

## РОЛЬ АУТОФАГИИ В ПОВРЕЖДЕНИИ СЕРДЦА

Золотова С.А., Пальянов С.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**DOI:** 10.61634/2782-3024-2023-9-71-83

### **Авторы:**

Золотова Софья Александровна, студентка 3 курса педиатрического факультета, 331 группы ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России

Пальянов Сергей Владимирович, к.м.н, доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России

### **Автор, ответственный за переписку:**

Золотова Софья Александровна, студентка 3 курса педиатрического факультета, 331 группы ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12  
sf.zolotova@gmail.com

Аутофагия это один из механизмов, с одной стороны обеспечивающих гомеостаз клетки, а с другой стороны - это способ утилизации поврежденных структур клетки путем их аутолиза в аутофагосоме для повторного использования в метаболизме клетки. Аутофагия обычно рассматривается как адаптивный процесс, позволяющий клеткам выживать в условиях стресса, недостатка питательных веществ и гипоксии. Однако при определенных обстоятельствах аутофагия может являться причиной гибели клеток. Клеточная смерть, сопровождающаяся активацией аутофагии и накоплением аутофагосом, была классифицирована как запрограммированная клеточная смерть II типа. Однако в сравнении с детальной информацией об адаптивной роли аутофагии, её участие в гибели клеток изучено недостаточно. Аутофагическая гибель клеток может быть разделена на две группы, а именно: (1) аутофагическая гибель клеток при повышенной активности аутофагии; (2) аутофагическая гибель клеток при снижении процессов аутофагии. При первом варианте аутофагия активируется чрезмерно, вызывая неконтролируемый аутолиз клеточных структур и гибель клеток. Подобный сценарий наблюдается при гибели клеток, вызванной избыточной деградацией повреждённых органелл в лизосомах. Особый интерес вызывает специфическая форма аутофагии при которой избыточно элиминируются из клетки повреждённые митохондрии - митофагия. Аутофагическая гибель клеток характерна для диабетической кардиомиопатии. Вторым вариантом, характеризующимся снижением процессов аутофагии, наблюдается при доксорубин-индуцированной кардиомиопатии, аутофагии во время ишемии/реперфузии и аутофагической гибели клеток при лизосомных болезнях накопления. При этом сценарии, как правило, нарушается заключительный этап аутофагии, а дисбаланс между образованием аутофагосом и лизосомальной активностью приводит к массивному накоплению аутофагосом, что впоследствии вызывает клеточную дисфункцию и смерть. Дисрегуляция аутофагии вызывает

уникальную форму клеточной смерти, называемую аутозом, с определенными морфологическими и биохимическими особенностями, отличающимися от других форм клеточной смерти, таких как апоптоз и некроз. При аутозе особую роль играет  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФаза, которая физически взаимодействуя с Beclin 1, может способствовать аутофагической гибели клеток. Принципы терапевтического вмешательства, направленные на предотвращение аутофагической гибели кардиомиоцитов, зависят от конкретных механизмов аутофагии. Например, применение ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, например, сердечных гликозидов, обеспечивает кардиопротективный эффект за счет угнетения аутоза, а применение трегалозы и 3,4-диметоксихалкона, могут оптимизировать процессы аутофагии и снизить интенсивность процессов чрезмерного накопления аутофагосом. Таким образом, изучение механизмов аутофагии и поиск новых подходов в фармакокоррекции и фармакопрофилактике аутофагической гибели клеток являются актуальными направлениями современных научных исследований. Цель обзора - представить концепцию аутофагической гибели клеток при некоторых заболеваниях сердца.

**Ключевые слова:** аутофагия, повреждение сердца, ишемия/реперфузия, митофагия, аутоз, диабетическая кардиомиопатия, лизосомальные болезни накопления, доxorубицин-индуцированная кардиомиопатия, кардиопротекция.

## THE ROLE OF AUTOPHAGY IN CARDIAC DAMAGE

Zolotova S.A., Palyanov S.V.

Omsk State Medical University

Autophagy is one of the mechanisms ensuring cell homeostasis on the one hand, and on the other hand, it is a way of utilizing damaged cell structures through their autolysis in the autophagosome for reuse in cell metabolism. Autophagy is usually considered as an adaptive process allowing cells to survive under conditions of stress, nutrient deficiency and hypoxia. However, under certain circumstances autophagy can be the cause of cell death. Cell death accompanied by autophagy activation and autophagosome accumulation has been classified as programmed cell death type II. However, compared to detailed information on the adaptive role of autophagy, its involvement in cell death has been poorly understood. Autophagic cell death can be divided into two groups, namely: (1) autophagic cell death with increased autophagy activity; (2) autophagic cell death with decreased autophagy processes. In the first scenario, autophagy is excessively activated, causing uncontrolled autolysis of cellular structures and cell death. A similar scenario is observed in cell death caused by excessive degradation of damaged organelles in lysosomes. Of particular interest is a specific form of autophagy in which damaged mitochondria are excessively eliminated from the cell - mitophagy. Autophagic cell death is characteristic of diabetic cardiomyopathy. The second variant, characterized by reduced autophagy processes, is observed in doxorubicin-induced cardiomyopathy, autophagy during ischemia/reperfusion and autophagic cell death in lysosomal accumulation diseases. In this scenario, the final step of autophagy is usually disrupted, and an imbalance between autophagosome formation and lysosomal activity leads to massive autophagosome accumulation, which subsequently causes cellular dysfunction and death. Dysregulation of autophagy causes a unique form of cell death, called autosis, with certain morphological and biochemical features that differ from other forms of cell death, such as apoptosis and necrosis. In autosis,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase plays a special role, which by physically interacting with Beclin 1 can promote autophagic cell death. The principles of therapeutic intervention aimed at preventing autophagic death of cardiomyocytes depend on the specific mechanisms of autophagy. For example, the use of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase inhibitors, such as cardiac glycosides, provides a cardioprotective effect by inhibiting autophagy, while the use of trehalose and 3,4-dimethoxychalcon, can optimize autophagy processes and reduce the intensity of excessive autophagosome accumulation.

