

Endoplazmik Retikulum Stresinde Hücre Sağkalım ve Ölüm Kararı

Cell Life and Death Decision in Endoplasmic Reticulum Stress

Sümevra Çetinkaya, Hatice Gül Dursun

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Konya, Türkiye

Öz

Endoplazmik Retikulum (ER) 'un fonksiyonları protein ve lipid biyosentezi, protein katlanması ve trafiği, kalsiyum homeostazi ve çeşitli diğer yaşamsal süreçlerdir. ER 'de yanlış katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin birikimi ER homeostazında değişikliklere yol açar. ER fonksiyonlarını hasara uğratan hücrel durumlar olduğunda, ER stresi meydana gelir ve sonuç olarak katlanmamış protein yanıtı (UPR) olarak isimlendirilen bir yolak aktive olur. UPR sinyal yolağı ER şaperonlarının miktarını artırır ve protein translasyonunu düzenler. UPR iki zıt fonksiyona sahiptir: ilki ER homeostazını yeniden sağlamak ve ikincisi apoptozisin ya da otofajinin uyarılmasını içeren adaptif mekanizmalar geliştirmek. UPR stres koşullarının üstesinden gelemeyse, üçüncü bir yol olarak hücrenin sağkalımı ve büyümesine de izin verilebilir. Sonuç olarak, metabolik hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, inflamatuvar hastalıklar ve kanser meydana gelebilir.

(**Sakarya Tıp Dergisi** 2016, 6(2):73-80)

Anahtar Kelimeler: ER stres, katlanmamış protein yanıtı, apoptozis, otofaji

Abstract

Functions of the endoplasmic reticulum (ER) are protein and lipid biosynthesis, protein folding and trafficking, calcium homeostasis, and several other vital processes. Accumulation of misfolded or unfolded proteins in the ER lead to alterations in ER homeostasis. When cellular states damage ER functions, ER stress take place and subsequent activates a pathway named as the unfolded protein response (UPR). UPR signalling pathways increase level of ER chaperones, regulate protein translation. UPR has two opposite function: first reestablish ER homeostasis and second improve adaptive mechanisms involving the stimulation apoptosis or autophagy. UPR is not overcome of stress conditions, as the third phenomenon can allow survival and growth of cell. Consequently, various pathological conditions including metabolic diseases, neurodegenerative diseases, inflammatory diseases, and cancer can occur.

(**Sakarya Med J** 2016, 6(2):73-80)

Keywords: ER stress, unfolded protein response, apoptosis, autophagy

ER 'nin fonksiyonları ve dinamiği

ER, salgı yolağındaki merkez hücre içi organelidir. Protein sentezinin düzenlemesi, protein katlanması ve olgunlaşması, sonrasında olgunlaşan proteinlerin golgiye geçişinde merkezi öneme sahiptir.¹ ER lümeninde yeni sentezlenmiş proteinler N-glikozilasyon, disülfid bağ oluşumu, oligomerizasyon ve hidroksilasyon gibi çeşitli transasyon sonrası değişikliklere uğrarlar. Bu yüzden ER bir kalite kontrol noktası olarak düşünülür ve yalnızca doğru olarak katlanan proteinler ER'yi geçip ve sonrasında salgı yolağına katılabilirler.^{2,3}

ER stresi

ER 'deki yollar bozulduğunda, ER fonksiyonları da bozulmaya başlar ve sonuçta yanlış katlanmış protein birikimi ER stresine yol açar.^{4,5} Bunun bir sonucu olarak, ER çevresel strese (yüksek glukoz, enerji yokluğu, oksidatif stres, hipoksi, aşırı kalsiyum, katlanmayla uyumsuz mutant proteinlerin ekspresyonu ve tunikamisin gibi kimyasallara maruziyet) adaptasyon sağlamak ve hasarı ortadan kaldırmak için çeşitli mekanizmalar başlatır.⁶

ER 'deki proteinler, protein katlama mekanizmalarında hız kısıtlayıcı reaksiyonları hızlandıran katlanma ile ilgili enzimlerin ve ER'de bulunan moleküler şaperonların denetimi altında modifiye edilir ve katlanır. Isı şok protein ailesi üyeleri Hsp70 ve Hsp90'ın dahil olduğu GRP (Glucose-regulated protein) sistemi, glukozidaz ve transferazlar⁷, kalneksin veya kalretikulin 'nin dahil olduğu ER lektin benzeri şaperon sistemi, ve son olarak disülfid bağ oksidaz, redüktaz ve izomeraz enzimleri (PDI (Protein disulfide-isomerase) gibi) "Endoplazmik Retikulum Kalite Kontrol Sistemi" (ERQC) 'nin temelleridir.^{8,9} ERQC sistemi özellikle bir proteinin olgunlaşmamış halinden doğal haline dönüşümünde yaşamsal bir rol oynar.¹⁰

ER stresi sonucu proteinlerin birikiminin hücreler üzerinde toksik etkisi vardır ve hücreye zarar vermektedir ve sonuçta ER stresine bağlı olarak tip 2 diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklar, parkinson, alzheimer, serebral iskemi, uyku apnesi, multiple sklerozis gibi nörodejeneratif hastalıklar stres durumunda ortaya çıkabilen çeşitli patofizyolojik durumlarıdır.^{11,12}

UPR

Hücre stresle baş edemediği durumda katlanmamış proteinler ERAD (Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation) aracılığı ile uzaklaştırılır. Stresle baş edemediği durumda ise proteozom inhibitörleri ERAD yolağını bloke eder ve sonuç olarak UPR olarak bilinen bir dizi sinyal kaskadını uyarır.^{13,14} UPR; protein katlanmasında hem ER'nin boyut, şekil ve bileşenlerini hem de farklı fizyolojik ve patolojik koşulları düzenlemede diğer ER fonksiyonlarını düzenler.¹⁵

Ökaryot hücrelerde, ER lümeninin izlenmesi ve UPR'nin sinyalizasyonu, 3 ER-membran ilişkili protein aracılığıyla yapılır.

