

УДК 57.056

На распутье: механизмы апоптоза и аутофагии в жизни и смерти клетки

В. Л. Шляпина¹, С. В. Юртаева², М. П. Рубцова³, О. А. Донцова^{1,3,4}¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997 Россия²НИИ Аджиномото-Генетика, Москва, 117545 Россия³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, 119991 Россия⁴Сколковский институт науки и технологий, Москва, 121205 Россия

E-mail: mprubtsova@gmail.com

Поступила в редакцию 19.09.2020

Принята к печати 11.11.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11208

РЕФЕРАТ Апоптоз и аутофагия – это консервативные процессы, регулирующие выживание и гибель клеток в стрессовых условиях. Апоптоз направлен на удаление клеток из организма с минимальным повреждением окружающих тканей. Аутофагия способствует удалению поврежденных органелл, белковых агрегатов и клеточных патогенов, стимулируя выживание клеток. Сигнальные пути, участвующие в регуляции апоптоза и аутофагии, во многом перекрываются, приводя как к их конкуренции, так и к однонаправленному взаимодействию, что представляет особый интерес для их изучения в качестве потенциальных мишеней терапии опухолей, аутоиммунных и нейродегенеративных заболеваний. В настоящем обзоре проанализированы основные пути молекулярного взаимодействия аутофагии и апоптоза, что необходимо для понимания механизма поддержания баланса между гибелью и выживанием клеток в неблагоприятных условиях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА апоптоз, аутофагия, теломераза, сигнальные пути, регуляция.

ВВЕДЕНИЕ

Аутофагия – это процесс, который стимулируется внутриклеточными стрессами или стрессами окружающей среды. В результате образования аутофагосом и их слияния с лизосомами происходит направленное удаление поврежденных органелл, белковых агрегатов и внутриклеточных патогенов [1]. Изучение аутофагии приобрело огромное значение в последнее десятилетие, так как именно этот процесс участвует в регуляции метаболизма как клетки, так и организма. Нарушение регуляции аутофагии затрагивает основные метаболические функции клеток, что может приводить к развитию различных заболеваний [2]. В настоящее время получены достоверные доказательства того, что активация аутофагии при воздействии противоопухолевых препаратов может защищать раковые клетки от гибели, а снижение уровня аутофагии связано с развитием нейродегенеративных и аутоиммунных заболеваний и общим старением организма [3].

Апоптоз – эволюционно консервативный запрограммированный механизм гибели клеток, который позволяет проводить отбор клеток в ходе нормального развития эукариот и поддержания гомеостаза ор-

ганизма. При апоптозе в структуре клетки возникает ряд морфологических изменений, обусловленных протеканием ферментзависимых биохимических процессов, а также происходит выведение клеток из организма с минимальным повреждением окружающих тканей [4].

Низкий уровень гибели клеток, сопряженный с высоким уровнем пролиферации, может спровоцировать развитие таких заболеваний, как рак, тогда как чрезмерный уровень гибели клеток способствует возникновению таких заболеваний, как болезни Альцгеймера и Паркинсона, ревматоидный артрит [4]. С возрастом эффективность аутофагии снижается [5, 6], при этом наблюдается избыточная активация апоптоза [7], что ассоциировано со старением организма. В связи с этим актуальным представляется понимание молекулярных механизмов регулирования взаимодействия апоптоза и аутофагии, анализу которых посвящен настоящий обзор.

АПОПТОЗ

Апоптоз – это процесс контролируемой гибели клетки без выхода ее содержимого в окружающую среду, который называют запрограммированной гибелью

клеток [4]. Протекание этого процесса контролируют белки семейства Bcl-2, которые включают в себя как проапоптотические, так и антиапоптотические компоненты. Баланс этих компонентов определяет принятие решения о жизни или гибели клетки [8]. Стимуляция апоптоза приводит к активации прокаспаз – предшественников цистеин-аспарагиновых протеаз, известных как каспазы. Существуют две категории каспаз: инициаторные и эффекторные [9]. Специфические сигналы, свидетельствующие о повреждении клеток, стимулируют инициаторные каспазы (каспазы 8 и 9), которые активируются в результате автопротеолиза и гидролизуют предшественники эффекторных каспаз (каспазы 3, 6 и 7), обеспечивая их функционирование. Активация эффекторных каспаз инициирует каскад событий, которые приводят к разрушению ядерных белков и белков цитоскелета, сшивкам белков, экспрессии лигандов, узнаваемых фагоцитирующими клетками, образованию апоптотических телец и гибели клетки [10, 11]. В процессе апоптоза происходит фрагментация ДНК, которую осуществляют эндонуклеазы. Процесс апоптоза высоко консервативен у многоклеточных организмов и генетически контролируется [12]. Выделяют два механизма инициации апоптоза: внутренний и внешний. На *рис. 1* представлена схема механизмов апоптоза.

Внутренний механизм зависит от факторов, высвобождаемых из митохондрий [13], он включает в себя различные стимулы, которые действуют на несколько мишеней в клетке. Отсутствие цитокинов, гормонов и факторов роста приводит к активации внутриклеточных активаторов апоптоза семейства Bcl-2, таких, как PUMA (p53-усиливающий модулятор апоптоза), Noxa и BAX [4]. В нормальном состоянии эти белки обычно взаимодействуют с антиапоптотическими белками семейства Bcl-2. В условиях отсутствия сигналов к выживанию и пролиферации, а также при гипоксии, воздействии токсинов, радиации, активных форм кислорода и вирусов [14] происходит, как правило, накопление белка PUMA, избыток которого взаимодействует с проапоптотическими белками семейства Bcl-2, такими, как BAK и BAX. Транслокация последних в мембрану митохондрии приводит к открытию митохондриальной поры и релокализации проапоптотических белков, таких, как цитохром c, Smac/Diablo и HtrA2/Omi, в цитоплазму. Цитохром c – компонент дыхательной цепи митохондрий, попадая в цитоплазму, взаимодействует с Araf-1 (Apoptotic protease activating factor 1) и образует апоптосому [15], которая способствует активации инициаторной каспазы 9, запускающей каскад апоптотических реакций. Митохондриальные белки Smac/Diablo и HtrA2/Omi при попадании в цито-

