

Received: 2016.01.11
Accepted: 2017.04.11
Published: 2017.09.21

Komórka na granicy życia i śmierci, czyli oddziaływania między procesami autofagii i apoptozy

The cell on the edge of life and death: Crosstalk between autophagy and apoptosis

Daniela Kasprowska-Liśkiewicz

Laboratorium Badań Molekularnych, Akademia Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach

Streszczenie

Przez ostatnie kilkanaście lat zależności między autofagią i apoptozą były przedmiotem intensywnych badań. Zaburzenia każdego z tych procesów zaangażowane są w etiologię licznych chorób. Wpływ autofagii i apoptozy na funkcjonowanie komórki i organizmu jest tym bardziej znaczący ze względu na istnienie złożonych interakcji pomiędzy tymi procesami. Autofagia odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy komórki, a jej nasilenie umożliwia komórce przetrwanie w warunkach stresu. Do uruchomienia procesów autofagii i apoptozy dochodzi często w odpowiedzi na te same bodźce stresowe, jednak aktywacja autofagii zazwyczaj znacznie poprzedza inicjację apoptozy. Autofagia i apoptoza podlegają kontroli przez te same regulatory, do których zaliczyć można: mediatory stresu, białka z rodziny BCL-2, liczne kinazy serynowo-treoninowe, czy rodzinę czynników transkrypcyjnych p53. Wzajemne oddziaływania inhibycyjne między autofagią i apoptozą zapobiegają jednoczesnej aktywacji w komórce programów śmierci komórki i mechanizmów prożyciowych. W niektórych przypadkach autofagia promuje śmierć komórki przez samostrawienie (proces nazywany autofagiczną śmiercią komórki) lub przez interakcje z innymi szlakami śmierci komórki. W artykule podsumowano wiadomości o wielopoziomowych oddziaływaniach między procesami autofagii i apoptozy, w kontekście wspólnych regulatorów tych procesów, wzajemnych oddziaływań inhibycyjnych, możliwości promowania apoptozy przez autofagię lub przez podstawowe białka tego procesu i kontrowersyjnej, w świetle ostatnich badań, śmierci komórki w wyniku autofagii.

Słowa kluczowe:

autofagia • apoptoza • białka rodziny BCL-2 • p53

Summary

Recently, the crosstalk between autophagy and apoptosis has attracted broader attention. Basal autophagy serves to maintain cell homeostasis, while the upregulation of this process is an element of stress response that enables the cell to survive under adverse conditions. Autophagy may also determine the fate of the cell through its interactions with cell death pathways. The protein networks that control the initiation and the execution phase of these two processes are highly interconnected. Several scenarios for the crosstalk between autophagy and apoptosis exist. In most cases, the activation of autophagy represents an attempt of the cell to cope with stress, and protects the cell from apoptosis or delays its initiation. Generally, the simultaneous activation of pro-survival and pro-death pathways is prevented by the mutual inhibitory crosstalk between autophagy and apoptosis. But in some circumstances, autophagy or the proteins of the core autophagic machinery may promote cellular

demise through excessive self-digestion (so-called “autophagic cell death”) or by stimulating the activation of other cell death pathways. It is controversial whether cells actually die via autophagy, which is why the term “autophagic cell death” has been under intense debate lately. This review summarizes the recent findings on the multilevel crosstalk between autophagy and apoptosis in aspects of common regulators, mutual inhibition of these processes, the stimulation of apoptosis by autophagy or autophagic proteins and finally the role of autophagy as a death-execution mechanism.

Keywords: autophagy • apoptosis • BCL-2 • family • p53

GICID: 01.3001.0010.4672
DOI: 10.5604/01.3001.0010.4672
Word count: 9107
Tables: –
Figures: 5
References: 103

Adres autorki: dr n. med. Daniela Kasprowska-Liśkiewicz, Akademia Wychowania Fizycznego im. J.Kukuczki ul. Mikołowska 72A, 40-065, Katowice, e – mail: d.kasprowska@awf.katowice.pl

Wykaz skrótów: **ACD** – autofagiczna śmierć komórki (autophagic cell death), **AMBRA1** – białko aktywujące w autofagii regulowanej przez Beklinę 1 (activating molecule in Beclin1-regulated autophagy), **AMPK** – kinaza aktywowana AMP (AMP-activated protein kinase), **ATF** – aktywujący czynnik transkrypcyjny (activating transcription factor), **ATG** – geny związane z autofagią (autophagy related gene), **BAK** – Bcl-2 homologous antagonist killer, **BAX** – Bcl-2-associated X protein, **BCL-2** – B-cell lymphoma 2, **BCL-XL** – B-cell lymphoma-extra large, **BAD** – BCL-2-associated death promoter, **BID** – BH3 interacting-domain death agonist, **BIM** – BCL-2-like protein 11, **[Ca²⁺]_i** – wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia, **CaMKK** – kinaza kinaz zależnych od kalmoduliny i Ca²⁺ (calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase), **CHOP** – białko homologiczne do C/EBP (C/EBP homologous protein), **DAPK** – kinazy białkowe związane ze śmiercią (death associated protein kinase), **DD** – domena śmierci (death domain), **DED** – efektorowa domena śmierci (death effectordomain), **DISC** – kompleks sygnałowy indukujący apoptozę (death-inducing signaling complex), **DLC1** – lekki łańcuch dyneiny (dynein light chain 1), **DRAM** – modulator autofagii regulowany uszkodzeniami (damage regulated autophagy modulator), **GABARAP** – białko związane z receptorem GABA (GABA receptor-associated protein), **HMGGB1** – białko o dużej ruchliwości elektroforetycznej

(high mobility group box 1), **eIF2A** – eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 2A (eukaryotic translation initiation factor 2A), **eIF4F** – eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4F (eukaryotic translation initiation factor 4F), **ER** – retikulum endoplazmatyczne (endoplasmic reticulum), **ERK** – kinazy regulowane sygnałami zewnątrzkomórkowymi (extra cellular signal-regulated kinases), **ERN1** – białko przekazujące sygnał z ER do jądra 1 (ER to nucleus signalling 1 protein), **IMS** – przestrzeń międzybłonowa (inter membrane space), **JNK** – kinaza fosforylująca N-terminalną część białka Jun (c-Jun N-terminal kinases), **LMP** – uprzepuszczalność błony lizosomalnej (lysosomal membrane permeabilization), **LKB1** – kinaza wątrobowa B1 (liver kinase B1), **NAF – 1** – czynnik indukujący autofagię w odpowiedzi na deprywację składników odżywczych (nutrient deprivation autophagy factor 1), **NOXA** – phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1, **MAPK** – kinazy białkowe aktywowane mitogenami (mitogen-activated protein kinase), **MCL-1** – induced myeloid leukemia cell differentiation protein, **MOMP** – uprzepuszczalność zewnętrznej błony mitochondrialnej (mitochondrial outer membrane permeabilization), **mTOR** – ssaczy cel rapamycyny (mammalian target of rapamycin), **PERK** – kinaza białkowa umiejscowiona w retikulum endoplazmatycznym (protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase), **PI3K** – kinaza 3-fosfatydilinozytolu (phosphoinositide 3-kinase), **PKB** – kinaza białkowa B (protein kinase B), **PUMA** – p53 upregulated modulator of apoptosis, **RSK** – kinazy rybosomalne s6 (ribosomal s6 kinase), **TRAF2** – czynnik związany z receptorem TNF 2 (TNF receptor-associated factor 2), **ULK1** – kinaza serynowo-treoninowa, uczestnicząca w inicjacji autofagii (uncoordinated-51-like kinase-1), **UPR** – odpowiedź na niesfałdowane białka (unfolded protein response), **UVRAG** – białko oddziałujące z Bekliną 1 (UV irradiation resistance-associated gene), **VMP1** – białko błonowe wakuol 1 (vacuole membrane protein 1).

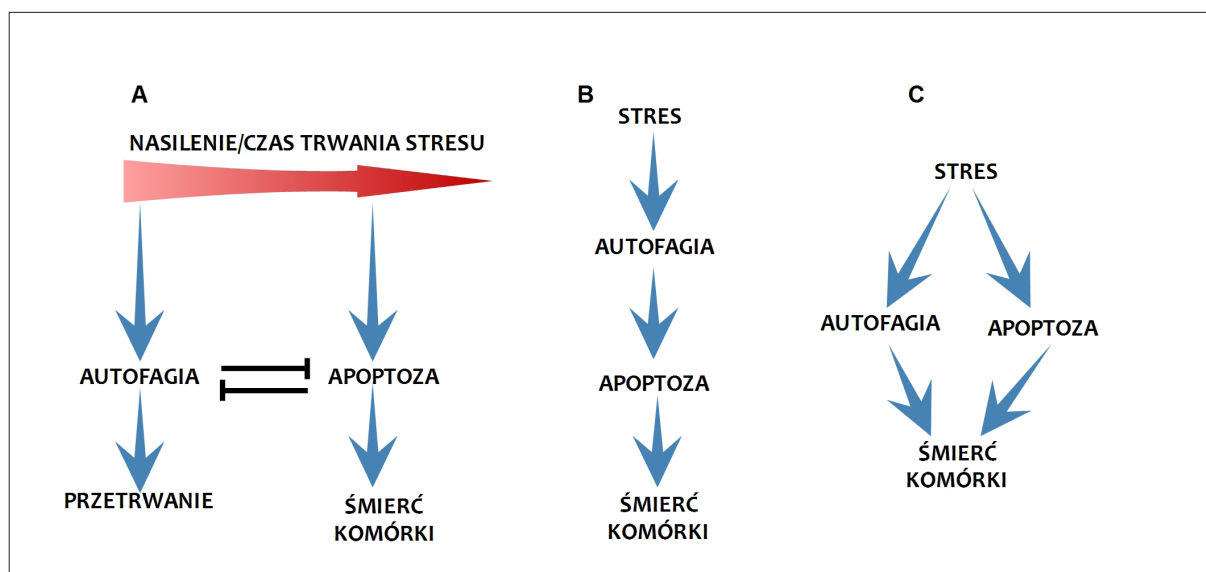
WPROWADZENIE

Apoptoza jest najlepiej dotychczas scharakteryzowanym procesem programowej śmierci komórki. Makroautofagia (tutaj „autofagia”) natomiast jest definiowana jako mechanizm wewnątrzkomórkowej degradacji składników cytoplazmatycznych, w przebiegu którego są trawione wytworzone w nadmiarze, stare lub uszkodzone makrocząsteczki oraz organella komórkowe [60]. Oba procesy występują na wszystkich poziomach ewolucji eukariontów i mają podstawowe znaczenie w rozwoju i funkcjonowaniu organizmów oraz w utrzymaniu homeostazy komórek i tkanek. Podczas ontogenezy apoptoza odpowiada za kształtowanie organów, przebudowę tkanek, kontrolę liczby komórek oraz likwidację struktur niepotrzebnych w życiu postembrionalnym. Jest również ważnym mechanizmem służącym do usuwania zbędnych i potencjalnie niebezpiecznych komórek, przez co działa przeciwnowotworowo [56]. Autofagia spełnia liczne role zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych: uczestniczy w rozwoju osobniczym, w procesach przeciwdziałających starzeniu, w usuwaniu zbędnych elementów komórki, w eliminacji mikroorganizmów, w hamowaniu nowotworzenia oraz stanowi odpowiedź adaptacyjną na niedobór składników odżywczych oraz stres oksydacyjny i ciepły [60]. Zaburzenia zarówno apoptozy, jak i autofagii towarzyszą wielu chorobom, m.in. autoimmunizacyjnym, neurodegeneracyjnym i nowotworowym [74,96].

Apoptoza i autofagia spełniają odmienne funkcje i mają różne cechy morfologiczne i biochemiczne, jednak między ścieżkami sygnałowymi kontrolującymi zarówno fazy inicjacji, jak i egzekucji obu procesów zachodzą liczne interakcje (ryc. 1). Podstawową rolą autofagii jest umożliwienie komórce przetrwania w warunkach stresu [79]. Dlatego oba procesy obserwuje się często

w jednej komórce w odpowiedzi na te same bodźce, jednak aktywacja autofagii zazwyczaj znacznie poprzedza inicjację apoptozy (ryc. 1A). Nie jest więc zaskoczeniem, że autofagia i apoptoza podlegają kontroli przez te same regulatory, do których zaliczyć można: mediatory stresu, białka z rodziny BCL-2 (B-cell lymphoma 2), liczne kinazy serynowo-treoninowe, czy rodzinę czynników transkrypcyjnych p53. Autofagii, mającej ochronić komórkę przed śmiercią, często towarzyszy inhibicja apoptozy (ryc. 1A). Do aktywacji programów śmierci dochodzi wówczas, gdy nasilenie lub czas trwania stresu sprawiają, że mechanizmy adaptacyjne nie mogą dłużej zapewnić komórce przetrwania. Najczęściej towarzyszy temu supresja procesów prożyciowych (ryc. 1A) [4,56]. Niekiedy autofagia indukuje apoptozę lub wręcz jest niezbędna do jej przebiegu (ryc. 1B) [79]. W przypadku farmakologicznej lub spowodowanej defektem genetycznym inhibicji apoptozy autofagia może pełnić rolę mechanizmu kompensacyjnego. Ponadto oba procesy mogą współdziałać w egzekucji śmierci komórki (ryc. 1C) [16].

