



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΑΝΟΙΚΤΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ
ΚΑΘΗΓΗΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Αυτοφαγία: Μηχανισμοί, ρύθμιση και η σημασία της στην
υγεία και στην ασθένεια**

Σοφία Κοσμίδου
Α.Μ.: 150356

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΣΙΜΟΣ

ΠΑΤΡΑ
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ, 2022

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του φοιτητή/της φοιτήτριας («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο/η συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του/της συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του/της συγγραφέα/δημιουργού. Ο/Η συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΑΝΟΙΚΤΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**Αυτοφαγία: Μηχανισμοί, ρύθμιση και η σημασία της στην
υγεία και στην ασθένεια**

Σοφία Κοσμίδου

Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής:

Γεώργιος Σίμος

Καθηγητής Βιοχημείας,

Τμήμα Ιατρικής,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής:

Κωνσταντίνος Σταθόπουλος

Καθηγητής Βιοχημείας,

Τμήμα Ιατρικής

Πανεπιστήμιο Πατρών

ΠΑΤΡΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ, 2022

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πρωτίστως τον επιβλέποντα καθηγητή μου Γεώργιο Σίμο, Καθηγητή Βιοχημείας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την καθοδήγηση, την κριτική του ανάγνωση και τις οδηγίες που μου προσέφερε στο πλαίσιο εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τους γονείς, συγγενείς και τους φίλους μου για την υπομονή, την κατανόηση και κυρίως την ηθική υποστήριξη κατά το διάστημα των μεταπτυχιακών σπουδών μου.

Ευχαριστίες.....	iv
Περιεχόμενα.....	v
Περίληψη.....	vi
Abstract.....	vii
1. Εισαγωγή.....	2
2. Η ιστορική αναδρομή της έρευνας στην αυτοφαγία.....	5
3. Αυτοφαγία, Είδη και Λειτουργίες.....	11
4. Μοριακός Μηχανισμός της Αυτοφαγίας.....	20
5. Ρύθμιση της Αυτοφαγίας.....	33
6. Αυτοφαγία και καρκίνος.....	52
7. Αυτοφαγία και ασθένειες.....	66
8. Η αυτοφαγία ως θεραπευτικός στόχος.....	74
Βιβλιογραφία.....	88

Περίληψη

Η αυτοφαγία αποτελεί μια κυτταρική διεργασία κατά την οποία αποικοδομούνται διάφορα κυτταροπλασματικά συστατικά, όπως ελαττωματικές πρωτεΐνες ή δυσλειτουργικά οργάνια, αφού μεταφερθούν στα λυσοσώματα. Τα κυστίδια που μεταφέρουν τα προς αποικοδόμηση υλικά στα λυσοσώματα ονομάζονται αυτοφαγοσώματα. Το φαινόμενο της αυτοφαγίας πραγματοποιείται σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και αποτελεί μέρος της συμπεριφοράς των κυττάρων, όταν αυτά βρεθούν υπό αντίξοες συνθήκες αλλά και υπό φυσιολογικές. Η πείνα, η υποξία, η μόλυνση από κάποιον παθογόνο μικροοργανισμό είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν τη δημιουργία των αυτοφαγοσωμάτων, που με τη σειρά τους διασπών ή ανακυκλώνουν το περιεχόμενό τους. Η αυτοφαγία μπορεί να διακριθεί σε τρεις επιμέρους οδούς, ανάλογα με την εξειδίκευση, το μηχανισμό παράδοσης του φορτίου και το φορτίο. Αυτές είναι η μακροαυτοφαγία, η μικροαυτοφαγία και η διαμεσολαβούμενη από Μοριακές Συνοδούς αυτοφαγία. Συνήθως ο όρος αυτοφαγία χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη μακροαυτοφαγία.

Οι μεταλλάξεις που μπορούν να συμβούν στα γονίδια της αυτοφαγίας, μπορούν να προκαλέσουν διάφορες ασθένειες. Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας, παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά της αυτοφαγίας, ο μοριακός μηχανισμός, ενώ διερευνάται και η εμπλοκή της σε ασθένειες όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης τύπου II και τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα. Τέλος, εξετάζεται η προοπτική φαρμακολογικής τροποποίησης της αυτοφαγίας σε διάφορες ασθένειες, ώστε οι κατάλληλοι επαγωγείς ή αναστολείς της να την επαναφέρουν στα φυσιολογικά επίπεδα λειτουργίας της.

Abstract

Autophagy comprises a cellular process by which various cytoplasmic components, such as defective proteins or dysfunctional organelles, are degraded after being transported to the lysosomes. The vesicles that carry the materials to the lysosomes are called autophagosomes. The phenomenon of autophagy occurs in all eukaryotic organisms and is part of cell behavior when they are placed under adverse and under normal conditions. Starvation, hypoxia, infection by a pathogenic microorganism are able to trigger the formation of autophagosomes, which in turn break down or recycle their contents. Autophagy can be distinguished into three sub-pathways, depending on the specificity, the delivery mechanism and the cargo. These are macroautophagy, microautophagy and Molecular Chaperone mediated autophagy. The term autophagy is commonly used to describe macroautophagy.

Mutations that may occur in autophagy genes are related to various diseases. This thesis presents some basic autophagy characteristics and also its link to diseases such as cancer, type II diabetes and neurodegenerative diseases. Finally, pharmacological modulation of autophagy is theoretically examined in various diseases by the use of appropriate inducers or inhibitors. Perhaps, the use of these modulators could restore the process and could also represent an effective and safe therapy target.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Σε όλες τις βιολογικές διεργασίες θεωρείται σημαντική η διαφύλαξη των ενεργειακών πόρων και η βέλτιστη αξιοποίησή τους. Κατά τη διάρκεια της εξελικτικής διαδικασίας, η ικανότητα αντίληψης της διαθεσιμότητας των ενεργειακών αποθεμάτων και η ανάλογη τροποποίηση των λειτουργιών, προσέδιδε πλεονέκτημα επιβίωσης. Όσοι οργανισμοί μπορούσαν να μετατοπίσουν την εξάρτησή τους από εξωτερικές σε εσωτερικές πηγές ενέργειας και αντίστροφα, διασφάλιζαν περισσότερες πιθανότητες επιβίωσης σε ακραίες συνθήκες, όπως έλλειψη τροφής ή περιορισμένη συγκέντρωση οξυγόνου. Πράγματι, οι στρατηγικές κινητοποίησης και επαναχρησιμοποίησης των κυτταρικών πόρων βελτιώθηκαν με την πάροδο του χρόνου και δε θα ήταν υπερβολή να θεωρηθεί πως η διεργασία της αυτοφαγίας αποτελεί εξελικτικό προϊόν των παραπάνω τακτικών.

Ο όρος «αυτοφαγία» όπως προδίδει κι η ετυμολογική ανάλυση του όρου, αναφέρεται στην ιδιότητα των κυττάρων να «τρώνε» τμήματα του εαυτού τους. Ουσιαστικά πρόκειται για τη δυνατότητα των κυττάρων να διασπών, να τροποποιούν ή ακόμη και να ανακυκλώνουν τα δικά τους συστατικά, όταν βρεθούν σε δυσμενείς καταστάσεις αλλά κι όταν βρίσκονται υπό φυσιολογικές συνθήκες. Αρχικά η αυτοφαγία είχε θεωρηθεί ως μια έσχατη απόκριση στις στρεσογόνες συνθήκες, όμως πλέον έχει αναγνωριστεί πως πραγματοποιείται σε χαμηλά επίπεδα και υπό φυσιολογικές συνθήκες. Ουσιαστικά έχει γίνει αποδεκτός ο ρόλος της στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης.

Εκτός από την αυτοφαγία, υπάρχει και ένα δεύτερο καταβολικό μονοπάτι των πρωτεϊνών, που είναι το πρωτεάσωμα. Αυτός ο κυτταρικός μηχανισμός αποικοδομεί πρωτεΐνες ουβικιτινωμένες με μικρό χρόνο ημιζώης, ενώ η αυτοφαγική διεργασία στοχεύει μακροβιότερες πρωτεΐνες, λιπίδια μέχρι και κυτταρικά οργανίδια.

Η πρώτη παρατήρηση του φαινομένου της κυτταρικής αυτοφαγίας, η ανακάλυψη του μηχανισμού του κι η διευκρίνιση των συνθηκών, κάτω από τις οποίες πραγματοποιείται, χάρισαν στον Ιάπωνα βιολόγο Yoshinori Ohsumi τη μέγιστη επιστημονική διάκριση με το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας/Ιατρικής το 2016.

Η αυτοφαγία πλέον αναγνωρίζεται ως θεμελιώδης κυτταρική οδός ανακύκλωσης και αποικοδόμησης ενδοκυτταρικών συστατικών, όταν το κύτταρο έρθει αντιμέτωπο με δυσμενείς συνθήκες, όπως η πείνα ή μια πιθανή μόλυνση. Υπολογίζεται ότι σε χρονικό διάστημα μικρότερο των δυο μηνών, σχεδόν όλες οι πρωτεΐνες στο σώμα μας αποικοδομούνται και αντικαθίστανται δίχως αξιοσημείωτες αλλαγές στη λειτουργία τους (Ohsumi 2014). Επιπλέον, στους ενήλικες, τα περισσότερα αμινοξέα που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση νέων πρωτεϊνών λαμβάνονται μέσω της διάσπασης των ήδη υφιστάμενων πρωτεϊνών. Αυτό υπογραμμίζει τον κεντρικό ρόλο της αυτοφαγίας στη φυσιολογία των ευκαρυωτικών οργανισμών.

Στα κύτταρα των θηλαστικών έχουν αναγνωριστεί τρία είδη αυτοφαγίας σύμφωνα με το μηχανισμό που πραγματοποιούνται: η μικροαυτοφαγία (microautophagy), η μακροαυτοφαγία (macroautophagy) και η διαμεσολαβούμενη από Μοριακές Συνοδούς αυτοφαγία (Chaperone Mediated Autophagy). Ένα επιπρόσθετο κριτήριο διάκρισης αφορά την επιλεκτικότητα ή μη της κυτταρικής διεργασίας. Έτσι, η αυτοφαγία διακρίνεται στη «γενική» ή «επιλεκτική». Κατά την πρώτη αντίστοιχα, δεν επιλέγεται με ιδιαίτερα αυστηρά κριτήρια το φορτίο, ενώ στη δεύτερη στοχεύονται μόνο συγκεκριμένα υποστρώματα. Η επιλεκτικότητα καθορίζεται από ειδικούς προσαρμογείς και υποδοχείς αυτοφαγίας που κατευθύνουν την φορτίο αυτοφαγίας στα αυτοφαγοσωμάτια (Gatica et al., 2018).

Η μικροαυτοφαγία έχει σημειωθεί κυρίως στο ζυμομύκητα και περιλαμβάνει την εγκόλπωση της λυσοσωμικής μεμβράνης και την άμεση πέψη του υλικού. Η μεσολαβούμενη από Μοριακές Συνοδούς αυτοφαγία διαφοροποιείται από τις άλλες δύο στο ότι το προς αποικοδόμηση φορτίο δεν εισέρχεται σε κυστίδια και δε μεταφέρεται μέσω αυτών. Πιο ειδικά, μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών heat shock αναγνωρίζουν ένα πεπτιδικό μοτίβο και έτσι επιλέγουν τις πρωτεΐνες στόχους με τελικό προορισμό το λυσόσωμα.

Κοινό στάδιο όλων των παραπάνω διεργασιών είναι η μεταφορά του προς αποικοδόμηση υλικού στο λυσόσωμα. Οι πρωτεΐνες και οι επιμέρους δομές του αυτοφαγικού μηχανισμού συμμετέχουν επίσης στην αποικοδόμηση εξωκυττάριου υλικού μέσω αλληλεπιδράσεων με διεργασίες όπως η ενδοκυττάρωση, η μικροπινοκυττάρωση και η φαγοκυττάρωση (Gatica et al., 2018).

Η λειτουργία της αυτοφαγίας συνοψίζεται επιγραμματικά σε δύο σημεία: i) στην παραγωγή ενέργειας, καθώς τα προϊόντα αποικοδόμησης χρησιμεύουν στην επιβίωση των κυττάρων σε περιόδους πείνας ή κατά τη διάρκεια αυξημένων απαιτήσεων στα διάφορα αναπτυξιακά στάδια, όπως μετά τον τοκετό ή πριν την εμφύτευση, ii) στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης, γιατί αποτελεί ένα σύστημα ενδοκυτταρικού ποιοτικού ελέγχου με την απομάκρυνση κατεστραμμένων μακρομορίων και οργανιδίων. Έχει γίνει αποδεκτή η συμμετοχή της στο μεταβολισμό, στην ανάπτυξη, στην εκδήλωση ασθενειών, στη φυσιολογική γήρανση, στη μακροζωία και στον κυτταρικό θάνατο (Parzych et al., 2014).

Κεφάλαιο 2: Η ιστορική αναδρομή της έρευνας στην αυτοφαγία

Ο όρος αυτοφαγία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Christian de Duve, ο οποίος τιμήθηκε με τη βραβείο Nobel το 1974 για την ανακάλυψη των λυσοσωμάτων και των υπεροξειδασών. Το 1955 είχε παρατηρήσει ένα νέο οργανίδιο κατά το διαφορετικό διαχωρισμό ηπατικού ομογενοποιημάτος. Το οργανίδιο αυτό περιείχε όξινες φωσφοϋδρολάσες και χαρακτηριζόταν από λυτική δράση (De Duve et al., 1955).

Το 1957, ο Clark παρατήρησε κυστίδια ακανόνιστου σχήματος διπλής μεμβράνης να περιβάλλουν άμορφα υλικά, συμπεριλαμβανομένων των μιτοχονδρίων, σε νεφρικά επιθηλιακά κύτταρα νεογέννητων ποντικών με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα οποία περιγράφηκαν ως "σώματα ακανόνιστης πυκνότητας" και "πυκνά σώματα" και πιστεύεται ότι ήταν η πρώτη αναφορά των αυτοφαγοσωμάτων. Το 1962, οι Ashfold και Porter επεξεργάστηκαν ηπατοκύτταρα αρουραίων με γλυκαγόνη και διαπίστωσαν ότι τα μεμβρανικά κυστίδια περιείχαν μιτοχόνδρια και ενδοπλασματικό δίκτυο. Οι Novikoff et al. παρατήρησαν αύξηση των αυτοφαγοσωμάτων σε τομές ηπατικού ιστού αρουραίων, που είχαν εκτεθεί σε συνθήκες ασιτίας. Το 1963, παρατήρησαν παρόμοιες δομές που περιείχαν λυσοσωμική υδρολάση στους νεφρούς, γνωστές ως "κυτταρολυσοσώματα", οι οποίες εμφανίζονταν θετικές στην όξινη φωσφατάση και περιείχαν μιτοχόνδρια, ενδοπλασματικό δίκτυο, ριβοσώματα και άλλα κυτταροπλασματικά συστατικά. Ο De Duve βασιζόμενος στα προαναφερθέντα ευρήματα διέκρινε τις λειτουργίες των λυσοσωμάτων στην ετεροφαγία και την αυτοφαγία κι έτσι το 1963 πρότεινε για πρώτη φορά την έννοια της αυτοφαγίας, που αφορούσε την αποικοδόμηση κυτταροπλασματικών και οργανιδίων μέσω μονής ή διπλής στιβάδας μεμβρανικών κυστιδίων γνωστών ως "αυτοφαγοσωμάτια". Λίγο αργότερα, το 1965 οι De Duve και Wattiaux προσδιόρισαν τις λειτουργίες της αυτοφαγικής δραστηριότητας που είναι η προσφορά θρεπτικών συστατικών σε περιόδους ασιτίας, η συμμετοχή της σε διεργασίες κυτταρικής διαφοροποίησης, μεταμόρφωσης, αντιγήρανσης και στην απομάκρυνση των υπολειμμάτων των νεκρών κυττάρων. Τα προαναφερθέντα ευρήματα οδήγησαν στην βράβευση του de Duve (Sheng et al., 2019).

Κατά τη διάρκεια των δεκαετιών του 1960 και 1970, τα λυσοσώματα και η σχέση τους με την επεξεργασία των πρωτεϊνών, αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης από διάφορες ερευνητικές ομάδες. Διαπιστώθηκε ότι τα λυσοσώματα αποικοδομούν κατά προτίμηση τις πρωτεΐνες μακράς διάρκειας ζωής σε σύγκριση με τις βραχύβιες πρωτεΐνες. Παράλληλα κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η αποικοδόμηση των μακρομοριακών πρωτεϊνών είναι ταχύτερη από εκείνη των μικρότερων πρωτεϊνών, η αποικοδόμηση των όξινων πρωτεϊνών είναι ταχύτερη από εκείνη των ουδέτερων ή βασικών πρωτεϊνών και τέλος η αποικοδόμηση των γλυκοπρωτεϊνών είναι ταχύτερη. Όλες αυτές οι αλλαγές έχει επιβεβαιωθεί πως οφείλονται στην ενεργοποίηση της μη επιλεκτικής αυτοφαγίας (Sheng et al., 2019).

Στην δεκαετία του '80 οι Aaron Ciechanover, Avram Hershko και Irwin Rose παρουσίασαν το σύστημα των κυττάρων, το πρωτεάσωμα, με το οποίο διασπώνται όσες πρωτεΐνες έχουν «σταμπαριστεί» με ουβικιτίνη. Η συγκεκριμένη ανακάλυψή, οδήγησε στη βράβυσή τους το 2004 με το Νόμπελ Χημείας και προσέφερε έναν ακόμη λίθο στο οικοδόμημα των γνώσεων για την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών (Ciechanover 2004).

Πριν από το 1990, η έρευνα για την αυτοφαγία διεξαγόταν κυρίως σε κυτταρικές σειρές θηλαστικών και ηπατικά κύτταρα τρωκτικών. Το 1992, η ομάδα του Yoshinori Ohsumi διαπίστωσε ότι η στέρηση θρεπτικών συστατικών στον *Saccharomyces cerevisiae* επάγει την αυτοφαγική αποικοδόμηση. Στον κύτταρα του ζυμομύκητα, τα κενοτόπια ήταν τα μόνα οργανίδια που ήταν ευδιάκριτα με αντίθεση φάσης μικροσκοπία. Είναι όξινα, περιέχουν μια ποικιλία υδρολασών και λειτουργούν όπως τα λυσοσώματα των θηλαστικών. Οι Ohsumi et al. πρωτοστάτησαν στη χρήση στελεχών ζύμης που στερούνται πρωτεάσες των κενοτοπίων. Στα κύτταρα ζύμης αγρίου τύπου, αυτά τα αυτοφαγισώματα μπορούν να αποικοδομηθούν ταχέως από τις υδρολάσες των κενοτοπίων. Όταν η εξωτερική μεμβράνη του αυτοφαγισώματος συγχωνεύεται με το κενοτόπιο, σχηματίζεται ένα αυτολυσόσωμα μονής μεμβράνης. Η δυναμική των μεμβρανών παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με την αντίστοιχη στα θηλαστικά. Στη συνέχεια, η έλλειψη σε άνθρακα, θείο, φωσφορικά και μεμονωμένα αμινοξέα είχε επίσης αποδειχθεί ότι επάγει παρόμοιες διαδικασίες (Ohsumi 2016).

Από το 1992 και έπειτα οι ερευνητικές ομάδες των Ohsumi και Tsukada χρησιμοποίησαν στελέχη ζύμης, από τα οποία απουσίαζαν οι κενοτοπικές υδρολάσες, ώστε να ελέγξουν την ύπαρξη μεταλλαγμάτων που στερούνταν μηχανισμούς αυτοφαγίας και δεν μπορούσαν να σχηματίσουν αυτοφαγισώματα κατά τη διάρκεια στερησης αζώτου. Τελικά απομόνωσαν κλώνους ζυμομυκήτων υπό συνθήκες ασιτίας που στερούνταν μηχανισμούς αυτοφαγίας κι έτσι ταυτοποιήθηκε μια ομάδα/οικογένεια γονιδίων, που είχαν ονομαστεί *Arg* γονίδια (Ohsumi 2016). Το 1992 η ομάδα του Klionsky ταυτοποίησε τα γονίδια που σχετίζονται με το μονοπάτι *Cvt* (Cytoplasm to vacuole transport). Το 1993, η ομάδα του Ohsumi ανέφερε το πρώτο γονίδιο αυτοφαγίας της ζύμης, το *Arg1* (τώρα ονομάζεται *Atg1*), το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη *Atg1* που έχει δραστηριότητα κινάσης και που παίζει βασικό ρόλο στην αυτοφαγία που προκαλείται από την έλλειψη θρεπτικών συστατικών. Το 1996, η ομάδα του Ohsumi ανέφερε το γονίδιο αυτοφαγίας *Arg5*, σήμερα *Atg5*. Το 1997, η ομάδα του Thumm ανέφερε ότι το γονίδιο *Aut1*, που πλέον ονομάζεται *Atg3*, κωδικοποιεί την πρωτεΐνη *Atg8*. Το 1998, οι Mizushima et al. ανέφεραν τη σύζευξη της πρωτεΐνης *Atg12-Atg5* στη ζύμη. Το 1999, κλωνοποιήθηκε και ταυτοποιήθηκε η *Atg7* στη ζύμη. Το 2000, οι Ichimura et al. ανέφεραν ότι το E1-like ένζυμο *Atg7* προάγει την τη σύνδεση της *Atg8* με τη φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, υποδεικνύοντας το ρόλο της λιπίδωσης των πρωτεϊνών στη δυναμική των μεμβρανών κατά την αυτοφαγία. Στην πραγματικότητα, πολλά γονίδια *Cvt*, *Atg* και *Aut* είναι αλληλόμορφα. Το 2003, αυτά τα γονίδια ονομάστηκαν γονίδια που σχετίζονται με την αυτοφαγία (*Atg*) (Klionsky et al. 2003). Το 2010, οι Kanki et al. εντόπισαν τα *Atg32* και *Atg33* με γενετικό έλεγχο επιλεκτικών μεταλλάξεων μιτοφαγίας. Μέχρι σήμερα, έχουν αναγνωρισθεί συνολικά 42 γονίδια *Atg* που είναι διατηρημένα σε ευκαρυώτες και είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό των αυτοφαγοσωμάτων και τη ρύθμιση της επιλεκτικής αυτοφαγίας (Sheng et al., 2019).

Στη συνέχεια οι ερευνητές εντόπισαν τα δομικά και λειτουργικά ομόλογα των γονιδίων *Atg* της ζύμης στα θηλαστικά. Το 1998, οι Mizushima et al. εντόπισαν τα πρώτα γονίδια αυτοφαγίας των θηλαστικών, τα *Atg5* και *Atg12*, και απέδειξαν ότι το σύστημα σύζευξης *Atg12-Atg5* έχει διατηρηθεί στα θηλαστικά. Το 1999, η ομάδα της Levine διαπίστωσε ότι η *Bcl-1*, μια πρωτεΐνη που δεσμεύεται με την *Bcl-2* και ήταν ικανή να επάγει την αυτοφαγία, αποτελεί ταυτόχρονα την ομόλογη των

Atg6/Vps30. Το 2000, η ομάδα του Kominami εντόπισε τα ομόλογα των πρωτεϊνών του συστήματος σύζευξης Atg7 των θηλαστικών, ενώ η ομάδα του Yosimori αναγνώρισε την πρωτεΐνη LC3 (microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3B) που συνδέεται με τους μικροσωληνίσκους ως ομόλογη της πρωτεΐνης Atg8 των θηλαστικών (Sheng et al., 2019).

Μια σημαντική ανακάλυψη στην κατανόηση της ρυθμιστικής οδού σηματοδότησης της αυτοφαγίας ήταν η ανακάλυψη του στόχου της κινάσης της ραπαμυκίνης (TOR), η οποία ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη, τον κυτταρικό κύκλο και τη σύνθεση πρωτεϊνών. Το 1995, η ομάδα του Meijer ανακάλυψε για πρώτη φορά ότι ο αναστολέας του TOR, η ραπαμυκίνη μπορεί να επάγει την αυτοφαγία σε ηπατοκύτταρα αρουραίου και να μειώσει, την ανασταλτική επίδραση των αμινοξέων στην αυτοφαγία. Διαπίστωσαν επίσης ότι τα αμινοξέα διεγείρουν τη φωσφορυλίωση της ριβοσωμικής πρωτεΐνης S6 και ότι η ραπαμυκίνη αναστέλλει αυτή την επίδραση, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα αμινοξέα και τα σήματα αυτοφαγίας που ρυθμίζονται από τον TOR είναι αλληλένδετα. Το 1997 η ομάδα του Meijer εντόπισε μια ομάδα αναστολέων της PI3K, που παρεμπόδιζε την αυτοφαγία απουσία αμινοξέων. Το 2000, ο Codogno ανακάλυψε ότι το PI3P, το προϊόν της κινάσης της φωσφατιδυλινοσιτόλης τύπου III (PI3K-III), είναι απαραίτητο για την αυτοφαγία, ενώ τα προϊόντα της κινάσης της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης τύπου I (PI3K-I), 3,4-διφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη (PI(3,4)P2) και τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη (PI(3,4,5)P3), αναστέλλουν την αυτοφαγία (Sheng et al., 2019).

Στα αρχικά στάδια της έρευνας για την αυτοφαγία, θεωρήθηκε πως εσωκλείονται δίχως κριτήριο επιλογής μέρη του κυτταροπλάσματος για αποικοδόμηση στα λυσοσώματα. Το 1973, οι Bolender και Weibel ανακάλυψαν ότι το λείο ενδοπλασματικό δίκτυο αποικοδομείται επιλεκτικά. Το 1983, οι Veenhuis και Dunn ανέφεραν για πρώτη φορά την εμφάνιση της επιλεκτικής πεξοφαγίας στο μύκητα *Hansenula*. Η πεξοφαγία αφορά την επιλεκτική αποικοδόμηση των υπεροξειδιοσωμάτων. Το 1987, οι Mortimore et al. ανέφεραν ότι όταν τα ηπατοκύτταρα εκτέθηκαν σε γλυκαγόνη, τα ριβοσώματα αποικοδομήθηκαν επιλεκτικά με αυτοφαγία. Το 2004, οι Lemasters et al. διαπίστωσαν ότι τα μη φυσιολογικά μιτοχόνδρια αποικοδομούνται επιλεκτικά από την αυτοφαγία, εισάγοντας έτσι την έννοια της μιτοφαγίας. Αυτές οι μελέτες στη ζύμη και στους

ανώτερους ευκαρυώτες κατέδειξαν πλήρως ότι η αυτοφαγία είναι επιλεκτική (Sheng et al., 2019).

Εν έτει 2016 απονεμήθηκε το Νόμπελ Φυσιολογίας-Ιατρικής στον Yoshinori Ohsumi, για την προσφορά του στην έρευνα της ανακάλυψης των μηχανισμών της αυτοφαγίας. Ο Ohsumi ήταν πρωτοπόρος στην έρευνα της αυτοφαγίας στη ζύμη, δίνοντας τη δυνατότητα σε χιλιάδες επιστήμονες παγκοσμίως να διερευνήσουν το ρόλο της αυτοφαγίας στην υγεία και την ασθένεια, μελετώντας κύτταρα θηλαστικών. Η έρευνά του σχετικά με την αυτοφαγία είχε τεράστιο αντίκτυπο στην ανάπτυξη της βιολογίας και της ιατρικής, υποδηλώνοντας ότι οι μεγάλες ανακαλύψεις στις βασικές επιστήμες είναι προαπαιτούμενες για την εξέλιξη νέων τομέων της ιατρικής (Levine, Klionsky 2016).

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, αν και οι ερευνητές έχουν αποκτήσει βαθύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών της αυτοφαγίας και των λειτουργιών της, υπάρχουν ακόμη αρκετά ζητήματα που μένει να διερευνηθούν, όπως η διαδικασία της αυτοφαγίας, οι λειτουργίες των γονιδίων που σχετίζονται με την αυτοφαγία, ο ρόλος τους στις ασθένειες και οι δυνατότητες στόχευσης της αυτοφαγίας ως φαρμακευτικού στόχου. Για παράδειγμα, η αυτοφαγία θεωρούνταν κάποτε ως αυτοκτονική οδός κατά την οποία τα κύτταρα πεθαίνουν τρώγοντας τον εαυτό τους. Ωστόσο, σήμερα αναγνωρίζεται ότι η αυτοφαγία έχει διπλή λειτουργία. Αποτελεί πρωτίστως έναν κυτταροπροστατευτικό μηχανισμό επιβίωσης, ενώ διατηρεί την ομοιόσταση των θρεπτικών συστατικών και της ενέργειας υπό συνθήκες ασιτίας. Η αυτοφαγία απομακρύνει τις μη σωστά αναδιπλωμένες πρωτεΐνες, τα πρωτεϊνικά συσσωματώματα, τα δυσλειτουργικά οργανίδια και παθογόνους μικροοργανισμούς που προκαλούν διάφορες ασθένειες. Ωστόσο, η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας μπορεί επίσης να είναι επιζήμια υπό ορισμένες συνθήκες. Η αυτοφαγία μπορεί να επιτρέψει τα καρκινικά κύτταρα να γίνουν ανθεκτικά στη χημειοθεραπεία. Η υπερβολική ενεργοποίηση της αυτοφαγίας, υπό μη φυσιολογικές συνθήκες, μπορεί να προκαλέσει απόπτωση ή θάνατο. Επομένως, ένας μελλοντικός στόχος είναι να προσδιοριστεί η συσχέτιση μεταξύ της αυτοφαγίας και των φυσιολογικών δραστηριοτήτων ακόμη και κάτω από μη κανονικές ή φυσιολογικές συνθήκες. Το τελευταίο θα καθιστούσε την αυτοφαγία έναν αποτελεσματικό θεραπευτικό στόχο ποικίλων ασθενειών (Levine, Klionsky 2016).

Όπως όλα δείχνουν, η μελέτη της αυτοφαγίας θα συνεχίσει να αναπτύσσεται με ταχείς και συνεχείς ρυθμούς. Εντυπωσιακό παραμένει το γεγονός, πως μια αρχικώς υποτιμημένη κυτταρική διαδικασία στους ζυμομύκητες είναι σε θέση να σηματοδοτήσει πρωτοποριακή πρόοδο στον τομέα της υγείας.

Κεφάλαιο 3: Αυτοφαγία, Είδη και λειτουργίες

Μικροαυτοφαγία

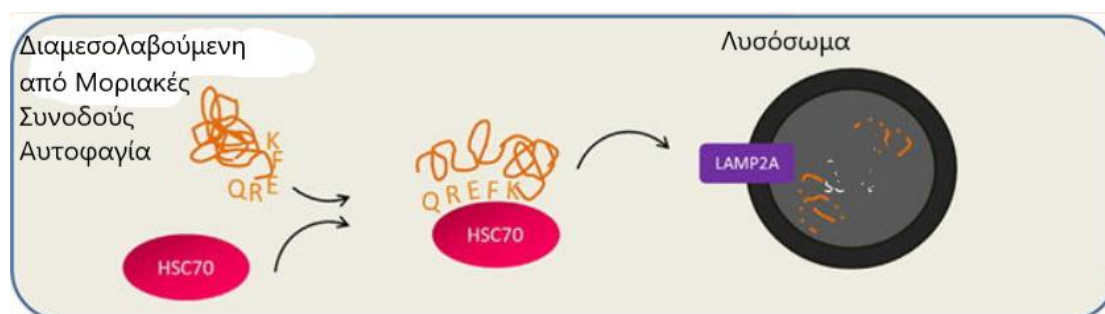
Η μικροαυτοφαγία αποτελεί την αυτοφαγική οδό, κατά την οποία εγκοιλώνεται η μεμβράνη των λυσοσωμάτων κι εσωκλείονται τα προς αποικοδόμηση συστατικά του κυτταροπλάσματος, δίχως να σχηματισθούν δομές όπως τα αυτοφαγοσώματα. Η μικροαυτοφαγία αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1966 και έχει μελετηθεί κυρίως σε ζυμομύκητες. Είναι η διαδικασία με την οποία τα κυτοσολικά υποστρώματα εγκλωβίζονται απευθείας από τα κενοτόπια. Ωστόσο, το ερώτημα εάν πραγματοποιείται η μικροαυτοφαγία σε κύτταρα θηλαστικών παρέμεινε αναπάντητο για αρκετές δεκαετίες. Σε αντίθεση με τη μακροαυτοφαγία, τα ευρήματα που προέρχονται από ζυμομύκητες δεν μπορούν να εφαρμοστούν απευθείας στη μικροαυτοφαγία θηλαστικών λόγω των διαφορών στον τύπο των οργανιδίων που εγκοιλώνουν τις πρωτεΐνες του υποστρώματος. Το 2011, οι Sahu et al. αναγνώρισαν μια διαδικασία σε κύτταρα θηλαστικών με την οποία οι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες καταβροχθίζονταν από όψιμα ενδοσώματα. Η διαδικασία εξαρτιόταν από την πρωτεΐνη θερμικού σοκ, Hsc70. Συγκεκριμένα, οι πρωτεΐνες στόχοι αναγνωρίζονται από την πρωτεΐνη θερμικού σοκ 70, Hsc70 και μεταφέρονται σε όψιμα ενδοσώματα για να δώσουν πολυκυστιδιακά σωματίδια, MVBs-Multivesicular Bodies. Στη συνέχεια, τα MVB συγχωνεύονται με λυσοσώματα, οδηγώντας σε αποικοδόμηση των πρωτεϊνών που συνδέονται με την Hsc70. Αυτή η οδός θεωρείται πλέον ως μικροαυτοφαγία θηλαστικών και επίσης συχνά αναφέρεται ως ενδοσωματική μικροαυτοφαγία (Sahu et al., 2011).

Σύμφωνα με τους Sato et al., το 2019 βρέθηκε πως η μικροαυτοφαγία επάγεται από τη ραπαμυκίνη τόσο στα κύτταρα των ζυμών όσο και σε αυτά των θηλαστικών. Υπάρχουν ευρήματα που υποδηλώνουν ότι η μικροαυτοφαγία μπορεί να είναι σε θέση να αντισταθμίσει την εξασθένηση της δραστηριότητας του CMA αυτοφαγικού μονοπατιού, παρέχοντας μια εναλλακτική οδό αποικοδόμησης για τα υποστρώματα που περιέχουν το μοτίβο KFERQ. Συμμετέχει στην κάθαρση των κατεστραμμένων μιτοχονδρίων για τη διατήρηση της μιτοχονδριακής ομοιόστασης, στη διατήρηση της ομοιόστασης του ενδοπλασματικού δικτύου μέσω της μικρο-ενδοπλασματικής αυτοφαγίας, σε διεργασίες των συναπτικών πρωτεϊνών και στις συνάψεις των

νευρώνων όπως και στην επισκευή της πλασματικής μεμβράνης, παρέχοντας προστασία έναντι τοξικών βλαβών που εντοπίζονται σε αυτήν. Αν και τα πειραματικά στοιχεία για τη ρύθμιση της μικροαυτοφαγίας σε κύτταρα θηλαστικών είναι ακόμα περιορισμένα, διερευνάται πιθανή σχέση της με την πρόκληση διαφόρων νευρολογικών ασθενειών (Seki et al., 2022).

Αυτοφαγία μεσολαβούμενη από Μοριακούς Συνοδούς, (Chaperone Mediated Autophagy, CMA)

Ένας δεύτερος τύπος αυτοφαγίας, που μέχρι στιγμής έχει περιγραφεί μόνο σε κύτταρα θηλαστικών, είναι η διαμεσολαβούμενη από μοριακούς συνοδούς αυτοφαγία, CMA. Σε αντίθεση με τη μικροαυτοφαγία και τη μακροαυτοφαγία, η CMA παρουσιάζει εξειδίκευση σε μεγάλο βαθμό καθώς σε όλα τα υποστρώματά της κοινό είναι ένα πενταπεπτίδιο στόχευσης με μοτίβο KFERQ (Lys-Phe-Glu-Arg-Gln) (Dice, 1990).



Εικόνα 1: Η αυτοφαγία με τη διαμεσολάβηση μοριακών συνοδών είναι μια πρόσθετη οδός μέσω της οποίας οι πρωτεΐνες αποικοδομούνται στο λυσοσώμα. Η HSC70 προσδένεται σε πρωτεΐνες με το πενταπεπτίδιο στόχευσης KFERQ, βοηθά στην αναδίπλωση τους και τις παραδίδει απευθείας στο λυσοσώμα για αποικοδόμηση μέσω αλληλεπίδρασης με την LAMP2A (Goldsmith et al., 2014).

Ένα ακόμη στοιχείο που τη διαφοροποιεί από τις άλλες μορφές αυτοφαγίας είναι ότι δε σχηματίζονται κυστίδια κατάλληλα να εγκολπώνουν. Με βάση την ανάλυση αλληλουχίας και τα πειράματα ανοσοκατακρήμνισης, εκτιμάται ότι περίπου το 30% των κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών περιέχουν τη συγκεκριμένη αλληλουχία. Οι πρωτεΐνες με το μοτίβο στόχευσης KFERQ ξεδιπλώνονται μέσω της δράσης κυτταροπλασματικών μοριακών συνοδών και μετατοπίζονται απευθείας κατά μήκος

της λυσοσωμικής μεμβράνης όπου αποικοδομούνται στο εσωτερικό των οργανιδίων. Η CMA αποικοδομεί ένα ευρύ φάσμα πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων γλυκολυτικών ενζύμων, παραγόντων μεταγραφής και των αναστολέων τους, πρωτεϊνών δέσμευσης ασβεστίου και λιπιδίων, υπομονάδων πρωτεασώματος και πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη κυστιδιακή μεταφορά (Kaushik et al., 2012).

Καθώς εξελίσσεται η διεργασία, το μοτίβο KFERQ αναγνωρίζεται από την πρωτεΐνη θερμικού σοκ HSPA8/HSC70. Η HSPA8 μπορεί στη συνέχεια να παραδώσει το υπόστρωμα στη λυσοσωμική μεμβράνη, όπου πιθανότατα βοηθά και στο ξεδίπλωμά του. Στη λυσοσωμική μεμβράνη, το υπόστρωμα συνδέεται με μονομερή του υποδοχέα υποστρώματος, την πρωτεΐνη LAMP2A. Αυτή η σύνδεση υποστρώματος-υποδοχέα οδηγεί στον πολυμερισμό της LAMP2A. Με τον σχηματισμό του πολυμερούς συμπλόκου μετατόπισης, οι υπομονάδες του συμπλόκου σταθεροποιούνται στην εσωτερική πλευρά της λυσοσωμικής μεμβράνης από την HSP90. Μετά τη μετατόπιση του υποστρώματος, το σύμπλοκο μετατόπισης αποσυναρμολογείται ενεργά από τη λυσοσωμική HSPA8 και ο υποδοχέας LAMP2A επιστρέφει στη μονομερή κατάσταση, από την οποία μπορεί να ξεκινήσει έναν νέο κύκλο (Kaushik et al., 2012).

