

Received: 11.07.2020  
Accepted: 09.03.2021  
Published: 18.06.2021

## Sestriny jako modulatory procesów starzenia i chorób związanych z wiekiem\*

### Sestrins as modulators of aging processes and diseases related to age

**Bożena Gabryel, Roksana Duszkiewicz**

Zakład Farmakologii Katedry Farmakologii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

#### Streszczenie:

Sestriny to wysoce konserwatywne białka, które regulują wzrost, metabolizm, przeżycie i proliferację komórek w warunkach stresu oksydacyjnego, stresu genotoksycznego, hipoksji czy stresu retikulum endoplazmatycznego. Sestriny wpływają na sygnalizację komórkową przez hamowanie wytwarzania reaktywnych form tlenu, aktywację kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK), hamowanie szlaku mTOR, a działają jako pozytywny regulator autofagii. W związku z tym coraz częściej wskazuje się ich rolę ochronną przed chorobami nowotworowymi, metabolicznymi, sercowo-naczyniowymi i neurodegeneracyjnymi. W artykule scharakteryzowano mechanizmy działania sestrin oraz ich znaczenie w starzeniu się i chorobach związanych z wiekiem. Omówione zostały również najnowsze badania wskazujące na istotne znaczenie fizjologiczne tych białek oraz udział w kluczowych szlakach sygnałowych kontrolujących metabolizm komórkowy i przeżycie w warunkach stresu.

#### Słowa kluczowe:

**sestriny, starzenie, choroby związane z wiekiem, stres oksydacyjny, mTOR, AMPK**

#### Summary:

Sestrins are highly conserved proteins that regulate cell growth, metabolism, survival and proliferation under oxidative stress, genotoxic stress, hypoxia or endoplasmic reticulum stress. Sestrins affect cell signaling by inhibiting the production of reactive oxygen species, activating the AMP-activated protein kinase (AMPK), inhibiting the mTOR pathway and acting as a positive regulator of autophagy. Therefore, their protective role against cancer, metabolic disorders, cardiovascular diseases and neurodegeneration is increasingly being postulated. The article describes the mechanisms of action of sestrins and their meaning in aging and age-related diseases. The latest studies indicating their physiological significance and role in key signaling pathways controlling the cell metabolism and survival under stress conditions were also discussed.

#### Keywords:

**Sestrins, aging, age-related diseases, oxidative stress, mTOR, AMPK**

#### GICID

01.3001.0014.9471

#### DOI:

10.5604/01.3001.0014.9471

#### Word count:

7 100

#### Tables:

–

#### Figures:

3

#### References:

91

#### Adres autorki:

dr hab. n. med. Bożena Gabryel, ORCID: 0000-0002-9319-9551, Zakład Farmakologii Katedry Farmakologii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice;

\*Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego nr PCN-2-062/N/0/0 finansowanego ze środków Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

## Wykaz skrótów:

**ACC** – karboksylaza acetylo-CoA; **AD** – choroba Alzheimer; **Akt/PKB** – kinaza białkowa B; **AMP** – adenosynomonofosforan; **AMPK** – kinaza aktywowana AMP; **ARE** – element odpowiedzi antyoksydacyjnej; **ATP** – adenosynotrifosforan; **CaMKK** – kinaza kinaz kalmodulinozależnych; **4E-BP1** – białko wiążące eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E; **eIF4E** – eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E; **ER** – retikulum endoplazmatyczne; **γ-GCS** – syntetaza γ-glutamylcysteinowa; **GADD** – grupa białek naprawczych (growth arrest and DNA damage-inducible); **GPAT** – acylotransferaza glicerolo-3-fosforanu; **Grb10** – białko wiążące receptor czynnika wzrostu 10; **GS** – syntaza glikogenu; **HIF** – czynnik indukowany hipoksją; **HMGCR** – reduktaza hydroksymetyloglutarylo-koenzymu A; **HO-1** – oksygenaza hemowa 1; **I/R** – niedokrwienie/reperfuzja; **IRS1** – substrat receptora insulinowego; **JNK** – kinaza N-końcowej domeny białka Jun; **Keap1** – białko represorowe wiążące Nrf2; **LKB1** – serynowo-treoninowa kinaza 1; **MEFs** – mysie fibroblasty embrionalne; **mLST8/GβL** – białko podobne do podjednostki β białka G; **mSIN-1** – ssacz białko oddziałujące z białkową kinazą zależną od stresu; **mTOR** – ssaczy cel rapamycyny; **mTORC1** – kompleks 1 kinazy mTOR; **mTORC2** – kompleks 2 kinazy mTOR; **NQO1** – reduktaza NAD(P)H:chinon 1; **Nrf2** – czynnik jądrowy 2; **PD** – choroba Parkinsona; **PI3K** – kinaza 3-fosfatydyloinozytolu; **Raptor** – białko regulatorowe związane z mTOR; **Rheb** – homolog białka Ras wzbogacony w mózgu; **Rictor** – białko niewrażliwe na rapamycynę towarzyszące mTOR; **ROS** – reaktywne formy tlenu; **S6K** – kinaza rybosomalna S6; **Sesn1** – sestrina 1; **Sesn2** – sestrina 2; **Sesn3** – sestrina 3; **SREBP** – białko wiążące sterolowy element regulatorowy; **TSC1** – hamartyna; **TSC2** – tuberyna; **ULK1** – kinaza podobna do Unc-51.

## WSTĘP

Starzenie jest złożonym procesem, z którym wiąże się wiele zmian patologicznych, takich jak zaburzenia metaboliczne, osłabienie układu odpornościowego czy problemy neurologiczne [24, 30]. Może doprowadzić do powstania zmian nowotworowych, cukrzycy, neurodegeneracji i miopatii [4]. Strategie opóźniania i potencjalnego odwracania procesu starzenia były od dawna przedmiotem wielu badań, jednak mechanizmy molekularne leżące u jego podstaw wciąż nie są w pełni poznane. Sugeruje się, że w procesie starzenia znaczący udział mają białka indukowane stresem o nazwie sestriny [76]. Są to wysoce konserwatywne białka indukowane stresorami środowiskowymi, wśród których można wymienić stres oksydacyjny, uszkodzenia DNA, niedotlenienie, niedobory składników odżywczych [48]. Sestriny dzięki pleiotropowym właściwościom biologicznym pełnią ważną rolę w łagodzeniu różnych zaburzeń związanych z wiekiem, w tym dysfunkcji mitochondriów, oporności na insulinę, nietolerancji glukozy, neurodegeneracji czy chorób sercowo-naczyniowych [49, 50, 58, 77]. Wynika ona z dwóch zasadniczych funkcji biologicznych sestrin: działania antyoksydacyjnego oraz hamowania kompleksu 1 kinazy mTOR (mTORC1) [8].

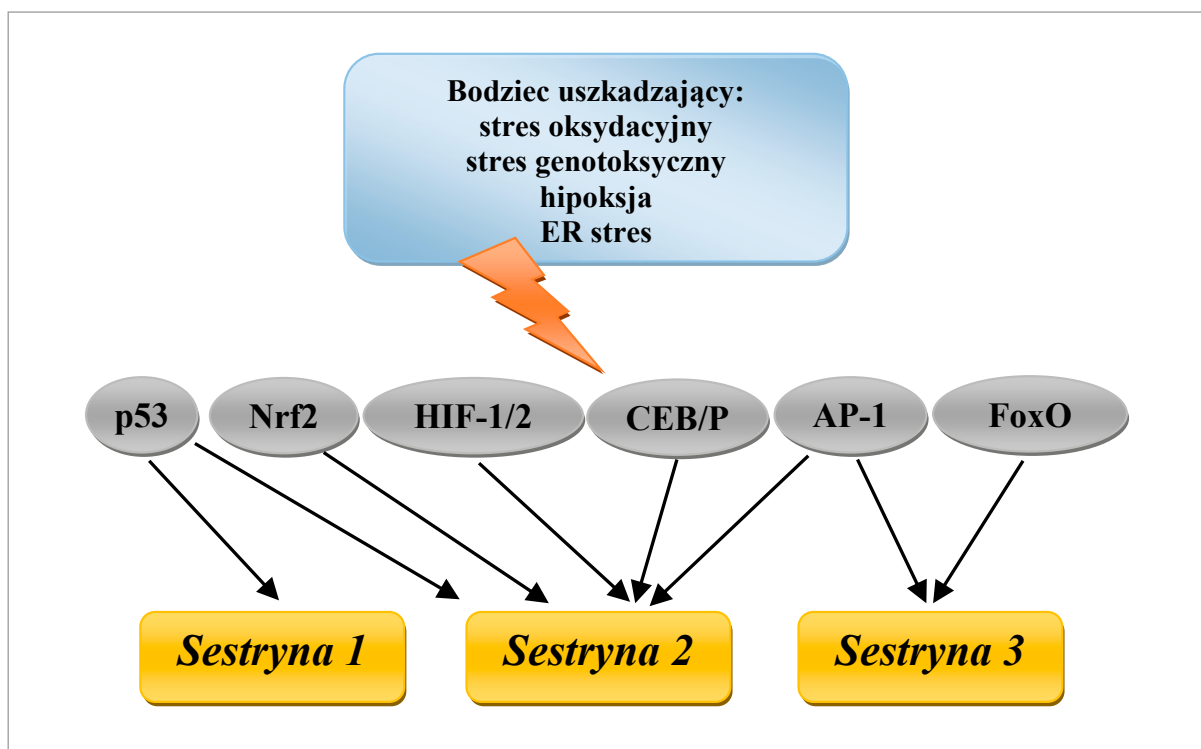
## SESTRYNY – RODZINA BIAŁEK INDUKOWANYCH STRESEM ŚRODOWISKOWYM

Do rodziny sestrin należą trzy izoformy: sestrina 1 (Sesn1, znana także jako PA26), sestrina 2 (Sesn2, znana także jako Hi95) i sestrina 3 (Sesn3) o prawie 50% identycznej sekwencji aminokwasowej, kodowane odpowiednio przez geny *Sesn1* (6q21), *Sesn2* (1p35.3) i *Sesn3* (11q21) [48]. Przez długi czas funkcje biochemiczne sestrin były trudne do określenia ponieważ białka te nie zawierają znanych domen strukturalnych lub motywów katalitycznych. Dopiero zidentyfikowanie pewnego podobieństwa sekwencyjnego sestrin do oksydoreduktaz bakteryjnych doprowadziło do odkrycia ich silnych właściwości antyoksydacyjnych [48].

