

مروری بر کنترل اتوفاژی به وسیله ROS (گونه‌های فعال اکسیژن)

*مینا زرین گل: کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران (فارس)، ایران (*نویسنده مسئول).
minazarringol3040@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۶

چکیده

ROS (گونه‌های فعال اکسیژن) مولکول‌های کوچک، ناپایدار و بسیار واکنش پذیر هستند که می‌توانند پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را اکسید کنند. ROS به وسیله احیاء ناقص یک الکترون اکسیژن تشکیل می‌شوند. ROS شامل آنیون‌های اکسیژن، رادیکال‌های آزاد از جمله سوپر اکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل و پر اکسیدها مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شوند. اتوفاژی یک مسیر کاتابولیکی برای تجزیه اندامک‌ها و پروتئین‌های داخل سلولی از طریق لیزوزوم است. اتوفاژی تحت شرایط استرس مانند گرسنگی، ایسکمی/خون رسانی مجدد (Ischemia/reperfusion) و عفونت پاتوژن فعال می‌شود و در شرایط پاتولوژیکی مختلف شامل سرطان و بیماری‌های دژنراتیو مغزی ایجاد می‌شود. معمولاً پذیرفته می‌شود که ROS، اتوفاژی را القاء می‌کند و اتوفاژی برای کاهش آسیب اکسیداتیو عمل می‌کند. سلول‌ها عوامل آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی مختلفی برای سم زدایی ROS و جلوگیری از استرس اکسیداتیو دارند که شامل گلوتاتیون، تیوردوکسین، سوپراکسید دیس موتاز (SOD)، کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد. ROS تولید شده به وسیله میتوکندری‌های آسیب دیده ممکن است میتوفاژی را القاء کنند که باعث حذف ارگانل‌های آسیب دیده می‌شود. دو پاتولوژی وابسته به تجمع ROS، سرطان و ایسکمی / خون رسانی مجدد می‌باشند. نقش میتوکندری بعنوان تولیدکننده ROS، برای فعال سازی اتوفاژی ضروری است. اتوفاژی یک مکانیسم بقاء سلولی در پاسخ به ROS است. حذف میتوکندری‌های آسیب دیده و پروتئین‌های اکسید شده در بیشتر موارد بقاء سلول را حمایت می‌کند.

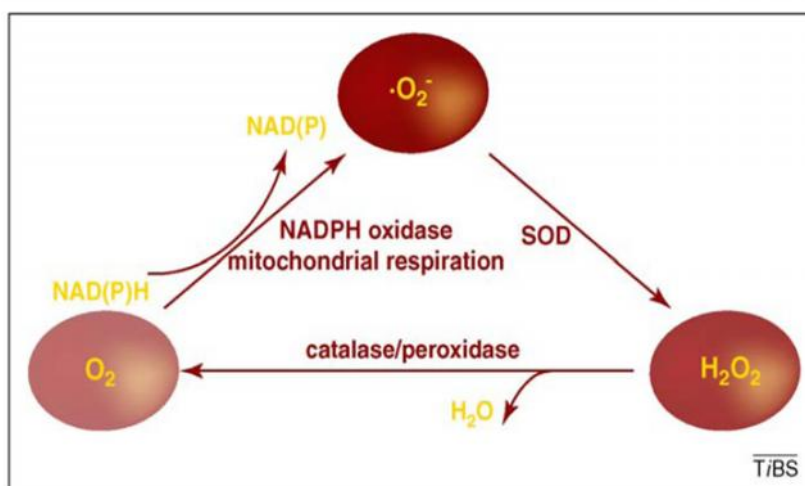
کلیدواژه‌ها: اتوفاژی، گونه‌های فعال اکسیژن، آنتی اکسیدان، میتوفاژی

مقدمه

رادیکال‌های آزاد از جمله سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیدها مانند H_2O_2 (پراکسید هیدروژن) می‌شوند. تنظیم ردوکس (اکسیداسیون - احیاء) پروتئین‌ها متعادل کردن سطوح ROS در مسیرهای پیام‌رسان متنوع از جمله اتوفاژی (یک مسیر کاتابولیکی برای تجزیه اندامک‌ها و پروتئین‌های داخل سلولی از طریق لیزوزوم) مشاهده می‌شود (۲، ۳). اتوفاژی به شدت از مخمر تا انسان حفظ شده، پروتئین‌ها و اندامک‌ها توسط غشاء دو لایه به نام فاگوفور احاطه می‌شوند سپس این غشاء امتداد یافته و بسته می‌شود و وزیکولی با غشاء دو لایه به نام اتوفاگوزوم، که محتویات سیتوپلاسم را جدا کرده تشکیل می‌شود. سپس اتوفاگوزوم با لیزوزوم‌های اسیدی ادغام شده و محتویات سیتوزولی موجود در اتوفاگوزوم بواسطه آنزیم‌های هیدرولیتیک لیزوزوم تجزیه می‌شوند (۴).

کلمه اتوفاژی از کلمه یونانی "اتو" به معنای خود و "فاژی" به معنی خوردن گرفته شده است و به طور گسترده به فرآیندهای کاتابولیک سلولی اشاره می‌کند که در آن مواد سیتوپلاسمی برای تخریب به لیزوزوم‌ها منتقل می‌شوند. د داو مسیحی که جایزه نوبل را برای کار خود روی لیزوزوم‌ها گرفت، برای اولین بار از اصطلاح اتوفاژی، در سال ۱۹۶۳ استفاده کرد. او این کلمه را برای توصیف پدیده‌ای که در آن وزیکول‌های با غشای تک یا دو لایه حاوی محتویات سیتوپلاسم، نظیر اندامک‌ها برای هضم هستند، استفاده کرد (۱).

گونه‌های فعال اکسیژن معمولاً مولکول‌های کوچک، ناپایدار و بسیار واکنش پذیر هستند که به وسیله احیاء یک الکترون اکسیژن به طور ناقص تشکیل می‌شوند. ROS شامل آنیون‌های اکسیژن،



شکل ۱- آنزیمهای دخیل در تبدیل ROS.

آن یون سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) از اکسیژن مولکولی (O_2) بعنوان یک محصول فرعی تنفس در میتوکندری یا به وسیله عملکرد انتخابی NADPH اکسیداز تشکیل می شود، $O_2^{\cdot-}$ به وسیله سوپراکسید دیس موتاز (SOD) به H_2O_2 تبدیل می شود که بیشتر به وسیله کاتالاز یا پراکسیداز به H_2O و O_2 غیر سمی می شود (۴).

ROS، اتوفازی را القاء می کند. اتوفازی برای کاهش آسیب اکسیداتیو عمل می کند (۳، ۱۲، ۱۳). هدف از این مطالعه، خلاصه کردن و تفسیر کردن پیشرفتهای اخیر در درک ما از مکانیسم های مولکولی برای تنظیم ردوکس (اکسیداسیون - احیاء) اتوفازی در حالت سلامتی و بیماری می باشد. ما در ابتدا عناصر مولکولی این تنظیم را شرح می دهیم و درباره کمکهای نسبی ROS پیام سان، H_2O_2 و سوپراکسید (O_2) برای فعال کردن اتوفازی بحث می کنیم. سپس ما روی نقش میتوکندری بعنوان یک منبع ROS و روی اتوفازی، و مخصوصاً میتوفازی بعنوان راهی برای پاکسازی ROS تمرکز می کنیم. نهایتاً ما به دخالت ROS و اتوفازی در شرایط پاتولوژیکی، عمدتاً سرطان و ایسکمی / خون رسانی مجدد اشاره می کنیم.