Η ρύθμιση της διαδικασίας μετατόπισης πραγματοποιείται στο επίπεδο της δέσμευσης του υποστρώματος στη LAMP2A. Οι μεταβολές των επιπέδων της LAMP2A της λυσοσωμικής μεμβράνης ρυθμίζουν την CMA και προκύπτουν κυρίως από αλλαγές στην αποικοδόμηση και οργάνωσή της LAMP2A παρά από τη σύνθεσή της. Ορισμένα δεδομένα υποστηρίζουν πως η αποικοδόμηση της LAMP2A καθορίζεται από την ανακατανομή της μεταξύ ρευστών περιοχών της λυσοσωμικής μεμβράνης και των εμπλουτισμένων με λιπίδια μικροπεριοχών (Kaushik et al., 2012).

Το ήπιο οξειδωτικό στρες, οι τοξίνες που καταστρέφουν τις πρωτεΐνες και οι εκτεταμένες περίοδοι στέρησης θρεπτικών συστατικών, όπως 10 ώρες νηστείας επάγουν το συγκεκριμένο είδος αυτοφαγίας. Η διάσπαση των πρωτεϊνών, που δεν είναι πλέον απαραίτητες, μέσω της CMA καθιστά διαθέσιμα τα αμινοξέα τους για τη σύνθεση αναγκαίων πρωτεϊνών ή για την παραγωγή ενέργειας. Μια άλλη σημαντική λειτουργία αφορά τον ποιοτικό έλεγχο των πρωτεϊνών μέσω της εκλεκτικής

αποικοδόμησης αυτών με κατεστραμμένη ή τροποποιημένη δομή (Kaushik et al., 2012).

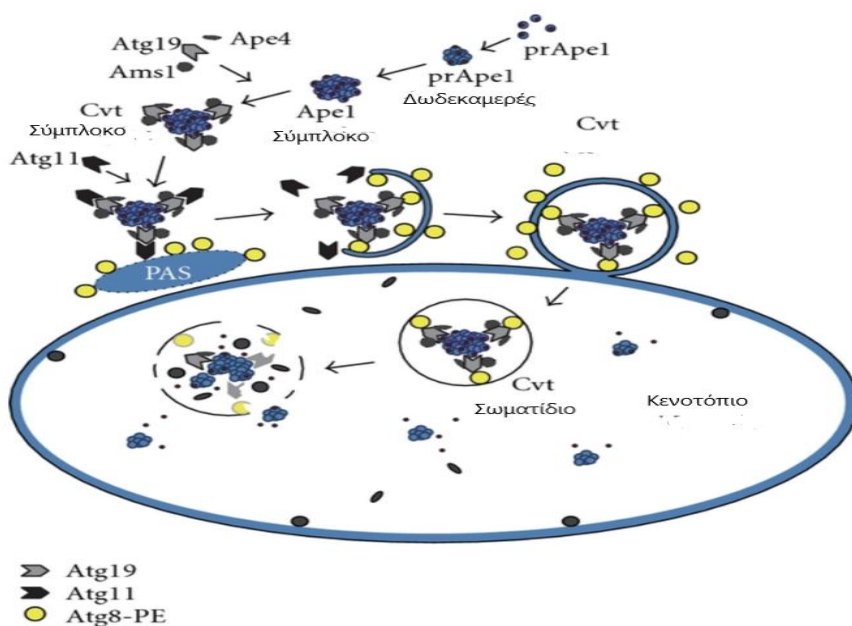
Παρατηρείται αυξητική τάση της CMA ως απόκριση σε στρεσογόνους παράγοντες που προκαλούν πρωτεϊνική βλάβη, όπως ήπιο οξειδωτικό στρες ή ενώσεις μετουσίωσης πρωτεϊνών. Το μερικό ξεδίπλωμα ή ο σχηματισμός πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων μπορεί να αυξήσει την αποικοδόμηση συγκεκριμένων πρωτεϊνών μέσω CMA, αποτρέποντας τη συσσώρευσή τους σε αδιάλυτα πρωτεϊνικά συσσωματώματα. Πρόσφατες μελέτες ανέφεραν ενεργοποίηση της CMA ως απόκριση στο υποξικό στρες και την ανάγκη για λειτουργική CMA υπό αυτές τις συνθήκες για να εγγυηθεί την επιβίωση των νευρώνων (Kaushik et al., 2012).

Μονοπάτι αυτοφαγίας Cvt (Cytoplasm to vacuole targeting)

Το μονοπάτι Cvt είναι ο καλύτερα χαρακτηρισμένος τύπος επιλεκτικής αυτοφαγίας και αποτελεί μοντέλο για το πως συγκεκριμένα φορτία παραδίδονται στο κενοτόπιο. Το μονοπάτι Cvt έχει χαρακτηριστεί μόνο στη ζύμη και πραγματοποιείται στους ζυμομύκητες *Saccharomyces cerevisiae* και *P. pastoris*. Αποτελεί βιοσυνθετική οδό και όχι αποικοδομητική (Lynch-Day M., Klionsky DJ., 2010). Πιο ειδικά μέσω αυτής μεταφέρονται υδρολάσες και διάφορα συστατικά στα κενοτόπια. Τα φορτία της Cvt περικλείονται σε έναν ειδικό τύπο αυτοφαγοσώματος που ονομάζεται κυστιδίο Cvt. Τα κυστιδία αυτά είναι αρκετά μικρότερα σε μέγεθος από τα αυτοφαγοσώματα που σχηματίζονται σε συνθήκες αστίας κατά τη μακροαυτοφαγία. Στα κύτταρα ζυμομύκητα, 18 πρωτεΐνες που σχετίζονται με την αυτοφαγία (Atg) είναι απαραίτητες για το σχηματισμό ενός αυτοφαγοσώματος, οι οποίες ταξινομούνται σε έξι λειτουργικές ομάδες, συμπεριλαμβανομένου του συμπλέγματος της κινάσης Atg1, του κυστιδίου Atg9, του συμπλόκου της ειδικής για την αυτοφαγία κινάσης της 3-φωσφατιδυλνισοιτόλης, το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα Atg2-Atg18, σύστημα σύζευξης Atg12-Atg5 και σύστημα λιπίδωσης Atg8. Αυτές οι πρωτεΐνες συνεντοπίζονται σε μια θέση που ονομάζεται προ-αυτοφαγοσωματική δομή, από την οποία δημιουργούνται τα αυτοφαγοσώματα. Η κενοτοπική υδρολάση αμινοπεπτιδάση I, Ape1 και ο υποδοχέας της, Atg19 απαιτούνται για τον σχηματισμό των κυστιδίων Cvt. Η Ape1 είναι το μοναδικό φορτίο που λειτουργεί ως πρότυπο για το σχηματισμό

κυστιδίων Cvt και δίχως αυτήν είναι αδύνατον να σχηματιστούν τα κυστίδια (Yamasaki et al., 2017).

Επιπλέον, το μεγαλύτερο μέρος του μηχανισμού του Cvt μονοπατιού χρησιμοποιείται επίσης για την πεξοφαγία και τη μιτοφαγία, οι οποίες λαμβάνουν χώρα σε ανώτερους ευκαρυώτες. Αυτό σημαίνει ότι όσον αφορά τις πρωτεΐνες Atg, η φαινομενική απουσία της οδού Cvt στα θηλαστικά μπορεί να θεωρηθεί ως ανεπάρκεια του ειδικού υποδοχέα Atg19 και όχι ως σημαντική διαφορά μεταξύ της ζύμης και άλλων ευκαρυωτών. Σχετικά με την προέλευση του μονοπατιού Cvt, μια πιθανότητα είναι ότι η ολιγομερής δομή της πρόδρομης αμμινοπεπτιδάσης 1 (prApe1) είναι κρίσιμη για τη σταθερότητα ή/και τη λειτουργία. Το μέγεθος της ολιγομερούς μορφής αυτής της υδρολάσης θα εμπόδιζε τη μετατόπιση μέσω του καναλιού translocon στο εσωτερικό του ενδοπλασματικού δικτύου, καθιστώντας αναγκαία μια διαδικασία εισαγωγής με τη μεσολάβηση κυστιδίων. Οι υδρολάσεις απαιτούνται πιθανώς σε μεγάλες ποσότητες όταν το κύτταρο λιμοκτονεί ή όταν συσσωρεύονται συσσωματωμένες πρωτεΐνες ή κατεστραμμένα οργανίδια, και η σύνθεση των περισσότερων κενοτοπικών υδρολασών αυξάνεται σημαντικά κατά τη διάρκεια της λιμοκτονίας. Υπό αυτές τις συνθήκες, η αποτελεσματική μεταφορά αυτών των υδρολασών ως ολιγομερών μέσω ενός μηχανισμού που διαμεσολαβείται από κυστίδια, όπως η αυτοφαγία, θα ήταν εξαιρετικά αποτελεσματική. Θα φαινόταν λογικό για το κύτταρο να τροποποιήσει πολύ ελαφρά την οδό της αυτοφαγίας με την προσθήκη ενός μικρού αριθμού συστατικών εξειδίκευσης, ώστε να εκμεταλλευτεί τον υπάρχοντα μηχανισμό αυτοφαγίας και να του επιτρέψει να χρησιμοποιηθεί για διαδικασίες επιλεκτικής δέσμευσης (Umekawa et al., 2012).



Εικόνα 2: Ανασκόπηση της οδού Cvt. (1) Σχηματισμός του συμπλόκου Cvt: Η πρόδρομη μορφή Ape1 (prApe1) σχηματίζει ένα δωδεκαμερές. Πολλαπλά δωδεκαμερή συναρμολογούνται σε ένα σύμπλοκο Ape1. Το σύμπλοκο Ape1 δεσμεύει το Atg19 μέσω του προπεπτιδίου prApe1 για να σχηματίσει το σύμπλοκο Cvt. Άλλα φορτία Cvt, συμπεριλαμβανομένων των Ams1 και Ape4, δεσμεύουν το Atg19 σε διαφορετικές περιοχές. (2) Μετακίνηση προς το PAS: Η Atg19 δεσμεύει την πρωτεΐνη ικριώματος Atg11 και το σύμπλοκο Cvt μετακινείται προς το PAS. (3) Σχηματισμός του κυστιδίου Cvt: Η Atg19 δεσμεύει την Atg8-PE, η οποία οδηγεί στην απομόνωση του συμπλόκου Cvt από το φαγοφόρο διπλής μεμβράνης. (4) Συγχώνευση του κυστιδίου Cvt με το κενοτόπιο: Μετά την ολοκλήρωση του κυστιδίου Cvt, η εξωτερική μεμβράνη συγχωνεύεται με το κενό, απελευθερώνοντας το σώμα Cvt μονής μεμβράνης στον αυλό. Το σώμα Cvt διασπάται από τη λιπάση Atg15, επιτρέποντας την πρόσβαση στις κενοτοπικές υδρολάσες. Οι Atg19 και Atg8 αποικοδομούνται. Το προπεπτίδιο του prApe1 απομακρύνεται και το ένζυμο γίνεται ενεργό (Umekawa et al., 2012).

Τέλος, υπάρχουν ορισμένες εμφανείς ομοιότητες μεταξύ των τύπων επιλεκτικής αυτοφαγίας που συμβαίνουν στους ανώτερους ευκαρυώτες και του μονοπατιού Cvt της ζύμης. Αυτά τα μονοπάτια απαιτούν τόσο έναν παράγοντα εξειδίκευσης/προσαρμογέα όσο και έναν υποδοχέα. Ο υποδοχέας σε πολλές περιπτώσεις περιέχει μια περιοχή WXXL ή LIR που είναι σε θέση να δεσμεύει το

Atg8/LC3, συνδέοντας το φορτίο με τον βασικό μηχανισμό αυτοφαγίας. Οι πρωτεΐνες που περιέχουν LIR περιλαμβάνουν υποδοχείς φορτίου, βασικά μέλη του μηχανισμού της αυτοφαγίας, πρωτεΐνες που σχετίζονται με κυστίδια, πρωτεΐνες ενεργοποίησης της Rab GTPάσης (GAPs) και ειδικές πρωτεΐνες σηματοδότησης που αποικοδομούνται από την επιλεκτική αυτοφαγία (Birgisdottir et al., 2013). Συνεπώς, η δυνατότητα τροποποίησης των επιλεκτικών τύπων αυτοφαγίας μπορεί να προσφέρει θεραπευτικές δυνατότητες για μια σειρά ανθρώπινων παθολογιών (Lynch-Day M., Klionsky DJ.,2010).

Επιλεκτική και μη επιλεκτική Αυτοφαγία

Διακρίνονται τρεις τύποι αυτοφαγίας σύμφωνα με το μηχανισμό που πραγματοποιούνται. Τόσο η μικροαυτοφαγία όσο και η μακροαυτοφαγία μπορούν να είναι επιλεκτικές ή εξειδικευμένες όσον αφορά το υπόστρωμά τους ή να μην είναι. Η μη επιλεκτική αυτοφαγία χρησιμεύει στην ανακύκλωση του κυτταροπλάσματος υπό συνθήκες λιμοκτονίας, ενώ η επιλεκτική αυτοφαγία στοχεύει ειδικά τα κατεστραμμένα ή περιττά οργανίδια, συμπεριλαμβανομένων των μιτοχονδρίων και των υπεροξειδιοσωμάτων, καθώς και παθογόνων μικροβίων. Κάθε αυτοφαγική διεργασία επιλεκτικής αποικοδόμησης περιλαμβάνει ένα βασικό σύνολο μηχανισμών, συγκεκριμένα συστατικά και προσδιορίζεται με ένα μοναδικό όνομα όπως μιτοφαγία για την επιλεκτική αποικοδόμηση μιτοχονδρίων από αυτοφαγία, πεξοφαγία για υπεροξειδιοσώματα, ξενοφαγία για μικρόβια και άλλα (Feng et al., 2014).

Η μελέτη της επιλεκτικής αυτοφαγίας μπορεί να παρέχει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την παθοφυσιολογία των ασθενειών στον άνθρωπο. Για παράδειγμα, η επιλεκτική αυτοφαγία ως απόκριση στη μόλυνση από ορισμένους παθογόνους μικροοργανισμούς, που μπορούν να αποικοδομηθούν επιλεκτικά από την ξενοφαγία (Tallóczy et al., 2006).

Μακροαυτοφαγία

Η μακροαυτοφαγία έχει μελετηθεί πιο διεξοδικά σε σύγκριση με τα άλλα δύο είδη αυτοφαγίας και συνήθως αντί του όρου μακροαυτοφαγία, χρησιμοποιείται ο όρος αυτοφαγία. Η οδός της μακροαυτοφαγίας αποτελεί και το επίκεντρο της παρούσας εργασίας.

Πιο ειδικά, αυτός ο τύπος αυτοφαγίας πραγματοποιείται διαρκώς σε χαμηλά επίπεδα και πυροδοτείται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες καταπόνησης, όπως για παράδειγμα ως απόκριση στην έλλειψη θρεπτικών συστατικών. Έτσι, καθώς διασπώνται τα ποικίλα κυτταροπλασματικά συστατικά στους δομικούς τους λίθους, μπορούν πλέον οι τελευταίοι να χρησιμοποιηθούν σε είτε σε αναβολικές διεργασίες είτε για την παραγωγή ενέργειας με τελική έκβαση την επιβίωση του κυττάρου. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ανάπτυξης, η μακροαυτοφαγία συμβάλλει στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιοστασίας καθώς καταβολίζονται τα κατεστραμμένα ή άχρηστα οργανίδια. Εάν όμως αυτή η διεργασία της αυτό-αποικοδόμησης πραγματοποιείται σε υπερβολικό βαθμό, τότε έχει βλαπτικές επιδράσεις και αποκτά παθολογικό χαρακτήρα, όπως καρδιαγγειακά νοσήματα, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, καρκίνο, γήρανση και μεταβολικά νοσήματα, όπως διαβήτη (Feng et al., 2014).

Αξίζει να τονιστεί μια ιδιαιτερότητά της που αφορά την ευρεία γκάμα συστατικών και υλικών που δύναται να καταβολίσει και αυτά μπορεί να είναι από μόρια πρωτεϊνών μέχρι και μεγαλομοριακά σύμπλοκα ή κυτταρικά οργανίδια.

Προκειμένου να ξεκινήσει η διεργασία αυτή, θα πρέπει να σχηματιστεί το φαγοφόρο ή φαγοφόρος μεμβρανική δομή. Στη συνέχεια τα φαγοφόρα επεκτείνονται κι έτσι σχηματίζονται τα αυτοφαγосώματα. Έτσι, τα διάφορα συστατικά εσωκλείονται σε κυστιδία διπλής μεμβράνης, στα αυτοφαγосώματα, τα οποία οδηγούνται στα λυσοσώματα και συντήκονται με αυτά. Το περιεχόμενό τους μπορεί να είναι κατεστραμμένα οργανίδια, κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες που έχουν χάσει τη χρησιμότητά τους ή ακόμη και μικροοργανισμοί που έχουν εισβάλλει. Μετά την αποικοδόμηση, τα προϊόντα διάσπασης απελευθερώνονται πίσω στο κυτταρόπλασμα προκειμένου να ανακυκλωθούν τα μακρομοριακά συστατικά και να παραχθεί ενέργεια ακόμη και υπό αντίξοες συνθήκες. Το χαρακτηριστικό που τη διαφοροποιεί από τα υπόλοιπα είδη αυτοφαγίας είναι η ύπαρξη των αυτοφαγосωμάτων, ενδιάμεσων κυστιδίων διπλής μεμβράνης που συντήκονται με τα λυσοσώματα κι έτσι σχηματίζεται ένα αυτολυσοσώμα. Προκειμένου να ωριμάσουν τα αυτοφαγосώματα απαιτείται κι η ιεραρχική προσάρτηση/συμμετοχή των διαφόρων πρωτεϊνών της οικογένειας ATG (Autophagy related gene). Αυτές θα βοηθήσουν στην έναρξη, επέκταση και σύντηξη των μεμβρανών των αυτοφαγосωμάτων (Feng et al., 2014).

Η μακροαυτοφαγία πραγματοποιείται από τα κύτταρα των ζυμών και των φυτών μέχρι και αυτά των θηλαστικών. Αν κι έχουν παρατηρηθεί κάποιες διαφοροποιήσεις μεταξύ των προαναφερθέντων οργανισμών, σε γενικές γραμμές έχουν σημειωθεί αρκετές κοινές αρχές και βήματα. Τα βασικά στάδια του μηχανισμού της αυτοφαγίας είναι πέντε και διακρίνονται ως εξής: i) σχηματισμός φαγοφόρων, ii) Σύζευξη Atg5–Atg12, αλληλεπίδραση με Atg16L και πολυμερισμός στον φαγοφόρο, iii) Επεξεργασία της LC3 και ενσωμάτωσή της στην εκτεινόμενη μεμβράνη του φαγοφόρου, iv) σύλληψη τυχαίων ή επιλογή συγκεκριμένων στόχων για αποδόμηση και (v) σύντηξη του αυτοφαγοσώματος με το λυσόσωμα, με συνεπακόλουθη την αποικοδόμηση του φορτίου από τις λυσοσωμικές πρωτεάσες (Glick et al., 2010).

Οι λυσοσωμικές περμεάσες εξάγουν τα αμινοξέα και τα προϊόντα αποικοδόμησης πίσω στο κυτταρόπλασμα, όπου μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν. Η διαδικασία συμβάλλει στην παραγωγή ενέργειας, μέσω της σύνθεσης ATP όπως και στον έλεγχο βλαβών, καθώς αποικοδομούνται οι μη λειτουργικές πρωτεΐνες και καταστρέφονται τα ελαττωματικά οργανίδια. Κύριο ρόλο διαδραματίζουν οι πρωτεΐνες Atg, οι οποίες σχετίζονται με την αυτοφαγία των πρωτεϊνών και διαφορετικοί συνδυασμοί αυτών συμμετέχουν στα προαναφερθέντα στάδια (Glick et al., 2010).

Η έλλειψη θρεπτικών συστατικών αποτελεί έναν ισχυρό επαγωγέα της αυτοφαγίας, αλλά όχι το μοναδικό, καθώς υπάρχουν και άλλα πλήγματα που είναι δυνατόν να επάγουν την αυτοφαγία στα κύτταρα. Υπό συνθήκες αυθονίας των θρεπτικών συστατικών, ο λυσοσωμικός TOR1, αναστέλλει την αυτοφαγία μέσω φωσφορυλίωσης των υπομονάδων του συμπλόκου Atg1. Αντίθετα, η στέρηση αμινοξέων αναστέλλει τον TOR1 και η επακόλουθη αποφωσφορυλίωση του συμπλόκου Atg1 ενεργοποιεί την αυτοφαγία. Έτσι τα κύτταρα κινητοποιούν και χρησιμοποιούν τα αμινοξέα που τους είναι απαραίτητα για την επιβίωση υπό αυτές τις συνθήκες. Ωστόσο υπάρχουν και άλλοι παράγοντες σχετικοί με θρεπτικά συστατικά, με συνθήκες stress και με αναπτυξιακούς παράγοντες που επάγουν την αυτοφαγία (Reggiori, Ungermann, 2017).

Κεφάλαιο 4: Μοριακός Μηχανισμός της Αυτοφαγίας

Ο μηχανισμός βιογένεσης των αυτοφαγοσωμάτων περιλαμβάνει μια ομάδα τουλάχιστον 16 πρωτεϊνών, οι οποίες εντοπίζονται σε μια ευρεία γκάμα οργανισμών. Αρχικά είχαν ανακαλυφθεί στους ζυμομύκητες, ενώ πλέον οι ομόλογες μορφές τους έχουν προσδιορισθεί σε όλους τους ευκαρυώτες. Έτσι, οι πρωτεΐνες Atg κατατάσσονται σε πέντε γενικά πρωτεϊνικά σύμπλοκα: (1) το σύμπλοκο κινάσης Atg1/ULK, (2) το σύστημα σύζευξης Atg12, (3) το σύστημα σύζευξης/αποσύνδεσης Atg8/LC3, (4) το σύμπλοκο PI3K (κινάση της 3-φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης) και (5) το σύστημα ανακύκλωσης Atg9/ATG9L1 (Reggiori, Ungermann, 2017).

Το σύμπλοκο κινάσης Atg1/ULK απαρτίζεται από τις ULK1, Atg13, FIP200 στα κύτταρα θηλαστικών. Αποτελεί έναν ενδιάμεσο παράγοντα μεταγωγής σήματος της κινάσης mTOR και ελέγχει τον σχηματισμό του φαγοφόρου ή της μεμβράνης απομόνωσης. Το σύμπλοκο PI3K ή Vps34 δημιουργεί την 3-φωσφατιδυλική ινοσιτόλη (PI3P) διευκολύνοντας το σχηματισμό των ωμεγασωμάτων, του αυτοφαγοσώματος και την ωρίμανσή του. Μόλις δημιουργηθεί η PI3P προσελκύει δυο ανεξάρτητα Ub-like συστήματα σύζευξης, τα οποία τα σχηματίζουν τα σύμπλοκα Atg12-Atg5-Atg16L και το σύστημα σύζευξης LC3-PE. Ουσιαστικά οι δυο Ub-like πρωτεΐνες Atg12 και Atg8/LC3 προσθέτουν την φωσφατιδυλική αιθανολαμίνη (PE) στην Atg8/LC3, ώστε να «κλείσει» το αυτοφαγόσωμα. Το σύμπλοκο LC3-PE εντοπίζεται και στις δυο μεμβράνες του αυτοφαγοσώματος. Η διαμεμβρανική πρωτεΐνη Atg9 αποτελεί τμήμα του μηχανισμού κυκλοφορίας που συμμετέχει στην προσθήκη μεμβράνης και την επανάκτησή της από και προς τις θέσεις σχηματισμού των αυτοφαγοσωμάτων (Melia et al., 2020).

Πίνακας 1: Βασικά σύμπλοκα αυτοφαγίας και οι λειτουργίες τους (Πηγή: Melia et al., 2020).

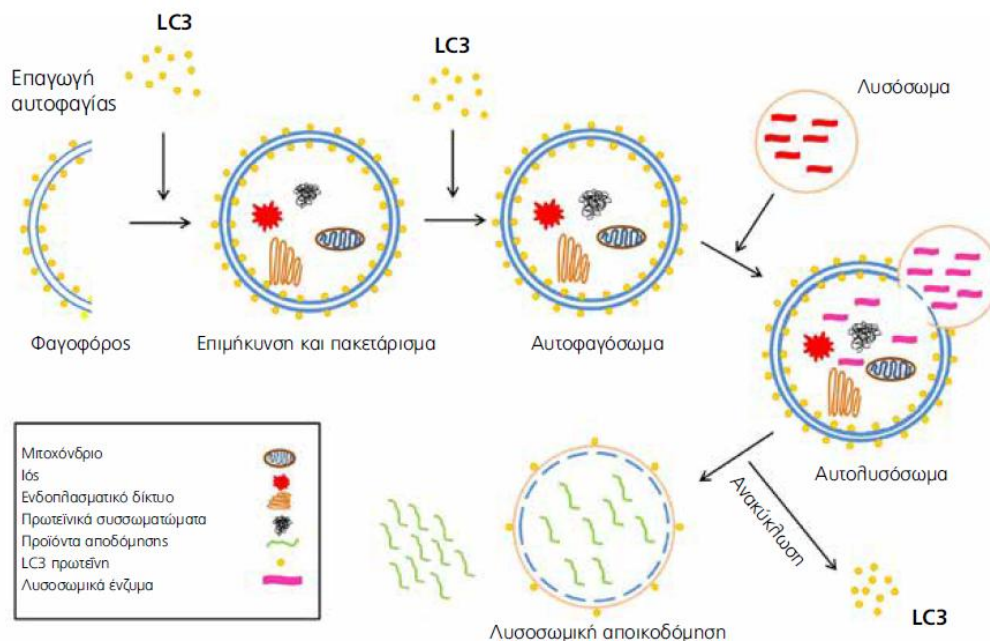
Βασικά σύμπλοκα αυτοφαγίας	Συστατικά σε ανθρώπινα κύτταρα(ζύμη)	Κύρια Λειτουργία
ULK	ULK1/ULK2, ATG13, FIP200, ATG101	Πρωτεϊνική κινάση ULK1 ή ULK2 σε σύμπλοκο με βοηθητική πρωτεΐνη.

	(Atg1, Atg13, Atg17, Atg11, Atg29, Atg31)	Αποτελεί κύριο ρυθμιστή της βιογένεσης των αυτοφαγοσωμάτων.
PIK3C3-C1	VPS34, BECN1, p150, ATG14, NRFB2 (Vps34, Atg6, Vps15, Atg14)	Το σύμπλοκο της κινάσης της φωσφατιδυλικής ινοσιτόλης μαζί με την κινάση λιπιδίων VPS34 και πρωτεΐνες συνοδούς. Το σύμπλοκο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή 3-φωσφορικής φωσφατιδυλικής ινοσιτόλης κατά το στάδιο πυρήνωσης των φαγοφόρων.
Μηχανισμός σύζευξης ATG12	ATG5, ATG7, ATG10, ATG12 (Atg5, Atg7, Atg10, Atg12)	ATG7 (E1-like) και ATG10 (E2-like) διαμεσολαβούν τη σύνδεση/σύζευξη της ATG12 στην ATG5
Μηχανισμός σύνδεσης ATG8	ATG3, ATG4 A-D, ATG7 ATG12-ATG5, ATG16L1 (Atg3, Atg4, Atg7, Atg12-Atg5, Atg16) Πρωτεΐνες ATG8: LC3 υποοικογένεια: LC3A, LC3B, LC3C GABARAP υποοικογένεια: GABARAP, GABARAPL1, GABARAPL2 (Atg8)	Οι συνδεδεμένες ATG12-ATG15 δεσμεύονται στην ATG16L1 για να σχηματίσουν το σύμπλοκο ATG12-ATG15-ATG16L1 (E3-like) που μαζί με την ATG7 (E1 like) και την ATG3 (E2 like) μεσολαβούν στην ομοιοπολική σύνδεση των μελών της ATG8 οικογένειας των LC3 και GABARAP υποοικογενειών με τη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη της αυτοφαγικής μεμβράνης. Πριν τη λιπιδίωσή τους, οι νεοσυντιθέμενες πρόδρομες μορφές των LC3 και GABARAP πέπτονται από τις ATG4 πρωτεάσες, ώστε να συνδεθούν ομοιοπολικά με τη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη. Οι ATG4 πρωτεάσες επίσης αποκόπτουν τις LC3/GABARAP πρωτεΐνες, καθώς

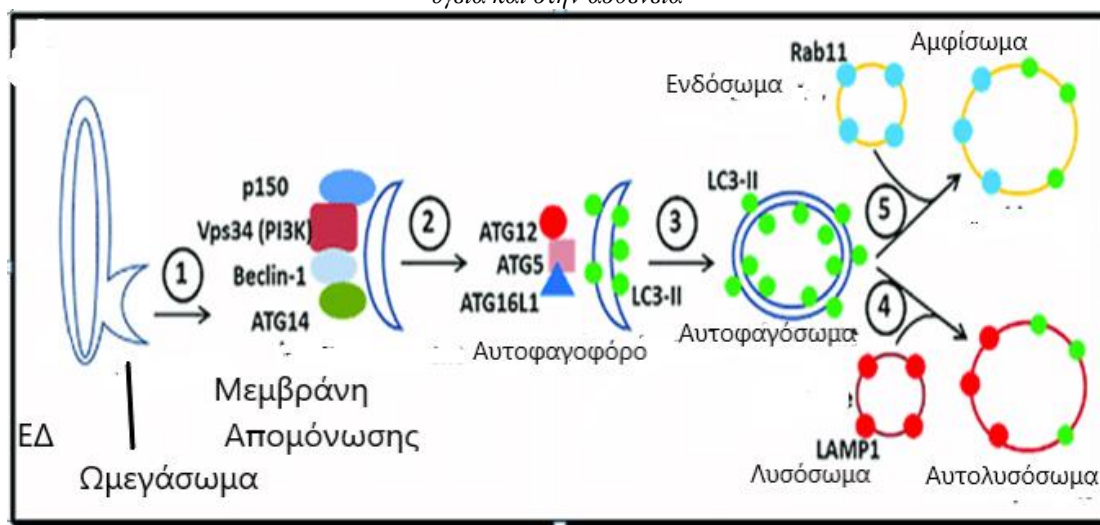
		είναι συνδεδεμένες στην εξωτερική αυτοφαγοσωμική μεμβράνη πριν τη λυσοσωμική σύνδεση.
ATG2	ATG2, ATG9, WIPI4 (Atg2, Atg9, Atg18)	Η πρωτεΐνη μεταφοράς λιπιδίων ATG2 συμπλοκοποιείται με τη μοναδική ATG διαμεμβρανική πρωτεΐνη, την ATG9 ή με την πρωτεΐνη WIPI4. Στα κύτταρα ζύμης οι 3 πρωτεΐνες συμμετέχουν στο ίδιο σύμπλοκο.

Σχηματισμός των φαγοφόρων

Ο σχηματισμός της μεμβράνης των φαγοφόρων στους ζυμομύκητες οργανώνεται γύρω από μια κυτταροπλασματική δομή γνωστή ως προαυτοφαγοσωμική δομή (preautophagosomal structure, PAS) που βρίσκεται σε άμεση γειτνίαση με το κενοτόπιο (Ohsumi 2014), ενώ στα θηλαστικά οι θέσεις αυτές είναι αναφέρονται συχνά ως ωμεγασώματα (Axe et al., 2008). Στα κύτταρα των θηλαστικών, τα ωμεγασώματα φαίνεται να ξεκινούν από αρκετά σημεία κυρίως από περιοχές του ενδοπλασματικού δικτύου πλούσιες σε 3-φωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη ή ακόμη από το δίκτυο trans-Golgi, από τα όψιμα ενδοσώματα και πιθανώς ακόμη και να προέρχονται από την πυρηνικό φάκελο κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, όπως απεικονίζεται στις εικόνες 3, 4. Αρκετές μελέτες υποδηλώνουν ότι οι θέσεις εξόδου του ER είναι απαραίτητες για την αυτοφαγία και κοντά στο PAS και ότι τα επικαλυμμένα με COPII κυστίδια συμβάλλουν στον σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων. Τα προαναφερθέντα υποκυτταρικά διαμερίσματα αποτελούν σημαντικές πηγές μεμβρανών και κομβικά σημεία για τη συναρμολόγηση του μηχανισμού των πρωτεϊνών Atg (Reggiori, Ungermann, 2017).



Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της Μακροαυτοφαγίας. Το σήμα έναρξης της αυτοφαγίας οδηγεί στο σχηματισμό του φαγοφόρου. Ακολουθεί μία σειρά τροποποιήσεων ώστε η πρωτεΐνη LC3 (μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών ATG8) να προσδεθεί στο φαγοφόρο και να πυροδοτήσει την επιμήκυνσή του. Καθώς ο φαγοφόρος επεκτείνεται περικλείει συστατικά του κυτταροπλάσματος, συμπεριλαμβανομένων οργανιδίων, τμημάτων του ενδοπλασματικού δικτύου, πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων αλλά ακόμα και βακτηρίων ή ιών. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας επιμήκυνσης τα δύο άκρα του φαγοφόρου συντήκονται, σχηματίζοντας ένα κυστίδιο με διπλή μεμβράνη, το αυτοφαγόσωμα. Τέλος το αυτοφαγόσωμα συντήκεται με το λυσόσωμα για τη δημιουργία του αυτολυσόσωματος. Εκεί οι υδρολάσες του λυσοσώματος αποικοδομούν το φορτίο του αυτοφαγοσώματος μαζί με την εσωτερική του μεμβράνη (Αγρυμάκις et al., 2020).



Εικόνα 4: Μονοπάτι αυτοφαγίας. Ένα αρχικό βήμα στην αυτοφαγία περιλαμβάνει τη μετάβαση από ένα ωμεγάσωμα σε μια μεμβράνη απομόνωσης (βήμα 1). Τα αυτοφαγοσωμάτια έχουν μια χαρακτηριστική διπλή μεμβράνη που περιέχει την πρωτεΐνη LC3-I (βήμα 3). Η συμβατική αυτοφαγία περιλαμβάνει το βήμα 4 ως την κατάληξη της αυτοφαγικής ροής. Η σύντηξη ενός αυτοφαγοσώματος με ένα ενδοσωμάτιο οδηγεί σε ένα αμφίσωμα με μονή μεμβράνη (βήμα 5) (Meier et al., 2017).

Ένα μεμονωμένο αυτοφαγόςωμα χρειάζεται περίπου 10 λεπτά για να σχηματιστεί και παραμένει για περίπου 10-20 λεπτά μετά τη σύνδεση του LC3 στη μεμβράνη. Τα αυτοφαγοσώματα μπορεί να ποικίλουν σε μέγεθος από λίγα νανόμετρα έως περίπου ένα μικρόμετρο σε διάμετρο, ανάλογα με το μέγεθος του φορτίου που δεσμεύεται. Αν και η θέση σχηματισμού των φαγοφόρων και οι πηγές μεμβρανών που εμπλέκονται ποικίλλουν ανάλογα με το σήμα που προκαλεί αυτοφαγία και τη φύση του φορτίου, ο πυρήνας του μηχανισμού αυτοφαγίας που απαιτείται για τη βιογένεση των αυτοφαγοσωμάτων είναι γενικά σταθερός. Οι διασυνδέσεις μεταξύ αυτών των Atg πρωτεϊνών ρυθμίζονται αυστηρά στο χώρο και στο χρόνο για να επιτρέψουν στο φαγοφόρο να διέλθει από τα στάδια του σχηματισμού, της επιμήκυνσης και το κλείσιμο μέχρι να σχηματιστεί ένα αυτοφαγόςωμα. Μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις όπως φωσφορυλίωση ή ουβικουιτινίωση ρυθμίζουν το αν θα ξεκινήσει ή όχι η βιογένεση των αυτοφαγοσωμάτων (Melia et al., 2020).

Σε γενικές γραμμές τα μονοπάτια σηματοδότησης που προάγουν την κυτταρική ανάπτυξη αναστέλλουν τον σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων, σε αντίθεση με αυτά που ενεργοποιούνται λόγω έλλειψης θρεπτικών συστατικών κι ενέργειας και προωθούν την αυτοφαγία. Τα κύρια παραδείγματα περιλαμβάνουν τον μηχανιστικό στόχο της κινάσης της ραπαμυκίνης (mTOR) και την κινάση AMPK, οι οποίες ρυθμίζουν με αντίθετο τρόπο τη βιογένεση των αυτοφαγοσωμάτων. Έτσι, η ρύθμιση πραγματοποιείται μέσω της φωσφορυλίωσης βασικών συστατικών του αυτοφαγικού μηχανισμού, όπως των υπομονάδων των ULK και PI3C3 συμπλόκων (Melia et al., 2020).

Το πολυμερές σύμπλοκο ULK θεωρείται ο κύριος ρυθμιστής της βιογένεσης των αυτοφαγοσωμάτων. Αξίζει να σημειωθεί πως το προαναφερθέν σύμπλοκο συντίθεται διαρκώς κι ανεξάρτητα από τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών. Το ενεργοποιημένο ULK1 είτε αυτοφωσφορυλιώνεται είτε φωσφορυλιώνει αρκετά σημαντικά στοιχεία του αυτοφαγικού μηχανισμού, διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες, προκαλώντας τη προσέλκυση του συμπλόκου με ενζυμική δράση PI3K τάξης III και την παραγωγή 3-φωσφατιδυλοϊνσιτόλης με αποτέλεσμα να σχηματιστούν ωμεγασώματα που χαρακτηρίζονται από την παρουσία της PI3P ενώ παράλληλα αποτελούν και τη βάση για την επιμήκυνση του φαγοφόρου (Melia et al., 2020).

Εστιάζοντας στα βασικά σημεία του μηχανισμού στα κύτταρα θηλαστικών, ο σχηματισμός κι η ωρίμανση των αυτοφαγοσωμάτων αποτελούν διεργασίες αυστηρά ελεγχόμενες και οι πρωτεΐνες ATG διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο. Η έναρξη των αυτοφαγοσωμάτων ρυθμίζεται, όπως προαναφέρθηκε, από το ULK και τα σύμπλοκα κινασών PI3K τάξης III. Το σύμπλοκο ULK αποτελείται από: i) τις ULK1/2, που αντιπροσωπεύουν τις ορθόλογες παραλλαγές θηλαστικών της ATG1, ii) από mATG13, iii) FIP200(ATG17) και iv) ATG101(Kenific et al., 2015).