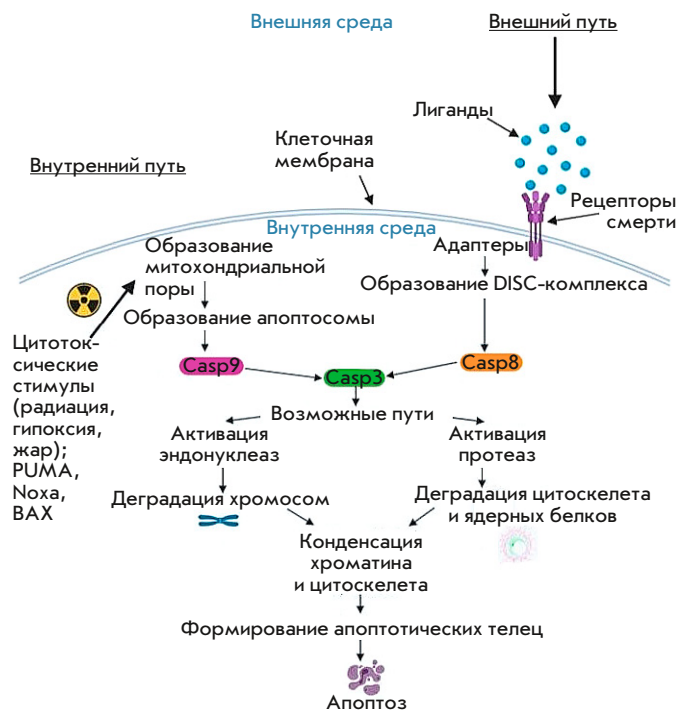


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая внутренний и внешний механизмы активации апоптоза (по D'Arcy [4])

плазму взаимодействуют с ингибиторами апоптоза (белки IAP), что способствует высвобождению каспаз и их активации [4].

Внешний механизм активации апоптоза регулируется сигнальными каскадами, запускаемыми рецепторами смерти (DR-death receptor) [13]. Связывание лигандов смерти, секретируемых патрулирующими NK-клетками (Natural killer cells) или макрофагами, или заякоренных на поверхности лимфоцитов, с DR способствует взаимодействию его цитоплазматического домена, индуцирующего смерть клеток (DED – death effector domain), с мономерной прокаспазой 8 [16]. Образующийся при этом сигнальный комплекс DISC (Death-Inducing Signaling Complex) обеспечивает протеолитическую активацию каспазы 8. Процессированная каспаза индуцирует апоптоз, стимулируя активность эндонуклеаз и протеаз [4, 16].

Необходимо отметить ключевую роль транскрипционного фактора p53 в регуляции процесса апоптоза. p53 имеет короткое время жизни, а его количество в клетках млекопитающих остается низким в результате постоянного убиквитинирования и последующей деградации. Однако в стрессовых условиях (повреждение ДНК, гипоксия, цитокины и др.) убиквитинирование p53 подавляется, он стабилизируется и накапливается в ядре. Активирующее фосфорилирование p53 обеспечивают различные киназы. В зависимости от условий это могут быть, например,

киназы, участвующие в контроле клеточного цикла (Chk – checkpoint kinases), сАМР-зависимая протеинкиназа А (РКА), регулятор липидного обмена, уровня глюкозы и гликогена; циклинзависимая киназа 7 (CDK7), участвующая в контроле клеточного цикла и регуляции транскрипционной активности РНК-полимеразы II; ДНК-зависимая протеинкиназа (DNA-РК), медиатор клеточного ответа на повреждения ДНК; а также киназы семейства MAPK (митоген-активируемые протеинкиназы), такие, как JNK (N-концевая киназа Jun). Фосфорилирование стимулирует олигомеризацию p53, в результате которой образуется тетрамер. Тетрамерный p53 активирует экспрессию генов, промоторные области которых содержат участки взаимодействия с p53 [17, 18], например, гены Fas-лигандов [19, 20], ген DR5, кодирующий рецептор смерти, взаимодействующий с цитокинами семейства факторов некроза опухоли TRAIL (TNF-ассоциированный апоптоз-индуцирующий лиганд). Участие p53 во внутреннем пути апоптоза связано с семейством белков Bcl-2, которые регулируют высвобождение цитохрома с из митохондрий. Ключевые проапоптотические гены семейства Bcl-2: BAX, Noxa, PUMA и BID являются мишенями p53 [21].

АУТОФАГИЯ

В процессе аутофагии различные клеточные компоненты или даже целые органеллы попадают в лизосомы, которые содержат ферменты, гидролизующие поглощенные компоненты [4]. Аутофагия стимулируется в ответ на различные воздействия, в том числе на недостаток АТФ и питательных ресурсов или сигналы, поступающие с поверхности поврежденных органелл или регулирующие дифференцировку клеток во время эмбриогенеза [22]. Процесс аутофагии лежит в основе функционирования адаптивного и врожденного иммунитета. Например, разрушение внутриклеточных патогенов и доставка антигенов в компартменты, содержащие МНС класса II, а также транспорт вирусных нуклеиновых кислот к Toll-подобным рецепторам происходят при участии аутофагосом [23]. Хотя аутофагия часто используется для рециркуляции клеточных компонентов, она может привести также к разрушению клетки. Таким образом, аутофагия связана с удалением стареющих клеток из тканей и разрушением опухолевых поражений [22]. Низкая эффективность аутофагии ассоциирована с развитием рака, а также, особенно в пожилом возрасте, с накоплением белковых агрегатов в нейронах и развитием нейродегенеративных состояний, включая болезнь Альцгеймера [24]. Активация аутофагии в быстро пролиферирующих клетках позволяет преодолевать дефицит внутриклеточных компонентов, необходимых для биосинтеза

[25]. Повышенный уровень аутофагии, часто наблюдаемый в раковых клетках, позволяет им более эффективно функционировать в условиях дефицита питательных веществ, а также способствует снижению чувствительности к цитотоксическим веществам [26].

В настоящее время выделяют три различные формы аутофагии – макроаутофагию, микроаутофагию и селективную аутофагию. При реализации макроаутофагии целые области клетки заключаются в двумембранные везикулы, называемые аутофагосомами. Аутофагосомы сливаются с лизосомами, превращаясь в аутофаголизосомы, содержимое которых деградирует под действием гидролитических ферментов [27]. На рис. 2 представлена общая схема образования аутолизосомы [4].

Пути регуляции аутофагии

На первых стадиях аутофагии комплекс ULK1, состоящий из киназы ULK1 (Unc-51 like autophagy activating kinase), белков ATG13 (autophagy related protein), FIP200 (focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kDa) и ATG101, транслируется к сайтам инициации аутофагии и регулирует привлечение комплекса VPS34 (vacuolar protein sorting). VPS34, в состав которого входят фосфатидилинозитол-3-киназа I класса III (PI3K), VPS34, ATG14L, VPS15 и Beclin 1 (рис. 2), обеспечивая образование фосфатидилинозитол-3-фосфата (PI3P) в местах образования фагофора. PI3P служит сигналом для связывания ряда белков, которые формируют аутофагосому. Образовавшиеся фагофоры постепенно увеличиваются благодаря двум убиквитин-подобным конъюгирующим каскадам: ATG5-ATG12 и MAP-LC3/ATG8/LC3. Фагофор, по мере его удлинения, постепенно поглощает часть цитоплазмы, образуя двумембранную аутофагосому, путем слияния с самим собой. Наконец, слияние аутофагосомы с лизосомой приводит к образованию аутолизосомы, деградации содержимого, а полученные блоки макромолекул высвобождаются в цитозоль и могут повторно использоваться клеткой в качестве строительных блоков [28]. Центральным регулятором аутофагии считается киназа mTOR (mammalian target of rapamycin – мишень рапамицина млекопитающих). Подавление активности mTOR стимулирует образование комплекса ULK1 и активирует аутофагию.

