

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/316168897>

Otofaji ve Nörodejeneratif Hastalıklar (Autophagy and Neurodegenerative Diseases)

Article · April 2017

CITATIONS

0

READS

8

2 authors:



Nur Kocaturk

Sabanci University

9 PUBLICATIONS 0 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Devrim Gozuacik

Sabanci University

91 PUBLICATIONS 4,129 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



IBMPFD Disease-Causing Mutant VCP/p97 Proteins Are Targets of Autophagic-Lysosomal Degradation

[View project](#)



Autophagy and Neurodegenerative Diseases [View project](#)

All content following this page was uploaded by [Nur Kocaturk](#) on 17 April 2017.

The user has requested enhancement of the downloaded file. All in-text references [underlined in blue](#) are added to the original document and are linked to publications on ResearchGate, letting you access and read them immediately.

Otofaji ve Nörodegeneratif Hastalıklar

Autophagy and Neurodegenerative Diseases

Nur Mehpere KOCATÜRK,^a
Devrim GÖZÜAÇIK^{a,b}

^aMoleküler Biyoloji, Genetik ve
Biyomühendislik Programı,
Sabancı Üniversitesi,
Doğa Bilimleri ve Mühendislik Fakültesi,
^bSabancı Üniversitesi
FSUN Nano Tanı İçin
Fonksiyonel Yüzey ve Ara Yüzeyler
Araştırma ve Uygulama Merkezi,
İstanbul

Yazışma Adresi/Correspondence:

Devrim GÖZÜAÇIK
Sabancı Üniversitesi
Doğa Bilimleri ve Mühendislik Fakültesi,
Moleküler Biyoloji, Genetik ve
Biyomühendislik Programı,
İstanbul, TÜRKİYE
dgozuacik@sabanciuniv.edu

ÖZET Otofaji temel bir hücrel yıkım geri çevirim ve yıkım yolağıdır. Otofaji bozuklukları pek çok nörodegeneratif hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Nörodegeneratif hastalıkların oluşum ve gelişiminin en önemli nedenlerinden birisi, sinir hücrelerinde bulunan ve çökelti oluşturmaya meyilli protein kümeleridir. Otofajive übikitin-proteozom sistemi, hastalığa sebep olan bu birikimlerin hücre içinde yok edilmesinden sorumlu ana yolaklardır. Yıkım yolaklarındaki işlev bozuklukları, sinir hücresi içi diğer sistemleri de etkilemekte ve sinaps kaybı, sinir hücresi anormallikleri ve hücre ölümünü tetiklemektedir. Bu nedenle, otofaji işleyiş mekanizmaları ve hastalık oluşumuna etkilerini anlamak, otofaji temelli tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayabilir. Bu derlemede, otofajinin moleküler aşamaları ve bu aşamalarda görülebilecek bozuklukların, nörodegeneratif hastalıklarla bağlantıları tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Otofaji; mitokondriyal otofaji; nörodegeneratif hastalıklar; hastalık mekanizmaları.

ABSTRACT Autophagy is a basic cellular catabolism and recycling mechanism. Autophagy abnormalities were connected to a number of neurodegenerative diseases. Aggregate-prone protein accumulation in nerve cells is an important factor in the formation and progression of neurodegenerative diseases. There are two central pathways in their elimination in cells: The ubiquitin-proteasome system and autophagy. Abnormalities of these catabolic pathways affect functions of neurons, and result in loss of synapses, nerve function abnormalities and finally trigger neuronal cell death. Therefore, a better understanding of autophagy mechanisms and its effects on disease formation, might lead to autophagy-based treatment strategies against neurodegenerative diseases. In this review article, we will introduce autophagy molecular mechanisms, and then discuss connections between autophagy abnormalities and neurodegenerative diseases.

Key Words: Autophagy; mitochondrial autophagy; neurodegenerative diseases; disease mechanisms

Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics 2017;5(1):11-20

OTOFAJİ

Otofaji mayadan insana, tüm çekirdekli hücrelerde işlev gösteren ve hücre içi dengenin sağlanmasında kritik bir öneme sahip olan bir yıkım yolağıdır. Hücrel işlevini gerçekleştirebilmek için 30'dan fazla otofaji proteininin uyum içerisinde çalışmasını gerektirir.¹ Hücre içi yağ, şeker, uzun ömürlü proteinler, yanlış katlanmış ya da hastalık bağlantılı bir mutasyondan dolayı çökelti oluşturmuş proteinlerin yıkımı otofajiye bağlıdır. Ayrıca, otofaji, hücre içi parazitlerin, mitokondriler ve endoplazmik reti-

kulum gibi organellerinsindiririmi ve kalite kontrolünü sağlar.²⁻⁴Bu önemli hücre içi yıkım mekanizması birkaç basamakta gerçekleşir: Sırasıyla otofajik keseciğin (otofagozom) çekirdeklenmesi, otofajik zarların uzaması ve yıkıma uğrayacak hedeflerin zararlar ile çevrelenmesi, otofagozomların lizozomlarla birleşmesi, ve son olarak lizozomal enzimlerin yardımıyla yıkımın gerçekleşmesigerekir.¹

Otofaji, temel koşullarda hücre içinde atıkların yıkılmasında ve geri çevirimin amaçlı olarak hücreye sağlanmasında rol alır. Hücre içindeki bu geri dönüşüm, tüm hücre tipleri için önemlidir. Fakat hasarlı hücreler içerikler hücre bölünmesi esnasında bir miktar seyrebildiklerinden, otofaji sinir hücreleri gibi tamamen farklılaşmış ve normalde bölünmeyen hücrelerde daha büyük bir öneme sahiptir. Açlık, enflamasyon, hipoksi, oksijen stresi ve endoplazmik retikulum stresi gibi hücre için zararlı olabilecek koşullarda; besinlerin geri çevrimini yaparak hücre metabolizmasına alternatif yapı taşları ve enerji kaynakları sağlar.Bu şekilde, hücrelerin zor koşullara uyum sağlayarak hayatta kalmasında rol alır.⁵Bütün bu işlevlerinden dolayı, temelkoşullarda ve stres koşulları altında otofaji yollarının nasıl çalıştığına anlaşılması, hem hücre ve organizmal fizyoloji, hem de hastalık biyolojisi açısından önemlidir. Otofaji işlevlerindeki en küçük anormallik, nörodejeneratif hastalıklar, metabolik hastalıklar, enfeksiyonlar ve daha pekçok hastalığın gelişim ve seyrini etkileyebilmektedir.Mitokondrilerin hücreler, ve özellikle sinir hücrelerinin sağlığı açısından çok büyük önem taşıması ve hasarlı mitokondrilerin ana yıkım yolağının mitokondriyal otofaji olması nedeniyle, otofaji nörodejeneratif hastalıklar açısından çok farklı bir yere sahiptir.