کنترل اتوفازی: تنظیم اتوفازی به وسیله آنتی اکسیدانها

تجمع ROS منجر به استرس اکسیداتیو، اکسید شدن تشکیل دهنده های سلولی شامل پروتئینها، DNA و لیپیدها و آسیب سلولی می شود. سلولها عوامل آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی مختلفی برای سم زدایی ROS و جلوگیری از استرس اکسیداتیو توسعه داده اند. اینها شامل

یکی از تنظیم کننده های مهم اتوفازی (Target of Rapamycin) TOR است که وقتی مواد مغذی در دسترس باشند، اتوفازی را مهار می کند (۵). تشکیل اتوفاگوزوم عمدتاً به وسیله فسفاتیدیل اینوزیتول ۳- کیناز کلاس III (PI3K) و (Autophagy related gen) Atg6 کنترل می شود. دو سیستم کنژوگاسیون شبه یوبیکوئیتینی در امتداد غشاء اتوفاگوزوم دخیلند: کنژوگاسیون Atg12 با Atg5 که با Atg16 با هم در فاگوفور قرار می گیرند و پایین دست آن، کنژوگاسیون Atg8 با فسفواتانول آمین (PE)، که هم فاگوفور و هم غشاء اتوفاگوزومال را در بر می گیرد (۶، ۷).

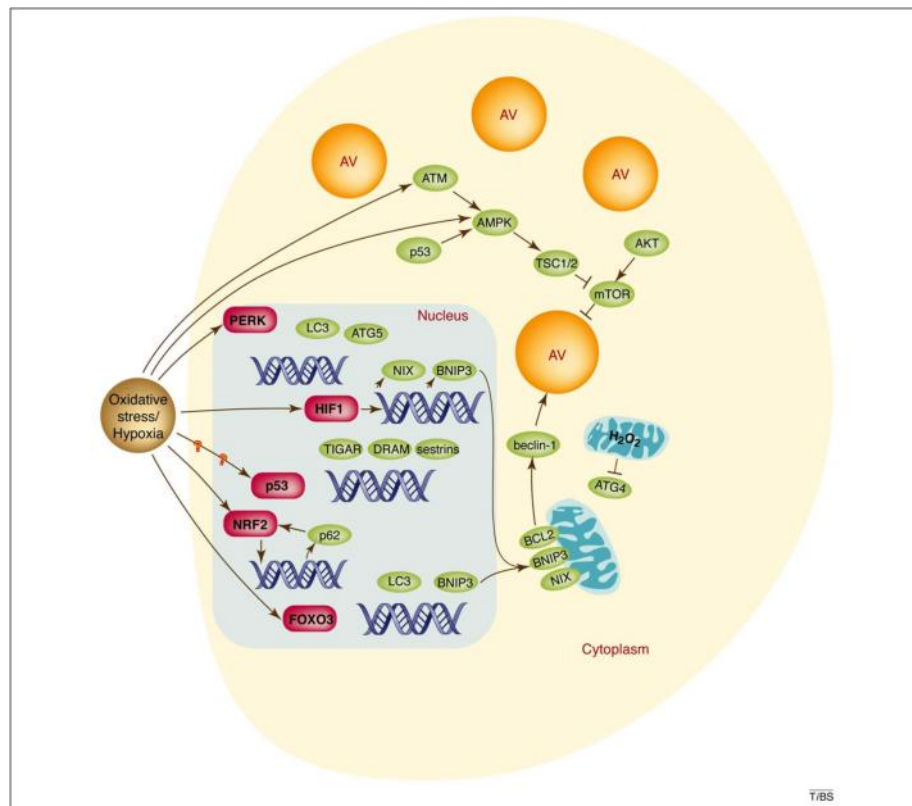
Atg8-PE به وسیله پروتئاز Atg4 تحت دکنژوگاسیون قرار می گیرد، یک مرحله کنترل شده به وسیله ROS که امکان بازیافت این پروتئین را فراهم می آورد (۸). Atg4 همچنین برای شروع Atg8 به وسیله شکست انتهای کربوکسیل (C) آن مسئول است که باقیمانده یک گلیسین را در معرض قرار می دهد (۹).

اتوفازی تحت شرایط استرس مانند گرسنگی، ایسکمی / خون رسانی مجدد و عفونت پاتوژن فعال می شود و در شرایط پاتولوژیکی مختلف شامل سرطان و بیماریهای دژنراسیون مغزی ایجاد می شود (۱۰، ۱۱). معمولاً پذیرفته می شود که

کاتالاز یا پراکسیدازها مانند گلوکوتاتیون پراکسیداز به H_2O_2 و O_2 سم زدایی می‌شود (۱۵). با توجه به نقش ROS در القاء اتوفاژی، آنتی‌اکسیدانها بعنوان تنظیم‌گرهای کاهش‌دهنده خنثی در این فرایند عمل می‌کنند.

TIGAR (TP53)، که گلیکولیز و تنظیم آپوپتوز را القاء می‌کند، هدف P53 است (شکل ۲) که مسیر گلیکولیتیک، بنابراین افزایش تولید NADPH و کاهش سطوح ROS داخل سلولی را

گلوکوتاتیون و تیوردوکسین و سوپراکسید دیس موتاز (SOD)، کاتالاز و پراکسیداز می‌شوند. گلوکوتاتیون، مهمترین بافر ردوکس (اکسیداسیون - احیاء) سلول، در ابتدا در سیتوزول قرار گرفته است (۱۴). مطابق شکل ۱، تیوردوکسین، فاکتورهای خاص ردوکس مانند فاکتورهای نسخه برداری، در صورتی که سوپراکسید دیس موتاز در سیتوزول و در میتوکندری وجود دارد سوپراکسید را به H_2O_2 تبدیل می‌کند که بیشتر به‌وسیله



شکل ۲- نسخه برداری و تنظیم بعد نسخه برداری اتوفاژی به وسیله ROS.

در پاسخ به هیپوکسی (کمبود اکسیژن)، فاکتور نسخه برداری HIF1 فعال می‌شود و نسخه برداری BNIP3 و NIX را القاء می‌کند. محصولات پروتئینی آنها با Beclin-1 برای ترکیب با BCL2 رقابت می‌کند، از این راه Beclin-1 آزاد و به آن اجازه داده می‌شود که اتوفاژی را القاء کند. هیپوکسی همچنین PERK (Pkr-Like ER Kinase) را که یک سنسور ER (رتیکولوم اندوپلاسمی) است را القاء می‌کند، پایین دست آن، افکتورها، بیان ژنهای اتوفاژی LC3 و ATG5 را القاء می‌کند. سرانجام استرس اکسیداتیو FOXO3 و NRF2 را فعال می‌کند. FOXO3، نسخه برداری LC3 و BNIP3 را تحریک می‌کند در صورتی که NRF2 نسخه برداری P62 را القاء می‌کند. P62، به نوبت نسخه برداری NRF2 را کنترل می‌کند. تمام این فعالیتهای نسخه برداری به شدت اتوفاژی را کنترل می‌کنند.

P53 از نظر نسخه برداری چندین (ژنهای مربوط به اتوفاژی) را فعال می‌کند، از اینها، DRAM (DNA damage-regulated autophagy modulator) و سسترین‌ها به شدت اتوفاژی را کنترل می‌کنند، بنابراین یک ارتباط بین ROS و DRAM ایجاد نشده است. TIGAR، به صورت منفی اتوفاژی را کنترل می‌کند اما اگرچه هدف P53 است، اثرش روی اتوفاژی غیر وابسته به P53 است. Sestrins، AMPK (AMP-activated protein kinase) را فعال می‌کنند، از این راه مهار فعالیت mTOR و القاء اتوفاژی را باعث می‌شوند. همچنین استرس اکسیداتیو را در یک روش (راه) غیر وابسته به P53، از میان ATM سیتوپلاسمی حس می‌کند.