Активация аутофагии внутренними или внешними стимулами подвержена многоступенчатой регуляции, в которую вовлечены основные клеточные сигнальные каскады. Наиболее изучены такие модуляторы аутофагии, как киназы PI3K, АКТ, АМРК, которые регулируют пролиферацию, метаболизм и выживание клеток. Активация

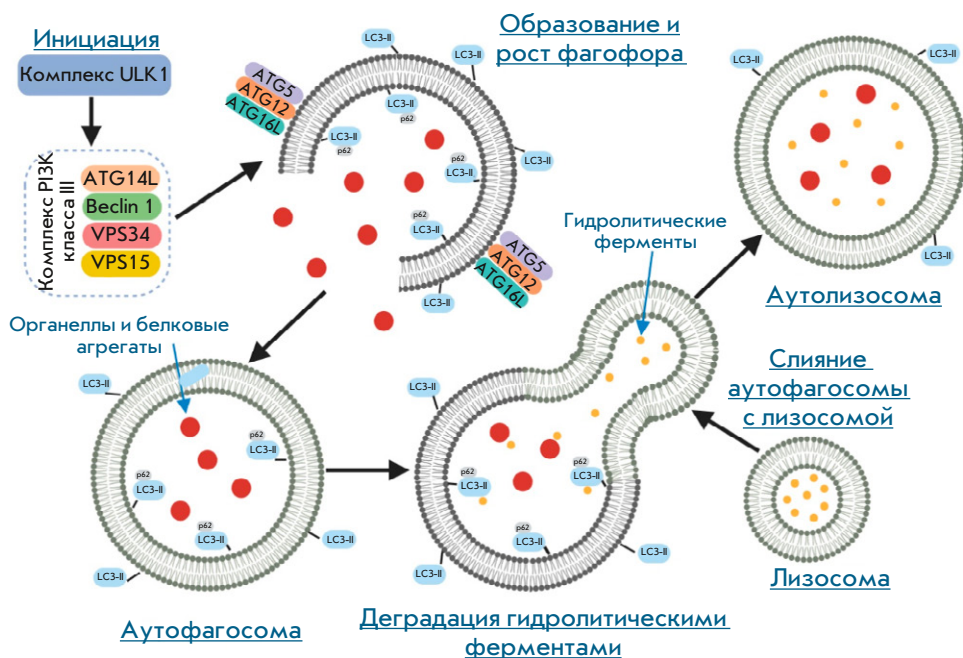


Рис. 2. Общая схема образования аутофаголизосомы (по D'Arcy [4]). Активация комплексов ULK1 и PI3K класса III стимулирует образование аутофагофора. Комплекс, состоящий из ATG5, ATG12 и ATG16L, вместе с LC3-II стимулирует удлинение фагофора и необходим для формирования аутофагосомы. Белок p62 взаимодействует с LC3-II и с белками, направляемыми на деградацию при помощи убиквитинирования, и поглощается аутофагосомой. Ферменты лизосомы гидролизуют содержимое аутофагосомы после их слияния

PI3K/АКТ/mTOR-опосредованного сигнального пути подавляет, как правило, аутофагию [29]. Модуляцию этого сигнального каскада обеспечивают PTEN (фосфатаза и гомолог тензина), инсулин, Sirt1, 5'-АМР-активируемая протеинкиназа (АМРК), митоген-активируемая протеинкиназа p38 (p38-МАРК) и p53. Стимуляции аутофагии способствует активация MAPK сигнального пути Ras/Raf/ERK, регулирующего функционирование N-JNK-киназ, вовлеченных в модуляцию пролиферации, дифференцировки, воспаления и апоптоза. Активирующие мутации в онкогенах *Ras* или *B-Raf* часто ассоциированы с онкотрансформацией клеток, а JNK регулируют апоптоз, обеспечивая посттрансляционное фосфорилирование Bcl-2 [30, 31].

На рис. 3 приведена схема механизмов, регулирующих аутофагию.

АУТОФАГИЯ И АПОПТОЗ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Как аутофагия, так и апоптоз играют важную роль в процессах развития, поддержания гомеостаза тканей и в патогенезе многих заболеваний. К настоящему времени накапливается все больше данных о том, что основные молекулярные компоненты сигнальных путей аутофагии и апоптоза находятся в сложных перекрестных взаимоотношениях и нередко индуцируются сходными стимулами. Например, экспериментально показано, что как апоптоз, так и аутофагия активируются в ответ на метаболический стресс [32] или воздействие активных форм кислорода [33]. Интересные данные о взаимодействии аутофагии

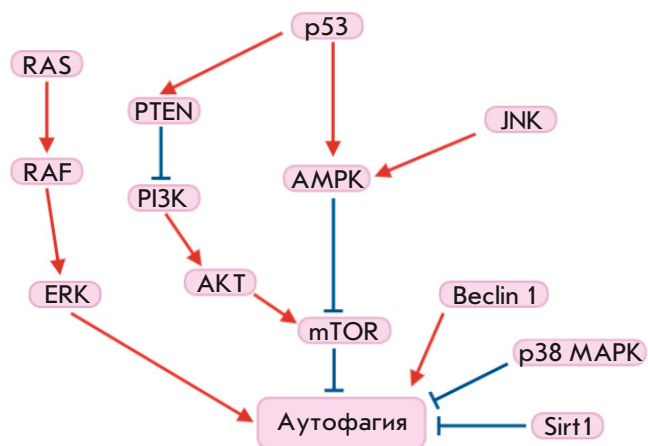


Рис. 3. Схема регуляторных механизмов аутофагии (по Jiang [1])

и апоптоза получены при анализе молекулярных механизмов стресса эндоплазматического ретикулума. Адаптивным ответом клеток на нарушение гомеостаза кальция или функций эндоплазматического ретикулума является усиление аутофагии и апоптотической гибели клеток [34].

Можно выделить несколько основных вариантов функциональных взаимодействий между апоптозом и аутофагией. В случае «партнерских отношений» апоптоз и аутофагия действуют в едином направлении, приводя к гибели клеток. В случае «антагонистических отношений» апоптоз и аутофагия представляют собой процессы, имеющие разные цели. Аутофагия в данном случае не приводит к гибели клеток и, кроме того, снижает эффективность апоп-

тоза, создавая условия, благоприятствующие выживанию клеток. В случае «активирующих отношений» аутофагия способствует реализации апоптотической программы, обеспечивая выполнение определенных этапов, но сама не приводит к смерти клетки [35].