Bu derlemede, öncelikle otofaji yollarının temel özelliklerini açıklayacak, bu yolların moleküler bileşenlerini tanıttık ve ardından otofaji yolağının nörodejeneratif hastalık gelişimi üzerindeki etkilerini tartışacağız.

OTOFAJİ YOLAĞI

Memeli hücrelerinde protein yıkımından sorumlu olan iki ana sistem bulunmaktadır: İlk sistem olan

übikitin-proteozom sisteminde, hücre içindeki kısa ömürlü ve çözünür halde bulunan proteinler, E1, E2 ve E3 enzimlerinin sıralı işlemleri sonrasında übikitin adı verilen küçük protein zincirleri ile işaretlenir ve yıkım için proteozoma gönderilirler.⁶ İkinci sistem olan otofaji ise, uzun ömürlü proteinler, yanlış katlanmış ya da mutasyon sonucu birikim oluşturmuş proteinler, bakteri, virüs gibi patojenler ve hatta hasarlı organellerin (mitokondri, endoplazmik retikulum, peroksizom vb.) lizozom bağlantılı yıkımını sağlayan ana mekanizmadır. Otofaji sırasında, sitoplazmada yıkıma uğrayacak içerik, kesecikler aracılığı ile lizozoma taşınır ve yıkım işlemi lizozom içindeki hidrolazlar tarafından gerçekleştirilir.

Günümüze memelilerde makrotofaji, şaperon aracılı otofaji ve mikrotofaji olmak üzere üç farklı tip otofaji yolağı tanımlanmıştır.⁷ Makrotofaji üzerinde en çok çalışılmış ve dolayısıyla moleküler ayrıntıların fazla aydınlatılmış otofaji çeşitidir. Yolak, sitoplazmanın yıkıma uğrayacak kısmının ya da hedeflerin otofagozom veya otofajik kesecik olarak adlandırılan çift zarlı yapılar tarafından çevrelenmesi ile başlar. Otofajik hedef lizozoma ulaştırılır, otofagozomun dış zarı ile lizozom zarı birleşerek otolizozom yapısını oluşturur. Lizozom içerisinde bulunan hidrolazlar, otolizozom içindeki kargoyu yapı taşlarına ayırırlar ve sitoplazmaya geri dönüşümünü gerçekleştirirler.⁸ Makrotofaji yakın geçmişe kadar seçici olmayan, toplu yıkım mekanizması olarak bilinirken, şimdilerde seçici türlerinin varlığı da kanıtlanmıştır.⁹ Seçici olmayan otofaji genellikle açlık, büyüme faktörü eksikliği ve hipoksi gibi stres koşullarında uyarılırken, seçici otofaji ise daha çok hasarlı organellerin ve hücre parazitlerinin tespit edilip yok edilmesinden sorumludur. Mitofaji olarak bilinen ve mitokondrilerin yıkımından sorumlu olan özel otofaji şekli ise en çok çalışılmış seçici türdür. Diğer bazı organellerin (peroksifaji, ribofaji, ERfaji), yağ damlacıklarının (lipofaji), patojenlerin (ksenofaji) ve protein agregatlarının (agrefaji) seçici olarak otofaji tarafından yıkıma uğratıldığı da kanıtlanmıştır.¹⁰⁻¹³ P62/SQSTM1, NDP52, NBR1, BNIP3L ve OPTN gibi proteinler, hücre içindeki hasarlı organelleri sağlıklı olanlardan ayrılıp, otofagozom tarafından tanın-

masında otofaji almaçları (reseptör) olarak rol alırlar.⁹

Bazı proteinlerin seçici yıkımından sorumlu olan şaperon aracılı otofajide ise, KFERQ (Lizin-Fenilalanin-Glutamat-Arjinin-Glutamin) motifine sahip okside olmuş veya yanlış katlanmış proteinlerin, HSC70 içeren şaperon kompleksi ve onun yardımcı şaperonları ile sindirilmek üzere lizozoma doğrudan taşınmaları söz konusudur. Şaperonların aracılık ettiği bu mekanizmada lizozom zarı üzerinde konumlanmış LAMP-2A proteininin rol oynadığı bilinmektedir.¹⁴ Mikrootofaji ise sitoplazmadaki moleküllerin lizozom üzerinde bulunan küçük kesecikler tarafından doğrudan çevrelenip sindirilmesi olarak tanımlanır.¹⁵

Makrootofaji (buradan sonra otofaji olarak kısaltılacaktır) seçici ve seçici olmayan türlerinde değişiklik göstermek üzere; açlık, hipoksi, patojenler veya organellerde oluşan hasarlar gibi birçok etkenin varlığıyla uyarılabilir.¹⁻⁴ Tüm bu koşullar altında, 30'dan fazla otofaji proteini, aşağıda daha detaylı bir şekilde özetlenecek farklı moleküler basamaklar sayesinde hedeflerin yıkımını sağlar.¹

OTOFAGOZOM ÇEKİRDEKLENMESİ

Otofagozom zarının kökeni konusunda kesin bir yargı olmamakla birlikte, çeşitli araştırmacılar tarafından mitokondri, ER, Golgi cisimi veya hücre zarından türeyebileceği gösterilmiştir.¹⁶ Birçok çalışma otofajik zarların öncelikli olarak endoplazmik retikulumdan köken aldığını öne sürmektedir. Açlık durumunda ER zarı üzerinde fosfatidilinositol 3-fosfat (PtdIns3P) birikiminin, morfolojik özelliklerinden dolayı "omegazom" olarak adlandırılan yapılaraya yol açtığı ve otofagozom oluşumunda önemli olduğu gösterilmiştir.¹⁷ Golgi, plazma zarı ve endoplazmik retikulumun otofagozomun köken aldığı kaynağı olma fikirlerine ek olarak, giderek artmakta olan çalışmalara göre mitokondri ve hatta mitokondri-ER iletişim bölgelerinin otofagozom oluşumu ve olgunlaşmasında kritik bir öneme sahip oldukları gösterilmiştir.^{18,19}

Hücre içerisindeki metabolik yarımlardan sorumlu temel yolağı yöneten mTORC1 protein öbeği, mTOR adı verilen bir protein kinaz ve

bunun düzenleyicilerinden oluşmaktadır. Bu yolak hücre içi ortamda yeterli miktarda besin bulunduğu, ULK1 ve ATG13 proteinlerini fosforilleyerek otofajik yıkımın başlamasını engeller. Besin miktarının yetersiz olduğu veya hipoksi koşullarında, mTOR kinaz baskılanır ve ULK1/2 proteinleri fosforlarını kaybederler, otofaji yanıtının başlatılmasına izin çıkmıştır. Aktif ULK1/2 protein öbeği (ULK1/2-ATG13-FIP200-ATG101) otofagozom çekirdeklenme bölgesine konumlanır.²⁰