1. PERK (PKR-like Endoplasmic Reticulum Kinase)
2. IRE1 (Inositol-Requiring Enzyme 1)
3. ATF6 (Activating Transcription Factor 6)

Her bir UPR yolağı farklı hedef genleri uyarmasına rağmen, tümü için ortak olan nokta yeni proteinlerin sentezini durdurarak katlanmamış proteinlerin endojen stresle savaşmak için hücreye izin vermesidir. Ayrıca hücrenin salgılama kapasitesini artırarak mevcut proteinlerin hücreden çıkışına da izin verir.¹⁶ Bu 3 sinyal yolağı genel olarak; protein katlanma, işleme ve degradasyonu, redoks homeostazi, otofaji, stres yanıtları, lipid ve amino asit biyosentezi, veziküler trafik, hücre büyümesi ve sağkalım, mitokondriyal fonksiyon ve apoptozisin dahil olduğu hedef genlerin transkripsiyonunu uyarak hücreyel yanıt oluşturur.¹⁷

İyi fonksiyon gösteren ve stressiz bir ER 'de, bu üç transmembran protein ısı-şok protein (HSP70) ailesinden BiP (Binding immunoglobulin protein) adı verilen bir şaperona bağlıdır ve bu halde iken inaktiftirler. BiP, en bol bulunan ER şaperonudur.¹⁸ Ayrıca Grp78 (Glucose binding protein 78 kilodalton) olarak da bilinir; BiP veya Grp78 yeni sentezlenen proteinlere geçici, yanlış katlanmış veya glikozilasyon altındaki proteinlere ise devamlı olarak bağlanır.¹¹

ER yanlış katlanmış proteinlerin aşırı birikmesiyle, BiP/Grp78 bu üç reseptörün aktivasyonuna yol açarak ayrılır ve yanlış katlanmış proteinlerin hidrofobik bölgelerine tercihi olarak bağlanır.^{6,19} BiP/Grp78'den bu ayrılma ER stres dönüştürücülerinin aktifleşmesine ve daha sonraki sinyal kaskatlarının başlatılmasına yol açar. Bundan dolayı BiP/Grp78, ER stresinin baş

lamasında anahtar düzenleyici olduğu için bir ER stres markeri olarak görülür.¹¹

UPR-BAĞIMLI SİNYAL YOLAKLARI

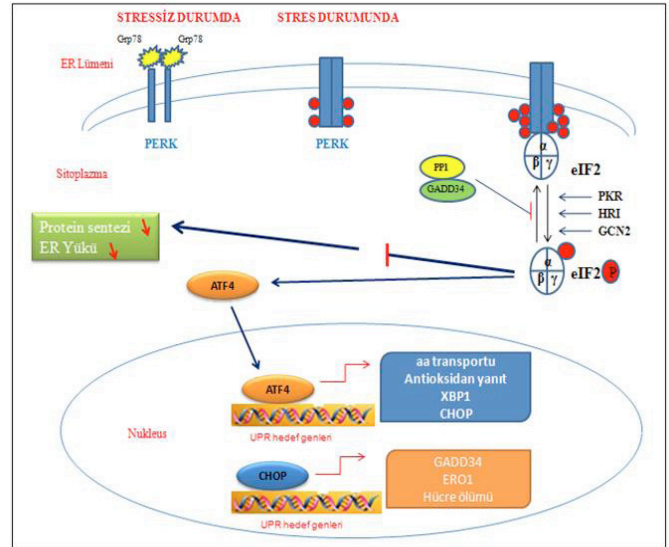
1) PERK aracılı sinyal yolağı ve protein sentezinin kontrolü