ROS، فعالیت پروتئاز ATG4 را مهار می‌کند و از این میان تشکیل اتوفاگوزوم را حمایت می‌کند. فعال‌کننده‌های نسخه برداری صورتی رنگند. ژنهای فعال شده ROS و محصولات ژنی سبز رنگ هستند (۴). (AV: اتوفاگوزوم)

نسبتاً پایدارتر H_2O_2 به وسیله SOD تبدیل شود و H_2O_2 به وسیله کاتالاز بیشتر می تواند به H_2O و O_2 تبدیل شود (۴).

H_2O_2 (آب اکسیژنه)، برای سیگنالینگ یک کاندید است زیرا نسبتاً پایدار و عمر طولانی تری در مقایسه با دیگر ROS دارد و حالت یونی خنثی آن امکان می دهد که به راحتی از میتوکندری خارج شود.

بعلاوه این بعنوان یک مولکول پیام‌رسان (سیگنالینگ) در مسیرهای انتقال پیامی مختلف شامل اتوفازی درگیر شده است (۸، ۲۰). فقر تغذیه‌ای گزارش شده است که خصوصاً بوسیله کلاس ۳ PI3K که باعث تجمع آب اکسیژنه در میتوکندری می شود که برای القاء اتوفازی ضروری است. آب اکسیژنه می تواند بعنوان یک تعدیل کننده مستقیم پروتئین‌های شامل تیول عمل کند. بعلاوه ATG4، یک پروتئاز ضروری در مسیر اتوفازی است که بعنوان یک هدف مستقیم برای اکسیداسیون به وسیله H_2O_2 در طی گرسنگی عمل می کند (هدف اکسیداسیون به وسیله آب اکسیژنه قرار می گیرد) (شکل ۲) (۸).

مطالعات دیگری، فعال شدن اتوفازی را در پاسخ به آب اکسیژنه ی خارجی گزارش داده اند. در بیشتر موارد، این عمل منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب میتوکندریایی می شود، که اتوفازی را القاء می کند. برای مثال سلولهای تومور کشنده با H_2O_2 اگر وزن درمان شدند که به طور همزمان اتوفازی و آپوپتوز را فعال می کند (۲۰). این سلولها سطوح بیان BCL2 کاهش یافته و سطوح BAX افزایش یافته را نشان می دهند، که منجر به از دست دادن پتانسیل غشائی میتوکندریایی و آزاد شدن سیتوکروم c می شود. همزمان سطوح beclin-1، هومولوگ Atg6 پستانداران، افزایش می یابد و فعالیت mTOR کاهش می یابد، که منجر به القاء اتوفازی می شود. اتوفازی آشکار می شود برای اینکه بعنوان یک مسیر زنده ماندن در این سیستم عمل کند زیرا مهارش منجر به افزایش آپوپتوز می شود (۲۰). حمایت بیشتر برای یک نقش در القاء اتوفازی نتیجه آزمایشهایی است که معالجه اگر وزن با H_2O_2 را نشان می دهد که همچنین مربوط به

تعدیل می کند (۱۶). در نتیجه TIGAR اتوفازی را مهار می کند و سطوح اتوفازی که به وسیله گرسنگی القاء شده را کاهش می دهد (۱۷). TIGAR ممکن است اتوفازی را بعنوان قسمتی از فعالیتش در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلولی تعدیل کند. هر چند مکانیسم، موتاسیونها منجر به غیر فعال سازی یا تنظیم افزایش فعالیت TIGAR می شوند پیش بینی می شود که اتوفازی و اثر مرگ سلولی را تعدیل می کند.

یکی از مثال‌هایی که سرنوشت سلولی را تعیین می کند جهش تعدیل کننده اتوفازی در یک ژن آنتی اکسیداتیو است که در سوپراکسید دیس موتاز (SOD1) یافت می شود. این جهش منجر به تبدیل یک گلیسین به آلانین می شود (G93A) که با ۲۰٪ بیماری‌های ارثی ALS مرتبط است. مکانیسمی که به وسیله SOD1 جهش یافته، القاء می کند آتروفی ماهیچه ای که به طور کامل توضیح داده نشده است، بنابراین آشکارا با تجمع TIGAR مربوط می شود. گزارشهایی از آزمایشگاههای مختلف، فعالیت اتوفازی را در بیان ژن جهش یافته SOD1 در موشهای ترانس ژنیک شرح داده شده است (۱۸، ۱۹).

در اولین گزارش SOD^{G93A} در موش ترانس ژنیک، مهار هدف پستانداران برای اپامایسین (mTOR) و تجمع لیپید کنزوگه شده با LC3 همولوگ (Atg8) را نشان داد (۱۹). گزارشات بیشتری اخیراً نشان داده است فعالیت فاکتور نسخه برداری (FOXO3) باعث افزایش تنظیم LC3 می شود (۱۹).

پیامبر اصلی کدام است؟

در شکل ۱، تجمع ROS و پیامها برای فعال کردن اتوفازی کدامند؟ پاسخ به این سوال مشکل است زیرا ROS مولکول‌های واکنش پذیر و با عمر کوتاه هستند که بلافاصله از یک فرم به فرم دیگر تبدیل می شوند. دو ROS عمده بعنوان تنظیم گر اتوفازی پیشنهاد شده است: H_2O_2 (آب اکسیژنه) و O_2^- (آنیون سوپراکسید). واکنش پذیری بالا و عمر پایین آنیون سوپراکسید می تواند به فرم

بیان بالای کاتالاز منجر به کاهش آب اکسیژنه (H_2O_2) می‌شود. موقعی که این دو آنزیم اثرات مخالفی را نشان می‌دهند تفسیرشان واضح است. در حالی که در محیط سلولی فعال (مثلاً در طول گرسنگی طولانی مدت) و واکنش‌های مرتبط به سم زدایی ROS می‌تواند متعادل شود و سرانجام، اثرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف شبیه هم می‌شود. متدهای جدیدی برای اندازه‌گیری و دستکاری سطوح سلولی ROS انتظار دارد در حل این نتایج کمک کند.

حذف ROS به‌وسیله مسیر اتوفازی

تجمع ROS، اتوفازی را القاء می‌کند که سطوح ROS را کاهش می‌دهد. بعلاوه، اکنون به صورت گسترده پذیرفته شده است که اتوفازی برای حذف میتوکندریهای آسیب دیده به‌وسیله میتوفازی حیاتی است. حذف پروتئین‌های اکسید شده به‌وسیله اتوفازی پیشنهاد شد که به‌وسیله راه‌های اتوفازی وابسته به چاپرون‌ها (CMA) اتفاق می‌افتد (۲۵). اخیراً P62 در تحویل پروتئین‌های اکسید شده به اتوفاگوزوم برای تجزیه شدن درگیر شده است. در پاسخ به استرس اکسیداتیو، فاکتور نسخه برداری هسته‌ای شبیه ۲ (NRF2) بیان P62 را القاء می‌کند (شکل ۲) (۲۶، ۲۷). که P62، NRF2 را با تشکیل یک حلقه فیدبکی مثبت فعال می‌کند (۲۶، ۱۳). در ابتدا تصور شد که P62 فقط با سیستم یوبیکوئیتین - پروتئازوم عمل می‌کند. به هر حال با بررسی رو به افزایش نقش حیاتی P62 در تحویل پروتئین‌های تجمع یافته به اتوفاگوزوم‌ها، این منطقی است که فرض کنیم پروتئین‌های اکسید شده توسط این مسیر حذف می‌شوند. اکنون به خوبی شناخته شده که فرم‌های انتخابی اتوفازی برای تجزیه ارگانلهای خاص وجود دارد. (میتوفازی، ER - فازی و پکسوفازی) (۴). جاروگرهای ROS مثل کاتالاز، تجزیه پروتئین انتخابی را از طریق اتوفازی انجام می‌دهد. اگرچه مکانیسم مسئول این انتخاب هنوز نامشخص است این اتفاق در پاسخ به مهار کاسپاز و همچنین فعالیت TrKA رخ می‌دهد (۲۸، ۲۹). در این دو مورد، این راه منجر به مرگ سلول می‌شود. مهار

فاکتور نکروز تومور آلفا ($TNF-\alpha$) که اتوفازی و شروع مرگ سلولی را القاء کرد (۲۱).