Wielopoziomowa komunikacja między procesami autofagii i apoptozy jest osiągnięciem ewolucyjnym, które umożliwia bardziej precyzyjną i kontrolowaną odpowiedź komórki na stres. Jednak istnienie złożonych interakcji między tymi procesami powoduje, że zaburzenia jednego z nich mają znaczący wpływ na funkcjonowanie komórki i organizmu, przez co są zaangażowane w etiologię wielu chorób. Przez ostatnie kilkanaście lat szlaki przekazywania sygnałów odpowiadające za interakcje między autofagią i apoptozą były przedmiotem intensywnych badań. Celem pracy jest usystematyzowanie dotychczas zgromadzonej wiedzy. Opis różnych scenariuszy interakcji między autofagią i apoptozą poprzedzono krótką charakterystyką mechanizmów molekularnych obu tych procesów.



Ryc. 1. Scenariusze oddziaływań między autofagią i apoptozą. Opis w tekście

APOPTOZA – MECHANIZMY MOLEKULARNE

W procesie apoptozy główną rolę odgrywiają dwie rodziny białek: kaspazy, proteazy cysteinowe, które degradują białka w miejscu występowania reszty kwasu asparaginowego oraz rodzina białek BCL-2 [15]. Apoptoza może przebiegać dwoma podstawowymi szlakami: zewnątrz- i wewnątrzpochodnym [22].

Ścieżka wewnątrzpochodna jest aktywowana przez sygnały stresu wewnątrzkomórkowego, takie jak: uszkodzenie DNA, stres oksydacyjny, wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia ($[Ca^{2+}]$), czy akumulacja nieprawidłowo pofałdowanych białek. Wszystkie te czynniki inicjują apoptozę przez wspólny mechanizm zależny od mitochondriów. Bódcze stresowe powodują przeciążenie wewnątrzkomórkowych sygnałów promujących przetrwanie poprzez sygnały proapoptotyczne, co wywołuje przepuszczalność zewnętrznej błony mitochondrialnej (mitochondria outer membrane permeabilization, MOMP). Z powodu MOMP dochodzi do utraty mitochondrialnego potencjału przezbłonowego, zahamowania wytwarzania ATP, zatrzymania aktywności łańcucha oddechowego oraz uwalniania z mitochondrialnej przestrzeni międzybłonowej (inter membrane space, IMS) białek proapoptotycznych [22]. Jednym z nich jest cytochrom C, który aktywuje umiejscowione w cytoplazmie białko Apaf1, doprowadzając do formowania apoptosomu tworzącego platformę aktywacyjną dla kaspazy 9. Proces ten jest decydującym elementem inicjacji szlaku wewnątrzpochodnego apoptozy, gdyż holoenzym apoptosom – kaspaza-9 odpowiada następnie za aktywację kaspaz efektorowych, tj. kaspazy-3, -6

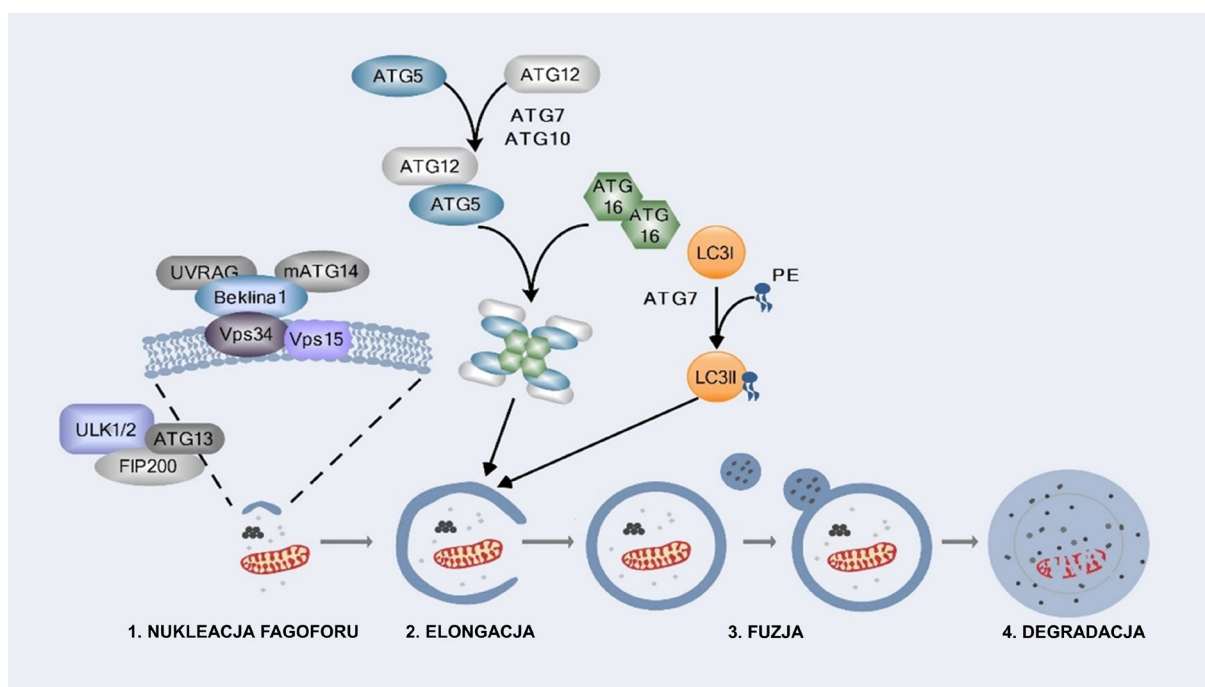
i -7 [18]. Za regulację wewnątrzpochodnej ścieżki apoptozy odpowiadają białka zaliczane do rodziny BCL-2 [98].

Zewnątrzpochodne ścieżki apoptozy są aktywowane przez indukujące śmierć ligandy wiążące się do receptorów powierzchniowych komórki. Następnie kompleksy ligand-receptor rekrutują cytoplazmatyczne białko adaptorowe FADD oraz kaspazę-8 (lub kaspazę-10), formując w ten sposób, analogiczny do apoptosomu, kompleks sygnałowy indukujący apoptozę (death inducing signalling complex, DISC) [17]. Białko adaptorowe FADD zawiera domenę śmierci (death domain, DD), która wiąże się z analogiczną domeną receptora powierzchniowego oraz efektorową domenę śmierci DED (death effector domain), dzięki której może oddziaływać z prokaspazami-8 i -10. W kompleksie DISC dochodzi następnie do aktywacji tych kaspaz. Kaspaza-10, mimo że ma wiele wspólnych cech z kaspazą-8, nie jest wystarczająca do inicjacji apoptozy [74]. Aktywacja kaspazy-8 może bezpośrednio prowadzić do śmierci komórki przez cięcie kaspaz efektorowych lub pośrednio inicjując mitochondrialny szlak apoptozy [90].

AUTOFAGIA

Mechanizmy molekularne

Autofagia jest czteroetapowym procesem, na który składają się fazy: (1) indukcji polegającej na utworzeniu błony izolującej zwanej fagoforem; (2) elongacji fagoforu i jego przekształcenia w zamknięty i otoczony podwójną błoną autofagosom, który zawiera część cytoplazmy i/lub organella; (3) fuzji zewnętrznej błony autofagosomu



Ryc. 2. Przebieg procesu autofagii. Opis w tekście

z lizosomem i utworzenia autofagolizosomu; (4) degradacji wewnętrznej błony autofagolizosomu oraz jego zawartości przez enzymy lizosomalne (ryc. 2) [68,75]. W przebiegu autofagii decydującą rolę odgrywają białkowe produkty genów związanych z autofagią – ATG (autophagy related gene) [96].

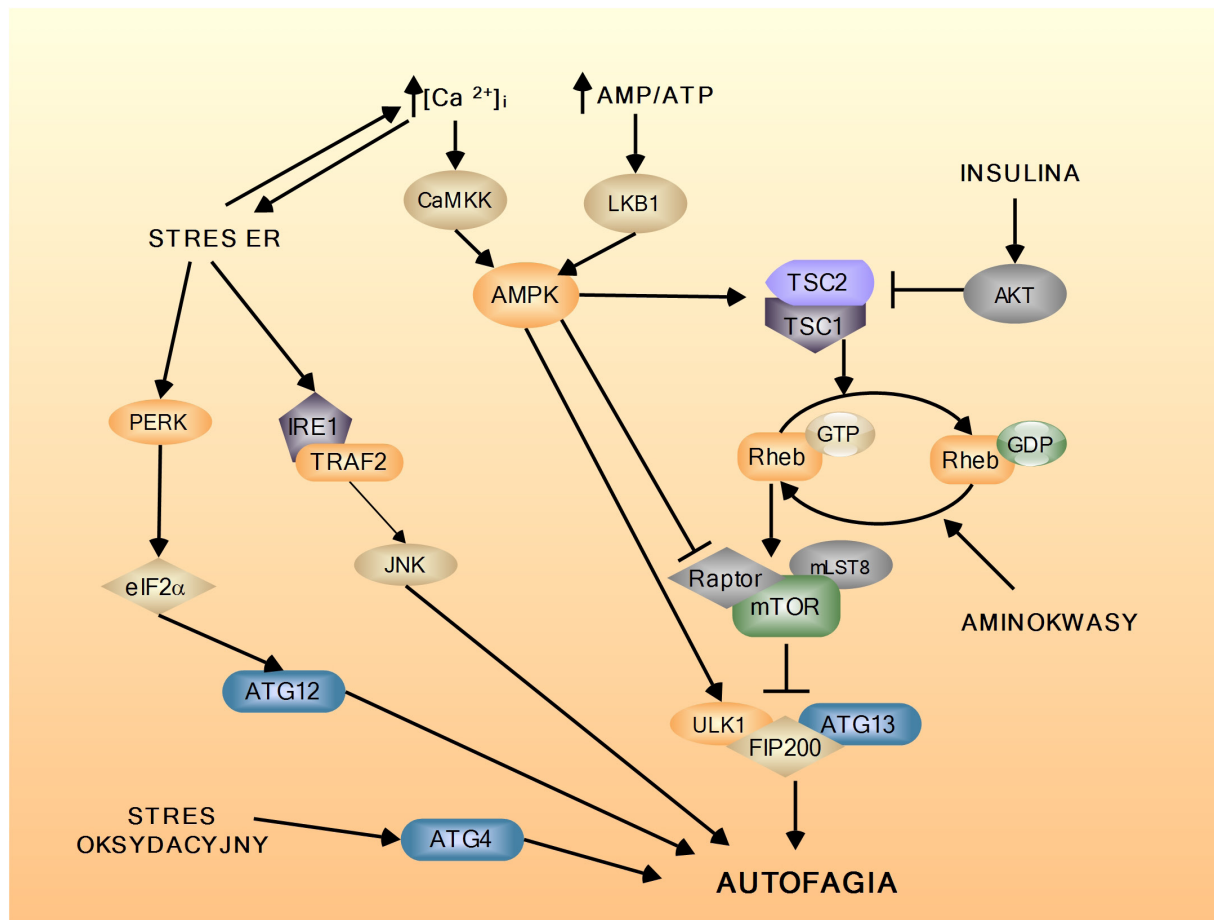
U ssaków błony fagoforu mogą prawdopodobnie powstawać z: retikulum endoplazmatycznego (ER), mitochondriów, aparatu Golgiego, endosomów i błony komórkowej [82].

Podczas inicjacji autofagii dochodzi do aktywacji kompleksów ULK1/2 –ATG13 –FIP200, które rekrutują do obszaru indukcji inne białka ATG [24]. Znaczącą rolę w fazie nukleacji odgrywają także dwa białka przezbłonowe ATG9 i białko błonowe wakuol 1 (VMP1) [71]. Proces nukleacji wymaga aktywności kompleksu złożonego z kinazy-3-fosfatydyloinozytolo (PI3K) klasy III – Vps34, białka regulującego jej aktywność – Vps15 oraz barkor/mATG14 i bekliny-1. Do jego utworzenia niezbędna jest interakcja z białkiem UVRAG (UV irradiation resistance-associated gene). Kompleks wytwarza niezbędny do elongacji fagoforu fosfatydyloinozytolo – 3,4,5-trifosforan. Ponadto wspólnie z innymi białkami ATG rekru-

tuje dwa układy koniugacji białek, podobne do systemu ubikwitynacji, odgrywające główną rolę w tworzeniu autofagosomu: ATG12-ATG5-ATG16 oraz LC3 – fosfatydyloetanoloamina [96]. W procesie koniugacji w tych układach uczestniczą: proteaza ATG4 (tnie LC3 na końcu C), białko ATG7 pełniące rolę enzymu typu E1 (w obu układach) oraz działające jako E2 ATG10 (w układzie koniugacji ATG12) i ATG3 (w układzie LC3). Wskutek elongacji błon pęcherzyka dochodzi do sekwestracji w jego wnętrzu materiału cytoplazmatycznego. Za fuzję autofagosomu z lizosomem odpowiadają białka typu SNARE. Następuje strawienie wewnętrznej błony pęcherzyka oraz jego zawartości przez enzymy lizosomalne (ryc. 2). W wyniku degradacji powstają proste cząsteczki, głównie aminokwasy, które są uwalniane do cytoplazmy [24].