ER kapasitesini aşan bir yükü karşılaştığında BiP/Grp78 katlanmaya yardımcı olması için lümeneye gönderilir. ER stresin erken fazında katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler PERK'in homodimerize olmasına ve sonrasında ökaryotik başlama faktör 2 (eIF2alfa) 'nin alfa subüniti üzerinde Ser51'i direkt olarak fosforillemesine neden olur.²⁰ Fosforillenmiş eIF2alfa, mRNA da translasyonel azalmaya yol açarak ribozomal başlama komplekslerinin oluşumunu önler.¹⁸ Translasyon inhibe olduğunda siklin D gibi kısa ömürlü proteinler hücreden temizlenir. Sonuçta ER'in iş yükündeki bu azalma ER stres-aracılı apoptozisden hücreleri korumuş olur. Bazı mRNA'ların translasyonu ise eIF2alfa'nın fosforile olduğu durumlarda seçici bir avantaj sağlamaktadır. Bu mRNA'lar 5' UTR (untranslated region) 'de, açık okuma çerçevesine sahiptir. Stres altındaki hücrelerde fosforilasyon nedeniyle eIF2alfa aktivitesi kısıtlandığında ribozomlar, açık okuma çerçevesini atlar, böylece translasyona uğrayabilirler. Örn; ATF4 (Activating transcription factor 4) ve XBP1 (X-box binding protein 1).^{21,22,23} PERK, eIF2alfa'nın fosforilasyonuna aracılık eden 4 protein kinazdan yalnızca birisidir. Diğer 3 kinaz ise; viral enfeksiyon, ER stres, besin açlığında aktive olan PKR (Protein kinase R), aminoasit açlığı boyunca aktive olan GCN2 (general control nonderepressible 2) ve hemoglobinden yoksun eritrosit hücrelerinde protein sentezini sınırlayan HRI (Heme-regulated eIF2alfa kinase) 'dır.²⁴ eIF2alfa'nın haricinde NRF2 (Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2) de PERK tarafından fosforillenir. Bu fosforillenme çeşitli antioksidan yanıtlar ile ilişkili proteinlerin seviyesini artırır.²⁵ Sonuç olarak PERK; antioksidan yanıt, hücre döngüsünün durması, apoptozis, ERAD gibi süreçlerle ilişkili genleri aktive etme becerisi olan bir sinyal yolağıdır. (Şekil 1)

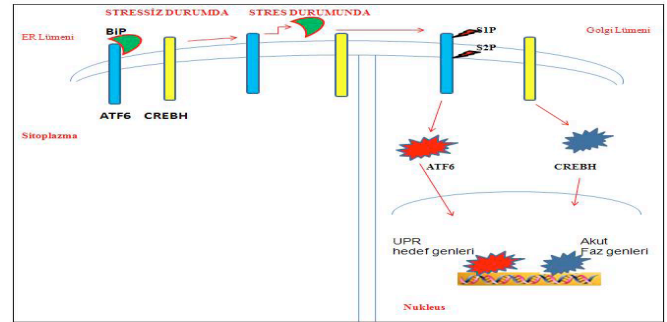
2) IRE1 aracılı sinyal yolağı ve protein degradasyonu

IRE1 mayalardan insana kadar UPR'nin en korunmuş yolağıdır.^{15,5} ER stresine yanıtta, IRE1 katlanmamış proteinleri doğrudan veya dolaylı olarak aktive eder. PERK'in aksine, IRE1 sinyali downstream kinaz hedeflerini seçemez, çünkü IRE1 kinazın bilinen tek substratı IRE1'in kendisidir.²⁶ IRE1'in iki izo-

formu vardır: IRE1alfa ve IRE1beta. IRE1alfa'nın aktivasyonu; dimerizasyon, oligomerizasyon ve otofosforilasyon şeklinde gerçekleşir. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin varlığının hissedilmesi üzerine, IRE1alfa dimerize olur ve otofosforilasyon yoluyla RNaz domainini aktive eder.²⁶



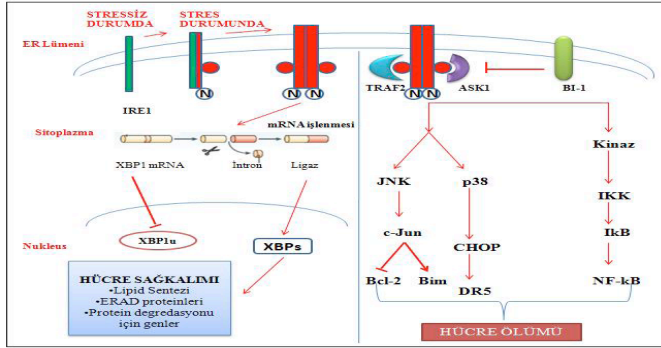
Şekil 1. PERK aracılı sinyalizasyon (CHOP; C/EBP homologous protein, ERO1; ER oksidoreduktase 1, eIF2alfa; Eukaryotic initiation factor 2, GCN2; General control nonderepressible 2, GADD34; Growth arrest and DNA damage-inducible protein, HRI; Heme-regulated eIF2alfa kinase, ATF4; Activating transcription factor 4, PKR; Protein kinase R) (Ron ve Walter 2007, Zhang ve Wang 2012).



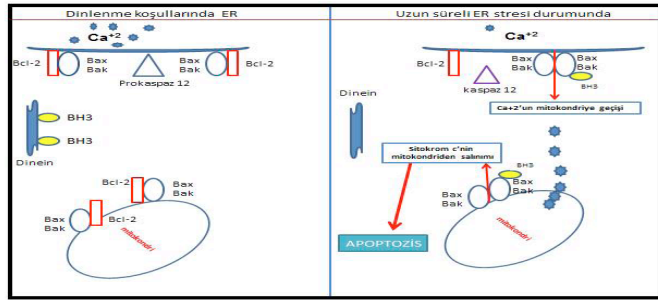
Şekil 2. ATF6 aracılı sinyalizasyon (CREBH; cAMP response element-binding protein, S1P; serin proteaz bölgesi-1, S2P; metalloproteaz bölgesi-2 proteaz) (Ron ve Walter 2007).