گزارشهای اخیر، نقش آنیون سوپراکسید (O_2^-) تولید شده در داخل میتوکندری را در کنترل اتوفازی ثابت کرده است. این مسیر به‌وسیله عامل ضد سرطانی سلنیت سدیم القاء شد که منجر به آسیب میتوکندریایی، تجزیه انتخابی اتوفاگوزوم‌های مسیر میتوکندریایی و مرگ سلولی سلولهای توموری بدخیم می‌شود (۲۲).

ROS پیامبر در این فرایند O_2^- است و H_2O_2 نیست: بیان بالای SOD و اما نه کاتالاز، سلولها را از مرگ نجات می‌دهد. یک نقش مشابه برای O_2^- در القاء اتوفازی تحت شرایط گرسنگی / محرومیت گلوکز طولانی مدت پیشنهاد شده بود (۲۳). در این مطالعه هم H_2O_2 و هم O_2^- به‌وسیله فقر آمینواسیدی طولانی مدت القاء شده بود، بنابراین فقط O_2^- به‌وسیله محرومیت طولانی مدت القاء شده بود، بنابراین فقط O_2^- به‌وسیله محرومیت طولانی مدت گلوکز القاء شده بود، بیان بالای هم SOD و هم کاتالاز، در این مطالعه اتوفازی را مهار کرد، هنوز بیان بالای SOD سطوح H_2O_2 را تحت تأثیر قرار نداد. علاوه بر این، در معرض قرار دادن طولانی مدت (۲۴h) آب اکسیژنه خارجی، منجر به تجمع O_2^- داخل سلولی بیشتری نسبت به H_2O_2 می‌شود، و این کافی است که اتوفازی را القاء کند. براساس این یافته‌ها مولفان نتیجه‌گیری کردند که آنیون سوپراکسید مهمترین سیگنالینگ ROS برای اتوفازی در طی گرسنگی طولانی مدت است (۲۳). این مطالعات بر اهمیت تشخیص دادن بین ROS مختلف، و ارزیابی کردن کمک نسبی هر ROS به مسیر تحت آزمایش تأکید می‌کنند. روش اصلی استفاده شده برای هر آنالیز تصور و اندازه‌گیری این دو حساس به ردوکس پروبهای فلورسان است:

دی‌هیدروآتیدیوم (DHE) که بیشتر مخصوص سوپراکسید است و ۲ و ۷- دی‌کلرو فلوروسین - دی‌استات (DCF-DA) بیشتر برای آب اکسیژنه کاربرد دارد (۲۴).

بیان بالای SOD منجر به کاهش آنیون سوپراکسید و تجمع H_2O_2 می‌شود؛ در حالی که

کلیدی در ساخت اتوفاگوزوم هستند. از این رو فرض شده است که میتوکندری ممکن است شرایط فضائی مورد نیاز برای شکل گیری اتوفاگوزوم را تولید کند (۳). گزارش اخیر نشان داد که میتوکندری منبع غشایی برای سنتز اتوفاگوزوم تولید می کند (۳۴). با این وجود احتمال این هست که میتوکندریها کمک کنند برای اتوفاگوزوم هایی که توسط گرسنگی القاء شده است که پیشنهاد می شود منشأ ROS تولیدی به وسیله این ارگانل ها می باشد. همچنین مطالعات اخیر نشان داد که ER بعنوان منبعی برای تشکیل اتوفاگوزوم هستند. همچنین مطالعات اخیر در مخمر نشان داده که کمپلکس گلژی می تواند بعنوان منبعی برای بیوسنتز اتوفاگوزوم باشد (۴).

میتوفاژی

ROS به وسیله میتوکندریهای آسیب دیده تولید می شود که ممکن است میتوفاژی را القاء کند که متعاقباً باعث حذف این ارگانل می شود. پیشنهاد شده است که منشأ ایجاد ROS از دست دادن پتانسیل غشاء میتوکندری است که بعنوان میتوفاژی عمل می کند (شکل ۳) (۳۵،۴).

در واقع تحت شرایط گرسنگی، میتوکندری ها پتانسیل قبلی غشاء را از دست می دهند برای اینکه بوسیله اتوفاگوزوم بلعیده شوند (۴).

Parkin، یک E3 ubiquitin Ligase است مرتبط با بیماری ارثی مغلوب پارکینسون که در دوران جوانی ایجاد می شود و به طور انتخابی به کار گرفته می شود برای میتوکندری آسیب دیده که میتوفاژی را توسعه می دهد (۳۶).

آسیب میتوکندری به وسیله جداکننده میتوکندریایی از قبیل کربونیل کلروفنیل هیدرازون (CCCP)، القاء می شود که باعث افزایش تدریجی Parkin می شود و باعث قطعه قطعه شدن میتوکندری و در نتیجه به وسیله اتوفاگوزوم ها بلعیده می شود و به وسیله لیزوزوم ها تجزیه می شود. نتایج جدید نشان می دهد که PTEN-induced Kinase (PINK1) که به پارکینسون ارثی و ناهنجاریهای نورولوژیکی مربوط می شود که

اتوفاژی باعث رهایی از مرگ سلولی و در نتیجه تجمع ROSها در سلول می شود (۴).

میتوکندری ها بعنوان تولید کنندگان سیگنالینگ ROS برای اتوفاژی

دو منبع عمده برای تولید ROS در سلولها وجود دارد: میتوکندری که ROS را به عنوان محصول فرعی زنجیره تنفس سلولی تولید می کند، و NADPH اکسیداز (NOX) که فعالانه آنیون سوپراکسید را در غشاهای نوتروفیل ها و فاگوزوم ها تولید می کند. داده های زیادی دلالت می کنند که میتوکندری ها بعنوان منبع اصلی تنظیم اتوفاژی بوسیله ROS هستند (۸، ۲۱، ۳۰، ۳۱)، در صورتی که NADPH اکسیداز در فعال سازی انتخابی مثل اتوفاژی باکتریایی شرکت می کند (۳۲). میتوکندری ها، ارگانل های ضروری برای سلولهای یوکاریوت هستند که مهمترین مکان برای تولید انرژی و همچنین مهمترین مکان برای تولید لیپیدها و نوکلئیک اسیدها و پیش سازهای اسیدهای آمینه هستند. این ارگانل ها همچنین بعنوان منبع اولیه تولید ROS سلولی هستند که تحت شرایط مشخص می تواند برای لیپیدها، پروتئین ها و DNA خودی خطرناک باشد و باعث می شود عملکرد میتوکندری مختل شود (۳۳). یک تنظیم جدی میتوکندری از نظر کمی و کیفی برای سلامت سلول ضروری است. در واقع سلولها از اتوفاژی مخصوص میتوکندری که میتوفاژی نامیده می شود برای حذف انتخابی میتوکندریهای ناقص استفاده می کنند (۴).

ROS به وسیله میتوکندریهایی که ضروری هستند برای استرسی که توسط اتوفاژی القاء شده است تولید شد (۴).