Regulacja autofagii

W warunkach fizjologicznych podstawowy poziom autofagii zapewnia komórkom utrzymanie homeostazy, przez udział w obrocie białek, organelli i składników cytoplazmy. W sytuacji stresu komórkowego autofagia się nasila. Do induktorów autofagii, oprócz niedoboru składników pokarmowych, należą: gromadzenie wolnych rodników, wzrost $[Ca^{2+}]_i$, stres ER i hipoksja (ryc. 3) [60].



Ryc. 3. Regulacja autofagii. Opis w tekście

Indukcja autofagii zależy od dostępności składników odżywczych, która jest określana przez obecność aminokwasów, insuliny i innych czynników wzrostu oraz aktywność kinazy aktywowanej AMP (AMP activated kinase, AMPK). Wszystkie te elementy oddziałują przez szlak kinazy mTOR (ssaczy cel rapamycyny) [7], który w sytuacji dostatku składników odżywczych promuje wzrost komórki i syntezę białek oraz hamuje autofagię. Aktywna mTOR fosforyluje i inaktywuje ULK1/2 oraz ATG13 uniemożliwiając w ten sposób indukcję autofagii. Za regulację mTOR odpowiada kompleks tworzony przez hamartynę i tuberynę (TSC1/TSC2) oraz małe białko wiążące GTP – Rheb. Dimer TSC1/TSC2 powoduje hydrolizę GTP inaktywując Rheb i uniemożliwiając mu aktywację mTOR [58]. Liczne cząsteczki sygnałowe wpływają na aktywność mTOR przez oddziaływanie na te regulatory. Insulina i inne czynniki wzrostu aktywują kinazę białkową B (protein kinase B, PKB), kinazy regulowane sygnałami zewnątrzkomórkowymi (extra cellular signal-regulated kinases, ERK), kinazy rybosomalne s6 (ribosomal s6 kinase, RSK) poprzez szlak PI3K [9]. Kinazy te fosforylują TSC2 uniemożliwiając przez to tworzenie dimeru TSC1/TSC2 [58]. Przeciwnie działa aktywna kinaza AMPK, która na skutek hamowania sygnalizacji zależnej od mTOR pobudza proces autofagii. Wzrost stosunku stężenia AMP do ATP uaktywnia AMPK przez kinazę wątrobową B1 (liver kinase B1, LKB1). Inną nadrzędną kinazą aktywującą AMPK jest kinaza kinaz zależnych od kalmoduliny i Ca^{2+} (calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase, CaMKK), której aktywność indukowana jest wysokim $[Ca^{2+}]_i$ [91]. Aktywna AMPK nasila autofagię hamując kompleks mTORC1 przez fosforylację TSC2. AMPK może również promować autofagię bezpośrednio aktywując ULK1 [35].

W mechanizm autofagii indukowanej stresem ER są zaangażowane dwie ścieżki sygnałowe: PERK (kinaza białkowa umiejscowiona w retikulum endoplazmatycznym)/eIF2A (eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 2A) oraz ERN1 (białko przekazujące sygnał z ER do jądra 1)/TRAF2 (czynnik związany z receptorem TNF 2)/JNK (kinaza fosforylująca N-terminalną część białka Jun) [49]. Prawdopodobnie eIF2A ostatecznie aktywuje autofagię powodując wzrost ekspresji białka ATG12 oraz nasilenie konwersji LC3-I do LC3-II [38]. Ponadto uwalnianie Ca^{2+} z ER może prowadzić do indukcji autofagii w szlaku CaMKK/AMPK/mTORC1 [29]. Nadmierne gromadzenie reaktywnych form tlenu również wzmacnia proces autofagii [80].

W regulację autofagii są zaangażowane również białka z rodziny BCL-2, które kontrolują aktywność bekliny-1, co szczegółowo opisano w następnym rozdziale.

WSPÓLNE REGULATORY AUTOFAGII I APOPTOZY

Rodzina białek BCL-2

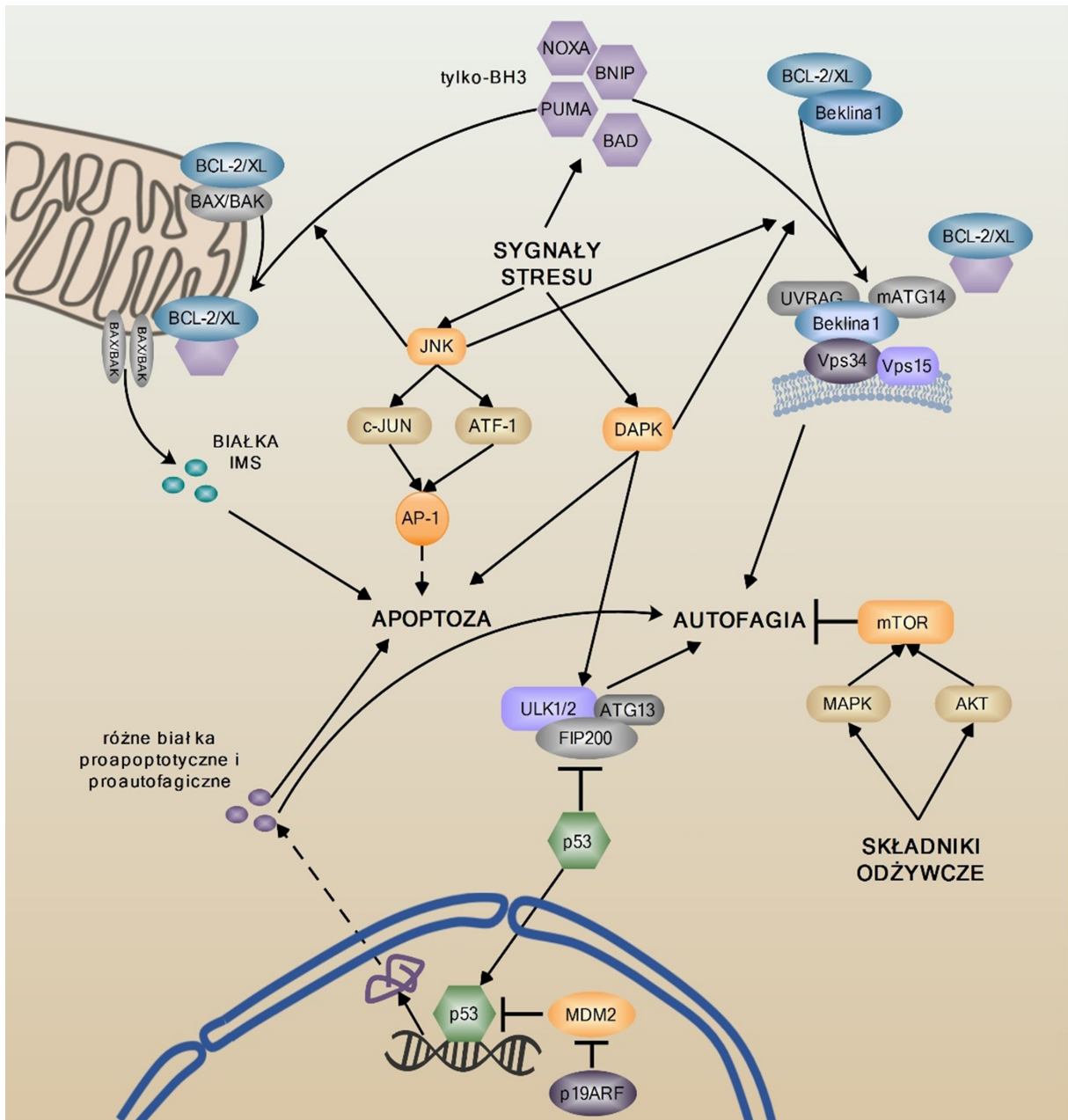
Białka należące do rodziny BCL-2 zostały bardzo dobrze scharakteryzowane jako regulatory wewnątrzpochod-

nego szlaku apoptozy. Pojawia się coraz więcej doniesień opisujących ich rolę w kontrolowaniu procesu autofagii (ryc. 4).

Białka należące do rodziny BCL-2 zostały bardzo dobrze scharakteryzowane jako regulatory wewnątrzpochodnego szlaku apoptozy. Pojawia się coraz więcej doniesień opisujących ich rolę w kontrolowaniu procesu autofagii (ryc. 4). Antyapoptotyczne białka rodziny BCL-2, tj. BCL-2, BCL-XL (B-cell lymphoma-extra large), BCL-W (Bcl-2-like protein 2), MCL-1 (induced myeloid leukemia cell differentiation protein) i BFL-1/A1 (Bcl-2-related protein A1) wykazują strukturalną homologię w obrębie czterech domen BH (BH1-4). Hamują aktywność proapoptotycznych białek efektorowych należących do rodziny BCL-2, tj. BAK (Bcl-2 homologous antagonist killer) i BAX (BCL-2-associated X protein), które zawierają domeny BH1-3 [25]. Natomiast tzw. białka BH3-only, do których zalicza się m.in.: BIM (BCL-2-like protein 11), PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis), BID (BH3 interacting-domain death agonist), BAD (BCL-2-associate death promoter) i NOXA (Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1), wykazują homologię wzajemną oraz względem innych członków rodziny BCL-2 jedynie przez domenę BH3 [98]. Niedawno domenę BH3 zidentyfikowano również w sekwencji głównego inicjatora autofagii – bekliny-1 [83].

W inicjacji wewnątrzpochodnego szlaku apoptozy decydujący krok stanowi MOMP – proces, w którym główną rolę odgrywają BAK i BAX [98]. Białka rodziny BCL-2, takie jak BCL-2, MCL-1 czy BCL-XL wiążąc BAK i BAX chronią przed wystąpieniem MOMP. Białka BH3-only pełnią funkcję sensorów wewnątrzkomórkowych sygnałów proapoptotycznych i inicjują szlaki śmierci regulując aktywność antyapoptotycznych białek rodziny BCL-2 lub proapoptotycznych BAK i BAX. Niektóre z nich, np. BIM, tBID i PUMA, mogą bezpośrednio aktywować BAK i BAX. Inne natomiast (np. BAD, NOXA) wiążą się do BCL-2 lub BCL-XL umożliwiając uwolnienie BAK i BAX oraz inicjację mitochondrialnej ścieżki apoptozy [90].

Antyapoptotyczne białka należące do rodziny BCL-2, tj. BCL-2, BCL-XL oraz MCL-1 pełnią również funkcję negatywnych regulatorów autofagii. Beklina-1 poprzez swoją domenę BH3 wiąże się do tych białek, uniemożliwiając jej udział w inicjacji autofagii. BCL-2, BCL-XL oraz MCL-1 zakotwiczone w błonach ER bardziej efektywnie hamują autofagię niż umiejscowione w mitochondriom [57]. Zależna od lokalizacji komórkowej zdolność białek BCL-2 do wiązania bekliny-1 może być związana z działaniem czynnika NAF-1 (nutrient deprivation autophagy factor 1). Białko to prawdopodobnie stabilizuje kompleks BCL-2 – beklina-1 w ER. Utrata funkcji NAF-1 powoduje przerwanie oddziaływań BCL-2 – beklina-1 i indukcję autofagii. W warunkach stymulujących autofagię, np. podczas głodzenia, niektóre białka BH3-only (BAD, BNIP3, NIX, NOXA i PUMA) kompetycyjnie do bekliny-1 wiążą antyapoptotyczne białka BCL2. Dochodzi do uwolnienia bekliny-1, co umożliwia tworzenie kompleksu PI3K niezbędnego do nukleacji fagoforu [56]. BAX, tak



Ryc. 4. Wspólne regulatory autofagii i apoptozy. Opis w tekście

jak inne białka BH3-only, może przerwać wiązanie BCL-2 – beklina-1, jednak wydaje się, że działa hamująco, a nie stymulująco na autofagię. Jest to prawdopodobnie związane ze zdolnością BAX do promowania degradacji beklina-1 (zob. dalej), a nie z oddziaływaniem na kompleks BCL-2-beklina-1 [53].

Istotne z punktu widzenia interakcji między autofagią i apoptozą jest to, że niezależnie od lokalizacji komórkowej, wiązanie beklina-1 do BCL-2/BCL-XL nie ma wpływu na antyapoptotyczne działanie tych białek [8]. Beklina-1 jest więc białkiem BH3-only niezdolnym do inicjacji apoptozy. Wyjaśnienie dokładnego podłoża tego mechanizmu wymaga dalszych badań. Może być zwią-

zany z tym, że beklina-1 w porównaniu do innych białek BH3-only wykazuje słabsze powinowactwo do BCL-2, prawdopodobnie nie jest więc zdolna do wyparcia proapoptotycznych białek BAX i BAK z kompleksów z BCL-2. Możliwe scenariusze wyjaśniające molekularne podłożę tego zjawiska omówili dokładnie Boy i Kroemer [6].