Pierwsze informacje dotyczące sestrin pojawiły się w 1999 r., gdy opisano wzrost ekspresji genu PA26 (*Sesn1*) indukowany w odpowiedzi na uszkodzenie wywołane promieniowaniem jonizującym, UV oraz cytotatycznymi jako nowy cel białka supresorowego nowotworu - p53. Wyniki tych badań sugerowały, że *Sesn1* ma właściwości typowe dla genów naprawczych GADD (growth arrest and DNA damage-inducible) i genów indukowanych uszkodzeniem DNA, a przez to stanowi nowy, potencjalny regulator wzrostu komórkowego [78]. Trzy lata później, dzięki zastosowaniu hybrydyzacji mikromacierzy cDNA do identyfikacji genów uczestniczących w odpowiedzi komórkowej na hipoksję odkryto nowy gen Hi95 (*Sesn2*), który wykazywał znaczącą homologię z PA26 (*Sesn1*) [9]. Przedłużone niedotlenienie, uszkodzenie DNA i stres oksydacyjny (ale nie hipertermia czy deprywacja surowicy) powodowało nasilenie transkrypcji *Hi95*. Wykazano również, że nadekspresja pełnej długości cDNA genu *Hi95* jest toksyczna dla wielu rodzajów komórek, prowadząc albo do ich uwrażliwienia na niedobory odżywcze i uszkodzenie DNA albo do apoptozy [76]. Zasugerowano zatem istotny udział *Sesn2* w regulacji przeżycia komórek w odpowiedzi na różne rodzaje stresu.

Odpowiedzialne za indukcję transkrypcji genów *Sesn1-3* są: białko p53 (*Sesn1* i *Sesn2*), białko AP-1 (*Sesn2* i *Sesn3*), czynniki transkrypcyjne Nrf2, HIF-1/2 i c/EBPβ (*Sesn2*) oraz czynniki transkrypcyjne FoxOs (*Sesn3*) (ryc. 1) [3, 14, 69, 74].

*Sesn2* jest najlepiej poznaną izoformą sestrin. Badania struktury ludzkiej *Sesn2* (h*Sesn2*) z użyciem krystalografii rentgenowskiej wykazały, że cząsteczkę h*Sesn2* tworzą dwie strukturalnie podobne subdomeny (*Sesn-A* i *Sesn-C*) połączone domeną helisa-skręt-helisa (*Sesn-B*) [72]. Specyficzne miejsca w tych domenach warunkują oddziaływanie sestrin z innymi białkami i modulację ich funkcji [41]. I tak katalityczna cysteina (C125) w domenie *Sesn-A* wraz z otaczającymi ją konserwatywnymi resztami aminokwasowymi tyrozyny oraz histydy (Y127 i H132) odpowiadają za funkcję antyoksydacyjną h*Sesn2*.



**Ryc. 1.** Czynniki transkrypcyjne regulujące ekspresję genów sestryn w odpowiedzi na bodźce stresowe

Natomiast dwie reszty kwasu asparaginowego (D406 i D407) w domenie C są odpowiedzialne za interakcję Sesn2 z białkiem GATOR (GTPase activating protein towards Rags) i negatywną regulację mTORC1. Miejsce wiążące leucynę, obecne także w domenie Sesn-C, sugeruje znaczenie hSesn2 jako bezpośredniego sensora dostępności tego aminokwasu [80]. Ponadto wykazano, że Sesn2 oddziałuje z białkiem represorowym Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) wiążącym Nrf2, białkiem p62/SQTM oraz inicjatorem autofagii ULK1 (uncoordinated-51-like kinase-1) potwierdzając tym samym jej rolę jako łącznika między odpowiedzią antyoksydacyjną i autofagią [70].

Ponieważ z wiekiem dochodzi do nasilenia stresu oksydacyjnego i szlaku mTOR, sestryny stały się głównie celem badań nad komórkowymi mechanizmami starzenia się organizmu i metodami ich spowalniania [28]. Dostępne dane wykazują jednak, że sestryny odgrywają również istotną rolę w hamowaniu rozwoju nowotworów, stanów zapalnych i chorób neurologicznych [40, 42, 85].

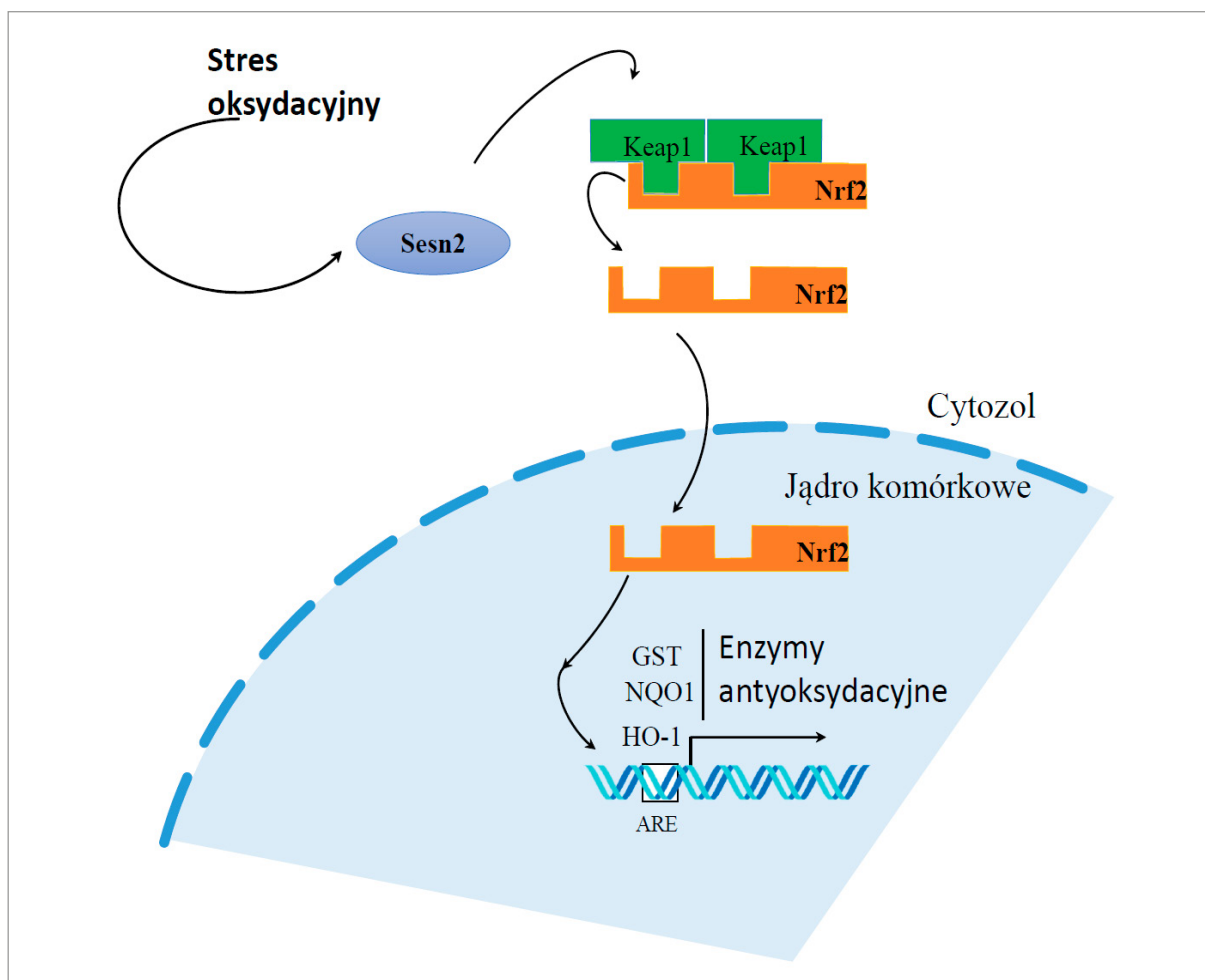
#### **ROLA SESTRYN W SZLAKU SYGNAŁOWYM KEAP1/NRF2**

Ścieżka sygnałowa Keap1/Nrf2 jest jednym z najważniejszych wewnątrzkomórkowych szlaków antyoksydacyjnych [10]. Nrf2 to czynnik transkrypcyjny o wysokiej wrażliwości na stres oksydacyjny, który wiąże się w jądrze komórkowym z fragmentem DNA określanym jako element odpowiedzi antyoksydacyjnej ARE (antioxidant response elements). Sekwencję nukleotydową ARE zidentyfikowano jako 5'-TGACNNNGC-3', 'N' oznacza dowolny

nukleotyd. Geny zawierające w swoich promotorach ARE kodują enzymy antyoksydacyjne, tj. S-transferazy glutationowe (GSTs, glutathione S-transferases), reduktazę NAD(P)H:chinon 1 (NQO1, NQO1 – NAD(P)H quinone dehydrogenase 1), oksygenazę hemową 1 (HO-1, heme oxygenase), syntetazę  $\gamma$ -glutamylcysteinową ( $\gamma$ -GCS,  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase) i wiele innych [62].