Thus, the study of mechanisms of autophagy and search for new approaches in pharmacocorrection and pharmacoprophylaxis of autophagic cell death are actual directions of modern scientific research. The aim of the review is to present the concept of autophagic cell death in some heart diseases.

**Key words:** autophagy, cardiac damage, ischemia/reperfusion, mitophagy, autosis, diabetic cardiomyopathy, lysosomal accumulation diseases, doxorubicin-induced cardiomyopathy, cardioprotection.

Аутофагия является основным механизмом деструкции клеточных органелл, который позволяет клеткам выживать при голодании и стрессе, способствуя аутолизу цитоплазмы, поврежденных органелл, например, митохондрий, и поврежденных белков [38, 44, 47]. Аутофагия разрушает неправильно сформированные или нефункциональные белки и органеллы, тем самым обеспечивая функционирование своего рода внутриклеточной системы менеджмента качества. Кроме того, разрушенные аутофагией клеточные материалы перерабатываются для поддержания энергетического гомеостаза. Таким образом, аутофагия в целом действует как адаптивный механизм, обеспечивающий функционирование и выживание клеток. Однако при некоторых условиях дисрегуляция аутофагии может вызывать гибель клеток [8, 18, 45]. Клеточная смерть, сопровождающаяся накоплением вакуолей, индуцированных аутофагией, была классифицирована как запрограммированная клеточная смерть II типа [7]. Хотя аутофагия влияет на другие формы клеточной смерти, включая апоптоз, посредством конкуренции за связывание Bcl-2 между Bcl-1 и Bax, клеточная смерть, опосредованная аутофагией, использует механизмы, отличающиеся от тех, которые используются в других формах программированной клеточной смерти. Однако, по сравнению с адаптивной ролью аутофагии, её значение в клеточной гибели изучено недостаточно. Отчасти это объясняется тем, что доказать неоспоримую и прямую роль аутофагии в клеточной смерти - непросто. Значительная активация или

инициация аутофагии вызывает особую форму клеточной смерти, называемую аутозом, которая отличается от других форм клеточной смерти, таких как апоптоз и некроз [32, 41]. Гибель клеток, сопровождающаяся сильной активацией аутофагии, наблюдается при некоторых заболеваниях сердца [42]. Важно отметить, что ингибирование аутофагии при некоторых заболеваниях предотвращает гибель клеток, повреждение и дисфункцию сердца, что указывает на отрицательное значение клеточной смерти, индуцированной аутофагией [41, 42]. Целью данного обзора является обобщение информации о кардиологических заболеваниях, при которых наблюдаются повреждения, опосредованные аутофагией, описание возможных механизмов, лежащих в основе клеточной гибели, вызванной аутофагией, и обсуждение терапевтических возможностей для уменьшения отрицательных эффектов аутофагии.

## 2. Аутофагия

Существуют три основные формы аутофагии [3]: макроаутофагия (далее - аутофагия), микроаутофагия и аутофагия опосредованная шаперонами. Аутофагия - это важный катаболический процесс, который использует повреждённые внутриклеточные органеллы и цитозольные материалы для переваривания в аутофагосомах, которые сливаются с лизосомами [47]. При микроаутофагии компоненты цитоплазмы переносятся непосредственно в лизосому через мембранные инвагинации. Шапероновая аутофагия включает селективную транслокацию белков, содержащих KFERQ-подобный мотив, через лизосомальную мембрану. Аутофагия

осуществляется через три основных этапа, а именно: 1) инициация и зарождение аутофагосомы, 2) расширение и завершение формирования аутофагосомы и 3) лизосомальная деградация [37, 56] (рис. 1).

Аутофагия инициируется активацией комплекса ULK1 (рис. 1). Комплекс ULK1 в свою очередь фосфорилирует Beclin1 и Ambra 1, тем самым активируя комплекс PI3K, состоящий из Vps34, Beclin 1, VPS15 и Atg14, что знаменует этап инициации - начало формирования изолирующей мембраны. При участии Atg9, Atg2, Atg18 и LC3-PE происходит стимуляция формирования изолирующей мембраны - это этап нуклеации. В конечном итоге формируется аутофагосома. На последнем этапе зрелая аутофагосома сливается с лизосомой, образуя аутолизосому, где захваченные аутофагосомой повреждённые структуры перерабатываются лизосомальными ферментами. Мембранные компоненты и белки деградируют под действием фосфолипаз и протеолитических ферментов соответственно, а продукты расщепления фосфолипидов и аминокислот утилизируются [29]. Поскольку формирование аутофаголизосомы осуществляется посредством скоординированного взаимодействия множества этапов, дисрегуляция даже одного этапа может иметь глубокие и непредсказуемые последствия как для расщепления захваченных структур, так и для накопления аутофагосом. Например, усиленная мобилизация Beclin 1 может привести к усилению инициации аутофагии, а именно к образованию аутофагосом [32, 34], что в свою очередь усиливает аутофагию. Дисрегуляция Rubicon во время стресса приводит к блоку на этапе слияния аутофагосомы с лизосомой [40], что приводит к накоплению аутофагосом (рис. 1). Кроме того, как ни парадоксально, подавление аутофагии в эксперименте у мышей на модели лизосомной болезни накопления вызывало компенсаторное повышение

активности генов, участвующих в аутофагии, что стимулировало образование аутофагосом, несмотря на наличие блока на лизосомальном уровне, и в конечном итоге усиливало накопление аутофагосом [14]. Таким образом, необходимо понимать не только сигнальную регуляцию каждого этапа аутофагии, но и взаимодействие и координацию между несколькими этапами, чтобы понимать последствия дисрегуляции аутофагии и механизм гибели клеток при её нарушении.