Oligomerizasyon ve otofosforilasyon ile aktive olan IRE1 endoribonukleaz aktivitesi ile XBP1 mRNA'sından 26 nükleotidlik intronun kesip çıkartılmasına neden olur.^{27,28} 5' ve 3' mRNA fragmentleri sonra bir bZIP (basic Leucine Zipper Domain) transkripsiyon faktörü olan 41kDa olgun (splays) mRNA (XBP1s) üreterek yeniden birleştirir.^{6,29} Bu duruma tıpkı ATF4 mRNA'sında olduğu gibi XBP1 mRNA'sında da translasyonel

bir okuma çerçevesi'nin oluşumu neden olur ve 376 aa 'lık olgun XBP1s mRNA 'sı oluşur. Olgun XBP1s proteini nukleusa geçerek UPR yanıt elementlerine (UPREs) bağlanır ve ERAD, lipid biyosentezi, antioksidan etki ve protein katlanmasında görev alan pekçok proteini kodlayan genlerin transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon görür.²⁸ (Şekil 3)



Şekil 3. IRE1 aracılı sinyalizasyon IRE1 aracılı sinyalizasyon (Bcl-2; B-cell lymphoma 2, Bcl-1; Bax inhibitor-1, CHOP/C/EBP homologous protein, JNK; Jun N-terminal kinase, NF-κB; Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, p38 MAPK; p38 Mitogen activated protein kinase, TRAF2; TNF receptor-associated factor 2, ASK1; Signal-regulating kinase 1, DR5; Death receptor 5) (Xu ve ark. 2005; Ron ve Walter 2007)



Şekil 4. ER stres koşullarında ve dinlenme durumundaki hücrelerde Bcl-2 protein ailesi (Bak; Bcl-2 homologous antagonist killer; Bax; Bcl-2-associated X protein, Bcl-2; B-cell lymphoma 2) (Segezdi ve ark.2006)

3) ATF6 aracılı sinyalizasyon

ER stres sinyalinin 3. düzenleyicisi olan ATF6 ve CREBH (cAMP response element-binding protein); tip II ER transmembran proteinlerdir.³⁰Stressiz bir hücrede ATF6 ve CREBH, ER membranında bulunur ve ATF6 luminal domainine BiP şaperonunu bağlayarak engellediği Şekil 2'de görülmektedir.

ER stresinin BiP 'in bağlanmasını bozması ATF6 ve CREBH 'in golgiye taşınmasına neden olur. CREBH, inflamasyonda rol oynayan salgı proteinlerini kodlayan akut-faz yanıt genlerini aktive eder. ATF6 'nın ATF6alfa ve ATF6beta olmak üzere iki

izoformu vardır. ATF6alfa, aktifleyici bir b-ZIP transkripsiyon faktörü oluşturarak proteazlar tarafından kesileceği golgiye geçer.^{5,31} Golgi bu proteinlerin luminal bölgesini henüz bilinmeyen bir mekanizmayla serin proteaz bölgesi-1 (S1P) ile ve sonra N-terminal kısmını ise metalloproteaz bölgesi-2 proteaz (S2P) ile keser.⁴ ATF6 'nın kesilen N-terminal sitozolik domaini BiP, Grp94, XBP1 ve CHOP (CCAAT-enhancer-binding protein homologous protein) gibi hedef genlerin transkripsiyonunu uyarmak için CRE (ATF/cAMP response element) ve ERSE (ER stres yanıt elementi)'ne bağlanmak üzere nukleusa geçer.^{16,32} (Şekil 2)

UPR- APOPTOZİS BAĞLANTISI

Şayet UPR-uyarımlı çeşitli mekanizmalar ER stresini azaltmayı başaramazsa, apoptozis için hem iç hem de dış yollar aktive edilebilir. Hücre ölüm yanıtlarını içeren oyuncular; Proapoptotik transkripsiyonel faktör CHOP'un PERK/eIF2ALFA bağımlı uyarılması

eIF2ALFA-ATF4 'ün downstream hedeflerinden biri CHOP olup, promotörü ATF4 ve ATF6'nın dahil olduğu UPR 'nin çeşitli transaktivatörleri için bağlanma bölgeleri içeren 29 kDa'luk bir bZIP transkripsiyon faktörüdür. ATF4, CHOP 'un ekspresyonunu uyararak sonrasında spesifik olarak eIF2ALFA'yı defosforile eden fosfataz altünitesi GADD34 (Growth arrest and DNA damage-inducible protein), PERK 'i inhibe etmek için feedback yapar ve protein translasyonunun gerçekleşmesine izin verir.^{16,33}

CHOP, ER stres-uyarımlı apoptozisin önemli bir mediatörüdür. Protein katlanması baskılandığında eğer CHOP uyarılırsa; protein sentezindeki artış oksidatif stres ve proapoptotik sinyalleri şiddetlendirir. Bu gözlemlere uygun olarak, CHOP'un fibroblast, pankreatik beta hücreleri, makrofajlar ve düz kas hücreleri gibi hücre tiplerinde delesyonu ER stres-uyarımlı apoptozise karşı koruyucudur ve bu yüzden CHOP'un ateroskleroz, tip II diabetes, kanser ve protein yanlış katlanma ile ilgili hastalıkların tedavisi için umut verici olduğu düşünülmektedir.²⁴

CHOP transkripsiyon faktörünün apoptoz ilişkili hedefleri şunlardır; a) GADD34 b) DR5 (Death receptor 5) ve c) ERO1a (Li ve ark. 2009). (Şekil 1) Ayrıca, CHOP; bir proapoptotik Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) ailesi üyesi olan Bim ve TRB3 (Telomere

repeat binding factor 3) gibi bir dizi proapoptotik faktörü aktive ederken, anti-apoptotik protein Bcl-2 'yi önler.²⁴