PIK3C3/hVPS34, BECN1 (mayada Atg6) ve PIK3R4/p150 proteinlerinden oluşan diğer önemli otofaji öbeği ise VPS34PI3K kinaz yanında, düzenleyici Beclin1 (BECN1) proteinini içermektedir. Memeli hücrelerinde bu kompleksi oluşturan bileşenler, ATG14L ile birleşerek otofajik zar oluşumunda rol alırken, UVRAG proteini içeren öbek otofagozom olgunlaşmasında görev alır.²¹ PI3K protein öbeği, otofajinin uyarım sürecinde otofagozom zarının başlayacağı bölgelerin belirlenmesinden sorumludur. Otofaji bağlantılı PI3P yağı moleküllerinin otofagozom başlangıç yerlerinde birikmeleri önemlidir. Biriken bu PI3P kümeleri, otofajinin ilerlemesinde görev alan ve FYVE (Fenilalanin-Tirozin-Valin-Glutamat) motifine veya WIPI/Atg18 proteininde olduğu gibi PH (Prolin-Histidin) alt birimine sahip otofaji proteinlerine bağlanır ve onların endoplazmik retikulumun dış zarına yönlendirilmesini sağlar. Bu önemli görevinden dolayı VPS34-Beclin1 (BECN1) protein öbeğinin uyarımı hücre içerisinde sıkı bir kontrole tabidir. Rubicon ve anti-apoptotik BCL2 proteinleri öbeğin aktivitesini baskılayıcı yönde rol oynarken, AMBRA1, UVRAG ve BIF1 proteinlerinin VPS34-Beclin1 öbek aktivitesinin düzenlenmesine yardımcı olur.²²

OTOFAGOZOM ZARININ UZAMASI VE KAPANMASI

Otofagozom zarının uzamasında übikitin-benzeri hücre içi iki farklı moleküler sistem rol alır. Bunlar, ATG5-ATG12 ve MAP1LC3 (mayada Atg8 ve kısaca memelide LC3) bağlama sistemleri olarak bilinirler.^{23,24} İlk übikitin-benzeri sistemde ATG12, ATG7 (E1 benzeri protein) ve sonrasında ATG10 (E2 benzeri protein) proteini vasıtasıyla taşınarak ATG5 proteinine kovalent bağlar yardımıyla bağlanır.²⁴ Daha sonra ATG5-ATG12 protein kümesi

ATG16 (memelilerde ATG16L1) ile birleşerek daha büyük moleküler ağırlıkta bir öbek oluşturarak otofagozom zarı üzerinde konumlanır ve zarın uzayıp kapanması ardından zardan ayrılır.^{25,26}

Diğer übikitin-benzeri sistemde ise, sentezi tamamlandıktan sonra LC3 proteini sitoplazmada ATG4 proteini tarafından C-ucundaki Glisin amino asiti serbest kalacak şekilde enzimatik kesime uğrar ve sitoplazmada serbest halde kalır. LC3-I olarak adlandırılan bu protein daha sonra ATG7 (E1-benzeri protein) tarafından aktive edilerek, ATG3 (E2-benzeri protein) proteini ve ATG5-ATG12-ATG16 öbeği (E3-benzeri öbek) yardımıyla, fosfatidiletanolamin (FE) adlı yağ molekülüne kovalent bağlarla bağlanır. LC3 proteininin yağa bağlı bu hali LC3-II olarak adlandırılır. LC3-II otofagozomlar üzerinde konumlanır.²⁷ Sitoplazmik LC3 proteini LC3-I'ni otofagozoma bağlı LC3-II'ye dönüşümü, proteinin moleküler ağırlığını değiştirir. LC3-II'ye dönüşüm proteininin otofagozomlarda birikmesine ve otofaji uyarımına işaret ettiğinden dolayı, bu olay bir otofaji belirteci olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.

LC3 proteininin yağa bağlanması, otofajik kesik zarının uzaması ve kapanması için gerekli bir aşama olmasının yanı sıra, otofajik hedeflerin seçici bir şekilde belirlenmesinde de etkin rol oynar. Örneğin otofagozom ikili zar sisteminin iç kısmında konumlanmış LC3 proteinleri p62/SQSTM1, NBR1, OPTN, NIX ve NDP52 gibi seçici otofaji almaçları ile bu almaçların LIR alt bölgelerine (LC3 interacting region, LC3 bağlanma bölgesi) bağlanarak sindirime uğrayacak hedeflerin, organellerin, protein yada parazitlerin otofajik zar tarafından seçici bir şekilde çevrelenmesini sağlarlar.^{28,30}

OTOFAGOZOMUN LİZOM İLE BİRLEŞMESİ VE İÇERİĞİN SİNDİRİMİ

Sindirime uğrayacak sitoplazmik içeriğin (örneğin hasarlı organeller, yanlış katlanmış veya birikime uğramış uzun ömürlü proteinler) yapı taşlarına geri dönüştürülmesi, hücrenin zor koşullarda ihtiyaç duyduğu besin ve enerjiyi sağlayarak bu koşullara uyumunu hızlandıracaktır. Bu nedendir ki geri dönüşüm, yıkıcı enzimlerin kaynağı olan lizozom ile otofagozomların birleşmesini gerektirmektedir.

Bu birleşme, küçük GTPazlar (RAB proteinleri) ve V-ATPazlar ile lizozomal zar proteinleri (LAMP ve SNARE proteinleri) gibi pek çok proteinin işbirliği gerekmektedir.^{31,32} Bunlara ek olarak, ATG proteinleri ve hücre iskelet temel bileşenleri arasındaki ilişki, mikrotübüller üzerindeki otofagozomların lizozomlara yönlendirilmesini sağlayan önemli bir etkidir.³³

Lizozom ile otofagozom birleşmesinin ardından otofagozom içeriği, lipazlar, katepsin proteazlar ve diğer hidrolitik enzimler tarafından yapı taşlarına ayrılır. Parçalanan bileşenler ve yapı taşları (nükleik asitler, amino asitler, yağ asitleri ve şekerler gibi) biyolojik moleküllerin yeniden sentezlenmesinde kullanılmak amacıyla sitoplazmaya geri salınırlar.