Η ενεργοποίηση της κινάσης του ULK1/2 οδηγεί στη συνέχεια στη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των ATG13 και FIP200. Το ενεργό σύμπλοκο στη συνέχεια ξεκινά τη δημιουργία της μεμβράνης απομόνωσης, μέσω αλληλεπίδρασης με το σύμπλοκο Beclin 1/ATG14/VPS34, οπότε ενεργοποιείται και το σύμπλοκο με ενζυμική δράση PI3K τάξης III. Η κύρια λειτουργία του τελευταίου, είναι η σύνθεση 3-φωσφατιδυλοϊνσιτόλης στις περιοχές των ωμεγασωμάτων, δηλαδή τα σημεία από

όπου που θα ξεκινήσουν να σχηματίζονται τα αυτοφαγοσώματα, ώστε να προσελκυθούν εκεί και οι υπόλοιπες ATG πρωτεΐνες για την επιμήκυνση και το κλείσιμο/επισφράγιση των άκρων της αυτοφαγοσωμικής μεμβράνης. Το σύμπλοκο PI3K απαρτίζεται από την κινάση λιπιδίων Vps34, Beclin1 (ATG6), ATG14L και p150 (Kenific et al., 2015).

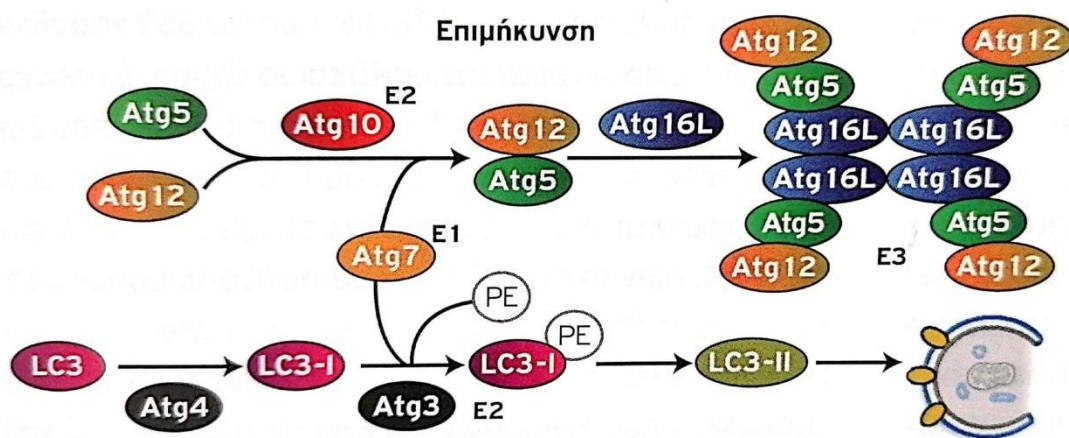
Έχουν προσδιορισθεί ορισμένοι θετικοί ρυθμιστές του Beclin1 που συνδέονται με αυτόν και είναι οι πρωτεΐνες UVRAG, AMBRA1 και ATG14L. Πιο ειδικά η πρωτεΐνη ATG14L καθορίζει την περιοχή που θα εγκατασταθεί η κινάση VPS34, η πρωτεΐνη UVRAG συμμετέχει στην καμπυλότητα της μεμβράνης των φαγοφόρων και επιταχύνει τη σύντηξη αυτοφαγοσωμάτων και λυσοσωμάτων. Φυσικά, έχουν προσδιορισθεί κι ορισμένοι αρνητικοί ρυθμιστές του, όπως BCL-2, BCL-xL, Rubicon, AKT και EGFR. Μέσα στο κύτταρο εντοπίζονται ταυτόχρονα πολλαπλά και διάφορα σύμπλοκα με ενζυμική δράση PI3K τάξη III, στοιχείο που μαρτυρά πως αυτά τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα μπορούν να συντονίσουν ικανοποιητικά την αυτοφαγική δραστηριότητα (Goldsmith et al., 2014).

Η Vps34 συμμετέχει σε διάφορες διαδικασίες διαλογής μεμβρανών στο κύτταρο, αλλά εμπλέκεται ειδικά στην αυτοφαγία όταν συμπλοκοποιείται με την Beclin-1 και άλλες ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Η Vps34 είναι η μοναδική μεταξύ των ενζύμων με δράση PI3K που χρησιμοποιεί αποκλειστικά τη φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη (PI) ως υπόστρωμα για τη δημιουργία 3-φωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PI3P), η οποία είναι απαραίτητη για την επιμήκυνση του φαγοφόρου και την προσέλκυση και άλλων πρωτεϊνών Atg σε αυτό. Η αλληλεπίδραση της Beclin-1 με την κινάση Vps34 προάγει την καταλυτική του δράση και αυξάνει τα επίπεδα της PI3P (Glick et al., 2010).

Επέκταση και ωρίμανση των αυτοφαγοσωμάτων

Η επιμήκυνση της φαγοφόρου μεμβράνης και η επέκταση του νεοσχηματιζόμενου αυτοφαγοσώματος απαιτεί την συμμετοχή δυο Ub-like συστημάτων σύζευξης, του Atg12-Atg5-Atg16 και του LC3-PE. Κοινός στόχος και των δύο είναι η προσθήκη λιπιδίων στην αυξανόμενη μεμβράνη μέσω της πρωτεΐνης LC3. Η Atg12 ενεργοποιείται από την Atg7, η οποία δρα ως E1-like ένζυμο ενεργοποίησης, στη συνέχεια μεταφέρεται στην Atg10, η οποία χαρακτηρίζεται ως E2-like ένζυμο

σύζευξης και τέλος συνδέεται ομοιοπολικά με την Atg5. Κατόπιν, το σύμπλοκο Atg12-Atg5 συνδέεται μη ομοιοπολικά με την Atg16 για να σχηματίσουν ένα πολυμερές σύμπλοκο, που εγκαθίσταται στην εξωτερική επιφάνεια της αυτοφαγοσωμικής μεμβράνης. Το σύμπλοκο Atg12-Atg5-Atg16 δρα ως E3 Ub-like λιγάση, καθοδηγώντας την LC3 στο φαγοφόρο, ενισχύοντας την προσθήκη PE στην LC3 και πιθανώς να προσδίδει καμπυλότητα στο αναπτυσσόμενο φαγοφόρο (Glick et al. 2010).

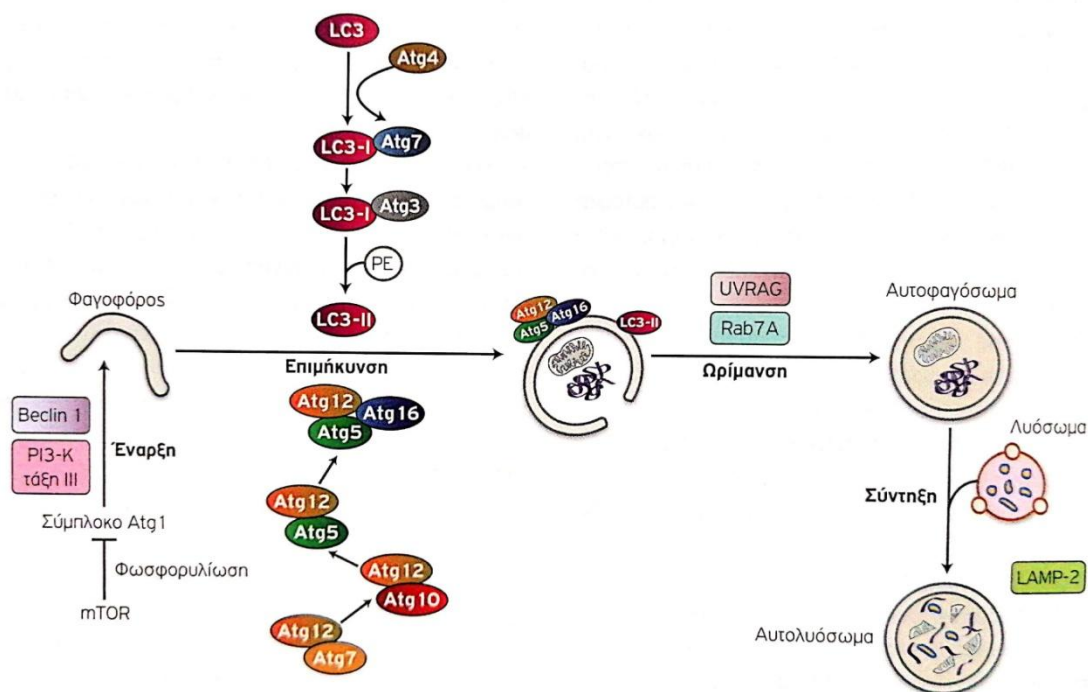


Εικόνα 5: Η επιμήκυνση του φαγοφόρου γίνεται με τη διαμεσολάβηση δυο συστημάτων που μοιάζουν με τα συστήματα σύζευξης της Ub, τα οποία συνεργαζόμενα προάγουν τη συγκρότηση του συμπλόκου ATG16L και την προσθήκη της PE στην LC3 (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Η LC3 αποτελεί μια Ub-like πρωτεΐνη που στοχεύει αποκλειστικά στην PE και όταν συντίθεται βρίσκεται στην πρόδρομη μορφή της. Η πρωτεΐνη Atg4 δρα ως πρωτεάση και προκαλεί θραύση στο καρβοξυτελικό της άκρο με αποτέλεσμα να προκύπτει η LC3-I. Η Atg7 δρώντας ως E1 Ub-like ένζυμο ενεργοποίησης μεταφέρει τη LC3-I στην Atg3, η οποία ως E2 Ub-like ένζυμο σύζευξης καταλύει τη σύνδεση της LC3-I στην PE. Μόλις σχηματιστεί το σύμπλοκο LC3-PE ή LC3-II, αυτό ενσωματώνεται στην επεκτεινόμενη αυτοφαγοσωμική μεμβράνη. Έχει διαπιστωθεί πως η LC3-II συμμετέχει και στο «κλείσιμο» του αυτοφαγосώματος. Η λιπιδιακή της μορφή, η LC3-II, συνήθως χρησιμοποιείται ως δείκτης των αυτοφαγосωμάτων και χρησιμεύει στην παρακολούθηση της επαγωγής ή της καταστολής της αυτοφαγικής διεργασίας,

καθώς αυτή εντοπίζεται αποκλειστικά στα αυτοφαγοσώματα σε αντίθεση με την LC3-I που βρίσκεται διάσπαρτη στο κυτταρόπλασμα (Kenific et al., 2015).

Μια ακόμη πρωτεΐνη που εμπλέκεται στη σύντηξη των μεμβρανών είναι η Atg9, που αποτελεί τη μοναδική διαμεμβρανική πρωτεΐνη, που συμμετέχει στο σχηματισμό των αυτοφαγοσωμάτων. Κυστίδια που περιέχουν Atg9 κυκλοφορούν μεταξύ των θέσεων σχηματισμού των φαγοφόρων και του διαμερίσματος Golgi ή των ενδοσωμάτων και φαίνεται να προσφέρουν μεμβράνες για τον δημιουργία του φαγοφόρου, μεταφέροντας λιπίδια και προσελκύοντας κι άλλες πρωτεΐνες. Πιο ειδικά αλληλεπιδρά με την LC3 και τις πρωτεΐνες Rab. Η επιμήκυνση του φαγοφόρου οδηγεί τελικά σε ένα συμβάν σχάσης στα άκρα του κι έτσι προκύπτει ένα κλειστό αυτοφαγόσωμα με εσωτερική και εξωτερική μεμβράνη (Reggiori F., Ungermann C., 2017).



Εικόνα 6: Απεικόνιση των μονοπατιών που ελέγχουν την αυτοφαγία. Η κινάση mTOR είναι ο κύριος ρυθμιστής της αυτοφαγίας: αποτελεί το βιοενεργητικό αισθητήρα του κυττάρου και παρεμποδίζει το σύμπλοκο Atg1 μέσω της φωσφορυλίωσης. Στη φάση έναρξης το σύμπλοκο Beclin 1-Vps34 μετατρέπει την PI σε PI3P, η οποία προσελκύει δυο ανεξάρτητα Ub-like συστήματα σύζευξης, τα οποία σχηματίζουν τα σύμπλοκα Atg12-Atg5-Atg16L και LC3-PE. Η διεργασία αυτή έχει

ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός διπλομεμβρανικού κυστιδίου, του αυτοφαγοσώματος, στο οποίο εγκολλώνονται διάφορα κυτταροπλασματικά υλικά. Τα αυτοφαγοσώματα συντήκονται τελικά με τα λυσοσώματα, δημιουργώντας τα αυτολυοσώματα, εντός των οποίων αποικοδομούνται τα κυτταροπλασματικά υλικά που υπήρχαν στα αυτοφαγοσώματα. Οι διεργασίες της ωρίμανσης των αυτοφαγοσωμάτων και της σύντηξής τους με τα λυσοσώματα γίνεται με τη μεσολάβηση των UVRAG, Rab7A και LAMP-2 (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

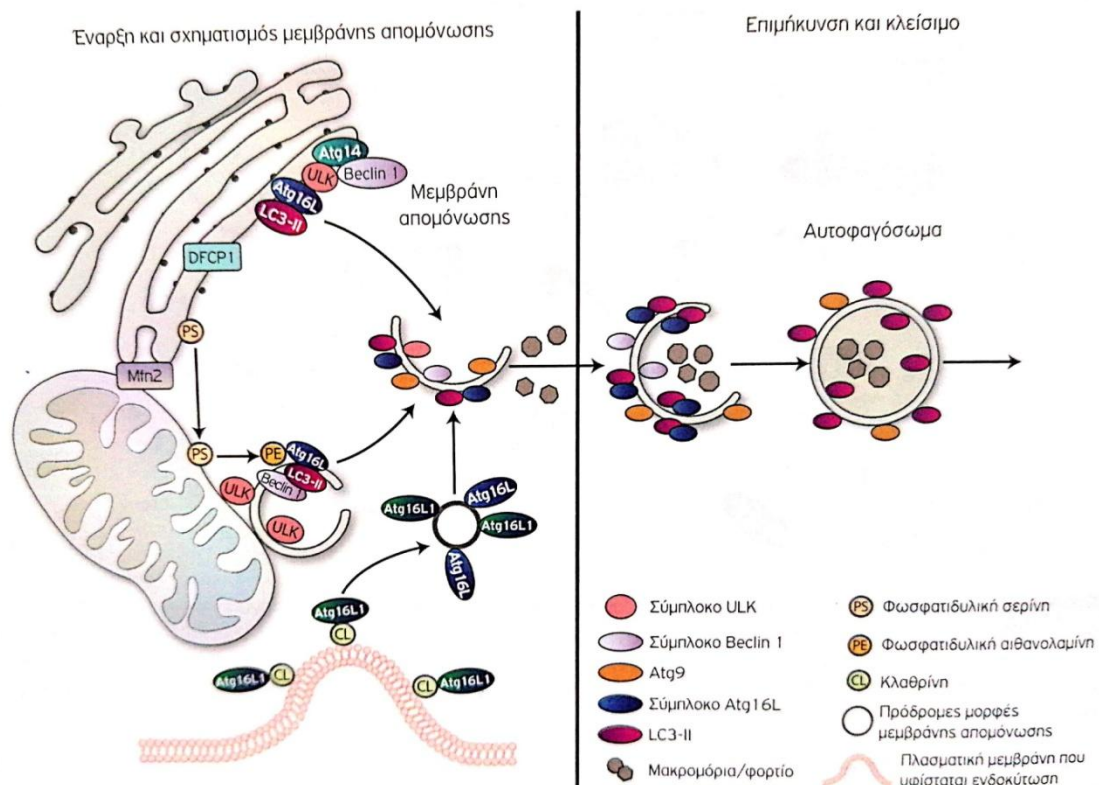
Επιλογή του φορτίου

Μπορεί οι ηλεκτρονικές μικρογραφίες να αποκαλύπτουν αυτοφαγοσώματα με περιεχόμενο ποικίλης προέλευσης, όπως μεμβράνες μιτοχονδρίων ή ενδοπλασματικού δικτύου ή δικτύου Golgi, ωστόσο, υπάρχουν πολλές ενδείξεις στοχευμένης αλληλεπίδρασης του φαγοφόρου με συγκεκριμένα πρωτεϊνικά συσσωματώματα και οργανίδια. Η LC3-II αναλαμβάνει το ρόλο του υποδοχέα των φαγοφόρων και αλληλεπιδρά με μόρια «προσαρμογής» των υλικών ή συστατικών που χρειάζεται να αποικοδομηθούν. Οι πρωτεΐνες p62/SQSTM1 και NBR1 αποτελούν αυτοφαγικούς υποδοχείς που περιέχουν το μοτίβο LIR (LC3-interacting region), το οποίο με τη σειρά του είναι απαραίτητο για την αλληλεπίδρασή τους με την πρωτεΐνη LC3. Επίσης οι αυτοφαγικοί υποδοχείς διαθέτουν και μια περιοχή που αναγνωρίζει το προς αποικοδόμηση υλικό, όπως πρωτεΐνες στις οποίες έχουν προστεθεί μόρια ουβικιτίνης. Είναι ενδιαφέρον ότι η αλληλουχία LIR έχει βρεθεί σε αρκετές πρωτεΐνες (Glick et al., 2010).

Σύντηξη με το λυσόσωμα

Μόλις «κλείσουν» τα επεκτεινόμενα άκρα της μεμβράνης των φαγοφόρων στα αυτοφαγοσώματα, το επόμενο βήμα προς την ωρίμανση είναι η σύντηξή του με πρώιμα και όψιμα ενδοσώματα, οδηγώντας στο σχηματισμό των αμφισωμάτων. Πριν τη σύντηξη των αυτοφαγοσωμάτων με τα ενδοσώματα και τα λυσοσώματα απομακρύνονται οι πρωτεΐνες Atg από την αυτοφαγοσωμική μεμβράνη. Η σύντηξη απαιτεί και τη συμμετοχή της ενδοσωμικής κυκλοφορίας ESCRT (Endosomal Sorting Complexes Required for Transport). Ορισμένες χαρακτηριστικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν είναι οι ESCRT, SNAREs και Rab7. Μετέπειτα ακολουθεί η σύντηξη

των αμφισωμάτων με τα λυσοσώματα και τέλος από την ένωση αυτή προκύπτει το αυτολυσόσωμα (Glick et al., 2010).



Εικόνα 7: Απεικόνιση της δημιουργίας της μεμβράνης απομόνωσης του αυτοφαγοσώματος (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Ο κυτταροσκελετός παίζει επίσης ρόλο στον σχηματισμό αυτολυσοσωμάτων, καθώς παράγοντες όπως η νοκαδαζόλη, η οποία είναι δηλητήριο μικροσωληνίσκων, εμποδίζουν τη σύντηξη του αυτοφαγοσώματος με το λυσόσωμα (Glick et al., 2010).

Τα αυτοφαγοσώματα και τα λυσοσώματα ταξιδεύουν κυρίως κατά μήκος των μικροσωληνίσκων. Το σύμπλοκο δυνεΐνης-δυνακτίνης μετακινεί τα κυστίδια προς την περιπυρηνική περιοχή, ενώ οι κατευθυνόμενες από το άκρο κινεσίνες μεταφέρουν λυσοσώματα προς την περιφέρεια των κυττάρων. Η εξάντληση οποιασδήποτε πρωτεΐνης που να δρα ως κινητήρας, θα έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση αυτοφαγικών κυστιδίων, είτε στην κυτταρική περιφέρεια εξαιτίας της απώλειας της δυνεΐνης, είτε στο κυτταρικό κέντρο λόγω απώλειας κινεσίνης. Η πρωτεΐνη FYCO1 δρα ως πρωτεΐνη προσαρμογής μεταξύ των αυτοφαγοσωμάτων και των

μικροσωληνίσκων, αλληλεπιδρά με τις κινεσίνες και χαρακτηρίζεται από το μοτίβο FYVE (Lőrincz P., Juhász G., 2020).

Εντός του λυσοσώματος, οι πρωτεάσες cathepsin B και D απαιτούνται για την ανανέωση των αυτοφαγοσωμάτων και την ωρίμανση του αυτολυσοσώματος. Επίσης, οι Lamp-1 και Lamp-2 των λυσοσωμάτων είναι απαραίτητες για τη λειτουργική αυτοφαγία, καθώς η στοχευμένη διαγραφή τους σε κύτταρα ποντικών, έδρασε ανασταλτικά στην ωρίμανση των αυτολυσοσωμάτων σε κύτταρα ποντικών (Glick et al., 2010).

Οι παράγοντες πρόσδεσης διασυνδέουν τις αυτοφαγοσωματικές μεμβράνες με τις όψιμες ενδοσωμικές/λυσοσωμικές μεμβράνες. Αυτό πραγματοποιείται συνήθως με τη συμμετοχή μικρών GTPασών. Ο πιο καλά χαρακτηρισμένος παράγοντας πρόσδεσης είναι το ετεροεξαμερικό σύμπλοκο HOPS, που πιθανώς ασκεί τη δράση του μέσω προσαρμογέων Rab7, Rab2 και Arl8. Στα κύτταρα θηλαστικών φαίνεται να χρησιμεύει η GTPάση Rab 7 για την ωρίμανση των αυτολυσοσωμάτων και την ενδοκυτταρική κυστιδιακή μεταφορά. Το σύμπλοκο HOPS προωθεί τη συναρμολόγηση και το φερμουάρ του συμπλέγματος SNARE και εμποδίζει την αποσυναρμολόγηση του. Οι HOPs συναντώνται σε πολλούς οργανισμούς από τη ζύμη μέχρι και τον άνθρωπο, αλλά είναι ενδιαφέρον ότι έχουν βρεθεί και άλλες πρωτεΐνες που προάγουν τη σύντηξη αυτοφαγοσωμάτων με τα λυσοσώματα (Lőrincz P., Juhász G., 2020).

Τα σύμπλοκα SNARE εκτελούν τη διαδικασία της σύντηξης αυτοφαγοσώματος-λυσοσώματος από τις ζύμες μέχρι και τον άνθρωπο. Στα κύτταρα των θηλαστικών απαιτούνται τρία διαφορετικά SNARE σύμπλοκα και ιδίως η συνταξίνη-17. Από το σύνολο των μεμβρανικών λιπιδίων, τα φωσφοϊνοσιτίδια PI(3)P, PI(3,5)P₂, PI(4)P και PI(4,5)P₂ συμμετέχουν στη διαδικασία σύντηξης αυτοφαγοσώματος-λυσοσώματος (Lőrincz P., Juhász G., 2020).

Επαναχρησιμοποίηση των συστατικών

Μετά την αποικοδόμηση και την ολοκλήρωση του καταβολισμού των μορίων στο αυτοφαγολύσωμα, ακολουθεί η επιστροφή τους στο κυτταρόπλασμα με τη δράση κατάλληλων λυσοσωμικών περμεασών και μεταφορέων. Συνεπώς, αμινοξέα και

διάφορα άλλα προϊόντα που απελευθερώνονται στο κυτταρόπλασμα θα ενεργοποιήσουν την mTOR, η οποία δρα παρεμποδίζοντας την αυτοφαγία και τα ελεύθερα αμινοξέα θα χρησιμοποιηθούν είτε για τη σύνθεση μακρομορίων είτε για να καλύψουν ενεργειακές ανάγκες (Glick et al., 2010).

Κεφάλαιο 5: Ρύθμιση της Αυτοφαγίας

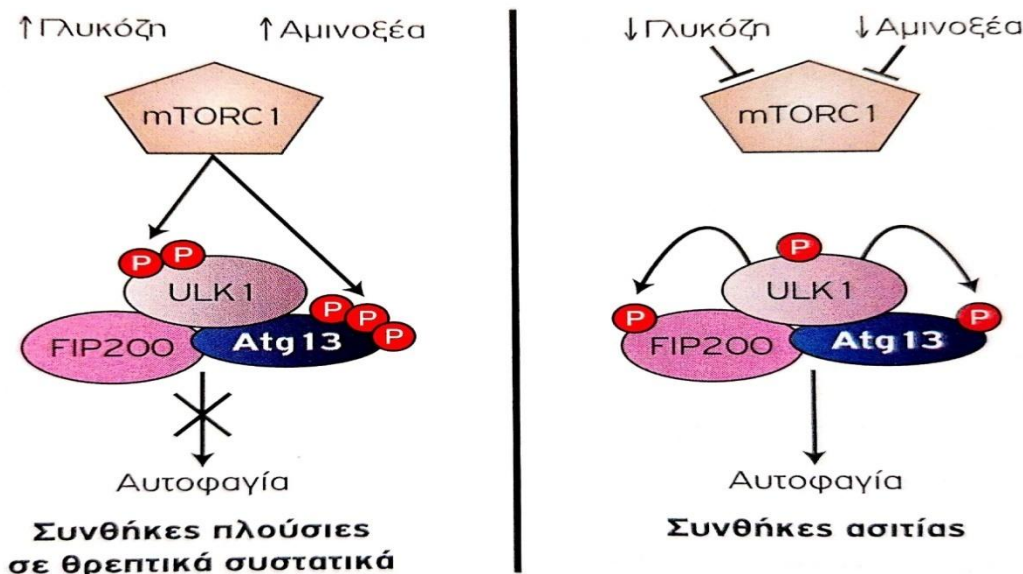
Μονοπάτια σηματοδότησης και Αυτοφαγία

Στα κύτταρα των θηλαστικών υπάρχουν διάφορα μονοπάτια μεταγωγής σήματος που ελέγχουν την αυτοφαγία. Αναμφισβήτητα σπουδαίο ρόλο διαδραματίζουν και διάφοροι παράμετροι του μικροπεριβάλλοντος των κυττάρων, όπως είναι το ενεργειακό απόθεμα, η συγκέντρωση οξυγόνου, τα επίπεδα Ca^{2+} , η παρουσία ορμονών και άλλα. Ως θετικοί ρυθμιστές της αυτοφαγίας δρουν γενικά οι καταστολείς των όγκων, τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος που ενεργοποιούνται είτε λόγω ασιτίας είτε λόγω ανοσίας είτε λόγω στρες του ενδοπλασματικού δικτύου ER. Αντιθέτως, μόρια τα οποία αποτελούν προϊόντα ογκογονιδίων όπως είναι οι κινάσες TOR, PI3-K, Akt, Ras και Bcl-2, αποτελούν τους αρνητικούς ρυθμιστές της αυτοφαγίας.

Κινάση mTOR και ρύθμιση της αυτοφαγίας

Όταν επικρατούν φυσιολογικές συνθήκες, τότε οι κινάσες Akt και mTOR παρεμποδίζουν την αυτοφαγία. Πιο ειδικά η κινάση mTOR δρα φωσφορυλιώνοντας το σύμπλοκο ULK1 κι έτσι δεν ξεκινά η αυτοφαγική διεργασία, ενώ ενισχύονται οι αναβολικές διεργασίες. Η κινάση mTOR αποτελεί συστατικό ενός ευρύτερου συμπλόκου που ονομάζεται mTORC1 και το οποίο περιέχει επίσης τις πρωτεΐνες RAPTOR (regulatory associated protein of mTOR), GβL/mLST8 (G protein β-subunit-like protein) και PRAS40 (proline-rich Akt substrate of 40 kDa). Όταν υπάρχει επάρκεια σε θρεπτικά συστατικά, τότε το προαναφερθέν σύμπλοκο είναι ενεργό, δε σχηματίζονται αυτοφαγοςώματα και προάγονται διεργασίες όπως η πρωτεϊνοσύνθεση, η κυτταρική αύξηση κι ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Η παρεμπόδιση της αυτοφαγίας επιτυγχάνεται μέσω της φωσφορυλίωσης των κινασών ULK1/2 και της Atg13. Ωστόσο, μετά από στέρηση θρεπτικών συστατικών, το mTORC1 αποσυνδέεται από το ULK1/2 σύμπλοκο, με αποτέλεσμα την αποφωσφορυλίωση των ανασταλτικών θέσεων του τελευταίου και την ταυτόχρονη αυτοφωσφορυλίωση των ενεργοποιητικών θέσεων του. Μόλις το σύμπλοκο mTORC1 απενεργοποιηθεί, τότε η κινάση ULK1 φωσφορυλιώνει τις Atg13 και FIP200, οπότε το σύμπλοκο ULK1 μετατοπίζεται στο φαγοφόρο. Σε αυτήν την περίπτωση που η ασιτία απενεργοποιεί το mTORC1, η επαγόμενη αποικοδόμηση

πρωτεϊνών κι οργανιδίων διευκολύνει την επιβίωση των κυττάρων (Θωμόπουλος 2014).

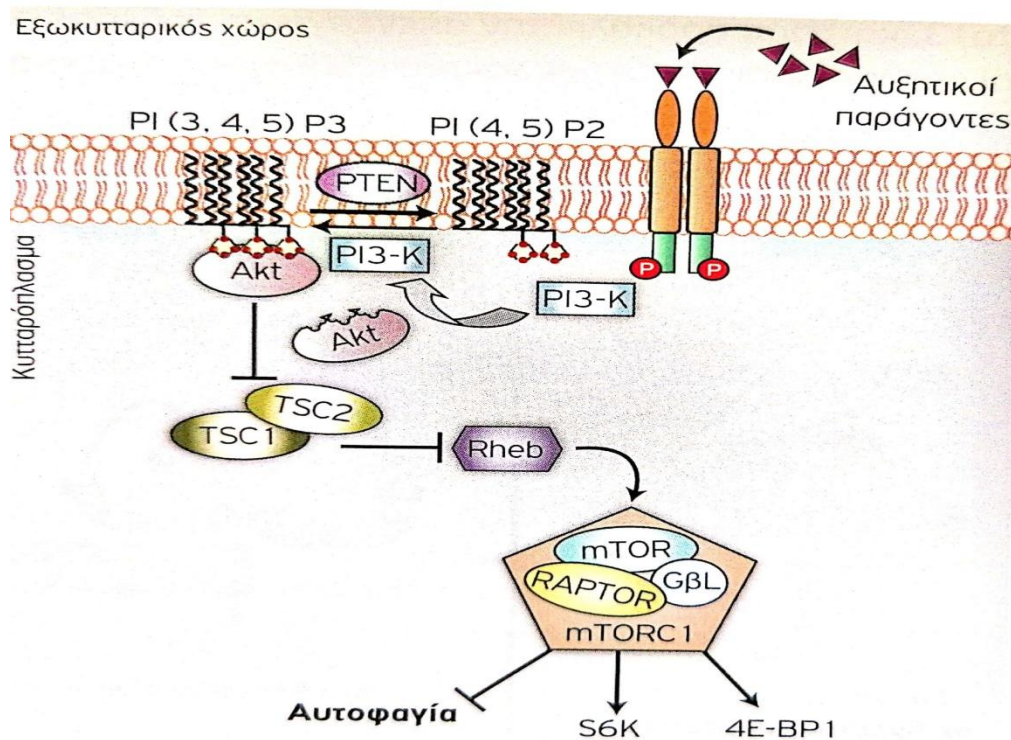


Εικόνα 8: Το σύμπλοκο mTORC1 καταστέλλει την ενεργοποίηση της αυτοφαγίας όταν υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Το σύμπλοκο mTORC1 φωσφορυλιώνει την κινάση ULK1 σε θέσεις σερίνης αποτρέποντας την αλληλεπίδραση της με θετικούς ρυθμιστές της αυτοφαγίας. Με τον ίδιο τρόπο καταστέλλεται και η ενεργοποίηση της Atg13 μέσω φωσφορυλίωσης από το σύμπλοκο mTORC1. Η έλλειψη γλυκόζης ή αμινοξέων επιφέρει την καταστολή της ενεργοποίησης της κινάσης mTOR. Μετά από αυτό η κινάση ULK1 φωσφορυλιώνει τόσο τη FIP200, όσο και την Atg13, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των καθοδικών πρωτεϊνών του μονοπατιού της αυτοφαγίας (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Αυξητικοί παράγοντες, όπως η ινσουλίνη ή ο IGF-1 (Insulin-Like Growth Factor-1), οδηγούν στην ενεργοποίηση των κινασών PI3-K τάξη I με τη συνεπακόλουθη ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3-K τάξη I/Akt (Protein kinase B) και της κινάσης Akt. Λόγω του μονοπατιού αυτού διεγείρεται η είσοδος διαφόρων θρεπτικών συστατικών και ενεργοποιείται η κινάση mTOR. Στα αρχικά στάδια του μονοπατιού συντίθεται η PI3,4,5P3 ως προϊόν των κινασών PI3-K τάξη I, ενεργοποιείται η κινάση Akt, η οποία στη συνέχεια δρα απενεργοποιώντας το σύμπλοκο TSC1-TSC2. Το τελευταίο γεγονός οδηγεί στην ενεργοποίηση της μικρής GTPάσης Rheb (Ras homolog enriched in brain) (Θωμόπουλος 2014).

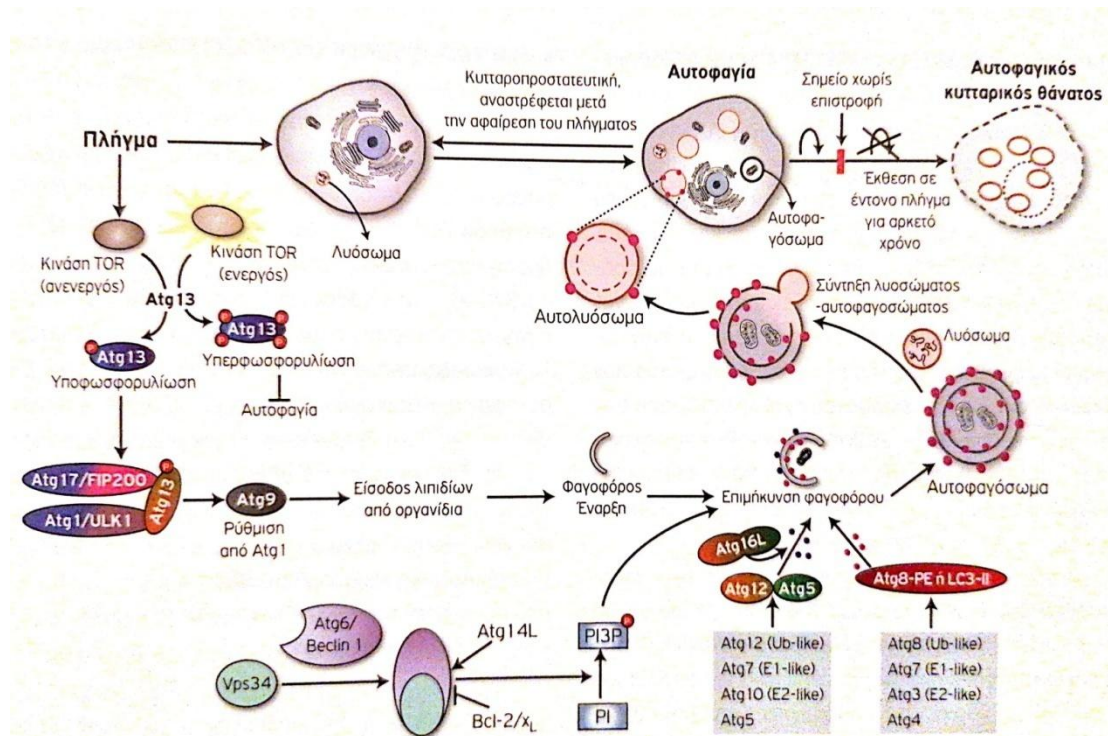
Οι διάφορες τάξεις των κινασών PI3K ασκούν διαφορετικές επιδράσεις στην αυτοφαγία. Τα αυξημένα επίπεδα των προϊόντων των κινασών PI3-K τάξη I ρυθμίζουν αρνητικά την αυτοφαγία, ενώ τα προϊόντα των κινασών PI3-K τάξη III δρουν ως θετικοί ρυθμιστές.

Σε συνθήκες υποξίας ή χαμηλών επιπέδων ATP, τότε ενεργοποιείται η κινάση AMPK, η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει κι ενεργοποιεί τις πρωτεΐνες TSC1 (tuberous sclerosis complex 1), TSC2 (tuberous sclerosis complex 2) με άμεση συνέπεια την απενεργοποίηση της mTOR και την απελευθέρωση του συμπλόκου ULK1 από την κατάσταση της καταστολής. Με αυτόν τον τρόπο διεγείρεται η αυτοφαγία (Θωμόπουλος 2014).



Εικόνα 9: Οι κινάσες PI3-K ταξη I και το προϊόν που δημιουργούν, η PI3,4,5P3, παίζουν κεντρικό ρόλο στη μεταβίβαση του σήματος στο μονοπάτι mTORC1. Οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται από αυξητικούς παράγοντες διεγείρουν την κινάση PI3-K η οποία φωσφορυλιώνει τη PI4,5P2 δημιουργώντας τη PI3,4,5P3 που ενεργοποιεί το μονοπάτι μεταγωγής σήματος Akt. Η κινάση Akt αίρει την παρεμπόδιση του συμπλόκου TSC1-TSC2 επί της μικρής GTPάσης Rheb, προκαλώντας την απενεργοποίησή τους. Η ενεργοποιημένη Rheb με τη σειρά της

προάγει τη μεταγωγή σήματος από το σύμπλοκο mTORC1 (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).



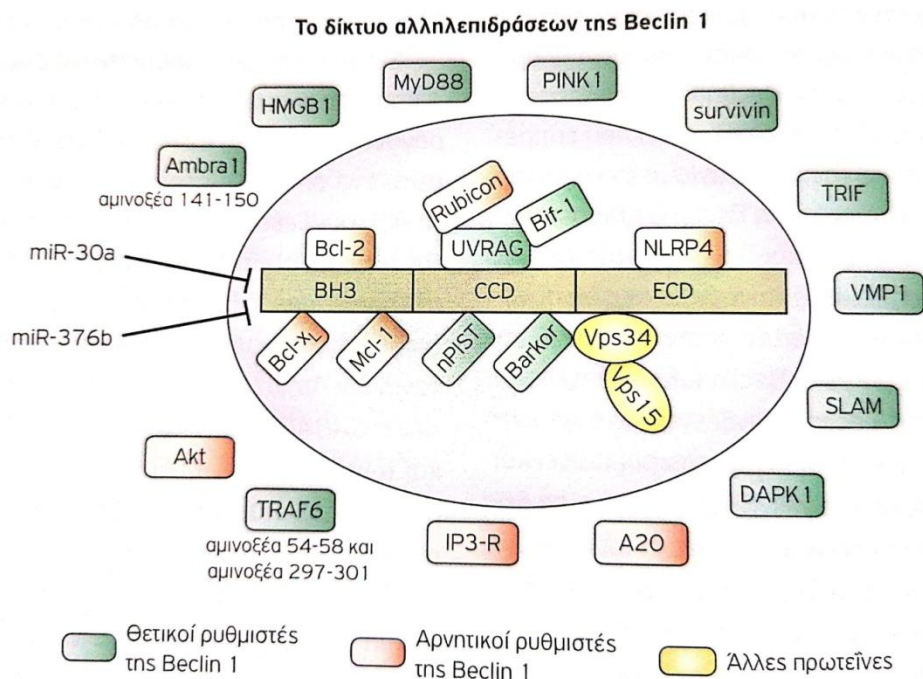
Εικόνα 10: Απεικόνιση των μοριακών μηχανισμών και της ρύθμισης από το σύμπλοκο mTORC1 και Beclin 1 (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Τα τελικά προϊόντα της αυτοφαγίας προσφέρουν έναν μηχανισμό αρνητικής ανάδρασης μέσω του οποίου παρεμποδίζεται η παρατεταμένη και άνευ χρησιμότητας αυτοφαγία. Παράλληλα, ποικίλες μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις των θεμελιωδών πρωτεϊνών της αυτοφαγίας παρέχουν έναν ακόμη μηχανισμό ρύθμισης. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως το σύμπλοκο mTORC1 μπορεί να ασκήσει έλεγχο στα επίπεδα της μεταγραφής και της μετάφρασης των πρωτεϊνών Atg και να ρυθμίσει την αυτοφαγία (Θωμόπουλος 2014).