Таким образом, аутофагия и апоптоз могут взаимодействовать, противодействовать или способствовать друг другу, по-разному влияя на судьбу клетки. При этом можно выделить несколько основных молекулярных путей, которые обеспечивают сложные функциональные взаимодействия между процессами аутофагии и апоптоза.

Beclin 1 в регуляции выбора между аутофагией и апоптозом

Важным компонентом преаутофагосомы является белок Beclin 1, играющий регуляторную роль в выборе механизма ответа на стресс. Семейство белков Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-xL и Mcl-1) включает хорошо известные антиапоптотические медиаторы, роль которых в подавлении аутофагии продолжает исследоваться. Цитопротекторная функция белков Bcl-2 обусловлена их способностью взаимодействовать с BAX и BAK и предотвращать таким образом апоптоз [36]. Белок Beclin 1 содержит ВНЗ-домен, гомологичный доменам Bcl-2. Этот белок определяет судьбу клетки в условиях стресса, модулируя взаимодействие процессов аутофагии и апоптоза. Beclin 1 рекрутирует ключевые аутофагические белки в преаутофагосомную структуру [4]. ВНЗ-домен Beclin 1 отвечает за взаимодействие с антиапоптотическими членами семейства Bcl-2 (рис. 4), что мешает сборке преаутофагосомной структуры и приводит к ингибированию аутофагии [36]. При стрессе, вызванном голоданием, киназа JNK фосфорилирует Bcl-2, что способствует диссоциации комплекса Bcl-2–Beclin 1 и появлению возможности последующей сборки преаутофагосомной структуры и протекания

аутофагии [37]. Длительная активация JNK-каскада и фосфорилирование Bcl-2 приводят к апоптозу в связи с активацией каспазы 3 [36]. Показано, что такие киназы, как ассоциированная с гибелью клеток протеинкиназа DAPK, Rho-ассоциированная киназа 1 (ROCK1), участвующая в регуляции пролиферации клеток, воспаления и адгезии [38, 39], а также МК2 и МК3, служащие субстратами p38 MAPK [40], осуществляют ингибирующее фосфорилирование ВНЗ-домена Beclin 1 и блокируют сборку преаутофагосомы. Стимулирующий эффект оказывает киназа Mst1, регулятор функционирования эффекторных Т-клеток и дифференцировки регуляторных Т-клеток. Фосфорилирование ВНЗ-домена Beclin 1 киназой Mst1 способствует взаимодействию Bcl-2–Beclin 1 [38], предотвращая таким образом сборку комплекса PI3K класса III, что приводит к ингибированию аутофагии. Схема образования активного комплекса PI3K класса III приведена на рис. 4.

Сигнальные пути с участием киназы mTOR

Одной из точек молекулярного взаимодействия путей аутофагии и апоптоза является киназа mTOR – серин/треониновая киназа из семейства фосфатидилинозитолкиназ, которая играет важную роль в регуляции процессов роста и старения. Активность киназы mTOR меняется в зависимости от внешних и внутренних факторов: наличия/отсутствия питательных веществ, АТФ, факторов роста, факторов стресса [1].

Известно, что mTOR входит в состав двух комплексов: mTORC1, состоящего из mTOR, mLST8, DEPTOR, RAPTOR и PRAS40, и mTORC2, состоящего из mTOR, mLST8, DEPTOR, RICTOR, mSIN1 и PROTOR. mTORC1, фосфорилируя киназу рибосомного белка S6 (p70 S6K1) и белок, связывающий фактор инициации трансляции 4E (4EВP1), стимулирует биосинтез белка. mTORC1 осуществляет регу-

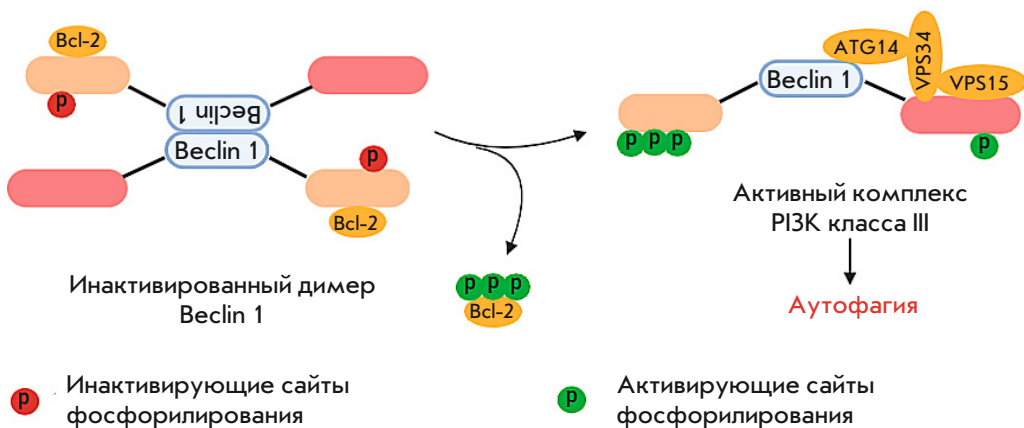


Рис. 4. Схема превращения инактивированного комплекса Bcl-2–Beclin 1 в активный PI3K-комплекс (по Menon [41])