SEÇİCİ BİR OTOFAJİ MEKANİZMASI OLARAK; MİTOFAJİ

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, mitokondri sağlığının, hücrenin enerji üretimi ve hücre ölümündeki rolüne ek olarak, yaşlanma, Alzheimer, Parkinson ve Huntington gibi hastalıklarla da ilişkili olduğuna işaret etmektedir. Bu sebepten dolayı mitokondri otofajisini daha iyi anlamak, nörodegeneratif hastalıkların arkasında yatan nedenlerin anlaşılması ve tedaviye yönelik çalışmaların başlatılması açısından önemli olabilir.³⁴

Memelilerde mitokondrilerin yıkılarak geri dönüşümü, hücrenin metabolik ihtiyacına göre mitokondri miktarının ayarlanması için gereklidir. Özellikle mayalarda keşfedilen mitofaji mekanizması, memelilerde de retikülositlerin olgunlaşma ve farklılaşması sırasında mitokondrilerinin otofaji tarafından yıkılarak olgun kırmızı kan hücrelerine dönüşümünde önemli olduğu bulunmuştur. Olgunlaşma sürecinde, retikülositlerdeki mitokondrilerin dış zarında bulunan NIX proteininin (BH3 alt bölgesi olan BCL-2 ilişkili bir protein) retikülositlerde görülen mitofaji için gerekli olduğu gösterilmiştir.³⁵ NIX proteini, sitoplazmik E3-übikitin ligaz olan PARKIN proteininin mitokondrilere yönlendirilerek yıkım için işaretlenmesi sonrası übikitinlenmiş proteinlere ve LC3 proteinine doğrudan bağlanarak, retikülosit mitokondrilerinin otofagozom tarafından çevrelenmesini ve yıkılmasını sağlar.^{35,36}

Daha sonraları mitofajinin NIX proteininden bağımsız olarak kalp kası hücreleri, fibroblast hücreleri ve sinir hücrelerinde mitokondri dengesini sağladığı anlaşılmıştır. Birbirinden bağımsız araştırmacılar, mutasyonları ailesel Parkinson hastalığı ile ilişkilendirilmiş olan PINK1 (PARK6) ve PARKIN (PARK2) genlerinin işlevini kaybeden, hasarlı mitokondrielerde biriktiğini göstermiştir. Bu proteinler, übikitilasyon ve fosforilasyon gibi posttranslasyonel değişikliklerle mitokondrieleri yıkım için işaretlemekte, otofagozom membranı tarafından seçici olarak çevrenmesinde rol oynamaktadırlar.^{37,38}

PINK1, çekirdek DNA'sı tarafından kodlanan ve mitokondriye sonradan göçen birserin/treonin kinazdır. Normal koşullarda sitoplazmada sentez sonrası, mitokondri dış ve iç zar taşıyıcıları yardımıyla (TOM40 ve TIM23) mitokondri içerisine girer. Proteinin amino ucu, mitokondrilerdeki proteazlarca (MPP ve PARL) kesime uğrayarak kararsız hale gelir ve sitoplazmaya geri salınır. Kararsızlığa neden olan amino ucu fenilalanin, sitoplazmadaki E3-übikitin ligazlarca (UBR1, UBR2 ve UBR4) tanınarak işaretlenir ve protein proteazomlar tarafından yıkıma uğratılır.³⁹ Mitokondrielerde herhangi bir nedenle hasar olması sonrası, mitokondri zar potansiyeli ($\Delta\psi_m$) bozulur ve PINK1 proteini mitokondri zar taşıyıcılarından geçemez. Bu durumda PINK1 mitokondri dış zarında birikerek, normalde sitoplazmada serbest halde olan ve bir E3-übikitin ligaz olan PARKIN proteinini mitokondriye yönlendirir. PINK1 PARKIN'i fosforilleyerek aktifleştirir.⁴⁰ Aktif PARKIN, mitokondri dış zarında bulunan proteinleri (MFN1/2, TOM40, VDAC vb.) übikitin ile işaretler. Übikitinlenmiş proteinlerin bir kısmı proteazom tarafından tanınarak yıkılır. Übikitinlenmiş bazı proteinler ise, seçici otofaji almaçlarına (OPTN, NDP52 ve TBK1) bağlanır. Almaçlar, LC3 proteinine de bağlanırlar ve LC3 işaretli otofajik zarların hasarlı mitokondrielerin çevrenmesini ve yıkımı sağlarlar.⁴¹⁻⁴³

SİNİR HÜCRELERİNDE OTOFAJİ

Yanlış katlanmış proteinlerin oluşturduğu hücre içi protein birikimleri pek çok nörodejeneratif hasta-

lığın ortak özelliğidir. Bu birikimler ve çökeltiler hastalığın özelliğine bağlı olarak farklı proteinlerden oluşabilir ve farklı sinir hücretiplerinde ve farklı hücre içi organellerde görülebilirler. Bazı durumlarda birikim oluşmasını tek bir nokta mutasyon belirlerken, diğer durumlarda, bazı amino asit tekrarları ya da polimerizasyona yatkınlığa neden olan üç boyutlu yapılar (örn. beta plakları) çökme nedeni olabilir. Bu değişiklikler ilgili proteini değil, sinir hücreleri içindeki birçok yolağı da doğrudan etkiler, sinaps kaybı ve hücre ölümüne yol açabilen hücre anormalliklere neden olur. Son zamanlarda yapılan pek çok çalışma ile anlaşılmıştır ki, otofaji yollarında oluşabilecek en ufak bir aksama bilesinir hücrelerinde değişimlere neden olabilir.⁴⁴

Otofaji ve sinir sistemi ile ilgili çalışmalar, temel otofaji proteinleri ATG5 ve ATG7'nin sinir hücrelerinde silindiği farelerde nörodejenerasyon görülmesinin hızlanmıştır.^{45,46} Örneğin, otofajinin aksonal iç dengenin sağlanmasından sorumlu olduğu ve otofajideki aksamaların akson dejenerasyonuna neden olduğu görülmüştür.⁴⁷ Otofaji ayrıca nörodejeneratif hastalıklara neden olan hücre içi agregat oluşumuna meyilli proteinlerin (Parkinson hastalığında; mutant alfa sinükleinler, Huntington hastalığında; çoklu glutamin uzantılı huntington, Amyotrofik Lateral Sklerozda; mutant TDP-43 ve pek çok demansta; normal ve mutant tau) seviyesinin düzenlenmesinden sorumludur.⁴⁸ Bu sebepten otofaji yolları biriken proteinleri temizleyemez hale geldiğinde, nörodejeneratif hastalık oluşum ve ilerlemesine.

Otofaji mekanizması, diğer sinyal yolları ve protein kümeleri tarafından sıkıca kontrol edilir ve organizmanın kaliteli ve uzun bir yaşam sürmesini destekleyici olarak işlevini gerçekleştirir. Moleküler analizler sonucunda anlaşılmıştır ki, makrotofaji ve şaperon aracılıklı olmak üzere iki tür otofaji yaşlanma ve nörodejenerasyonla doğrudan ilişkilidir. Biz bu derlemenin devamında seçici olmayan genel otofaji ve mitokondrielerin seçici olarak yıkımı olarak adlandırılan mitofajinin nörodejeneratif hastalıklarla ilişkisine yoğunlaşırken otofajik bozuklukların nasıl nörodejeneratif hastalıkların patolojisine katkı sağladığını listelendireceğiz.

