

БЕЛОК p62: ПЕРЕСЕЧЕНИЕ ПУТЕЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И АУТОФАГИИ

© 2024 г. Г. А. ШИЛОВСКИЙ^{a, b, *}

^aБиологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, 119991 Россия

^bИнститут проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук,
Москва, 127051 Россия

*e-mails: gregory_sh@list.ru, grgerontol@gmail.com

Поступила в редакцию 21.02.2024 г.

После доработки 20.04.2024 г.

Принята в печать 07.05.2024 г.

Многочисленные регуляторные каскады связывают программы ответа клетки на окислительный стресс, а также механизмы поддержания гомеостаза и клеточной жизнеспособности. В обзоре подробно рассмотрены молекулярные механизмы взаимодействия белка аутофагии p62 с защитными системами клетки, в первую очередь путем NRF2/KEAP1/ARE. Понимание путей кросс-регуляции системы антиоксидантной защиты и аутофагии способствует поиску перспективных молекулярных мишеней для профилактики и лечения заболеваний, связанных со старением.

Ключевые слова: NRF2, p62, аутофагия, регуляторная петля, KEAP1, старение, сестрины

DOI: 10.31857/S0026898424050036, **EDN:** HURISK

Сокращения: АФК – активные формы кислорода; ТФ – транскрипционный фактор; АКТ – протеинкиназа В; АМПК (5'-AMP-activated protein kinase) – АМФ-активируемая протеинкиназа; АР1 (activating protein 1) – активирующий белок 1; аРКС (atypical protein kinase C) – атипичная протеинкиназа С; ARE (antioxidant response element) – элемент антиоксидантного ответа; АТЕ1 (arginyl-tRNA transferase 1) – аргинил-тРНК-трансфераза-1; ERK1/2 (extracellular signal-regulated protein kinase 1/2) – протеинкиназа, регулируемая внеклеточными сигналами; FXR (farnesoid X receptor) – фарнезоидный X-рецептор; GSK3β (glycogen synthase kinase 3β) – киназа гликогенсинтазы 3β; ИККβ – β-субъединица ИκВ-киназы; JAK/STAT (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) – тирозинкиназа/преобразователь сигнала и активатор транскрипции; JNK (c-Jun N-terminal kinases) – киназы семейства MAPK; KEAP1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) – Kelch-подобный ECH-ассоциированный белок-1; KIR (Keap-interacting region) – участок, взаимодействующий с Keap; LC3 (microtubule-associated protein 1A/1B light chain 3) – легкая цепь-3 ассоциированного с микротрубочками белка 1A/1B; LIR (LC3-interacting region) – участок, взаимодействующий с LC3; MAPK (mitogen-activated protein kinases) – активируемые митогенами протеинкиназы; mTOR (mammalian target of rapamycin) – серин/треониновая протеинкиназа, мишень рапамицина у млекопитающих; mTORC1/2 (mammalian target of rapamycin complex 1/2) – комплексы 1 и 2, содержащие mTOR; Neh (NRF2-ECH homology; ECH – аналог NRF2 у кур) – домен гомологии NRF2-ECH; NES (nuclear export signal) – сигнал экспорта из ядра; NFE (nuclear factor erythroid derived) – ядерный фактор эритроидного происхождения; NF-κB (nuclear factor κB) – ядерный фактор κB; NLS (nuclear localization signal) – сигнал внутриядерной локализации; NRF2 (NFE2-related factor 2) – транскрипционный фактор-2 семейства NFE; p38 MAPK (p38 mitogen activated protein kinase) – митогенактивируемые протеинкиназы, класс p38; p62/SQSTM1 (sequestosome 1) – убиквитинсвязывающий белок p62, или секвестосома-1; PB1 (Phox and Bem1) – домен Phox и Bem1; PGAM5 (phosphoglycerate mutase family, member 5) – серин/треониновая фосфатаза; PI3K (phosphatidylinositol 3 kinase) – фосфатидилинозитол-3-киназа; РКС (protein kinase C) – протеинкиназа С; PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) – γ-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом; PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) – фосфатаза с двойной субстратной специфичностью; RBX1 (RING-box protein 1) – белок RING-box 1; SESN – сестрин; TAK1 (TGF-β-activated kinase 1) – активируемая TGF-β киназа-1; TBK1 (TANK-binding kinase 1) – TANK-связывающая киназа-1; TRAF6 (TNFα receptor-associated factor 6) – фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей α; βTrCP (β-transducin repeat containing protein) – белок, содержащий β-трансдуциновые повторы; UBA (ubiquitin associated) – ассоциированный с убиквитином (домен); ULK (ULK-51-like autophagy activating kinase) – активирующая аутофагию ULK-51-подобная киназа; UXT (ubiquitous expressed transcript) – универсально экспрессируемый транскрипт.