Beclin 1 και ρύθμιση της αυτοφαγίας

Η Beclin 1 αποτελεί την πρώτη πρωτεΐνη αυτοφαγίας που ανακαλύφθηκε στα θηλαστικά και είναι η ορθόλογη της πρωτεΐνης Atg6 του σακχαρομύκητα. Η Beclin 1 έχει βρεθεί να αλληλεπιδρά με τις αποπτωτικές πρωτεΐνες Bcl-2 και Bcl-x_L μέσω του μοτίβου BH3 και η αλληλεπίδραση αυτή παρεμποδίζει την αυτοφαγία. Οι συνθήκες αφθονίας ισχυροποιούν αυτήν την αλληλεπίδραση, ενώ η έλλειψή τους την εξασθενεί

κι έτσι προάγεται η αυτοφαγία. Οι πρωτεΐνες BH3-only ρυθμίζουν επίσης τη συγκεκριμένη αλληλεπίδραση κι αυτό αποτελεί μια ένδειξη πως τα μονοπάτια της αυτοφαγίας και της απόπτωσης διασταυρώνονται (Θωμόπουλος 2014).



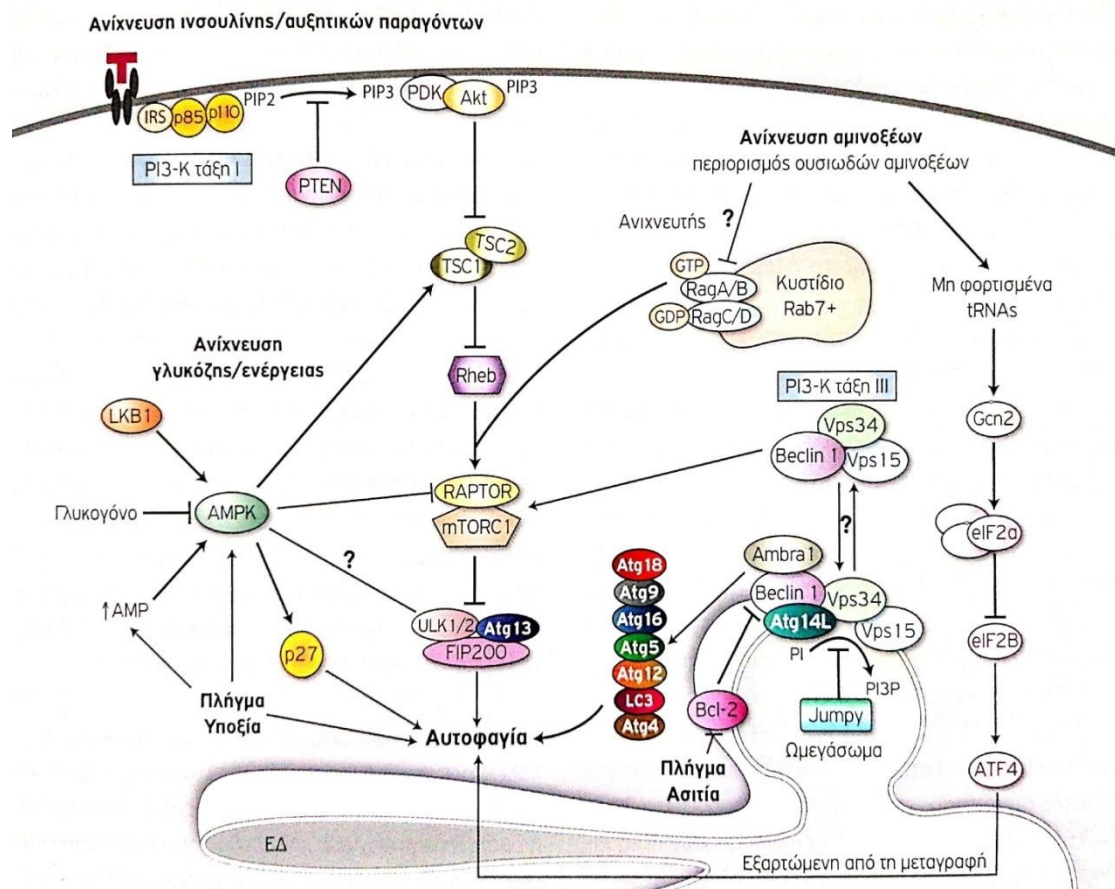
Εικόνα 11: Η Beclin 1 παίζει σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση της αυτοφαγικής δραστηριότητας, δρώντας ως πλατφόρμα για την προσέλκυση κι ενεργοποίηση της PI3-K τάξη III/Vps34. Η Beclin 1 επιδρά είτε με θετικούς είτε με αρνητικούς ρυθμιστές της αυτοφαγίας (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Δομικά η Beclin 1 αποτελείται από την περιοχή BH3 που βρίσκεται στο αμινοτελικό άκρο, μια κεντρική περιοχή με τη μορφή περιελιγμένης σπείρας, μια μεγάλη σε έκταση εξελικτικά συντηρημένη περιοχή προς το καρβοξυτελικό άκρο και ένα πυρηνικό σήμα εξόδου πλούσιο σε αμινοξέα λευκίνης. Η λειτουργική περιοχή BH3 της επιτρέπει να αλληλεπιδρά είτε με αποπτωτικές είτε με αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες (Θωμόπουλος 2014).

Η αλληλεπίδραση της Beclin 1 με διάφορες πρωτεΐνες μπορεί να ρυθμίσει θετικά ή αρνητικά την αυτοφαγία. Ορισμένοι θετικοί ρυθμιστές της είναι οι Atg14L, UVRAG, PINK1, DAPK1, ενώ αρνητικοί ρυθμιστές της είναι Bcl-2, Bcl-x_L, Rubicon (Θωμόπουλος 2014).

Ανίχνευση της Ενέργειας

Κατά τη διάρκεια μεταβολικού στρες, η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας κρίνεται απαραίτητη για τη βιωσιμότητα των κυττάρων. Στα κύτταρα θηλαστικών η κινάση AMPK (5' AMP-activated protein kinase) χρησιμεύει ως αισθητήρας των χαμηλών ενεργειακών επιπέδων. Η AMPK ενεργοποιείται από τη μειωμένη αναλογία ATP/AMP μέσω της LKB1 (liver kinase B1) κινάσης. Η ενεργή AMPK οδηγεί σε φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του συμπλέγματος TSC1/2, το οποίο αναστέλλει τη δραστηριότητα της mTOR μέσω της πρωτεΐνης Rheb (Ras homolog enriched in brain) . Η αυτοφαγία, που διεγείρεται από την παρεμπόδιση της οδού της mTOR, οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ATP μέσω της ανακύκλωσης των θρεπτικών συστατικών. Επιπλέον, η οδός LKB1-AMPK φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί την p27kip1, η οποία δρα ως αναστολέας της κινάσης Cdk2, που οδηγεί σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Η p27kip1 (Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) συμμετέχει στο κομβικό σημείο της λήψης απόφασης για την είσοδο του κυττάρου στην αυτοφαγία ή στην απόπτωση. Στην περίπτωση που ενεργοποιηθεί η αυτοφαγία, τότε επιμηκώνεται η διάρκεια ζωής του κυττάρου (He, Klionsky, 2009).



Εικόνα 12: Συντονισμός ρύθμισης της μεταγωγής σήματος mTORC1 και της αυτοφαγίας. Απεικονίζονται οι διάφοροι παράγοντες που συμβάλλουν στη ρύθμιση της μεταγωγής σήματος mTORC1 και της αυτοφαγίας και, τελικά, της κυτταρικής αύξησης. Οι χοντρές γραμμές αντιπροσωπεύουν την ενεργοποίηση ή την παρεμπόδιση μιας άμεσης αλληλεπίδρασης για τις οποίες υπάρχουν μοριακά δεδομένα. Οι λεπτές γραμμές αντιπροσωπεύουν τα έμμεσα βήματα ενεργοποίησης (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Απόκριση στο στρες

Ποικίλα ερεθίσματα εξωκυτταρικού και ενδοκυτταρικού στρες είναι δυνατόν να προάγουν την αυτοφαγία, ώστε τα πληγμένα κύτταρα να υπερβούν τις δυσμενείς συνθήκες ή να προσαρμοστούν σε αυτές.

Στρες ER

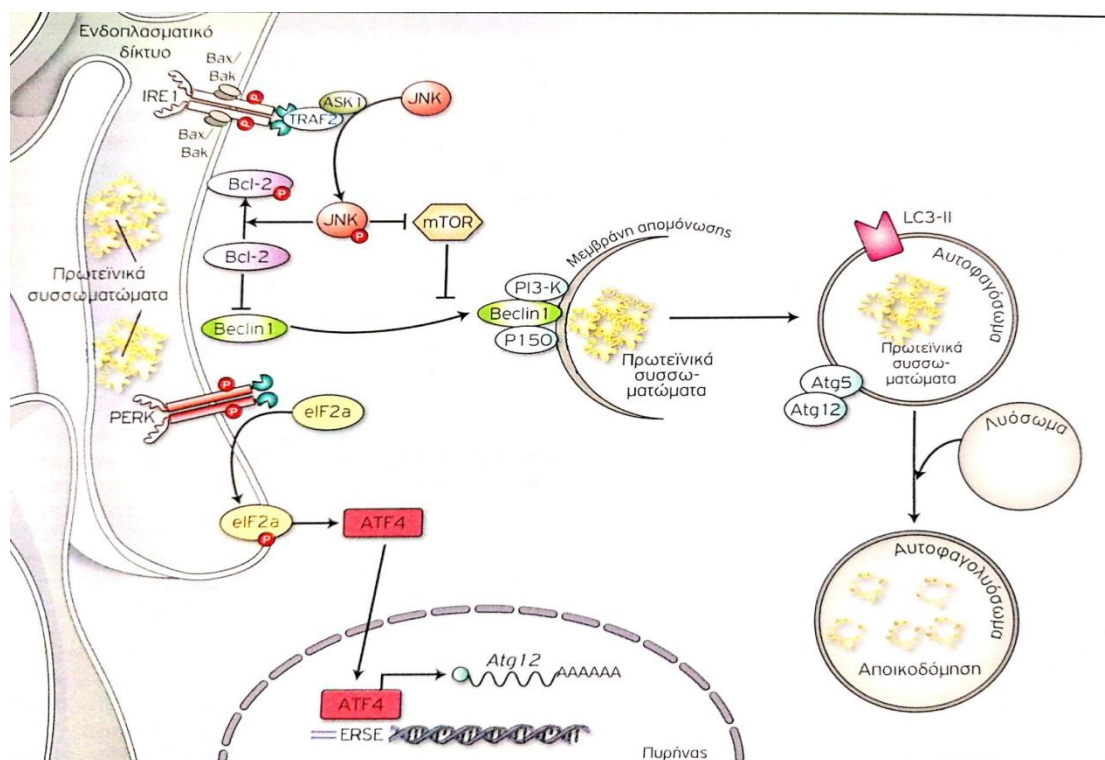
Το ενδοπλασματικό δίκτυο ER είναι το βασικό διαμέρισμα του κυττάρου, στο οποίο αναδιπλώνονται σωστά οι νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες και απο εκεί ξεκινά η

μεταφορά τους μέσω κυστιδίων προς τον τελικό τους προορισμό. Στα κύτταρα των θηλαστικών, το ER αποτελεί και την κύρια δεξαμενή ενδοκυτταρικού Ca^{2+} , τη θέση λιπιδιακής σύνθεσης και μεταγωγής σήματος. Ορισμένα ερεθίσματα στρες, όπως μεταλλάξεις των πρωτεϊνών που δεν επιτρέπουν την αναδίπλωσή τους, η στέρηση γλυκόζης με τη συνεπακόλουθη περιορισμένη γλυκοζυλίωση, η μειωμένη προσφορά ενέργειας στους μοριακούς συνοδούς, η υποξία, το οξειδωτικό στρες, που περιορίζουν τη δυνατότητα σχηματισμού δισουλφιδικών δεσμών και η εκροή Ca^{2+} , οδηγούν στη συσσώρευση και συσσωμάτωση μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών στους αγωγούς του ER (He, Klionsky, 2009).

Το κύτταρο έχει αναπτύξει μια σειρά στρατηγικών ώστε να ξεπεράσει την παραπάνω κατάσταση και αυτές είναι η απόκριση μη αναδιπλωμένης πρωτεΐνης UPR (unfolded protein response). Το μονοπάτι UPR μεταφέρει πληροφορίες για την κατάσταση του αγωγού ER προς τον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα. Με αυτόν τον τρόπο επηρεάζεται η σύνθεση πρωτεϊνών όπως και η κυστιδιακή κυκλοφορία με απώτερο στόχο την επαναφορά της ομοιόστασης. Στην περίπτωση που παρουσιαστούν προβλήματα στο μονοπάτι UPR, τότε το κύτταρο εντείνει τις διεργασίες που αφορούν την πρωτεόλυση. Μια από αυτές είναι και η αυτοφαγία των τμημάτων του ER. Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών δείχνει ότι η αυτοφαγία επάγεται από το στρες του ER σε οργανισμούς από τη ζύμη έως τα θηλαστικά. Ωστόσο, οι σηματοδοτικοί μηχανισμοί που συνδέουν το ER στρες με την αυτοφαγία ποικίλλουν, ανάλογα με τις συγκεκριμένες συνθήκες και τα είδη οργανισμών που μελετώνται (He, Klionsky, 2009).

Η οδός UPR των θηλαστικών περιλαμβάνει τρεις καθοδικές οδούς: 1) την κινάση IRE1 (inositol-requiring enzyme 1), 2) το μεταγραφικό παράγοντα ATF6 (Activating Transcription Factor 6) και 3) την κινάση PERK (PKR-like ER kinase). Αυτοί οι παράγοντες αφού ανιχνεύσουν και σηματοδοτήσουν τα επίπεδα των ακατάλληλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών στο ER, ενεργοποιούν τη μεταγραφή διαφορετικών γονιδιακών στόχων. Ένας καθοδικός στόχος της IRE1 είναι η κινάση JNK, η οποία είναι απαραίτητη για τη σύζευξη λιπιδίων της LC3 που προκαλείται από την τουνικαμυκίνη ή από τη συσσώρευση κυτταροπλασματικών μη κατάλληλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών λόγω αναστολής του πρωτεασώματος στους MEF και σε καρκινικά κύτταρα. Πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν ότι ως απόκριση στο στρες

που προκαλείται από την παρουσία εσφαλμένα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών με επαναλήψεις πολυγλουταμίνης ή μεταλλαγμένων πρωτεϊνών, η φωσφορυλίωση του παράγοντα έναρξης της μετάφρασης eIF2α (Eukaryotic Initiation Factor 2 α) από την κινάση PERK απαιτείται για τη μετατροπή της LC3 και την αυτοφαγική αποικοδόμηση των πρωτεϊνών στο ER. Συμπερασματικά, τόσο το μονοπάτι IRE1-JNK όσο και το μονοπάτι PERK-eIF2α φαίνεται να διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην επαγόμενη από την UPR αυτοφαγία (He, Klionsky, 2009).



Εικόνα 13: Ρόλος των πρωτεϊνών της οικογένειας Bcl-2 στη ρύθμιση της αυτοφαγίας που επάγεται από το στρες του ER. Στην απόκριση συμμετέχουν δυο βραχίονες του μονοπατιού UPR: 1) ο βραχίονας IRE1-JNK αυξάνει τη επαγωγή της αυτοφαγίας και 2) η μεταγωγή σήματος μέσω της κινάσης PERK που κάνει πιο αποτελεσματική την αυτοφαγία, λόγω της θετικής ρύθμισης της μεταγραφικής δραστηριότητας της Atg12 (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Σε κύτταρα θηλαστικών, η απενεργοποίηση του ανοδικού ρυθμιστή BiP (Binding immunoglobulin protein) της UPR με siRNA αναστέλλει τον σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων που επάγεται τόσο από το ER stress όσο και από τη στέρηση θρεπτικών συστατικών, αλλά δεν επηρεάζει τη μετατροπή της LC3-I σε LC3-II. Το

παραπάνω γεγονός υποδηλώνει ότι ο μοριακός συνοδός BiP είναι ένας υποχρεωτικός παράγοντας για την αυτοφαγία και μπορεί να λειτουργεί στο στάδιο της επέκτασης/επιμήκυνσης των φαγοφόρων και όχι της επαγωγής (He, Klionsky, 2009).

Εκτός από τη σηματοδότηση UPR, το στρες ΕΔ επάγει επίσης την απελευθέρωση του Ca^{2+} προς το κυτταρόπλασμα. Η ενεργοποιούμενη από το ασβέστιο κινάση CaMKKβ (Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2) διεγείρεται από την αύξηση του ενδοκυττάρου επιπέδου Ca^{2+} και ενεργοποιεί περαιτέρω την ασβεστιοεξαρτώμενη κινάση AMPK (5' AMP-activated protein kinase), με την τελευταία να επάγει ισχυρά την αυτοφαγία. Τα αυξημένα επίπεδα ασβεστίου πυροδοτούν επίσης τη φωσφορυλίωση της πρωτεϊνικής κινάσης PKCθ (protein kinase C θ), η οποία επάγει τη μετατροπή της LC3 και την αυτοφαγία σε αθάνατα ηπατοκύτταρα ως απόκριση στους ER στρεσογόνους παράγοντες θαιγυαργίνης και τουνικαμυκίνης. Τέλος, το Ca^{2+} διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη βιογένεση των λυσοσωμάτων, στα φαινόμενα σύντηξης τους με τα ενδοσώματα, με άλλα λυσοσώματα όπως και με την πλασματική μεμβράνη (He, Klionsky, 2009).

Υποξία

Χαμηλά επίπεδα οξυγόνου σε ποσοστό 1% ή και χαμηλότερα, συναντώνται στα αναπτυσσόμενα έμβρυα και σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως σε συμπαγείς όγκους, στην καρδιαγγειακή ισχαιμία και σε εγκεφαλικές κακώσεις. Η υποξία επάγει την αυτοφαγία στα κύτταρα των θηλαστικών, ωστόσο τα σηματοδοτικά μονοπάτια που είναι υπεύθυνα για την επαγωγή της αυτοφαγίας και οι συνέπειές της διαφοροποιούνται ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο και την αυτοφαγική οδό. Για παράδειγμα, η ενισχυμένη μιτοφαγία κατά τη διάρκεια της υποξίας αποτελεί απόκριση προσαρμογής, που μειώνει τα επίπεδα των δραστικών μορφών οξυγόνου και προστατεύει την ακεραιότητα των κυττάρων, αν και σε αρκετές κυτταρικές σειρές γλοιώματος και καρκίνου του μαστού, η παρατεταμένη υποξία επιφέρει αυτοφαγικό κυτταρικό θάνατο (He, Klionsky, 2009).

Ο επαγόμενος από την υποξία μεταγραφικός παράγοντας HIF-1 (Hypoxia-inducible factor 1) είναι ο πρωταρχικός που επάγεται κάτω από υποξικές συνθήκες και οδηγεί στη μεταγραφή εκατοντάδων γονιδίων που προάγουν την ερυθροποίηση και την αγγειογένεση και μειώνουν τη μιτοχονδριακή βιογένεση και αναπνοή,

αντισταθμίζοντας τις επιβλαβείς επιδράσεις που προκαλούνται από την έλλειψη οξυγόνου. Στους MEFs, τα μιτοχόνδρια απομακρύνονται με τη μιτοφαγία ως απόκριση στην υποξία, η οποία εξαρτάται από τον HIF-1 και την επαγωγή του καθοδικού στόχου της BNIP3 (Bcl-2 adenovirus E1a nineteen kDa interacting protein 3), ένα προαποπτωτικό μέλος της οικογένειας Bcl-2 (Mylonis et al., 2019). Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των δικτυοερυθροκυττάρων σε ποντίκια, η BNIP3L (BNIP3-like protein), ένας άλλος στόχος που επάγεται από τον HIF-1, απαιτείται επίσης για την προγραμματισμένη εκκαθάριση των μιτοχονδρίων με αυτοφαγία. Η BNIP3 ανταγωνίζεται την Beclin 1 για τη δέσμευση της στην Bcl-2 και έτσι απελευθερώνεται η Beclin 1 για να συμμετάσχει στη μιτοφαγία. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, εκτός του ότι βρίσκεται υπό τον έλεγχο του HIF-1, η BNIP3 αποτελεί επίσης στόχο των μεταγραφικών παραγόντων E2F, οι οποίοι αναστέλλονται από τον ογκοκατασταλτικό παράγοντα RB κατά τη διάρκεια της προκαλούμενης από τον RB αναστολής του κυτταρικού κύκλου. Επομένως, η υποξία επάγει τη μεταγραφή του γονιδίου BNIP3 μέσω της πρόσδεσης του HIF-1 ή/και του E2F στον υποκινητή του και η σηματοδότηση RB-E2F-BNIP3 εμπλέκεται επίσης στην αυτοφαγία (He, Klionsky, 2009).

Η επαγόμενη από την υποξία αυτοφαγία σε καρκινικά κύτταρα φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από το μονοπάτι του HIF-1. Αντ' αυτού, οι καταρράκτες αντιδράσεων AMPK-mTOR και PKCδ (Protein kinase C delta type) –JNK1 (c-Jun NH2-terminal kinase) είναι υπεύθυνοι για τη μεταγωγή σήματος και την επαγωγή της αυτοφαγίας. Επιπλέον, η υποξία αναστέλλει την mTOR και μπλοκάρει τον σχηματισμό του συμπλόκου eIF4F (Eukaryotic initiation factor 4F) και τη μετάφραση του mRNA. Έτσι, η αυτοφαγία που επάγεται από την υποξία μπορεί να είναι τουλάχιστον εν μέρει εξαρτώμενη από την mTOR και το στρες λόγω υποξίας μπορεί επίσης να παίζει ρόλο στην επαγωγή της αυτοφαγίας (He, Klionsky, 2009).

Οξειδωτικό στρες

Τα ενεργά είδη οξυγόνου ROS (Reactive Oxygen Species) ευθύνονται για την πρόκληση οξειδωτικού στρες στα κύτταρα και την ενεργοποίηση της αυτοφαγίας. Συνεπώς ασκούν επίδραση στην επιβίωση και στο θάνατο των κυττάρων. Τα μιτοχόνδρια αποτελούν την κύρια πηγή σχηματισμού των ROS, που με τη σειρά τους

θα βλάψουν αυτά τα οργανίδια. Χημικές ουσίες που δημιουργούν ROS ή χημικές ουσίες που παρεμποδίζουν την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, προκαλούν την παραγωγή ROS και αυτοφαγικό κυτταρικό θάνατο σε καρκινικές κυτταρικές σειρές. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτές οι ενώσεις οδηγούν σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα ROS σε μη μετασχηματισμένα πρωτογενή αστροκύτταρα ποντικού σε σύγκριση με τα καρκινικά κύτταρα και αποτυγχάνουν να διεγείρουν την αυτοφαγία, υποδηλώνοντας ότι τα φυσιολογικά κύτταρα διατηρούν αποτελεσματικά τα ROS σε ανεκτό επίπεδο και είναι σε θέση να προστατεύονται από μιτοχονδριακή βλάβη, πιθανόν μέσω αντιοξειδωτικών μηχανισμών όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου SOD (Superoxide dismutase), η καταλάση και επειδή η εφαρμογή χημικών ουσιών που διασπούν τα ROS ή η υπερέκφραση της μιτοχονδριακής SOD2 (Superoxide dismutase 2, mitochondrial) μειώνει την αυτοφαγία. Επιπλέον, τα δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια μπορούν να αποικοδομηθούν μέσω της μιτοφαγίας, γεγονός που επιφέρει μείωση των επιπέδων ROS και συμβάλλει στην κυτταρική επιβίωση. Επομένως, οι δραστικές μορφές οξυγόνου στοχεύουν επιλεκτικά κακοήθη αλλά όχι φυσιολογικά κύτταρα για πρόκληση αυτοφαγίας, η οποία έχει σημαντικές επιπτώσεις στην αντικαρκινική θεραπεία (He, Klionsky, 2009).

Ο συνδετικός κρίκος μεταξύ των ROS και της αυτοφαγίας σε περιόδους αστίας είναι η πρωτεάση κυστεΐνης Atg4, η οποία αποσπά το καρβοξυτελικό τμήμα της Atg8/LC3, που όμως θεωρείται απαραίτητο για την ομοιοπολική σύνδεσή της με την PE. Ταυτόχρονα, η Atg4 απμακρύνει την PE από το σύμπλοκο LC3-PE. Τα ROS στοχεύουν μια κυστεΐνη στην καταλυτική περιοχή της Atg4 κι έτσι καθίσταται αδύνατη η απομάκρυνση της PE από το σύμπλοκο LC3-PE. Με αυτόν τον τρόπο συσσωρεύεται το προαναφερθέν σύμπλοκο στη μεμβράνη των αυτοφαγοσωμάτων που βρίσκεται πιο κοντά στα μιτοχόνδρια κι ακολούθως επάγεται η αυτοφαγία. Επιπλέον, η Atg4 δεν φαίνεται να είναι το μοναδικό μόριο που ελέγχεται από την οξειδωτική ρύθμιση της αυτοφαγίας. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι το υπεροξειδίο του υδρογόνου ενεργοποιεί την PARP-1 (Poly [ADP-ribose] polymerase 1), η οποία συμμετέχει στο μονοπάτι μεταγωγής σήματος LKB1-AMPK και επάγει την αυτοφαγία. Ενδεχομένως, η βλάβη του DNA που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται στην ενεργοποίηση της PARP-1 και της αυτοφαγίας (He, Klionsky, 2009).

Συνοψίζοντας, η επαγόμενη από τα ROS αυτοφαγία ενδέχεται είτε να μετριάσει τα επίπεδά τους μέσω της αποικοδόμησης των μιτοχονδρίων ή εάν αποικοδομηθεί η καταλάση να γίνει πιο ισχυρό το πλήγμα του κυττάρου.

Ανοσολογική Απόκριση

Η είσοδος παθογόνων μικροοργανισμών στο κύτταρο συχνά οδηγεί στην ενεργοποίηση της αυτοφαγίας. Η επαγωγή της αυτοφαγίας κατά τη διάρκεια της λοίμωξης ρυθμίζεται από κυτταροκίνες όπως η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ), από καθοδικές GTPάσες που σχετίζονται με την ανοσία, καθώς και από υποδοχείς αναγνώρισης παθογόνων PRRs (Pattern Recognition Receptors), που αναγνωρίζουν διατηρημένα συστατικά των παθογόνων ή ακόμη κι από τα προϊόντα πολλαπλασιασμού τους PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns). Οι PRRs περιλαμβάνουν οικογένειες υποδοχέων TLRs (Toll like receptors) που αναγνωρίζουν PAMPs για να ενεργοποιήσουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και παραγωγή ιντερφερόνης τύπου I μέσω των σηματοδοτικών οδών NF-κB, MAPK και ιντερφερονών-NLRs (NOD like receptors) με συνεπακόλουθες την ενεργοποίηση των κυττάρων φονιάδων (Natural Killer T cells, NKT), την έκκριση κυτταροκινών και τη φαγοκυττάρωση (He, Klionsky, 2009). Αυτή η οικογένεια υποδοχέων είναι σε θέση να αναγνωρίζει προϊόντα κυττάρων στα οποία έχει λάβει χώρα η διεργασία της νέκρωσης, προϊόντα υποξίας, μη φυσιολογικές ενδοκυτταρικές διαβαθμίσεις ιόντων, δραστικές μορφές οξυγόνου και συσώρευση μη κατάλληλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών. Η ομάδα των ανοσοποιητικών σημάτων που ρυθμίζει την αυτοφαγία μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα πιο γενικευμένο σύστημα που χρησιμοποιούν τα κύτταρα για να ενεργοποιήσουν την αυτοφαγία ως απόκριση σε διάφορες μορφές στρες. Παράλληλα, η πραγματοποίηση της αυτοφαγίας έχει σημαντική επίδραση στην ομοίωση, τη λειτουργία και τη διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων, την επιβίωση και την ανάπτυξη των B λεμφοκυττάρων και την επιβίωση των πλασματοκυττάρων (Kromer et al., 2010).

Βέβαια τα μικρόβια βρίσκονται κάτω από ισχυρή πίεση προκειμένου να αναπτύξουν στρατηγικές για την επιβίωσή τους. Στο πλαίσιο αυτών των στρατηγικών περιλαμβάνονται η παρεμπόδιση της έναρξης της αυτοφαγίας, της ωρίμανσης των αυτοφαγοσωμάτων και της αναγνώρισής τους από τους αυτοφαγικούς μηχανισμούς.

Τέλος, είναι δυνατόν ακόμη και να εκμεταλλευτούν το μηχανισμό της αυτοφαγίας προκειμένου να καταφέρουν να πολλαπλασιασθούν (Kromer et al., 2010).

Μεταγραφική Ρύθμιση της Αυτοφαγίας

Τα τελευταία χρόνια έχει αναγνωριστεί η συμβολή των μεταγραφικών παραγόντων στη ρύθμιση της αυτοφαγίας. Οι μελέτες του μεταγραφικού παράγοντα TFEB (Transcription Factor EB) οδήγησαν σε σημαντική πρόοδο των ερευνών σχετικά με τους μεταγραφικούς ρυθμιστές της αυτοφαγίας. Οι τελευταίοι δεν αποτελούν απλώς μια μορφή ταχείας απόκρισης σε αυτοφαγικά ερεθίσματα, αλλά ρυθμίζουν μακροπρόθεσμα και την έκβασή της. Πλέον έχουν ταυτοποιηθεί περισσότεροι από 20 μεταγραφικοί παράγοντες που συνδέονται με την αυτοφαγική διαδικασία. Οι εργασίες σχετικά με τους μεταγραφικούς παράγοντες TFEB, Jun και FOXO3 (Forkhead box O3), έδειξαν πως η τροποποιημένη δραστηριότητα ενός και μόνο μεταγραφικού παράγοντα μπορεί να είναι αρκετή για να επάγει ή να αναστείλει την αυτοφαγία. Ωστόσο, η αλληλεπίδραση και ο μεταξύ τους συντονισμός δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, καθώς αρκετοί από αυτούς δρουν ως μεμονωμένοι ρυθμιστές της διαδικασίας (Füllgrabe et al., 2016).

Πιθανώς η ενεργοποίηση των βασικών γονιδίων της αυτοφαγίας από διαφορετικούς μεταγραφικούς παράγοντες επιτρέπει τη συμμετοχή τους σε διαφορετικές αποκρίσεις στρες. Η αυτοφαγία επάγεται από ποικίλα ερεθίσματα και ένα επικαλυπτόμενο δίκτυο γονιδίων αυτοφαγίας είναι πιθανό να απαιτείται για τη συνεχή αυτοφαγία που είναι ανεξάρτητη από τον επαγωγέα ή ερέθισμα. Η ενεργοποίηση άλλων γονιδίων Atg μπορεί να είναι ειδική για έναν συγκεκριμένο είδος κυτταρικού στρες. Είναι εντυπωσιακό ότι τα βασικά γονίδια αυτοφαγίας, ιδίως το MAP1LC3B (Microtubule Associated Protein 1 light chain 3) και τα ομόλογά του, καθώς και τα BECN1 και ULK1, διαθέτουν έναν τεράστιο αριθμό μεταγραφικών ενεργοποιητών, γεγονός που υποδηλώνει ένα βασικό ρόλο για τη μεταγραφική επαγωγή τους σε διάφορα αυτοφαγικά ερεθίσματα. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, δεν είναι σαφές εάν οι αποκρίσεις στην αυτοφαγία οδηγούνται απαραίτητα από αλλαγές εντός ενός μόνο γονιδιακού στόχου, τα επίπεδα του οποίου δεν είναι κρίσιμα για τη ρύθμιση της αυτοφαγίας ή, αντίθετα, εάν καθοδηγούνται από ένα σύνολο γονιδίων (Füllgrabe et al., 2016).

Στα κύτταρα των θηλαστικών, ο FOXO3 επάγει τη μεταγραφή πολλών γονιδίων αυτοφαγίας, όπως LC3B, Gabarapl1, atg12, atg4B, vps34, ulk2, beclin 1, Bnip3 και Bnip3l. Οι μεταγραφικοί παράγοντες FOXO (class O Forkhead box transcription factor) ρυθμίζονται με φωσφορυλίωση και, στην ενεργοποιημένη τους μορφή, μετατοπίζονται στον πυρήνα για να επάγουν την έκφραση πολλών γονιδίων που σχετίζονται με την αυτοφαγία. Ο FOXO3 συνδέεται άμεσα με τους υποκινητές των LC3B, Gabarapl1, atg12, Bnip3l και Bnip3 για να ενεργοποιήσει τη μεταγραφή τους και είναι επαρκής για το σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων στους σκελετικούς μύες ενηλίκων ποντικών. Αξίζει να σημειωθεί πως ο FoxO3 λειτουργεί παράλληλα με το μονοπάτι mTOR, ενώ και τα δύο μονοπάτια είναι καθοδικά της σηματοδότησης IGF-1/ινσουλίνης-PtdIns3K-PKB/Akt. Σε αντίθεση με τον TFEB, ο FoxO1 δρα επίσης ως επαγωγέας της αυτοφαγίας εντός του κυτταροπλάσματος, συνδεδεμένος άμεσα με πρωτεΐνες που σχετίζονται με την αυτοφαγία Έτσι, η αυτοφαγία ρυθμίζεται από δύο διαφορετικούς μηχανισμούς: αρνητική ρύθμιση μέσω του mTOR, ανεξάρτητη από τη διαδικασία της μεταγραφής και μεταγραφικά εξαρτώμενη ρύθμιση μέσω του FoxO3 (He, Klionsky, 2009).

Συνοψίζοντας, τα μέλη της οικογένειας FoXO μπορούν να δρουν ως επαγωγείς και καταστολείς της αυτοφαγίας ανάλογα με τον κυτταρικό εντοπισμό τους. Το χαρακτηριστικό αυτό είναι κοινό με τον αναμφισβήτητα πιο σημαντικό μεταγραφικό παράγοντα στο ανθρώπινο γονιδίωμα, τον p53. Η απουσία γλυκόζης οδηγεί στην αποφωσφορυλίωση των μεταγραφικών παραγόντων FoxO1 και FoxO3, με άμεση συνέπεια τη μεταφορά τους στον πυρήνα και την ενεργοποίηση των γονιδίων της αυτοφαγικής οδού.

Η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας και η πρωτεϊνοσύνθεση μεταβάλλονται κατά αντίθετο τρόπο. Παρουσία θρεπτικών συστατικών, πραγματοποιείται πρωτεϊνοσύνθεση και η αυτοφαγία καταστέλλεται, ενώ σε συνθήκες καταπόνησης σταματά η μετάφραση κι ενεργοποιείται η αυτοφαγία. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι οι παράγοντες έναρξης της μετάφρασης, όπως ο eIF4G1 (Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 1), που ενεργοποιούν ειδικά τη μετάφραση γονιδίων που ελέγχουν την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό, εμποδίζουν την επαγωγή της αυτοφαγίας καθοδικά του mTOR, ενώ σηματοδοτικά μονοπάτια που επάγουν μεταφραστική παύση, όπως η κινάση eEF-2 (Elongation

factor 2) και το σηματοδοτικό μονοπάτι της κινάσης eIF2 α , ρυθμίζουν θετικά την αυτοφαγία. Η φωσφορυλίωση της eIF2 α στη Ser51 είναι απαραίτητη για τη συνολική μεταφραστική παύση και την επιλεκτική ρύθμιση της σύνθεσης των μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο GCN4 που διεγείρουν τη μεταγραφή γονιδίων που διεγείρονται από τις συνθήκες ασιτίας. Τα θηλαστικά διαθέτουν τέσσερις γνωστές κινάσες eIF2 α που είναι οι GCN2 (general control nonderepressible-2), PKR (protein kinase R), PERK (Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase) και HRI (heme-regulated inhibitor). Αυτές ενεργοποιούνται από την έλλειψη αμινοξέων, από την ιογενείς λοιμώξεις, το ER στρες και τη στέρηση αίμης, αντίστοιχα. Τόσο στη ζύμη όσο και στους MEFs (Mouse embryonic fibroblasts), η φωσφορυλίωση της eIF2 α από την GCN2 απαιτείται για την επαγόμενη από ασιτία αυτοφαγία, ενώ στους MEFs, η PKR απαιτείται για την επαγόμενη από ιογενή λοίμωξη αυτοφαγία (He, Klionsky, 2009).

Συνοψίζοντας, τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι ο αντίκτυπος των πυρηνικών διεργασιών στην αυτοφαγία δεν περιορίζεται στη ρύθμιση των μεταγραφικών παραγόντων, αλλά περιλαμβάνει επίσης επιγενετικές τροποποιήσεις, microRNAs και την επιλεκτική μεταφορά των βασικών πρωτεϊνών της αυτοφαγίας μεταξύ πυρήνα και κυτταροπλάσματος (Füllgrabe et al., 2016).

p53 και αυτοφαγία

Η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που δρα σε μια ευρεία ομάδα γονιδίων-στόχων και ελέγχει την αυτοφαγία σε συνεκτίμηση με την ενεργειακή κατάσταση και τα ενεργοποιημένα μονοπάτια μεταγωγής σήματος του κυττάρου. Ο ρόλος της είναι διττός, καθώς ως μεταγραφικός παράγοντας λειτουργεί ως θετικός ρυθμιστής της αυτοφαγίας, ενώ όταν εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα ως αρνητικός ρυθμιστής.