3. Аутофагия в клеточной гибели  
Аутофагическая клеточная смерть была первоначально описана как массивная цитоплазматическая вакуолизация без ядерной конденсации и отнесена к запрограммированной клеточной смерти II типа [7, 23, 27]. Ограничением этого чисто морфологического определения является то, что наличие аутофагических вакуолей в умирающих клетках не обязательно означает, что аутофагия является причиной гибели клетки. Повреждённые клетки часто активируют аутофагию в последней попытке выжить, а подавление аутофагии в некоторых случаях способствует гибели клеток через активацию, например, апоптоза. Чтобы отличить гибель клеток вследствие аутофагии от других форм клеточной смерти следует применять следующие критерии, доказывающие причинное участие аутофагии в разрушении клеток: (1) гибель клеток происходит без участия других типов клеточной смерти, (2) аутофагия активирована, и (3) фармакологический или генетический блок аутофагии предотвращает гибель клеток [49]. В настоящее время причинное участие аутофагии в той или иной форме клеточной гибели демонстрируется с помощью многочисленных вмешательств, направленных на ингибирование аутофагии. Однако, важно отметить, что ни один из используемых в настоящее время химических ингибиторов или генетических вмешательств не подавляет аутофагию избирательно, поэтому

доказать наличие аутофагической клеточной смерти по-прежнему остается сложной задачей. Учитывая эти ограничения и преобладающее мнение, что аутофагия носит исключительно адаптивный характер, концепция аутофагической гибели клеток столкнулась со значительными трудностями в этой области, а лежащий в ее основе механизм аутофагической гибели клеток остается малоизученным. Однако все больше доказательств свидетельствуют о том, что аутофагия играет важную роль в повреждении многих тканей, включая сердце [13].

Но необходимо отметить, что аутофагия разрушает компоненты клеток относительно неспецифическим образом, поэтому теоретически она может выводить из строя молекулы выживания клеток. Например известно, что в аутофаголизосоме могут повреждаться антиапоптотическая молекула *Bcl-2* [43] и антиоксидантный фермент - каталаза [57]. Однако, в этих случаях гибель клетки будет обусловлена активацией соответственно апоптоза и/или некроза. В нашем обзоре указанные варианты обсуждаться не будут.

4. Аутофагическая гибель клеток в сердце  
Как отмечалось выше, мы определяем аутофагическую гибель клеток посредством подавления механизмов аутофагии. В кардиомиоцитах аутофагическая гибель клеток происходит либо в результате неконтролируемой деградации компонентов кардиомиоцитов из-за повышенной активности процессов аутофагии, либо из-за чрезмерного накопления аутофагосом, вызванного дисбалансом между инициацией аутофагии и формированием аутофаголизосомы.

4.1 Аутофагическая гибель клеток при повышенной активности аутофагии

4.1.1 Гибель клеток, вызванная избыточной деградацией в лизосомах

В коже взрослых млекопитающих клетки кератиноцитов становятся высокоустойчивыми к апоптозу во время

дифференцировки, но в конечном итоге погибают по аутофагически-зависимому механизму [25]. Когда клетки кожи дифференцируются, в них происходит расширение системы Гольджи, образование лизосом и конденсация хроматина. Затем наблюдается всплеск образования аутофагосом, в которых происходит фагоцитоз эндоплазматического ретикулума и ядра, массивная деградация цитоплазматических органелл, после чего терминально дифференцированные клетки погибают, чтобы кожа постоянно обновлялась и сохраняла свою функцию. Поскольку гибель дифференцированных клеток кожи сопровождается почти полной деградацией клеточных органелл, участие лизосом, по-видимому, играет главную роль в этом процессе. Интересно, что морфология умирающих клеток кожи имеет много сходства с кардиомиоцитами, которые после эпизода ишемии/реперфузии подвергаются аутофагии-зависимой клеточной гибели [42], которая, однако, не ослабляется ингибиторами лизосом [32, 42]. Следовательно аутофагия в данном случае обусловлена не массивным лизисом компонентов клетки в лизосомах, а опосредуется через другие механизмы. Требуются дальнейшие исследования, чтобы выяснить, существуют ли условия, при которых кардиомиоциты погибают из-за массивного лизиса компонентов клетки в аутофаголизосомах.

4.1.2 p53-индуцированная гибель клеток  
Опухолевый супрессор p53 активируется при повреждении миокарда, опосредованном, например, ишемией и стимуляцией ангиотензином II, что, в конечном итоге, является причиной гибели клеток. p53 повышает уровень *Bnip3* в митохондриях, что вызывает митохондриальную дисфункцию и увеличение активности аутофагии, способствующей гибели кардиомиоцитов. Важно отметить, что p53-индуцированная клеточная гибель ослабляется через подавление аутофагии [53]. Таким образом, p53-

индуцированная аутофагия и гибель клеток являются Bnip3-зависимыми. Это позволяет предположить, что p53 и Bnip3 могут вызывать аутофагическую гибель клеток.

Поскольку и Bnip3, и Beclin 1 являются белками, конкурирующими за связывание Bcl-2 с другими белками, то они влияют как на апоптоз, так и на аутофагию [35], а p53-индуцированное повышение уровня Bnip3 может быть важным механизмом, приводящим к дисрегуляции аутофагии. Связанный с митохондриями Bnip3 способствует чрезмерной фрагментации митохондрий [10]. Таким образом, чрезмерная фрагментация митохондрий и последующая их дисфункция могут способствовать митофагии, индуцированной путем p53-Bnip3.

#### 4.1.3 Чрезмерная митофагия

Митофагия - это специфическая для митохондрий форма аутофагии, опосредованная механизмами, которые помечают митохондрии для аутофагоцитоза. Митофагия предназначена для удаления повреждённых или ненужных митохондрий. Однако дисрегулированная активация митофагии вызывает критическое уменьшение количества митохондрий, что приводит к энергетическому дефициту, клеточной дисфункции и гибели клетки. Избыточная митофагия была описана в качестве механизма нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Гентингтона [51]. Молекулярные механизмы, посредством которых происходит неконтролируемая элиминация митохондрий, изучены недостаточно хорошо.

Чрезмерная активация митофагии, дисфункция митохондрий и гибель кардиомиоцитов описаны в публикациях, посвященных экспериментам на мышцах на примере модели доксорубициновой кардиомиопатии [4]. Однако, в настоящее время считается, что аутофагия подавляется во время хронического лечения доксорубицином.