W warunkach fizjologicznych Nrf2 jest związany z białkiem supresorowym Keap1 i zakotwiczony w cytoszkieletie aktyny, a przez to ograniczona jest jego aktywność transkrypcyjna [38]. Stres oksydacyjny powoduje, że Nrf2 oddziela się od Keap1 i ulega translokacji do jądra komórkowego. To umożliwia jego wiązanie do ARE i pobudzenie transkrypcji genów kodujących enzymy antyoksydacyjne [59]. Na aktywację oraz szybkość translokacji Nrf2 do jądra komórkowego ma także wpływ stopień jego ufosforylowania, który jest zależny od funkcji kinaz. Dotychczas wykazano, że w regulację odpowiedzi Nrf2 na stres oksydacyjny są zaangażowane m.in. kinazy białkowe aktywowane przez mitogeny (MAPKs, mitogen activated protein kinases), kinaza 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K, phosphoinositide-3 kinase), kinaza białkowa C (PKC, protein kinase C) czy też kinaza białkowa retikulum endoplazmatycznego (PERK, RNA-dependent protein kinase (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase) [83, 87].

Ważnym odkryciem było określenie roli Sesn2 w utrzymaniu homeostazy komórkowej w warunkach stresu oksydacyjnego. Najważniejsza dla niej okazała się obecność w Sesn2 konserwowanej reszty cysteinowej Cys125, łatwo ulegającej utlenieniu [3]. Pod wpływem reaktywnych



**Ryc. 2.** Udział sestriny 2 (Sesn2) w szlaku sygnałowym Keap1/Nrf2

form tlenu (ROS) Sesn2 aktywuje Nrf2 przez osłabienie jego oddziaływania z Keap1 i umożliwienie tym samym translokacji do jądra komórkowego (ryc. 2) [33]. Wykazano, że w brunatnej tkance tłuszczowej Sesn2 może także wstrzymywać kinazę p38 MAP uruchamianą przez ROS oraz białko rozprzegające 1. Ponadto, Sesn2 w mechanizmie zależnym od Nrf2 osłabia stres oksydacyjny w mózgu i nerkach [27, 36].

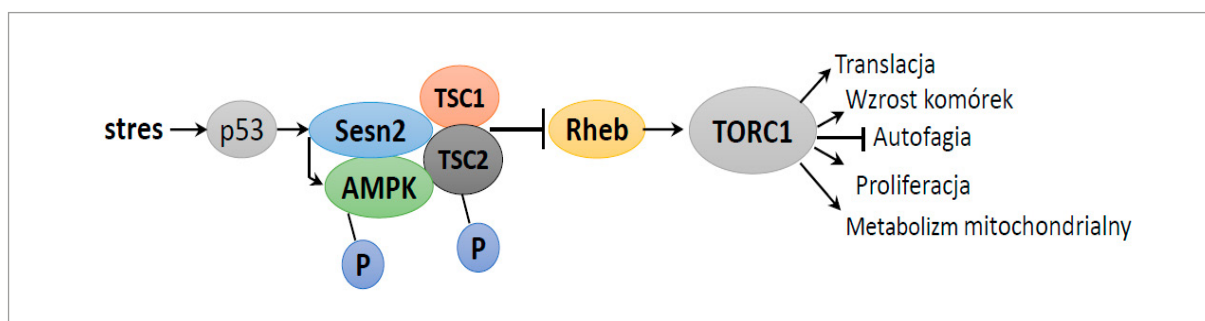
#### ROLA SESTRYN W SZLAKU SYGNAŁOWYM AMPK/MTORC1

Podstawowym aspektem korzystnego działania sestrin jako białek spowalniających procesy starzenia jest ich wpływ na szlak sygnałowy kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK)/mTORC1.

Kinaza mTOR (mammalian target of rapamycin kinase), sensor dostępności energii i składników odżywczych oraz regulator wzrostu, należy do kinaz homologicznych z PI3K. Stanowi ona podjednostkę katalityczną dwóch funkcjonalnie i biochemicznie różnych kompleksów: wysoce wrażliwego na rapamycynę mTORC1 i niewrażliwego na rapamycynę kompleksu 2 kinazy mTOR (mTORC2) [81].

Kompleks mTORC1 tworzy kinaza mTOR, białka Raptor (regulatory associated protein of mTOR) i mLST8/GβL (mammalian LST8/G protein β-subunit like protein) oraz endogenne inhibitory, takie jak PRAS40 (proline-rich AKT1 substrate 40), DEPTOR (DEP domain-containing mTOR interacting protein) i FKBP38. Wiadomo, że mTORC1 jest wewnątrzkomórkowym ogniwem sprzęgającym sygnały metaboliczne i środowiskowe (tj. tlen, czynniki wzrostu, składniki odżywcze, stres) z regulacją biosyntezy białek i lipidów, wzrostem komórek, biogenezą rybosomów oraz autofagią [81]. Zatem mTORC1 aktywuje procesy anaboliczne, a hamuje reakcje kataboliczne będące źródłem adenozynotrifosforanu (ATP). Nadmierna aktywacja mTORC1 może towarzyszyć zaburzeniom metabolicznym związanym z wiekiem i otyłością [34].

mTORC1 podlega regulacji przez umiejscowiony wyżej w kaskadzie sygnałowej kompleks TSC (tuberous sclerosis complex) złożony z białek TSC1 (hamartyna) i TSC2 (tuberyna). Podjednostka TSC2 działa jako białko aktywujące GTP i negatywny regulator białka Rheb (Ras homolog enriched in brain). Rheb jest silnym stymulatorem aktywności kinazy mTOR [47]. Aktywność TSC2 regulują różne kinazy białkowe, tj. Akt, Erk1/2 czy AMPK.



**Ryc. 3.** Udział sestriny 2 (Sesn2) w szlaku sygnałowym AMPK/mTORC1

Dwoma najbardziej znanymi celami działania mTORC1 na szlaku przekazywania sygnału są regulatory syntezy białek: kinaza rybosomalna S6 (S6K) i białko wiążące eukariotyczny czynnik translacji 4E(4E-BP1) [81]. Kompleks mTORC1 jest także negatywnym regulatorem autofagii hamującym przez fosforylację składniki kompleksu inicjującego autofagię – białka ULK1 i ATG13 (autophagy-related protein 13) [32]. Połączenie mTOR1 z kompleksem inicjującym autofagię ULK1:ATG13:FIP200 utrzymuje bowiem ATG13 w stanie hiperfosforylacji osłabiając przez to jego powinowactwo do ULK1 i możliwość zapoczątkowania tworzenia błon izolujących [64].

Natomiast mTORC2 zawiera białka: mTOR, Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR), mLST8/GβL, Protor-1/2 (protein observed with rictor-1/2), mSIN1 (mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1) oraz endogenne inhibitory, takie jak DEPTOR i XPLN (exchange factor found in platelets, leukemic, and neuronal tissues). Kompleks ten bierze udział w regulacji cytoszkieletu aktynowego oraz wzroście i rozprzestrzenianiu komórek [42]. Po aktywacji, wyłącznie przez czynniki wzrostu, mTORC2 reguluje przez fosforylację aktywność kinaz – głównie AKT, SGK (serum and glucocorticoid-regulated kinase) i PKC [81].