Οι βλάβες στο επίπεδο του DNA επάγουν και σταθεροποιούν την p53, η οποία ενεργοποιεί τα ογκογονίδια ώστε να προκληθεί αναστολή του κυτταρικού κύκλου, επιφέροντας απόπτωση ή γήρανση. Οι δράσεις αυτές αποτελούν μια ασφαλιστική δικλείδα για την αντιμετώπιση της καρκινογένεσης. Υπό συνθήκες στρες, όπως η έλλειψη θρεπτικών συστατικών ή η υποξία, η p53 ενεργοποιεί την αυτοφαγία αναστέλλοντας την mTOR σηματοδότηση. Εναλλακτικά, η p53 που σταθεροποιείται

στον πυρήνα μπορεί να αλληλεπιδράσει με την ογκοκατασταλτική κινάση DAPK1 (Death Associated Protein Kinase 1), που με τη σειρά της θα φωσφορυλιώσει την Beclin-1 κι έτσι επάγεται η αυτοφαγία. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η p53 μπορεί να αναστείλει το σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων, αλλά οι συνθήκες στρες μπορούν επίσης να έχουν ως αποτέλεσμα την προαγωγή της αυτοφαγίας. Τα γονίδια-στόχοι της p53 διαδραματίζουν βασικούς και αντίθετους ρόλους στην επαγωγή ή αναστολή της αυτοφαγίας, όπως το γονίδιο DRAM (Damage-Regulated Autophagy Modulator), που κωδικοποιεί μια λυσοσωμική πρωτεΐνη που επάγει τη μακροαυτοφαγία και το TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) αντίστοιχα (Hu et al., 2019). Η πρωτεΐνη TIGAR ρυθμίζει την αυτοφαγία είτε για να προάγει την κυτταρική επιβίωση είτε για να συμβάλει στον κυτταρικό θάνατο σε διάφορα κυτταρικά περιβάλλοντα (Zhang et al., 2020). Η μοναδική θεμελιώδης πρωτεΐνη αυτοφαγίας που είναι γνωστό ότι αλληλεπιδρά με την p53 είναι η FIP200, η οποία είναι μια πολυλειτουργική πρωτεΐνη που υπάρχει στο σύμπλοκο ULK1 και παίζει ρόλο στον έλεγχο της κυτταρικής προσκόλλησης, της μετανάστευσης, του πολλαπλασιασμού και του κυτταρικού θανάτου (Gan and Guan, 2008). Όπως προαναφέρθηκε, στο κυτταρόπλασμα η p53 δρα ως αρνητικός ρυθμιστής και προκειμένου να ενεργοποιηθεί η αυτοφαγία απαιτείται η ενεργοποίηση της E3 λιγάσης Ub HDM2, που οδηγεί την p53 στα πρωτεασώματα για αποικοδόμηση.

Επιγενετική τροποποίηση

Οι επιγενετικές τροποποιήσεις επηρεάζουν την αυτοφαγική διεργασία ακόμη και σε παθολογικές καταστάσεις. Συγκεκριμένα, οι μεταβολές των επιπέδων της ακετυλίωσης των ιστονών που διενεργούνται από τις αποακετυλάσες των ιστονών HDACs είναι ένας βασικός μηχανισμός που ελέγχει τη δομική αναδιαμόρφωση της χρωματίνης και τη μεταγραφή των γονιδίων. Η χημική ή γενετική αναστολή των HDACs οδηγεί σε επαγωγή της αυτοφαγίας. Διάφοροι χημικοί αναστολείς των αποακετυλασών, συμπεριλαμβανομένου του βουτυρικού οξέος, προάγουν την υπερακετυλίωση των ιστονών και στοχεύουν ειδικά τα καρκινικά κύτταρα τόσο για αποπτωτικό όσο και για αυτοφαγικό κυτταρικό θάνατο, ανεξάρτητο από τις κασπάσες σε διάφορες κυτταρικές σειρές και ζωικά μοντέλα (He, Klionsky, 2009).

Έχουν επίσης αναφερθεί ειδικές μεταγραφικές επιδράσεις στα γονίδια Atg από την καταστολή των HDACs. Σε πνευμονικούς ιστούς που λαμβάνονται από ασθενείς καπνιστές με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, η αναστολή της δραστηριότητας της HDAC από εκχύλισμα καπνού τσιγάρου αυξάνει τη σύνδεση των μεταγραφικών παραγόντων Egr-1 (early growth response-1) και E2F στην περιοχή υποκινητή της LC3 και ενεργοποιεί την έκφραση της. Επιπλέον, η έκφραση της Atg4 εξαρτάται επίσης από τον Egr-1. Παρόλο που δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο τα υψηλότερα επίπεδα αυτοφαγίας λόγω αναστολής των HDACs να οφείλεται στη συνολική αναστολή του κυτταρικού κύκλου ή στις μη ειδικές επιδράσεις στη συνολική δομή του χρωμοσώματος, παρέχει έναν φαρμακολογικό στόχο ρύθμισης της αυτοφαγίας μέσω τροποποιητών των χρωμοσωμάτων στο πλαίσιο θεραπευτικής παρέμβασης (He, Klionsky, 2009).

Μετα-μεταφραστική ρύθμιση του μηχανισμού της αυτοφαγίας

Οι μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών Atg, που έχουν μελετηθεί διεξοδικά και είναι κρίσιμες για τη ρύθμιση της αυτοφαγικής δραστηριότητας είναι η φωσφορυλίωση και η ακετυλίωση (He, Klionsky, 2009).

Φωσφορυλίωση

Σε γενικές γραμμές, η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών εξυπηρετεί το σχηματισμό ενός σκελετού πάνω στον οποίο προσαρτώνται μετέπειτα κι άλλες πρωτεΐνες. Άμεσο παράδειγμα αποτελεί η φωσφορυλίωση του υποδοχέα υπεροξειδισωμάτων PpAtg30 κατά τη διάρκεια της πεξοφαγίας στη ζύμη *Pichia pastoris*. Μέσω των φωσφορυλιωμένων καταλοίπων, η PpAtg30 αλληλεπιδρά με άλλα συστατικά του μηχανισμού αυτοφαγίας, όπως η PpAtg11, κατευθύνοντας τα υπεροξειδισώματα για αυτοφαγική διάσπαση (He, Klionsky, 2009).

Από την άλλη πλευρά, η φωσφορυλίωση μπορεί επίσης να εξυπηρετεί τη στερεοχημική παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης πρωτεϊνών μεταξύ τους. Σε κύτταρα θηλαστικών ο αναστολέας της Beclin 1, η Bcl-2, φωσφορυλιώνεται σε τρία κατάλοιπα Thr69, Ser70 και Ser87 ως απόκριση στη λιμοκτονία, από την JNK1. Η υπερφωσφορυλιωμένη Bcl-2 διαχωρίζεται από την Beclin 1 και την απελευθερώνει για την επαγωγή της αυτοφαγίας, ενώ η Bcl-2, του ιού του σαρκώματος του έρπητα

Karosi, η οποία στερείται των καταλοίπων φωσφορυλίωσης, δεν μπορεί να διαχωριστεί από την Beclin 1 και συνεπώς αναστέλλει την αυτοφαγία. Επιπλέον, η φωσφορυλίωση της Beclin 1 στο κατάλοιπο Thr119 της BH3 περιοχής από την DAPK κινάση μειώνει επίσης την αλληλεπίδραση Bcl-2 και Beclin 1 και ενεργοποιεί την αυτοφαγία. Έτσι, η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών που σχετίζονται με την αυτοφαγία προσφέρει επιπρόσθετα επίπεδα ρύθμισης της αυτοφαγίας (He, Klionsky, 2009).

Ακετυλίωση

Η ακετυλίωση φαίνεται να στοχεύει τις πρωτεΐνες Atg, διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες, όπως τους μεταγραφικούς παράγοντες FOXO, και τις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες που απαιτούνται για την ενδοκυτταρική μεταφορά/μετακίνηση κατά την αυτοφαγία (Bánréti et al., 2013).

Έχει βρεθεί πως τόσο στα κύτταρα HeLa όσο και σε in vivo μελέτες, η ακετυλίωση των Atg5, Atg7, Atg8 και Atg12, πραγματοποιείται όταν υπάρχει επάρκεια θρεπτικών συστατικών, ενώ η αποακετυλίωσή τους κατά τη διάρκεια ασιτίας. Αντίστοιχα τα υπεύθυνα ένζυμα για την ακετυλίωση είναι η ακετυλοτρανσφεράση p300 και για την αποακετυλίωση κυρίως η αποακετυλάση Sirt1, μέλος της οικογένειας sirtuin. Έτσι, τα συστατικά του βασικού μηχανισμού της αυτοφαγίας αλληλεπιδρούν φυσικά με την p300 ή τη Sirt1. Η δράση των συγκεκριμένων ενζύμων καθορίζεται από τη διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών και στη συνέχεια επιφέρει μεταβολές στην κατάσταση ακετυλίωσης (He, Klionsky, 2009). Η έκφραση της Sirt1 ενεργοποιείται λόγω ασιτίας και προκαλεί την αποακετυλίωση του αυτοφαγικού μηχανισμού, στοιχείο που έχει συσχετισθεί με την παράταση της μακροζωίας. Επομένως, η άμεση αποακετυλίωση του μηχανισμού αυτοφαγίας από τη Sirt1 παρέχει μια σημαντική μηχανιστική σύνδεση μεταξύ της επαγωγής της αυτοφαγίας και της παράτασης της διάρκειας ζωής (He, Klionsky, 2009).

Η ακετυλίωση διαδραματίζει επίσης ρυθμιστικό ρόλο στην παθοφυσιολογία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών και του καρκίνου. Ο προσδιορισμός των μηχανισμών και των πρωτεϊνών που επηρεάζονται από την ακετυλίωση μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη οδό για τον ειδικό σχεδιασμό φαρμάκων και την ανάπτυξη εξειδικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων (Bánréti et al., 2013).

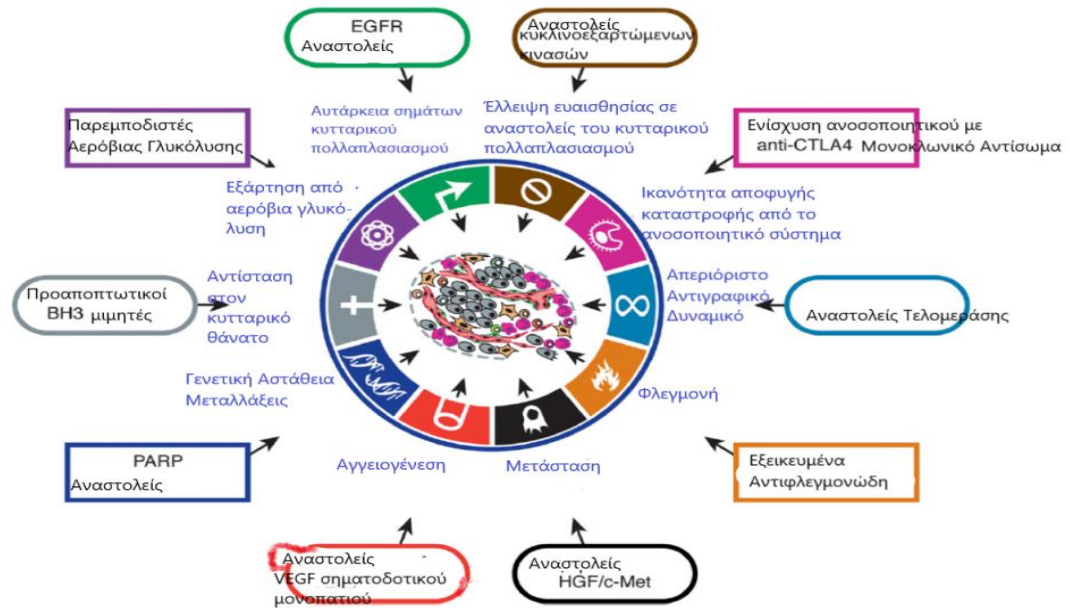
Κεφάλαιο 6: Αυτοφαγία και καρκίνος

Σύμφωνα με τους Weinberg και Hanahan, ορισμένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των καρκινικών κυττάρων είναι η ικανότητα να διαφεύγουν της απόπτωσης, να παρακάμπτουν τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα. Κάποια επιπλέον χαρακτηριστικά είναι η αγγειογένεση, οι αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις και η ανάγκη για εξειδικευμένους μεταβολίτες, που μπορούν να τους προμηθευτούν μέσω της αυτοφαγίας (Hanahan, Weinberg 2011).

Πρόσφατες ανακαλύψεις έχουν επισημάνει την απορρύθμιση της αυτοφαγίας ως ένα νέο χαρακτηριστικό παθογένειας των κακοηθών κυττάρων. Η αλληλεπίδραση αυτοφαγίας και κυτταρικού μεταβολισμού λαμβάνει χώρα σε πολλά διαφορετικά σημεία και περιλαμβάνει την επεξεργασία πρωτεϊνών κι οργανιδίων, την κυτταρική επιβίωση και άλλες λειτουργίες. Τα παραπάνω αποκαλύπτουν το δυναμικό και πολύπλοκο ρόλο της (Wen et al., 2020).

Η σχέση μεταξύ αυτοφαγίας και καρκίνου διαφοροποιείται ανάλογα με τον τύπο του όγκου, το στάδιο στο οποίο βρίσκεται και τον ιστό στον οποίο έχει αναπτυχθεί. Αυτή η σχέση αλληλεπίδρασης κυμαίνεται, από το να παρεμποδίζει τη δημιουργία όγκων μέχρι και το σημείο να υποθάλλει τα καρκινικά κύτταρα, συνεισφέροντας στην επιβίωσή τους. Τα σχετικά με την αυτοφαγία μόρια διαδραματίζουν διαφορετικούς ρόλους υπό διαφορετικές συνθήκες. Ουσιαστικά, η αυτοφαγία μπορεί να έχει ογκοκατασταλτική, ογκοπροωθητική ή ακόμη και ουδέτερη δράση, ανάλογα με το στάδιο (Wen et al., 2020).

Κοσμίδου Σοφία, Αυτοφαγία: Μηχανισμοί, Ρύθμιση και η σημασία της στην υγεία και στην ασθένεια

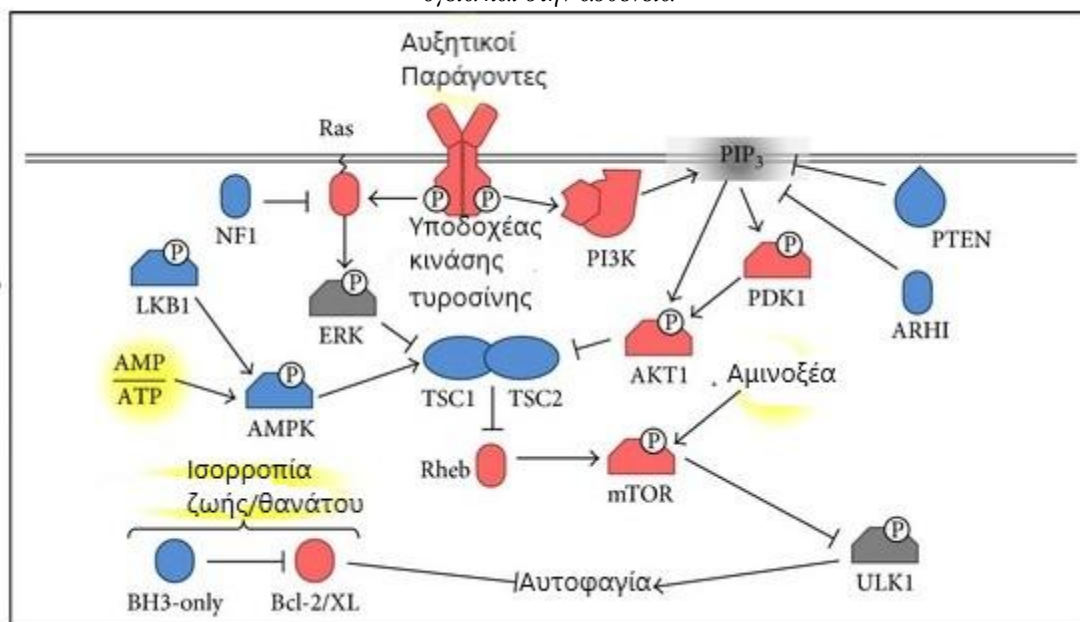


Εικόνα 14: Τα δέκα επίκτητα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των καρκινικών κυττάρων. Στα έγχρωμα πλαίσια υποδεικνύονται τα σχήματα θεραπευτικής αγωγής που παρεμποδίζουν την κάθε ιδιότητα αντίστοιχα (Hanahan, Weinberg 2011).

Ογκογονίδια, ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες και αυτοφαγία

Οι περισσότερες πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη ρύθμιση της αυτοφαγίας είναι είτε ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες είτε προϊόντα έκφρασης ογκογονιδίων, στοιχείο που δικαιολογεί το μεγάλο βαθμό επικάλυψης των σηματοδοτικών μονοπατιών του καρκίνου και της αυτοφαγίας. Έτσι, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια που ρυθμίζουν αρνητικά την mTOR, όπως PTEN, AMPK, LKB1 και TSC1/2 διεγείρουν την αυτοφαγία, ενώ, αντίθετα, τα ογκογονίδια που ενεργοποιούν την mTOR, όπως τα PI3K τάξης I, Ras, RHEB και AKT, αναστέλλουν την αυτοφαγία (Choi et al., 2013).

Επιπλέον, αξίζει να αναφερθεί η πρωτεϊνική κίνηση που συνδέεται με τον θάνατο DAPK, η οποία φωσφορυλιώνοντας την Beclin-1 διαταράσσει το σύμπλοκο Beclin-1/BCL-2 και ευνοεί την αυτοφαγία. Η DAPK συνήθως απενεργοποιείται μέσω μεθυλίωσης σε διάφορους τύπους καρκίνου (Huang et al., 2014).



Εικόνα 15: Απεικονίζεται η αναστολή της αυτοφαγίας από ογκογονίδια με κόκκινο χρώμα και η ενεργοποίηση από ογκοκατασταλτικούς παράγοντες με μπλε χρώμα (Ávalos et al., 2014).

Οι Bcl-2 και Bcl-XL αποτελούν αντι-αποπτωτικά μέλη της οικογένειας Bcl-2 που ρυθμίζουν τον κυτταρικό θάνατο με τρόπο ανεξάρτητο από την αυτοφαγία και υπερεκφράζονται σε ορισμένες αιματολογικές κακοήθειες. Εκεί, οι Bcl-2 και Bcl-XL καταστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο και προάγουν την επιβίωση και την ανάπτυξη του καρκινικών κυττάρων μέσω της καταστολής του εξαρτώμενου από την Bak/Bax σχηματισμού πόρων κατά τη διάτρηση της εξωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων (Galuzzi et al., 2012). Εκτός από το ρόλο των Bcl-2 και Bcl-XL στην αναστολή της απόπτωσης, έχουν επίσης εμπλακεί στην ογκογένεση ως αρνητικοί ρυθμιστές της αυτοφαγίας. Μπορεί αυτές οι πρωτεΐνες να μη συμμετέχουν άμεσα στη σηματοδότηση του μονοπατιού mTOR, όμως μπορούν να αλληλεπιδράσουν με την περιοχή BH3 της Beclin-1 και να τη δεσμεύσουν σε ένα ανενεργό σύμπλοκο στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Maiuri et al., 2007).

Η κινάση mTOR είναι ο κύριος αρνητικός ρυθμιστής της αυτοφαγίας (Morselli et al., 2009). Συμμετέχει σε πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη, κυρίως σε μεταγενέστερα στάδια των υποδοχέων αυξητικών παραγόντων. Η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων, όσο και οι ενεργοποιητικές

μεταλλάξεις των μεταγενέστερων στοιχείων αυτών των μονοπατιών (Ras, PI3-K, AKT και PDK-1) ή μεταλλάξεις που αδρανοποιούν τους αρνητικούς ρυθμιστές (TSC1/2, LKB1 και PTEN) είναι συχνές στην ανάπτυξη του καρκίνου. Πιθανότατα η αναστολή της αυτοφαγίας να συμβάλλει στην έναρξη της ογκογένεσης (Shaw et al., 2006).

Αυτοφαγία ως ογκοκατασταλτικός μηχανισμός

Οι πρώτες ενδείξεις πως η αυτοφαγία μπορεί να αποτρέψει το σχηματισμό όγκων εμφανίστηκαν για πρώτη φορά μέσω μελετών του γονιδίου Beclin 1, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 17q21 (Liang et al., 1999). Σύμφωνα με τους Liang et al., παρατηρήθηκε έλλειψη του ενός αλληλομόρφου στο 40-75% των περιστατικών καρκίνου του μαστού, των ωθηκών και του προστάτη. Επιπλέον, η έλλειψη του ενός αντιγράφου Beclin 1 οδήγησε στην ανάπτυξη αυθόρμητου λεμφώματος, ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα σε κύτταρα ποντικών. Επίσης έχει διαπιστωθεί σε διάφορους τύπους καρκίνου του εγκεφάλου χαμηλό επίπεδο έκφρασης της Beclin 1. Τα προαναφερθέντα δεδομένα αποκαλύπτουν την ογκοκατασταλτική δράση της Beclin 1 (Goldsmith et al., 2014).

Επιπλέον, έχουν αναγνωριστεί κι άλλα μόρια καταστολείς όγκων που αλληλεπιδρούν με την Beclin 1, όπως η πρωτεΐνη UVRAG, η οποία προάγει την αυτοφαγία. Μεταλλάξεις μετατόπισης αναγνωστικού πλαισίου στο τμήμα πολυαδενίνης του γονιδίου UVRAG, που επέφεραν μειωμένη αυτοφαγία έχουν εντοπιστεί σε καρκινώματα του πεπτικού συστήματος (Kim et al., 2008). Εκτός από την καλά χαρακτηρισμένη αλληλεπίδραση της ογκοπρωτεΐνης Bcl-2 με την Beclin 1, δύο άλλες ογκοπρωτεΐνες έχουν πιο πρόσφατα αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν μαζί της, οδηγώντας στην καταστολή της αυτοφαγίας και στην ογκογένεση. Η μεσολαβούμενη από την κινάση AKT (RAC- serine/threonine-protein kinase) φωσφορυλίωση της σερίνης της Beclin 1, ενισχύει την αλληλεπίδρασή της με τη βιμεντίνη και μειώνει την αυτοφαγία. Η εξάντληση της βιμεντίνης ή η έκφραση μιας μη φωσφορυλιώσιμης μεταλλαγμένης εκδοχής της Beclin 1 σε κύτταρα που υπερεκφράζουν την AKT, αυξάνει την αυτοφαγία και αναστέλλει τον μετασχηματισμό, ενισχύοντας την υπόθεση πως η αυτοφαγία καταστέλλει την έναρξη του όγκου σε κύτταρα που καθοδηγούνται από την AKT (Wang et al., 2012). Η EGFR-διαμεσολαβούμενη

φωσφορυλίωση τυροσίνης της Beclin 1 καταστέλλει το σχηματισμό του συμπλόκου προ-αυτοφαγίας Beclin 1/Vps34, το οποίο μπορεί να συμβάλει στην την εξέλιξη του όγκου και τη χημειοαντίσταση σε ξενομοσχεύματα μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα, που φέρουν ογκογόνες μεταλλάξεις EGFR (Wei et al., 2013).

Η δημιουργία knockout ποντικών για ορισμένα γονίδια Atg, έδειξε ότι οι βλάβες σε συγκεκριμένους ρυθμιστές της αυτοφαγίας σχετίζονται με την εμφάνιση καρκινικού φαινότυπου. Επειδή η συστηματική διαγραφή των Atg3, Atg5, Atg7, Atg9 ή Atg16L1 προκαλεί νεογνικό θάνατο (Goldsmith 2014), οι μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της αναστολής της αυτοφαγίας δεν θα μπορούσαν να εκτιμηθούν μέχρι να δημιουργηθούν ποντικοί με συστηματική μωσαϊκή διαγραφή της Atg5. Έτσι λοιπόν, βρέθηκε πως ποντίκια με συστηματική μωσαϊκή διαγραφή του Atg5 και ποντικοί με ομόζυγη έλλειψη του Atg7 σε ηπατικά κύτταρα ανέπτυξαν καλοήγη αδενώματα ήπατος (Takamura et al., 2011). Οι Mariño et al., διαπίστωσαν πως στους Atg4C knockout ποντικούς εμφανίζεται αυξημένη προδιάθεση για ινοσαρκώματα σε (Mariño et al., 2007). Η διαγραφή του Atg7 σε αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα ποντικών, οδήγησαν σε ένα σύνδρομο που μοιάζει με το ανθρώπινο μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο και την οξεία μυελοειδή λευχαιμία . Οι μεταλλάξεις μετατόπισης αναγνωστικού πλαισίου στα Atg2B, Atg5 και Atg9B έχουν αναφερθεί σε περιστατικά καρκίνου στομάχου και παχέος εντέρου. Προφανώς τα θεμελιώδη συστατικά του αυτοφαγικού μηχανισμού δρουν ταυτόχρονα και ως ογκοκαταστολείς στον άνθρωπο (Kang et al., 2009).

Απώλειες ή μεταλλάξεις στα γονίδια Atg ή Beclin 1 σχετίζονται με βλάβες στο DNA που με τη σειρά τους εντείνουν τη γενετική αστάθεια λόγω υποενεργοποιημένης αυτοφαγίας και διαταραχών του κυτταρικού μεταβολισμού. Η αθροιστική δράση όλων αυτών επιφέρει πρόοδο στην ανάπτυξη των καρκινικών όγκων. Τα βασικά επίπεδα της αυτοφαγίας βοηθούν στην πρόληψη μετάπτωσης των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά μέσω της αποικοδόμησης των κατεστραμμένων οργανιδίων και ειδικών πρωτεϊνών με δυνητικά ογκογόνο επίδραση. Συνεπώς απορρυθμίζεται η ισορροπία και ευνοείται ο ανεξέλεγκτος κυτταρικός πολλαπλασιασμός.

Σε διάφορους τύπους καρκίνου στον άνθρωπο έχουν εντοπιστεί υψηλά επίπεδα της p62/SQSTM1, ενός υποδοχέα αυτοφαγικού φορτίου που δρα ως πρωτεΐνη προσαρμογής ανάμεσα στην LC3 και των μορίων ουβικιτίνης των μη σωστά

αναδιπλωμένων πρωτεϊνών, λόγω μειωμένης αυτοφαγίας. Η συσσώρευση της p62/SQSTM1 εντείνει την καταπόνηση του κυττάρου λόγω ER στρες (Goldsmith et al., 2014).

Σε Atg7^{-/-} ποντίκια με ταυτόχρονη διαγραφή του p62 (Takamura et al., 2011) παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους του ηπατικού όγκου. Οι Inami et al., διαπίστωσαν πως η γονιδιακή στόχευση του p62 σταματά την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων στον άνθρωπο (Inami et al., 2011). Σύμφωνα με τους Duran et al., τα p62^{-/-} ποντίκια αποτυγχάνουν να αναπτύξουν καρκινώματα του πνεύμονα που προκαλούνται από Ras μεταλλάξεις (Duran et al., 2008). Στα KRas καρκινικά κύτταρα, η p62 απορρυθμίζει τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος Nrf2 και NF-κB, που διεγείρουν τις προαγγειογενετικές και προφλεγμονώδεις αποκρίσεις, αντίστοιχα, συμβάλλοντας έτσι στην επιθετική εξέλιξη του όγκου. Επομένως, η αυξημένη αυτοφαγία ενισχύει την αποικοδόμηση της p62, οδηγώντας σε μειωμένες αγγειογενετικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις (Goldsmith et al., 2014).

Ειδικότερα, το μονοπάτι Nrf2, έχει ενοχοποιηθεί ως μονοπάτι επιβίωσης σε μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα. Ο μεταγραφικός παράγοντας Nrf2 (Nuclear factor erythroid2-related factor 2), ρυθμίζει την έκφραση ενός ευρέος φάσματος γονιδίων που προάγουν την αγγειογένεση και διευκολύνουν την επιβίωση των κυττάρων. Υπό φυσιολογικές συνθήκες η Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) ουβικιτινιώνει τον Nrf2, με αποτέλεσμα την αποικοδόμησή του. Τα συσσωρευμένα μόρια p62/SQSTM1 δεσμεύουν άμεσα την Keap1 σε κύτταρα με ανεπάρκεια αυτοφαγίας, διαταράσσοντας την αποικοδόμηση του Nrf2 και προάγοντας την μεταγραφή των γονιδιακών του στόχων (Komatsu et al., 2010). Συνεπώς, η δυσλειτουργική ρύθμιση του Nrf2 σε κύτταρα με ανεπάρκεια αυτοφαγίας μπορεί να αποτελεί μια σημαντική δίοδο επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων.

Το μικροπεριβάλλον του όγκου χαρακτηρίζεται από πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων κυτταρικών τύπων που συνυπάρχουν εντός του, όπως τα ίδια κύτταρα του όγκου και αυτά του στρώματος. Η μεταξύ τους αλληλεπίδραση καθορίζει την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου (Goldsmith et al., 2014).

Η αυτοφαγία βοηθά στην προσαρμογή των καρκινικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της υποξίας και του μεταβολικού στρες, προάγοντας την επιβίωσή τους κι αναστέλλοντας τη νέκρωση. Στους συμπαγείς όγκους, ο νεκρωτικός κυτταρικός

θάνατος προκαλεί διήθηση των μακροφάγων, παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και όπως είναι γνωστό η χρόνια φλεγμονή ευνοεί την εξέλιξη του καρκίνου. Έτσι, η αυτοφαγία περιορίζοντας τη νέκρωση, μπορεί να καταστείλει την ανάπτυξη του όγκου, εμποδίζοντας τη διήθηση των λευκοκυττάρων του πρωτογενούς όγκου. Πράγματι, αυτή η ιδιότητα της αυτοφαγίας να περιορίζει τη νέκρωση, απέτρεψε τη φλεγμονή και ανέστειλε την πρωτογενή ανάπτυξη του όγκου σε κύτταρα ανθεκτικά στην απόπτωση. Η αυτοφαγία μπορεί να επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να επιβιώνουν σιωπηλά, αλλά διευκολύνει το πέρασμα στην κυτταρική γήρανση, περιορίζει τον πολλαπλασιασμό και καταστέλλει συνολικά τα την ανάπτυξη του όγκου (Goldsmith et al., 2014).

Ο αριθμός των μιτοχονδρίων μπορεί έμμεσα ρυθμίζει την εξέλιξη του όγκου, καθώς στα μιτοχόνδρια παράγονται τα ROS, που μπορούν να υποθάλψουν την εξέλιξη του όγκου λόγω βλαβών στις πρωτεΐνες ή στο DNA προκαλώντας χρωμοσωμική αστάθεια (Ishikawa et al., 2008). Ως απόκριση στα ROS, ενεργοποιείται η μιτοφαγία για την απομάκρυνση των ελλαττωματικών μιτοχονδρίων. Η αυξημένη παραγωγή των ROS, που οφείλεται στους υψηλούς μεταβολικούς ρυθμούς, προκαλεί βλάβες στα μιτοχόνδρια, κι αυξημένο μεταβολικό στρες. Κατά συνέπεια, σε κύτταρα με χαμηλή αυτοφαγική δραστηριότητα, το αυξημένο μεταβολικό στρες προκαλεί περισσότερες βλάβες στο DNA, αυξημένη γονιδιωματική αστάθεια και εντονότερη συσσώρευση κατεστραμμένων μιτοχονδρίων από ό,τι στα κύτταρα ελέγχου που είναι άγριου τύπου (Mathew et al., 2009). Η αποικοδόμηση των κατεστραμμένων μιτοχονδρίων μέσω της μιτοφαγίας κι ο συνεπακόλουθος έλεγχος των ενδοκυτταρικών επιπέδων ROS δημιουργεί εμπόδιο στην εξέλιξη της ογκογένεσης.

Αυτοφαγία ως ογκογενής μηχανισμός

Αν και τα μειωμένα επίπεδα αυτοφαγίας οδηγούν στην ανάπτυξη όγκων, από την άλλη πλευρά η ίδια η διεργασία προσφέρει στα καρκινικά κύτταρα την ευκαιρία να προσαρμοστούν και να αντιμετωπίσουν τα διάφορα ερεθίσματα κυτταρικού στρες, με τα οποία έρχονται αντιμέτωπα. Προφανώς, ένα βασικό επίπεδο αυτοφαγίας είναι απαραίτητο για την επιβίωση (Kenific et al., 2015).

Οι Ras GTPάσες αποτελούν μέρος σηματοδοτικών μονοπατιών, που προάγουν τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων. Μεταλλάξεις που ενεργοποιούν το

γονίδια RAS οδηγούν σε αυξημένη αυτοφαγία. Στο αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου, όπου οι ενεργοποιητικές μεταλλάξεις KRAS είναι παρούσες σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90% των όγκων, διαπιστώνεται αυξημένη αυτοφαγία τόσο σε πρωτογενείς όγκους PDAC (Pancreatic ductal adenocarcinoma) όσο και σε κυτταρικές σειρές. Η γενετική αναστολή της αυτοφαγίας σε κύτταρα PDAC αποτρέπει ισχυρά τον πολλαπλασιασμό τους *in vitro*, προκαλεί διακοπή της εξέλιξης του όγκου και προσδίδει παρατεταμένη επιβίωση στα γενετικά μοντέλα ποντικών με ξενομοσχεύματα καρκίνου του παγκρέατος (Yang et al., 2011). Η ενεργοποίηση του γονιδίου RAS επιφέρει βασικές τροποποιήσεις του μεταβολισμού, για την παραγωγή ενέργειας και τη βιοσύνθεση των μακρομορίων που απαιτούνται για τον ταχύ πολλαπλασιασμό. Τα παραπάνω συνηγορούν στο ότι η αυτοφαγία κυριαρχεί στο μεταβολισμό των καρκινικών μέσω RAS μετασχηματισμένων κυττάρων. Παράλληλα, η απώλεια της αυτοφαγίας κατά τη διάρκεια μετασχηματισμού μέσω RAS συνδέεται με μειωμένη κατανάλωση οξυγόνου από τα μιτοχόνδρια και χαμηλά επίπεδα ενδιάμεσων προϊόντων του κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων (Yang et al., 2011).

Αυτή η απαίτηση της αυτοφαγίας για τη διατήρηση του οξειδωτικού μεταβολισμού των μιτοχονδρίων των RAS όγκων, υποδεικνύει ότι τα αποτελέσματα της αυτοφαγίας δεν περιορίζονται σε λειτουργίες επιβίωσης. Αντίθετα, η αυτοφαγία συμβάλλει στη μεταβολική προσαρμογή ολόκληρου του όγκου. Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτή η απαίτηση για αυτοφαγία μπορεί να εξαρτάται από τα ογκογονίδια, καθώς η αυτοφαγία έχει αποδειχθεί να περιορίζει, αντί να προωθεί, τον πολλαπλασιασμό που οδηγείται από το ογκογόνο μονοπάτι μεταγωγής σήματος PI3K σε τρισδιάστατο μοντέλο καλλιέργειας μαστού (Chen et al., 2013).

Πολλοί όγκοι χρησιμοποιούν κατά προτίμηση την αερόβια γλυκόλυση, η οποία επιτρέπει τη σύνθεση μεταβολικών ενδιάμεσων προϊόντων, που απαιτούνται για τον αναβολισμό. Στα καρκινικά κύτταρα η διαμεσολαβούμενη από μοριακούς συνοδούς αυτοφαγία και η επιλεκτική μακροαυτοφαγία, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προτίμηση της αερόβιας γλυκόλυσης. Αυτός ο τύπος αυτοφαγίας, έχει βρεθεί να πραγματοποιείται σε εντονότερο ρυθμό στους διάφορους τύπους όγκων. Στα καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του όγκου και την μετάσταση, ενώ η αναστολή της μειώνει το ρυθμό της γλυκόλυσης που απαιτείται για την ανάπτυξη. Πιο ειδικά, ρυθμίζει τα επίπεδα του ενζύμου PKM2, το οποίο

συσχετίζεται με διάφορους τύπους όγκων και ιδιαίτερα το γλοιοβλάστωμα. Η ισομορφή PKM2 της κινάσης του πυροσταφυλικού είναι πιο αργή στη μετατροπή του φωσφοενολπυροσταφυλικού σε πυροσταφυλικού από την ισομορφή M1 και αυτό προκαλεί συσσώρευση γλυκολυτικών ενδιάμεσων προϊόντων. Η συσσώρευση αυτή, ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και προωθεί παράπλευρες βιοσυνθετικές αντιδράσεις της γλυκολυτικής οδού (Goldsmith et al., 2014).

Η διαμεσολαβούμενη από μοριακούς συνοδούς αυτοφαγία μπορεί να αποικοδομήσει επιλεκτικά την ισομορφή 2 της πυροσταφυλικής κινάσης (PKM2), ρυθμίζοντας έτσι τα επίπεδα της 6-φωσφορικής γλυκόζης και της 1,6-διφωσφορικής φρουκτόζης καθώς και τα επίπεδα του ATP. Τα ολιγομερή της PKM2 απαντώνται είτε ως τετραμερή υψηλής δραστηριότητας είτε ως διμερή χαμηλής δραστηριότητας. Η διμερής PKM2 ελέγχει το βήμα της γλυκόλυσης που μετατοπίζει τον μεταβολισμό της γλυκόζης από την κανονική αναπνευστική αλυσίδα στην παραγωγή γαλακτικού οξέος στα καρκινικά κύτταρα. Εκτός από το ρόλο της ως ρυθμιστή του μεταβολισμού, δρα επίσης ως κινάση πρωτεϊνών, η οποία συμβάλλει στην καρκινογένεση. Πρόσφατα, η ειδική αποικοδόμηση της PKM2 αποδείχθηκε πως οδηγεί σε αυξημένο σχηματισμό όγκων μαστού που καθοδηγούνται από τη διαγραφή του Bcr-1, γεγονός που συνάδει με τη διαπίστωση ότι τα καρκινικά κύτταρα προτιμούν χαμηλή δραστηριότητα του συγκεκριμένου ενζύμου. Ως εκ τούτου, η αποικοδόμηση της PKM2 προωθεί την εξέλιξη του όγκου (Goldsmith et al., 2014).

Ο αριθμός των μιτοχονδρίων ρυθμίζει επίσης τη στροφή προς τον αναερόβιο μεταβολισμό. Τα κύτταρα μελανώματος με μετάλλαξη στο γονίδιο BRAF(B-Raf Proto-Oncogene) μειώνουν τον ρυθμό βιογένεσης μιτοχονδρίων και μεταβαίνουν από την οξειδωτική φωσφορυλίωση στη γλυκόλυση. Εάν η μιτοφαγία ενεργοποιηθεί, ο μειωμένος αριθμός μιτοχονδρίων μετατοπίζει τα κύτταρα στη γλυκόλυση. Η πρωτεΐνη RCAN1-1L (regulator of calcineurin 1-1L), της οποίας η έκφραση αυξάνεται ως απόκριση στο οξειδωτικό στρες, μπορεί να ενεργοποιήσει τον πόρο mPTP (mitochondrial permeability transition pore) και να μειώσει τα επίπεδα ATP. Αυτό αναστέλλει τη σηματοδότηση mTOR μέσω της AMPK, με αποτέλεσμα την αύξηση της μιτοφαγίας και τη μετάβαση στη γλυκόλυση. Παράλληλα, η αυτοφαγία διευκολύνει την πρόσληψη γλυκόζης και τη γλυκολυτική ροή στα μετασχηματισμένα

RAS κύτταρα, η οποία απαιτείται για τον ανεξάρτητο από την προσκόλληση πολλαπλασιασμό (Lock & Debnath, 2011- Lock et al., 2011).