Поэтому, вопрос о том, как митофагия активируется в таких условиях, остаётся открытым [26]. Значительная активация PARKIN-зависимой митофагии отмечалась при моделировании кардиомиопатии у мышей с нокаутом Drp1 [50]. Хотя активация PARKIN, по-видимому, является компенсаторным механизмом против потери контроля качества митохондрий, вопрос о том, приводит ли это к чрезмерной митофагии, остается открытым [15, 19]. Поскольку баланс между митофагией и биогенезом митохондрий критически важен для поддержания энергетического и окислительно-восстановительного гомеостаза сердца, требуются дальнейшие исследования того, как стимулируется чрезмерная митофагия.

#### 4.1.4 Аутофагическая гибель клеток в диабетическом сердце

За последние несколько десятилетий число пациентов с ожирением и метаболическими нарушениями резко возросло, и у многих из них развивается диабет II типа. Более чем у половины пациентов с диабетом в конечном итоге развивается диабетическая кардиомиопатия, характеризующаяся диастолической дисфункцией, сердечной гипертрофией и фиброзом [1]. У таких пациентов в тяжелых случаях может формироваться систолическая дисфункция. Аутофагическая активность в диабетическом сердце регулируется сложными механизмами и различается в зависимости от стадии и тяжести диабета. Хотя в эксперименте аутофагия активируется в ответ на потребление высокожировой диеты у мышей, все больше данных указывают на то, что аутофагия при диабете II типа подавляется [16]. С другой стороны, было показано, что гиперактивация аутофагии в сердцах больных диабетом II типа может вызвать самопереваривание и усилить выработку активных форм кислорода [58]. Интересен тот факт, что ингибирование аутофагии при диабете I типа через угнетение Beclin 1 или Atg16 улучшает течение диабетической кардиомиопатии за счет активации

митофагии через неизвестный, ранее неописанный механизм [55]. Поскольку нетрадиционная форма митофагии активируется как компенсаторный механизм при подавлении обычной аутофагии [52], то используя известный принцип доказательства «от противного» (лат. "contradictio in contrarium"), можно сделать вывод, что активация обычной аутофагии в сердцах больных диабетом I типа способствует гибели кардиомиоцитов.

4.2. Аутофагическая гибель клеток при снижении процессов аутофагии

4.2.1 Аутофагическая гибель клеток при доксорубин-индуцированной кардиомиопатии

Доксорубин - неселективный антибиотик антрациклинового ряда I класса, являющийся мощным химиотерапевтическим средством, которое используется для лечения многочисленных видов рака. Однако применение доксорубина ограничено из-за серьезных побочных эффектов. В частности этот препарат индуцирует образование двунитевых разрывов ДНК, что может привести к повреждению ДНК и образованию активных форм кислорода [11, 59] и вызвать апоптотическую и некротическую гибель клеток [26]. Лечение доксорубином очень быстро активирует аутофагию в кардиомиоцитах. Однако эта активация является преходящей, поскольку доксорубин нарушает заключительный этап аутофагии путем ингибирования закисления лизосом [26]. При длительном курсе химиотерапии этот препарат проявляет меньшую кардиотоксичность, угнетая инициацию аутофагии вследствие блокировки Beclin 1 [28]. С другой стороны, нарушение регуляции Rubicon - негативного регулятора слияния аутофагосом с лизосомами (рис. 1), также смягчает доксорубин-индуцированную кардиотоксичность [31]. Однако, в поздние сроки по мере накопления в кардиомиоцитах большого количества аутофагосом происходит усиление процессов аутофагической

гибели кардиомиоцитов и прогрессирование сердечной недостаточности.

Результаты исследования нарушения регуляции Rubicon согласуются с представлением о том, что хроническое лечение доксорубином усугубляет накопление аутофагосом, что в свою очередь вызывает аутофагическую гибель кардиомиоцитов и сердечную недостаточность [59].

Однако, важно отметить, что в этих исследованиях не изучалась степень накопления аутофагосом в кардиомиоцитах. Таким образом, необходимы дальнейшие исследования для выяснения механизма, посредством которого потеря функции Beclin 1 или Rubicon улучшает сердечную функцию у мышей, получавших доксорубин. В частности, остается открытым вопрос, способствует ли доксорубин аутофагической гибели клеток кардиомиоцитов в хронической фазе. В частности в ряде публикаций отмечается, что доксорубин-индуцированное подавление аутофагии зависит от длительности лечения [54]. Было показано, что в некоторых условиях доксорубин способствует гибели кардиомиоцитов, усиливая аутофагию [24].

4.2.2 Аутофагия во время ишемии/реперфузии

Гибель кардиомиоцитов во время реперфузии после периода ишемии миокарда является важной проблемой здравоохранения, поскольку инфаркт миокарда является основным фактором риска развития сердечной недостаточности. Хотя чрескожные коронарные вмешательства успешно уменьшают размер инфарктов миокарда, вызванных ишемией, лечебные и профилактические мероприятия, эффективно предотвращающие реперфузионное повреждение, остаются недостаточно разработанными [3]. Аутофагия активируется в ответ на ишемию миокарда, но динамика процессов аутофагии во время реперфузии сложна и зависит от многих