AMPK natomiast jest kluczowym enzymem regulującym homeostazę energetyczną, zarówno na poziomie komórki, jak i całego organizmu. Jej aktywacja następuje pod wpływem deficytów energetycznych (np. podczas hipoksji, głodzenia czy wysiłku fizycznego), a więc w warunkach spadku stężenia ATP przy równoczesnym wzroście poziomu AMP. AMPK spełnia zatem rolę swoistego „czujnika” statusu energetycznego komórki. Jest też negatywnym regulatorem mTOR. AMPK to heterotrimeryczna kinaza serynowo-treoninowa zbudowana z katalitycznej podjednostki α występującej w dwóch izoformach (α1, α2) oraz dwóch podjednostek regulatorowych β (β1, β2) i γ (γ1, γ2, γ3) [73]. Funkcją podjednostki α jest oddziaływanie z podjednostkami β i γ oraz autoinhibicja [23]. Podjednostka β utrzymuje konformację całej cząsteczki, a γ odpowiada za wiązanie AMP i ATP [82]. Poziom ekspresji poszczególnych izoform wykazuje swoistość tkankową i jest zależny od umiejscowienia w konkretnych kompartmentach komórki. Izofорма α1 znajduje się głównie w tkance tłuszczowej, płucach, trzustce, nerkach i śledzionie. Izofорма α2, podobnie jak β2, występuje w mięśniu sercowym i mięśniach szkieletowych. Natomiast izoformy β1, γ1 i γ2 są szeroko

rozpowszechnione w ludzkich tkankach, w odróżnieniu od γ3, dla której istotną ekspresję mRNA stwierdzono tylko w mięśniach szkieletowych [20].

Aktywność AMPK podlega kilku mechanizmom regulacyjnym pozwalającym na szybką reakcję komórki w odpowiedzi na niewielkie nawet zmiany stosunku AMP/ATP [58]. Przyłączenie dwóch cząsteczek AMP do specyficznej domeny podjednostki γ (zwanej motywem CBS) powoduje allosteryczną aktywację AMPK. Następnie możliwa jest fosforylacja treoniny 172 (Thr172) zlokalizowanej w podjednostce α i dalszy (nawet 100-krotny) wzrost aktywności AMPK [60]. Fosforylacja α-Thr172 zachodzi z udziałem trzech kinaz, tj. LKB1 (liver kinase B1), CAMKK (Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase α) oraz TAK1 (transforming growth factor β-activated kinase). LKB1 odgrywa ważną rolę w aktywacji AMPK w odpowiedzi na AMP [73]. Aktywność AMPK może być również regulowana dzięki interakcjom białko-białko, np. z białkiem KSR2 (kinase suppressor of Ras 2) [22]. Ponadto, związanie AMP przez podjednostkę γ uniemożliwia defosforylację α-Thr172, a tym samym dezaktywację AMPK przez fosfatazy [60].

AMPK hamuje przez fosforylację aktywność wielu enzymów anabolicznych zaangażowanych w biosyntezę glikogenu i lipidów, tj. karboksylazy acetylo-CoA (ACC, acetyl-CoA carboxylase), acylotransferazy glicerolo-3-fosforanu (GPAT glycerol phosphate acyl transferase), reduktazy hydroksymetyloglutarylo-koenzymu A (HMGCR, 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase) i syntazy glikogenu (GS, glycogen synthase) [31]. AMPK hamuje również aktywność transkrypcyjną białka wiążącego sterolowy element regulatorowy (SREBP, sterol regulatory element binding protein), obniżając w ten sposób ekspresję genów lipogenicznych [48]. Jednocześnie AMPK nasila procesy kataboliczne: biogenezę mitochondrialną, syntezę ATP, wychwyt glukozy, oksydację kwasów tłuszczowych i glikolizę [31]. Wzrost aktywności AMPK w warunkach stresu metabolicznego ma także związek z jej pobudzającym wpływem na kinazę ULK1, zaangażowaną w indukcję autofagii [43]. Co ważne, AMPK antagonizuje procesy anaboliczne stymulowane przez mTORC1. Pośrednie zahamowanie przez AMPK aktywności mTORC1 jest skutkiem zależnej od fosforylacji aktywacji TSC2 i następnej inhibicji białka Rheb. Wykazano jednak, że AMPK może też bezpośrednio hamować mTORC1 przez katalizowanie reakcji fosforylacji jego podjednostki regulatorowej – białka Raptor [37].



Sesn2 hamuje mTORC1 głównie przez aktywację AMPK i fosforylację TSC2 (ryc. 3) [5]. Ponadto, zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* stwierdzono, że wyciszenie ekspresji genu Sesn2 powoduje zahamowanie AMPK i przedłużony wzrost aktywności mTORC1 w różnych typach komórek wskazując tym samym na ważną rolę Sesn2 w szlaku sygnałowym AMPK/mTORC1 [6, 49].

W komórkach, w których przeprowadzono knockdown Sesn2 obserwowano jednocześnie wzrost fosforylacji białek docelowych mTORC1, takich jak S6K i 4-EBP. Sugeruje się zatem, że Sesn2 poprzez zahamowanie aktywności mTORC1 osłabia fosforylację S6K i 4E-BP [6]. Nieufosforylowane 4E-BP wiąże eukariotyczny czynnik inicjacji translacji eIF4E (eukaryotic translation initiation factor 4E) i uniemożliwia powstanie kompleksu inicjującego translację eIF4F. Zaburzenie przez Sesn2 sygnalizacji mTOR do białek docelowych i obniżenie poziomu eIF4F może zatem doprowadzić do osłabienia translacji mRNA dla protoonkogenów, tj. cykliny D1 czy c-myc, i zapobiegać transformacji nowotworowej [1, 55].

Sposób w jaki sestriny aktywują AMPK nie jest jeszcze dokładnie wyjaśniony. Dostępne dane wskazują na ułatwienie przez te białka procesu fosforylacji, a tym samym aktywacji AMPK. W badaniach *in vitro* obserwowano jednak, iż Sesn2 nie tylko wzmacnia fosforylację AMPK (głównie przez LKB1), ale też nasila autofosforylację oraz reguluje ekspresję podjednostek AMPK [71].

## ROLA SESN2 W REGULACJI AUTOFAGII I MITOFAGII

Autofagia jest ściśle regulowanym procesem, który umożliwia komórce degradację, recykling oraz odzyskiwanie energii z uszkodzonych i/lub toksycznych elementów jej struktury [29]. Proces ten, ściśle związany z kontrolą wewnątrzkomórkowego wytwarzania ROS, inicjuje kinaza ULK1. Jak wspomniano wyżej, aktywność ULK1 jest hamowana fosforylacją Ser757 przez mTOR, a pobudzana fosforylacją Ser317 i Ser777 przez AMPK [13]. Desfosforylacja ULK1 powoduje natomiast nukleację fagoforu, czyli utworzenie błony izolującej (przekształcaną później w autofagosom) z udziałem kompleksu białek PI3K:Beklina-1:p150. Ten etap wyzwala kaskadę sygnalizacyjną, dzięki której dochodzi do akumulacji koniugatów Atg8-fosfatydylol-etanolamina. To prowadzi do dojrzewania i zamknięcia autofagosomów oraz zakotwiczenia w ich błonach specyficznych białek, tj. p62/SQTM. W następny etap, polegający na fuzji autofagosomu z lizosomem, są także zaangażowane różne białka, przede wszystkim SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor-attachment protein receptor) i wiążące Beklinę 1 białko UVRAG (UV irradiation resistance-associated gene) [57].

Mitofagia jest natomiast postacią selektywnej autofagii polegającej na degradacji mitochondriów. Zaburzenie mitofagii powoduje nagromadzenie dysfunkcyjnych lub uszkodzonych mitochondriów, będących źródłem nadmiernie wytwarzanych ROS [88]. Wysoki poziom ROS indukuje stan zapalny przez różne mechanizmy, w tym nadmierną aktywację inflammasomu NLRP3 [21].

W wyniku uwolnienia mitochondrialnego DNA, uszkodzenia tkanek i śmierci komórek dochodzi do wielu patologii zwyrodnieniowych.

Sestriny są pozytywnymi regulatorami autofagii indukowanej przez różne stresory środowiskowe wywołujące dysfunkcję mitochondriów [3, 33]. W warunkach stresu metabolicznego, bezpośrednia fosforylacja ULK1 przez aktywowaną sestrinami AMPK uruchamia mechanizm autofagii [43]. Ponadto, Sesn2 wiąże wielofunkcyjne białko adaptorowe p62/SQTM i nasila zależną od niego degradację. P62/SQTM asocjuje z wieloma substratami przeznaczonymi do autofagii, takimi jak uszkodzone mitochondria, ubikwitynowane białka czy inhibitor Nrf2 – białko Keap1 [21]. Wykazano, że połączenie Sesn2 z p62/SQTM powoduje autofagiczną degradację Keap1 i w końcu nasilenie transkrypcji genów antyoksydacyjnych [3]. Sesn2 może tworzyć też funkcjonalny kompleks z ULK1 i p62/SQTM, faworyzując tym samym fosforylację p62/SQTM przez ULK1 [68]. Co więcej, Sesn2 ułatwia rozpoznawanie uszkodzonych mitochondriów i przekazywanie ich do degradacji. Ten proces jest dalej wzmacniany przez zdolność Sesn2 do zwiększania poziomu ULK1 i prawdopodobnie zapobiega nadmiernej aktywacji inflammasomu NLRP3 [45].

## SESTRYNY – BIAŁKA OPÓŹNIAJĄCE PROCESY STARZENIA

Mechanizmy komórkowe odpowiedzialne za starzenie obejmują: akumulację uszkodzonych oksydacyjnie białek, lipidów i kwasów nukleinowych, niestabilność genomu, dysfunkcję mitochondriów, utratę homeostazy białkowej i zmniejszenie liczby komórek macierzystych [54]. Dlatego też z wiekiem znacznie wzrasta ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, cukrzycy typu 2, nowotworów, udarów czy neurodegeneracji, takich jak choroby Parkinsona (PD, Parkinson's disease) i Alzheimerza (AD, Alzheimer's disease).