Εκτός από τη γλυκόζη, τα αμινοξέα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των όγκων. Στη ζύμη, η αυτοφαγική διάσπαση των πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της ασιτίας δημιουργεί αποθέματα αμινοξέων ζωτικής σημασίας για την επιβίωση. Τα αμινοξέα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διατήρηση της βιοσυνθετικής ικανότητας σε ταχέως διαιρούμενα καρκινικά κύτταρα. Η γλουταμίνη, το πιο άφθονο αμινοξύ στα κύτταρα των θηλαστικών, είναι σημαντικό στην εξέλιξη του καρκίνου ως μεταβολικό ενδιάμεσο προϊόν (Goldsmith et al., 2014).

Καθώς αυξάνονται οι γλυκολυτικοί ρυθμοί, τα καρκινικά κύτταρα βασίζονται όλο και περισσότερο στη γλουταμίνη για να αναπληρώνουν τον κύκλο των τρικαρβοξυλικών οξέων και να παράγουν ATP. Στον καρκίνο του παγκρέατος, η γλουταμίνη τροφοδοτεί τη γλουταμινόλυση, μέσω του κύκλου των Τρικαρβοξυλικών Οξέων, για την παραγωγή NADPH, τη διατήρηση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού και για να παρέχει τους απαραίτητους μεταβολίτες. Στον άγριο τύπο MEF, η απώλεια της αυτοφαγίας μειώνει τα επίπεδα γλουταμίνης και μιμείται τις μεταβολικές αλλαγές που σχετίζονται με την εξάντληση γλουταμίνης. Έτσι φαίνεται πως η αυτοφαγία συμβάλλει στη διατήρηση της ενδοκυτταρικών αποθεμάτων γλουταμίνης. Ωστόσο, στην ίδια μελέτη, η στέρηση του αμινοξέος, δεν αύξησε τα επίπεδα της αυτοφαγίας και μειώθηκαν τα επίπεδα mRNA της Atg5. Επομένως, ο τρόπος με τον οποίο η αυτοφαγία μπορεί να αυξήσει συγκεκριμένα αμινοξέα κατά τη διάρκεια της ασιτίας παραμένει να καθοριστεί (Goldsmith et al., 2014).

Μια ακόμη μεταβολική προσαρμογή των καρκινικών κυττάρων αφορά το μεταβολισμό των λιπιδίων. Τα καρκινικά κύτταρα επανενεργοποιούν de novo τη σύνθεση λιπιδίων. Η ATP-κιτρική λύαση απαιτείται για το μετασχηματισμό in vitro, ενώ η σύνθεση χοληστερόλης στον καρκίνο του προστάτη είναι αυξημένη και η οξείδωση των λιπαρών οξέων είναι μια σημαντική πηγή ενέργειας για το συγκεκριμένο τύπο καρκίνου. Η λιποφαγία είναι σημαντική για την αποικοδόμηση των σταγονιδίων λιπιδίων στον λιπώδη ιστό (Singh & Cuervo, 2012) και η αυτοφαγία ρυθμίζει τον μεταβολισμό των λιπιδίων στα ηπατοκύτταρα, καθώς η υδρόλυση των τριγλυκεριδίων είναι μειωμένη στα κύτταρα Atg5^{-/-}. Το ερώτημα εάν αυτές οι

διεργασίες επηρεάζουν τον μεταβολισμό των λιπιδίων του όγκου απαιτούν περαιτέρω μελέτη.

Επίσης, η αυτοφαγία επηρεάζει το μεταβολισμό των λιπιδίων μεταβάλλοντας τον αριθμό των μιτοχονδρίων. Κύτταρα με διαγραφή/έλλειψη του Atg7, p53 μεταλλαγμένα κύτταρα σε ένα KRAS-μοντέλο χαρακτηρίζονται από ενδοκυτταρική συσσώρευση λιπιδίων, λόγω πολλών δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων που καθιστά προβληματική την οξειδωση των λιπαρών οξέων. Συνεπώς, είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση του μεταβολισμού των λιπιδίων στα KRAS και στα p53 μεταλλαγμένα κύτταρα. Αυτό εμποδίζει την αποτελεσματική ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και τα μετατρέπει σε κύστεις λιπιδίων αντί για όγκους (Guo et al., 2013).

Τέλος φαίνεται πως η αυτοφαγία παρατείνει την επιβίωση των κυττάρων των πρωτογενών όγκων και διευκολύνει τη μετάσταση τους, κατά τη διάρκεια οξειδωτικού και μεταβολικού στρες. Στα κύτταρα μελανώματος, που καθοδηγούνται από το Ras, η απομάκρυνση της λευκίνης δεν επάγει την αυτοφαγία στον ίδιο βαθμό όπως στα μη μετασχηματισμένα, αθάνατα μελανοκύτταρα. Η ανώμαλη ενεργοποίηση του mTOR μέσω του Ras, αποτρέπει την επαγωγή της αυτοφαγίας και τα κύτταρα ευαισθητοποιούνται στην απόπτωση, πιθανώς επειδή η μετάφραση συνεχίζεται παρόλο που η χαμένη λευκίνη δεν ανακυκλώνεται ενδοκυτταρικά. Μετά την απομάκρυνση των αυξητικών παραγόντων, η αυτοφαγία είναι απαραίτητη για την επιβίωση σε αιμοποιητικά κύτταρα ανθεκτικά στην απόπτωση και παρατείνει τη βιωσιμότητα για αρκετές εβδομάδες. Τα κύτταρα που στερούνται IL3 γίνονται λιγότερο γλυκολυτικά και χρησιμοποιούν την αυτοφαγία ως καταβολικό μονοπάτι προκειμένου να διατηρήσουν τη μιτοχονδριακή αναπνοή και τα επίπεδα ATP (Goldsmith et al., 2014).

Η υπερενεργοποιημένη αυτοφαγία, που ρυθμίζεται μέσω του PI3K/AKT/mTOR, βοηθά στην επιβίωση των καρκινικών κυττάρων παρά το όξινο περιβάλλον, που οφείλεται στη γλυκόλυση. Η αυτοφαγία αποτρέπει επίσης τον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου είτε εξαιτίας της υπερπαραγωγής πρωτεϊνών, όπως αυτή που προκαλείται από ογκογονίδια, είτε εξαιτίας της αύξησης των επιπέδων των μη σωστά αναδιπλωμένων πρωτεϊνών.

Πράγματι, οι Μυε όγκοι έχουν αυξημένη κυτταρική ανάπτυξη, ER στρες και μεταβολικό ρυθμό. Στα καθοδηγούμενα από Μυε λεμφώματα, η αναστολή της αυτοφαγίας προάγει την απόπτωση και ενισχύονται τα θεραπευτικά αποτελέσματα (Goldsmith et al., 2014).

Αυτοφαγία στο στρώμα του όγκου

Το όξινο, υποοξικό ή φτωχό σε θρεπτικά συστατικά περιβάλλον ενεργοποιεί την αυτοφαγία και στα στρωματικά κύτταρα του όγκου, συνεισφέροντας στην ανάπτυξή του. Ενώ η επαγόμενη από την αυτοφαγία γήρανση στα καρκινικά κύτταρα περιορίζει την ανάπτυξη, η επαγόμενη από την αυτοφαγία γήρανση στο στρώμα του όγκου μπορεί να προάγει τον κα

ρκίνο ενισχύοντας τον εκκριτικό φαινότυπο Senescence Associated Secretion Phenotype και την έκκριση αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών που ενισχύουν την εξέλιξή του. Η αυτοφαγία στους ινοβλάστες CAFs (Cancer Associated Fibroblasts) μπορεί να τροφοδοτεί άμεσα τα καρκινικά κύτταρα. Οι αυτοφαγικά γηρασμένοι CAFs απελευθερώνουν μεταβολίτες όπως η γλουταμίνη, κετονικά σώματα και γλυκολυτικά ενδιάμεσα προϊόντα, διευκολύνοντας τη μετάβαση στα επόμενα στάδια της ογκογένεσης. Τα παραπάνω στοιχεία καταδεικνύουν πως η αυτοφαγία στο στρώμα του όγκου είναι σημαντική για την ανάπτυξή του (Goldsmith 2014).

Αυτοφαγία και μετάσταση

Η αυτοφαγία συμμετέχει στη μετάσταση και τη διεργασία της κυτταρικής εισβολής. Ως μετάσταση, ορίζεται η διαδικασία με την οποία τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται σε διαφορετικές περιοχές του σώματος, πέρα από το σημείο δημιουργίας του πρωτογενούς όγκου. Τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν πρόσβαση στο αγγειακό σύστημα και υπερβαίνουν τα πιθανά προβλήματα λόγω που σχετίζονται με την ανάπτυξη σε ένα ξένο μικροπεριβάλλον. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, η μετάσταση αποτελεί την κύρια αιτία θνησιμότητας, επειδή υπάρχουν περιορισμένα θεραπευτικά σχήματα για μεταστατικές νόσους. Ενδιαφέρον στοιχείο πως η αυτοφαγία επιδρά στους φαινότυπους των κυττάρων, προσδίδοντάς τους αντίσταση στον τύπο κυτταρικού θανάτου-anoikis ή ανοικία (Kenific et al., 2014).

Αυτοφαγία και αντίσταση στον τύπο κυτταρικού θανάτου Ανοικία ή Aνοikis

όλις τα καρκινικά κύτταρα εισέλθουν στο κυκλοφορικό σύστημα, η αποκόλλησή τους από την εξωκυττάρια ουσία (ExtraCellular Matrix) οδηγεί στην ανοικis ή ανοικία (άνοικος-δίχως σπίτι), μια μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Ταυτόχρονα με την αποκόλληση, το οξειδωτικό στρες ενεργοποιεί το μονοπατι σηματοδότησης EIF2AK3/PERK, το οποίο επάγει την αυτοφαγία μέσω της ενίσχυσης της έκφρασης ορισμένων βασικών γονιδίων Atg, της ενεργοποίησης της κινάσης AMPK και της αναστολής του συμπλόκου mTORC1. Η μείωση της μεταγωγής σήματος ιντεγκρίνης συμβάλλει επίσης στην επαγωγή της αυτοφαγίας, που προστατεύει το κύτταρο από αυτόν τον τύπο θανάτου λόγω της αποκόλλησης από την ECM (Lei, Klionsky, 2021).

Κατά τη διάρκεια του ανοικis, η Bcl2L11/Bim, μια προαποπτωτική πρωτεΐνη της οικογένειας Bcl-2, μετατοπίζεται στα μιτοχόνδρια και προωθεί τη συγκρότηση των ολιγομερών Bax-Bak για την επαγωγή της απόπτωσης. Η Bcl2L11/Bim μπορεί να σχηματίσει σύμπλοκο με τη Becn1. Επομένως, κατά την επαγωγή της αυτοφαγίας, τα αυξανόμενα επίπεδα της Becn1 μπορούν να δεσμεύσουν τη Bcl2L11 από τα μιτοχόνδρια, σταματώντας έτσι τον κυτταρικό θάνατο. Πέρα από την άμεση αλληλεπίδραση με αυτές τις πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-2, η αυτοφαγία μπορεί να αναστείλλει έμμεσα αυτόν τον τύπο κυτταρικού θανάτου. Η MAPK1 (mitogen-activated protein kinase 1) είναι κρίσιμη για την πρόληψη της απόπτωσης και η αυτοφαγία μπορεί να ενεργοποιήσει το μονοπάτι σηματοδότησης MAPK1, οπότε επιβιώνουν τα κύτταρα (Lei, Klionsky, 2021).

Τα φυσιολογικά κύτταρα χρειάζονται αυξητικούς παράγοντες και κυτοκίνες για να επιβιώσουν, όμως τα καρκινικά κύτταρα διαφεύγουν της ανοικίας και καταφέρνουν να επιβιώσουν δίχως να προσκολληθούν. Η ανθεκτικότητα ή η αναισθησία στην ανοικία προσφέρει στα καρκινικά κύτταρα την ευκαιρία όχι μόνο να επιβιώσουν αλλά και να πολλαπλασιάζονται και να εξαπλώνονται σε διάφορους ιστούς. Προκειμένου να μεταβούν τα καρκινικά κύτταρα στο στάδιο της μετάστασης, θα πρέπει αρχικά να επιβιώσουν λόγω της αποκόλλησης από την ECM, να παρακάμψουν την απόπτωση και να ενεργοποιήσουν διάφορους μηχανισμούς επιβίωσης. Σε όλα αυτά τα στάδια σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν τα μόρια των ιντεγκρινών, που σε συνεργασία με διάφορα συστατικά της ECM σχηματίζουν διάφορα σύμπλοκα προσκόλλησης (Θωμόπουλος 2014).

Αυτοφαγία και καρκινικά βλαστικά κύτταρα

Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα, CSC ή Cancer Stem Cells, αποτελούν μια υποομάδα καρκινικών κυττάρων, που χάρη στην ικανότητα αυτοανανέωσης και μετανάστευσης σε απομακρυσμένους ιστούς που διαθέτουν, συμμετέχουν στη διαδικασία της μετάστασης. Η αυτοφαγία είναι σημαντική για την επιβίωση αυτών των κυττάρων, ενώ ταυτόχρονα ενισχύει την τάση τους για αυτοανανέωση και πολλαπλασιασμό. Ο αρχικός πληθυσμός των CSC είναι περιορισμένος στην αρχή της καρκινογένεσης, όμως σταδιακά αποτελεί τον κυρίαρχο πληθυσμό όσο εξελίσσεται η νόσος αυτοφαγία (Lei, Klionsky, 2021).

Η κυτοκίνη IL17 (interleukin 17) αποδείχθηκε ότι υπερεκφράζεται στον ιστό του καρκίνου του μαστού και αποτελεί δυσοίωνο εύρημα για την επιβίωση των ασθενών, ενώ μια πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι η IL17 επάγει τον σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων σε CSCs του καρκίνου του στομάχου. Αντίθετα, η παρεμπόδιση της αυτοφαγίας μέσω διαγραφής του γονιδίου Atg7, περιορίζει την επαγόμενη από την IL17B αυτοανανέωση. Πρόσθετα στοιχεία που μαρτυρούν τον υποστηρικτικό ρόλο της αυτοφαγίας είναι τα εξής: i) στον καρκίνο του μαστού, η αυτοφαγία οδηγεί στην αύξηση της έκκρισης της κυτοκίνης IL6, η οποία είναι σημαντική για τη διατήρηση της βλαστικότητας, ii) στα γαστρικά CSC η έκφραση του FoxA2 διατηρείται σε υψηλά επίπεδα από την αυτοφαγία. Η υπερέκφραση του FoxA2 όταν αναστέλλεται η αυτοφαγία, διαφυλάσσει τη μειωμένη ικανότητα αυτοανανέωσης τους (Lei, Klionsky, 2021).

Συμπερασματικά, προκύπτει πως το όριο μεταξύ των αντίθετων λειτουργιών της αυτοφαγίας δεν είναι απόλυτο ή αυστηρό, αλλά πολύπλευρο και εξαρτάται από τη λεπτή ρύθμιση των κυτταρικών σημάτων επιβίωσης ή θανάτου. Τόσο η υπερενεργοποίηση όσο και η υποενεργοποίηση της αυτοφαγίας συμβάλλουν στην ογκογένεση. Ο ρόλος της αυτοφαγίας στα φυσιολογικά κύτταρα είναι υπέρ της ομοιόστασής τους, να αποτρέπει το θάνατό τους και να παρεμποδίζει την εξαλλαγή τους σε καρκινικά. Όμως από τη στιγμή που θα σχηματιστούν οι όγκοι, τότε συμμετέχει στην καθιέρωση και ανάπτυξή τους.

Κεφάλαιο 7: Αυτοφαγία και Ασθένειες

Αυτοφαγία και Νευροεκφυλιστικές Ασθένειες

Στη νόσο του Πάρκινσον, οι διεργασίες απομάκρυνσης των μη σωστά αναδιπλωμένων πρωτεϊνών δυσλειτουργούν με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται. Η απομάκρυνση των ακατάλληλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών στα υγιή κύτταρα διαμεσολαβείται κυρίως μέσω της οδού της ουβικιτίνης ή της αυτοφαγικής οδού. Μεταλλάξεις σε έξι γονίδια έχουν ανιχνευθεί και συγκεκριμένα, στο γονίδιο της α-συνουκλεΐνης (SNCA), γλυκοσερεβροσίδης (GBA), Parkin (PARK2), PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1), leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) και DJ1, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την πρόιμη εμφάνιση της νόσου (Alcalay et al., 2010).

Νόσος Πάρκινσον

Η νόσος Πάρκινσον χαρακτηρίζεται από την προοδευτική απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων, η οποία συνοδεύεται από τη συσσώρευση SNCA/α-συνουκλεΐνης με τη μορφή σωματίων Lewy. Τα σωματία αυτά αποτελούνται από μια αδιάλυτη συσσωρευμένη πρωτεΐνη που ονομάζεται α-συνουκλεΐνη, η οποία αποικοδομείται μέσω της CMA. Η νόσος χαρακτηρίζεται από την αδυναμία των λυσοσωμάτων να προσλάβουν τη μεταλλαγμένη α-συνουκλεΐνη λόγω της πολύ υψηλής συγγένειας του LAMP-2A, ενός λυσοσωματικού υποδοχέα (Cuervo et al., 2004).

Η SNCA περιέχει ένα μοτίβο KFERQ, που αναγνωρίζεται από τον υποδοχέα LAMP2A, τη μοριακή συνοδό HSC70 κι εν τέλει αποικοδομείται μέσω της CMA. Οι μεταλλαγμένες μορφές της SNCA μπορούν να συνδεθούν με τον υποδοχέα LAMP2A και η ενίσχυση της CMA μειώνει τα επίπεδα της SNCA, προστατεύοντας τα κύτταρα από τη νευροτοξικότητα που προκαλείται από την SNCA αγρίου τύπου (Xilouri et al., 2013).

Αρχικά, η μεταλλαγμένη SNCA που σχετίζεται με τη νόσο, αποικοδομείται από την CMA λιγότερο αποτελεσματικά, επειδή δεσμεύεται στο λυσόσωμα αλλά δεν μπορεί να μετακινηθεί στο εσωτερικό των λυσοσωμάτων, γεγονός που, ταυτόχρονα, αναστέλλει την αποικοδόμηση άλλων φορτίων της CMA και αυξάνει την κυτταρική τοξικότητα (Xilouri et al., 2009). Δεύτερον, το επίπεδο έκφρασης βασικών πρωτεϊνών

CMA, όπως οι LAMP2A και HSPA8, μειώνεται σημαντικά στους εγκεφάλους ασθενών με τη νόσο.

Νόσος Alzheimer

Η νόσος Αλτσχάιμερ είναι μια προοδευτική νευροεκφυλιστική νόσος που χαρακτηρίζεται από γνωστική εξασθένηση και απώλεια μνήμης. Στους ασθενείς εμφανίζεται συνήθως συσσώρευση πρωτεϊνών, όπως β-αμυλοειδούς και υπερφωσφορυλιωμένης MAPT, πρωτεΐνης tau που σχετίζεται με τους μικροσωληνίσκους (Lei 2021). Είναι γνωστό ότι η ανεπάρκεια της αυτοφαγικής οδού αποτελεί το χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου Rosenberg et al., 2016).

Η πρωτεΐνη tau παίζει ρόλο στη σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων και η υπερφωσφορυλίωσή της επηρεάζει αρνητικά την ικανότητά της να ενώνεται με τη σωληνίνη, επιφέροντας αστάθεια στη δομή των μικροσωληνίσκων. Επιπλέον, λόγω της ανώμαλης υπερφωσφορυλίωσης της tau καταρρέει ο κυτταρικός σκελετός και οδηγούνται οι νευρώνες στο θάνατο (Θωμόπουλος 2014). Το αμυλοειδές β-πεπτιδίο προκύπτει από την αποικοδόμηση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς. Η συσσώρευση του αμυλοειδούς β-πεπτιδίου έχει ως αποτέλεσμα τη διαταραχή της συγχώνευσης των αυτοφαγοσωμάτων με τα λυσοσώματα, η οποία με τη σειρά της οδηγεί στη συσσώρευση της πρωτεΐνης (Kesidou et al., 2013).

Πολλές ενδείξεις υποδεικνύουν ανεπαρκή αυτοφαγία στους ασθενείς, οι οποίες περιλαμβάνουν τα μειωμένα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης των BECN1, ATG5, LC3B που σχετίζονται με την αυτοφαγία και τη συσσώρευση αυτοφαγοσωμάτων. Ο ποιοτικός έλεγχος των μιτοχονδρίων είναι διαταραγμένος στους νευρώνες ασθενών όπως και τα επίπεδα της μιτοφαγίας κρίνονται περιορισμένα (Zhang et al., 2021).

Η συσσώρευση μη φυσιολογικών πρωτεϊνών στα νευρικά κύτταρα αποτελεί σημάδι κατατεθέν των νευροεκφυλιστικών ασθενειών και συνδέεται άμεσα με μειωμένα επίπεδα μακροαυτοφαγίας και αυτοφαγίας διαμεσολαβούμενης από Μοριακές Συνοδούς (CMA). Η απομάκρυνση κατεστραμμένων μιτοχονδρίων, τοξικών πρωτεϊνών ή μικροσυσσωματωμάτων που επιτυγχάνεται μέσω της αυτοφαγίας αποτελεί ασπίδα προστασίας απέναντι στην καταστροφή του νευρικού ιστού. Η

απομάκρυνση των συσσωματωμένων πρωτεϊνών είναι ζωτικής σημασίας για μη διαιρούμενα κύτταρα, όπως τα νευρικά (Zhang et al., 2021).

Η νόσος του Huntington

Η νόσος του Huntington χαρακτηρίζεται από την επανάληψη του τρινουκλεοτιδίου CAG στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη huntingtin ή HTT. Η πρωτεΐνη HTT συμμετέχει στη λειτουργία των μικροσωληνίσκων και στο σχηματισμό κυστιδίων. Η μετάλλαξη στο γονίδιο έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση της μεταλλαγμένης της εκδοχής, που χαρακτηρίζεται από πολυγλουταμινικά κατάλοιπα, polyQ. Ο κινητήριος μηχανισμός της δυνεΐνης επηρεάζεται από ορισμένες μεταλλάξεις που βλάπτουν τη σύντηξη του αυτοφαγοσώματος-λυσosώματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μη αποικοδόμηση, τη συσσώρευση των μη φυσιολογικών πρωτεϊνών και την αύξηση της τοξικότητας της μεταλλαγμένης HTT σε διάφορα μοντέλα ασθενειών και στον άνθρωπο (Lei, Klionsky 2021).

Τα συσσωματώματα της μεταλλαγμένης HTT είναι δυνατόν να αποικοδομηθούν με τη βοήθεια υποδοχέων SQSTM1 μέσω της επιλεκτικής αυτοφαγίας. Έχει βρεθεί πως η έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την αυτοφαγία μεταβάλλεται στους ασθενείς (Martin et al., 2015). Παρόλο που ορισμένα γονίδια στα πρώιμα στάδια της αυτοφαγίας εκφράζονται με πιο έντονο ρυθμό, η αυτοφαγική δραστηριότητα είναι μειωμένη λόγω της ανεπαρκούς ικανότητας εγκλεισμού των κυτταροπλασματικών φορτίων. Επιπλέον, η μεταλλαγμένη HTT οδηγεί σε μειωμένη φωσφορυλίωση της Atg14 από την ULK1, η οποία οδηγεί περαιτέρω στη μείωση της δραστηριότητας της κινάσης PtdIns3K και της αυτοφαγίας (Martin et al., 2015).

Καρδιαγγειακά Νοσήματα και Μυοπάθειες

Τα μυϊκά κύτταρα, όπως και τα νευρικά, είναι μη διαιρούμενα, γεγονός που οδηγεί στη συσσώρευση κατεστραμμένων υλικών στο εσωτερικό τους. Ως εκ τούτου, η αύξηση των επιπέδων των αυτοφαγικών κυστιδίων χρησιμεύει ως διαγνωστικός δείκτης σε οποιαδήποτε μυϊκή ατροφία. Τα γονίδια αυτοφαγίας με τροποποιημένη γονιδιακή έκφραση στις διάφορες μυϊκές διαταραχές, ανήκουν στην κατηγορία των "ατρογόνων" ή γονιδίων που σχετίζονται με την ατροφία (Levine et al., 2008).

Η πρωτεΐνη μυοτουβουλίνη, ρυθμίζει τη συγκέντρωση της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης που απαιτείται για την κυστιδιακή κυκλοφορία. Οι μυοπάθειες εκδηλώνονται όταν υπάρχει βλάβη στη συγκεκριμένη πρωτεΐνη, που συνεπάγεται τη δυσλειτουργία της αυτοφαγίας (Levine et al., 2008).

Σε άλλες περιπτώσεις η παθολογία σχετίζεται με την αποτυχία των αυτοφαγοσωμάτων να συγχωνευθούν με τα λυσοσώματα είτε τη συσσώρευση μη κατάλληλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών που υπερβαίνουν την ικανότητα αυτοφαγικής κάθαρσης των μυοκυττάρων. Η νόσος Danon οφείλεται σε μετάλλαξη της λυσοσωμικής πρωτεΐνης LAMP-2 και σχετίζεται με εκτεταμένη συσσώρευση αυτοφαγοσωμάτων στους μύες ποντικών και ασθενών με ανεπάρκεια της LAMP-2. Η φαρμακολογική αναστολή του σταδίου σύντηξης λυσοσωμάτων και αυτοφαγοσωμάτων ενοχοποιείται για την εμφάνιση μυοπαθειών σε αρουραίους και ανθρώπους (Levine et al., 2008).

Τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί πως η αυτοφαγία παίζει κρίσιμο ρόλο στην παθολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων, συμπεριλαμβανομένης της καρδιακής ανεπάρκειας, της υπερτροφικής μυοκαρδιοπάθειας, της διατακτικής μυοκαρδιοπάθειας, της καρδιακής γήρανσης και της διαβητικής μυοκαρδιοπάθειας (Wen et al., 2021).

Το 2018 αναφέρθηκε ότι πολλές παραλλαγές στον υποκινητή του γονιδίου Atg7 στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου μεταβάλλουν το μεταγραφικό επίπεδο του Atg7 και κατά συνέπεια οδηγούν σε δυσλειτουργική αυτοφαγία. Το 2019, μια άλλη μελέτη που διερεύνησε τους ρόλους 21 γονιδίων Atg στις καρδιαγγειακές παθήσεις διασαφήνισε ότι οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί στα Atg4C, Atg4D, Atg7, MAP1LC3A και Atg3 σχετίζονται με τις παθολογίες και τα συναφή χαρακτηριστικά των καρδιαγγειακών παθήσεων. Επιπλέον, η ανάλυση διαφορικής μεθυλίωσης του DNA έδειξε ότι τα CpGs που βρίσκονται στα ULK1, Atg4B και Atg4D συσχετίζονται με διάφορα καρδιομεταβολικά χαρακτηριστικά (Portilla-Fernandez et al., 2019).

Μέχρι σήμερα, ο μηχανισμός με τον οποίο καθορίζεται ο ευεργετικός ή επιβλαβής χαρακτήρας της αυτοφαγίας στο πλαίσιο των καρδιαγγειακών παθήσεων παραμένει ένα αίνιγμα. Έχει προταθεί ότι η διάκριση των ρόλων της αυτοφαγίας κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης είναι σημαντική. Αρχικά, κατά τη

διάρκεια της οξείας ισχαιμίας η αυτοφαγία μπορεί να χρησιμεύει στη διατήρηση της παραγωγής ενέργειας, αλλά στη συνέχεια μεταβαίνει στην απομάκρυνση δυσλειτουργικών οργανιδίων κατά τη διάρκεια της χρόνιας ισχαιμίας ή της επαναιμάτωσης. Η απενεργοποίηση της αυτοφαγίας στην καρδιά, σχετίζεται με καρδιακές παθολογίες, συμπεριλαμβανομένης της γενετικής μυοκαρδιοπάθειας, της χρόνιας καρδιακής αναδιαμόρφωσης και της καρδιακής ανεπάρκειας. Για παράδειγμα, σε ένα μοντέλο ποντικού, η διαχρονική ανεπάρκεια του καρδιοειδούς *Atg5* έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη καρδιακής δυσλειτουργίας και διάτασης της αριστερής κοιλίας μετά από υπερφόρτωση πίεσης. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν και κάποιες αντίθετες μελέτες που δείχνουν ότι η μειωμένη αυτοφαγία μπορεί να προστατεύει την καρδιά από τραυματισμούς. Αξίζει να σημειωθεί ότι μια μελέτη που δημιούργησε ετερόζυγη έλλειψη/διαγραφή του *Becn1* σε ποντίκια έδειξε ότι σε σύγκριση με τα ποντίκια άγριου τύπου, τα ποντίκια με ανεπάρκεια του *Becn1* που εμφανίζουν μειωμένη αυτοφαγία των καρδιομυοκυττάρων έχουν έντονη παθολογική αναδιαμόρφωση και μειωμένη καρδιακή βλάβη κατά την επαναιμάτωση (Wen et al., 2020).

Λοιμώδη νοσήματα

Η αυτοφαγία, με την ικανότητά της να καθαρίζει τα φλεγμονοσώματα και τις κυτταροκίνες, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της φλεγμονής και στην επιτυχή έκβαση της ανοσολογικής απόκρισης. Δυσλειτουργίες της οδηγούν σε αυτοάνοσα νοσήματα και φλεγμονώδεις διαταραχές όπως και σε λοιμώδη νοσήματα (Wen et al., 2021).

Μετά την είσοδο ενός μικροβίου στον οργανισμό, ενεργοποιείται το ανοσοποιητικό σύστημα ενώ ταυτόχρονα ένα είδος επιλεκτικής αυτοφαγίας, η ξενοφαγία, κατά την οποία ο μικροοργανισμός αναγνωρίζεται και παραδίδεται στα λυσοσώματα για αποικοδόμηση μέσω της ουβικουϊτινώσης. Οι πρωτεΐνες προσαρμογείς, συμπεριλαμβανομένων των NDP52, οπτινευρίνη και p62, συνδέονται με την ουβικουϊτινωμένη πρωτεΐνη, ώστε να σχηματιστεί το αυτοφαγόσωμα (Wen et al., 2021).

Ορισμένοι παθογόνοι μικροοργανισμοί έχουν αναπτύξει την ικανότητα να εκμεταλλεύονται τις δομές, τους μεταβολίτες και την ενέργεια που παράγονται από

την αυτοφαγία, για τον πολλαπλασιασμό τους. Για παράδειγμα, η βέλτιστη ενδοκυτταρική βακτηριακή ανάπτυξη της *Francisella tularensis* παρατηρείται, όταν εκμεταλλεύεται την ανεξάρτητη από την ATG5 αυτοφαγία κι έτσι συγκεντρώνει τα θρεπτικά συστατικά για τον πολλαπλασιασμό (Steele et al., 2013). Επιπλέον, τα *Brucella abortus* και *Mycobacterium marinum* εκμεταλλεύονται την Atg5-ανεξάρτητη αυτοφαγία για να διευκολύνουν την εξάπλωση από κύτταρο σε κύτταρο (Collins et al., 2009, Starr et al., 2012).

Η εκμετάλλευση της αυτοφαγίας του ξενιστή είναι επίσης κοινή στις ιογενείς λοιμώξεις. Η λιποφαγία, ένας άλλος επιλεκτικός τύπος αυτοφαγίας που στοχεύει τα ενδοκυτταρικά σταγονίδια λιπιδίων, όπως τριγλυκερίδια ή χοληστερόλη, υπονομεύεται κατά τη διάρκεια της ιογενούς λοίμωξης για δύο πρωταρχικούς λόγους: i) τα λιπιδικά σταγονίδια μπορούν να παρέχουν μια πλατφόρμα για τη συναρμολόγηση των ιικών πρωτεϊνών και τον πολλαπλασιασμό τους και ii) η ρυθμισμένη λιποφαγία είναι σε θέση να παρέχει το υψηλό επίπεδο ATP που απαιτείται για την ιική αντιγραφή (Choi et al., 2018).

Αν και πρόσφατα καταβλήθηκαν σημαντικές προσπάθειες για την αποκάλυψη της πολύπλοκης σχέσης μεταξύ της αυτοφαγίας και της παθογένειας της COVID-19, η πλήρης κατανόηση της αυτοφαγίας και του SARS-CoV-2 παραμένει αδιευκρίνιστη λόγω της έλλειψης πρακτικών μελετών σε ζώα στο περιορισμένο χρονικό διάστημα από το ξέσπασμα της νόσου. Μια πολύ πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ο SARS-CoV-2 μπλοκάρει την αυτοφαγία αναστέλλοντας τη σύντηξη αυτοφαγοσώματος/αμφισώματος-λυσοσώματος μέσω του συμπλόκου STX17-SNAP29-VAMP8 SNARE (Miao et al., 2021), γεγονός που υποδηλώνει έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο για τη θεραπεία της νόσου.

Πολυάριθμες μελέτες έχουν αποδείξει πως ανθρώπινα κύτταρα με μεταλλάξεις του Atg16L1, παρουσιάζουν προβλήματα στην ξενοφαγία, στην παρουσίαση αντιγόνων και κατά την παραγωγή κυτταροκινών. Επίσης βρέθηκε πως η μειωμένη αυτοφαγία οφείλεται στη διαμεσολαβούμενη διάσπαση και αποικοδόμηση της παραλλαγής ATG16L1 από την κασπάση 3 (CASP3) (Saitoh et al., 2008). Συνδυαστικά, οι παρατηρήσεις αυτές αναδεικνύουν τους κρίσιμους ρόλους της αυτοφαγίας στη ρύθμιση του κυτταρικού στρες και στην ανίχνευση παθογόνων μικροβίων.

Διαταραχές της λυσοσωματικής αποθήκευσης

Οι διαταραχές της λυσοσωμικής αποθήκευσης, LSD (Lysosomal storage disorders), προκαλούνται από κληρονομήσιμες γονιδιακές μεταλλάξεις που διαταράσσουν την ομοιόσταση των λυσοσωμάτων με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται σταδιακά/προοδευτικά άπεπτα μακρομόρια εντός του κυττάρου. Η δυσλειτουργία των λυσοσωμάτων συνοδεύεται από μειωμένη αυτοφαγική ροή, ελαττωματική σύντηξη αυτοφαγοσωμάτων-λυσοσωμάτων και δευτερογενή συσσώρευση υποστρωμάτων αυτοφαγίας, όπως το SQSTM1/p62, πολυουβικιτινωμένες πρωτεΐνες και κατεστραμμένα μιτοχόνδρια (Jiang et al., 2014).

Στον άνθρωπο, οι ομόζυγες μεταλλάξεις του GBA1, του γονιδίου που κωδικοποιεί το λυσοσωμικό ένζυμο, τη γλυκοσερεβροσιδάση ή GCase, το οποίο μεταβολίζει το γλυκοσυλκεραμίδιο σε κεραμίδιο και γλυκόζη, οδηγούν στη νόσο Gaucher, μια διαταραχή της λυσοσωματικής αποθήκευσης, ενώ οι ετερόζυγες μεταλλάξεις αποτελούν τον σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου για τη νόσο του Πάρκινσον (Scharira, 2015).

Διαβήτης τύπου II

Ο διαβήτης τύπου II χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία και αντίσταση στην ινσουλίνη. Τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης ενισχύουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου στα μιτοχόνδρια κι εντείνουν το οξειδωτικό στρες. Ακολούθως προκύπτουν μιτοχόνδρια με βλάβες που χαρακτηρίζονται από μειωμένη β-οξειδωση και συσσώρευση λιπιδίων. Η μιτοφαγία, σε αυτό το στάδιο, εξαλείφει το οξειδωτικό στρες και τα κατεστραμμένα μιτοχόνδρια. Ουσιαστικά προστατεύει ανατρέποντας την αντίσταση στην ινσουλίνη και περιορίζοντας τη λιπώδη μάζα (Yang et al., 2010).

Σύμφωνα με τους Liesa et al., 2013 τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης οδηγούν στη διαίρεση των μιτοχονδρίων, που εμπλέκεται στη μιτοφαγία, ενώ μειώνουν τη σύντηξή τους. Τα άτομα με προδιαβήτη που εμφανίζουν ήπια υπεργλυκαιμία παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη μιτοφαγία, όπως τα NIX, PINK1, Parkin, ενώ στους νοσούντες παρατηρείται εξασθενημένη έκφραση γονιδίων μιτοφαγίας (Scheele et al., 2007).

Η UPR των β-κυττάρων του παγκρέατος ρυθμίζεται από την αυτοφαγία. Έχει παρατηρηθεί ότι τα παγκρεατικά κύτταρα με ανεπάρκεια αυτοφαγίας διαθέτουν υποβαθμισμένο το μηχανισμό UPR είναι ευαίσθητα στο ER stress in vitro. Για παράδειγμα, έχει διαπιστωθεί αύξηση του ER stress και δυσλειτουργία στο μονοπάτι σηματοδότησης της ινσουλίνης τόσο in vivo όσο και in vitro κατά την καταστολή της έκφρασης του Atg7. Κατά την αποκατάσταση της έκφρασης του Atg7, το ER stress περιορίστηκε, καθώς ενισχύθηκε η επίδραση της ινσουλίνης σε παχύσαρκα ποντίκια (Yang et al., 2010). Έτσι, η αυτοφαγία είναι απαραίτητη για τον μηχανισμό UPR και τα κύτταρα με ανεπάρκεια αυτοφαγίας μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη διαβήτη. Η σωματική άσκηση εντείνει τον κύκλο των αυτοφαγικών διεργασιών και τη διαίρεση των μιτοχονδρίων στον διαβήτη τύπου 2 με αύξηση των επιπέδων των Atg7 και p62/SQSTM1 και μείωση της πρωτεΐνης LC3-II (Kruse et al., 2017).