условий. В частности, аутофагия сильно активирована в ранней фазе реперфузии, а в поздней фазе реперфузии - подавлена [33]. Вопрос о том, предотвращает ли аутофагия гибель кардиомиоцитов во время реперфузии или способствует ей, остается открытым [12, 46]. При моделировании ишемии/реперфузии у мышей аутофагия активируется во время реперфузии, что сопровождается значительным повышением уровня Beclin 1 и зависящим от времени накоплением аутофагосом и аутолизосом [3, 36]. Накопление аутофагосом, но не аутофаголизосом, становится более заметным через 6 часов после реперфузии. Оценка несколькими методами показала, что выраженность аутофагии падает ниже исходного уровня на поздней стадии реперфузии [42]. Таким образом, ишемия/реперфузия вызывает состояние, при котором аутофагосомы накапливаются из-за блокады формирования аутофаголизосом. Электронно-микроскопический анализ кардиомиоцитов показал типичные морфологические признаки аутоза - новой формы аутофагической клеточной смерти, включая заметное накопление аутофагосом, аутолизосом и вакуолей, конденсированных митохондрий, раздувание перинуклеарного пространства и исчезновение внутриклеточных органелл. Интересно, что морфологические признаки аутоза и размер инфаркта миокарда уменьшались при лечении мышей сердечным гликозидом и известным ингибитором аутоза - убаином, что позволяет предположить, что аутоз индуцируется при ишемии/реперфузии, способствуя повреждению миокарда [42]. Эти результаты согласуются с тем фактом, что повреждение при ишемии/реперфузии ослабляется при снижении активности Beclin 1 [36], которая предотвращает заметное накопление аутофагосом во время реперфузии. Таким образом, аутоз соответствует главным критериям

аутофагически-зависимой клеточной гибели. Аутоз можно ингибировать вмешательствами, которые блокируют сборку фагофоров (например, 3-метиладенин), но не слияние лизосом (например, бафиломицин A1). В ходе высокопроизводительного скрининга было обнаружено, что ингибиторы  $Na^+/K^+$  АТФазы, такие как сердечные гликозиды убаин и дигоксин, также могут ингибировать аутоз, что является диагностическим признаком для аутоза [32, 42]. Аутоз может быть инициирован чрезмерным накоплением аутофагосом [22]. Подавление созревания аутофагосом вследствие повышения уровня Rubicon вызывает заметное накопление аутофагических вакуолей, что способствует аутозу. Кроме того, существует гипотеза, что аутоз сопровождается дефицитом необходимых цитозольных мембран [42]. Предполагается, что избыточная продукция аутофагосом в присутствии Rubicon препятствует деградации и утилизации аутофагосом лизосомами. Важно отметить, что специфический для кардиомиоцитов условный нокаут Rubicon восстанавливает аутофагию и снижает уровень аутофагической гибели клеток во время поздней фазы (более 6 часов) реперфузии сердца, что позволяет предположить, что ингибирование аутоза посредством ингибирования Rubicon может быть уникальным и перспективным подходом для снижения степени повреждения миокарда у пациентов с ишемией/реперфузией [42, 40].  $Na^+/K^+$  АТФаза физически взаимодействует с Beclin 1, когда происходит аутоз. Можно предположить, что это взаимодействие дисрегулирует функцию Beclin 1, вызывая аутофагию. Однако эту гипотезу еще предстоит проверить, и роль  $Na^+/K^+$  АТФазы в аутозе может не обязательно ограничиваться процессом образования аутофагосом. Интересно, что блокада эндогенных лигандов  $Na^+/K^+$  АТФазы дигиталисоподобными веществами увеличивала аутоз кардиомиоцитов в



сердце мышцы во время физической нагрузки [12]. В настоящее время остается неясным, как дигиталисоподобные вещества влияют на  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазу. Однако эти результаты позволяют предположить, что сердце защищено от аутоза эндогенными механизмами, без которых аутоз в сердце может быть более распространенным явлением, чем считалось ранее. Kelly R.A. с соавт. показали, что в организме могут вырабатываться эндогенные дигиталисоподобные субстраты, которые были связаны с некоторыми формами гипертонии [21]. Интересно предположить, что можно контролировать уровень аутофагосом путем стимулирования выработки эндогенных дигиталисоподобных субстратов. Для определения эффективности такого подхода необходимы дополнительные исследования. Значительная активация аутофагии в сердце также наблюдается во время острой фазы инфаркта миокарда, вызванного постоянной перевязкой коронарной артерии [35] и в ответ на чрезмерную перегрузку давлением [60]. Таким образом, с одной стороны аутоз может иметь общие механизмы с апоптозом и некрозом, с другой стороны - для индукции аутоза необходимы уникальные механизмы, которые не являются общими для апоптоза или некроза.

#### 4.2.3 Аутофагическая гибель клеток при лизосомных болезнях накопления

Причиной лизосомных болезней накопления являются генетические мутации в генах, ответственных за лизосомальные функции. Болезни накопления характеризуются повышенным накоплением соответствующих субстратов в результате нарушения функций лизосом. Очевиден тот факт, что дисфункция лизосом ослабляет аутофагию, что в свою очередь вызывает вторичное накопление поврежденных белков и органелл в клетках и функциональные аномалии в основных органах, включая сердце,

скелетные мышцы и печень [2, 39]. При болезнях накопления аутофагия подавляется на этапе процесса лизосомальной деградации, в то время как образование аутофагосом сохраняется или даже стимулируется. Нарушение связи между образованием аутофагосом и лизосомальной деградацией приводит к значительному накоплению аутофагосом.

Подавление образования аутофагосом путем снижения уровня Atg7 ослабляет чрезмерное накопление аутофагосом, уменьшая выраженность сердечной недостаточности у мышей на оригинальной модели болезни накопления, вызванной нарушением закисления содержимого лизосом [14]. С другой стороны, стимуляция аутофагии с помощью TAT-Beclin 1 усугубляет накопление аутофагосом и сердечную дисфункцию. Таким образом, вполне вероятно, что накопление аутофагосом способствует нарушению работы органов в этой модели. При наличии тяжелой или постоянной лизосомальной дисфункции может быть активирован механизм обратной связи, который способствует аутофагии и лизосомальному биогенезу, тем самым усугубляя накопление аутофагосом [14]. Таким образом, хотя пусковой механизм гибели кардиомиоцитов при лизосомальной болезни накопления сходен с таковым при аутозе, вызванным ишемией/реперфузией, форма гибели кардиомиоцитов при болезнях накопления, по-видимому, отличается от наблюдаемой при аутозе. Для выяснения механизмов гибели кардиомиоцитов при лизосомальных болезнях накопления необходимы дальнейшие исследования. Следует отметить, что вмешательства, направленные на восстановление аутофагии, облегчают кардиомиопатию при некоторых лизосомальных болезнях накопления [6, 20]. Главной целью лечения болезней накопления является уменьшение массивного накопления аутофагосом. Однако, нормализация накопления аутофагосом путем воздействия на аутофагию может

оказаться недостаточной для нормализации сердечной функции при болезнях накопления. В частности, при попытке подобной коррекции были отмечены проблемы, включая накопление убиквитинированных белков, окислительный стресс и атрофию мышц. Таким образом, необходимо разработать принципы терапии, минимизирующие указанные побочные эффекты [30].