برای مثال، محرومیت آمینواسید منجر به تجمع ROS می شود که یک نقش حیاتی در پیشرفت فرایند اتوفاژی بازی می کند (۸). طبق این یافته ها، گرسنگی منجر به تولید ROS میتوکندری می شود، از این راه یک محیط اکسیداتیو را تولید می کند که به طور موقت ATG4 را مسدود می کند. این در عوض فرم لیپیدی LC3 و GATE-16 را پایدار می کند، که فاکتورهای

جلوگیری کند بنابراین از ارتباط بین دو مسیر جلوگیری می‌شود (۴).

درگیری اتوفازی در پاکسازی میتوکندری در طول گسترش کاملاً درک نمی‌شود با فرض اینکه Atg5 موش نقص واضحی را در اریتروسیت یا عدسی نشان ندهد بافت‌ها برای حذف میتوکندری در طول رشدشان شناخته می‌شوند (۴). بنابراین به صورت غیر متداول Atg5-*independent autophagy* این فرایند پیشنهاد شد (۴۰). مطالعات اخیر NIX (BNIP3L نیز نامیده می‌شود)، یک BH3- تنها عضو خانواده BCL2 را (شکل ۲)، در پاکسازی میتوکندری در طول بلوغ اریتروسیتها (گلبولهای قرمز) درگیر کرده است. رتیکیلوسیتها (گلبولهای قرمز جوان) در پاکسازی میتوکندری ناقص هستند در حالی که دیگر اعضای خانواده BCL2 در این مسیر شرکت نمی‌کنند (۴). در مقایسه با اتوفازی غیر متداول، اتوفازوم با میتوکندریهایی که در این سیستم خارج می‌شوند پر می‌شود. جالب اینکه NIX با اعضای خانواده ATG8 ارتباط برقرار می‌کند مخصوصاً با GABARAP1 و LC3A (شکل ۳) و پروتئینها برای بیوسنتز اتوفازوم ضروری هستند (۴۱، ۴۲). مشابه P62 و NBR1، دو واکنش دهنده ATG8 معروف، NIX شامل یک LC3-interacting region می‌شود که ظاهر می‌شود که برای ارتباط با GABARAP و LC3 مهم شود (۴۱).

ارتباط NIX با GABARAP و LC3 برای پاکسازی میتوکندری آسیب دیده از سلولهای درمان شده با CCCP و از بلوغ اریتروسیتها ضروری است (۴۱).

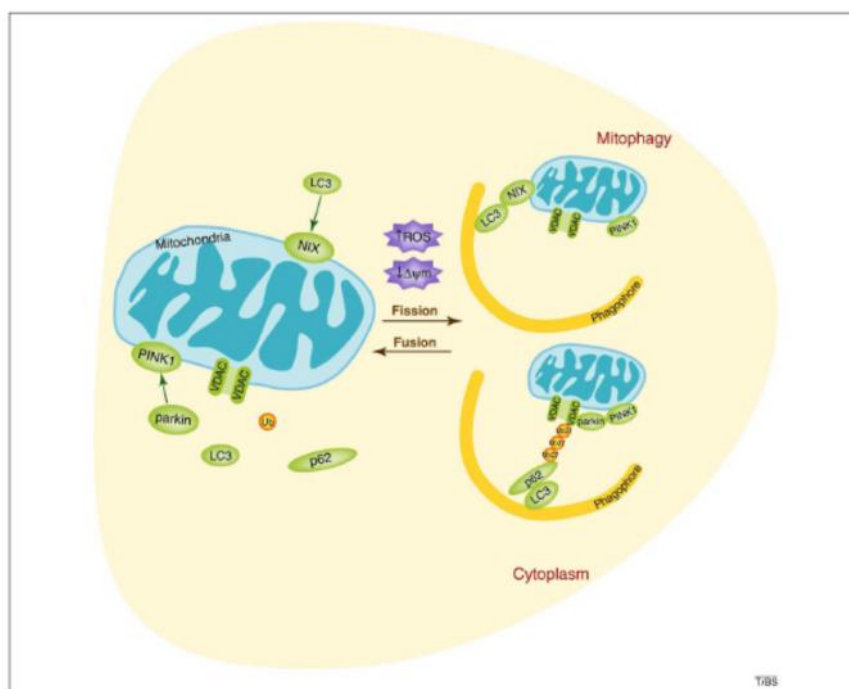
به وسیله ارتباط با پروتئینهای Atg8 پستانداران، NIX بعنوان یک رسپتور میتوکندری عمل می‌کند که ارگانل‌هایی برای میتوفازی مورد هدف قرار می‌دهد (۴).

ROS، اتوفازی و پاتولوژی

با افزایش علاقه به اتوفازی، مطالعات بیشتری، درگیری این مسیر، یا اختلال در این مسیر در بیماریهای مختلف را گزارش داده اند. تجمع

به کارگیری parkin را برای میتوکندری آسیب دیده وساطت می‌کند و فعالیت لیگاز پارکین را فعال می‌کند (۴، ۳۷، ۳۸). این یافته‌ها یک مدل جدید را برای حذف میتوکندری آسیب دیده حمایت می‌کند که در آنجا PINK1، پارکین را برای میتوکندری با عملکرد بد به کار می‌گیرد و پارکین حذف میتوکندری به وسیله میتوفازی را ترغیب می‌کند (شکل ۳) (۴). همچنین کاهش PINK1 همچنین منجر به افزایش میتوفازی می‌شود، این فعالیت به تولید ROS تولید شده به وسیله میتوکندری آسیب دیده وابسته می‌شود (۴). اخیراً، یک ارتباط جالبی بین parkin-*mediated mitophagy* (P62 و Volgate-VDAC1 dependent anion channel) گزارش شد (۴). این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که فعالیت PINK1 برای به کارگیری (استخدام) پارکین برای میتوکندری دپلاریزه و قطعه قطعه شده نیاز می‌شود. مخصوصاً به کارگیری برای غشاء میتوکندری و پارکین، تشکیل زنجیره‌های پلی یوبیکوئیتینی لیزین ۲۷ را در VDAC1 و بکارگیری (استخدام) P62 برای این کمپلکس را وساطت می‌کند (۳۹). علاوه بر این، زنجیره‌های پلی یوبیکوئیتینی Lys27، زنجیره‌های پلی یوبیکوئیتینی Lys63 برای تحویل Parkin-*labeled mitochondria* به اتوفازوم مهم هستند (شکل ۳). به ویژه هر دو نوع ارتباط یوبیکوئیتینی گزارش می‌شوند که در تحویل فاکتورها به لیزوزوم‌ها، احتمالاً به وسیله مسیر اتوفازی درگیر می‌شوند. از طریق ارتباط با LC3، P62 ممکن است در هدف قرار دادن میتوکندری آسیب دیده به اتوفازوم میانجیگری کند. این نقش پیشنهاد شده برای P62 در تحویل ROS-generating mitochondria طبق فعالیتش به وسیله NRF2 است (۴).