ALZHEİMER HASTALIĞI

Alzheimer Hastalığı bilişsel bozukluk, hafıza kaybı ve bunama ile ilerleyen nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalıklı beyin dokularında amiloid beta öncül (precursor) proteinlerinden köken alan beta amiloid plakları ve hücre içi nörofibriler yumakların birikimi gözlenmektedir. Amiloid plaklar, amiloid öncül proteinin anormal işleme ve aşırı üretiminden dolayı birikir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, hücre içi anormal protein temizleme temel yollarındaki (übikitin proteazom sistemi ve otofaji) aksaklıkların, hastalık oluşum ve ilerlemesine katkıda bulunduğuna işaret etmektedir.⁴⁹

Amiloid prekürsör proteinlerinin (APP) sırasıyla BACE1 ve gama-sekretaz enzimleri tarafından proteolitik kesimi sonucunda beta amiloid peptidleri oluşur. BACE1 tarafından proteolitik kesime uğrayan APP, çözünür beta amiloid prekürsör proteini (beta sAPP) ve C-ucu parçası (B-CTF) adı verilen parçalara ayrılır. B-CTF gama-sekretaz tarafından bir kesime daha uğrayarak amiloid beta parçalarından, amiloid beta-40 veya amiloid beta-42'yi oluştururlar. Yeni oluşan bu amiloid beta parçalarından amiloid beta-40 sinaps oluşumunda rol alırken, amiloid beta-42 patolojik özellik gösteren birikim oluşturmaya meyilli olan parçadır.⁵⁰ BACE1 ve gama-sekretaz kesimlerinin yanısıra, amiloid beta parçalarını kesebilen diğer enzimler olan alfa-sekretazlar amiloid plak oluşumu engelleyebilir.⁵⁰ Alfa-sekretaz aktivitesi ADAM proteinlerine (ADAM9, ADAM10, ADAM17) bağlıdır, gama-sekretaz aktivitesi ise Presenilin 1 ve 2 proteinleri tarafından sağlanır.

Yukarıda açıklanan anormallikler yanında, hasta sinir hücrelerinde otofagozom birikimi de, Alzheimer Hastalığı'nda otofaji mekanizmasının önemini gösteren ilk bulgulardır.⁵¹ Presenilin1 proteini gama-sekretaz aktivitesine ek olarak, lizozomal H⁺-ATPazın V₀a₁ alt biriminin (v-ATPase) N-ucundan glikozillenmesinde ve lizozoma yönlendirilmesinde rol alarak lizozom asidifikasyonunu etkiler.⁵² Presenilin1 ve 2 gen mutasyonları, amiloid plak oluşumuna, sinir hücresi ölümüne ve lizozomal patolojiye katkı sağlayarak ailesel dominant Alzheimer hastalığına neden olur.⁵³ Asidifikasyonun sağlanamamasından dolayı lizozomlar

otofagozomlarla birleşemez ve sonuç olarak hücrelerde işlevini yerine getiremeyen otofagozomlar birikmeye başlar. Bu durumda sadece anormal protein birikimlerinin temizlenememesi söz konusu değildir; etkilenen hücrelerde otofajinin fizyolojik görevlerinde (stress yanıtı, uzun ömürlü protein geri çevirimi, bozuk mitokondri temizlenmesi vb) de ciddi aksamalar görülür.

Hiperfosforillenmiş Tau proteinleri hücre içinde birikimler oluşturma yanında, nöronlarda mikrotübül kararsızlığınaneden olarak Alzheimer hastalığı oluşumuna katkı sağlarlar. Kesecikli taşımadaki anormallikler ve hiperfosforillenmiş tau proteinlerinin mikrotübül yapısındaki kararlılığı bozması, Alzheimer hastalığında sırasında, mitokondriler ve nörotransmitter içeren kesecikler dahil, birçok organelin taşınmasını sekteye uğratır.⁵⁴

Bazı çalışmalarda, hasarlı protein birikimi, organel taşınmasındaki sorunlar, hasarlı mitokondriler ve yüksek ROS seviyesinin, sinir hücre işlevlerini bozarak toksik otofagozom birikimini artırdığı gösterilmiştir. Aslında, otofaji işlevinin korunmasının, Tau ve amiloid beta proteinlerinin oluşturdukları patolojik birikimlerin otofaji tarafından yıkılmasını sağlayabileceği önerilmiştir.⁵⁵ Örneğin, ATG7 geninin farelerin ön beyinlerinde susturulması sonrası otofaji baskılanmasının, fosforillenmiş Tau proteini birikmesine neden olduğu gösterilmiştir.⁵⁶

Otofaji, Tau ve amiloid beta protein birikimlerinin yıkımında rol alabilir, fakat otofagozomların amiloid beta oluşumuna katkıda bulunduğuna dair veriler de mevcuttur.⁵⁷ Alzheimer hastalığı görülen sinir hücrelerinde biriken otofagozomların APP ve Presenilin1 içerdiği ve otofajinin amiloid beta salgılanmasında ve plak oluşturmada rol aldığı önerilmiştir.^{57,58} Ayrıca, otofajiyi kontrol eden Beclin 1 proteinini kodlayan *BECN1*mRNA seviyesinin Alzheimer hastalıklı beyinlerde azaldığı gösterilmiştir.⁵⁹ Hasarlı sinir hücrelerinde aktive olan kaspaz 3'ün Beclin1 proteinini parçalaması sonucu otofagozom oluşmasının dasekteye uğrayabileceğine dair veriler vardır.⁵⁹

Sonuç olarak, otofajinin Alzheimer hastalığındaki rolü oldukça karmaşıktır ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Fakat ortaya çıkan resimde,

otofajinin protein birikimlerinden koruyucu etkileri yanında, anormal düzeyde otofajik kesecik birikiminin otofaji işlevlerini bozması ve sinir hücreleri için toksik olmasının da, Alzheimer Hastalığı ilerlemesine katkıda bulunduğu anlaşılmaktadır.

PARKİNSON HASTALIĞI

Parkinson Hastalığı, Substantia Nigra'da bulunan dopaminerjik sinir hücrelerinin kaybı sonucu gelişen, nörodejeneratif bir hastalıktır. Parkinson Hastalığı da ilerleyici nörodejenerasyon gözlenen bir sağlık sorunudur. Ailesel ve sporadik formları mevcuttur. Parkinson Hastalığı, bradikinezi, titreme ve kas katılığı gibi semptomlar ortaya çıkarır.⁶⁰ Hastalık, sinir hücrelerinde mutant alfa-sinüklein proteinleri ifadesi ve bunların bir araya gelip birikiminin katkıda bulunduğu Lewy cisimcikleri oluşumu ile seyredir.⁶¹

Meyve sineği ve farelerde yapılan çalışmalarda, hücre içinde artan alfa-sinüklein seviyesinin, otofagozom oluşumunda anahtar role sahip ATG9 proteininin yanlış konumlanmasına neden olduğu ve bunun sonucu olarak otofajik aktiviteyi azalttığı gözlemlenmiştir.⁶² ATG9'un yanlış konumlanması da dahil olmak üzere benzer etkiler VPS35^{D620N} mutasyonu görülen hücrelerde otofaji hasarı otozomal dominant Parkinson hastalığına neden olur.⁶³