#### 5. Терапевтические подходы в коррекции аутофагии

Как обсуждалось выше, аутофагическая гибель клеток может быть разделена на две группы, а именно:

- Аутофагическая гибель клеток при повышенной активности аутофагии;
- Аутофагическая гибель клеток при снижении процессов аутофагии.

Рассматривая принципы терапевтического вмешательства, направленные на предотвращение аутофагической гибели клеток кардиомиоцитов, необходимо уточнить, к какой категории относится гибель.

Мероприятия, направленные на облегчение нарушенного слияния аутофагосомы с лизосомой или устранению лизосомальной дисфункции, включая трегалозу [48] и 3,4-диметоксихалкон [5], могут оптимизировать процессы аутофагии и снизить интенсивность процессов чрезмерного накопления аутофагосом. Однако когда лизосомальная дисфункция необратима, следует рассмотреть возможность вмешательства для принципиального предотвращения образования аутофагосом. Хотя ингибирование образования аутофагосом при наличии серьезной или постоянной блокады лизосомальной деградации может снизить темп патологического накопления аутофагосом, могут потребоваться дополнительные вмешательства для улучшения клеточных механизмов контроля качества, независимых от аутофагии, особенно в условиях стресса. Аутоз блокируется сердечными гликозидами [32]. В настоящее время

молекулярный механизм, посредством которого сердечные гликозиды ингибируют аутоз, остается неясным. Предстоит выяснить, предотвращают ли сердечные гликозиды чрезмерное накопление аутофагосом путем регуляции Beclin 1.

Интересно, что ингибитор натрийзависимого переносчика глюкозы 2 типа - эмпаглифлозин, подавляет аутоз при ишемии миокарда через ингибирование  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника в кардиомиоцитах [17]. Можно предположить, что изменения ионной среды вблизи мембраны аутофагосомы могут быть одним из перспективных направлений, влияющим на аутофагию.

#### 6. Нерешенные вопросы

Несмотря на большое число публикаций, подтверждающих существование аутофагической клеточной смерти, ряд вопросов до сих пор остаётся нерешенными. С одной стороны, аутофагия считается адаптивным механизмом, если она активируется во время развития органа или когда апоптоз или другой механизм запрограммированной клеточной смерти, подавлен [9, 25]. С другой стороны, она является дезадаптивной и приводит к нарушению работы органа, когда механизмы аутофагии дисрегулируются [42]. Современные знания о физиологической функции аутофагической гибели клеток, особенно в сердце взрослого человека, недостаточны. Например, большой интерес представляет определение того, способствует ли гибели дисфункциональных кардиомиоцитов избыточная митофагия, которая может интенсифицироваться при попытке предотвратить увеличение степени окислительного стресса. Изучение молекулярного механизма, вовлеченного в физиологическую аутофагическую гибель клеток во время развития, может дать нам подсказки для лучшего понимания того, как аутофагическая гибель клеток контролирует клеточные функции. Необходимо также изучить, как

аутофагия становится патологической. Например, блокада на уровне слияния аутофагосом с лизосомами играет важную роль в опосредовании аутофагии в сердце на поздней стадии реперфузии [42]. Однако одной блокады слияния аутофагосом с лизосомами обычно недостаточно, чтобы вызвать аутоз. Важной особенностью аутоза является то, что аутолитическая гибель клеток не может быть подавлена подавлением других форм клеточной смерти, включая апоптоз и некроз [41]. И самое главное, необходимо прояснить как взаимодействуют накладывающиеся друг на друга сигнальные механизмы, способствующие дисрегуляции аутофагии.

#### Заключение

Таким образом, можно предположить, что блокада аутоза должна иметь

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Sotskov A. Yu., Ponomarev D. N., Vaimukhametova R. D., Troshin I. C. Modern aspects of diabetic cardiomyopathy pathogenesis. *Alley of Science* 2021;2(52): 205-208. - EDN AWOLIE. Russian. (Соцков А. Ю., Пономарев Д. Н., Баймухаметова Р. Д., Трошин И. С. Современные аспекты патогенеза диабетической кардиомиопатии. *Аллея науки* 2021;2(52): 205-208. – EDN AWOLIE).
2. Vaikhanskaya T. G., Sivitskaya L. N., Danilenko N. G. et al. Danon's disease: a rarely detected systemic disease with LAMP2 cardiomyopathy. *Russian Journal of Cardiology* 2017; 22(10): 93-99. - DOI 10.15829/1560-4071-2017-10-93-99. - EDN ZULXEV. Russian. (Вайханская Т. Г., Сивицкая Л. Н., Даниленко Н. Г. и др. Болезнь Данона: редко выявляемое системное заболевание с LAMP2-кардиомиопатией. *Российский кардиологический журнал* 2017; 22(10): 93-99. – DOI 10.15829/1560-4071-2017-10-93-99. – EDN ZULXEV).
3. Voronkov N.S., The role of autophagy in ischemic and reperfusion injury of the heart / Voronkov N.S., Maslov L.N. // *Russian Journal of Physiology* 2020;106(2):135-156. doi: 10.31857/S0869813920020119. (Воронков, Н. С. Роль аутофагии в ишемическом и реперфузионном повреждении сердца / Н. С. Воронков, Л. Н. Маслов // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2020;106(2):135-156. doi: 10.31857/S0869813920020119. – EDN TOAFSH).
4. Catanzaro MP, Weiner A, Kaminaris A, et al. Doxorubicin-induced cardiomyocyte death is mediated by unchecked mitochondrial fission and mitophagy. *FASEB J.* 2019;33(10): 11096–11108. doi: 10.1096/fj.201802663R.
5. Chen G., Xie W., Nah J. et al. 3,4-Dimethoxychalcone induces autophagy through activation of the transcription factors TFE3 and TFEB. *EMBO molecular medicine* 2019;11(11): e10469. doi: 10.15252/emmm.201910469.
6. Chi C., Leonard A., Knight WE. et al. LAMP-2B regulates human cardiomyocyte function by mediating autophagosome-lysosome fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019;116(2): 556–565. doi: 10.1073/pnas.1808618116.
7. Clarke PG. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anatomy and embryology* 1990;181(3):195–213. doi 10.1007/BF00174615.
8. Denton D., Kumar S. Autophagy-dependent cell death. *Cell Death Differ* 2019;26(4):605–616. doi: 10.1038/s41418-018-0252-y.
9. Denton D., Shrivage B., Simin R. et al. Autophagy, not apoptosis, is essential for midgut cell death in *Drosophila*. *Curr Biol* 2009;19(20):1741–1746. doi: 10.1016/j.cub.2009.08.042.
10. Dhingra A., Jayas R., Afshar P. et al. Ellagic acid antagonizes Bnip3-mediated mitochondrial injury and necrotic cell death of cardiac myocytes. *Free Radic Biol Med* 2017;112:411–422. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.010.
11. Dhingra R., Guberman M., Rabinovich-Nikitin I. et al. Impaired NF-kappaB signalling underlies cyclophilin D-mediated mitochondrial permeability transition pore opening in doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2020;116(6):1161–1174. doi: 10.1093/cvr/cvz240.