Γήρανση

Η γήρανση στους πολυκύτταρους οργανισμούς χαρακτηρίζεται από τη διαταραχή της κυτταρικής ομοιόστασης και από την ανάπτυξη πολυάριθμων παθολογιών, ορισμένες εκ των οποίων συντομεύουν το προσδόκιμο ζωής. Οι φθορές που παρατηρούνται οφείλονται στο ότι περιορίζεται κατά μεγάλο βαθμό η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών και κυρίως αυτών που προορίζονται για λυσοσωμική αποικοδόμηση. Το τελευταίο στοιχείο αποτελεί το συνδετικό κρίκο μεταξύ αυτοφαγίας και φθοράς των ιστών λόγω ηλικίας. Επιπροσθέτως, ένα ακόμη χαρακτηριστικό των γηρασμένων κυττάρων είναι ο περιορισμός της μακροαυτοφαγίας, ο μειωμένος αριθμός αυτοφαγικών κυστιδίων και μη πετυχημένη η συνένωσή τους με τα λυσοσώματα. Η μη αποτελεσματική σύντηξη με τα λυσοσώματα οφείλεται στην οξείδωση των λιπιδίων και των πρωτεϊνών των λυσοσωμικών μεμβρανών που τις καθιστά εύθραυστες και ακατάλληλες. Συνεπώς στους γηρασμένους ιστούς παρατηρείται σημαντικά μειωμένη ροή των πρωτεϊνών με ταυτόχρονη συσσώρευση αυτοφαγικών κυστιδίων (Cuervo et al., 2005). Είναι ενδιαφέρον ότι η απενεργοποίηση πολλών αυτοφαγικών πρωτεϊνών, όπως η VPS30/Atg6/beclin1, επιφέρει μείωση του προσδόκιμου ζωής στο *C. elegans*. Η εξασθένιση της αυτοφαγίας στα αρχικά στάδια ανάπτυξης του *C. elegans* έχει αρνητική επίδραση στη μακροζωία, όμως η απενεργοποίηση ορισμένων γονιδίων αυτοφαγίας στην ενήλικη ζωή μπορεί να έχει ευεργετικά αποτελέσματα (Cheng et al., 2005).

Κεφάλαιο 8: Η αυτοφαγία ως θεραπευτικός στόχος

Η ιδέα της φαρμακολογικής τροποποίησης της αυτοφαγικής οδού είτε με ενεργοποιητές είτε με αναστολείς της, θα μπορούσε να ανοίξει δρόμους νέων και αποτελεσματικών θεραπευτικών προσεγγίσεων για διάφορες ασθένειες.

Όταν η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας είναι η αιτία της νόσου, τότε η αναστολή της σε συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους αποτελεί έναν προφανή θεραπευτικό στόχο. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα μιας τέτοιας παρέμβασης μπορεί να ποικίλλει, ανάλογα με το στάδιο του αυτοφαγικού μονοπατιού που στοχεύεται. Έτσι, ενώ η αναστολή της αυτοφαγίας με διαμορφωτές που προηγούνται της αυτοφαγίας (upstream), όπως της AMPK ή ULK, φαντάζει ως ασφαλής παρέμβαση, η χρήση αναστολέων των λυσοσωμάτων μπορεί να ενισχύσει τις επιβλαβείς επιδράσεις της ενεργοποίησής της, προκαλώντας τη συσσώρευση μη λειτουργικών αυτοφαγοσωμάτων και αυτολυσοσωμάτων, και ως εκ τούτου μια γενική παρεμπόδιση της κυστιδιακής κυκλοφορίας/διακίνησης (Galuzzi et al., 2017).

Η αναστολή της αυτοφαγίας μπορεί να οδηγήσει στην εκδήλωση ασθένειας με δύο μηχανισμούς: τη συσσώρευση δυνητικά επικίνδυνων αυτοφαγικών υποστρωμάτων ή μη λειτουργικών αυτοφαγοσωμάτων και αυτολυσοσωμάτων και την έλλειψη δυνητικά ωφέλιμων αυτοφαγικών προϊόντων ή λειτουργιών. Στη συγκεκριμένη περίπτωση η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας με διατροφικές ή φαρμακολογικές παρεμβάσεις μπορεί να βελτιώσει την έκβαση της νόσου. Ωστόσο, ο ακριβής προσδιορισμός του σφάλματος καθορίζει ποια προσέγγιση θα πρέπει να υιοθετηθεί για να υπάρξει αποτελεσματικότητα. Η αυτοφαγία μπορεί να μπλοκαριστεί σε στάδιο πριν το σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα περιορισμένο αριθμό αυτοφαγοσωμάτων και μειωμένη αυτοφαγική δραστηριότητα. Αξίζει να σημειωθεί πως η αναστολή της αυτοφαγίας που προηγείται του σχηματισμού των αυτοφαγοσωμάτων με στόχευση της AMPK ή της ULK1, μπορεί επίσης να επιδράσει θετικά και να ομαλοποιηθεί η κατάσταση με τα αυτοφαγοσώματα και τα αυτολυσοσώματα (Galuzzi et al., 2017).

Στην περίπτωση αυτή, οι διατροφικές παρεμβάσεις, που καθορίζονται κυρίως από το μονοπάτι AMPK-mTORC1 ή μόρια που προάγουν το σχηματισμό της 3-φωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης, PtdIns3P από το σύμπλοκο Becn1-VPS34 προάγουν την αυτοφαγία και κρίνονται ωφέλιμα. Αντιθέτως, παρεμβάσεις που στοχεύουν στην επιτάχυνση της λυσοσωματικής αποικοδόμησης ενδέχεται να μην οδηγήσουν σε ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η αυτοφαγία μπορεί επίσης να παρεμποδιστεί σε μεταγενέστερα στάδια του σχηματισμού αυτοφαγοσωμάτων, για παράδειγμα, ως συνέπεια μιας λυσοσωμικής βλάβης. Στην περίπτωση αυτή, η περαιτέρω ενίσχυση της δημιουργίας αυτοφαγοσωμάτων συνοδεύεται από μικρή θεραπευτική δράση και μπορεί πιθανώς να επιδεινώσει τις διαταραχές. Αντίθετα, η επιτάχυνση της λυσοσωμικής αποικοδόμησης μπορεί να ανακουφίσει το μπλοκάρισμα στη διάθεση των αυτοφαγοσωμάτων και να οδηγήσει σε θετική έκβαση (Galuzzi et al., 2017).

Οι ενεργοποιητές της αυτοφαγίας θα πρέπει να σχεδιάζονται αφού έχει προσδιορισθεί επακριβώς η αυτοφαγική δυσλειτουργία που αφορά τη συγκεκριμένη ασθένεια. Σε θεωρητικό πλαίσιο, η συνδυαστική χρησιμοποίηση ενεργοποιητών ανοδικών σταδίων της αυτοφαγίας με μόρια που επιταχύνουν τη λυσοσωμική αποικοδόμηση, θα μπορούσε να οδηγήσει στην υπέρβαση του εμποδίου του αυτοφαγικού αποκλεισμού. Ωστόσο, χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση (Galuzzi et al., 2017).

Σε ορισμένες περιπτώσεις, η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας μπορεί να αντισταθμίζει τις επιπτώσεις της ασθένειας, όπως τον εκφυλισμό κυττάρων και ιστών κι αν μην αποτελεί το πρωτογενές αίτιο της εκδήλωσής της. Έχει βρεθεί πως η ενίσχυση της αυτοφαγικής δραστηριότητας σε κύτταρα που δεν είναι επηρεάζονται άμεσα από τη νόσο, μπορεί μακροπρόθεσμα να βελτιώσουν την κλινική εικόνα σε πολλαπλές διαταραχές. Αυτό αφορά κυρίως καταστάσεις πολυπαραγοντικής αιτιολογίας, όπως τα εγκεφαλικά επεισόδια. Οι αποτελεσματικές αυτοφαγικές αποκρίσεις των γλοιακών κυττάρων που επιβιώνουν από το εγκεφαλικό επεισόδιο περιορίζουν σημαντικά τη φλεγμονή και τη συνακόλουθη καταστροφή νευρώνων. Έτσι, η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας στα κύτταρα που επιβιώνουν μετά την παθολογική προσβολή ή σε υγιή κύτταρα φαίνεται να αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική παρέμβαση για διαταραχές σύνθετης αιτιολογίας. Επωφελής κρίνεται η σταδιακή προσέγγιση, κατά την οποία η αυτοφαγία αναστέλλεται αρχικά ή επιλεκτικά στα προσβληθέντα κύτταρα και ενεργοποιείται σε μεταγενέστερο επίπεδο ή επιλεκτικά σε μη νοσούντα

κύτταρα. Απαιτείται περισσότερη διερεύνηση για την εξακρίβωση αυτής της δυνατότητας (Galuzzi et al., 2017).

Η ρύθμιση της αυτοφαγίας στο πλαίσιο της αντικαρκινικής θεραπείας

Ο καρκίνος είναι η πρώτη ασθένεια που συσχετίστηκε με προβλήματα στην αυτοφαγία και η πρώτη ασθένεια για την οποία έχουν διεξαχθεί κλινικές δοκιμές καταστολής της σε ασθενείς. Ο ρόλος της αυτοφαγίας στον καρκίνο είναι διπλός και αντιφατικός, όπου μπορεί είτε να προάγει είτε να αναστέλλει την ανάπτυξη του όγκου ανάλογα με το στάδιο της καρκινογένεσης.

Πριν από την εμφάνιση μιας κακοήθειας, η αυτοφαγία καταστέλλει την καρκινογένεση εξαλείφοντας κυτταρικά συστατικά που προάγουν την έναρξη του όγκου. Ωστόσο, όταν ένας όγκος εγκαθίσταται, η αυτοφαγική δραστηριότητα υποστηρίζει την επιβίωσή του επιτρέποντας την κυτταρική προσαρμογή στην υποξία και το μεταβολικό στρες, καθώς και διευκολύνοντας την πρωτεϊνοσύνθεση, την κυτταρική ανάπτυξη και τη μεταβολική προσαρμογή (Rubinsztein et al., 2012).

Στο πλαίσιο αυτό, η επαγωγή ή η καταστολή της αυτοφαγίας θα μπορούσε ενδεχομένως να αποτελέσει μια ολοκληρωμένη θεραπευτική προσέγγιση για τη θεραπεία ενός ευρέος φάσματος ασθενειών, τη διατήρηση των φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών και την παράταση της διάρκειας ζωής ακόμη και μετά την αποτυχία άλλων θεραπευτικών παρεμβάσεων (Rubinsztein et al., 2012).

Ο μεταβολισμός των κυττάρων προσφέρει δυνητικά αρκετά σημεία παρέμβασης και τροποποίησης της αυτοφαγικής δραστηριότητας. Τα μοριακά μονοπάτια που στοχεύουν την αυτοφαγία μπορούν να διακριθούν στα mTOR εξαρτώμενα και στα mTOR ανεξάρτητα μονοπάτια. Η στόχευσή τους μπορεί να οδηγεί είτε στην επαγωγή είτε στην αναστολή της αυτοφαγίας. Τα mTOR εξαρτώμενα μονοπάτια περιλαμβάνουν την PI3K/Akt, την AMPK, τον υποδοχέα Toll like (Toll Like Receptor) καθώς και την ERK, τα οποία μπορούν να ρυθμίσουν την αυτοφαγική ροή και αξιοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου. Τα ανεξάρτητα από τον mTOR μονοπάτια περιλαμβάνουν τη σηματοδότηση του Ca²⁺, του cAMP, που πυροδοτούν την αυτοφαγία. Η ανεξάρτητη από την mTOR αυτοφαγία αποτελεί έναν αποτελεσματικό θεραπευτικό στόχο για τη θεραπεία νευροεκφυλιστικών ασθενειών,

όπως μπορεί να επιτευχθεί με τη χορήγηση κονοφυλλίνης. Η ένωση αυτή έχει παρατηρηθεί ότι μειώνει τα συσσωματώματα της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης HTT στη νόσο του Huntington προάγοντας την αυτοφαγία (Briones-Herrera et al., 2022).

Επαγωγή της Αυτοφαγίας

Δεδομένου ότι η αυτοφαγία ρυθμίζεται αρνητικά από την mTOR (στόχος της ραπαμυκίνης στα θηλαστικά), η πλειοψηφία των φαρμακευτικών επαγωγέων επιδρά στο συγκεκριμένο μονοπάτι. Η mTOR είναι μια βασική κινάση σερίνης-θρεονίνης, η δράση της οποίας επαναρυθμίζεται σε διάφορους τύπους καρκίνων. Η ραπαμυκίνη και τα παράγωγά της, everolimus, CCI-779 και AP23576 αναστέλλουν την mTORC1, γεγονός που οδηγεί στη διάσπαση του συμπλόκου ULK1, για την προσέλκυσή του στο φαγοφόρο και την έναρξη της αποικοδόμησης του φορτίου (Cicchini et al., 2015). Τα ανάλογα της ραπαμυκίνης, που ονομάζονται rapalogs, προσδέονται στο FKB12, το οποίο είναι η περιοχή πρόσδεσης της mTOR. Η ραπαμυκίνη έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού (Chang et al., 2007), καθώς και διαφόρων τύπων καρκίνου στον άνθρωπο (Mita et al., 2003).

Η everolimus χρησιμοποιήθηκε επίσης με επιτυχία κατά διαφόρων νεοπλασιών. Αν και όχι τόσο αποτελεσματική όσο η ραπαμυκίνη, η αντικαρκινική δράση της ήταν συγκρίσιμη με εκείνη της ραπαμυκίνης όταν μελετήθηκε in vivo (Vignot et al., 2005). Η μετοφομίνη, η οποία ενεργοποιεί την αυτοφαγία μέσω της ενεργοποίησης της AMPK, κατέστειλε τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του προστάτη σε ποντίκια και την ανάπτυξη των κυττάρων γλοιοβλαστώματος. Επιπλέον, η μετοφομίνη ενίσχυσε τη συνεργιστική δράση της χημειοθεραπείας και της ακτινοθεραπείας (Saha et al, 2015).

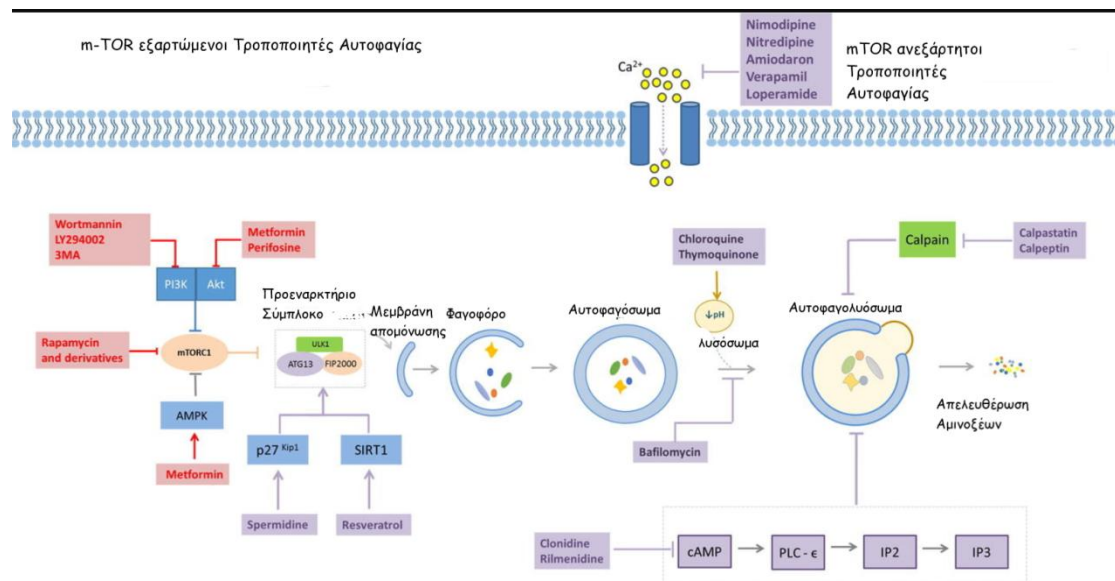
Η ρεσβερατρόλη επάγει την αυτοφαγία μέσω της ενεργοποίησης της σιρτουΐνης (SIRT1), μιας γνωστής αποακετυλάσης ικανής να προάγει την αυτοφαγία μέσω της αποακετυλίωσης των Atg5, Atg7 και Atg8 (Morselli et al., 2011). Η ρεσβερατρόλη ανέστειλε όχι μόνο τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε καρκινικά κύτταρα του προστάτη αλλά προκάλεσε επίσης απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα MCF-7 με δόσοεξαρτώμενο τρόπο (Li et al., 2014).

Η περιφοσίνη επάγει την αυτοφαγία μέσω της αναστολής της Akt, η οποία παρεμβαίνει στη σηματοδότηση της PI3K, επηρεάζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και τη φλεγμονή. Χρησιμοποιείται επί του παρόντος σε κλινικές δοκιμές φάσης 3 για τη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος και του καρκίνου του παχέος εντέρου, ενώ έχει επιδείξει δράση και έναντι του νευροβλαστώματος (Li et al., 2010). Η αναστολή της Akt ανακόπτει την επαγόμενη από τον παράγοντα TgKb/νευροτροπικό παράγοντα αντίσταση στη χημειοθεραπεία, ευαισθητοποιώντας έτσι τα κύτταρα του νευροβλαστώματος τόσο στη χημειοθεραπεία όσο και στην ακτινοθεραπεία. Η περιφοσίνη όταν χορηγείται σε 30 μM ενεργοποιεί την απόπτωση σε κύτταρα νευροβλαστώματος (Li et al., 2010) και επίσης καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου, ευαισθητοποιώντας τα κύτταρα που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με κουρκουμίνη στη χημειοθεραπεία (Li et al., 2011). Παράλληλα, χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της αντίστασης στη βορτεζομίμη σε καρκίνους του παχέος εντέρου (Chen et al., 2012).

Η μιτοφαγία έχει επίσης προκληθεί μέσω της θεραπείας με ντεκορίνη ή decorin, η οποία ενισχύει τη σηματοδότηση του συνενεργοποιητή-1α (PGC- α) του υποδοχέα γ σε καρκινικά κύτταρα του μαστού. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, ο οποίος συχνά συμβάλλει στην καρκινογένεση. Η δεκορίνη ανέστειλε επίσης την οστική μετάσταση στον καρκίνο του προστάτη όταν χορηγήθηκε μέσω ογκολυτικού αδενοϊού (Neill et al., 2014).

Ένας άλλος ενδιαφέρων επαγωγέας της αυτοφαγίας, ανεξάρτητος από την mTOR, είναι η φυσική πολυαμίνη σπερμιδίνη. Ο μηχανισμός δράσης της έχει προηγουμένως αποδοθεί στη φωσφορυλίωση του αναστολέα της πρωτεϊνικής κινάσης τυροσίνης 2 β (PYK2) του αναστολέα κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης 1B, υποδεικνύοντας ότι δρα μέσω της δραστηριότητας της AMP-εξαρτώμενης κινάσης, καθώς δεν υπήρχε φωσφορυλίωση της mTOR (Morselli et al., 2011). Αποδείχθηκε επίσης ότι μεταβάλλει την κατάσταση ακετυλίωσης βασικών πρωτεϊνών που σχετίζονται με την αυτοφαγία, όπως οι Atg5 και LC3, σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου (Morselli et al., 2011). Πρόσφατα, αναπτύχθηκαν συνθετικά παράγωγα ακυλοσπερμιδίνης τα οποία χρησιμεύουν ως ανάλογα πολυαμίνης και έδειξαν προ-

αποπτωτικές επιδράσεις στην ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του μαστού MCF-7 (Ravzi et al., 2017).



Εικόνα 16: Οι εξαρτώμενοι από την mTOR διαμορφωτές (σημειωμένοι με κόκκινο χρώμα) περιλαμβάνουν τους αναστολείς της PI3K wortmannin, 3MA και LY294002, τους αναστολείς της Akt μετφορμίνη και περιφοσίνη, τους αναστολείς του mTORC1 όπως η ραπαμυκίνη και άλλα ανάλογα της ραπαμυκίνης. Η μετφορμίνη χρησιμεύει επίσης ως ενεργοποιητής της AMPK. Οι ανεξάρτητοι της mTOR διαμορφωτές δρουν μεταγενέστερα της αυτοφαγικής οδού και περιλαμβάνουν τους αναστολείς της cAMP κλονιδίνη και ριλμενιδίνη- αναστολέα της κενοειδούς ΑΤΡάσης (V-ΑΤΡάση) όπως η βαφιλομυκίνη A1, λυσοσωματοτροπικούς παράγοντες χλωροκίνη και θυμοκινόνη, τους αναστολείς της καλπαΐνης καλπαστίνη και καλπεπτίνη, και διάφορους αναστολείς των διαύλων ασβεστίου, όπως η νιμοδιπίνη, η νιτρεντιπίνη, η αμιωδαρόνη, η βεραπαμίλη, η λοπεραμίδη. Αν και οι ανεξάρτητοι από της mTOR ρυθμιστές ρεσβερατρόλη και σπερμιδίνη δρουν σε προγενέστερο στάδιο για την προώθηση της έναρξης της αυτοφαγίας (Bhat et al., 2018).

Αναστολή της Αυτοφαγίας

Αναστολή

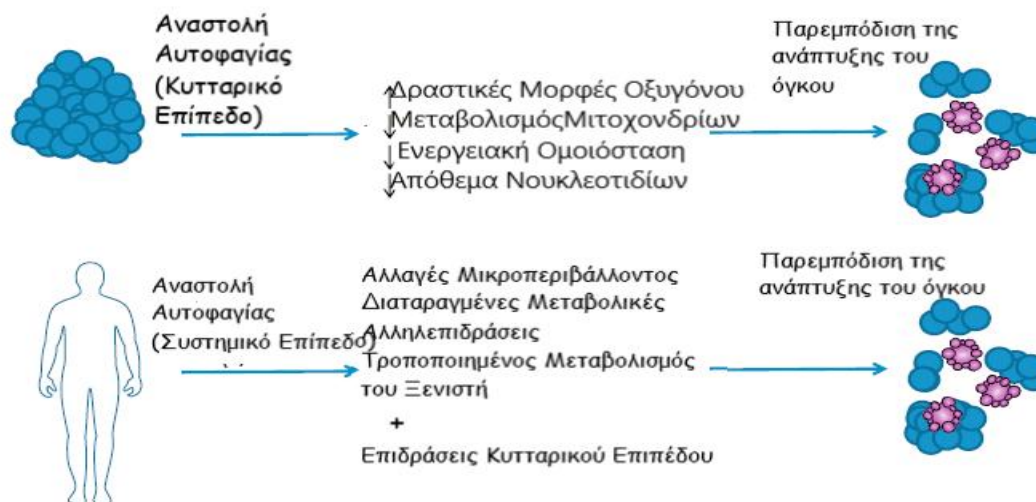
Οι αναστολείς της αυτοφαγίας που έχει αποδειχθεί να είναι αποτελεσματικοί στη στόχευση και την πρόληψη της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων είναι

περιορισμένοι αριθμητικά. Αυτοί οι αναστολείς συχνά είτε στοχεύουν σε κινάσες που εμπλέκονται στην δημιουργία και την επέκταση του φαγοφόρου είτε εμποδίζουν τη διαδικασία ενδοσωματικής/λυσosomalτικής οξίνισης, εμποδίζοντας έτσι τη σύντηξη των αυτοφαγοσωμάτων και των λυσοσωμάτων. Ο μηχανισμός δράσης αυτών των αναστολέων παραμένει αδιευκρίνιστος, γεγονός που επιβάλλει περαιτέρω διερεύνηση (Yang et al., 2013).

Η βορτμανίνη (wortmannin), η 3-μεθυλοαδενίνη (3-Methyl Adenine) και η LY294002 αναστέλλουν την αυτοφαγία αδρανοποιώντας την κινάση PI3K που είναι απαραίτητη για την παραγωγή PIP3 καθώς και για την έναρξη δημιουργίας και επέκτασης των φαγοφόρων (Yang et al., 2013). Η 3 Μεθυλοαδενίνη και η LY29004 αδρανοποιούν τις PI3K τάξης III, γεγονός που έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από κασπάσες σε κύτταρα HeLa. Ωστόσο, αργότερα ανακαλύφθηκε πως η 3 Μεθυλοαδενίνη επάγει κυτταρικό θάνατο ανεξάρτητα από την αυτοφαγία (Hou et al., 2012). Η βορτμανίνη χρησιμοποιήθηκε επίσης ως βοηθητικό της σισπλατίνης κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας, μειώνοντας την αντίσταση των καρκινικών κυττάρων των ωοθηκών στη σισπλατίνη και οδήγησε στην απόπτωση (Zhao et al., 2014).

Η χλωροκίνη (Chloroquine), η υδροξυχλωροκίνη (hydroxychloroquine) και άλλα παράγωγα της χλωροκίνης χρησιμοποιούνται ευρέως στη θεραπεία του καρκίνου. Η χλωροκίνη είναι ένα εγκεκριμένο από τον FDA φάρμακο για τη θεραπεία της ελονοσίας, αλλά πρόσφατα αναδείχθηκε και ως φάρμακο κατά των όγκων. Αυτοί οι αναστολείς αποτελούν λυσοσωματοτροπικούς παράγοντες που αυξάνουν το PH των λυσοσωμάτων και των αυτοφαγοσωμάτων μέσω της αύξησης της διαπερατότητας της λυσοσωμικής μεμβράνης (Kimura et al., 2012). Η αντικαρκινική δράση της χλωροκίνης ενισχύθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε συνδυαστικά και με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα στον καρκίνο του μαστού, στον καρκίνο του παχέος εντέρου, στο γλοίωμα και στο γλοιοβλάστωμα (Kimura et al., 2012). Όταν χορηγήθηκε σε συνδυασμό με αλκυλιωτικούς παράγοντες όπως η τεμοζολομίδη (temozolomide), ευαισθητοποίησε τα καρκινικά κύτταρα στη χημειοθεραπεία ανεξάρτητα από την αυτοφαγία (Zanotto-Filho et al., 2015). Ο Lys05 είναι ένας άλλος πρόσφατα χαρακτηρισμένος αναστολέας της αυτοφαγίας, ο οποίος έχει αποδειχθεί πιο ισχυρός

από τη χλωροκίνη με την οποία μοιράζεται δομική ομοιολογία ως διμερές χλωροκίνης (Amaravadi et al., 2012).



Εικόνα 17: Αναστολή της αυτοφαγίας στον καρκίνο. Η αναστολή της αυτοφαγίας στα καρκινικά κύτταρα μπορεί να διαταράξει τον μεταβολισμό του όγκου, οδηγώντας σε μια ποικιλία μεταβολικών επιπτώσεων, όπως μειωμένο μιτοχονδριακό μεταβολισμό, διαταραχή οξειδοαναγωγικού δυναμικού, εξάντληση αποθεμάτων των νουκλεοτιδίων και μείωση του ενεργειακού αποθέματος. Σε ορισμένες συνθήκες, προκαλείται διαταραχή στην ανάπτυξη του όγκου καθώς και στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Ομοίως, η συστημική αναστολή της αυτοφαγίας μπορεί να έχει αντικαρκινικές επιδράσεις τόσο μέσω των παραπάνω επιδράσεων στα καρκινικά κύτταρα όσο και από την επίδρασή της στο μικροπεριβάλλον του όγκου, στο μεταβολισμό του ξενιστή και στη διαταραχή του μεταβολικών κυκλωμάτων όπως και στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων του όγκου και του στρώματος. Η εξασθένηση αυτών αποτελεί εμπόδιο στην ανάπτυξη του όγκου (Πηγή: Kimmelman et al., 2017).

Η βαφιλομυκίνη A1 (Bafilomycin A₁) είναι ένας αναστολέας της λυσοσωμικής H⁺ ΑΤΡάσης που παρεμποδίζει την αυτοφαγία αναστέλλοντας τη σύντηξη των λυσοσωμάτων με τα αυτοφαγοσωμάτια και καθιστώντας τα δυσλειτουργικά. Η συγκεκριμένη ένωση δρα στοχεύοντας τόσο την αποπτωτική όσο και την αυτοφαγική οδό, επάγοντας τη σύνδεση του Beclin-1 με το Bcl-2 (Yuan et al., 2015). Σε λευχαιμικά κύτταρα προκλήθηκε ο κυτταρικός θάνατος τόσο από την αναστολή της

αυτοφαγίας στη λυσοσωμική μεμβράνη όσο και από την απόπτωση (Yuan et al., 2015). Όμοια, η vacuolin-1, ένας παρόμοιος αναστολέας της ΑΤΡάσης, ενεργοποιεί τη RAB5A GTPάση, οδηγώντας σε δυσλειτουργία του αυτοφαγικού μηχανισμού, λόγω μη σύντηξης λυσοσωμάτων-αυτοφαγοσωμάτων με ενθαρρυντικά αποτελέσματα κατά του καρκίνου (Lu et al., 2015). Η θυμοκινόνη (Thymoquinone) και η λουκανθόνη (Lucanthone) αναστέλλουν αμφότερες την αυτοφαγία ενεργοποιώντας την απόπτωση με τη μεσολάβηση της καθεψίνης D. Προκαλούν επίσης αύξηση της διαπερατότητας της λυσοσωμικής μεμβράνης και οξίνιση, αναστέλλοντας έτσι την αυτοφαγία. Σε αντίθεση με την χλωροκίνη, η θυμοκινόνη και η λουκανθόνη παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα καθεψίνης D, προκαλώντας περαιτέρω απόπτωση. Επιπλέον, η αναστολή της αυτοφαγίας που παρατηρήθηκε, ήταν ανεξάρτητη από την p53 (Carew et al., 2011, Racoma et al., 2013).

Οι αντικαρκινικές δραστηριότητες της βορτεζομίμπης ή Bortezomib έχουν διερευνηθεί σε βάθος, παρέχοντας αποδείξεις για την αποτελεσματικότητά της σε διάφορους ανθρώπινους καρκίνους όπως του παχέος εντέρου, του προστάτη, του μαστού και των ωοθηκών. Σύμφωνα με τους Befani et al. δρα αναστέλλοντας τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος PI3K/Akt/TOR και MAPK σε καρκινικά κύτταρα του προστάτη (Befani et al., 2012). Στον καρκίνο των ωοθηκών, η ένωση αυτή μπορεί να αναστέλλει την αυτοφαγική διαδικασία στο αυτοφαγολυσοσωματικό στάδιο, επάγοντας τη φωσφορυλίωση της ERK. Είναι ενδιαφέρον ότι η βορτεζομίμπη ενισχύει τις αντικαρκινικές επιδράσεις της σισπλατίνης μέσω της αναστολής της αυτοφαγίας που προκαλείται από τη σισπλατίνη (Pecorato et al., 2020).

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως υπάρχουν και άλλοι τρόποι επαγωγής της αυτοφαγίας, που ενδέχεται να ασκήσουν θεραπευτική επίδραση όπως η διατροφή με χαμηλό θερμιδικό περιεχόμενο, η άσκηση και ενδεχομένως τύποι γονιδιακής θεραπείας κατά τους οποίους μετασχηματίζονται ιστοί με κατάλληλους φορείς που είτε ενισχύουν είτε μπλοκάρουν την αυτοφαγία (Rubinsztein et al., 2012).

Κοσμίδου Σοφία, Αυτοφαγία: Μηχανισμοί, Ρύθμιση και η σημασία της στην υγεία και στην ασθένεια

Θεραπεία	Μηχανισμός	Επίδραση στην αυτοφαγία	Λειτουργία της αυτοφαγίας στα καρκινικά κύτταρα
Ιονίζουσα ακτινοβολία	Επάγει βλάβη στο DNA	Επαγωγή	Επιβίωση
Tamoxifen	Συνδέεται και παρεμποδίζει τους υποδοχείς οιστρογόνων	Επαγωγή	Επιβίωση
Camptothecin	Ρυθμίζει καθοδικά την τοποϊσομεράση I και παρεμποδίζει τη σύνθεση DNA	Επαγωγή	Επιβίωση
5-φθορο-ουρακίλη	Ενεργός μεταβολίτης, ενσωματώνεται λανθασμένα στο DNA και το RNA	Επαγωγή	Επιβίωση
Παρεμποδιστές πρωτεασώματος	Παρεμπόδιση του πρωτεασώματος	Επαγωγή	Επιβίωση
Αντισώματα αντι-HER2	Παρεμπόδιση μεταγωγής σήματος του υποδοχέα HER2	Επαγωγή	Επιβίωση
Ραπαμυκίνη και ανάλογα ραπαμυκίνης	Παρεμπόδιση της κινάσης mTOR	Επαγωγή	Θάνατος
Imatinib	Παρεμποδιστής της κινάσης τυροσίνης Bcr-Abl	Επαγωγή	Θάνατος
Bafilomycin	Παρεμπόδιση της αυτοφαγίας, λόγω παρεμπόδισης της σύντηξης λυσοσώματων-αυτοφαγοσωμάτων	Παρεμπόδιση	Επιβίωση
Χλωροκίνη Υδροξυ-χλωροκίνη	Παρεμπόδιση της αυτοφαγίας, λόγω παρεμπόδισης της σύντηξης λυσοσώματων-αυτοφαγοσωμάτων	Παρεμπόδιση	Επιβίωση
3-μεθυλ-αδενίνη	Παρεμποδιστής της κινάσης PI3-K	Παρεμπόδιση	Επιβίωση

Πίνακας 2. Επίδραση διαφόρων αντικαρκινικών θεραπειών στην αυτοφαγία (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Κινάσες που ρυθμίζουν την αυτοφαγία	Ενώσεις που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη	Επίδραση στην κινάση	Επίδραση του φαρμάκου στην αυτοφαγία
Ρυθμιστές του αυτοφαγικού σταδίου έναρξης			
mTORC1	Sirolimus (Rapamycin), Temsirolimus (CCI-779), Everolimus (RAD-001), Deforolimus (AP-23573), Κουρκουμίνη	Παρεμπόδιση	Ενεργοποιητής
Akt	Perifosine, GSK690693, Triciribine	Παρεμπόδιση	Ενεργοποιητής
PI3-K τάξη I	PX-866, WAY-266176, WAY-266175, IC87114, GDC-0941, XL147	Παρεμπόδιση	Ενεργοποιητής
AMPK	Ένωση C	Παρεμπόδιση	Παρεμπόδιση
AMPK	Metformin AICAR	Ενεργοποίηση	Ενεργοποιητής Ενεργοποιητής/ Παρεμποδιστής
TAK1	TRAIL	Ενεργοποίηση	Ενεργοποιητής
GSK-3BP	Λίθιο	Παρεμπόδιση	Ενεργοποιητής
CamK II	Βιταμίνη D	Παρεμπόδιση	Παρεμποδιστής
Ρυθμιστές του αυτοφαγικού σταδίου ωρίμανσης			
p38 MAPK	SB202190, SB202190, FR167653	Παρεμπόδιση	Παρεμποδιστής
Bcr-Abl	Imatinib	Παρεμπόδιση	Παρεμποδιστής

Πίνακας 3. Κινάσες που ρυθμίζουν την αυτοφαγία και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πράξη στο πλαίσιο της θεραπείας κατά του καρκίνου (Πηγή: Θωμόπουλος 2014).

Προβληματισμοί

Όπως έχει προαναφερθεί, τα ATG γονίδια συμμετέχουν πέραν της αυτοφαγίας και σε άλλες διεργασίες, όπως σηματοδοτικά μονοπάτια κυτταρικού θανάτου, ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου, του ανοσοποιητικού συστήματος, ευαισθησίας στην ινσουλίνη και διασφάλισης της γονιδιωματικής σταθερότητας . Κατά συνέπεια, οι μεταλλάξεις σε αυτά, αποτελούν τη βάση της παθογένειας διαφόρων ασθενειών (Levine et al., 2019).

Σε θεωρητικό επίπεδο, οι παρεμβάσεις που ενεργοποιούν ή αναστέλλουν την αυτοφαγία, παρουσιάζουν εκτεταμένο εύρος θεραπευτικών εφαρμογών. Παρ' όλα αυτά, εμπόδια είτε φαρμακολογικής είτε τεχνικής ή πειραματικής φύσης καθιστούν αδύνατη την άμεση χορήγηση των ρυθμιστών της αυτοφαγίας σε επίπεδο κλινικών δοκιμών (Galuzzi et al., 2017).

Συγκεκριμένα, η εφαρμογή αντικαρκινικών στρατηγικών θα πρέπει να εξεταστεί προσεκτικά όσον αφορά τις ανεπιθύμητες επιδράσεις σε μη καρκινικά κύτταρα. Πιθανώς να παρατηρηθούν βλαβερές επιπτώσεις στα φυσιολογικά κύτταρα, όπως οι νευρώνες. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι η γενετική αναστολή της αυτοφαγίας οδηγεί στην εμφάνιση νευροεκφυλιστικών χαρακτηριστικών που ενδεχομένως σχετίζονται με τη γήρανση (Aredia et al., 2012).

Λόγω της συμμετοχής των πρωτεϊνών της αυτοφαγίας σε ποικίλες σηματοδοτικές οδούς, η παρέμβαση κι η τροποποίησή τους μπορεί να οδηγήσει σε απορρύθμιση άλλων μονοπατιών με συνεπακόλουθες τις παρενέργειες. Προκειμένου να αποφευχθούν, προέχει ο κατάλληλος σχεδιασμός των φαρμακολογικών ρυθμιστών που να μπορούν να στοχεύουν με μεγαλύτερη ακρίβεια τους ιστούς που σχετίζονται με την ασθένεια και τις περισσότερες πρωτεΐνες που σχετίζονται με την αυτοφαγία. Επομένως, είναι προτιμητέα η στόχευση της επιλεκτικής αυτοφαγίας αντί της μη επιλεκτικής, ώστε να περιορισθούν οι πιθανές παρενέργειες (Lei et al., 2021).

Τα καρκινικά κύτταρα που είναι ανθεκτικά στις θεραπείες που προκαλούν απόπτωση, συμπεριλαμβανομένης της ακτινοβολίας, της χημειοθεραπείας και των ανταγωνιστών των αυξητικών παραγόντων, μπορούν να θανατωθούν από παράγοντες που επάγουν μαζική αυτοφαγική απόκριση, η οποία σκοτώνει τα κύτταρα με αυτοφαγικό

κυτταρικό θάνατο ή τύπου II-Programmed Cell Death, χωρίς την ενεργοποίηση κασπασών. Αυτή η προσέγγιση μπορεί να είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για καρκίνους προχωρημένων σταδίων ή ανθεκτικούς στη θεραπεία. Η αυτοφαγία οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο μέσω της απόπτωσης ή της νέκρωσης, μέσω της στόχευσης σηματοδοτικού μονοπατιού κάποιου αυξητικού παράγοντα. Αυτού του είδους οι θεραπείες αντιμετωπίζουν τα καρκινικά κύτταρα με δυσλειτουργική αυτοφαγική ικανότητα, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να μην επηρεάσουν τα φυσιολογικά κύτταρα λόγω μιας αυστηρά ελεγχόμενης αυτοφαγικής απόκρισης. Σύμφωνα με τα παραπάνω, οι ιδανικοί στόχοι θα ήταν εκείνοι που υπερεκφράζονται στα καρκινικά κύτταρα και εκείνοι που ρυθμίζουν αρνητικά την αυτοφαγία (Lei et al., 2021).