ASK/JNK kinaz kaskadını uyararak TRAF2'nin IRE1 aracılığıyla aktivasyonu

ER stres sonucunda XBP1 mRNA alternatif kesip-çıkarma yoluyla gen ekspresyonunu kontrol etmesinin yanında, IRE1 alfa de ayrıca otofajiyi uyararak hücre sağkalımını artırabilir veya kaspaz-12 aracılığıyla apoptozis yolağı ile apoptozu da uyarabilir.¹⁶ IRE1 sinyali, transmembran protein BI-1 tarafından aktivitesi baskılanırken proapoptotik Bax ve Bak'ın bağlanmasıyla pozitif olarak düzenlenir.²⁵

Kronik ER stresini IRE1 tarafından TRAF2 (Tumor necrosis factor Receptor-Associated Factor 2)'nin ve ASK1 (Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1) 'in aktivasyonuna yol açar. Aktive olan ASK1 de, Bcl-2 protein ailesini (Bax/Bak) düzenleyerek apoptoziste rol oynayan JNK (Jun N-terminal kinase) ve p38 MAPK (P38 mitogen activated protein kinase) 'yı aktive eder.³⁴ JNK'nin apoptoz uyarımlı substratları arasında Bcl-2 ve Bim; JNK fosforilasyonu yoluyla sırasıyla inhibe ve aktive edilir.^{35,36} Sonuç olarak, Bcl-2 'nin ekspresyonu azalır, Bim ve DR5'in ise ekspresyonu artar. Apoptozise yol açan gen ekspresyonundaki değişikliklere neden olan transkripsiyon faktör CHOP da p38 MAPK'yı fosforile ve aktive eder.³⁷ IRE1 alfa ayrıca NF-κB (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) ve ERK'nin dahil olduğu diğer sinyal yollarına da aracılık edebilir.²⁸(Şekil 3)

Son olarak, IRE1 endoribonukleaz aktivitesi, RIDD (Regulated IRE1-Dependent Decay) olarak bilinen bir süreç yoluyla protein katlanmasını içeren proteinleri kodlayan mRNA'ları seçici olarak hedefler ve degrade eder.^{24,38}

ER stres uyarımlı apoptoziste kaspazların rolü

ER streste sitoplazmik proteaz olan kaspazlar kalpain aktivasyonunu uyararak sitozolik Ca²⁺ seviyelerinde artışa neden olur. Aktive olan kalpain Bcl-XL 'yi keser ve proteolitik olarak kaspaz 12'yı aktive eder.⁴¹ İşlenmiş kaspaz 12, Apaf-1'den bağımsız olarak kaspaz 9'u ve sonrasında ise kaspaz 3 'ü aktive eder.⁴² Kaspaz-12, ER-stres-uyarımlı apoptozisin anahtar mediatörüdür ve ER stres sinyalleri tarafından aktive olur. Kalpainlerin haricinde, IRE1 ve TRAF2 ile de bu sinyaller direkt olarak aktive olabilir.⁴³

Bax/Bcl2-düzenlenmiş Ca²⁺ 'un ER'den salınımı

Ca²⁺ aracılığıyla apoptozisi içeren proteinler Bax ve Bak 'tır.³⁹ Dinlenme durumunda BH3-only proteini, iskelet proteinlerinden dinein'e bağlanarak inhibe olurken; pro-apoptotik Bax ve Bak hem mitokondri hem de ER membranında Bcl-2 ile etkileşerek inaktif kalır. Stres durumunda ise hem JNK hem de CHOP, Bcl-2 'nin antiapoptotik etkisini azaltır. JNK, Bcl-2 'yi fosforile ederek; CHOP ise Bcl-2 'nin ekspresyonunu bloke ederek bunu gerçekleştirirler. JNK ayrıca Bim 'i de fosforile ederek aktivasyonuna ve dynein'den ayrılmasına yol açar. Tüm bu değişiklikler kolektif olarak Bak ve Bax'ın aktivasyonuna izin verir. Bu durum ER zarından Ca²⁺ salınımı ile birlikte mitokondriye ölüm sinyalinin ulaşmasına yol açarken, mitokondriden de sitokrom c salınımı sonucu apoptotik yolak devreye girer.⁴⁰(Şekil 4)

Bcl-2/ Bcl-XL

Bcl-2 proteinleri örneğin Bcl-2 ve Bcl-XLde ER membranında lokalizedir ve ER stresine karşı koruyucudurlar. Bu koruyucu fonksiyon esas olarak IP3R yoluyla Bcl-2, ER Ca²⁺u kararlı olduğu seviyede tutmaya çalışır. ER Ca²⁺ 'un düzenlenmesinde Bcl-2 'nin bu koruyucu rolü JNK-aracılığıyla fosforilasyon yoluyla inhibe edilebilir.⁴⁷ Fosforile olan Bcl-2; Bcl-2 ailesinin proapoptotik BH3-only proteininin üyelerine (Bid ve Bim) bağlanmasını azaltarak veya ER'den Ca²⁺un salınımını artırarak antiapoptotik fonksiyonlarını kaybeder.⁴⁸ (Şekil 4)