W 2014 r. Lindqvist i wsp. zakwestionowali szeroko akceptowany pogląd, że antyapoptotyczne białka należące do rodziny BCL-2 hamują autofagię przez wiązanie beklina-1. Wykazali, że w komórkach pozbawionych BAK i BAX mimetyk BH3 o symbolu ABT-737 nie jest zdolny do indukcji autofagii. Zaproponowany przez autorów alternatywny mechanizm zakłada, że białka BCL-2, BCL-XL

i MCL-1 hamują autofagię nie przez wiązanie bekliny-1, a pośrednio oddziałując na BAK i BAX. Natomiast do indukcji autofagii dochodzi w wyniku aktywacji apoptozy za pośrednictwem niepoznanego jeszcze mechanizmu [48]. Wyniki te zostały jednak podważone przez inny zespół, który wykazał, że podanie ABT-737 nasila autofagię w komórkach pozbawionych BAK1 i BAX [69].

BCL-2 może regulować autofagię również przez oddziaływanie z innymi białkami ważnymi dla tego procesu. W odpowiedzi na bodźce indukujące autofagię ULK1 fosforyluje białko aktywujące w autofagii regulowanej przez beklinę-1 (activating molecule in beclin-1-regulated autophagy, AMBRA1), co powoduje translokację tego białka do ER, gdzie wiąże się do bekliny-1 tworząc kompleks inicjujący autofagię [13]. Umiejscowiony w błonach mitochondrium BCL-2 wiąże AMBRA1, a podczas autofagii dochodzi do osłabienia tego oddziaływania. Wskazuje to, że BCL-2 hamuje autofagię nie tylko przez bezpośrednie oddziaływanie z beklina-1, ale również pośrednio regulując tworzenie kompleksu inicjującego autofagię [84].

Białka BH3-only modulują autofagię również przez inne mechanizmy. Na przykład NIX stymuluje mitofagię przez interakcje z białkiem związanym z receptorem GABA (GABA receptor-associated protein, GABARAP), które jest funkcjonalnym homologiem LC3 [81]. Natomiast BIM bezpośrednio oddziałuje z beklina-1 powodując jej wiązanie do lekkiego łańcucha dyneiny (dynein light chain 1, DLC1), hamując jej działanie [52].

Białka należące do rodziny BCL-2 na ogół regulują procesy autofagii i apoptozy w tym samym kierunku. BCL-2, BCL-XL oraz MCL-1 hamują apoptozę wiążąc BAK/BAX i autofagię – wiążąc beklinę-1. Tak więc, proteiny antyapoptotyczne jednocześnie stanowią inhibitory autofagii, co świadczy o ich ogólnej prożyciowej roli. Natomiast białka typu BH3-only, które w warunkach stresu kompetycyjnie wiążą się z BCL-2/BCL-XL/MCL-1, promują zarówno autofagię jak i apoptozę. Wyjątkiem są: BAX, który promuje apoptozę, lecz hamuje autofagię, proapoptotyczny BIM, który hamuje inicjację autofagii oraz beklina-1, która nie jest zdolna do indukcji apoptozy. Niewyjaśnione pozostają mechanizmy, dzięki którym białka BH3-only aktywują każdy z tych procesów. Nie wiadomo również, czy działanie to zachodzi sekwencyjnie, czy też symultanicznie. Jeden z proponowanych scenariuszy zakłada, że białka BH3-only indukują autofagię w warunkach niskiego poziomu stresu komórkowego, kiedy mitochondria są jeszcze chronione przed utratą integralności. W wyniku przedłużenia lub nasilenia działania bodźca uszkadzającego, białka BH3-only promują MOMP, co nieuchronnie prowadzi do uruchomienia apoptotycznej śmierci komórki [46,98].

Szlak kinazy mTOR

Kinazy serynowo-treoninowe, takie jak PKB, ERK i kinazy RSK są zaangażowane w regulację zarówno autofagii jak i apoptozy (ryc. 4) [16,56]. W sytuacji dostępności skład-

ników odżywczych, na skutek aktywacji przez czynniki wzrostu, kinazy oddziałują na szlak mTORC1 hamując autofagię [24]. Białka te wpływają również na apoptozę, np. PKB i kontrolowane przez ERK RSK2 fosforylują BAD uniemożliwiając mu oddziaływanie z antyapoptotycznymi białkami rodziny BCL-2, które mogą wiązać BAK/BAX hamując w ten sposób apoptozę. PKB antagonizuje aktywność rodziny czynników transkrypcyjnych FOXO (forkhead box O) oraz pośrednio p53, redukując w ten sposób ekspresję licznych białek proapoptotycznych. PKB oraz RSK1 stymulują aktywność transkrypcyjną CREB (cAMP response element-binding protein), co powoduje wzrost poziomu BCL-2/BCL-XL. Ponadto PKB hamuje kinazę JNK, która aktywuje zarówno apoptozę, jak i autofagię [16].

Kinazy MAP: JNK i p38

W regulacji autofagii i apoptozy istotne znaczenie mają kinazy aktywowane mitogenami (MAPK), a zwłaszcza p38 i JNK (ryc. 4). W warunkach stresu np. niedoboru składników odżywczych kinaza JNK fosforyluje BCL-2, osłabiając w ten sposób jego wiązanie z białkami BH3-only oraz BAK i BAX. W ten sposób JNK kontroluje zarówno autofagię, jak i apoptozę. W pierwszej kolejności dochodzi do indukcji autofagii, gdyż beklina-1 wykazuje stosunkowo niewielkie powinowactwo do BCL-2. Nasilony lub przedłużający się stres i duża aktywność JNK prowadzi do dysocjacji BAX od BCL-2 i inicjacji apoptozy [92]. JNK reguluje również apoptozę pod wpływem innego mechanizmu – fosforylując c-JUN i aktywując czynnik transkrypcyjny 1 (activating transcription factor, ATF1) prowadzi do aktywacji AP-1 (activator protein 1) i ekspresji białek szlaku sygnałowego Fas/FasL [88]. Natomiast fosforylując BIM, powoduje dysocjację tego białka i bekliny-1 od DLC1, umożliwiając beklinie-1 formowanie kompleksu inicjującego autofagię [53].

Białko p38 ogrywa istotną rolę w kontroli apoptozy. W licznych badaniach wykazano, że kinaza ta jest niezbędna do indukowanej chemioterapeutykami programowej śmierci komórek nowotworowych *in vitro*. Istnieją jednak sprzeczne doniesienia o roli p38 w regulacji autofagii. Część wyników wskazuje, że p38 promuje autofagię, a część że ją hamuje [88]. Przykładowo inhibitor oksygenazy hemu – ZnPPiX poprzez szlak p38 MAPK indukuje autofagię niezależną od bekliny-1 [102]. Traktowanie komórek raka jelita grubego inhibitorem deacetylazy histonów MS-275 wywołuje indukacją autofagii, a po dłuższym czasie apoptozę. W badaniu tym obserwowano wzrost ekspresji p38 towarzyszący nasileniu autofagii oraz spadek od rozpoczęcia procesu apoptozy [101]. Na tej podstawie autorzy przypisali kinazie p38 rolę „przełącznika” molekularnego między procesami autofagii i apoptozy. Należy jednak zwrócić uwagę, że obserwowane nasilenie apoptozy i osłabienie autofagii może być skutkiem wysokiego poziomu ekspresji p38 we wcześniejszym okresie. Koncepcja wydaje się zgodna z wynikami opublikowanymi przez Jianga i wsp. [32]. Wykazali, że p38 oraz indukowana stresem

retikulum ścieżka PERK/eIF2A/ATF4 odgrywają główną rolę w indukowanej selenem progresji od autofagii do apoptozy. Selen aktywuje PERK, a przez to eIF2A/ATF4 promując w ten sposób apoptozę przez nasilenie ekspresji CHOP (C/EBP homologous protein). Jednocześnie dochodzi do aktywacji p38, następnie białko hamuje fosforylację eukariotycznego czynnika inicjacji translacji 4F (eIF4F), co osłabia wiązania ATF4 do promotora LC3, zmniejsza ekspresję tego genu i ostatecznie redukuje poziom autofagii. W regulacji aktywności czynników eIF2A i eIF4F przez p38 pośredniczy p53. Białko to promuje fosforylację eIF2A oraz defosforylację eIF4F modulując w ten sposób aktywność czynnika transkrypcyjnego ATF4, a tym samym poziom ekspresji CHOP i LC3 [32]. Wydaje się więc, że rola kinazy p38 w regulacji autofagii jest zależna od kontekstu sytuacyjnego, np. obecności i aktywności innych komórkowych sensorów stresu.

RODZINA CZYNNIKÓW TRANSKRYPCYJNYCH P53

Białko p53 jest czynnikiem integrującym ścieżki sygnałowe aktywowane przez różne bodźce stresowe, takie jak: uszkodzenie DNA, ischemia/reperfuzja czy niedobór składników odżywczych. W warunkach fizjologicznych p53 jest obecne w cytosolu, a w wyniku fosforylacji przez różne kinazy aktywowane stresem ulega translokacji do jądra komórkowego [40]. p53 indukuje ekspresję genów odpowiedzialnych za adaptację do stresu, zatrzymanie cyklu komórkowego, apoptozę i autofagię [77]. Cytosolowa pula p53 hamuje autofagię przez interakcje z FIP200 i inhibicję tworzenia kompleksu ULK1-FIP200-ATG13. Translokacja p53 do jądra komórkowego powoduje represję tego oddziaływania i umożliwia aktywację autofagii. Ponadto w warunkach stresu część p53 przemieszcza się do wnętrza mitochondrium, gdzie oddziałując z cyklofiliną D promuje utworzenie megakanalu mitochondrialnego. Proces ten przy małym nasileniu stymuluje usunięcie niefunkcyjnych mitochondriów w wyniku mitofagii, ale jego intensyfikacja prowadzi do MOMP i śmierci komórki [56]. Jądrowa pula p53 promuje zarówno apoptozę jak i autofagię [45,73]. Białko to hamuje transkrypcję genów antyapoptotycznych oraz indukuje – proapoptotycznych, jak np. *BAX*, *NOXA*, *PUMA* [73]. p53 promuje również ekspresję białek głównego szlaku autofagii, tj. *ATG4A*, *ATG4C*, *ATG5*, *ULK1/2* i *UVRAG* oraz regulatorów tego procesu np. kinazy *AMPK* i innych modulatorów szlaku *mTOR* (ryc. 4) [34].

Ekspresja większości genów istotnych dla autofagii oraz apoptozy, znajdujących się pod kontrolą p53, może być również aktywowana przez inne białka zaliczane do rodziny czynników transkrypcyjnych p53, tj. p63 i p73 [34]. Ponadto zarówno p53, jak i p73 kontrolują ekspresję modulatora autofagii regulowanego uszkodzeniami – *DRAM* (damage regulated autophagy modulator) – białka lizosomalnego, które w odpowiedzi na uszkodzenie DNA aktywuje zarówno autofagię, jak i apoptozę [11]. Samo p73 stymuluje autofagię również pod wpływem mechanizmów niezależnych do *DRAM*. W przeciwieństwie do p53, które jest degradowane w autofagosomach, aktywność

p73 w obecności bodźców indukujących autofagię wzrasta. Dzięki czemu p73 może promować ekspresję genów niezbędnych do przebiegu autofagii [10]. Wykorzystując zarówno wspólne, jak i odmienne ścieżki sygnałowe, białka p53, p63 i p73 kontrolują odpowiedź komórki na różne bodźce stresowe, regulując w ten sposób autofagię i apoptozę.

ARF

Działające nadrzędnie do p53 białko supresorowe nowotworu ARF (p19^{ARF} u myszy i p14^{ARF} u człowieka) jest kolejnym czynnikiem zaangażowanym w kontrolę zarówno autofagii, jak i apoptozy (ryc. 4). p19^{ARF} promuje oba te procesy aktywując p53 przez antagonizowanie działania *MDM2* [19]. Natomiast powstająca w wyniku alternatywnego składania mRNA izoforma ARF, nazwana *smARF*, nie ma sekwencji lokalizacji jądrowej oraz fragmentu odpowiadającego za interakcję z *MDM2*. *smARF* przemieszcza się do mitochondrium, gdzie indukuje depolaryzację błon mitochondrialnych i śmierć komórki. Mechanizm ten nie jest związany z uwalnianiem białek *IMS*, ani aktywacją kaspaz, co wskazuje na inną niż apoptozą śmierć [76]. *smARF* indukuje jednocześnie akumulację autofagosomów, prawdopodobnie przez przerywanie oddziaływania *BCL-XL*-*beklina-1* [70]. Jednak wyciszenie *bekliny-1* lub *ATG-5* tylko częściowo redukuje obumieranie komórek. Sugeruje to, że również autofagia nie jest procesem odpowiedzialnym za indukowaną *smARF* śmierć komórek [76].

Białko p19^{ARF} pełnej długości reguluje odpowiedź komórki na niekorzystne warunki przez mechanizm zależny od p53. Sygnały aktywujące p53 mogą uruchamiać zarówno autofagię, jak i apoptozę, a to który z programów będzie dominował zależy prawdopodobnie od nasilenia stresu. Natomiast *smARF* indukuje autofagię i śmierć komórki zależnie od mitochondriów. Proces alternatywnego składania ARF może więc być punktem kontroli, pozwalającym ukierunkować komórkę na jeden z programów, już na etapie obróbki potranskrypcyjnej.