ВВЕДЕНИЕ

У млекопитающих путь KEAP1/NRF2/ARE¹ (Kelch-подобный ECH-ассоциированный белок-1/транскрипционный фактор-2 семейства NFE/элемент антиоксидантного ответа) и аутофагия относятся к основным внутриклеточным системам защиты от окислительного стресса и поддерживают гомеостаз [1–3]. Транскрипционный фактор (ТФ) NRF2 первоначально был идентифицирован как главный регулятор редокс-гомеостаза, который управляет экспрессией набора генов, участвующих в смягчении окислительного и электрофильного стресса. Однако роль NRF2 в регулировании множества процессов реакции клетки на стресс гораздо шире. Так, показано, что NRF2 регулирует экспрессию генов, контролируемых ферроптоз – процесс гибели клеток, зависящий от перекисного окисления железа и липидов [2]. В настоящее время растет число работ, посвященных изучению не только классической роли NRF2 (индукции экспрессии генов, кодирующих белки системы антиоксидантной защиты и детоксикации), но и его участию в других клеточных процессах, включая воспаление [4], регуляцию циркадных биоритмов [5] и клеточную гибель, в том числе в условиях развития возрастных патологий [6, 7]. Выявлена множественность механизмов NRF2, влияющих на функцию эндотелиальных клеток, а также плюсы и минусы активации этого ТФ в эндотелии сердечно-сосудистой системы в норме и при патологии [8]. Пока не получила однозначной оценки роль белка NRF2 в развитии атеросклероза: наряду с данными о его защитном действии, есть и предполагающие проатерогенную активность (см. обзор [8]).

Помимо известных положительных эффектов активации NRF2: снижение уровня окислительного стресса и воспалительной активации эндотелия, восстановление нормальной функции митохондрий, увеличение биодоступности NO за счет предотвращения разобщения eNOS, – известны и негативные: усиление экспрессии гена *NOX4*, кодирующего NADPH-оксидазу, ответственную за продукцию активных форм кислорода (АФК). Кроме того, роль NRF2 в канцерогенезе тоже двойственна. Этот белок вовлечен в механизмы, с одной стороны, защищающие нормальные клетки от мутагенеза и злокачественной трансформации, а с другой, тем самым способствующие выживанию уже имеющихся опухолевых клеток. Также способность NRF2 стимулировать ангиогенез вносит дополнительный вклад в прогрессирование опухолей, способствуя их васкуляризации [8]. В об-

зоре представлен всесторонний анализ данных о функциях белков, регулирующих аутофагию и сигнальный путь KEAP1/NRF2/ARE.

СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, ИНДУЦИРУЮЩИЕ АКТИВНОСТЬ NRF2

Известно несколько уровней регуляции NRF2. Этот транскрипционный фактор обеспечивает адаптацию клетки к окислителям и электрофилам главным образом за счет вызванной стрессом модификации тиольных групп цистеина в одном из его репрессоров – KEAP1, входящего с убиквитинлигазой Cullin-3 RING (CRL) в состав комплекса CRL–KEAP1. Модификация остатков Cys в KEAP1 блокирует активность CRL–KEAP1, что приводит к накоплению *de novo* свежесинтезированного NRF2 в ядре и индукции экспрессии генов-мишеней.

Основной путь стабилизации NRF2 в клетке – накопление белков, которые нарушают связь между KEAP1 и NRF2, конкурируя с ним за сайты связывания на KEAP1. Это важный для аутофагии белок p62, адаптерный белок Hrd1, белки p21, PALB2, PGAM5, WTX, IKK β (регулятор пути NF- κ B – ядерного фактора κ B). Все они содержат консервативный мотив E(S)T/L/NGE [9]. Показано присутствие KEAP1 в митохондриях, где он взаимодействует с белком PGAM5 [10, 11]. KEAP1 критически важен для поддержания митохондриального гомеостаза: p62 рекрутирует его в митохондрии и вместе с RBX1 опосредует убиквитинирование этих органелл клетки, предотвращая образование дисфункциональных мегамитохондрий и тем самым смягчая течение неалкогольной жировой болезни печени [12]. NRF2-ингибирующую активность проявляет и белок, содержащий β -трансдуциновые повторы (β -TrCP), который входит в состав убиквитинлигазного комплекса SKP1–Cullin-1–F-box (SCF- β -TrCP). Однако образование фосфодегрона в NRF2 с помощью киназы-3 гликогенсинтазы (GSK3) ингибируется стимулами, которые активируют протеинкиназу B (PKB)/АКТ. В частности, активность PKB/АКТ может быть усилена действием фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и mTORC2 (mammalian target of rapamycin complex 2). Это позволяет объяснить, почему гены, управляемые антиоксидантзависимыми элементами (ARE), индуцируются факторами роста и питательными веществами [13].