Ailesel Parkinson Hastalığı, birçoğu otofaji ile alakalı olduğu belirlenen proteinlerdeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Örneğin, Ailesel Parkinson Hastalığı'nda mutasyonu belirlenen LRRK2 (PARK8) proteininin, otofaji üzerine etkileri incelenmiştir. LRRK2'nin susturulması, otofajide artışa neden olabilmektedir. Öte yandan, LRRK2 proteininin ve bazı mutant formlarının AMPK aracılığı ile otofajiyi uyurabildiği rapor edilmiştir.^{64,65} Otofaji ve Parkinson hastalığı arasındaki belki de en belirgin ilişki, PINK1 (PINK1) ve PARKIN (PARKIN) proteinlerinin mitokondri otofajisi (mitofaji) yollarındaki rollerinin anlaşılması sonucu ortaya çıkmıştır.³⁸⁻⁴¹ Bir E3 ubiquitin ligaz proteini olan PARKIN, hasarlı mitokondrilerin ortadan kaldırılması sırasında, mitokondrileri yıkım için işaretlemektedir ve hastalığa neden olan mutasyonlar bu işlevi bozmaktadır. Ayrıca PARKIN proteininin

yüksek oranda ifade edilmesi alfa-sinüklein kümelerinin otofaji tarafından yıkımında da rol oynar.⁶⁶ PARK6 ve PARK2 genlerinde protein işlev kaybına neden olan mutasyonlar, ailesel Parkinson Hastalığı yanında, sporadik Parkinson Hastalığı oluşumuna da neden olmaktadır. Sporadik Parkinson Hastaları'ndan alınan örneklerde de otofaji anormalliklerinin görülmesi, otofajinin genel olarak Parkinson Hastalığı patolojisi ile ilgili olduğu tezini güçlendirmektedir.

HUNTINGTON HASTALIĞI

Huntington hastalığı, Huntingtin (Htt) proteinindeki çoklu glutamin (poly-Q) tekrarlarının anormal uzunlukta bulunmasından dolayı, yanlış katlanması ve birikimler oluşturması sonucu gelişen nörodejeneratif bir hastalıktır.⁶⁷ Hastalıkta, beyin striatum ve ilişkili bölgelerdeki sinir hücrelerinin dejenerasyonu sonucu bunama, hareket bozukluğu (Huntington koresi) ve bilişsel bozukluklar gibi semptomlar ortaya çıkar.

Normal Htt 35'ten az poly-Q tekrarı içerir. Normal Htt hücrelerde kesecikli taşıma, sinaps ve sinir sinyali ile ilgili işlevler derol alır. Fakat N-ucunda 36'dan fazla poly-Q tekrarı bulunduran Htt aleli hastalığa neden olmaktadır. Hücre içinde çözünür durumda olan anormal Htt proteinleri, proteazom sistemi tarafından sindirilebilmektedir. Fakat mutant proteinlerin bir kısmı, hücre sitoplazmasında proteazomlar tarafından temizlenemeyen protein birikimleri oluşturmaktadır. Özellikle Htt N-ucu kısa parçaları, ubiquitillenmiş inklüzyonlar şeklinde sitoplazmada birikebilmektedir. Bu birikimler otofajiyi uyarmaktadır.⁶⁸

Huntington hasta beyinleri ve deneysel fare modellerinde yapılan çalışmalarda, otofagozomlarda artış gözlenmiştir.^{69,70} Yapılan pek çok çalışmaya göre, Huntington Hastalığı'nda otofaji, inklüzyon oluşturan mutant protein kümelerini temizleyici bir mekanizma olarak rol almaktadır. Öte yandan, otofajinin baskılanmasının hücrelerin hayatta kalma süresini kısalttığı gözlenmiştir.⁷¹ Bu bulguları destekleyici bir şekilde, hastalığın fare modellerinde otofaji düzenleyicilerinden olan mTOR proteininin, Htt agregatları içinde yıkıma uğradığı gözlenmiştir; ve bu bulgu Huntington hastalarının

daki artan otofaji bulgularıyla paralellik göstermektedir.⁷² Ayrıca benzer koşullar altında Beclin 1 seviyesinde bir azalma gözlenebilmektedir, yani otofaji aleyhtarı mekanizmalar hastalık oluşumuna katkıda bulunabilmektedir.⁷³ Mutant Htt protein kümelerinin otofaji tarafından yıkılması, bu mutant kümelelerin translyasyon sonrasında Lizin-444 pozisyonundan asetillenmesiyle ilişkilendirilmektedir.⁷⁴ Ayrıca, iki önemli otofaji düzenleyici proteinin, Rab5 ve Rhes proteinlerinin, Htt proteinlerine bağlanabilmektedir.^{75,76} Bütün bu sonuçlar, otofaji kontrol mekanizmalarının Huntington Hastalığı gelişiminde doğrudan etkileyebileceğine işaret etmektedir.

SONUÇ

Bu derlemede adı geçen çalışmalar, otofaji yolak işlev ve bozukluklarının nörodejeneratif hastalıklar oluşum ve gelişimi ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Otofaji, nörodejeneratif hastalıklara neden olan mutant protein kümelerini yıkabilmekte, protein toksisitesini ve oksidatif stresi azaltıp hücrenin yaşam süresini uzatabilmektedir. Fakat otofaji yolaklarındaki aksaklıklar hastalık oluşum ve/veya ilerlemesine ciddi katkılar sağlayabilmektedir. Nörodejeneratif hastalıklar sırasında görülen otofaji anormalliklerine örnek olarak, otofaji proteinlerinin ve işlevlerinin hastalık koşullarında baskılanması, otofagozom lizozom birleşiminin engellenmesi, mitofaji bozuklukları ve anormallikleri ve sonuç olarak bozuk mitokondriler ve

işlevsiz otofagozomların birikimi verilebilir. Bu koşullar altında otofaji uyarımı, hastalığın ilerleyip kötüleşmesine sebep olur. Ek olarak, otofaji işlev bozuklukları yaşlanma ile birlikte artmakta ve çoğu orta ve ileri yaş hastalığı olan nörodejeneratif hastalıklara zemin hazırlamaktadır.