ER STRES UYARIMLI APOPTOZİSİN BASKILAYICISI

BI-1 (Bax inhibitor-1)

BI-1 hücre ölümünü baskılayan evrimsel süreçte korunmuş antiapoptotik ve transmembran bir ER proteindir. BI-1, ER stres durumunda ön-sağkalım proteini olarak karakterize edilir. Apoptozisten BI-1 aracılığıyla koruma, kaspaz aktivasyonunun baskılanması, mitokondriyal membran potansiyelinin korunması, mitokondriye geçiş ve Bax aktivasyonunun önlenmesi ile kore olarak ER stresini tarafından uyarılır.⁴⁴ Ön-sağkalım özelliği, metabolizmadaki değişiklikler, oksijen yokluğu, katlanmamış protein birikimi, sitozolik asidifikasyon, ROS, Ca²⁺ 'da değişiklik gibi hücresel olayları işaret eder.⁴⁵ BI-1 iki mekanizma yoluyla ER stresini ve otofajiyi karşı hücre koruyucudur:

a) IP3R bağımlı bir mekanizma yoluyla, mitokondri biyoenerjisi azalır ve mitokondriyal Ca²⁺ seviyelerindeki azalmayla beraber ER'den Ca²⁺ salınımını azaltır.⁴⁶

b) BI-1, IRE1alfa sinyali baskılar ve IRE1 'in hem endoribonukleaz (XBP-1) hem de kinaz aktivitesi (JNK) 'ni geçersiz kılar. Son olarak BI-1, Ca^{+2} homeostazını düzenlemek için Bcl-2 ailesi üyeleriyle ilişkilidir ve indirekt olarak da otofajiyi etkileyebilir.⁴⁴

OTOFAJİ VE ER STRES BAĞLANTISI

Son yıllarda, çeşitli stres faktörlerine yanıtta hücrede anahtar bir rol oynayan, otofajik yanıtlarla UPR yollarının bağlantılı olabileceğine dair çalışmalar gitgide artmaktadır. Otofaji pek çok düzeyde ER ile bağlantılıdır ve ER lümenindeki yanlış katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin azaltılması için alternatif bir hücresel strateji olduğu gösterilmiştir.⁴⁹ Peki neden ER stresi otofajiyi uyarır diye sorulduğunda olası bir cevap olarak "çünkü buna ihtiyacı var" diyebiliriz. Özellikle, ER stresi iki protein degradasyon yolağının aktivasyonuna yol açar. Bunlardan biri; ERAD yoluyla ubiquitin-proteozom aracılı (ERAD I), diğeri ise otofaji yoluyla lizozom-aracılı protein degradasyonudur (ERAD II).⁵⁰ Çözünebilir ubiquitin-konjuge proteinleri sindiren proteozomal degradasyonun aksine, otofaji neredeyse sınırsız bir degradatif kapasiteyle hem çözünür hem de agregat proteinleri parçalayabilir.^{51,52} Yani proteozom sistemi tarafından parçalanamayan yanlış katlanmış protein agregatlarının birikiminden ER 'yi temizlemek için, UPR otofajiyi de uyarabilir.^{53,54}

Kendi sindirme mekanizmasındaki rolüne rağmen, otofaji esas olarak hücre ölümüne karşı bir koruma mekanizmasıdır.⁵¹ Ancak, belirli koşullar altında (UPR durumunda olduğu gibi) otofajinin uyarılması, hücre ölümünü aktif hale getirmek için de gerekli olabilir.⁵⁵

ER stresi PERK/eIF2alfa ve IRE1alfa olmak üzere en az iki UPR yolağı vasıtasıyla otofajiyi uyarabilir.⁴⁸ ER stres altındaki hücreler aktif makrotofaji gösterir ve otofagozomal zarın bir kısmı genişleyen ER membranından orjin alır.^{54,56} ve aktivitesi PERK/eIF2alfa yolağına bağlıdır.⁵⁷ ATF4 aracılı CHOP transkripsiyonel olarak Atg5 'i uyarırken, aktive olan PERK Atg12 'nin ATF4 aracılı transkripsiyonel regülasyonu yoluyla otofajiyi uyarabilir.^{48,54} Ayrıca ATF4; Beclin-1 gibi otofaji genlerinin ekspresyonunu uyararak ve anti oksidatif stres yanıtlarını artırarak, amino asit biyosentezi ve transportunu indükleyerek hücresel homeostaz ve adaptasyon geliştirir.^{15,20}

IRE1 yolağında ise Bcl-2 'nin JNK-aracılı fosforilasyonu Beclin-1

'in salınımına neden olur, serbest kalan Beclin-1 vezikül nukleasyonunu artırmak için ULK1 kompleksinin diğer üyeleri ile ilişki kurar.⁵³ Paralelinde splay XBP-1, Beclin-1'in transkripsiyonunu artırabilir.⁵⁸ Otofaji proteini Atg12, Bcl-2 proteini ni inhibe edebilir, bu yüzden hücre ölümü artar.⁵⁹ Son olarak ER'den Ca^{+2} salınımı otofajiyi düzenleyen farklı kinazları uyartabilir. IP3R yoluyla ER lümeninden Ca^{+2} salınımı da CaMKK 'yı aktive edebilir ve sonrasında ULK1 kompleksi üzerinde mTOR inhibisyonuna neden olarak otofajiyi uyarır.⁴⁸