12. Fernandez AF., Liu Y., Ginet V. et al., Interaction between the autophagy protein Beclin 1 and Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase during starvation, exercise, and ischemia. *JCI Insight* 2020;5(1): e133282. doi: 10.1172/jci.insight.133282.
13. Gustafsson AB. Gottlieb RA. Recycle or die: the role of autophagy in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol* 2008;44(4): 654–661. doi: 10.1016/j.yjmcc.2008.01.010.
14. Ikeda S., Nah J., Shirakabe A. et al. YAP plays a crucial role in the development of cardiomyopathy in lysosomal storage diseases. *J Clin Invest* 2021;131(5):e143173. doi: 10.1172/JCI143173.
15. Ikeda Y., Shirakabe A., Maejima Y. et al. Endogenous Drp1 mediates mitochondrial autophagy and protects the heart against energy stress. *Circ Res* 2015;116(2):264–278. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303356
16. Jia G., Hill MA., Sowers JR. Diabetic Cardiomyopathy: An Update of Mechanisms Contributing to This Clinical Entity. *Circ Res* 2018;122(4):624–638. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311586.
17. Jiang K., Xu Y., Wang D. et al. Cardioprotective mechanism of SGLT2 inhibitor against myocardial infarction is through reduction of autosis. *Protein Cell* 2021;13(5):336–359. doi: 10.1007/s13238-020-00809-4.
18. Jung S., Jeong H., Yu SW. Autophagy as a decisive process for cell death. *Exp Mol Med* 2020;52(6):921–930. doi 10.1038/s12276-020-0455-4
19. Kageyama Y, Hoshijima M, Seo K, et al. Iijima M, Sesaki H, Parkin-independent mitophagy requires Drp1 and maintains the integrity of mammalian heart and brain. *EMBO* 2014;33(23):2798–2813. doi: 10.15252/embj.201488658.
20. Kakhlon O., Vaknin H., Mishra K. et al. Alleviation of a polyglucosan storage disorder by enhancement of autophagic glycogen catabolism. *EMBO molecular medicine* 2021;13(10): e14554. doi: 10.15252/emmm.202114554.
21. Kelly RA., O'Hara DS., Mitch WE. et al. Endogenous digitalis-like factors in hypertension and chronic renal insufficiency. *Kidney Int* 1986;30(5):723–729. doi: 10.1038/ki.1986.247.
22. Kheloufi M., Boulanger CM., Codogno P., Rautou PE. Autosis occurs in the liver of patients with severe anorexia nervosa. *Hepatology* 2015;62(2):657–658. doi: 10.1002/hep.27597.
23. Klionsky DJ., Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8(11):931–937. doi: 10.1038/nrm2245.
24. Kobayashi S., Volden P., Timm D. et al. Transcription factor GATA4 inhibits doxorubicin-induced autophagy and cardiomyocyte death. *J Biol Chem* 2010;285(1):793–804. doi: 10.1074/jbc.M109.070037.
25. Koenig U., Robenek H., Barresi C. et al. Cell death induced autophagy contributes to terminal differentiation of skin and skin appendages, *Autophagy* 2020;16(5):932–945. doi: 10.1080/15548627.2019.1646552.
26. Koleini N., Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity, *Oncotarget* 2017;8(28):46663–46680. doi: 10.18632/oncotarget.16944.
27. Levine B., Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? *J Clin Invest* 2005;115(10): 2679–2688. doi: 10.1172/JCI26390.
28. Li DL., Wang ZV., Ding G. et al. Doxorubicin Blocks Cardiomyocyte Autophagic Flux by Inhibiting Lysosome Acidification. *Circulation* 2016;133(17):1668–1687. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017443.
29. Li Y., Cheng X., Li M. Wang et al. Decoding three distinct states of the Syntaxin17 SNARE motif in mediating autophagosome-lysosome fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020;117(35): 21391–21402. doi: 10.1073/pnas.2006997117.
30. Lim JA., Sun B., Puertollano R., Raben N. Therapeutic Benefit of Autophagy Modulation in Pompe Disease. *Mol Ther* 2018;26(7):1783–1796. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.04.025.
31. Liu X, Zhang S, An L, Wu J, et al. Loss of Rubicon ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity through enhancement of mitochondrial quality. *Int J Cardiol* 2019;296:129–135. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.07.074.
32. Liu Y., Shoji-Kawata S., Sumpter RM Jr. et al. Autosis is a Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase-regulated form of cell death triggered by autophagy-inducing peptides, starvation, and hypoxia-ischemia, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(51):20364–20371. doi: 10.1073/pnas.1319661110.
33. Ma X., Godar RJ., Liu H, Diwan A. Enhancing lysosome biogenesis attenuates BNIP3-induced cardiomyocyte death, *Autophagy* 2012;8(3):297–309. doi: 10.4161/auto.18658.
34. Maejima Y., Isobe M., Sadoshima J. Regulation of autophagy by Beclin 1 in the heart. *J Mol Cell Cardiol* 2016;95:19–25. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.10.032.
35. Maejima Y., Kyo S., Zhai P. et al. Mst1 inhibits autophagy by promoting Beclin1-Bcl-2 interaction. *Nature Med* 2013;19(11):1478–1488. doi: 10.1038/nm.3322.
36. Matsui Y., Takagi H., Qu X., et al. Distinct Roles of Autophagy in the Heart During Ischemia and Reperfusion. Roles of AMP-Activated Protein Kinase and Beclin 1 in Mediating Autophagy, *Circ Res* 100 (2007) 914–922.
37. Melia TJ., Lystad AH. Simonsen A, Autophagosome biogenesis: From membrane growth to closure, *J Cell Biol* 2020;219(6). doi: 10.1083/jcb.202002085.
38. Mizushima N., Levine B. Autophagy in Human Diseases. *N Engl J. Med.* 2020;383(16):1564–1576. doi 10.1056/NEJMra2022774
39. Myerowitz R., Puertollano R., Raben N. Impaired autophagy: The collateral damage of lysosomal storage disorders. *EBioMedicine* 2021;63:103166. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103166.