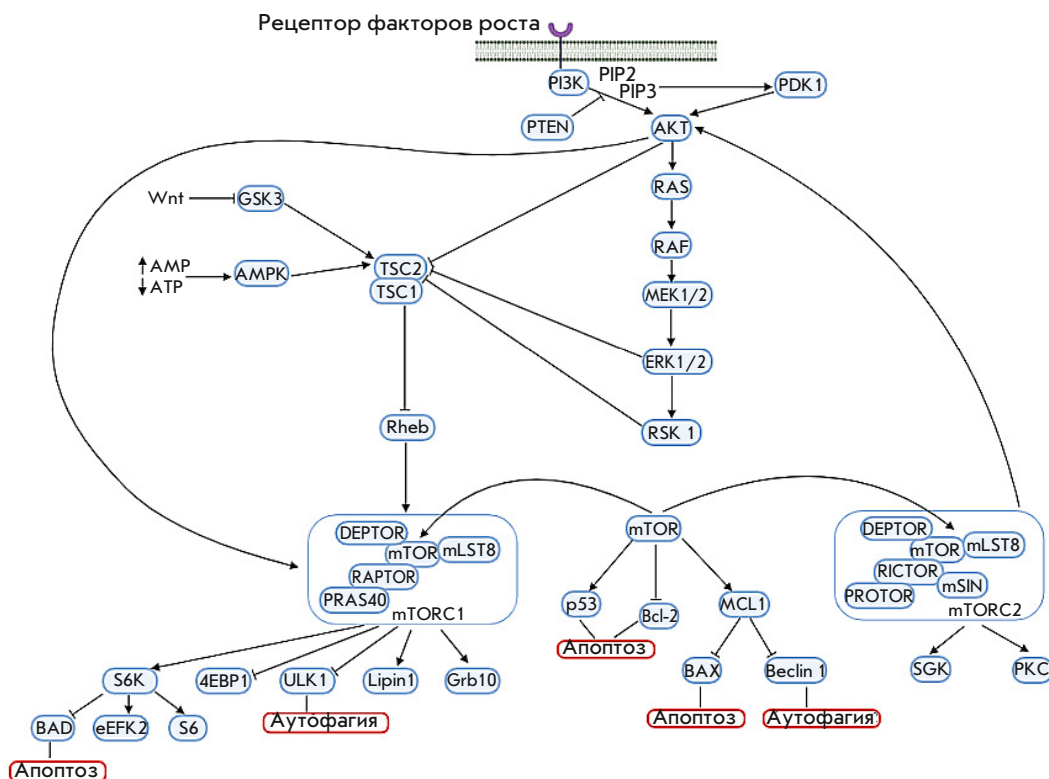


Рис. 5. Схема, иллюстрирующая пути взаимодействия аутофагии и апоптоза с участием mTOR (по [35, 42, 48, 49])

ляторное фосфорилирование ULK1, ингибирующее аутофагию, а также участвует в метаболизме липидов, модифицируя фосфатидатфосфатазу Lipin1. Комплекс mTORC2 был открыт сравнительно недавно. mTORC2 активируется в ответ на воздействие факторов роста, а его субстратами являются киназа AKT, киназы, регулируемые сывороткой и глюкокортикоидами (SGK), и протеинкиназа C (PKC) – компонент регуляторного каскада, активируемого G-белок-связанными рецепторами факторов роста [42].

Активность mTOR регулируется небольшим GTP-связывающим белком Rheb. Связывая GTP, Rheb активирует mTOR, а гидролиз GTP, стимулируемый комплексом TSC1/TSC2 (tuberous sclerosis), приводит к инактивации Rheb и mTOR соответственно. Ингибирование аутофагии в результате регуляторного фосфорилирования TSC1/TSC2 осуществляют различные факторы. Например, AKT, MAP-киназы, регулируемые внеклеточными сигналами киназы (ERK), киназа p90 рибосомного белка S6 (RSK), осуществляя инактивирующее фосфорилирование Ser939 TSC2, ингибируют аутофагию, а AMPK, фосфорилирующая Ser1387 TSC2, стимулирует аутофагию [35].

Снижение уровня питательных веществ или энергии в клетке, а также воздействие стресса приводят к ингибированию активности mTOR и, как следствие, к индукции аутофагии [1]. Однако длительное голода-

ние приводит к реактивации mTOR, а следовательно, к подавлению аутофагии [43].

Наряду с этим mTOR оказывает плеiotропное действие и на процесс апоптоза, в том числе через белки p53, Bcl-2 и Bcl-2 [44]. Взаимодействие Bcl-2 с Beclin 1 приводит к подавлению аутофагии и к предотвращению регуляции экспрессии генов проапоптотических белков белком p53 [45]. Показано, что MCL1, один из белков семейства Bcl-2, действует как своеобразный «датчик» стресса, который одновременно контролирует и аутофагию, и апоптоз в нейронах [46, 47].

На рис. 5 приведена схема путей взаимодействия аутофагии и апоптоза с участием mTOR.

Сигнальный путь с участием p38 MAPK

p38 MAPK играет важную роль в регуляции апоптоза, клеточного цикла, процессов роста и дифференцировки и служит мишенью для ряда лекарственных препаратов (таких, как циклофосфамид, оксалиплатин). Однако при определенных условиях p38 MAPK также может опосредовать устойчивость к апоптозу (посредством активации COX-2 и др.) [50]. Сигнальные пути, регулируемые p38 MAPK, активируются в ответ на воздействие широкого спектра стимулов, таких, как митогенные факторы (например, факторы роста или цитокины), а также на сигналы внешней среды и генотоксический стресс. После

воздействия этих стимулов p38 MAPK активируется вышестоящими киназами MKK3 и MKK6. Иногда p38 также может фосфорилироваться с помощью киназы MKK4, которая хорошо известна как активатор JNK [51].

Помимо апоптоза, p38 MAPK может участвовать и в регуляции аутофагии в ответ на действие химиотерапевтических агентов [52]. Молекулярные механизмы взаимодействия p38 и аутофагии остаются в основном неизвестными. Известно, что p38 MAPK, фосфорилируя Atg5, способна ингибировать аутофагию, вызванную недостатком питательных веществ [53]. Кроме того, p38 MAPK может негативно регулировать как макроаутофагию во время роста клеток в нормальной среде, содержащей аминокислоты и сыворотку (базальная аутофагия) [54], так и аутофагию, вызванную недостатком питательных веществ [55, 56]. Активация передачи сигналов p38 MAPK также индуцирует аутофагию для поддержания выживания клеток посредством фосфорилирования киназы GSK3 β из семейства серин-треониновых киназ, которая участвует в регуляции энергетического обмена [57].

Есть мнение, что p38 MAPK является основным фактором поддержания баланса между p53-зависимым апоптозом и аутофагией в условиях генотоксического стресса, вызванного 5-фторурацилом [58].

В то же время получены противоположные данные о потенциальной роли p38 MAPK в процессах аутофагии и апоптоза. Активные формы кислорода могут вызывать окислительный стресс, который способствует усилению аутофагии и снижению апоптоза [59]. Обнаружено, что MAPK играет жизненно важную роль в переходе от аутофагии к апоптозу в клетках рака толстой кишки человека, обработанных MS-275, ингибитором гистондеацетилаз. При высоком уровне экспрессии p38 наблюдается активация аутофагии, тогда как низкий уровень экспрессии этого гена индуцирует апоптоз. Таким образом, сигнальный путь p38 MAPK может играть критическую роль в выборе одного из двух клеточных процессов, запускаемых при генотоксическом стрессе, вызванном действием химиопрепаратов [50].

Сигнальный путь JNK

Киназа JNK, известная также как активируемая стрессом протеинкиназа (SAPK) семейства MAPK, первоначально активируется в ответ на различные стрессовые сигналы и участвует во многих клеточных событиях, включая апоптоз и аутофагию. В условиях генотоксического стресса JNK является положительным регулятором как апоптоза, так и аутофагии [50].