СИСТЕМА KEAP1–NRF2–ARE И АУТОФАГИЯ

Помимо окислительного (электрофильного) стресса система NRF2 может быть активирована через нарушение оборота белка [14]. Ре-

¹ Все гены и белки указаны по правилам написания для клеток человека, если это не оговорено особо.

доксчувствительный сигнальный путь KEAP1–NRF2–ARE характеризуется функциональным взаимодействием с системой аутофагии [14, 15]. В регуляции NRF2 посредством аутофагии важную роль играет многофункциональный регуляторный цитоплазматический белок p62 (секвестосома-1, SQSTM1) [16]. Для p62-опосредованной индукции NRF2 необходимо увеличение концентрации p62, что повышает вероятность конкурентного вытеснения NRF2 из комплекса с KEAP1. Этот механизм, вероятно, работает при длительной активации NRF2 благодаря тому, что NRF2 повышает экспрессию p62, связываясь с ARE-содержащим промотором гена *SQSTM1*, кодирующего его. Таким образом, p62 – продукт гена-мишени NRF2, поэтому экспрессия этих белков связана петлей положительной обратной связи: накопление p62 способствует активации NRF2, а активированный NRF2 дополнительно повышает уровень p62 [15]. Увеличивающееся в результате количество белка p62 секвестрирует на себе KEAP1, а это, в свою очередь, стабилизирует NRF2 и поддерживает его активность [15]. Дегградация KEAP1 происходит посредством p62-зависимой аутофагии [17], чему способствует предшествующее его убиквитинирование [18]. Способность KEAP1 репрессировать NRF2 может быть ослаблена белком p62 с помощью механистической мишени для зависимого от рапамицина комплекса-1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1). Таким образом, у млекопитающих ось p62–NRF2 включает путь активации PI3K/АКТ и mTORC1. ТФ NRF2 положительно регулирует экспрессию mTOR [19]. Белок p62 взаимодействует с молекулами, которые взаимодействуют с mTOR и образуют комплекс mTORC1 [20]. mTORC1 способствует передаче сигналов роста клеток, а мутации в нем идентифицированы в нескольких типах опухолей человека [21].

Кроме того, цитопротекторное действие активированного NRF2 выходит за рамки классических генов-мишеней этого ТФ, так как продукты и других ARE-содержащих генов проявляют противовоспалительную активность [22] и вовлечены в протеасомную дегградацию окисленных белков [23].

Нарушение аутофагии в печени препятствует обороту p62, вызывая тяжелое повреждение этого органа. Процесс сопровождается образованием телец включения, содержащих p62, KEAP1 и убиквитинированные белки, и приводит к усилению экспрессии генов-мишеней NRF2 [14]. Эта модель повреждения печени может быть скомпенсирована путем удаления NRF2. Следовательно, конститутивная активация NRF2 в состоянии дефектной селективной аутофагии вредна для функциональной целостности гепатоцитов. Также показано, что система NRF2/ARE задействована в передаче сигналов гибели гепатоцитов, в том числе путем ферроптоза [24].

СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ p62 (*SQSTM1*)

Белок p62 содержит 6 консервативных доменов, которые взаимодействуют с белками различных сигнальных систем (рис. 1). Это домен PB1 (содержит мотивы Phox и Bem1p), домен “цинкового пальца” ZZ-типа (ZZ), TRAF6-связывающий домен (TB), LC3-взаимодействующий домен (LIR), взаимодействующий с KEAP1 домен KIR и убиквитинсвязывающий домен UBA (ubiquitin associated). N-концевой домен PB1 p62 образует олигомеры и димеры с другими белками, включая aPKC (atypical protein kinase C) и ERK (extracellular signal-regulated protein kinase). Домен ZZ представляет структуру типа “цинковые пальцы”, что позволяет p62 выступать в качестве ТФ и связываться с ДНК. Посредством TB-домена p62 связывается с фактором TRAF6 (TNF- α receptor-associated factor 6) и активирует NF- κ B, модулируя таким образом процесс воспаления. С-концевые домены LIR (ATG8/LC3-interacting region), KIR (Keap-interacting region) и UBA служат для связывания KEAP1 и убиквитинированных белков, а также их дегградации посредством аутофагии. Домен KIR сходен по структуре с ETGE-последовательностью NRF2, что позволяет p62 взаимодействовать с KEAP1 и тем самым нарушать ассоциацию NRF2 с KEAP1 и его последующее убиквитинирование. Кроме того, взаимодействие p62 с KEAP1 приводит к дегградации последнего по пути аутофагии [26].

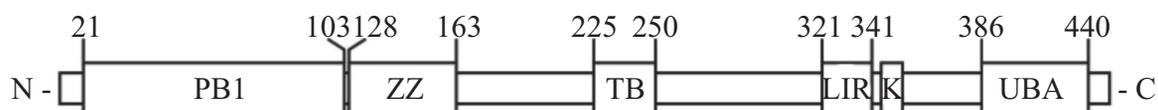


Рис. 1. Структурная организация белка p62. Доменная структура белка p62 человека (440 а.о.): 21–103 а.о. – домен PB1 (содержит мотивы Phox и Bem1p); 128–163 а.о. – домен “цинкового пальца” ZZ-типа (ZZ); 225–250 а.о. – TRAF6-связывающий домен TB; 321–341 а.о. – LC3-взаимодействующий домен (LIR); 346–359 а.о. – взаимодействующий с KEAP1 домен KIR (K); 386–440 а.о. – убиквитинсвязывающий домен (UBA).

Белок p62 вовлечен в сигналинг процесса аутофагии за счет домена LIR, который непосредственно взаимодействует с маркером аутофагии LC3 (microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3) [27]. LIR связывается с белком ATG8/LC3 [25], который локализуется на мембранах аутофагосом. В результате рекрутируемые p62 “грузы” заключаются в аутофагосомы. Показано, что белок p62 чувствителен к окислительному стрессу, что способствует активации аутофагии [28].

В составе p62 есть сайты связывания многих других функционально важных для клетки белков: убиквитина, KEAP1 и других. Это позволяет p62 конкурировать с NRF2 за связывание с KEAP1 и активацию пути NRF2 [14, 26]. p62 связывается с убиквитином через C-концевой UBA-домен, рекрутируя полиубиквитинированные белки. Показано участие p62 в качестве рецептора при многих формах селективной аутофагии [29]. Можно выделить два типа аутофагии: микро- и макроаутофагию. Первый – аутофагия, опосредуемая шаперонами (CMA, chaperone-mediated autophagy), – запускается при активном участии шаперона HSC70 и направляет определенные белки в лизосому для уничтожения. HSC70 направляет белок, подлежащий удалению, к рецептору LAMP-2A на поверхности лизосомы. Второй тип аутофагии связан с образованием мембранной структуры (аутофагосомы) вокруг той части клетки, которую предполагается удалить. В этом процессе основную роль играют белки семейства ATG, один из них – LC3 (ATG8) – служит маркером начала аутофагии [30].

Неселективная аутофагия происходит в клетке, страдающей от дефицита питательных веществ. В этой ситуации избирательная аутофагия служит для выборочного удаления органелл с целью регулирования их количества. Митофагия – частное проявление избирательной митохондриальной аутофагии [31]. Митофагия зависит от PTEN-индуцированной киназы-1 (PINK1). PINK1 содержит нацеленную на митохондрии последовательность (MTS). При отсутствии митохондриального повреждения PINK1 проникает в эти органеллы через внешнюю мембрану (через комплекс TOM) и частично через внутреннюю мембрану (через комплекс TIM). На внутренней мембране PINK1 подвергается частичному расщеплению с образованием ассоциированного с пресенилином ромбовидного белка (PARL). Эта форма PINK1 расщепляется протеазами митохондриального матрикса [32]. В поврежденных митохондриях внутренняя мембрана деполаризована, что влияет на импорт белка, опосредованный TIM. В результате белок PINK1 не попадает в митохондриальный матрикс, где он обычно разрушается, а нака-

пливается на внешней мембране митохондрий. Это приводит к активации цитозольной E3-убиквитинлигазы PARKIN, которая, убиквитинируя белки на внешней мембране митохондрий, запускает митофагию (рис. 2). PARKIN способствует K63-ассоциированному полиубиквитинированию митохондриального субстрата и рекрутирует убиквитин- и LC3-связывающий белок p62 в митохондрии [33].