E2F1

Rodzina czynników transkrypcyjnych E2F jest zaangażowana w różne ścieżki sygnałowe regulujące śmierć lub przetrwanie komórki. Czynniki transkrypcyjne E2F1 promuje apoptozę przez nasilenie ekspresji p19^{ARF} i w konsekwencji stymulowanie aktywności p53 [30]. Czynniki ten indukuje również ekspresję genów kluczowych dla autofagii, takich jak: *LC3*, *ATG1* czy *ATG5* [71].

DAPK

Innym wspólnym regulatorem procesów autofagii i apoptozy jest zależna od wapnia i kalmoduliny kinaza białkowa związana ze śmiercią – *DAPK* (death associated protein kinase) (ryc. 4). Białko to jest inhibitorem tumorogenezy i metastazy, jest niezbędne do śmierci spowodowanej utratą kontaktu komórki adherentnej z podłożem lub innymi komórkami (*anoikis*) oraz

apoptozy indukowanej aktywacją receptorów śmierci i sygnałami promującymi hiperproliferaację związanymi z ekspresją onkogenów. W określonych warunkach aktywność DAPK jest też konieczna do indukcji autofagii [16]. Nadekspresja tego białka skutkuje intensyfikacją formowania autofagosomów i charakterystycznym dla apoptozy tworzeniem pęcherzyków z błony komórkowej [31]. DAPK fosforyluje beklinę-1 ograniczając jej zdolność do wiązania się z BCL-XL [100]. Ponadto białko to oddziałuje z kinazą białkową D (PKD), która fosforyluje i aktywuje Vps34 [17]. W obu powyższych przypadkach wypadkach DAPK promuje autofagię, a stymulując aktywność p53 białko DAPK wpływa zarówno na apoptozę jak i autofagię [44]. Liczne funkcje tej kinazy wynikają z jej zdolności do fosforylacji różnych substratów, z których prawdopodobnie tylko część została dotychczas zidentyfikowana [16].

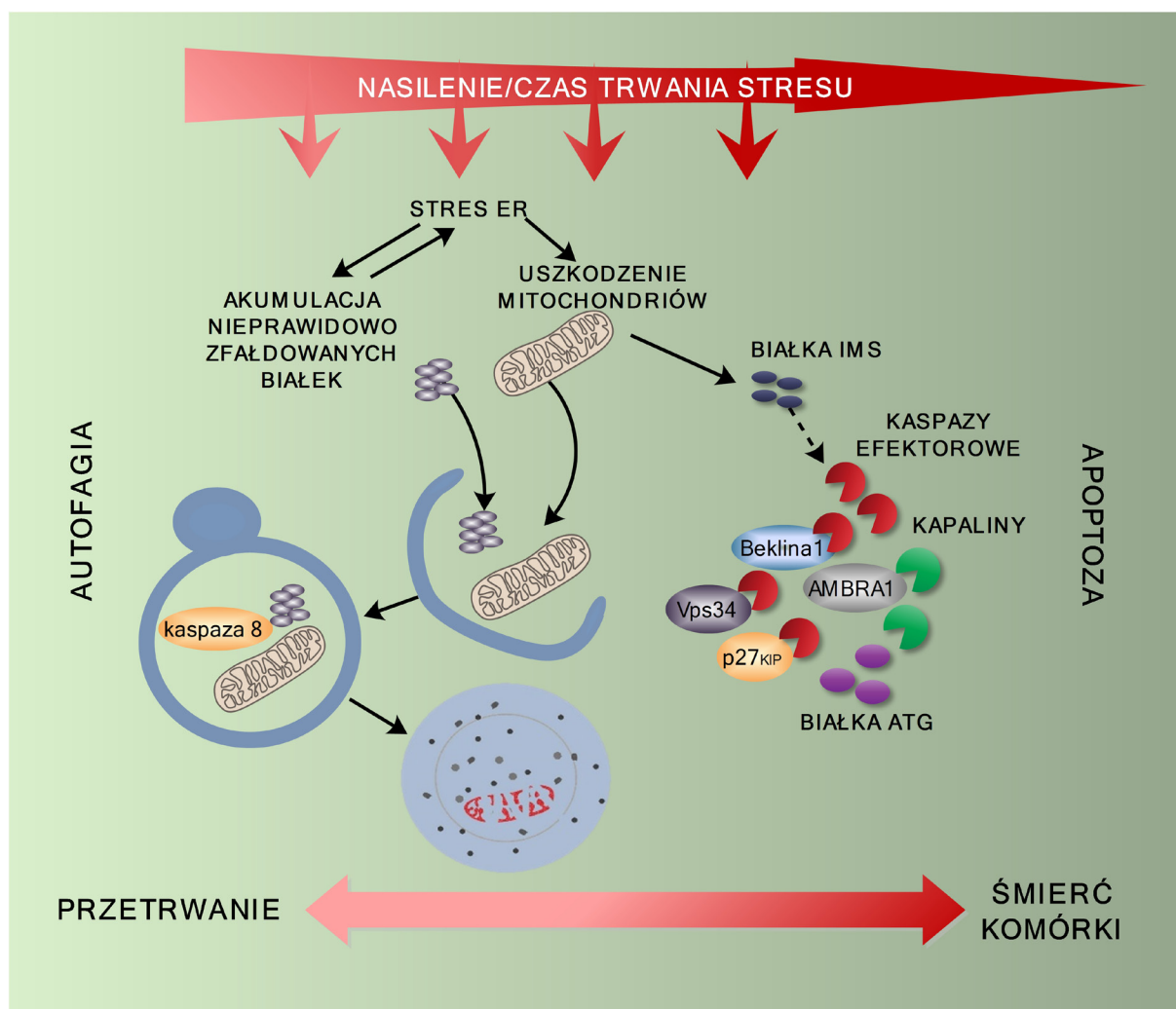
MikroRNA

MikroRNA (miRNA) to rodzaj niekodującego RNA, które regulując ekspresję genów pełni główne role w rozwoju

i funkcjonowaniu organizmów eukariotycznych. miRNA uczestniczą w kontroli wszystkich dotychczas zbadanych pod tym kątem procesów komórkowych [1], w tym autofagii [20] i apoptozy [33]. Coraz więcej danych wskazuje również na istotną rolę miRNA w komunikacji między autofagią i apoptozą [86]. miRNA mogą służyć jako molekularny „przełącznik między tymi procesami”. Silny induktor apoptozy miR-101 [86], hamuje translację transkryptów kilku genów istotnych dla autofagii, tj. *ATG4D*, *RAB5A*, *STMN1*, zmniejszając przez to nasilenie tego procesu [21]. Podobnie miR-204 promuje apoptozę przez redukcję poziomu BCL-2 [42] i hamuje autofagię przez obniżanie ekspresji LC3 [59]. Ponadto miRNA mogą wpływać na autofagię i apoptozę przez inhibicję ich licznych wspólnych regulatorów [86].

WZAJEMNE HAMOWANIE AUTOFAGII I APOPTOZY

Autofagia i apoptoza znajdują się pod kontrolą licznych wspólnych regulatorów. Ponadto między tymi procesami istnieją wzajemne oddziaływania, głównie o charakterze inhibicyjnym. Podstawową rolą autofagii jest ochrona



Ryc. 5. Wzajemne hamowanie autofagii i apoptozy. Opis w tekście

komórki przed śmiercią, dlatego aktywacji programu autofagicznego często towarzyszy supresja apoptozy [56]. Autofagia może hamować apoptozę bezpośrednio – oddziałując na główne białka tego procesu lub pośrednio – działając jako mechanizm cytoprotekcyjny (ryc. 5).

AUTOFAGIA JAKO MECHANIZM CYTOPROTEKCYJNY

Autofagia chroni komórkę przed śmiercią przez kilka mechanizmów, tj. dostarczanie składników odżywczych, redukcję niekorzystnych skutków stresu ER oraz usuwanie uszkodzonych mitochondriów.

Materiał trawiony w autofagosomach stanowi źródło energii, składników odżywczych i aminokwasów do syntezy białek [60]. W warunkach głodzenia autofagia znacznie przedłuża więc żywotność komórek dostarczając brakujących składników [16].

Stres ER może prowadzić do indukcji wewnątrzpochodnej ścieżki apoptozy, jest on jednak przede wszystkim silnym induktorem autofagii. Autofagia jest uruchamiana jako element odpowiedzi na niesfaldowane białka (UPR) i w ten sposób są usuwane nieprawidłowo pofaldowane białka oraz ich agregaty. Ponadto w procesie retikulofagii są degradowane uszkodzone błony ER. Autofagia przyczynia się więc do utrzymania funkcji ER i chroni komórkę przed procesem apoptozy [16]. Cytoprotekcyjna rola autofagii została potwierdzona w różnych modelach eksperymentalnych, z użyciem których wykazano, że inhibicja autofagii w warunkach stresu ER znacznie nasila apoptozę [54]. Niedawno opisano badanie wykazujące, że indukowaną stresem ER apoptozę poprzedza uruchomienie autofagii. Co więcej, sekwencja zdarzeń jest niezależna od rodzaju bodźca, a nasilenie autofagii warunkuje wysokość progu indukcji apoptozy [27].

Innym mechanizmem, przez który autofagia zapobiega śmierci komórki jest usuwanie uszkodzonych mitochondriów. Indukowany sygnałami stresu wewnątrzkomórkowego wzrost przepuszczalności wewnętrznej błony mitochondrialnej powoduje utratę mitochondrialnego potencjału przezbłonowego i MOMP. Uszkodzone mitochondria są usuwane w wyniku mitofagii [14]. Jeśli jednak depolaryzacja dotyczy znaczącej frakcji mitochondriów i komórka nie może ich usunąć w procesie autofagii, dochodzi do inicjacji apoptozy. Mitofagia bezpośrednio zwiększa więc próg aktywacji wewnątrzpochodnego szlaku apoptozy przeciwdziałając MOMP. Dodatkowo pośrednio chroni komórki przed śmiercią, gdyż zdepolaryzowane mitochondria są źródłem wolnych rodników [37,38].

AUTOFAGIA HAMUJE APOPTOZĘ

Sekwestracja materiału cytoplazmatycznego przez błony tworzącego się autofagosomu jest przeważnie losowa. Jednak niekiedy dochodzi do selektywnej degradacji organelli lub ubikwitynowanych białek. Za rozpo-

znawanie i dostarczanie do pęcherzyków autofagicznych oznakowanych białek odpowiada białko p62/SQSTM1. Wiąże się z LC3 umiejscowionym w wewnętrznej błonie autofagosomu i jednocześnie przez swoją domenę UBA (ubiquitin associated) z cząsteczkami oznaczonymi ubikwityną [26]. Autofagia może zmniejszać prawdopodobieństwo aktywacji apoptozy przez degradację białek proapoptotycznych lub wykonawczych apoptozy. Na przykład selektywne usuwanie kaspazy-8 przez autofagię warunkuje oporność komórek raka jelita na apoptozę indukowaną aktywacją receptorów TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) [28]. Mechanizm ten zaobserwowano również w hepatocytach, w badaniu, w którym wyciszenie ATG7 powodowało znaczne nasilenie aktywności kaspazy 8 w odpowiedzi na aktywację receptora dla TNF (tumor necrosis factor) [2].

APOPTOZA HAMUJE AUTOFAGIĘ

Przedłużający się lub zbyt intensywny stres powoduje, że mechanizmy adaptacyjne nie są w stanie dłużej zapewnić przeżycia komórki, czego skutkiem jest aktywacja programów śmierci. Inicjacji apoptozy często towarzyszy supresja autofagii, dzięki czemu nie dochodzi do jednoczesnego działania w komórce mechanizmów prożyciowych i prowadzących do śmierci [56]. Kaspazy i kalpajny trawią co najmniej kilka podstawowych dla autofagii protein, takich jak: białka ATG, p62, beklina-1, Vps34 oraz AMBRA1 uniemożliwiając jednocześnie dalszy przebieg tego procesu. Większość białek ATG może być degradowana przez kalpajny, które się uaktywniają w przebiegu apoptozy, jak i innych rodzajów śmierci komórki. ATG7, ATG9 i ATG4 cięte są przez kaspazę-3, a ATG3 przez kaspazę-3, -6 i -8 [65]. Proteoliza białka ATG3 zachodząca wskutek aktywacji kaspazy-8, zapewnia zahamowanie autofagii podczas inicjacji zewnątrzpochodnego szlaku apoptozy [66]. Do inhibicji autofagii dochodzi również w wyniku cięcia p62 przez kaspazy-6 i -8 [65]. Istotny wpływ na zahamowanie autofagii ma również degradacja AMBRA1, które jest celem zarówno kaspaz jak i kalpain. Poziom ekspresji tego białka reguluje intensywność apoptozy. Jego wyciszenie nasila apoptozę, natomiast nadekspresja prowadzi do długotrwałej śmierci komórki z towarzyszącą autofagią [67]. Proteoliza AMBRA1 wydaje się więc istotnym „przełącznikiem” molekularnym między procesami autofagii i apoptozy.