JNK регулирует апоптоз посредством двух различных механизмов. С одной стороны, она способствует фосфорилированию c-Jun и фактора транскрипции ATF2, что приводит к активации фактора транскрипции AP-1 (activator protein 1) и экспрессии генов, связанных с сигнальным путем, регулируемым рецепторами смерти Fas. Связывание лиганда FasL с рецептором Fas может опосредовать активацию каспазы 8, которая процессирует эффекторную каспазу 3, инициируя апоптоз. С другой стороны, JNK обеспечивает фосфорилирование антиапоптотических белков Bcl-2/Bcl-xL, что приводит к изменению потенциала митохондриальной мембраны и способствует высвобождению цитохрома c, активации каспаз 9 и 3 и индукции апоптоза [60].

Фосфорилирование Bcl-2/Bcl-xL стимулирует аутофагию в результате диссоциации комплекса Beclin 1-Bcl-2/Bcl-xL [61]. С другой стороны, JNK активирует модулятор аутофагии DRAM (damage-regulated autophagy modulator). DRAM является мишенью p53, а его индукция в условиях генотоксического стресса [62] стимулирует аутофагию, блокируя слияние аутофагосом с лизосомами, в состав которых он входит [63, 64].

В целом, результаты проведенных к настоящему времени исследований указывают на значительное совпадение или взаимную зависимость внутриклеточных сигнальных механизмов, вовлеченных в регуляцию как апоптоза, так и аутофагии, опосредованных JNK. Однако вопрос о том, каким образом JNK может контролировать баланс апоптоза и аутофагии в ответ на генотоксический и окислительный стресс, остается открытым [50].

На рис. 6 приведена схема роли сигнальных путей JNK и p38 MAPK в регуляции аутофагии и апоптоза.

АУТОФАГИЯ, АПОПТОЗ В СТАРЕНИИ

Старение организма – сложный процесс, охватывающий нарушение и снижение функций многих систем как на уровне целого организма, так и на клеточном уровне [65]. Все эти процессы приводят в конечном итоге к гибели организма и возникновению большого числа заболеваний, включая метаболический синдром, нейродегенеративные заболевания и рак [6]. Старение клеток сопровождается укорочением теломера [66, 67], а также снижением эффективности протекания аутофагии [5, 6] и избыточной активацией апоптоза [7], однако механизмы этих событий остаются не до конца изученными.

Удлинение теломер может осуществляться специализированным комплексом – теломеразой. В состав этого комплекса входят обратная транскриптаза (TERT), теломеразная РНК (TERC) и дополнительные белки, участвующие в сборке фермента и регу-

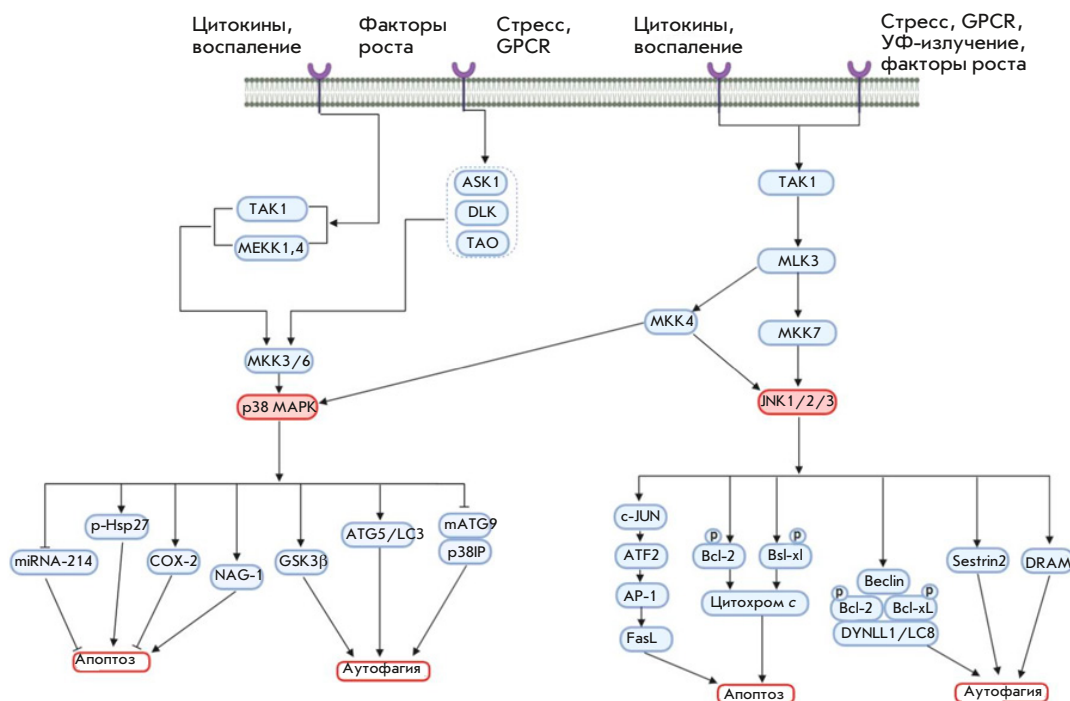


Рис. 6. Схема сигнальных путей p38 MAPK и JNK, отражающая их роль в регуляции процессов аутофагии и апоптоза (по [50])

лирующие его функционирование. Комплекс активен в клетках, характеризующихся высокой скоростью пролиферации, таких, как клетки костного мозга, активированные лимфоциты, гаметы и раковые клетки, в то время как в большинстве соматических клеток теломераза находится в неактивном состоянии [66]. Экспрессия гена *TERC* в клетках, не поддерживающих теломеразную активность, позволяет предполагать, что теломеразная РНК выполняет какие-то дополнительные функции, не связанные с теломеразной активностью и удлинением теломер. В условиях стресса TERT переходит из ядра в митохондрии и способствует защите клеток [68]. Повышенная экспрессия генов компонентов теломеразы стимулирует экспрессию гена гексокиназы 2 и активирует аутофагию в результате ингибирования mTOR [69, 70]. Делеция гена *mTERC* у мышей приводит к активации mTOR и постоянно повышенному уровню фосфорилирования S6K1. Ингибирование mTORC1 рапамицином снижает продолжительность жизни таких мышей, но не мышей дикого типа [71].