Sonuç olarak, her geçen gün otofajinin nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki etkisi üzerine edindiğimiz bilgiler katlanarak artıyor. Nörodejeneratif hastalıkların tedavisine yönelik çalışmalarda, otofajinin bir ilaç hedefi olarak ele alınması gündeme geldiğinde, otofaji etkilerinin hastalık özelinde düşünülmesi ve stratejilerin bu şekilde belirlenmesi yerinde olacaktır. Ayrıca temel otofaji yollarının nasıl işlediğine dair çalışmalar da hastalık özelinde tedavi edici özelliği artırıcı moleküllerin ortaya çıkarılmasını sağlayabilir. Otofaji alanındaki ilerlemeler, sağlık araştırmalarında temel bilim ile klinik araştırmaların birlikte ve karşılıklı iletişim içinde gerçekleştirilmesi gerekliliğini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma 114Z241 numaralı TÜBİTAK 1001 projesi ve Sabancı Üniversitesi tarafından desteklenmektedir. D.G. EMBO-SDIG, TÜBA-GEBİP, Prof. Önder Öztunalı Bilim Ödülü, Sedat Simavi Sağlık Bilimleri Büyük Ödülü ve Elginkan Vakfı Teknoloji Ödülü'nelayık görülmüştür. N.M.K 'nın doktora çalışmaları TÜBİTAK-BİDEB 2211-A tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2011;27:107-32.
- Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nat Cell Biol* 2010;12(9): 814-22.
- Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008;451(7182):1069-75.
- Mizushima N. The pleiotropic role of autophagy: from protein metabolism to bactericide. *Cell Death Differ* 2005;12(2):1535-41.
- Singh R, Cuervo AM. Autophagy in the cellular energetic balance. *Cell Metab* 2011;13(5): 495-504.
- Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem* 1998;67:425-79.
- Klionsky DJ, Schulman BA. Dynamic regulation of macroautophagy by distinctive ubiquitin-like proteins. *Nat Struct Mol Biol* 2014; 21(4):336-45.
- Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8(11): 931-7.
- Shaid S, Brandts CH, Serve H, Dikic I. Ubiquitination and selective autophagy. *Cell Death Differ* 2013;20(1):21-30.
- Cebollero E, Reggiori F, Kraft C. Reticulophagy and ribophagy: regulated degradation of protein production factories. *Int J Cell Biol* 2012;2012:182834.
- Bernales S, Schuck S, Walter P. ER-phagy: selective autophagy of the endoplasmic reticulum. *Autophagy* 2007;3(3):285-7.
- Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, ve ark. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 2009;458(7242): 1131-5.
- Kudchodkar SB, Levine B. Viruses and autophagy. *Rev Med Virol* 2009;19(6):359-78.
- Massey AC, Zhang C, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy in aging and disease. *Curr Top Dev Biol* 2006;73:205-35.

15. Uttenweiler A, Schwarz H, Mayer A. Microautophagic vacuole invagination requires calmodulin in a Ca²⁺-independent function. *J Biol Chem* 2005;280(39):33289-97.
16. Mari M, Tooze SA, Reggiori F. The puzzling origin of the autophagosomal membrane. *F1000 Biol Rep* 2011;3:25.
17. Axe EL, Walker SA, Manifava M, Chandra P, Roderick HL, Habermann A, et al. Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol* 2008;182(4):685-701.
18. Hailey DW, Rambold AS, Satpute-Krishnan P, Mitra K, Sougrat R, Kim PK, et al. Mitochondria supply membranes for autophagosome biogenesis during starvation. *Cell* 2010;141(4):656-67.
19. Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, Nezu A, Yamamoto A, Fujita N, et al. Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature* 2013;495(7441):389-93.
20. Matsunaga K, Morita E, Saitoh T, Akira S, Kistakis NT, Izumi T, et al. Autophagy requires endoplasmic reticulum targeting of the PI3-kinase complex via Atg14L. *J Cell Biol* 2010;190(4):511-21.
21. Itakura E, Kishi C, Inoue K, Mizushima N. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol Biol Cell* 2008;19(12):5360-72.
22. Funderburk SF, Wang QJ, Yue Z. The Beclin 1-VPS34 complex-at the crossroads of autophagy and beyond. *Trends Cell Biol* 2010;20(6):355-62.
23. Kirisako T, Ichimura Y, Okada H, Kabeya Y, Mizushima N, Yoshimori T, et al. 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(2):263-76.
24. Mizushima N, Yamamoto A, Hatano M, Kobayashi Y, Kabeya Y, Suzuki K, et al. Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J Cell Biol* 2001;152(4):657-68.
25. Fujita N, Itoh T, Omori H, Fukuda M, Noda T, Yoshimori T. The Atg16L complex specifies the site of LC3 lipidation for membrane biogenesis in autophagy. *Mol Biol Cell* 2008;19(5):2092-100.
26. Itakura E, Mizushima N. Characterization of autophagosome formation site by a hierarchical analysis of mammalian Atg proteins. *Autophagy* 2010;6(6):764-76.
27. Satoo K, Noda NN, Kumeta H, Fujioka Y, Mizushima N, Ohsumi, et al. The structure of Atg4B-LC3 complex reveals the mechanism of LC3 processing and delipidation during autophagy. *EMBO J* 2009;28(9):1341-50.
28. Kim BW, Kwon do H, Song HK. Structure biology of selective autophagy receptors. *BMB Rep* 2016;49(2):73-80.
29. Lamark T, Kirkin V, Dikic I, Johansen T. NBR1 and p62 as cargo receptors for selective autophagy of ubiquitinated targets. *Cell Cycle* 2009;8(13):1986-90.
30. Birgisdottir AB, Lamark T, Johansen T. The LIR motif-crucial for selective autophagy. *J Cell Sci* 2013;126(Pt 15):3237-47.
31. Bucci C, Thomsen P, Nicoziani P, McCarthy J, van Deurs B. Rab7: a key to lysosome biogenesis. *Mol Biol Cell* 2000;11(2):467-80.
32. Eskelinen EL, Tanaka Y, Saftig P. At the acidic edge: emerging functions for lysosomal membrane proteins. *Trends Cell Biol* 2003;13(3):137-45.
33. Jahreiss L, Menzies FM, Rubinsztein DC. The itinerary of autophagosomes: from peripheral formation to kiss-and-run fusion with lysosomes. *Traffic* 2008;9(4):574-87.
34. Narendra D, Tanaka A, Suen DF, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol* 2008;183(5):795-803.
35. Schweers RL, Zhang J, Randall MS, Loyd MR, Li W, Dorsey FC, et al. NIX is required for programmed mitochondrial clearance during reticulocyte maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(49):19500-5.
36. Ding WX, Ni HM, Li M, Liao Y, Chen X, Stolz DB, et al. Nix is critical to two distinct phases of mitophagy, reactive oxygen species-mediated autophagy induction and Parkin-ubiquitin-p62-mediated mitochondrial priming. *J Biol Chem* 2010;285(36):27879-90.
37. Wang H, Song P, Du L, Tian W, Yue W, Liu M, et al. Parkin ubiquitinates Drp1 for proteasome-dependent degradation: implication of dysregulated mitochondrial dynamics in Parkinson disease. *J Biol Chem* 2011;286(13):11649-58.
38. Yoshii SR, Kishi C, Ishihara N, Mizushima N. Parkin mediates proteasome-dependent protein degradation and rupture of the outer mitochondrial membrane. *J Biol Chem* 2011;286(22):19630-40.
39. Yamano K, Youle RJ. PINK1 is degraded through the N-end rule pathway. *Autophagy* 2013;9(11):1758-69.
40. Kane LA, Lazarou M, Fogel AI, Li Y, Yamano K, Sarraf SA, et al. PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate Parkin E3 ubiquitin ligase activity. *J Cell Biol* 2014;205(2):143-53.
41. Geisler S, Holmstrom KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, Kahle PJ, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol* 2010;12(2):119-31.
42. Gegg ME, Cooper JM, Chau KY, Rojo M, Schapira AH, Taanman JW. Mitofusin 1 and mitofusin 2 are ubiquitinated in a PINK1/parkin-dependent manner upon induction of mitophagy. *Hum Mol Genet* 2010;19(24):4861-70.
43. Lazarou M, Sliter DA, Kane LA, Sarraf SA, Wang C, Burman JL, et al. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature* 2015;524(7565):309-14.
44. Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell* 2011;146(5):682-95.
45. Rubinsztein DC, Shpilka T, Elazar Z. Mechanisms of autophagosome biogenesis. *Curr Biol* 2012;22(1):R29-34.
46. Komatsu M, Waguri S, Chiba T, Murata S, Iwata J, Tanida I, et al. Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature* 2006;441(7095):880-4.
47. Komatsu M, Wang QJ, Holstein GR, Friedrich VL, Jr., Iwata J, Kominami E, et al. Essential role for autophagy protein Atg7 in the maintenance of axonal homeostasis and the prevention of axonal degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(36):14489-94.
48. Berger Z, Ravikumar B, Menzies FM, Oroz LG, Underwood BR, Pangalos MN, et al. Rapamycin alleviates toxicity of different aggregate-prone proteins. *Hum Mol Genet* 2006;15(3):433-42.
49. Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell* 2012;148(6):1204-22.
50. Crews L, Masliah E. Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 2010;19(R1):R12-20.
51. Nixon RA, Wegiel J, Kumar A, Yu WH, Peterhoff C, Cataldo A, et al. Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease: an immuno-electron microscopy study. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64(2):113-22.
52. Sherrington R, Rogaeve EI, Liang Y, Rogaeve EA, Levesque G, Ikeda M, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995;375(6534):754-60.
53. Cataldo AM, Peterhoff CM, Schmidt SD, Terio NB, Duff K, Beard M, et al. Presenilin mutations in familial Alzheimer disease and transgenic mouse models accelerate neuronal lysosomal pathology. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63(8):821-30.
54. Alonso AC, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat Med* 1996;2(7):783-7.
55. Berger Z, Davies JE, Luo S, Pasco MY, Majouli I, O'Kane CJ, et al. Deleterious and protective properties of an aggregate-prone protein with a polyalanine expansion. *Hum Mol Genet* 2006;15(3):453-65.