Typowym dla starzenia zaburzeniom metabolicznym, upośledzeniu proteostazy czy osłabieniu mięśni towarzyszy dysregulacja mTORC1, zahamowanie sygnalizacji AMPK, zwiększone wytwarzanie ROS oraz osłabienie autofagii. Sestriny mają zatem wszystkie korzystne cechy umożliwiające spowolnienie procesu starzenia poprzez hamowanie ROS i mTORC1 wraz z jednoczesną stymulacją AMPK i autofagii. Potwierdzają to wyniki badań, w których nasilenie ekspresji sestrin opóźniało starzenie, a jej osłabienie przyspieszało ten proces [8, 50]. Niedawno opisane umieszczenie sestriny 2 w mitochondriach potwierdza, że sestrina ta może być bezpośrednio zaangażowana w regulację funkcji mitochondriów [7, 46].

Sestriny przez zmniejszenie anabolizmu i indukcję autofagii mogą reprogramować komórki w celu osłabienia szkodliwego działania różnych stresorów. Białka te pełnią też funkcję przeciwutleniaczy ponieważ łagodzą uszkodzenia oksydacyjne, zapobiegają dysfunkcji mitochondriów lub hamują ich metabolizm będący źródłem ROS. Sestriny można zatem uznać za modulatory fizjologiczne osłabiające działanie stresu indukującego przyspieszone starzenie [49].

Istotne jest to, że sestryny wykazują ekspresję także w prawidłowych, niestresowych warunkach. Dlatego mogą chronić przed uszkodzeniami będącymi następstwem podstawowych procesów życiowych, takich jak fosforylacja oksydacyjna czy replikacja DNA [76].

### CHOROBY SERCOWO-NACZYNIOWE

Niedokrwienie (ischemia) i następca reperfuzja (I/R) powodują gwałtowne wytwarzanie ROS, prowadząc do arytmii i uszkodzenia miokardium [18]. Z wiekiem zwiększa się podatność mięśnia sercowego na uszkodzenie ischemiczno-reperfuzyjne w wyniku zaburzenia procesu autofagii, zmniejszenia ekspresji *Sesn2* oraz spadku aktywności AMPK [58, 67]. U myszy z wyłączonym genem *Sesn2* (*Sesn KO*) narażonych na I/R obserwowano większy obszar uszkodzenia i pogorszenie pracy serca w porównaniu do myszy typu dzikiego [58]. W starzejącym się sercu w warunkach I/R upośledzone jest również wiązanie przez *Sesn2* kinazy LKB1 - aktywującej przez fosforylację AMPK [58].

Dostępne dane wskazują też na zdolność sestryn do spowalniania progresji kardiomiopatii przerostowej. Przyczyną tej choroby, ostatecznie prowadzącej do niedożywienia i śmierci kardiomiocytów, jest nadmierne obciążenie lub uszkodzenie serca. Przerost mięśnia sercowego jest jednym z czynników predykcyjnych umieralności i zachorowalności związanej z chorobami sercowo-naczyniowymi [15]. W badaniach mechanistycznych wykazano, że utrata *Sesn1* i *Sesn2* wywołuje nadaktywację mTOR i osłabienie czynności serca, a zahamowuje mTOR i przywraca prawidłową pracę tego organu [75]. Inhibicja mTOR przez sestryny wydaje się wpływać kardioprotekcyjnie, zwłaszcza w warunkach stresowych wywołujących hipertrofię, np. przeciążenie ciśnieniowe [51]. Udowodniono bowiem, że *Sesn1* skutecznie hamuje proliferację fibroblastów sercowych, a wyciszenie genu *Sesn1* pobudza podziały tych komórek indukowane angiotensyną II, nasilając w ten sposób syntezę DNA, wytwarzanie kolagenu i ROS [87]. Obniżenie ekspresji *Sesn1* stwierdzono też w przerście serca wywołanym przeciążeniem ciśnieniowym i fenylefryną [84]. Wyłączenie ekspresji genu *Sesn1* pogarszało w tych warunkach hipertrofię mięśnia sercowego, podczas gdy nadekspresja *Sesn1* ją osłabiała na skutek aktywacji autofagii przez szlak AMPK/mTORC1 [84]. W kardiomiocytach stymulowanych fenylefryną obserwowano także mniejszy poziom *Sesn2* oraz efekt kardioprotekcyjny wywołany nadekspresją tej izoformy [26].

Sestryny wydają się również odgrywać korzystną rolę w zapobieganiu miażdżycy. Osłabienie ekspresji *Sesn2* w śródbłonku naczyniowym powodowała AMPK-zależne nasilenie reakcji prozapalnych i stresu ER [85]. Wykazano także, że *Sesn2* hamuje szlaki zapalne i zmniejsza odpowiedź zapalną makrofagów, które są istotnymi mediatorami w patogenezie miażdżycy [85]. W badaniu na myszach pozbawionych genu *Sesn2* obserwowano nasilenie tworzenia blaszek miażdżycowych w mechanizmie angażującym zwiększone wytwarzanie ROS i stres ER oraz wzrost ekspresji cząsteczek adhezyjnych w naczyniach

krwionośnych [35]. Wynika z tego, że *Sesn1* i *Sesn2* mogą stanowić nowe, atrakcyjne cele terapeutyczne w chorobach sercowo-naczyniowych, których ryzyko wzrasta z wiekiem [65].

### CHOROBY NOWOTWOROWE

Sestryny są obecnie postrzegane jako silne supresory transformacji nowotworowej, stanowiące ogniwo łączące stres genotoksyczny, białko p53 i szlak sygnałowy mTOR [76]. Wyniki eksperymentów prowadzonych na różnych liniach nowotworowych wskazują na istotną rolę sestryn w hamowaniu wzrostu i proliferacji komórek rakowych [5, 25, 42]. Aktywności przeciwnowotworowej sprzyjają silne właściwości antyoksydacyjne tych białek. Zwiększone wytwarzanie ROS i stres oksydacyjny wpływają bowiem indukująco na proliferację oraz mutację, co ostatecznie prowadzi do niestabilności genomu i wzrostu przeżywalności komórek nowotworowych [16].

W warunkach *in vitro* wykazano, że *Sesn2* hamuje podziały mysich fibroblastów embrionalnych (MEFs) na skutek zmniejszenia transkrypcji genów cykliny D1 i c-myc [6]. W badaniach na komórkach nowotworu płuca, deficyt *Sesn2* promował migrację komórek rakowych *in vitro* oraz wzrost ksenograftu *in vivo* [25]. Natomiast silne osłabienie ekspresji *Sesn2* w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) powodowało znaczny wzrost ich agresywności [16]. Ze względu na kontrolę mTORC1, *Sesn1* uznano za supresora rozwoju chłoniaka grudkowego [63]. W raku endometrium promotor genu *Sesn3* jest metylowany w 20%, co wskazuje również na rolę *Sesn3* jako supresora nowotworowego [91]. Natomiast *in vivo*, myszy pozbawione genu *Sesn2* charakteryzowała większa podatność na raka jelita grubego [42]. Dane kliniczne uzyskane u pacjentów z nowotworem jelita grubego potwierdziły, że obniżona ekspresja *Sesn2* koreluje ze złym rokowaniem [79].

### INSULINOOPORNOŚĆ I CUKRZYCA TYPU 2

Kompleks mTORC1 odgrywa podstawową rolę w regulacji metabolizmu komórkowego. Przewlekła stymulacja mTORC1 przez nadmiar składników odżywczych nasila biosyntezę białek i lipidów oraz hamuje autofagię [52]. Na skutek aktywacji przez mTORC1 kinazy S6K, będącej negatywnym regulatorem fosforylacji reszt tyrozynowych substratu receptora insulinooporności (IRS1), może dochodzić do rozwoju insulinooporności i osłabienia indukowanej insuliną ścieżki sygnałowej PI3K/Akt [2]. Kompleks mTORC1 aktywuje przez fosforylację także białko wiążące receptor czynnika wzrostu 10 (Grb10, growth factor receptor-bound protein 10), które zostało zidentyfikowane jako inhibitor szlaku PI3K/Akt [87].

Dysfunkcja autofagii spowodowana aktywacją mTORC1 indukuje stres ER i oporność na insulinę [89]. Stres ER na skutek nadmiernej aktywacji kinazy JNK (c-Jun N-terminal kinase) dodatkowo tłumi sygnalizację insuliny [61]. Dlatego chroniczne pobudzenie mTORC1 przyczynia się do insulinooporności i cukrzycy typu 2.