В результате транскрипции гена теломеразной РНК человека образуется удлинённый предшественник [72], содержащий открытую рамку считывания, которая кодирует белок hTERP [73]. Повышенное содержание белка hTERP защищает клетки в условиях индукции апоптоза, а мутации hTERP влияют на процессинг белка LC3, одного из основных участников формирования аутофагосомы [72–74]. hTERP может участвовать в регуляции молекулярных вза-

имодействий между аутофагией и апоптозом, а также в адаптации клеток к стрессовым условиям [73]. Молекулярные механизмы влияния компонентов теломеразы на аутофагию продолжают активно изучаться.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, аутофагия и апоптоз находятся в сложных функциональных отношениях, которые в разных тканях и в разных условиях могут варьировать от кооперации до антагонизма. В основе этого поддержания баланса между аутофагией и апоптозом лежит сложная система взаимодействий большого числа сигнальных путей, осуществляемых как с участием ключевых белков аутофагии и апоптоза (Beclin 1, каспазы, p53 и др.), так и полифункциональных регуляторных молекул (например, mTOR, p38 MAPK или JNK). В то же время необходимо отметить, что клинические и экспериментальные данные о соотношении аутофагии и апоптоза в нормальных тканях, а также при различных патологических состояниях, включая злокачественные опухоли, во многом противоречивы, а проблема баланса между апоптозом и аутофагией нуждается в дальнейшем изучении. ●

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ (№ 19-14-00065 «Котранскрипционный процессинг и транспорт теломеразной РНК человека в регуляции функционирования теломеразы»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jiang G., Tan Y., Wang H., Peng L., Chen H., Meng X., Li L. // *Mol. Cancer*. 2019. V. 18. № 1. P. 1–22.
2. Saha S., Panigrahi D.P., Patil S., Bhutia S.K. // *Biomed. Pharmacother*. 2018. V. 104. № 4. P. 485–495.
3. Song X., Lee D.-H., Dilly A.-K., Lee Y.-S., Choudry A.H., Kwon Y.T., Bartlett D.L., Lee Y.J. // *Mol. Cancer Res*. 2019. V. 16. № 7. P. 1077–1091.
4. D'Arcy M. // *Cell Biol. Int*. 2019. V. 28. № 6. P. 582–592.
5. Nakamura S., Yoshimori T. // *Korean Soc. Mol. Cell. Biol*. 2018. V. 41. № 1. P. 65–72.
6. Cheon S.Y., Kim H., Rubinsztein D.C., Lee J.E. // *Exp. Neurobiol*. 2019. V. 28. № 6. P. 643–657.
7. Nalobin D., Alipkina S., Gaidamaka A., Glukhov A., Khuchua Z. // *Cells*. 2020. V. 9. № 2. P. 1–12.
8. Singh R., Letai A., Sarosiek K. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2019. V. 20. № 3. P. 175–193.
9. Susan E. // *Toxicol. Pathol*. 2007. V. 35. № 4. P. 496–516.
10. Poon I.K.H., Lucas C.D., Rossi A.G., Ravichandran K.S. // *Nat. Rev. Immunol*. 2014. V. 14. № 3. P. 166–180.
11. Martinvalet D., Zhu P., Lieberman J. // *Immunity*. 2005. V. 22. № 3. P. 355–370.
12. Lockshin R.A., Zakeri Z. // *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2004. V. 36. № 12. P. 2405–2419.
13. Ioney F.H., Krammer P.H. // *Nat. Rev. Cancer*. 2002. V. 2. № 4. P. 277–288.
14. Brenner D., Mak T.W. // *Curr. Opin. Cell Biol*. 2009. V. 21. № 6. P. 871–877.
15. Cain K., Bratton S.B., Cohen G.M. // *Biochimie*. 2002. V. 84. № 2–3. P. 203–214.
16. Kim J.H., Lee S.Y., Oh S.Y., Han S.I., Park H.G., Yoo M.-A., Kang H.S. // *Oncol. Rep*. 2004. V. 12. № 6. P. 1233–1238.
17. Amaral J.D., Xavier J.M., Steer C.J., Rodrigues C.M. // *Discov. Med*. 2010. V. 9. № 45. P. 145–152.
18. Wei J., Zaika E., Zaika A. // *J. Nucleic Acids*. 2012. № 687359. P. 1–19.
19. Sharp A.N., Heazell A.E.P., Crocker I.P., Mor G. // *Am. J. Reprod. Immunol*. 2010. V. 64. № 3. P. 159–169.
20. Meley D., Spiller D.G., White M.R.H., McDowell H., Pizer B., Sée V. // *Cell Death Dis*. 2010. V. 1. № 5. P. 1–11.
21. Zhang X.P., Liu F., Wang W. // *J. Biol. Chem*. 2010. V. 285. № 41. P. 31571–31580.
22. Mizushima N., Levine B., Cuervo A.M., Klionsky D.J. // *Nature*. 2008. V. 451. № 7182. P. 1069–1075.
23. Levine B., Deretic V. // *Nat. Rev. Immunol*. 2007. V. 7. № 10. P. 767–777.
24. Nixon R.A., Yang D. // *Neurobiol. Dis*. 2011. V. 43. № 1. P. 38–45.
25. Mizushima N., Levine B., Cuervo A.M., Klionsky D.J. // *Nature*. 2008. V. 451. № 7182. P. 1069–1075.
26. Yun C.W., Lee S.H. // *Int. J. Mol. Sci*. 2018. V. 19. № 11. P. 1–18.
27. Cuervo A.M. // *Mol. Cell. Biochem*. 2004. № 263. P. 55–72.
28. Feng Y., He D., Yao Z., Klionsky D.J. // *Nat. Publ. Gr*. 2013. V. 24. № 1. P. 24–41.
29. Zhou Z.-W., Li X.-X., He Z., Pan S., Yang T., Zhou Q., Tan J., Wang D., Zhou S. // *Drug Des. Devel. Ther*. 2015. V. 9. № 3. P. 1511–1554.
30. Samatar A.A., Poulidakos P.I. // *Nat. Publ. Gr*. 2014. V. 13. № 12. P. 928–942.
31. Yang J., Yao S. // *Int. J. Mol. Sci*. 2015. V. 16. № 10. P. 25744–25758.
32. Liang J., Shao S.H., Xu Z., Hennessy B., Ding Z., Larrea M., Kondo S., Dumont D.J., Gutterman J.U., Walker C.L., et al. // *Nat. Cell Biol*. 2007. V. 9. № 2. P. 218–224.
33. Poillet-Perez L., Despouy G., Delage-Mourroux R., Boyer-Guittaut M. // *Redox Biol*. 2015. V. 4. № 4. P. 184–192.
34. Ding W., Ni H., Gao W., Hou Y., Melan M.A., Chen X., Stolz D.B., Shao Z., Yin X. // *J. Biol. Chem*. 2007. V. 282. № 7. P. 4702–4710.
35. Eisenberg-Lerner A., Bialik S., Simon H., Kimchi A. // *Cell Death Differ*. 2009. V. 16. № 7. P. 966–975.
36. Marquez R.T., Xu L. // *Am. J. Cancer Res*. 2012. V. 2. № 2. P. 214–221.
37. Dou Y., Jiang X., Xie H., He J., Xiao S. // *J. Ovarian Res*. 2019. V. 12. № 1. P. 1–11.
38. Lee E.F., Smith N.A., Soares da Costa T.P., Meftahi N., Yao S., Harris T.J., Tran S., Pettikiriachchi A., Perugini M.A., Keizer D.W., et al. // *Autophagy*. 2019. V. 15. № 5. P. 785–795.
39. Julian L., Olson M.F. // *Landes Biosci*. 2014. V. 5. № 7. P. 1–12.
40. Wei Y., An Z., Zou Z., Sumpter R., Su M., Zang X., Sinha S., Gaestel M., Levine B. // *Elife*. 2015. V. 2015. № 4. P. 1–25.
41. Menon M.B., Dhamija S. // *Front. Cell Dev. Biol*. 2018. V. 6. № 10. P. 1–9.
42. Hung C.M., Garcia-Haro L., Sparks C.A., Guertin D.A. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2012. V. 4. № 12. P. 1–17.
43. Yu L., McPhee C.K., Zheng L., Mardones G.A., Rong Y., Peng J., Mi N., Zhao Y., Liu Z., Wan F., et al. // *Nature*. 2010. V. 465. № 6. P. 942–947.
44. Nikolettou V., Markaki M., Palikaras K., Tavernarakis N. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2013. V. 1833. № 12. P. 3448–3459.
45. Warren C.F.A., Wong-Brown M.W., Bowden N.A. // *Cell Death Dis*. 2019. V. 10. № 3. P. 177–189.
46. Zou Y., Liu W., Zhang J., Xiang D. // *Mol. Med. Rep*. 2016. V. 14. № 1. P. 1033–1039.
47. Robinson E.J., Aguiar S.P., Kouwenhoven W.M., Starmans D.S., von Oerthel L., Smidt M.P., van der Heide L.P. // *Cell Death Discov*. 2018. V. 4. № 1. P. 107–120.
48. Germain M., Nguyen A.P., Grand J.N. Le, Arbour N., Vanderluit J.L., Park D.S., Opferman J.T., Slack R.S. // *EMBO J*. 2010. V. 30. № 2. P. 395–407.
49. Castedo M., Ferri K.F., Kroemer G. // *Cell Death Differ*. 2002. V. 9. № 2. P. 99–100.
50. Sui X., Kong N., Ye L., Han W., Zhou J., Zhang Q., He C. // *Cancer Lett*. 2014. V. 344. № 2. P. 174–179.
51. Brancho D., Tanaka N., Jaeschke A., Ventura J.J., Kelkar N., Tanaka Y., Kyuuma M., Takeshita T., Flavell R.A., Davis R.J. // *Genes Dev*. 2003. V. 17. № 16. P. 1969–1978.
52. Thyagarajan A., Jedinak A., Nguyen H., Terry C., Baldrige L.A., Jiang J., Sliva D. // *Nutr. Cancer*. 2013. V. 62. № 5. P. 630–640.
53. Keil E., Höcker R., Schuster M., Essmann F., Ueffing N., Hoffman B., Liebermann D.A., Pfeffer K., Schulze-Osthoff K., Schmitz I. // *Cell Death Differ*. 2013. V. 20. № 2. P. 321–332.
54. Musiwaro P., Smith M., Manifava M., Walker S.A., Ktistakis N.T. // *Autophagy*. 2013. V. 9. № 9. P. 1407–1417.
55. Webber J.L., Tooze S.A. // *EMBO J*. 2010. V. 29. № 1. P. 27–40.
56. Webber J.L. // *Autophagy*. 2010. V. 6. № 2. P. 292–293.
57. Choi C.H., Lee B.H., Ahn S.G., Oh S.H. // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2012. V. 418. № 4. P. 759–764.
58. Cruz-morcillo M.A. De, Sánchez-prieto R. // *Autophagy*. 2012. V. 8. № 1. P. 135–137.
59. Lv X., Tan J., Liu D., Wu P., Cui X. // *J. Hear. Lung Transplant*. 2012. V. 31. № 6. P. 655–662.
60. Tang R., Kong F., Fan B., Liu X., You H., Zhang P., Zheng K. // *World J. Gastroenterol*. 2012. V. 18. № 13. P. 1485–1495.
61. Zhou F., Yang Y. // *FEBS J*. 2011. V. 278. № 3. P. 403–413.
62. Crighton D., Wilkinson S., O'Prey J., Syed N., Smith P., Harrison P.R., Gasco M., Garrone O., Crook T., Ryan K.M. //

