., *et al.* (2018) Amino Acid Restriction Triggers Angiogenesis via GCN2/ATF4 Regulation of VEGF and H(2)S Production. *Cell*, **173**(1), 117–129.e114.
146. Rubovitch, V., Barak, S., Rachmany, L., Goldstein, R.B., Zilberstein, Y., Pick, C.G. (2015) The neuroprotective effect of salubrinal in a mouse model of traumatic brain injury. *Neuromolecular Med*, **17**(1), 58–70.
147. Halliday, M., Radford, H., Zents, K.A.M., Molloy, C., Moreno, J.A., Verity, N.C., Smith E., Ortori, C.A., Barrett, D.A., Bushell, M., *et al.* (2017) Repurposed drugs targeting eIF2 $\alpha$ -P-mediated translational repression prevent neurodegeneration in mice. *Brain*, **140**(6), 1768–1783.
148. Moreno, J.A., Halliday, M., Molloy, C., Radford, H., Verity, N., Axten, J.M., Ortori, C.A., Willis, A.E., Fischer, P.M., Barrett, D.A., *et al.* (2013) Oral treatment targeting the unfolded protein response prevents neurodegeneration and clinical disease in prion-infected mice. *Science Translational Medicine*, **5**(206), 206ra138.
149. Radford, H., Moreno, J.A., Verity, N., Halliday, M., Mallucci, G.R. (2015) PERK inhibition prevents tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of frontotemporal dementia. *Acta Neuropathologica*, **130**(5), 633–642.
150. Rojas-Rivera, D., Delvaeye, T., Roelandt, R., Nerinckx, W., Augustyns, K., Vandenabeele, P., Bertrand, M.J.M. (2017) When PERK inhibitors turn out to be new potent RIPK1 inhibitors: critical issues on the specificity and use of GSK2606414 and GSK2656157. *Cell Death & Differentiation*, **24**(6), 1100–1110.
151. Halliday, M., Radford, H., Sekine, Y., Moreno, J., Verity, N., le Quesne, J., Ortori, C.A., Barrett, D.A., Fromont, C., Fischer, P.M., *et al.* (2015) Partial restoration of protein synthesis rates by the small molecule ISRIB prevents neurodegeneration without pancreatic toxicity. *Cell Death & Disease*, **6**, e1672.
152. Bruch, J., Xu, H., Rösler, T.W., De Andrade, A., Kuhn, P.H., Lichtenhaler, S.F., Arzberger, T., Winklhofer, K.F., Müller, U., Höglinger, G.U. (2017) PERK activation mitigates tau pathology in vitro and in vivo. *EMBO Molecular Medicine*, **9**(3), 371–384.
153. Sidrauski, C., Acosta-Alvear, D., Khoutorsky, A., Vedantham, P., Hearn, B.R., Li, H., Gamache, K., Gallagher, C.M., Ang, K.K.H., Wilson, C., *et al.* (2013) Pharmacological brake-release of mRNA translation enhances cognitive memory. *eLife Sci*, **2**(0), e00498.

154. Sidrauski, C., Tsai, J.C., Kampmann, M., Hearn, B.R., Vedantham, P., Jaishankar, P., Sokabe, M., Mendez, A.S., Newton, B.W., Tang, E.L., *et al.* (2015) Pharmacological dimerization and activation of the exchange factor eIF2B antagonizes the integrated stress response. *eLife*, **4**, e07314.
155. Sekine, Y., Zyryanova, A., Crespiello-Casado, A., Fischer, P.M., Harding, H.P., Ron, D. (2015) Stress responses. Mutations in a translation initiation factor identify the target of a memory-enhancing compound. *Science*, **348**(6238), 1027–1030.
156. Tsai, J.C., Miller-Vedam, L.E., Anand, A.A., Jaishankar, P., Nguyen, H.C., Renslo, A.R., Frost, A., Walter, P. (2018) Structure of the nucleotide exchange factor eIF2B reveals mechanism of memory-enhancing molecule. *Science*, **359**(6383), eaaq0939.
157. Zyryanova, A.F., Weis, F., Faille, A., Alard, A.A., Crespiello-Casado, A., Sekine, Y., Harding, H.P., Allen, F., Parts, L., Fromont, C., *et al.* (2018) Binding of ISRIB reveals a regulatory site in the nucleotide exchange factor eIF2B. *Science*, **359**(6383), 1533–1536.
158. Rabouw, H.H., Langereis, M.A., Anand, A.A., Visser, L.J., de Groot, R.J., Walter, P., van Kuppeveld, F.J.M. (2019) Small molecule ISRIB suppresses the integrated stress response within a defined window of activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **116**(6), 2097–2102.
159. Hu, J., Rho, H.S., Newman, R.H., Hwang, W., Neiswinger, J., Zhu, H., Zhang, J., Qian, J. (2014) Global analysis of phosphorylation networks in humans. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1844**(1 Pt B), 224–231.