Gelecek öngörüler

Son yıllarda yapılan çalışmalar hücresel homeostazın sürdürülmesinde otofaji ve ER stresin rolüne önemli katkılar sağlamıştır ve her iki sürecinde birbiriyle yakın ilişkide olduğu belirlenmiştir. Fakat ilginç bir şekilde ER stresi sonrası otofajinin aktive olması hatalı proteinlerin temizlenmesine katkı sağlamada hücre koruyucu olarak görünürken bir taraftan da hücre için sitotoksik olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Örneğin, nörodejeneratif hastalıklarda katlanmamış proteinlerin birikimi koruyucu biçimde otofaji yanıtlarını aktive ederken kanser hücrelerinde ER stresi otofaji-aracılı hücre ölümünün uyarılmasını artırabilir. Bundan dolayı ER stres sinyallerinin şiddeti, ek yolların aktivasyonunun uyarılması, hücre tipi gibi pek çok farklı faktör spesifik bir otofaji yanıtına yön vermek için birlikte düşünülmesi gereken unsurlardır.²⁵ Hücrenin ER stresi sonucunda apoptozise hangi durumda yönlendiği ve/veya hücre sağkalımının hangi durumda sağladığına dair moleküler mekanizmalarını daha iyi kavramak; başta kanser olmak üzere pek çok hastalığın patogeneze katkı sağlayabilmek için yeni fırsatlar sunacağı kanısındayız.

Kaynaklar

1. Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1833(12):3460-70.
2. Ni M, Lee AS. ER chaperones in mammalian development and human diseases. *FEBS Lett*. 2007; 581(19):3641-51.
3. Zhang X, Xu C, Yu C, Chen W, Li Y. Role of endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014; 21; 20(7): 1768-1776.
4. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature, Molecular Cell Biology*. 2007; 8,519-529.
5. Bravo R, Parra V, Gatica D, Rodriguez AE, Torrealba N, Paredes F, Wang ZV, et al. Endoplasmic reticulum and the unfolded protein response: dynamics and metabolic integration. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2013; 301:215-90.
6. Kim I, Xu W, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2008; 7,1013-1030.
7. Kampinga HH, Craig EA. The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity. *Nat.Rev.Mol. CellBiol*. 2010; 11, 579-592.
8. Appenzeller-Herzog C, Ellgaard L. The human PDI family: versatility packed into a single fold. *Biochim.Biophys.Acta*. 2008; 1783: 535-548.
9. Rutkevich LA, Williams DB. Participation of lectin chaperones and thiol oxido reductases in protein folding within the endoplasmic reticulum. *Cell. Biol*. 2011; 23,157-166.
10. Bukau B, Weissman J, Horwich A. Molecular chaperones and protein quality control. *Cell*. 2006; 125, 443-451.
11. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*. 2010; 140:900-917.
12. Roussel BD, Kruppa AJ, Miranda E, Crowther DC, Lomas DA, Marciniak SJ. Endoplasmic reticulum dysfunction in neurological disease. *Lancet Neurol*. 2013; 12: 105-18.
13. Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annual Review of Biochemistry*. 2005; 74: 739-789.
14. Wang W, Groenendyk J, Michalak M. Endoplasmic reticulum stress associated responses in cancer. *Biochimica et Biophysica*. 2014; 1843(10):2143-9.
15. Wang S, Kaufman RJ. The impact of the unfolded protein response on human disease. *J. Cell Biol*. 2012; 197(7):857-67.
16. Todd DJ, Lee AH, Glimcher LH. The endoplasmic reticulum stress response in immunity and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8(9):663-74.
17. Vincenz L, Jäger R, O'Dwyer M, Samali A. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response: targeting the Achilles heel of multiple myeloma. *Mol Cancer Ther*. 2013 Jun;12(6):831-43.
18. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J. Clin. Invest*. 2002; 110: 1389-1398.
19. Maurel M, Chevet E. Endoplasmic reticulum stress signaling: the microRNA connection. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013; 304: C1117-C1126.
20. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, Sadri N, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell*. 2003;11:619-633.
21. Hinnebusch AG, Natarajan K. Gcn4p, a master regulator of gene expression, is controlled at multiple levels by diverse signals of starvation and stress. *Eukaryot. Cell*. 2002; 1, 22-32.
22. Lu PD, Harding HP, Ron D. Translation reinitiation at alternative open reading frames regulates gene expression in an integrated stress response. *J. Cell Biol*. 2004; 167, 27-33.
23. Vattem KM, Wek RC. Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2004; 101, 11269.
24. Cao SS, Kaufman RJ. Unfolded protein response. *Current Biology*. 2012; 22(16).
25. Verfaillie T, Salazar M, Velasco G, Agostinis P. Linking ER Stress to Autophagy: Potential Implications for Cancer Therapy. *Int J Cell Biol*. 2010;2010:930509.
26. Shamu CE, Walter P. Oligomerization and phosphorylation of the Ire1p kinase during intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus. *EMBO J*. 1996; 153028-3039.
27. Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*. 2004; 11,381-389.
28. Hetz C, Martinon F, Rodriguez D, Glimcher LH. The unfolded protein response: integrating stress signals through the stress sensor IRE1 β . *Physiol Rev*. 2011; 91: 1219-1243.
29. Sidrauski C, and Walter P. The transmembrane kinase IRE1p is a site-specific endonuclease that initiates mRNA splicing in the unfolded protein response. *Cell*. 1997; 90,1031-1039.
30. Yoshida H, Haze K, Yanagi H, Yura T, Mori K. Identification of the cis-acting endoplasmic reticulum stress response element responsible for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins. Involvement of basic leucine zipper transcription factors. *The Journal of biological chemistry*. 1998; 273:33741-33749.
31. Ye J, Rawson RB, Komuro R, Chen X, Dave UP, Prywes R, Brown MS, Goldstein JL. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Mol Cell*. 2000; 6:1355-1364.
32. Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K. *Mol Biol Cell*. 1999; 10:3787-3799.
33. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, Nagata K, Harding HP, Ron D. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes&development*.