56. Luna-Munoz J, Chavez-Macias L, Garcia-Sierra F, Mena R. Earliest stages of tau conformational changes are related to the appearance of a sequence of specific phospho-dependent tau epitopes in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2007;12(4):365-75.
57. Yu WH, Cuervo AM, Kumar A, Peterhoff CM, Schmidt SD, Lee JH, ve ark. Macroautophagy-a novel Beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease. *J Cell Biol* 2005;171(1):87-98.
58. Nilsson P, Loganathan K, Sekiguchi M, Matsuba Y, Hui K, Tsubuki S, ve ark. Abeta secretion and plaque formation depend on autophagy. *Cell Rep* 2013;5(1):61-9.
59. Pickford F, Masliah E, Britschgi M, Lucin K, Narasimhan R, Jaeger PA, ve ark. The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid beta accumulation in mice. *J Clin Invest* 2008;118(6):2190-9.
60. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 2003;39(6):889-909.
61. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, ve ark. alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 2003;302(5646):841.
62. Winslow AR, Chen CW, Corrochano S, Acevedo-Arozena A, Gordon DE, Peden AA, ve ark. alpha-Synuclein impairs macroautophagy: implications for Parkinson's disease. *J Cell Biol* 2010;190(6):1023-37.
63. Zavodszky E, Seaman MN, Moreau K, Jimenez-Sanchez M, Breusegem SY, Harbour ME, et al. Mutation in VPS35 associated with Parkinson's disease impairs WASH complex association and inhibits autophagy. *Nat Commun* 2014;5:3828.
64. Manzoni C, Mamais A, Dihanich S, McGoldrick P, Devine MJ, Zerle J, et al. Pathogenic Parkinson's disease mutations across the functional domains of LRRK2 alter the autophagic/lysosomal response to starvation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;441(4):862-6.
65. Gomez-Suaga P, Luzon-Toro B, Churamani D, Zhang L, Bloor-Young D, Patel S, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 regulates autophagy through a calcium-dependent pathway involving NAADP. *Hum Mol Genet* 2012;21(3):511-25.
66. Lonskaya I, Hebron ML, Algarzae NK, Desforjes N, Moussa CE. Decreased parkin solubility is associated with impairment of autophagy in the nigrostriatum of sporadic Parkinson's disease. *Neuroscience* 2013;232:90-105.
67. Landles C, Bates GP. Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's disease. Fourth in molecular medicine review series. *EMBO Rep* 2004;5(10):958-63.
68. Qin ZH, Wang Y, Kegel KB, Kazantsev A, Apostol BL, Thompson LM, et al. Autophagy regulates the processing of amino terminal huntingtin fragments. *Hum Mol Genet* 2003;12(24):3231-44.
69. Heng MY, Duong DK, Albin RL, Tallaksen-Greene SJ, Hunter JM, Lesort MJ, et al. Early autophagic response in a novel knock-in model of Huntington disease. *Hum Mol Genet* 2010;19(19):3702-20.
70. Ravikumar B, Imarisio S, Sarkar S, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. Rab5 modulates aggregation and toxicity of mutant huntingtin through macroautophagy in cell and fly models of Huntington disease. *J Cell Sci* 2008; 121(Pt 10):1649-60.
71. Ravikumar B, Duden R, Rubinsztein DC. Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy. *Hum Mol Genet* 2002;11(9):1107-17.
72. Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004;36(6):585-95.
73. Shibata M, Lu T, Furuya T, Degterev A, Mizushima N, Yoshimori T, et al. Regulation of intracellular accumulation of mutant Huntingtin by Beclin 1. *J Biol Chem* 2006;281(20):14474-85.
74. Jeong H, Then F, Melia TJ, Jr., Mazzulli JR, Cui L, Savas JN, et al. Acetylation targets mutant huntingtin to autophagosomes for degradation. *Cel*. 2009;137(1):60-72.
75. Mealer RG, Murray AJ, Shahani N, Subramaniam S, Snyder SH. Rhes, a striatal-selective protein implicated in Huntington disease, binds beclin-1 and activates autophagy. *J Biol Chem* 2014;289(6):3547-54.
76. Ravikumar B, Imarisio S, Sarkar S, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. Rab5 modulates aggregation and toxicity of mutant huntingtin through macroautophagy in cell and fly models of Huntington disease. *J Cell Sci*. 2008; 121(Pt 10):1649-60.