درگیری یوبیکوئیتیناسیون VDAC در میتوفازی، بعلاوه نقش پیشنهاد شده اش بعنوان یک هدف برای پروتئین آنتی-آپوپتوتیک BCL2 چشمگیر است. شاید که پارکین میتوکندری آسیب دیده را به میتوفازی هدایت کند برای اینکه از آزاد کردن فاکتورهای Pro-apoptotic آنها



شکل ۳- مکانیسم‌های مولکولی تنظیم کننده میتوفاژی:

افزایش ROS داخل سلول منجر به از دست دادن پتانسیل غشاء میتوکندری می شود که برای قطعه قطعه کردن میتوکندری و تحویل به اتوفاگوزوم پیام می فرستد. دو مسیر برای میانجی این فرایند پیشنهاد شده است: E3 Ligase parkin, PINK 1 را برای میتوکندریهای آسیب دیده به کار می گیرد که سپس تجزیه میتوکندری (قطعه قطعه شدن میتوکندری) و هدف بعدی به اتوفاگوزوم میانجیگری می کند و در یک فرایندی که یوبیکوئیتینی کردن (Voltage-dependent anion channel) VDAC و ترکیب با P62 درگیر است. سپس P62 به وسیله ارتباط با پروتئین اتوفاژیک LC3 این کمپلکس را به سمت اتوفاگوزوم مورد هدف قرار می دهد. به جای آن NIX، با غشاء خارجی میتوکندری در یک محل قرار می گیرد با کاهش $\Delta\psi_m$ مستقیماً با GABARAP یا LC3 ارتباط برقرار می کند و از این راه به کارگیری میتوکندری آسیب دیده را به اتوفاگوزوم وساطت می کند. ارتباط NIX-GABARAP/LC3 برای حذف میتوکندری در طول بلوغ گلبولهای قرمز ضروری است. اگرچه جداگانه دو سیستم موجود بود که توانست هماهنگ عمل می کند (۴).

ROS میتوکندریایی آن را پایدار می کند (زیرواحد الفای این فاکتور را پایدار می کند)، و HIF1، ژنهای هدفی مختلف را فعال می کند که این ژنها متابولیسم سلولی و افزایش بقاء سلول را کنترل می کنند. این دو هدف یکی BNIP3 و NIX هستند که به طور مثبت اتوفاژی را که بوسیله رقابت با beclin-1 برای اتصال با BCL2، کنترل می کند، از این راه آزادی Beclin1 اتوفاژی را القاء می کند (شکل ۲) (۴۵). فعال سازی اتوفاژی وابسته به BNIP3 توده میتوکندریایی و تشکیل BNIP3 را کاهش می دهد، بنابراین، بقاء سلول توموری را تحت هیپوکسی و پیشرفت سرطان را حمایت می کند (۴۴، ۴۵). فعالسازی BNIP3 و NIX در سلولهای نرمال اغلب منجر به مرگ سلولی می شود نسبت به زنده ماندن سلول (۴۶).

پروتئین‌های اکسید شده منجر به تجمع پروتئین که این در غیاب اتوفاژی باعث بی نظمی‌های دژنراسیون مغزی می شود. دو پاتولوژی دیگر وابسته با تجمع ROSها، یکی سرطان است و دیگری ایسکمی و خونرسانی مجدد (۴۳).

سرطان

هیپوکسی و سرطان: هیپوکسی یک حالت پاتولوژیکی محدودیت اکسیژن یا محرومیت اکسیژن است که این حالت در تومورها با بعلت وسعت محدودیت رگ سازی آنها شایع است. فاکتور ۱ القاء پذیر هیپوکسی نقش کلیدی در پاسخ به هیپوکسی دارد (۴۴): این فاکتور نسخه برداری در نتیجه تجزیه پروتئازومی زیرواحد α مهار می شود، بنابراین محرومیت اکسیژن یا تولید

کنند، و سرکوبگر تومور P53، AMPK را از راه sestrin-1,2 فعال می‌کند، بنابراین mTOR را مهار می‌کند (۵۱، ۵۲).

ROS، mTOR را مهار می‌کند از راه فعال کردن AMPK و مهار کردن AKT، که منجر به آپوپتوز و مرگ سلولی وابسته به اتوفاژی می‌شود (شکل ۲) (۵۳، ۵۴). مخصوصاً این مسیر ممکن است از راه ATM (ataxia telangiectasia mutated) وساطت شود. ATM، نقش کلیدی در فعال کردن پاسخ آسیب DNA سلولی در هسته بازی می‌کند. بنابراین در پاسخ به آب اکسیژنه (H_2O_2)، ATM، سرکوبگر (سایپرسور) توموری TSC2 را در سیتوپلاسم از راه AMPK فعال می‌کند. این فعالیت منجر به مهار کردن mTOR و القاء اتوفاژی در یک روش غیر وابسته به P53 می‌شود (شکل ۲) (۵۵).

بعلاوه فعال کننده اتوفاژی (و مهار کننده mTOR) را پامایسین، کاهش می‌دهد تولید کننده لنف ATM-deficient mice، بنابراین پیشنهاد یک نقش آنتی توموری برای اتوفاژی می‌شود (۵۵). این گزارشها، به یک نقش ضد سرطانی برای اتوفاژی اشاره می‌کند تقریباً مخالف نقش پیشنهاد شده برای اتوفاژی القاء شده بوسیله هیپوکسی، یا برای اتوفاژی فعال شده بوسیله آنکوپروتئینها مانند Ras یا C-Myc در پاسخ به گرسنگی (۴).

- ایسکمی / خون رسانی مجدد Ischemia/reperfusion

آسیب ایسکمی / خون رسانی مجدد (IR)، یک حالتی است که از بازگشت جریان خون به یک ارگان ناشی می‌شود که برای هیپوکسی در نتیجه کاهش جریان خون نشان داده شد. تغییرات در اکسیژن موجود با شرایطی که منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب ارگان می‌شود به هم ربط دارد. در پاسخ به این آسیب اکسیداتیو هر دو، هم اتوفاژی و هم آپوپتوزیس در یک تلاش برای ذخیره همئوستازیس فعال می‌شوند. فعالیت اتوفاژی القاء شده به وسیله IR، در میوسیت‌های قلبی، کلیه و هیپاتوسیتها دیده می‌شود (۵۶، ۵۷). مخصوصاً سطوح Beclin-1 و پروتئین LC3

یک نقش مثبت برای HIF1 در بقاء سلول توموری به فعالیتش به وسیله تجزیه mTOR نسبت داده می‌شود، که منجر به افزایش ترجمه HIF1 α می‌شود. بعلاوه، تصور می‌شود که HIF2 α ، SOD2 را کنترل می‌کند و منجر به کاهش ROS می‌شود (۴۴).

فعالیت HIF2 α القاء شده به وسیله هیپوکسی (اما نه HIF1 α) به وسیله سرتوینین - ۱ تسهیل می‌شود که می‌تواند اتوفاژی را القاء کند از طریق FOXO3 که القاء BNIP3 را میانجیگری می‌کند (شکل ۲) (۴۷، ۴۸).

پاسخ پروتئین تا نشده (UPR) یک مسیر غیر وابسته به HIF است که اتوفاژی را در طول هیپوکسی حمایت می‌کند. این مسیر به استرس ER پاسخ می‌دهد و بوسیله سه سنسور استرس ER فعال می‌شود، IRE1، ATF6 (فاکتور نسخه برداری فعال ۶) و PERK (PKR-Like ER Kinase). هیپوکسی منجر به فعالسازی PERK می‌شود که نسخه برداری LC3 و ATG5 را از طریق فاکتورهای نسخه برداری ATF4 و CHOP به ترتیب، هیپوکسی توسعه پیدا می‌کند (شکل ۲) (۴۹).