Kaynaklar

- 2004; 18:3066-3077.
34. Ron D, Hubbard SR. How IRE1 reacts to ER stress. *Cell*. 2008; 132, 24–26.
35. Deng X, Xiao L, Lang W, Gao F, Ruvo P, May Jr. WS. Novel role for JNK as a stress-activated Bcl2 kinase. *J. Biol. Chem*. 2001; 276:23681–23688.
36. Lei K, Davis RJ. JNK phosphorylation of Bim-related members of the Bcl2 family induces Bax-dependent apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2003; 100:2432–2437.
37. Yamaguchi H, Wang HG. CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells. *J. Biol. Chem*. 2004; 279:45495–45502.
38. Hollien J, Lin JH, Li H, Stevens N, Walter P, Weissman JS. Regulated Ire1-dependent decay of messenger RNAs in mammalian cells. *J Cell Biol*. 2009; 186: 323–331.
39. Scorrano L, Oakes SA, Opferman JT, Cheng EH, Sorcinelli MD, Pozzan T, Korsmeyer SJ. BAX and BAK regulation of endoplasmic reticulum Ca²⁺: a control point for apoptosis. *Science*. 2003; 300,135–139.
40. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep*. 2006; 7: 880–5.
41. Nakagawa, T, Yuan, J. Cross-talk between two cysteine protease families. Activation of caspase-12 by calpain in apoptosis. *J. Cell Biol*. 2000; 150, 887-894.
42. Rao RV, Ellerby HM, Bredesen DE. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. *Cell Death and Differentiation*. 2004; 11, 372–380.
43. Szegezdi E, Fitzgerald U, Samali A. Caspase-12 and ER-stress-mediated apoptosis: the story so far. *Ann N Y Acad Sci*. 2003; 1010:186-94.
44. Chae HJ, Kim HR, Xu C, Bailly-Maitre B, Krajewska M, Krajewski S, Banares S, et al. Bcl-1 regulates an apoptosis pathway linked to endoplasmic reticulum stress. *Mol. Cell*. 2004; 15,355–366.
45. Ishikawa T, Watanabe N, Nagano M, Kawai-Yamada M, Lam E. Bax inhibitor-1: a highly conserved endoplasmic reticulum-resident cell death suppressor. *Cell Death Differ*. 2011; 18,1271–1278.
46. Mei Y, Thompson MD, Cohen RA, Tong XY. Endoplasmic reticulum stress and related pathological processes. *J Pharmacol Biomed Anal*. 2013; 15;1(2):1000107.
47. Cheng EH, Wei MC, Weiler S, Flavell RA, Wlindsten T, Korsmeyer SJ. BCL-2, BCL-X (L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- and BAK-mediated mitochondrial apoptosis. *Mol. Cell*. 2001; 8, 705–711.
48. Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1833(12):3460-70.
49. Yorimitsu T, Klionsky DJ. Autophagy: molecular machinery for self-eating. *Cell Death Differ*. 2005; 12, 2:1542-52.
50. Bernales S, McDonald KL, Walter P. Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. *PLoS Biol*. 2006; 4(12):e423.
51. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*. 2008; 451, 1069–1075.
52. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*. 2008; 132(1): 27–42.
53. Ogata M, Hino S, Saito A, Morikawa K, Kondo S, Kanemoto S, Murakami T, et al. Autophagy is activated for cell survival after endoplasmic reticulum stress. *Mol. Cell. Biol*. 2006; 26,9220–9231.
54. Kouroku Y, Fujita E, Tanida I, Ueno T, Isoai A, Kumagai H, Ogawa S, et al. ER stress (PERK/eIF2[alpha] phosphorylation) mediates the polyglutamine induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation. *Cell Death Differ*. 2007; 14(2):230–239.
55. Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? *Journal of Clinical Investigation*. 2005; 115,2679–2688.
56. Bernales S, Schuck S, Walter P. ER-phagy: selective autophagy of the endoplasmic reticulum. *Autophagy*. 2007; 3(3):285–287.
57. He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet*. 2009; 43:67–93.
58. Margariti A, Li H, Chen T, Martin D, Vizcay-Barrena G, Alam S, Karamariti E, Xiao Q, et al. XBP1 mRNA splicing triggers an autophagic response in endothelial cells through BECLIN-1 transcriptional activation. *J.Biol.Chem*. 2013; 288, 859–872.
59. Rubinstein AD, Eisenstein M, Ber Y, Bialik S, Kimchi A. The autophagy protein Atg12 associates with antiapoptotic Bcl-2 family members to promote mitochondrial apoptosis. *Mol. Cell*. 2011; 44,698–709