W badaniach *in vitro* prowadzonych na mysich pierwotnych hepatocytach oraz linii komórkowej ludzkiej hepatomy HepG2 stwierdzono, że insulina powoduje wzrost ekspresji Sesn2 [12]. Natomiast eksperymenty *in vivo* wykazały, że myszy pozbawione genu *Sesn3* mają objawy insulinooporności i nietolerancji glukozy, a nadekspresja tej izoformy chroni myszy transgeniczne przed opornością na insulinę [77]. Wysznięto zatem przypuszczenie, że ze względu na zdolność do hamowania mTORC1 sestriny mogą łagodzić insulinooporność. Niedawno opublikowane dane wskazują, że wysiłek fizyczny pobudza interakcję między AMPK i Sesn2, co powoduje nasilenie przez autofagię wrażliwości na insulinę [53]. Natomiast niedobór Sesn2 zwiększa insulinooporność wywołaną otyłością i przyspiesza rozwój cukrzycy. W badaniu na myszach *Sesn2*<sup>-/-</sup> obserwowano znaczne zmniejszenie insulinooporności wątrobowej i zahamowanie stymulowanego insuliną szlaku PI3/Akt [50]. Co istotne, *Sesn2* podtrzymuje wrażliwość na insulinę na skutek aktywacji AMPK, a spadek jej ekspresji nasila stłuszczenie wątroby spowodowane otyłością [50]. Indukcja *Sesn2* z następczym pobudzeniem AMPK i zahamowaniem mTORC1 wpływa na dużą aktywność kinazy AKT, co powoduje supresję glukoneogenezy wątrobowej i obniżenie poziomu cukru we krwi [50]. Stąd też wydaje się, że regulacja aktywności sestrin może stanowić alternatywne podejście do zapobiegania insulinooporności, otyłości i cukrzycy [11, 44].

## CHOROBY NEURODEGENERACYJNE

Neurony są bardzo wrażliwe na podwyższony poziom ROS, który jest silnym induktorem apoptozy i jedną z pierwotnych przyczyn neurodegeneracji. Z wiekiem osłabieniu ulegają naturalne systemy obrony antyoksydacyjnej a nasilają się niebezpieczne, oksydacyjne uszkodzenia cząsteczek biologicznych [39]. Dlatego też jedną ze strategii terapeutycznych w chorobach neurodegeneracyjnych, tj. PD i AD, jest ograniczanie skutków stresu oksydacyjnego. Te przewlekłe schorzenia cechuje również inny patomechanizm, łączony z dysfunkcją autofagii i opierający się na akumulacji źle pofałdowanych i/lub toksycznych białek. Zalicza się do nich m.in. ciała Lewy’ego zawierające  $\alpha$ -synukleiny w PD oraz amyloid  $\beta$  i hiperfosforylowane białko tau w AD. Podwójna funkcja biologiczna sestrin polegająca na silnym efekcie antyoksydacyjnym i indukcji autofagii stanowi zatem o wyjątkowych właściwościach neuroprotekcyjnych tych białek [17, 33, 49].

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Averous J., Fonseca B.D., Proud C.G.: Regulation of cyclin D1 expression by mTORC1 signaling requires eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1. *Oncogene*, 2008; 27: 1106–1113
- [2] Bae E.J., Xu J., Oh D.Y., Bandyopadhyay G., Lagakos W.S., Keshwani M., Olefsky J.M.: Liver-specific p70 S6 kinase depletion protects against hepatic steatosis and systemic insulin resistance. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 18769–18780
- [3] Bae S.H., Sung S.H., Oh S.Y., Lim J.M., Lee S.K., Park Y.N., Lee H.E., Kang D., Rhee S.G.: Sestrins activate Nrf2 by promoting p62-

W modelu PD *in vitro* stwierdzono, że zwiększona ekspresja *Sesn2* chroni komórki ludzkiej linii neuroblastoma SH-SY5Y przed neurotoksycznością wywołaną 1-metylo-4-fenylpiperidyną (MPP+) [90]. Aktywacja *Sesn2* miała także działanie protekcyjne wobec komórek dopaminergicznych narażonych na działanie rotenonu przez indukcję AMPK-zależnej autofagii oraz zapobieganie ekspresji  $\alpha$ -synukleiny i apoptozie [33]. Natomiast badania prowadzone z użyciem technik immunocytochemicznych i Western blot na mózgach pacjentów z PD wykazały obecność *Sesn3* w ciałach Lewy’ego w pniu mózgu. To wskazuje, że sestriny jako modulatory autofagii mogą być inkorporowane do tych agregatów białkowych, a ich ekspresja zwiększać się z wiekiem [56].

Podobne wyniki otrzymano w modelach doświadczalnych AD. W pierwotnej hodowli neuronów korowych gen *Sesn2* został zidentyfikowany jako jeden z genów, którego ekspresja indukowana jest po ekspozycji na amyloid  $\beta$ , a jego wyciszenie hamuje autofagię i pogłębia cytotoksyczne działanie amyloidu  $\beta$  [19]. Sestriny są ważnymi mediatorami regulacji lizosomalnej autofagii, które odgrywają główną rolę w chorobie Alzheimera [11]. Ponadto, komórki MEFs pozbawione preseniliny (PS1 i PS2), której mutacja jest główną przyczyną rodzinnej postaci AD, wykazywały niższy poziom ekspresji *Sesn2* i dysfunkcję mTORC1 [19]. Natomiast w badaniach klinicznych obserwowano istotnie wyższy poziom *Sesn2* w surowicy krwi starszych pacjentów z AD w porównaniu do kontroli i osób z łagodnym otępieniem, co sugeruje możliwość użycia *Sesn2* jako biomarkera AD [66].

## PODSUMOWANIE

Sestriny są wewnątrzkomórkowymi regulatorami wielu procesów, takich jak autofagia, stres ER, homeostaza metaboliczna i stres oksydacyjny. Odgrywają one istotną rolę ochronną w odpowiedzi na różne czynniki szkodliwe, takie jak uszkodzenia DNA, ischemia, zwiększone wytwarzanie ROS czy stres metaboliczny. W patogenezie chorób związanych z wiekiem, a zwłaszcza nowotworów, niedokrwienia, cukrzycy i neurodegeneracji, kluczową rolę przypisuje się stresowi oksydacyjnemu i zaburzeniom autofagii. Sestriny mają unikalne cechy łączące właściwości antyoksydacyjne z hamowaniem mTORC1 i indukcją autofagii. Wydaje się zatem, że sestriny mogą stanowić podstawę innowacyjnych strategii terapeutycznych w chorobach związanych z wiekiem.

dependent autophagic degradation of Keap1 and prevent oxidative liver damage. *Cell Metab.*, 2013; 17: 73–84

- [4] Blokh D., Stambler I.: The application of information theory for the research of aging and aging-related diseases. *Prog. Neurobiol.*, 2017; 157: 158–173

- [5] Budanov A.V.: Stress-responsive sestrins link p53 with redox regulation and mammalian target of rapamycin signaling. *Antioxid. Redox Signal.*, 2011; 15: 1679–1690