Комплекс, включающий киназу RIP, атипичную протеинкиназу C, фактор TRAF6 и убиквитинлигазу K63, играет критическую роль в фосфорилировании IKK β , важном для активации ТФ NF- κ B [34]. Обнаружено, что высокий уровень p62 коррелирует с повышенной продукцией интерлейкина-1 β (IL-1 β). Оказалось, что p62 связывает киназы JNK и ERK, тем самым усиливая активацию NF- κ B и, как следствие, экспрессию IL-1 β . Кроме того, накопление p62 способствует активации каспазы-1 в инфламасомах, которая необходима для протеолитического процессинга IL-1 β [35].

Белок p62 действует как адаптерная молекула, которая напрямую взаимодействует с убиквитинированными молекулами на аутофагосоме. Удаление p62 полностью блокирует клиренс поврежденных митохондрий [36]. Таким образом, активация оси PINK1/PARKIN/p62 (рис. 2) играет важную роль в селективном устранении поврежденных митохондрий, что важно для поддержания контроля их качества. Следует отметить, что что p62-опосредованное убиквитинирование и митофагия также могут идти по PINK1/PARKIN-независимому пути [37].

Известны два пути конъюгации убиквитинподобных белков, которые необходимы для

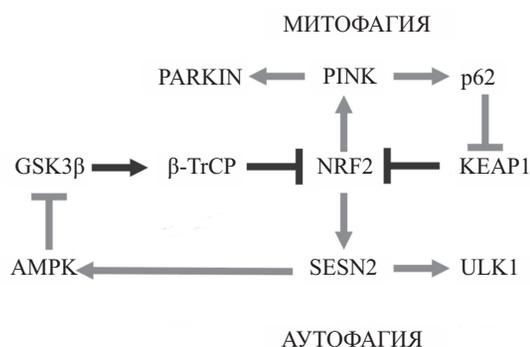


Рис. 2. Пути регуляции NRF2 при митофагии и аутофагии. Представлена упрощенная схема, состоящая из регуляторной петли, включающей p62, KEAP1 и NRF2, и другой регуляторной петли, включающей AMPK (5'-AMP-activated protein kinase), SEN2 (sestrin 2), ULK1 (UNC-51-like autophagy activating kinase 1). Стрелкой обозначено прямое стимулирующее воздействие, включая катализ; линией с тупым концом обозначено ингибирующее/супрессорное действие на активность/экспрессию NRF2.

биогебеза аутофагосом. Это системы ATG12-ATG5-ATG16 и ATG8. Считалось, что аутофагия, по существу неселективный процесс, частично избирательна. Селективные субстраты аутофагии включают поврежденные митохондрии, внутриклеточные патогены и даже подмножество цитозольных белков, распознаваемых с помощью убиквитинсвязывающих адаптеров аутофагии, таких как p62, NBR1, NDP52, TAX1BP1 и Optineurin. Эти белки избирательно распознают аутофагический груз и опосредуют его поглощение аутофагосомами, связываясь с небольшими убиквитинподобными модификаторами, которые принадлежат к семейству ATG8/LC3 [38, 39]. Среди этих белков p62 лучше всего охарактеризован как опосредующий аутофаговый клиренс полиубиквитинированных грузов, таких как агрегированные белки [40].

Другой адаптер, используемый в селективной аутофагии, – NBR1 (neighbor of BRCA1 gene 1), который через свой домен PB1 взаимодействует с p62, а через домены UBA и LIR участвует в рекрутинге и аутофагосомной деградации убиквитинированных белков [25]. Optineurin и NDP52 описаны как рецепторы ксенофагии, использующие аппарат аутофагии для убиквитинированных внутриклеточных патогенов [41]. Оба эти адаптера участвуют в клиренсе белковых агрегатов [42, 43] и необходимы для регуляции передачи сигналов NF-κB [44]. Хотя все эти рецепторы опосредуют деградацию убиквитинированных белков, известны и более специфические адаптеры, действующие на удаление поврежденных или избыточных митохондрий (например, Atg32 дрожжей и NIX млекопитающих) или пероксисом (например, Atg30 и Atg36 дрожжей). Они распознают конкретных партнеров по связыванию на поверхности своей органеллы-мишени и через домен LIR обеспечивают их доставку к созревающей аутофагосоме [33]. Филогенетический анализ и анализ сети взаимодействий выявили, что функция белков ATG эволюционно консервативна даже у растений рода *Arabidopsis* и люцерны *Medicago truncatula* [45]. У растений функциональный гибридный гомолог p62 и NBR1 (NBR1 у *Arabidopsis*, Joka2 у *Nicotiana*) играет важную роль в утилизации полиубиквитинированных белков, накопленных в условиях абиотического стресса [46, 47].