Η ακτινοθεραπεία, η χημειοθεραπεία και οι στοχευμένες θεραπείες (π.χ. Imatinib), ενεργοποιούν την αυτοφαγία ως προστατευτικό μηχανισμό επιβίωσης, διατηρώντας τα κατεστραμμένα μιτοχόνδρια για την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Η αναστολή της αυτοφαγίας μπορεί να ενισχύσει την αποτελεσματικότητα των αντικαρκινικών θεραπειών. Ωστόσο, δεν αποκλείεται να προκληθούν και παρενέργειες, δεδομένου ότι η αναστολή της αυτοφαγίας με φαρμακολογικούς αναστολείς ή με γενετική στόχευση γονιδίων αυτοφαγίας μπορεί να οδηγήσει σε απροσδόκητες εξελίξεις, όπως μειωμένη γονιδιωματική σταθερότητα. Οι ανησυχίες αυτές μπορούν να περιοριστούν εφόσον οι θεραπείες χορηγούνται σε συγκεκριμένο πλαίσιο για την ελαχιστοποίηση των παρενεργειών στους φυσιολογικούς ιστούς ή εάν οι εν λόγω θεραπείες στοχεύουν ειδικά στα καρκινικά κύτταρα με τη χρήση νανοτεχνολογίας ή φορέων που ανιχνεύουν τον όγκο (Lei et al., 2021).

Εν τω μεταξύ, έχουν διατυπωθεί ανησυχίες σχετικά με τη θεραπευτική αναστολή της αυτοφαγίας και την αύξηση συχνότητα εμφάνισης δευτερογενών όγκων ή άλλων ασθενειών. Έτσι, ακόμη και αν παρατηρηθούν βραχυπρόθεσμα οφέλη στην εξέλιξη των όγκων, απαιτείται παρακολούθηση των ασθενών σε βάθος χρόνου προτού ανιχνευθούν δευτερογενείς κακοήθειες (Rubinsztein et al., 2012).

Τα παραπάνω στοιχεία μαρτυρούν πως χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για την κατανόηση του τρόπου αναστολής ή ενεργοποίησης της αυτοφαγίας ανεξάρτητα από τις κυτταρικές διεργασίες και, ως εκ τούτου, την αξιοποίηση του πλήρους θεραπευτικού δυναμικού των ρυθμιστών της αυτοφαγίας (Galuzzi et al., 2017).

Τέλος, δεν έχουν προσδιοριστεί οι βέλτιστοι δείκτες παρακολούθησης αυτοφαγίας στα γενετικά μοντέλα ποντικού ή στον άνθρωπο. Αν και έχουν καθιερωθεί κατευθυντήριες γραμμές εκτίμησης της αυτοφαγίας στα κύτταρα (Klionsky et al., 2021), υπάρχουν λίγοι αξιόπιστοι δείκτες για τα μοντέλα ποντικών ενώ για τον άνθρωπο περιπλέκεται η κατάσταση. Αυτοί οι δείκτες θα διαλευκάνουν σε μεγάλο βαθμό το μυστήριο του τρόπου έναρξης ή εξέλιξης διαφόρων νόσων όπως και θα αποτελέσουν αξιόπιστους δείκτες αξιολόγησης των φαρμακολογικών τροποποιητών της αυτοφαγίας (Lei et al., 2021).

Επίλογος

Μια αρχικώς υποτιμημένη κυτταρική διεργασία αποικοδόμησης άχρηστων κυτταρικών συστατικών, η αυτοφαγία, βρέθηκε στο επίκεντρο με αφορμή την απονομή του Βραβείου Νόμπελ Φυσιολογίας/Ιατρικής το 2016 στον Ιάπωνα Yoshinori Ohsumi. Ο αριθμός των επιστημονικών δημοσιεύσεων που σχετίζονται με την κυτταρική αυτή διεργασία πληθαίνει και δεν είναι τυχαίο πως έχει έχει καθιερωθεί το επιστημονικό περιοδικό Autophagy. Τα τελευταία χρόνια, ο όρος αυτοφαγία έχει γίνει γνωστός και στο ευρύτερο κοινό με τη συσχέτισή του με συγκεκριμένα προγράμματα διατροφής όπως 16 ώρες νηστείας (fasting) σε συνδυασμό με πρωτεϊνική διατροφή. Η σχέση μεταξύ της αυτοφαγίας και της ανθρώπινης υγείας έχει αποτελέσει αντικείμενο αρκετών ερευνών τα τελευταία χρόνια, ενώ η δυσλειτουργική αυτοφαγία έχει συνδεθεί με την εκδήλωση ασθενειών, όπως ο καρκίνος, καρδιαγγειακές παθήσεις, μεταβολικά και φλεγμονώδη νοσήματα. Όλα τα παραπάνω σε συνδυασμό με τη εμφάνιση του COVID-19, αναδεικνύουν σε ακόμη μεγαλύτερο βαθμό τη σπουδαιότητα της κυτταρικής αυτής διεργασίας. Περισσότερες μελέτες σχετικά με τον ρόλο της αυτοφαγίας στις σπάνιες ασθένειες θα μπορούσαν να συνδράμουν και στην ανάπτυξη φαρμάκων για τη βελτίωση της υγείας των ασθενών. Επιπρόσθετα, αξίζει να τονισθεί ο ανερχόμενος ρόλος της επιλεκτικής αυτοφαγίας και της Διαμεσολαβούμενης Αυτοφαγίας από Μοριακές Συνοδούς στην παθοφυσιολογία, διότι μπορεί να βοηθήσει στον καλύτερο σχεδιασμό φαρμάκων. Δυσλειτουργίες στις οδούς της επιλεκτικής αυτοφαγίας αποτελούν τη βάση της παθοφυσιολογίας διαφόρων ασθενειών στον άνθρωπο. Χαρακτηριστικά αναφέρονται η μιτοφαγία και η επιλεκτική απομάκρυνση πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων,

αγκρεφαγία σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η ξενοφαγία σε μολυσματικές ασθένειες και η λιποφαγία σε μεταβολικές διαταραχές.

Μπορεί η αυτοφαγία φαινομενικά να αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο, θα πρέπει να σημειωθεί πως η πολυπλοκότητα της διαδικασίας ενδέχεται να δημιουργήσει και σημαντικά προβλήματα. Για παράδειγμα, στις μεταβολικές διαταραχές ο ρόλος της αυτοφαγίας είναι ιστοειδικός, γεγονός που υποδηλώνει ότι η φαρμακολογική διαμόρφωση της αυτοφαγίας μπορεί να οδηγήσει σε επιδείνωση των καταστάσεων. Το ερώτημα αν είναι προτιμητέα η επαγωγή ή η καταστολή της, μοιάζει με δίκικο μαχαίρι κι εξακολουθεί να αποτελεί φλέγον ζήτημα. Αναφορικά, για τη σχέση μεταξύ αυτοφαγίας και γήρανσης, ισχυρισμοί όπως: «η μειωμένη αυτοφαγία είναι επιζήμια» και «η αυξημένη αυτοφαγία είναι ευεργετική», αποτελούν απλοϊκές προσεγγίσεις. Συμπληρωματικά, σχετικά με τη μέτρηση της αυτοφαγικής δραστηριότητας επικρατεί σύγχυση όσον αφορά τις αποδεκτές μεθόδους αξιολόγησης της αυτοφαγίας, ιδίως στους πολυκύτταρους ευκαρυώτες.

Όσο περισσότερες μελέτες διενεργηθούν για τη σχέση αυτοφαγίας και υγείας, τόσο πιο πιθανό μοιάζει το ενδεχόμενο η φαρμακολογική της στόχευση, να εφαρμοσθεί στο πλαίσιο μιας ασφαλούς κι αποτελεσματικής θεραπευτικής προσέγγισης των ασθενειών.

Βιβλιογραφία

Ελληνική Βιβλιογραφία

Αγρυμάκις Εμ., Καπλάνης Σ., Σαββάκη Μ., Αυτοφαγία και Απομυελινωτικές Ασθένειες, Νευροανοσολογία 2:1-2020,8-16., όπως ανακτήθηκε στις 1/5/2022 από: http://www.helani.gr/uploads/5/1/8/0/51802431/%CE%A0%CE%B5%CF%81%CE%B9%CE%BF%CE%B4%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CC%81_%CE%9D%CE%B5%CF%85%CF%81%CE%BF%CE%B1%CE%BD%CE%BF%CF%83%CE%BF%CE%BB%CE%BF%CE%B3%CE%B9%CC%81%CE%B1_2%CE%BF_%CF%84%CE%B5%CF%85%CC%81%CF%87%CE%BF%CF%82.pdf

Θωμόπουλος Γ., Ειδικά θέματα βιολογίας κυττάρου: Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, University Studio Press, 2014.

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

Alcalay R.N, E. Caccappolo, H. Mejia-Santana, M.X. Tang, L. Rosado, B.M. Ross, et al. Frequency of known mutations in early-onset Parkinson disease: implication for genetic counseling: the consortium on risk for early onset Parkinson disease study .Arch. Neurol., 67 (2010), pp. 1116-1122

Amaravadi, R. K., & Winkler, J. D. (2012). Lys05: a new lysosomal autophagy inhibitor. Autophagy, 8(9), 1383–1384. <https://doi.org/10.4161/auto.20958>

Arakawa S, et al. Role of Atg5-dependent cell death in the embryonic development of Bax/Bak double-knockout mice. Cell Death Differ. 2017;24:1598–608. doi: 10.1038/cdd.2017.84.

Aredia F, Guamán Ortiz LM, Giansanti V, Scovassi AI. Autophagy and Cancer. Cells. 2012; 1(3):520-534. <https://doi.org/10.3390/cells1030520>

Ávalos, Y., Canales, J., Bravo-Sagua, R., Criollo, A., Lavandero, S., & Quest, A. F. (2014). Tumor suppression and promotion by autophagy. BioMed research international, 2014, 603980. <https://doi.org/10.1155/2014/603980>

Axe E.L., Walker S.A., Manifava M., Chandra P., Roderick H.L., Habermann A., Griffiths G., and Ktistakis N.T.. 2008. Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *J. Cell Biol.* 182:685–701

Balaburski GM, Hontz RD, Murphy ME. p53 and ARF: unexpected players in autophagy. *Trends Cell Biol.* 2010 Jun;20(6):363-9. doi: 10.1016/j.tcb.2010.02.007. Epub 2010 Mar 19. PMID: 20303758; PMCID: PMC2891045.

Bánréti, A., Sass, M., & Graba, Y. (2013). The emerging role of acetylation in the regulation of autophagy. *Autophagy*, 9(6), 819–829. <https://doi.org/10.4161/auto.23908>

Befani CD, Vlachostergios PJ, Hatzidaki E, Patrikidou A, Bonanou S, Simos G, Papandreou CN, Liakos P. Bortezomib represses HIF-1 α protein expression and nuclear accumulation by inhibiting both PI3K/Akt/TOR and MAPK pathways in prostate cancer cells. *J Mol Med (Berl).* 2012 Jan;90(1):45-54. doi: 10.1007/s00109-011-0805-8.

Birgisdottir AB, Lamark T, Johansen T. The LIR motif - crucial for selective autophagy. *J Cell Sci.* 2013 Aug 1;126(Pt 15):3237-47. doi: 10.1242/jcs.126128.

Briones-Herrera A., Gómez-Sierra T., Martínez-Klimova E., Bellido B., Pedraza-Chaverri J., Chapter 28, Targeting autophagy: lifestyle and pharmacological approaches, Editor(s): Beverly A. Rothermel, Abhinav Diwan, *Autophagy in Health and Disease (Second Edition)*, Academic Press, 2022, Pages 413-424, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822003-0.00010-3>.

Carew JS, Espitia CM, Esquivel JA 2nd, Mahalingam D, Kelly KR, Reddy G, Giles FJ, Nawrocki ST. Lucanthone is a novel inhibitor of autophagy that induces cathepsin D-mediated apoptosis. *J Biol Chem.* 2011 Feb 25;286(8):6602-13. doi: 10.1074/jbc.M110.151324.

Chang S.B, P. Miron, A. Miron, J.D. Iglehart, Rapamycin inhibits proliferation of estrogen-receptor-positive breast cancer cells, *J. Surg. Res.*, 138 (2007), pp. 37-44

Chavez-Dominguez R, Perez-Medina M, Lopez-Gonzalez JS, Galicia-Velasco M and Aguilar-Cazares D (2020) The Double-Edge Sword of Autophagy in Cancer: From Tumor Suppression to Pro-tumor Activity. *Front. Oncol.* 10:578418. doi: 10.3389/fonc.2020.578418

Chen M., X. Wu, G. Tao, C. Liu, J. Chen, L. Wang, P. Lu., Perifosine sensitizes curcumin-induced anti-colorectal cancer effects by targeting multiple signaling pathways both in vivo and in vitro, *Int. J. Cancer*, 131 (2012), pp. 2487-2498

Chen N, Eritja N, Lock R, Debnath J. Autophagy restricts proliferation driven by oncogenic phosphatidylinositol 3-kinase in three-dimensional culture. *Oncogene*. 2013;32(20):2543–2554. <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2012.277>.

Cheng, T.Q. Gao, Z. Wang, D.D. Li, Role of insulin/insulin-like growth factor 1 signaling pathway in longevity, *World J. Gastroenterol.*, 11 (2005), pp. 1891-1895

Choi AMK, Ryter SW, Levine B. Mechanisms of disease: autophagy in human health and disease. *The New England Journal of Medicine*. 2013;368(7):651–662.

Cicchini M., V. Karantza, B. Xia, Molecular pathways: autophagy in cancer—a matter of timing and context, *Clin. Cancer Res.*, 21 (2015), pp. 498-504

Cienhanover A., Intracellular protein degradation: From a vague idea through the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug-targeting., 2004., <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/ciechanover-lecture.pdf>

Choi Y, J.W. Bowman, J.U. Jung, Autophagy during viral infection — a double-edged sword, *Nat. Rev. Microbiol.*, 16 (6) (2018), pp. 341-354

Collins C.A., A. De Mazière, S. van Dijk, F. Carlsson, J. Klumperman, E.J. Brown Atg5-Independent sequestration of ubiquitinated mycobacteria, *PLoS Pathog.*, 5 (5) (2009), Article e1000430

Cuervo A.M., L. Stefanis, R. Fredenburg, P.T. Lansbury, D. Sulzer. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science*, 305 (2004), pp. 1292-1295

Cuervo A.M, E. Bergamini, U.T. Brunk, W. Dröge, M. Ffrench, A. Terman, Autophagy and aging: the importance of maintaining "clean" cells, *Autophagy*, 1 (2005), pp. 131-140

Cuervo A. M., 2010. Chaperone-mediated autophagy: selectivity pays off. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 21(3), 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.10.003>

Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, Adams JM. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. (2014) 15:49–63. doi: 10.1038/nrm3722

De Duve, C., Pressman, B. C., Gianetto, R., Wattiaux, R., & Appelmans, F. (1955). Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *The Biochemical journal*, 60(4), 604–617. <https://doi.org/10.1042/bj0600604>

Delgado, M., Deretic, V. Toll-like receptors in control of immunological autophagy. *Cell Death Differ* 16, 976–983 (2009). <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.40>

Denton D, Aung-Htut MT, Kumar S. Developmentally programmed cell death in *Drosophila*. *Biochim Biophys Acta*. 2013;833:3499–506.

Denton, D., Kumar, S. Autophagy-dependent cell death. *Cell Death Differ* **26**, 605–616 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0252-y>

Dice F., Peptide sequences that target cytosolic proteins for lysosomal proteolysis, *Trends in Biochemical Sciences*, Volume 15, Issue 8, 1990, Pages 305-309, [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(90\)90019-8](https://doi.org/10.1016/0968-0004(90)90019-8).

Duran A, Linares JF, Galvez AS, Wikenheiser K, Flores JM, Diaz-Meco MT, et al. The signaling adaptor p62 is an important NF-kappaB mediator in tumorigenesis. *CancerCell*. 2008;13(4):343354. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2008.02.001>.

Feng, Y., He, D., Yao, Z. et al., The machinery of macroautophagy. *Cell Res* **24**, 24–41 (2014). <https://doi.org/10.1038/cr.2013.168>

Füllgrabe J., Ghislat G., Cho D., Rubinsztein D., Transcriptional regulation of mammalian autophagy at a glance, *J Cell Sci* (2016) 129 (16): 3059–3066. <https://doi.org/10.1242/jcs.188920>

Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Mitochondria: master regulators of danger signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2012;13(12):780–788.

Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Levine B, Green DR, Kroemer G. Pharmacological modulation of autophagy: therapeutic potential and persisting obstacles. *Nat Rev Drug Discov*. 2017 Jul;16(7):487-511. doi: 10.1038/nrd.2017.22.

Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D. W., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Antonov, A. V., Arama, E., Baehrecke, E. H., Barlev, N. A., Bazan, N. G., Bernassola, F., Bertrand, M., Bianchi, K., Blagosklonny, M. V., ... Kroemer, G. (2018). Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell death and differentiation*, 25(3), 486–541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>

Gan B, Guan JL. FIP200, a key signaling node to coordinately regulate various cellular processes. *Cell Signal*. 2008;20:787–794.

Gatica, D., Lahiri, V., & Klionsky, D. J. (2018). Cargo recognition and degradation by selective autophagy. *Nature cell biology*, 20(3), 233–242. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0037-z>

Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J Pathol*. 2010 May;221(1):3-12. doi: 10.1002/path.2697

Goldsmith, J., Levine, B., & Debnath, J. (2014). Autophagy and cancer metabolism. *Methods in enzymology*, 542, 25–57. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416618-9.00002-9>

Guo JY, Karsli-Uzunbas G, Mathew R, Aisner SC, Kamphorst JJ, Strohecker AM, et al. Autophagy suppresses progression of K-ras-induced lung tumors to oncocytomas and maintains lipid homeostasis. *Genes & Development*. 2013;27(13):1447–1461. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.219642.113>.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. PMID: 21376230.

Hou H., Y. Zhang, Y. Huang, Q. Yi, L. Lv, T. Zhang, et al., Inhibitors of phosphatidylinositol 3'-kinases promote mitotic cell death in HeLa cells, *PLoS One*, 7 (2012), p. e35665

Huang Y, Chen L, Guo L, Hupp TR, Lin Y. Evaluating DAPK as a therapeutic target. *Apoptosis*. 2014;19(2):371–386.

Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, Kouno T, Nakada K, Hino O, et al. Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *The Journal of Cell Biology*. 2011;193(2):275–284.

Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Yamaguchi A, Imanishi H, et al. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science*. 2008;320(5876):661,664. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1156906>.

Jiang, P., & Mizushima, N. (2014). Autophagy and human diseases. *Cell research*, 24(1), 69–79. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.161>

Kang MR, Kim MS, Oh JE, Kim YR, Song SY, Kim SS, et al. Frame-shift mutations of autophagy-related genes ATG2B, ATG5, ATG9B and ATG12 in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability. *The Journal of Pathology*. 2009;217:702–706.

Kaushik S., Cuervo A., Chaperone-mediated autophagy: a unique way to enter the lysosome world, *Trends in Cell Biology*, Volume 22, Issue 8, 2012, Pages 407-417, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2012.05.006>.

Kenific CM, Debnath J. Cellular and metabolic functions for autophagy in cancer cells. *Trends Cell Biol*. 2015 Jan;25(1):37-45. doi: 10.1016/j.tcb.2014.09.001.

Kesidou E., R. Lagoudaki, O. Touloumi, K.N. Poulatsidou, C. Simeonidou, Autophagy and neurodegenerative disorders, *Neural. Regen. Res.*, 8 (2013), pp. 2275-2283

Kim MS, Jeong EG, Ahn CH, Kim SS, Lee SH, Yoo NJ. Frameshift mutation of UVRAG, an autophagy-related gene, in gastric carcinomas with microsatellite instability. *Human Pathology*. 2008;39(7):1059–1063. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2007.11.013>.

Kimura T, Takabatake Y, Takahashi A, Isaka Y. Chloroquine in cancer therapy: a double-edged sword of autophagy. *Cancer Res*. 2013 Jan 1;73(1):3-7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2464. Erratum in: *Cancer Res*. 2013 Feb 15;73(4):1446. PMID: 23288916.

Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA Jr, Emr SD, Sakai Y, Sandoval IV, Sibirny A, Subramani S, Thumm M, Veenhuis M, Ohsumi Y. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell*. 2003 Oct;5(4):539-45. doi: 10.1016/s1534-5807(03)00296-x. PMID: 14536056.

Klionsky, D.J.; Abdel-Aziz, A.K.; Abdelfatah, S.; Abdellatif, M.; Abdoli, A.; Abel, S.; Abeliovich, H.; Abildgaard, M.H.; Abudu, Y.P.; Acevedo-Arozena, A.; et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy* 2021, 17, 1–382.

Komatsu M, Kurokawa H, Waguri S, Taguchi K, Kobayashi A, Ichimura Y, et al. The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. *Nature Cell Biology*. 2010;12(3):213–223. <http://dx.doi.org/10.1038/ncb2021>.

Kroemer, G., Mariño, G., & Levine, B. (2010). Autophagy and the integrated stress response. *Molecular cell*, 40(2), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.023>

Kruse R, Pedersen AJ, Kristensen JM, Petersson SJ, Wojtaszewski JF, Højlund K. Intact initiation of autophagy and mitochondrial fission by acute exercise in skeletal muscle of patients with Type 2 diabetes. *Clin Sci (Lond)*. 2017 Jan 1;131(1):37-47.

Lassen K.G, P. Kuballa, K.L. Conway, K.K. Patel, C.E. Becker, J.M. Peloquin, E.J. Villablanca, J.M. Norman, T.-C. Liu, R.J. Heath, Atg16L1 T300A variant decreases

selective autophagy resulting in altered cytokine signaling and decreased antibacterial defense, Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States Am., 111 (21) (2014), pp. 7741-7746

Lee XC, Werner E, Falasca M. Molecular Mechanism of Autophagy and Its Regulation by Cannabinoids in Cancer. Cancers. 2021; 13(6):1211. <https://doi.org/10.3390/cancers13061211>

Lei Y, Klionsky DJ. The Emerging Roles of Autophagy in Human Diseases. Biomedicines. 2021; 9(11):1651. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111651>

Levine B, Guido Kroemer, Autophagy in the Pathogenesis of Disease, Cell, Volume 132, Issue 1, 2008, Pages 27-42, ISSN 0092-8674, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.018>.

Levine B., Klionsky D., Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine: Breakthroughs in baker's yeast fuel advances in biomedical research, <https://doi.org/10.1073/pnas.1619876114>

Levine B., Kroemer G., Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective, Cell, Volume 176, Issues 1–2, 10 January 2019, Pages 11-42, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.048>

Li J., T. Chong, Z. Wang, H. Chen, H. Li, J. Cao, P. Zhang, H. Li, A novel anti-cancer effect of resveratrol: reversal of epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer cells, Mol. Med. Rep., 10 (2014), pp. 1717-1724

Li Z., D. Oh, K. Nakamura, C.J. Thiele, Perifosine-induced inhibition of akt attenuates brain-derived neurotrophic factor/TrkB-induced chemoresistance in neuroblastoma in vivo Cancer, 117 (2011), pp. 5412-5422

Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. Nature. 1999;402(6762):672–676.

Liesa, M., & Shirihai, O. S. (2013). Mitochondrial dynamics in the regulation of nutrient utilization and energy expenditure. *Cell metabolism*, 17(4), 491–506. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.002>.

Liu Y, Shoji-Kawata S, Sumpter RM Jr., Wei Y, Ginet V, Zhang L, et al. Autosis is a Na⁺,K⁺-ATPase-regulated form of cell death triggered by autophagy-inducing peptides, starvation, and hypoxia-ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:20364–71.

Lock R, Roy S, Kenific CM, Su JS, Salas E, Ronen SM, et al. Autophagy facilitates glycolysis during Ras-mediated oncogenic transformation. *Molecular Biology of the Cell*. 2011;22(2):165–178.

Lock R, Debnath J. Ras, autophagy and glycolysis. *Cell Cycle*. 2011;10(10):1516–1517. <http://dx.doi.org/10.4161/cc.10.10.15434>.

Lőrincz P., Juhász G, Autophagosome-Lysosome Fusion, *Journal of Molecular Biology*, Volume 432, Issue 8, 2020, Pages 2462-2482, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.10.028>.

Lu Y, Dong S, Hao B, Li C, Zhu K, Guo W, Wang Q, Cheung KH, Wong CW, Wu WT, Markus H, Yue J. Vacuolin-1 potently and reversibly inhibits autophagosome-lysosome fusion by activating RAB5A. *Autophagy*. 2014;10(11):1895-905. doi: 10.4161/auto.32200.

Lynch-Day MA, Klionsky DJ. The Cvt pathway as a model for selective autophagy. *FEBS Lett*. 2010;584(7):1359-1366. doi:10.1016/j.febslet.2010.02.013

Maiuri MC, le Toumelin G, Criollo A, et al. Functional and physical interaction between Bcl-XL and a BH3-like domain in Beclin-1. *EMBO Journal*. 2007;26(10):2527–2539

Mariño G, Salvador-Montoliu N, Fueyo A, Knecht E, Mizushima N, López-Ot-ín C. Tissue-specific autophagy alterations and increased tumorigenesis in mice deficient in Atg4C/autophagin-3. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(25):18573–18583.

Martin, D.D.; Ladha, S.; Ehrnhoefer, D.E.; Hayden, M.R. Autophagy in Huntington disease and huntingtin in autophagy. *Trends Neurosci.* 2015, 38, 26–35.

Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, Vuong N, Chen G, Chen HY, et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell.* 2009;137(6):1062–1075. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.048>.

Meier, Jeffery & Grose, Charles. (2017). Variable Effects of Autophagy Induction by Trehalose on Herpesviruses Depending on Conditions of Infection. *The Yale Journal of Biology and Medicine.* 90. 25-33.

Melia, T. J., Lystad, A. H., & Simonsen, A. (2020). Autophagosome biogenesis: From membrane growth to closure. *The Journal of cell biology,* 219(6),. <https://doi.org/10.1083/jcb.202002085>

Miao G., H. Zhao, Y. Li, M. Ji, Y. Chen, Y. Shi, Y. Bi, P. Wang, H. Zhang., ORF3a of the COVID-19 virus SARS-CoV-2 blocks HOPS complex-mediated assembly of the SNARE complex required for autolysosome formation, *Dev. Cell,* 56 (4) (2021), pp. 427-442, e5

Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, Tanaka Y, Ishii T, George MD, Klionsky DJ, Ohsumi M, Ohsumi Y. A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature.* 1998 Sep 24;395(6700):395-8. doi: 10.1038/26506. PMID: 9759731.

Monica M. Mita, Alain Mita & Eric K. Rowinsky (2003) The Molecular Target of Rapamycin (mTOR) as a Therapeutic Target Against Cancer, *Cancer Biology & Therapy,* 2:sup1, 168-176, DOI: 10.4161/cbt.365

Morselli E, Galluzzi L, Kepp O, et al. Anti- and pro-tumor functions of autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Cell Research.* 2009;1793(9):1524–1532.

Morselli E, Shen S, Ruckenstein C, Bauer MA, Mariño G, Galluzzi L, Criollo A, Michaud M, Maiuri MC, Chano T, Madeo F, Kroemer G. p53 inhibits autophagy by interacting with the human ortholog of yeast Atg17, RB1CC1/FIP200. *Cell Cycle.* 2011 Aug 15;10(16):2763-9. doi: 10.4161/cc.10.16.16868. Epub 2011 Aug 15. PMID: 21775823.

Morselli E, Mariño G, Bennetzen MV, Eisenberg T, Megalou E, Schroeder S, Cabrera S, Bénit P, Rustin P, Criollo A, Kepp O, Galluzzi L, Shen S, Malik SA, Maiuri MC, Horio Y, López-Otín C, Andersen JS, Tavernarakis N, Madeo F, Kroemer G. Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. *J Cell Biol.* 2011 Feb 21;192(4):615-29. doi: 10.1083/jcb.201008167.

Mylonis I, Simos G, Paraskeva E. Hypoxia-Inducible Factors and the Regulation of Lipid Metabolism. *Cells.* 2019 Mar 3;8(3):214. doi: 10.3390/cells8030214.

Neill T., A. Torres, S. Buraschi, R.T. Owens, J.B. Hoek, R. Baffa, R.V. Iozzo, Decorin induces mitophagy in breast carcinoma cells via peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α) and mitostatin, *J. Biol. Chem.*, 289 (2014), pp. 4952-4968

Ohsumi Y., Historical landmarks of autophagy research. *Cell Res* 2014;24(1):9e23.

Ohsumi Y., Molecular Mechanisms of Autophagy in Yeasts, Nobel Lecture, 2016, <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/ohsumi-lecture.pdf>

Parzych, K. R., & Klionsky, D. J. (2014). An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxidants & redox signaling*, 20(3), 460–473. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5371>

Pecoraro, A., Pagano, M., Russo, G., & Russo, A. (2020). Role of Autophagy in Cancer Cell Response to Nucleolar and Endoplasmic Reticulum Stress. *International journal of molecular sciences*, 21(19), 7334. <https://doi.org/10.3390/ijms21197334>

Portilla-Fernandez E, Ghanbari M, van Meurs JBJ, Danser AHJ, Franco OH, Muka T, Roks A, Dehghan A. Dissecting the association of autophagy-related genes with cardiovascular diseases and intermediate vascular traits: A population-based approach. *PLoS One.* 2019 Mar 25;14(3):e0214137. doi: 10.1371/journal.pone.0214137.

Pyo JO, Jang MH, Kwon YK, Lee HJ, Jun JI, Woo HN, et al. Essential roles of Atg5 and FADD in autophagic cell death: dissection of autophagic cell death into vacuole formation and cell death. *J Biol Chem.* (2005) 280:20722–9. doi: 10.1074/jbc.M413934200

Racoma I.O., W.H. Meisen, Q.-E. Wang, B. Kaur, A.A. Wani, Thymoquinone inhibits autophagy and induces cathepsin-mediated, caspase-independent cell death in glioblastoma cells, *PLoS One*, 8 (2013), p. e72882

Razvi SS, Choudhry H, Moselhy SS, Kumosani TA, Hasan MN, Zamzami MA, Abualnaja KO, Al-Malki AL, Alhosin M, Asami T. Synthesis, screening and pro-apoptotic activity of novel acyl spermidine derivatives on human cancer cell lines. *Biomed Pharmacother.* 2017 Sep;93:190-201. doi: 10.1016/j.biopha.2017.06.019.

Reggiori F., Ungermann C., Autophagosome Maturation and Fusion, *Journal of Molecular Biology*, Volume 429, Issue 4, 2017, Pages 486-496. [ps://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.01.002](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.01.002).

Rosenberg, R.N.; Lambracht-Washington, D.; Yu, G.; Xia, W. Genomics of Alzheimer Disease: A Review. *JAMA Neurol.* 2016, 73, 867–874.

Rothermel B., Diwan A., *Autophagy in Health and Disease*, 2nd Edition, 2022, Academic Press, Elsevier

Rubinstein AD, Eisenstein M, Ber Y, Bialik S, Kimchi A. The autophagy protein Atg12 associates with antiapoptotic Bcl-2 family members to promote mitochondrial apoptosis. *Mol Cell.* (2011) 44:698–709. doi: 10.1016/j.molcel.2011.10.014

Rubinsztein, D., Codogno, P. & Levine, B. Autophagy modulation as a potential therapeutic target for diverse diseases. *Nat Rev Drug Discov* 11, 709–730 (2012). <https://doi.org/10.1038/nrd3802>

Ruppert SM, Li W, Zhang G, Carlson AL, Limaye A, Durum SK, et al. The major isoforms of Bim contribute to distinct biological activities that govern the processes of autophagy and apoptosis in interleukin-7 dependent lymphocytes. *Biochim Biophys Acta.* (2012) 1823:1877–93. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.06.017

Saha A., J. Blando, L. Tremmel, J. DiGiovanni, Effect of metformin, rapamycin, and their combination on growth and progression of prostate tumors in HiMyc mice, *Cancer Prev. Res.*, 8 (2015), pp. 597-606

Sahu R., Kaushik S., Clement C., Cannizzo E., Scharf B., Follenzi A., Potolicchio I., Nieves E., Cuervo A., Santambrogio L., Microautophagy of Cytosolic Proteins by Late Endosomes, *Developmental Cell*, Volume 20, Issue 1, 2011, Pages 131-139, <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2019.05.007>.

Saitoh, T., Fujita, N., Jang, M. et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 β production. *Nature* 456, 264–268 (2008). <https://doi.org/10.1038/nature07383>

Sato M., Seki T, Konno A., Hirai H., Kurauchi Y, Hisatsune A, Katsuki H., Rapamycin activates mammalian microautophagy, *Journal of Pharmacological Sciences*, Volume 140, Issue 2, 2019, Pages 201-204. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.12.003>.

Schapira A., Glucocerebrosidase and Parkinson disease: Recent advances, *Molecular and Cellular Neuroscience*, Volume 66, Part A, 2015, Pages 37-42, ISSN 1044-7431, <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.03.013>.

Scheele C, Nielsen AR, Walden TB, Sewell DA, Fischer CP, Brogan RJ, Petrovic N, Larsson O, Tesch PA, Wennmalm K, Hutchinson DS, Cannon B, Wahlestedt C, Pedersen BK, Timmons JA. Altered regulation of the PINK1 locus: a link between type 2 diabetes and neurodegeneration? *FASEB J*. 2007 Nov;21(13):3653-65. doi: 10.1096/fj.07-8520com.

Seki T, Katsuki H, Chapter 26 - Mammalian microautophagy: mechanism and roles in disease, Editor(s): Beverly A. Rothermel, Abhinav Diwan, *Autophagy in Health and Disease (Second Edition)*, Academic Press, 2022, Pages 385-397, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822003-0.00027-9>.

Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature*. 2006;441(7092):424–430.

Sheng, R., Qin, ZH. (2019). History and Current Status of Autophagy Research. In: Qin, ZH. (eds) *Autophagy: Biology and Diseases*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1206. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0602-4_1

Singh R, Cuervo AM. Lipophagy: Connecting autophagy and lipid metabolism. *International Journal of Cell Biology*. 2012;2012:282041. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/282041>.

Starr T., R. Child, Tara D. Wehrly, B. Hansen, S. Hwang, C. López-Otin, Herbert W. Virgin, J. Celli, Selective subversion of autophagy complexes facilitates completion of the *Brucella* intracellular cycle, *Cell Host Microbe*, 11 (1) (2012), pp. 33-45

Steele S, J. Brunton, B. Ziehr, S. Taft-Benz, N. Moorman, T. Kawula, *Francisella tularensis* harvests nutrients derived via ATG5-independent autophagy to support intracellular growth, *PLoS Pathog.*, 9 (8) (2013), Article e1003562

Takamura A, Komatsu M, Hara T, Sakamoto A, Kishi C, Waguri S, et al. Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. *Genes & Development*. 2011;25(8):795–800. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.2016211>.

Tallóczy Z, Virgin HW, IV, Levine B. PKR-dependent autophagic degradation of herpes simplex virus type 1. *Autophagy*. 2006;2:24–9

Umekawa M, Klionsky DJ. The Cytoplasm-to-Vacuole Targeting Pathway: A Historical Perspective. *Int J Cell Biol*. 2012;2012:142634. doi: 10.1155/2012/142634.

Vignot S., S. Faivre, D. Aguirre, E. Raymond, mTOR-targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives, *Ann. Oncol.*, 16 (2005), pp. 525-537

Wang RC, Wei Y, An Z, Zou Z, Xiao G, Bhagat G, et al. Akt-mediated regulation of autophagy and tumorigenesis through Beclin 1 phosphorylation. *Science*. 2012;338(6109):956-959. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1225967>.

Wang H, Lu Q, Cheng S, Wang X, Zhang H. Autophagy activity contributes to programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Autophagy*. 2013;9:1975–82.

Wei Y, Zou Z, Becker N, Anderson M, Sumpter R, Xiao G, et al. EGFR-mediated beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance. *Cell*. 2013;154(6):1,16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.015>.

Wen X, Klionsky DJ. At a glance: A history of autophagy and cancer. *Semin Cancer Biol.* 2020 Nov;66:3-11. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.11.005.

Wirawan E, Vande Walle L, Kersse K, Cornelis S, Claerhout S, Vanoverberghe I, et al. Caspase-mediated cleavage of Beclin-1 inactivates Beclin-1-induced autophagy and enhances apoptosis by promoting the release of proapoptotic factors from mitochondria. *Cell Death Dis.* (2010) 1:e18. doi: 10.1038/cddis.2009.16

Xilouri, M.; Vogiatzi, T.; Vekrellis, K.; Park, D.; Stefanis, L. Abberant alpha-synuclein confers toxicity to neurons in part through inhibition of chaperone-mediated autophagy. *PLoS ONE* 2009, 4, e5515.

Yamasaki A., Nobuo N., *Structural Biology of the Cvt Pathway*, *Journal of Molecular Biology*, Volume 429, Issue 4, 2017, Pages 531-542

Yang, S., Wang, X., Contino, G., Liesa, M., Sahin, E., Ying, H., et al. (2011). Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth. *Genes & Development*, 25, 717–729. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.2016111>.

Yang L, Li P, Fu S, Calay ES, Hotamisligil GS. Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. *Cell Metab.* 2010 Jun 9;11(6):467-78. doi: 10.1016/j.cmet.2010.04.005.

Yang, Yp., Hu, Lf., Zheng, Hf. et al. Application and interpretation of current autophagy inhibitors and activators. *Acta Pharmacol Sin* 34, 625–635 (2013). <https://doi.org/10.1038/aps.2013.5>

Yu, X., Long, Y. C., & Shen, H. M. (2015). Differential regulatory functions of three classes of phosphatidylinositol and phosphoinositide 3-kinases in autophagy. *Autophagy*, 11(10), 1711–1728. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1043076>

Yuan N, Song L, Zhang S, Lin W, Cao Y, Xu F, Fang Y, Wang Z, Zhang H, Li X, Wang Z, Cai J, Wang J, Zhang Y, Mao X, Zhao W, Hu S, Chen S, Wang J. Bafilomycin A1 targets both autophagy and apoptosis pathways in pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* 2015 Mar;100(3):345-56. doi: 10.3324/haematol.2014.113324.

Yue Z, Jin S, Yang C, Levine AJ, Heintz N. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA*. (2003) 100:15077–82. doi: 10.1073/pnas.2436255100

Zanotto-Filho A., E. Braganhol, K. Klafke, F. Figueiró, S.R. Terra, F.J. Paludo, et al., Autophagy inhibition improves the efficacy of curcumin/temozolomide combination therapy in glioblastomas, *Cancer Lett.*, 358 (2015), pp. 220-231

Zhao JX, Liu H, Lv J, Yang XJ. Wortmannin enhances cisplatin-induced apoptosis in human ovarian cancer cells in vitro. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(17):2428-34.

Zhang D, Li M, Qin Z-H. The Role of TIGAR-mediated Metabolic Processes in Autophagy and Cell Survival. *J Cell Signal* 2020; 1(4): 187-194.

Zhang Z, Yang X, Song YQ, Tu J. Autophagy in Alzheimer's disease pathogenesis: Therapeutic potential and future perspectives. *Ageing Res Rev*. 2021 Dec;72:101464. doi: 10.1016/j.arr.2021.101464.

Zhangyuan Yin, Clarence Pascual and Daniel J. Klionsky (2016). Autophagy: machinery and regulation. *Microbial Cell* 3(12): 588-596, doi: 10.15698/mic2016.12.546.

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.