- Cell. 2006. V. 126. № 1. P. 121–134.
63. Mrschtik M., O'Prey J., Lao L.Y., Long J.S., Beaumatin F., Strachan D., O'Prey M., Skommer J., Ryan K.M. // *Cell Death Differ.* 2015. V. 22. № 10. P. 1714–1726.
64. Lorin S., Pierron G., Ryan K.M., Codogno P., Djavaheri-Mergny M. // *Autophagy.* 2010. V. 6. № 1. P. 153–154.
65. Hansen M., Rubinsztein D.C., Walker D.W. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2018. V. 19. № 9. P. 579–593.
66. Tsoukalas D., Fragkiadaki P., Docea A.O., Alegakis A.K., Sarandi E., Thanasoula M., Spandidos D.A., Tsatsakis A., Razgonova M.P., Calina D. // *Mol. Med. Rep.* 2019. V. 20. № 4. P. 3701–3708.
67. El Maï M., Marzullo M., de Castro I.P., Ferreira M.G. // *Elife.* 2020. V. 9. № 54935. P. 1–26.
68. Chiodi I., Mondello C. // *Front. Oncol.* 2012. V. 2. № 9. P. 1–6.
69. Roh J. Il, Kim Y., Oh J., Kim Y., Lee J., Lee J., Chun K.H., Lee H.W. // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 2. P. 1–14.
70. Ali M., Devkota S., Roh J. I., Lee J., Lee H.W. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016. V. 478. № 3. P. 1198–1204.
71. Ferrara-Romeo I., Martinez P., Saraswati S., Whittemore K., Graña-Castro O., Thelma Poluha L., Serrano R., Hernandez-Encinas E., Blanco-Aparicio C., Maria Flores J., et al. // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 1–17.
72. Rubtsova M.P., Vasilkova D.P., Moshareva M.A., Malyavko A.N., Meerson M.B., Zatsepin T.S., Naraykina Y.V., Beletsky A.V., Ravin N.V., Dontsova O.A. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 1–10.
73. Rubtsova M., Naraykina Y., Vasilkova D., Meerson M., Zvereva M., Prassolov V., Lazarev V., Manuvera V., Kovalchuk S., Anikanov N., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2018. V. 46. № 17. P. 8966–8977.
74. Rubtsova M.P., Vasilkova D.P., Naraykina Y.V., Dontsova O.A. // *Acta Naturae.* 2016. V. 8. № 4. P. 14–22.