40. Nah J., Zablocki D., Sadoshima J. The roles of the inhibitory autophagy regulator Rubicon in the heart: A new therapeutic target to prevent cardiac cell death. *Exp Mol Med* 2021;53(4):528–536. doi: 10.1038/s12276-021-00600-3.
41. Nah J., Zablocki D., Sadoshima J. Autosis: A New Target to Prevent Cell Death, *JACC Basic Transl Sci* 2020;5(8):857–869. doi: 10.1016/j.jacbts.2020.04.014.
42. Nah J, Zhai P, Huang CY. et al. Upregulation of Rubicon promotes autosis during myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 2020;130(6):2978–2991. doi: 10.1172/JCI132366.
43. Nezis IP, Shrivage BV, Sagona AP. et al. Autophagic degradation of dBruce controls DNA fragmentation in nurse cells during late *Drosophila melanogaster* oogenesis. *J Cell Biol* 2010;190(4):523–531. doi: 10.1083/jcb.201002035.
44. Ohsumi Y. Historical landmarks of autophagy research. *Cell research* 2014;24(1):9–23. doi: 10.1038/cr.2013.169.
45. Schwartz LM. Autophagic Cell Death During Development - Ancient and Mysterious. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9:656370. doi: 10.3389/fcell.2021.656370
46. Sciarretta S., Hariharan N., Monden Y. et al. Is autophagy in response to ischemia and reperfusion protective or detrimental for the heart? *Pediatr Cardiol* 2011;32(3):275–281. doi: 10.1007/s00246-010-9855-x.
47. Sciarretta S., Maejima Y., Zablocki D., Sadoshima J. The Role of Autophagy in the Heart. *Annu Rev Physiol* 2018;10(80):1–26. doi: 10.1146/annurev-physiol-021317-121427.
48. Sciarretta S., Yee D., Nagarajan N. et al. Trehalose-Induced Activation of Autophagy Improves Cardiac Remodeling After Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2018;71(18): 1999–2010. doi: 10.1016/j.jacc.2018.02.066.
49. Shen HM., Codogno P. Autophagic cell death: Loch Ness monster or endangered species? *Autophagy* 2011;7(5):457–465. doi: 10.4161/autophagy.7.5.14226.
50. Song M., Mihara K., Chen Y. et al. Mitochondrial fission and fusion factors reciprocally orchestrate mitophagic culling in mouse hearts and cultured fibroblasts. *Cell Metab* 2015;21(2):273–286. doi: 10.1016/j.cmet.2014.12.011.
51. Subramaniam S. Exaggerated mitophagy: a weapon of striatal destruction in the brain? *Biochem Soc Trans* 2020;48(2):709–717. doi: 10.1042/BST20191283.
52. Tong M., Saito T., Zhai P. et al. Alternative Mitophagy Protects the Heart Against Obesity-Associated Cardiomyopathy. *Circ Res* 2021;129(12):1105–1121. doi:10.1161/CIRCRESAHA.121.319377.
53. Wang EY., Gang H., Aviv Y. et al. p53 mediates autophagy and cell death by a mechanism contingent on Bnip3. *Hypertension* 2013;62(1):70–77. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01028.
54. Wang Y., Lu X., Wang X. et al atg7-Based Autophagy Activation Reverses Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Circ Res* 2021;129(8):e166–e182. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319104.
55. Xu X., Kobayashi S., Chen K. et al. Diminished autophagy limits cardiac injury in mouse models of type 1 diabetes. *J Biol Chem* 2013;288(25):18077–18092. doi: 10.1074/jbc.M113.474650.
56. Yang Z., Klionsky DJ. An overview of the molecular mechanism of autophagy. *Curr Top Microbiol Immunol* 2009;335:1–32. doi: 10.1007/978-3-642-00302-8\_1.
57. Yu L., Wan F., Dutta S. et al. Autophagic programmed cell death by selective catalase degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(13):4952–4957. doi: 10.1073/pnas.0511288103
58. Zhang D., He Y., Ye X. et al. Activation of autophagy inhibits nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 inflammasome activation and attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats. *J Diabetes Investig* 2020;11(5): 1126–1136. doi: 10.1111/jdi.13235.
59. Zhang S., Liu X., Bawa-Khalfe T. et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med* 2012;18(11):1639–1642. doi: 10.1038/nm.2919.
60. Zhu H., Tannous P., Johnstone JL. et al. Cardiac autophagy is a maladaptive response to hemodynamic stress. *J Clin Invest* 2007;117(7):1782–1793. doi: 10.1172/JCI27523.