Innym mechanizmem, w wyniku którego apoptoza hamuje autofagię jest degradacja regulatorów tego procesu. Białko oddziałujące z BCL-2 (BCL-2-interacting protein, BCLAF1) jest silnym induktorem autofagii, który wiążąc się z BCL-2 wypiera beklinę-1 z kompleksu BCL-2 – beklina-1. BCLAF1 cięte jest przez aktywną kaspazę-10 [43].

Przykładem takiego oddziaływania jest zależna od kaspaz proteoliza inhibitora kinaz zależnych od cyklin – p27^{KIP1} [95]. W warunkach stresu metabolicznego aktywacja szlaku LKB1 – AMPK prowadzi do fosforylacji p27^{KIP1}

w pozycji Thr198 i indukcji autofagii. Ektopowa ekspresja postaci p27^{KIP1} stabilnie ufosforylowanej w tej pozycji jest wystarczająca do aktywacji autofagii [47]. Działanie jest znoszone przez zastosowanie inhibitorów autofagii. Natomiast wyciszenie p27^{KIP1} powoduje redukcję autofagii oraz nasilenie apoptozy i obumierania kardiomiocytów narażonych na niedobór glukozy [89]. Cięcie p27^{KIP1} wydaje się więc istotnym mechanizmem hamującym protekcyjną autofagię podczas programowej śmierci komórki.

NIEZALEŻNY OD AUTOFAGII UDZIAŁ BIAŁEK „AUTOFAGICZNYCH” W PROCESIE APOPTOZY

Niektóre białka podstawowe dla procesu autofagii w wyniku proteolizy nabywają właściwości proapoptotycznych. Na przykład degradacja bekliny-1 przez kaspazę 3, 6 lub 9 skutkuje nie tylko zahamowaniem tworzenia autofagosomów, ale również powstaniem C-końcowego fragmentu, który przemieszcza się do mitochondrium i stymuluje uwalnianie cytochromu C [93]. Podobnie cięcie białka ATG4D przez kaspazę-3 nasila apoptozę. Dokładny mechanizm tego zjawiska nie jest znany, jednak jest związany z lokalizacją C-końcowego fragmentu tego białka w mitochondrium [3].

Cytosolowe białko HMGB1 (high mobility group box 1) chroni beklinę-1 i ATG5 przed cięciem przez kalpains i w konsekwencji wytworzeniem proapoptotycznych fragmentów tych protein. Białko to zapobiega w ten sposób indukcji apoptozy, jednocześnie zapewniając utrzymanie aktywności protekcyjnej autofagii. W ten sposób przyczynia się do redukcji uszkodzenia tkanki w chorobach zapalnych, takich jak nieswoiste zapalenia jelit. HMGB1 jest więc innym czynnikiem, któremu można przypisać rolę molekularnego „przełącznika” między procesami autofagii i apoptozy [103].

ATG5 w warunkach stresu ulega cięciu przez kalpains. Powstający w wyniku tego procesu fragment N-końcowy ATG5 jest przemieszczony do mitochondrium, gdzie oddziałując z BCL-XL nasila uwalnianie cytochromu C do cytoplazmy [99]. Ponadto wykazano, że białko ATG5 jest niezbędne do inicjacji apoptozy indukowanej p53 [34]. ATG5 oddziałuje również z białkiem FADD przez jego domenę DD [61]. Interakcja nie ma jednak wpływu na tworzenie autofagosomów i wydaje się związana z hamowaniem apoptozy, w sposób niezależny od autofagii [24]. ATG5 jest więc białkiem głównego szlaku autofagii, które może być zaangażowane w pozytywną i negatywną regulację apoptozy.

ATG7 również stymuluje śmierć komórki uczestnicząc w procesie uprzepuszczalnienia [35] błony lizosomalnej (LMP). Wyciszenie ATG7 powoduje supresję apoptozy indukowanej LMP. Proces ten wydaje się jednak niezależny od autofagii, gdyż komórki pozbawione ATG5 nie wykazują różnic w poziomie apoptozy indukowanej LMP w stosunku do komórek typu dzikiego [35].

Rubinstein i wsp. wykazali że białko ATG12 jest niezbędne do aktywacji kaspaz w obecności różnych

czynników indukujących apoptozę [78]. ATG12 bezpośrednio reguluje apoptozę przez wiązanie i inaktywację antyapoptotycznych BCL-2 i MCL-1. Działanie to jest niezależne od aktywności białek ATG5 i ATG3, a więc niezwiązane z autofagią. Wymaga natomiast obecności w sekwencji ATG12 motywu homologicznego do domeny BH3 (BH3-like motif). Wyciszenie ATG12 skutkuje supresją aktywacji BAX oraz uwalnianiem cytochromu C. Natomiast nadekspresja tego białka antagonizuje antyapoptotyczne działanie MCL-1 [78,79]. ATG7 i ATG12 początkowo zidentyfikowane jako białka niezbędne do syntezy autofagosomów okazują się wspólnymi regulatorami autofagii i apoptozy. Ich rolę w przebiegu każdego z tych procesów wydają się niezależne i trudno stwierdzić, czy udział każdego z tych białek w indukcji apoptozy wiąże się z ograniczeniem intensywności autofagii. Wydaje się, że może istnieć mechanizm, który przekierowuje ich na promowanie autofagii lub apoptozy.

Funkcję molekularnego „przełącznika” między autofagią i apoptozą pełni również UVRAG. Białko to odgrywa istotną rolę w fazie nukleacji fagoforu. Oddziałuje z bekliną-1 powodując jej uwolnienie z homodimerów, co prowadzi do indukcji autofagii. Działanie to jest antagonizowane przez wiązanie bekliną-1 do BCL-2 [64]. Białko UVRAG pełni również funkcję negatywnego regulatora apoptozy. Oddziałując z BAX hamuje jego translokację z cytosolu do mitochondrium, zapobiegając w ten sposób MOMP i indukcji apoptozy [97].

AUTOFAGIA PROMUJE I/LUB UMOŻLIWIA APOPTOZĘ

W niektórych sytuacjach autofagia sprzyja indukcji apoptozy lub nawet umożliwia jej prawidłowy przebieg. Jednym z mechanizmów takiej interakcji jest tworzenie przez autofagosomy platform aktywacyjnych dla kaspaz. Proces taki został dotychczas scharakteryzowany dla kaspazy-8 i opisano dwa alternatywne jego przebiegi. W pierwszym ubikwitynowana kaspaza-8 wiąże się do p62 i jest rekrutowana do autofagosomów dzięki oddziaływaniom p62-LC3. Dochodzi do oligomeryzacji i aktywacji kaspazy-8, w czym również uczestniczy p62; alternatywnie za przyłączenie kaspazy-8 do autofagosomów odpowiadać może jej oddziaływanie z białkami FADD i ATG5. Zależny od autofagii mechanizm aktywacji kaspazy-8 zaobserwowano po raz pierwszy po traktowaniu komórek inhibitorami proteasomu. Proces nie wymaga aktywacji receptorów śmierci, co sugeruje jego związek z wewnątrzpochoydnym szlakiem apoptozy [24].

Apoptoza jest procesem wymagającym nakładów energii, która może być dostarczana w procesie autofagii. W ten sposób może być generowany np. ATP umożliwiający przemieszczanie fosfatydyloseryny do zewnętrznej warstwy błony komórkowej. Jest to sygnał zapewniający fagocytozę komórek apoptotycznych przez makrofagi i inne komórki żerne [94]. Fragmentacja komórki na ciała apoptotyczne może również przebiegać z wykorzystaniem energii wytwarzanej w procesie autofagii [5].

Autofagia może też stymulować apoptozę przez degradację jej endogennych inhibitorów – białek IAP (inhibitors of apoptosis proteins) [62].

AUTOFAGICZNA ŚMIERĆ KOMÓRKI

Nadmierna degradacja zawartości komórki potencjalnie może prowadzić do jej śmierci przez samostrawienie. Koncepcja ta oraz liczne obserwacje aktywacji autofagii w warunkach stresu, który prowadzi do śmierci komórek, doprowadziły do powstania określenia autofagicznej śmierci komórki (autophagic cell death, ACD). Pojęcie to odnosi się do typu śmierci o odmiennej od apoptozy i nekrozy morfologii, której główną cechą jest występowanie licznych, otoczonych podwójną błoną pęcherzyków zawierających fragmenty cytoplazmy [60]. ACD występuje w co najmniej dwóch sytuacjach: odpowiada za usuwanie określonych komórek podczas rozwoju *Drosophila melanogaster* oraz za śmierć, niezdolnych do apoptozy, komórek nowotworowych w odpowiedzi na działanie niektórych chemioterapeutyków *in vitro* [22]. Coraz powszechniejsza staje się opinia, że autofagia stanowi mechanizm cytoprotekcyjny i że do śmierci komórki dochodzi raczej z towarzyszącą autofagią, niż w wyniku autofagii [24,81]. Kontrowersje wokół terminu „ACD” zostały dokładnie przedyskutowane w kilku pracach przeglądowych [np. 22,39]. Wydaje się jednak, że problem udziału autofagii w egzekucji śmierci komórki pozostaje otwarty. Niedawno zidentyfikowano mechanizm śmierci komórki zależny od maszynarii autofagicznej, ale wykazujący inne niż ACD cechy morfologiczne. Ten nieznan dotychczas mechanizm nazwano „autozą” (autosis) [51]. Do uruchomienia autozy doprowadzić może duże nasilenie autofagii indukowane głodzeniem, niektórymi rodzajami ischemii lub podawaniem peptydów indukujących autofagię. Unikalną cechą autozy jest jej zależność od Na^+/K^+ ATP-azy oraz występowanie, nieobserwowanej podczas ACD, kondensacji chromatyny [50].

Jednoczesną aktywację autofagii i apoptozy obserwowano w różnych modelach eksperymentalnych zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. W związku z czym, jeden z funkcjonujących w literaturze scenariuszy oddziaływań między autofagią i apoptozą, zakłada współdziałanie tych procesów w egzekucji śmierci komórki [16]. Pogląd taki poparty jest wynikami badań w których wykazano, że wyciszenie genów istotnych dla procesu autofagii ogólnie redukuje umieralność komórek. Zjawisko to może być jednak wyjaśnione udziałem białek ATG czy Bekliny1 również w kontroli procesu apoptozy. Na przykład w komórkach siatkówki stres oksydacyjny indukuje zarówno autofagię, jak i apoptozę. Wydaje się, że oba te procesy prowadzą do śmierci komórek, gdyż inhibicja każdego nich redukuje ich obumieranie. Jednak jednoczesne zahamowanie autofagii i apoptozy nasila śmierć w wyniku nekrozy [41]. Sugeruje to, że w tym wypadku autofagia nie stanowi mechanizmu śmierci, lecz przyczynia się do śmierci komórek np. dostarczając energii niezbędnej do przebiegu apoptozy.

Alternatywnie, autofagia może pełnić rolę mechanizmu kompensacyjnego przy upośledzeniu maszynarii apoptozy. Przykładowo uszkodzenie DNA w mysich fibroblastach embrionalnych pozbawionych *Bax* i *Bak* skutkuje znaczącym nasileniem autofagii i długotrwałym obumieraniem komórek. Jednak, zahamowanie apoptozy przez zastosowanie inhibitorów kaspaz lub wyciszenie innych genów kluczowych dla tego procesu np. kaspazy 9 lub Apaf1 nie wzmaga autofagii. Wyniki te wskazują, że to brak BAK i BAX, a nie apoptozy, spowodował w tym wypadku indukcję autofagii [55].

Opisane zależności między autofagią i apoptozą, zakładające współdziałanie obu tych procesów w egzekucji śmierci komórki, wydają się ograniczone jedynie do mechanizmów, w wyniku których autofagia umożliwia lub promuje apoptozę. Coraz więcej danych wskazuje na cytoprotekcyjną rolę autofagii, a możliwość śmierci komórek w wyniku autofagii rodzi wiele wątpliwości. Często obserwowana jednoczesna aktywacja autofagii i apoptozy może być przejawem niewydolności mechanizmów odpowiedzialnych za hamowanie prożyciowych ścieżek sygnałowych w sytuacji aktywacji programów śmierci.