این مسیر برای تکامل و حفظ مسیر اتوفاژی القاء شده توسط HIF1 پیشنهاد می‌شود. این گزارشها پیشنهاد می‌کند که تجمع ROS وابسته به هیپوکسی اتوفاژی را القا می‌کند که باعث حذف میتوکندری تولید کننده ROS می‌شود، بدین وسیله بقاء سلول توموری را افزایش می‌دهد و باعث پیشرفت سرطان می‌شود (۵۰).

mTOR، ROS و سرطان: mTOR یک تنظیم گر کلیدی اتوفاژی است که این مسیر موقعی که مواد مغذی موجود باشند را مهار می‌کند. AMPK (AMP-activated-Protein Kinase) کمبود مواد غذایی و انرژی را حس می‌کند و کمپلکس اسکروزیس (TSC1-TSC2) را فعال می‌کند که منجر به غیر فعالسازی mTOR و شروع شدن اتوفاژی می‌شود. مسیری که منجر به فعالسازی mTOR می‌شود شدیداً با سرطان به هم مربوط می‌شوند. هر دو TSC1 و TSC2 بعنوان سرکوبگرهای (سایپرسورهای) توموری عمل می‌کنند.

می‌کند. بنابراین مطالعات از درک ما از نقش اتوفازی در سرطان که تولید شده است نتایج ضد و نقیض زیادی را نشان دادند. آیا اتوفازی مکانیسم سلولی یا فرایندهای سلولی مؤثر ارگانیسمی را تنظیم می‌کند؟ اگرچه پاسخ به این سوال مشکل است شکاف اصلی در درک ما امروزه به خاطر مکانیسمهای مولکولی و شیمیایی تنظیم ردوکس اتوفای است. چه چیزی اهداف مولکولی ROS در اتوفازی است؟ چگونه اکسیداتیو سیگنال می‌فرستد؟ آیا اثرات ROS به صورت خشن است یا باعث تغییرات پروتئین‌های خاصی می‌شود؟

جمع آوری اطلاعات به یک نقش ضروری ROS در فعال کردن اتوفازی اشاره می‌کند. حاصل اتوفازی، زنده ماندن یا مرگ و یا شروع شرایطی مانند گرسنگی، پاتوزن یا شرایطی که گیرنده های مرگ درگیر هستند، ROS بدون شک در همه این موارد درگیر است. طبیعت ذاتی این فرایندها تا حدودی نامشخص مانده است. اگرچه ارتباط بین ROS و اتوفازی در شرایط مختلف آسیب شناسی مشاهده می‌شود، روش فعال کردن اتوفازی و نقش حفاظتی پتانسیلی آن به طور ناقص قابل درک باقی می‌ماند. مخصوصاً، پیشرفت های اخیر در زمینه تنظیم اکسیداسیون - احیاء اتوفازی روی نقش میتوکندری بعنوان یک منبع ROS و روی میتوفازی بعنوان یک روش برای پاکسازی ROS متمرکز می‌شود.

منابع

1. Ravikumar B, Sarkar S, Davies JE. Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*; 2010. 90(4): 1383.
2. Finkel T. Oxidant signals and oxidative stress. *Curr. Opin. CellBiol*; 2003. 15: 247-254.
3. Scherz Shouval R, Elazar Z. ROS mitochondria and the regulation of autophagy. *Trends Cell Biol*; 2007. 17: 422-427.
4. Scherz-Shouval R, Elazar Z. Regulation of autophagy by ROS: Physiology and Pathology. *Trends in Biochemical Sciences*; 2011. 36(1):30.
5. Eisenberg-Lerner A, Kimchi A. The paradox of autophagy and its implication in cancer etiology and therapy. *Apoptosis*; 2009. 14: 376-391.
6. Fujita N. The Atg16L complex specifies the site of LC3 lipidation for membrane biogenesis in autophagy. *Mol. Biol. Cell*; 2008. 19:2092-2100.

به‌وسیله IR در کلیه القاء می‌شوند که منجر می‌شود به القاء اتوفازی، یک اثری که با افزایش بیان BCL-X1 کاهش داده می‌شود. القاء مشابهی از Beclin-1 و LC3 بعنوان یک مدل IR کبدي دیده می‌شود (۵۷). در میوسیت‌های قلبی، اتوفازی به دنبال جراحت IR ضعیف می‌شود و بهبود این فرایند به‌وسیله افزایش بیان Beclin-1، یک حفاظتی روی سلولها ایجاد می‌کند (۴). یک مکانیسم احتمالی برای این حفاظت شامل BAG1 (BCL2 – associated athanogene1) است که یک پروتئینی است که اخیراً پیشنهاد شده که دخالت می‌کند در تجزیه پروتئین‌های اکسید شده در مدل IR قلبی بوسیله اتصال مستقیم LC3 روی اتوفازوم ها و HSC70 که بعنوان یک مولکول چاپرون به پروتئین‌های اکسید شده متصل می‌شود (۱۲). به طور خلاصه، نقش اصلی پیشنهاد شده برای اتوفازی در IR، کلیرانس ROS آسیب دهنده میتوکندریایی و پروتئین‌هایی که قسمتی از سلولها در محدود کردن آسیب و پیشرفت بقای سلولی است (۴).

نتیجه‌گیری

بعنوان یک مسیر متابولیکی، اتوفازی به تغییرات در محیط خیلی حساس است. نوسانات در غلظت‌های اکسیژن که آن نقص به‌وسیله ماشین سلولی اکسیداتیو فعال می‌کند اتوفازی را اصلاح می‌شود، که اجزاء آسیب دیده را حذف می‌کند، یا وقتی که آسیب بیشتر می‌شود یک ورودی جدید منجر به مرگ سلولی می‌شود. مهمترین پیشرفت در درک ما از ارتباط بین ROS، اتوفازی و بقاء سلولی، از تجمع علائم برای نقش میتوکندری بعنوان تولید کننده ROS، که برای فعالسازی اتوفازی ضروری است می‌باشد. اگرچه NADPH اکسیداز برای این مسیر اتوفاز باکتریال حیاتی است، به نظر می‌رسد میتوکندریها نقش اصلی در تنظیم ردوکس اتوفازی بازی می‌کنند. نتیجه مهم دیگر، از اطلاعات موجود این است که اتوفازی، اولاً یک مکانیسم بقاء سلولی در پاسخ به ROS است. حذف میتوکندریهای آسیب دیده و پروتئین‌های اکسید شده در بیشتر موارد، بقاء سلول را حمایت