- [6] Budanov A.V., Karin M.: p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect genotoxic stress and mTOR signaling. *Cell*, 2008; 134: 451–460
- [7] Budanov A.V., Kovaleva I., Tokarchuk A., Zheltukhin A.O., Dalina A.A., Lyamzaev K.G., Haidurov A., Chumakov P.M.: Mitochondrial localization and function of SESN2. *FASEB J.*, 2020; 34: 1
- [8] Budanov A.V., Lee J.H., Karin M.: Stressin' Sestrins take an aging fight. *EMBO Mol. Med.*, 2010; 2: 388–400
- [9] Budanov A.V., Shoshani T., Faerman A., Zelin E., Kamer I., Kalinski H., Gorodin S., Fishman A., Chajut A., Einat P., Skalter R., Gudkov A.V., Chumakov P.M., Feinstein E.: Identification of a novel stress-responsive gene Hi95 involved in regulation of cell viability. *Oncogene*, 2002; 21: 6017–6031
- [10] Buendia I., Michalska P., Navarro E., Gameiro I., Egea J., León R.: Nrf2-ARE pathway: An emerging target against oxidative stress and neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Pharmacol. Ther.*, 2016; 157: 84–104
- [11] Çelik H., Karahan H., Kelicen-Uğur P.: Effect of atorvastatin on A $\beta$ 1-42-induced alteration of SESN2, SIRT1, LC3II and TPP1 protein expressions in neuronal cell cultures. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2020; 72: 424–436
- [12] Chai D., Wang G., Zhou Z., Yang H., Yu Z.: Insulin increases Sestrin 2 content by reducing its degradation through the PI3K/mTOR signaling pathway. *Int. J. Endocrinol.*, 2015; 2015: 505849
- [13] Chan E.Y.: Regulation and function of uncoordinated-51 like kinase proteins. *Antioxid. Redox Signal.*, 2012; 17: 775–785
- [14] Chen C.C., Jeon S.M., Bhaskar P.T., Nogueira V., Sundararajan D., Tonic I., Park Y., Hay N.: FoxOs inhibit mTORC1 and activate Akt by inducing the expression of Sestrin3 and Rictor. *Dev. Cell*, 2010; 18: 592–604
- [15] Chen H., Wang X., Tong M., Wu D., Wu S., Chen J., Wang X., Wang X., Kang Y., Tang H., Tang C., Jiang W.: Intermedin suppresses pressure overload cardiac hypertrophy through activation of autophagy. *PLoS One*, 2013; 8: e64757
- [16] Chen K.B., Xuan Y., Shi W.J., Chi F., Xing R., Zeng Y.C.: Sestrin2 expression is a favorable prognostic factor in patients with non-small cell lung cancer. *Am. J. Transl. Res.*, 2016; 8: 1903–1909
- [17] Chen S.D., Yang J.L., Lin T.K., Yang D.I.: Emerging roles of sestrins in neurodegenerative diseases: Counteracting oxidative stress and beyond. *J. Clin. Med.*, 2019; 8: 1001
- [18] Chen Y.R., Zweier J.L.: Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation. *Circ. Res.*, 2014; 114: 524–537
- [19] Chen Y.S., Chen S.D., Wu C.L., Huang S.S., Yang D.I.: Induction of sestrin2 as an endogenous protective mechanism against amyloid beta-peptide neurotoxicity in primary cortical culture. *Exp. Neurol.*, 2014; 253: 63–71
- [20] Cheung P.C., Salt I.P., Davies S.P., Hardie D.G., Carling D.: Characterization of AMP-activated protein kinase gamma-subunit isoforms and their role in AMP binding. *Biochem. J.*, 2000; 346: 659–669
- [21] Cordani M., Sánchez-Álvarez M., Strippoli R., Bazhin A.V., Donadelli M.: Sestrins at the interface of ROS control and autophagy regulation in health and disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019; 2019: 1283075
- [22] Costanzo-Garvey D.L., Pfluger P.T., Dougherty M.K., Stock J.L., Boehm M., Chaika O., Fernandez M.R., Fisher K., Kortum R.L., Hong E.G., Jun J.Y., Ko H.J., Schreiner A., Volle D.J., Treece T. i wsp.: KSR2 is an essential regulator of AMP kinase, energy expenditure, and insulin sensitivity. *Cell Metab.*, 2009; 10: 366–378
- [23] Crute B.E., Seefeld K., Gamble J., Kemp B.E., Witters L.A.: Functional domains of the  $\alpha$ 1 catalytic subunit of the AMP-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 35347–35354
- [24] Cuervo A.M., Macian F.: Autophagy and the immune function in aging. *Curr. Opin. Immunol.*, 2014; 29: 97–104
- [25] Ding B., Parmigiani A., Yang C., Budanov A.V.: Sestrin2 facilitates death receptor-induced apoptosis in lung adenocarcinoma cells through regulation of XIAP degradation. *Cell Cycle*, 2015; 14: 3231–3241
- [26] Dong B., Xue R., Sun Y., Dong Y., Liu C.: Sestrin 2 attenuates neonatal rat cardiomyocyte hypertrophy induced by phenylephrine via inhibiting ERK1/2. *Mol. Cell Biochem.*, 2017; 433: 113–123
- [27] Fan W., Tang Z., Chen D., Moughon D., Ding X., Chen S., Zhu M., Zhong Q.: Keap1 facilitates p62-mediated ubiquitin aggregate clearance via autophagy. *Autophagy*, 2010; 6: 614–621
- [28] Finkel T., Holbrook N.J.: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 2000; 408: 239–247
- [29] Gabryel B., Kost A., Kasprowska D.: Neuronal autophagy in cerebral ischemia – a potential target for neuroprotective strategies? *Pharmacol. Rep.*, 2012; 64: 1–15
- [30] Gkikas I., Petratos D., Tavernarakis N.: Longevity pathways and memory aging. *Front Genet.*, 2014; 5: 155
- [31] Hardie D.G., Ross F.A., Hawley S.A.: AMPK: A nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2012; 13: 251–262
- [32] Hosokawa N., Hara T., Kaizuka T., Kishi C., Takamura A., Miura Y., Iemura S., Natsume T., Takehana K., Yamada N., Guan J.L., Oshiro N., Mizushima N.: Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol. Biol. Cell*, 2009; 20: 1981–1991
- [33] Hou Y.S., Guan J.J., Xu H.D., Wu F., Sheng R., Qin Z.H.: Sestrin2 protects dopaminergic cells against rotenone toxicity through AMPK-dependent autophagy activation. *Mol. Cell. Biol.*, 2015; 35: 2740–2751
- [34] Howell J.J., Manning B.D.: mTOR couples cellular nutrient sensing to organismal metabolic homeostasis. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2011; 22: 94–102
- [35] Hwang H.J., Jung T.W., Choi J.H., Lee H.J., Chung H.S., Seo J.A., Kim S.G., Kim N.H., Choi K.M., Choi D.S., Baik S.H., Yoo H.J.: Knock-down of sestrin2 increases pro-inflammatory reactions and ER stress in the endothelium via an AMPK dependent mechanism. *Biochim. Biophys. Acta*, 2017; 1863: 1436–1444
- [36] Hybertson B.M., Gao B., Bose S.K., McCord J.M.: Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol. Aspects Med.*, 2011; 32: 234–246
- [37] Inoki K., Guan K.L.: Tuberous sclerosis complex, implication from a rare genetic disease to common cancer treatment. *Hum. Mol. Genet.*, 2009; 18: R94–R100
- [38] Kansanen E., Kuosmanen S.M., Leinonen H., Levonen A.L.: The Keap1-Nrf2 pathway: Mechanisms of activation and dysregulation in cancer. *Redox Biol.*, 2013; 1: 45–49
- [39] Karpińska A., Gromadzka G.: Stres oksydacyjny i naturalne mechanizmy antyoksydacyjne – znaczenie w procesie neurodegeneracji. Od mechanizmów molekularnych do strategii terapeutycznych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 43–53
- [40] Kim G.T., Lee S.H., Kim Y.M.: Quercetin regulates sestrin 2-AMPK-mTOR signaling pathway and induces apoptosis via increased intracellular ROS in HCT116 colon cancer cells. *J. Cancer Prev.*, 2013; 18: 264–270