PODSUMOWANIE

Autofagia i apoptoza to dwa programy odpowiedzi komórki na stres prowadzące zazwyczaj do skrajnie różnych rezultatów. Indukcja autofagii to przejaw mechanizmu adaptacyjnego, który ma umożliwić komórce przetrwanie niekorzystnych warunków. Apoptoza zaś odpowiada za usunięcie uszkodzonych, niezdolnych do przeżycia komórek, zapewniając przy tym utrzymanie homeostazy tkanki. Liczne ścieżki przekazywania sygnałów aktywowane w odpowiedzi na stres uczestniczą w kontroli obu tych procesów. Nie jest pewne, czy wspólne regulatory aktywują autofagię i apoptozę sekwencyjnie (początkowo autofagię, a wraz z nasileniem stresu apoptozę) czy symultanicznie. Jednak z perspektywy ewolucyjnej pierwszy scenariusz wydaje się bardziej uzasadniony. Komunikacja między autofagią i apoptozą obejmuje przede wszystkim wzajemne hamowanie się tych procesów, dzięki czemu nie dochodzi do jednoczesnego działania w komórce mechanizmów prożyciowych i prowadzących do śmierci. Autofagia chroni komórkę przed śmiercią, dostarczając energii oraz usuwając uszkodzone organelle i nieprawidłowo sfałdowane białka. Autofagia reguluje również apoptozę bezpośrednio – degradując białka istotne dla tego procesu. Selektywnej eliminacji podlegają zarówno cząsteczki pro-, jak i antyapoptotyczne, może więc skutkować zarówno promowaniem, jak i hamowaniem apoptozy. Podczas uruchomienia apoptozy dochodzi do supresji autofagii przez zależną od kaspaz i kalpain proteolizę białek głównych tego procesu oraz jego pozytywnych regulatorów. Istotny element komunikacji między autofagią i apoptozą stanowią molekularne „przełączniki”, które uruchamiają jeden proces jednocześnie hamując drugi. Wydaje się, że znacząco usprawniają one kontrolę mechani-

zmów odpowiedzi na stres, ukierunkowując je na programową śmierć lub próbę przetrwania. „Przełączniki” występują w fazie inicjacji (np. UVRAG) i egzekucji (np. ATG4D) autofagii i apoptozy, jak również na etapie regulacji translacji białek istotnych dla tych procesów (mikroRNA), zapewniając w ten sposób wielopoziomą regulację. Zgodnie z innym scenariuszem oddziaływań autofagia może promować śmierć komórki np. dostarczając energii potrzebnej do realizacji programu apoptozy lub stanowiąc mechanizm egzekucji śmierci. Coraz więcej danych wskazuje, że śmierci komórki towarzyszy proces autofagii, a nie dochodzi do niej w wyniku autofagii.

Liczne oddziaływania między autofagią i apoptozą decydują o śmierci lub przetrwaniu komórki w warunkach stresu. Zaburzenia tych interakcji są zaangażowane w etiologię i patomechanizm wielu schorzeń, zwłaszcza chorób neurodegeneracyjnych [23], chorób serca [63] i nowotworów [85]. Najwięcej badań dotyczy tych ostatnich. W warunkach fizjologicznych zarówno autofagia jak i apoptoza hamują procesy neoplastyczne. Autofagia usuwa onkogenne cząsteczki, natomiast apoptoza uniemożliwia przetrwanie zmutowanych komórek. Upóźnienie każdego z tych procesów może spowodować rozwój nowotworu. Indukowana chemioterapeutykami apoptoza odpowiada za śmierć komórek nowotworowych. Rola apoptozy jako procesu hamującego rozwój nowotworu nie podlega więc wątpliwości. Jednak autofagia może pełnić w nowotworach rolę dwojaką [72,85].

Proces ten umożliwia przetrwanie komórek nowotworowych w warunkach stresu i może leżeć u podłoża ich lekooporności. Dlatego zahamowanie autofagii często znacznie nasila indukowaną chemioterapeutykami śmierć komórek nowotworowych [87]. Jednak inhibicja autofagii w komórkach niezdolnych do apoptozy, może doprowadzić do wzrostu niestabilności genomowej lub nasilenia nekrotycznej śmierci komórek i związanego z nią stanu zapalnego, co w konsekwencji prowadzi do progresji nowotworu [12].

Jednoczesne modulowanie autofagii i apoptozy stwarza duże możliwości w zakresie opracowywania nowych terapii, nie tylko chorób nowotworowych, ale zapewne także wielu innych schorzeń. Dlatego tak istotne jest dokładniejsze zrozumienie szczegółów złożonej, wielopoziomowej komunikacji między tymi procesami. Większość dotychczas zgromadzonej wiedzy dotyczącej interakcji między autofagią i apoptozą pochodzi z badań *in vitro*. Niemożliwe jest bezpośrednie przełożenie ich wyników na działanie poszczególnych tkanek i organów w środowisku całego organizmu. Poznanie znaczenia różnych aspektów interakcji między autofagią i apoptozą *in vivo*, w warunkach fizjologicznych i patologicznych, niewątpliwie jest ważnym wyzwaniem. Dopelnienie obrazu mechanizmów odpowiedzi komórki na bodźce stresowe będzie wymagało przyjęcia szerszej perspektywy i wzbogacenia dotychczas zgromadzonej wiedzy o oddziaływaniach autofagii i apoptozy z innymi rodzajami śmierci komórki.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ameres S.L., Zamore P.D.: Diversifying microRNA sequence and function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2013; 14: 475-488
- [2] Amir M., Zhao E., Fontana L., Rosenberg H., Tanaka K., Gao G., Czaja M.J.: Inhibition of hepatocyte autophagy increases tumor necrosis factor-dependent liver injury by promoting caspase-8 activation. *Cell Death Differ*, 2013; 20: 878-887
- [3] Betin V.M., Lane J.D.: Atg4D at the interface between autophagy and apoptosis. *Autophagy*, 2009; 5: 1057-1059
- [4] Booth L.A., Tavallai S., Hamed H.A., Cruickshanks N., Dent P.: The role of cell signalling in the crosstalk between autophagy and apoptosis. *Cell Signal.*, 2014; 26: 549-555
- [5] Bovellan M., Fritzsche M., Stevens C., Charras G.: Death-associated protein kinase (DAPK) and signal transduction: blebbing in programmed cell death. *FEBS J.*, 2010; 277: 58-65
- [6] Boya P., Kroemer G.: Beclin 1: a BH3-only protein that fails to induce apoptosis. *Oncogene*, 2009; 28: 2125-2127
- [7] Chen Y., Klionsky D.J.: The regulation of autophagy – unanswered questions. *J. Cell Sci.*, 2011; 124: 161-170
- [8] Ciechomska I.A., Goemans G.C., Skepper J.N., Tolkovsky A.M.: Bcl-2 complexed with Beclin-1 maintains full anti-apoptotic function. *Oncogene*, 2009; 28: 2128-2141
- [9] Corradetti M.N., Guan K.L.: Upstream of the mammalian target of rapamycin: do all roads pass through mTOR? *Oncogene*, 2006; 25: 6347-6360
- [10] Crighton D., O'Prey J., Bell H.S., Ryan K.M.: p73 regulates DRAM-independent autophagy that does not contribute to programmed cell death. *Cell Death Differ*, 2007; 14: 1071-1079
- [11] Crighton D., Wilkinson S., O'Prey J., Syed N., Smith P., Harrison P.R., Gasco M., Garrone O., Crook T., Ryan K.M.: DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell*, 2006; 126: 121-134
- [12] Degenhardt K., Mathew R., Beaudoin B., Bray K., Anderson D., Chen G., Mukherjee C., Shi Y., Gélinas C., Fan Y., Nelson D.A., Jin S., White E.: Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell*, 2006; 10: 51-64
- [13] Di Bartolomeo S., Corazzari M., Nazio F., Oliverio S., Lisi G., Antonoli M., Pagliarini V., Matteoni S., Fuoco C., Giunta L., D'Amelio M., Nardacci R., Romagnoli A., Piacentini M., Ceconi F., Fimia G.M.: The dynamic interaction of AMBRA1 with the dynein motor complex regulates mammalian autophagy. *J. Cell Biol.*, 2010; 191: 155-168
- [14] Ding W.X., Yin X.M.: Mitophagy: mechanisms, pathophysiological roles, and analysis. *Biol. Chem.*, 2012; 393: 547-564
- [15] Duprez L., Wirawan E., Vanden Berghe T., Vandenabeele P.: Major cell death pathways at a glance. *Microbes Infect.*, 2009; 11: 1050-1062
- [16] Eisenberg-Lerner A., Bialik S., Simon H.U., Kimchi A.: Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. *Cell Death Differ.*, 2009; 16: 966-975
- [17] Eisenberg-Lerner A., Kimchi A.: PKD is a kinase of Vps34 that mediates ROS-induced autophagy downstream of DAPK. *Cell Death Differ*, 2012; 19: 788-797

- [18] Elmore S.: Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 2007; 35: 495-516
- [19] Fan Y.J., Zong W.X.: The cellular decision between apoptosis and autophagy. *Chin. J. Cancer*, 2013; 32: 121-129
- [20] Frankel L.B., Lund A.H.: MicroRNA regulation of autophagy. *Carcinogenesis*, 2012; 33: 2018-2025
- [21] Frankel L.B., Wen J., Lees M., Høyer-Hansen M., Farkas T., Krogh A., Jäättelä M., Lund A.H.: microRNA-101 is a potent inhibitor of autophagy. *EMBO J.*, 2011; 30: 4628-4641
- [22] Galluzzi L., Vitale I., Abrams J.M., Alnemri E.S., Baehrecke E.H., Blagosklonny M.V., Dawson T.M., Dawson V.L., El-Deiry W.S., Fulda S., Gottlieb E., Green D.R., Hengartner M.O., Kepp O., Knight R.A. i wsp.: Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ.*, 2012; 19: 107-120
- [23] Ghavami S., Shojaei S., Yeganeh B., Ande S.R., Jangamreddy J.R., Mehrpour M., Christofferson J., Chaabane W., Moghadam A.R., Kashi H.H., Hashemi M., Owji A.A., Los M.J.: Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog. Neurobiol.*, 2014; 112: 24-49
- [24] Gordy C., He Y.W.: The crosstalk between autophagy and apoptosis: where does this lead? *Protein Cell*, 2012; 3: 17-27
- [25] Hata A.N., Engelman J.A., Faber A.C.: The BCL2 family: key mediators of the apoptotic response to targeted anticancer therapeutics. *Cancer Discov.*, 2015, 5: 475-487
- [26] He C., Klionsky D.J.: Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu. Rev. Genet.*, 2009; 43: 67-93
- [27] Holczer M., Márton M., Kurucz A., Bánhegyi G., Kapuy O.: A comprehensive systems biological study of autophagy-apoptosis crosstalk during endoplasmic reticulum stress. *Biomed. Res. Int.*, 2015; 2015: 319589
- [28] Hou W., Han J., Lu C., Goldstein L.A., Rabinowich H.: Autophagic degradation of active caspase-8: a crosstalk mechanism between autophagy and apoptosis. *Autophagy*, 2010; 6: 891-900
- [29] Hoyer-Hansen M., Jäättelä M.: AMP-activated protein kinase: a universal regulator of autophagy? *Autophagy*, 2007; 3: 381-383
- [30] Iaquinta P.J., Lees J.A.: Life and death decisions by the E2F transcription factors. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2007; 19: 649-657
- [31] Inbal B., Bialik S., Sabanay I., Shani G., Kimchi A.: DAP kinase and DRP-1 mediate membrane blebbing and the formation of autophagic vesicles during programmed cell death. *J. Cell Biol.*, 2002; 157: 455-468
- [32] Jiang Q., Li F., Shi K., Wu P., An J., Yang Y., Xu C.: Involvement of p38 in signal switching from autophagy to apoptosis via the PERK/eIF2 α /ATF4 axis in selenite-treated NB4 cells. *Cell Death Dis.*, 2014; 5: e1270
- [33] Jovanovic M., Hengartner M.O.: miRNAs and apoptosis: RNAs to die for. *Oncogene*, 2006; 25: 6176-6187
- [34] Kenzelmann Broz D., Spano Mello S., Bieganski K.T., Jiang D., Dusek R.L., Brady C.A., Sidow A., Attardi L.D.: Global genomic profiling reveals an extensive p53-regulated autophagy program contributing to key p53 responses. *Genes Dev.*, 2013; 27: 1016-1031
- [35] Kessel D.H., Price M., Reiners J.J. Jr.: ATG7 deficiency suppresses apoptosis and cell death induced by lysosomal photodamage. *Autophagy*, 2012; 8: 1333-1341
- [36] Kim I., Rodriguez-Enriquez S., Lemasters J.J.: Selective degradation of mitochondria by mitophagy. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007; 462: 245-253
- [37] Kim J., Kundu M., Viollet B., Guan K.L.: AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat. Cell Biol.*, 2011; 13: 132-141
- [38] Kouroku Y., Fujita E., Tanida I., Ueno T., Isoai A., Kumagai H., Ogawa S., Kaufman R.J., Kominami E., Momoi T.: ER stress (PERK/eIF2 α phosphorylation) mediates the polyglutamine-induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation. *Cell Death Differ.*, 2007; 14: 230-239
- [39] Kroemer G., Levine B.: Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008; 9: 1004-1010
- [40] Kruse J.P., Gu W.: Modes of p53 regulation. *Cell*, 2009; 137: 609-622
- [41] Kunchithapatham K., Rohrer B.: Apoptosis and autophagy in photoreceptors exposed to oxidative stress. *Autophagy*, 2007; 3: 433-441
- [42] Kuwano Y., Nishida K., Kajita K., Satake Y., Akaike Y., Fujita K., Kano S., Masuda K., Rokutan K.: Transformator 2 β and miR-204 regulate apoptosis through competitive binding to 3' UTR of BCL2 mRNA. *Cell Death Differ.*, 2015; 22: 815-825
- [43] Lamy L., Ngo V.N., Emre N.C., Shaffer A.L. 3rd., Yang Y., Tian E., Nair V., Krullak M.J., Zingone A., Landgren O., Staudt L.M.: Control of autophagic cell death by caspase-10 in multiple myeloma. *Cancer Cell*, 2013; 23: 435-449
- [44] Levin-Salomon V., Bialik S., Kimchi A.: DAP-kinase and autophagy. *Apoptosis*, 2014; 19: 346-356
- [45] Levine B., Abrams J.: p53: the Janus of autophagy? *Nat. Cell Biol.*, 2008; 10: 637-639
- [46] Levine B., Sinha S., Kroemer G.: Bcl-2 family members: dual regulators of apoptosis and autophagy. *Autophagy*, 2008; 4: 600-606
- [47] Liang J., Shao S.H., Xu Z.X., Hennessy B., Ding Z., Larrea M., Kondo S., Dumont D.J., Gutterman J.U., Walker C.L., Slingerland J.M., Mills G.B.: The energy sensing LKB1-AMPK pathway regulates p27^{kip1} phosphorylation mediating the decision to enter autophagy or apoptosis. *Nat. Cell Biol.*, 2007; 9: 218-224
- [48] Lindqvist L.M., Heinlein M., Huang D.C., Vaux D.L.: Prosurvival Bcl-2 family members affect autophagy only indirectly, by inhibiting Bax and Bak. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014; 111:8512-8517
- [49] Liu L., Cash T.P., Jones R.G., Keith B., Thompson C.B., Simon M.C.: Hypoxia-induced energy stress regulates mRNA translation and cell growth. *Mol. Cell*, 2006; 21: 521-531
- [50] Liu Y., Levine B.: Autosis and autophagic cell death: the dark side of autophagy. *Cell Death Differ.*, 2015; 22: 367-376
- [51] Liu Y., Shoji-Kawata S., Sumpter R.M. Jr, Wei Y., Ginet V., Zhang L., Posner B., Tran K.A., Green D.R., Xavier R.J., Shaw S.Y., Clarke P.G., Puyal J., Levine B.: 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: 20364-20371
- [52] Luo S., Garcia-Arencibia M., Zhao R., Puri C., Toh P.P., Sadiq O., Rubinsztein D.C.: Bim inhibits autophagy by recruiting Beclin 1 to microtubules. *Mol. Cell.*, 2012; 47: 359-370
- [53] Luo S., Rubinsztein D.C.: Apoptosis blocks Beclin 1-dependent autophagosome synthesis: an effect rescued by Bcl-xL. *Cell Death Differ.*, 2010; 17: 268-277
- [54] Maiuri M.C., Le Toumelin G., Criollo A., Rain J.C., Gautier F., Juin P., Tasdemir E., Pierron G., Troulinaki K., Tavernarakis N., Hickman J.A., Geneste O., Kroemer G.: Functional and physical interaction between Bcl-X_L and a BH3-like domain in Beclin-1. *EMBO J.*, 2007; 26: 2527-2539
- [55] Maiuri M.C., Zalckvar E., Kimchi A., Kroemer G.: Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 741-752
- [56] Mariño G., Niso-Santano M., Baehrecke E.H., Kroemer G.: Self-consumption: the interplay of autophagy and apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2014; 15: 81-94
- [57] Marquez R.T., Xu L.: Bcl-2:Beclin 1 complex: multiple, mechanisms regulating autophagy/apoptosis toggle switch. *Am. J. Cancer*