24. Scherz-Shouval R, Elazar Z. Monitoring starvation induced reactive oxygen species formation. *Methods Enzymol*; 2009. 452: 119-130.
25. Kaushik S, Chaperone AM. Autophagy as a cell-repair mechanism: activation of chaperone-mediated autophagy during oxidative stress. *Mol. Aspects Med*; 2006. 27:444-454.
26. Komatsu M. The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. *Nat. Cell Biol*; 2010. 12: 213-223.
27. Lau A. A non-canonical mechanism of Nrf2 activation by autophagy deficiency: a direct interaction between Keap1 and p62. *Mol. Cell Biol*; 2010. 30: 3275-3285.
28. Yu L. Autophagic programmed cell death by selective catalase degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*; 2006. 103: 4952-4957.
29. Oh S.H. Dihydrocapsaicin (DHC), a saturated structural analog of capsaicin, induces autophagy in human cancer cells in a catalase-regulated manner. *Autophagy*; 2008. 4: 1009-1019.
30. Azad MB. Regulation of autophagy by reactive oxygen species (ROS): implications for cancer progression and treatment. *Antioxid. Redox Signal*; 2009. 11: 777-790.
31. Chen Y. Mitochondrial electron-transport-chain inhibitors of complexes I and II induce autophagic cell death mediated by reactive oxygen species. *J. Cell Sci*; 2007. 120: 4155-4166.
32. Huang J. Activation of antibacterial autophagy by NADPH oxidases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*; 2009. 106: 6226-6231.
33. Hamanaka RB, Chanadle NS. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem. Sci.* 2010. 35(9):505-13.
34. Hailey DW. Mitochondria supply membranes for autophagosome biogenesis during starvation. *Cell*; 2010. 141: 656-667.
35. Kim I. Selective degradation of mitochondria by mitophagy. *Arch. Biochem. Biophys*; 2007. 462: 245-253.
36. Narendra D. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J. Cell Biol*; 2008. 183: 795-803.
37. Narendra DP. PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biol*; 2010. 8: e1000298.
38. Vives-Bauza C. PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*; 2010. 107: 378-383.
39. Geisler S. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat. Cell Biol*; 2010. 12: 119-131.
40. Nishida Y. Discovery of Atg5/Atg7-independent alternative macroautophagy. *Nature*; 2009. 461: 654-658.
7. Hanada T. The Atg12-Atg5 conjugate has a novel E3-like activity for protein lipidation in autophagy. *J. Biol. Chem*; 2007. 282: 37298-37302.
8. Scherz-Shouval R. Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the activity of Atg4. *EMBO J*; 2007. 26:1749-1760.
9. Kirisako T. The reversible modification regulates the membrane-binding state of Apg8/Aut7 essential for autophagy and the cytoplasm to vacuole targeting pathway. *J. Cell Biol*; 2000. 151: 263-276.
10. Cecconi F, Levine B. The role of autophagy in mammalian development: cell makeover rather than cell death. *Dev. Cell*; 2008. 15:344-357.
11. Mizushima N. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*; 2008. 451: 1069-1075.
12. Gurusamy N. Cardioprotection by adaptation to ischaemia augments autophagy in association with BAG-1 protein. *J. Cell. Med*; 2009. 13: 373-387.
13. Jain A. P62/SQSTM1 is a target gene for transcription factor NRF2 and creates element-driven gene transcription. *J. Biol. Chem*; 2010. 285: 22576-22591.
14. Kern JC, Kehrer JP. Free radicals and apoptosis: relationships with glutathione, thioredoxin, and the BCL Family of proteins. *Front. Biosci*; 2005. 10: 1727-1738.
15. Dorval J, Hontela A. Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol. Appl. Pharmacol*; 2003. 192: 191-200.
16. Bensaad K. TIGAR a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell*; 2006. 126: 107-120.
17. Bensaad K, et al. Modulation of intracellular ROS levels by TIGAR controls autophagy. *EMBO J*; 2009.20: 3015-3026.
18. Bensaad K, et al. skeletal muscle is a primary target of SOD1G93A-mediated toxicity. *Cell Metab*; 2008. 8: 425-436.
19. Mornato N. Increased autophagy in transgenic mice with a G93A mutant SOD1 gene. *Brain Res*; 2007. 1167: 112-117.
20. Zhang H. Oxidative stress induces parallel autophagy and mitochondria dysfunction in human glioma U251 cells. *Toxicol. Sci*; 2009. 110: 375-386.
21. Djavaheri-Mergny M. NF-kappaB activation represses tumor necrosis factor-alpha-induced autophagy. *J. Biol. Chem*; 2006. 281: 30373-30382.
22. Kim EH. Sodium selenite induces superoxide-mediated mitochondrial damage and subsequent autophagic cell death in malignant glioma cells. *Cancer Res*; 2007. 67: 6314-6324.
23. Chen Y. Superoxide is the major reactive oxygen species regulation autophagy. *Cell Death Differ*; 2009. 16: 1040-1052.

57. Kirkin V. a role for NPR1 in autophagosomal degradation of ubiquitinated substrates. *Mol Cell*; 2009. 33: 505-516.
41. Novak I. Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance. *EMBO Rep*; 2010. 11: 45-51.
42. Weidberg H. LC3 and GATE-16/GABARAP subfamilies are both essential yet act differently in autophagosome biogenesis. *EMBO J*; 2010. 29: 1792-1802.
43. Yue Z. The cellular pathways of neuronal autophagy and their implication in neurodegenerative diseases. *Biochim. Biophys. Acta*; 2009. 1793: 1496-1507.
44. Semenza G.L. Upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr. Opin. Genet. Dev*; 2010. 20: 51-56.
45. Bellot G. Hypoxia-induced autophagy is mediated through hypoxia-inducible factor induction of BNIP3 and BNIP1 via their BH3 domains. *Mol. Cell Biol*; 2009. 29: 2570-2581.
46. Mazure NM, Pouyssegur G. Hypoxia-induced autophagy: Cell death or cell survival?. *Curr. Opin. Cell Biol*; 2010. 22: 177-180.
47. Dioun EM. Regulation of hypoxia-inducible factor 2alpha signaling by the stress-responsive deacetylase sirtuin 1. *Science*; 2009. 324: 1289-1293.
48. Kume S. Calorie restriction enhances cell adaptation to hypoxia through Sirt1-dependent mitochondrial autophagy in mouse aged kidney. *J. Clin. Invest*; 2010. 120: 1043.
49. Rouschop KM. The unfolded protein response protects human tumor cells during hypoxia through regulation of the autophagy genes MAP1LC3B and ATG5. *J. Clin. Invest*; 2010. 120: 127.
50. Rouschop KM, Wouters BG. Regulation of autophagy through multiple independent hypoxic signaling pathways. *Curr. Mol. Med*; 2009. 9: 417.
51. Lee JH. Sestrin as a feedback inhibitor of TOR that prevents age-related pathologies. *Science*; 2010. 327: 1223-1228.
52. Maiuri MC. Stimulation of autophagy by the p53 target gene Sestrin2. *Cell Cycle*; 2009. 8: 1571-1576.
53. Deeb D. Oleanane triterpenoid CDDO-Me inhibits growth and apoptosis in prostate cancer cells through a ROS-dependent mechanism. *Biochem. Pharmacol*; 2010. 79: 350-360.
54. Eom JM. Alpha-eleostearic acid induces autophagy-dependent cell death through targeting AKT/mTOR and ERK1/2 signal together with the generation of reactive oxygen species. *Biochem. Biophys. Res. Commun*; 2010. 391: 903-908.
55. Alexander A. ATM signals to TSC2 in the cytoplasm to regulate mTORC1 in response to ROS. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*; 2010. 107: 4153-4158.
56. Cardinal J. Cisplatin prevents high mobility group box 1 release and is protective in a murine model of hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology*; 2009. 15: 171-182.

A review on regulation of autophagy by Reactive Oxygen Species (ROS)

*Mina Zarringol, MSc in Biochemistry, Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran (Fars), Iran (*Corresponding author).
minazarringol3040@yahoo.com

Abstract

Reactive Oxygen Species (ROS) are small, short-lived and highly reactive molecules that can oxidize proteins, lipids and DNA. ROS are formed by incomplete one-electron reduction of oxygen. ROS include oxygen anions, free radicals, including superoxide and hydroxyl radicals, and peroxides such as hydrogen peroxide (H₂O₂). Autophagy is a catabolic pathway for degradation of intracellular proteins and organelles via the lysosome. Autophagy is activated under stress conditions such as starvation, ischemia/reperfusion and pathogen infection, and is deregulated in various pathological conditions, including cancer and neurodegenerative diseases. It is generally accepted that ROS induce autophagy, and that autophagy, in turn, serves to reduce oxidative damage. Cells have developed various non-enzymatic and enzymatic antioxidizing agents to detoxify ROS and prevent oxidative stress. These include glutathione, thioredoxin, superoxide dismutase (SOD), catalase and peroxidases. ROS produced by damaged mitochondria might induce mitophagy, which in turn eliminates the damaged organelles. Two pathologies highly associated with the accumulation of ROS are cancer and ischemia/reperfusion. The role of mitochondria as ROS generators, is essential for the activation of autophagy. Autophagy is a survival mechanism in response to ROS. Removal of damaged mitochondria and oxidized proteins, in most cases, supports survival.

Keywords: Autophagy, Reactive oxygen species, Antioxidants, Mitophagy