- [41] Kim H., An S., Ro S.H., Teixeira F., Park G.J., Kim C., Cho C.S., Kim J.S., Jakob U., Lee J.H., Cho U.S.: Janus-faced Sestrin2 controls ROS and mTOR signalling through two separate functional domains. *Nat. Commun.*, 2015; 6: 10025
- [42] Kim H., Yin K., Falcon D.M., Xue X.: The interaction of Hemin and Sestrin2 modulates oxidative stress and colon tumor growth. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2019; 374: 77–85
- [43] 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
- [44] Kim M., Sujkowski A., Namkoong S., Gu B., Cobb T., Kim B., Kowalsky A.H., Cho C.S., Semple I., Ro S.H., Davis C., Brooks S.V., Karin M., Wessells R.J., Lee J.H.: Sestrins are evolutionarily conserved mediators of exercise benefits. *Nat. Commun.*, 2020; 11: 190
- [45] Kim M.J., Bae S.H., Ryu J.C., Kwon Y., Oh J.H., Kwon J., Moon J.S., Kim K., Miyawaki A., Lee M.G., Shin J., Kim Y.S., Kim C.H., Ryter S.W., Choi A.M. i wsp.: SESN2/sestrin2 suppresses sepsis by inducing mitophagy and inhibiting NLRP3 activation in macrophages. *Autophagy*, 2016; 12: 1272–1291
- [46] Kovaleva I.E., Tokarchuk A.V., Zheltukhin A.O., Dalina A.A., Safronov G.G., Evstafieva A.G., Lyamzaev K.G., Chumakov P.M., Budanov A.V.: Mitochondrial localization of SESN2. *PLoS One*, 2020; 15: e0226862
- [47] Laplante M., Sabatini D.M.: mTOR signaling at a glance. *J. Cell Sci.*, 2009; 122: 3589–3594
- [48] Lee J.H., Budanov A.V., Karin M.: Sestrins orchestrate cellular metabolism to attenuate aging. *Cell Metab.*, 2013; 18: 792–801
- [49] Lee J.H., Budanov A.V., Park E.J., Birse R., Kim T.E., Perkins G.A., Ocorr K., Ellisman M.H., Bodmer R., Bier E., Karin M.: Sestrin as a feedback inhibitor of TOR that prevents age-related pathologies. *Science*, 2010; 327: 1223–1228
- [50] Lee J.H., Budanov A.V., Talukdar S., Park E.J., Park H.L., Park H.W., Bandyopadhyay G., Li N., Aghajan M., Jang I., Wolfe A.M., Perkins G.A., Ellisman M.H., Bier E., Scadeng M. i wsp.: Maintenance of metabolic homeostasis by Sestrin2 and Sestrin3. *Cell Metab.*, 2012; 16: 311–321
- [51] Liao H.H., Ruan J.Y., Liu H.J., Liu Y., Feng H., Tang Q.Z.: Sestrin family may play important roles in the regulation of cardiac pathophysiology. *Int. J. Cardiol.*, 2016; 202: 183–184
- [52] Liu G.Y., Sabatini D.M.: mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2020; 21: 183–203
- [53] Liu X., Niu Y., Yuan H., Huang J., Fu L.: AMPK binds to Sestrins and mediates the effect of exercise to increase insulin-sensitivity through autophagy. *Metabolism*, 2015; 64: 658–665
- [54] López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G.: The hallmarks of aging. *Cell*, 2013; 153: 1194–1217
- [55] Mamane Y., Petroulakis E., Rong L., Yoshida K., Ler L.W., Sonenberg N.: eIF4E – from translation to transformation. *Oncogene*, 2004; 23: 3172–3179
- [56] Miki Y., Tanji K., Mori F., Utsumi J., Sasaki H., Kakita A., Takahashi H., Wakabayashi K.: Autophagy mediators (FOXO1, SESN3 and TSC2) in Lewy body disease and aging. *Neurosci. Lett.*, 2018; 684: 35–41
- [57] Mizushima N.: Autophagy: Process and function. *Genes Dev.*, 2007; 21: 2861–2873
- [58] Morrison A., Chen L., Wang J., Zhang M., Yang H., Ma Y., Budanov A., Lee J.H., Karin M., Li J.: Sestrin2 promotes LKB1-mediated AMPK activation in the ischemic heart. *FASEB J.*, 2015; 29: 408–417
- [59] Niture S.K., Khatri R., Jaiswal A.K.: Regulation of Nrf2 – an update. *Free Radic. Biol. Med.*, 2014; 66: 36–44
- [60] Oakhill J.S., Scott J.W., Kemp B.E.: AMPK functions as an adenylate charge-regulated protein kinase. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2012; 23: 125–132
- [61] Ozcan U., Cao Q., Yilmaz E., Lee A.H., Iwakoshi N.N., Ozdelen E., Tuncman G., Görgün C., Glimcher L.H., Hotamisligil G.S.: Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*, 2004; 306: 457–461
- [62] Piantadosi C.A., Carraway M.S., Babiker A., Suliman H.B.: Heme oxygenase-1 regulates cardiac mitochondrial biogenesis via Nrf2-mediated transcriptional control of nuclear respiratory factor-1. *Circ. Res.*, 2008; 103: 1232–1240
- [63] Pickard L., Palladino G., Okosun J.: Follicular lymphoma genomics. *Leuk. Lymphoma*, 2020; 61: 2313–2323
- [64] Polewska J.: Autofagia – mechanizm molekularny, apoptoza i nowotwory. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 921–936
- [65] Quan N., Wang L., Chen X., Luckett C., Cates C., Rousselle T., Zheng Y., Li J.: Sestrin2 prevents age-related intolerance to post myocardial infarction via AMPK/PGC-1 $\alpha$  pathway. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2018; 115: 170–178
- [66] Rai N., Dey S.: Protective response of Sestrin under stressful conditions in aging. *Ageing Res. Rev.*, 2020; 64: 101186
- [67] Reznick R.M., Zong H., Li J., Morino K., Moore I.K., Yu H.J., Liu Z.X., Dong J., Mustard K.J., Hawley S.A., Befroy D., Pypaert M., Hardie D.G., Young L.H., Shulman G.I.: Aging-associated reductions in AMP-activated protein kinase activity and mitochondrial biogenesis. *Cell Metab.*, 2007; 5: 151–156
- [68] Ro S.H., Semple I.A., Park H., Park H., Park H.W., Kim M., Kim J.S., Lee J.H.: Sestrin2 promotes Unc-51-like kinase 1 mediated phosphorylation of p62/sequestosome-1. *FEBS J.*, 2014; 281: 3816–3827
- [69] Sablina A.A., Budanov A.V., Ilyinskaya G.V., Agapova L.S., Kravchenko J.E., Chumakov P.M.: The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat. Med.*, 2005; 11: 1306–1313
- [70] Sánchez-Álvarez M., Strippoli R., Donadelli M., Bazhin A.V., Cordani M.: Sestrins as a therapeutic bridge between ROS and autophagy in cancer. *Cancers*, 2019; 11: 1415
- [71] Sanli T., Linher-Melville K., Tsakiridis T., Singh G.: Sestrin2 modulates AMPK subunit expression and its response to ionizing radiation in breast cancer cells. *PLoS One*, 2012; 7: e32035
- [72] Saxton R.A., Knockenhauer K.E., Wolfson R.L., Chantranupong L., Pacold M.E., Wang T., Schwartz T.U., Sabatini D.M.: Structural basis for leucine sensing by the Sestrin2-mTORC1 pathway. *Science*, 2016; 351: 53–58
- [73] Shaw R.J.: LKB1 and AMP-activated protein kinase control of mTOR signalling and growth. *Acta Physiol.*, 2009; 196: 65–80
- [74] Shin B.Y., Jin S.H., Cho I.J., Ki S.H.: Nrf2-ARE pathway regulates induction of Sestrin-2 expression. *Free Radic. Biol. Med.*, 2012; 53: 834–841
- [75] Sun G., Xue R., Yao F., Liu D., Huang H., Chen C., Li Y., Zeng J., Zhang G., Dong Y., Liu C.: The critical role of Sestrin 1 in regulating the proliferation of cardiac fibroblasts. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2014; 542: 1–6
- [76] Sun W., Wang Y., Zheng Y., Quan N.: The emerging role of sestrin2 in cell metabolism, and cardiovascular and age-related diseases. *Ageing Dis.*, 2020; 11: 154–163
- [77] Tao R., Xiong X., Liangpunsakul S., Dong X.C.: Sestrin 3 protein enhances hepatic insulin sensitivity by direct activation of the mTORC2-Akt signaling. *Diabetes*, 2015; 64: 1211–1223

- [78] Velasco-Miguel S., Buckbinder L., Jean P., Gelbert L., Talbott R., Laidlaw J., Seizinger B., Kley N.: PA26, a novel target of the p53 tumor suppressor and member of the GADD family of DNA damage and growth arrest inducible genes. *Oncogene*, 1999; 18: 127–137
- [79] Wei J.L., Fu Z.X., Fang M., Guo J.B., Zhao Q.N., Lu W.D., Zhou Q.Y.: Decreased expression of sestrin 2 predicts unfavorable outcome in colorectal cancer. *Oncol. Rep.*, 2015; 33: 1349–1357
- [80] Wolfson R.L., Chantranupong L., Saxton R.A., Shen K., Scaria S.M., Cantor J.R., Sabatini D.M.: Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science*, 2016; 351: 43–48
- [81] Wullschlegel S., Loewith R., Hall M.N.: TOR signaling in growth and metabolism. *Cell*, 2006; 124: 471–484
- [82] Xie M., Zhang D., Dyck J.R., Li Y., Zhang H., Morishima M., Mann D.L., Taffet G.E., Baldini A., Khoury D.S., Schneider M.D.: A pivotal role for endogenous TGF- $\beta$ -activated kinase-1 in the LKB1/AMP-activated protein kinase energy-sensor pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 17378–17383
- [83] Xu Y.P., Han F., Tan J.: Edaravone protects the retina against ischemia/reperfusion-induced oxidative injury through the PI3K/Akt/Nrf2 pathway. *Mol. Med. Rep.*, 2017; 16: 9210–9216
- [84] Xue R., Zeng J., Chen Y., Chen C., Tan W., Zhao J., Dong B., Sun Y., Dong Y., Liu C.: Sestrin 1 ameliorates cardiac hypertrophy via autophagy activation. *J. Cell. Mol. Med.*, 2017; 21: 1193–1205
- [85] Yang J.H., Kim K.M., Kim M.G., Seo K.H., Han J.Y., Ka S.O., Park B.H., Shin S.M., Ku S.K., Cho I.J., Ki S.H.: Role of sestrin2 in the regulation of proinflammatory signaling in macrophages. *Free Radic. Biol. Med.*, 2015; 78: 156–167
- [86] Yu R., Chen C., Mo Y.Y., Hebbar V., Owuor E.D., Tan T.H., Kong A.N.: Activation of mitogen-activated protein kinase pathways induces antioxidant response element-mediated gene expression via a Nrf2-dependent mechanism. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 39907–39913
- [87] Yu Y., Yoon S.O., Poulogiannis G., Yang Q., Ma X.M., Villén J., Kubica N., Hoffman G.R., Cantley L.C., Gygi S.P., Blenis J.: Phosphoproteomic analysis identifies Grb10 as an mTORC1 substrate that negatively regulates insulin signaling. *Science*, 2011; 332: 1322–1326
- [88] Zhang J.: Teaching the basics of autophagy and mitophagy to redox biologists –mechanisms and experimental approaches. *Redox Biol.*, 2015; 4: 242–259
- [89] Zhang Z., Qian Q., Li M., Shao F., Ding W.X., Lira V.A., Chen S.X., Sebag S.C., Hotamisligil G.S., Cao H., Yang L.: The unfolded protein response regulates hepatic autophagy by sXBP1-mediated activation of TFEB. *Autophagy*, 2020; DOI: 10.1080/15548627.2020.1788889
- [90] Zhou D., Zhan C., Zhong Q., Li S.: Upregulation of sestrin-2 expression via P53 protects against 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) neurotoxicity. *J. Mol. Neurosci.*, 2013; 51: 967–975
- [91] Zigelboim I., Goodfellow P.J., Schmidt A.P., Walls K.C., Mallon M.A., Mutch D.G., Yan P.S., Huang T.H., Powell M.A.: Differential methylation hybridization array of endometrial cancers reveals two novel cancer-specific methylation markers. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 2882–2889

-----  
Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.