Res., 2012; 2: 214-221

[58] Meijer A.J., Lorin S., Blommaert E.F., Codogno P.: Regulation of autophagy by amino acids and MTOR-dependent signal transduction. *Amino Acids*, 2015; 47: 2037-2063

[59] Mikhaylova O., Stratton Y., Hall D., Kellner E., Ehmer B., Drew A.F., Gallo C.A., Plas D.R., Biesiada J., Meller J., Czyzyk-Krzeska M.F.: VHL-regulated MiR-204 suppresses tumor growth through inhibition of LC3B-mediated autophagy in renal clear cell carcinoma. *Cancer Cell*, 2012; 21: 532-546

[60] Mizushima N.: Autophagy: process and function. *Genes Dev.*, 2007; 21: 2861-2873

[61] Mukhopadhyay S., Panda P.K., Sinha N., Das D.N., Bhutia S.K.: Autophagy and apoptosis: where do they meet? *Apoptosis*, 2014; 19: 555-566

[62] Nezis I.P., Shrivage B.V., Sagona A.P., Lamark T., Bjørkøy G., Johansen T., Rusten T.E., Brech A., Baehrecke E.H., Stenmark H.: Autophagic degradation of dBruce controls DNA fragmentation in nurse cells during late *Drosophila melanogaster* oogenesis. *J. Cell Biol.*, 2010; 190: 523-531

[63] Nishida K., Yamaguchi O., Otsu K.: Crosstalk between autophagy and apoptosis in heart disease. *Circ. Res.*, 2008; 103: 343-351

[64] Noble C.G., Dong J.M., Manser E., Song H.: Bcl-xL and UVRAG cause a monomer-dimer switch in Beclin1. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 26274-26282

[65] Norman J.M., Cohen G.M., Bampton E.T.: The in vitro cleavage of the hAtg proteins by cell death proteases. *Autophagy*, 2010; 6: 1042-1056

[66] Oral O., Oz-Arslan D., Itah Z., Naghavi A., Deveci R., Karacali S., Gozuacik D.: Cleavage of Atg3 protein by caspase-8 regulates autophagy during receptor-activated cell death. *Apoptosis*, 2012; 17: 810-820

[67] Pagliarini V., Wirawan E., Romagnoli A., Ciccocanti F., Lisi G., Lippens S., Cecconi F., Fimia G.M., Vandenabeele P., Corazzari M., Piacentini M.: Proteolysis of Ambra1 during apoptosis has a role in the inhibition of the autophagic pro-survival response. *Cell Death Differ.*, 2012; 19: 1495-1504

[68] Parzych K.R., Klionsky D.J.: An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxid. Redox Signal.*, 2014; 20: 460-473

[69] Pedro J.M., Wei Y., Sica V., Maiuri M.C., Zou Z., Kroemer G., Levine B.: BAX and BAK1 are dispensable for ABT-737-induced dissociation of the BCL2-BECN1 complex and autophagy. *Autophagy*, 2015; 11: 452-459

[70] Pimkina J., Humbey O., Zilfou J.T., Jarnik M., Murphy M.E.: ARF induces autophagy by virtue of interaction with Bcl-xl. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 2803-2810

[71] Polager S., Ofir M., Ginsberg D.: E2F1 regulates autophagy and the transcription of autophagy genes. *Oncogene*, 2008; 27: 4860-4864

[72] Polewska J.: Autophagy - molecular mechanism, apoptosis and cancer. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 921-936

[73] Purvis J.E., Karhohs K.W., Mock C., Batchelor E., Loewer A., Lahav G.: p53 dynamics control cell fate. *Science*, 2012; 336: 1440-1444

[74] Radi E., Formichi P., Battisti C., Federico A.: Apoptosis and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *J. Alzheimers Dis.*, 2014; 42, Suppl. 3: S125-S152

[75] Rami A.: Review: autophagy in neurodegeneration: firefighter and/or incendiary? *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 2009; 35: 449-461

[76] Reef S., Zalckvar E., Shifman O., Bialik S., Sabanay H., Oren M., Kimchi A.: A short mitochondrial form of p19ARF induces autophagy and caspase-independent cell death. *Mol. Cell*, 2006; 22: 463-475

[77] Riley T., Sontag E., Chen P., Levine A.: Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008; 9: 402-412

[78] Rubinstein A.D., 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

[79] Rubinstein A.D., Kimchi A.: Life in the balance - a mechanistic view of the crosstalk between autophagy and apoptosis. *J. Cell Sci.*, 2012; 125: 5259-5268

[80] Scherz-Shouval R., Shvets E., Fass E., Shorer H., Gil L., Elazar Z.: Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the activity of Atg4. *EMBO J.*, 2007; 26: 1749-1760

[81] Schwarten M., Mohrlüder J., Ma P., Stoldt M., Thielmann Y., Stangler T., Hersch N., Hoffmann B., Merkel R., Willbold D.: Nix directly binds to GABARAP: a possible crosstalk between apoptosis and autophagy. *Autophagy*, 2009; 5: 690-698

[82] Shibusaki S.T., Yoshimori T.: A current perspective of autophagosome biogenesis. *Cell Res.*, 2014, 24: 58-68

[83] Sinha S., Levine B.: The autophagy effector Beclin 1: a novel BH3-only protein. *Oncogene*, 2008; 27: S137-S148

[84] Strappazzon F., Vietri-Rudan M., Campello S., Nazio F., Florenzano F., Fimia G.M., Piacentini M., Levine B., Cecconi F.: Mitochondrial BCL-2 inhibits AMBRA1-induced autophagy. *EMBO J.*, 2011; 30: 1195-1208

[85] Su M., Mei Y., Sinha S.: Role of the crosstalk between autophagy and apoptosis in cancer. *J. Oncol.*, 2013; 2013: 102735

[86] Su Z., Yang Z., Xu Y., Chen Y., Yu Q.: MicroRNAs in apoptosis, autophagy and necroptosis. *Oncotarget*, 2015; 6: 8474-8490

[87] Sui X., Chen R., Wang Z., Huang Z., Kong N., Zhang M., Han W., Lou F., Yang J., Zhang Q., Wang X., He C., Pan H.: Autophagy and chemotherapy resistance: a promising therapeutic target for cancer treatment. *Cell Death Dis.*, 2013; 4: e838

[88] Sui X., Kong N., Ye L., Han W., Zhou J., Zhang Q., He C., Pan H.: p38 and JNK MAPK pathways control the balance of apoptosis and autophagy in response to chemotherapeutic agents. *Cancer Lett.*, 2014; 344: 174-179

[89] Sun X., Momen A., Wu J., Noyan H., Li R., von Harsdorf R., Husain M.: p27 protein protects metabolically stressed cardiomyocytes from apoptosis by promoting autophagy. *J. Biol. Chem.*, 2014; 289: 16924-16935

[90] Tait S.W., Green D.R.: Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2010; 11: 621-632

[91] Towler M.C., Hardie D.G.: AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ. Res.*, 2007; 100: 328-341

[92] Wei Y., Pattingre S., Sinha S., Bassik M., Levine B.: JNK1-mediated phosphorylation of Bcl-2 regulates starvation-induced autophagy. *Mol. Cell.*, 2008; 30: 678-688

[93] Wirawan E., VandeWalle L., Kersse K., Cornelis S., Claerhout S., Vanoverberghe I., Roelandt R., De Rycke R., Verspurten J., Declercq W., Agostinis P., Vanden Berghe T., Lippens S., Vandenabeele P.: 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

[94] Xu W., Roos A., Daha M.R., van Kooten C.: Dendritic cell and macrophage subsets in the handling of dying cells. *Immunobiology*, 2006; 211: 567-575

[95] Yang X., Liu S., Kharbanda S., Stone R.M.: AKT1 induces caspase-mediated cleavage of the CDK inhibitor p27Kip1 during cell cycle progression in leukemia cells transformed by FLT3-ITD. *Leuk. Res.*, 2012; 36: 205-211

- [96] Yang Z., Klionsky D.J.: An overview of the molecular mechanism of autophagy. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2009; 335: 1-32
- [97] Ylä-Anttila P., Vihinen H., Jokitalo E., Eskelinen E.L.: 3D tomography reveals connections between the phagophore and endoplasmic reticulum. *Autophagy*, 2009; 5: 1180-1185
- [98] Youle R.J., Strasser A.: The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008; 9: 47-59
- [99] Yousefi S., Perozzo R., Schmid I., Ziemiecki A., Schaffner T., Scapozza L., Brunner T., Simon H.U.: Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat. Cell Biol.*, 2006; 8: 1124-1132
- [100] Zalckvar E., Berissi H., Mizrachy L., Idelchuk Y., Koren I., Eisenstein M., Sabanay H., Pinkas-Kramarski R., Kimchi A.: DAP-kinase-mediated phosphorylation on the BH3 domain of beclin 1 promotes dissociation of beclin 1 from Bcl-XL and induction of autophagy. *EMBO Rep.*, 2009; 10: 285-292
- [101] Zhan Y., Gong K., Chen C., Wang H., Li W.: P38 MAP kinase functions as a switch in MS-275-induced reactive oxygen species-dependent autophagy and apoptosis in human colon cancer cells. *Free Radic Biol. Med.*, 2012; 53: 532-543
- [102] Zhou C., Zhou J., Sheng F., Zhu H., Deng X., Xia B., Lin J.: The heme oxygenase-1 inhibitor ZnPPiX induces non-canonical, Beclin 1-independent, autophagy through p38 MAPK pathway. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 2012; 44: 815-822
- [103] Zhu X., Messer J.S., Wang Y., Lin F., Cham C.M., Chang J., Billiar T.R., Lotze M.T., Boone D.L., Chang E.B.: Cytosolic HMGB1 controls the cellular autophagy/apoptosis checkpoint during inflammation. *J. Clin. Invest.*, 2015; 125: 1098-1110

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.