РОЛЬ p62 В ФОРМИРОВАНИИ АУТОФАГОСОМ

Известно, что прямое взаимодействие между p62 и убиквитином довольно слабое, поэтому образование полиубиквитинированных агрегатов начинается с аутоолигомеризации p62 через его домен PB1 [29]. Однако выдвинутая первоначально “простая” концепция доставки

предназначенных к деградации белковых агрегатов посредством соединения боковой цепи полиубиквитина на грузе и укрепления ATG8/LC3 на поверхности фагофора с помощью p62 впоследствии оказалась более сложной. Оба взаимодействия: домен UBA–убиквитин и мотив LIR–ATG8 – слабые.

Низкая аффинность домена UBA к убиквитину частично обусловлена его гомодимеризацией, которая взаимоисключает связывание убиквитина [48]. Это сродство может быть усилено за счет фосфорилирования S403 в домене UBA киназой-2 (casein kinase 2, CK2) и TANK-связывающей киназой-1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) [49]. Ингибирование фосфорилирования S403 p62 способствует образованию перинуклеарных агрегатов убиквитинированных белков, что является важным защитным механизмом клетки при протеасомной дисфункции. Фосфорилирование T269/S272 в белке p62 ингибирует фосфорилирование по S403, усиливая образование агрегатов убиквитинированного белка и защищая клетки от протеотоксического кризиса [49].

Мотив LIR p62 представлен последовательностью DDDWTHL и связывается с LC3B в микромольном диапазоне концентраций [40]. Олигомеризация, опосредованная доменом PB1, позволяет p62 сильно и селективно связываться с грузами, включая белки с неправильной укладкой, на которых концентрируется убиквитин [50]. Сходный эффект наблюдается для взаимодействия LIR–LC3B, где опосредованная PB1 олигомеризация приводит к взаимодействию с очень высоким сродством с концентрированным на мембране LC3, так что скорость диссоциации становится практически нулевой [50]. Это тесное взаимодействие позволяет p62 изгибать мембраны вокруг груза, и это свойство сохраняется у Atg19 дрожжей [50]. Фактически, эти агрегаты, содержащие p62 и убиквитинированные белки, могут служить исходным каркасом для биогебеза аутофагосом – потенциально за счет связывания нескольких белков ATG [29, 51]. Более того, сообщалось, что фагофоры могут преимущественно формироваться в агрегатах p62 рядом с лизосомами в клетках *Drosophila melanogaster*, что похоже на расположение PAS (phagophore assembly site) рядом с вакуолью/лизосомой у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [52]. Белок p62 также взаимодействует с mTORC1 [53]. Последний связывается с лизосомами, способствуя росту клеток и ингибируя аутофагию путем фосфорилирования ATG1 (ULK1/2) [54, 55]. Затем ATG8/LC3 рекрутируется на формирующийся фагофор и взаимодействует с p62 и другими белками, образуя p62-содержащий агрегат, окруженный двойной мембраной [56]. Также с ATG1/ULK1 взаимодействует деубик-

витиназа Leon/USP5, тем самым негативно регулируя процесс аутофагии [57].

РОЛЬ p62 В РЕГУЛЯЦИИ АУТОФАГИИ

Еще в 2011 году А. Duran с соавт. [19] сообщили, что активация комплекса mTORC1 способствует его транслокации на поверхность лизосомы, из чего делали вывод, что снижение уровня p62, как и инактивация mTORC1, могут активировать аутофагию. Однако позднее J. Zhou и др. [46] показали, что в клетках HEK293 и HeLa белок p62 высвобождает Beclin1 (гомолог ATG6) путем разрушения ассоциации BCL-2 с Beclin1 и тем самым положительно регулирует индукцию аутофагии [46]. Кроме того, p62 взаимодействует и регулирует деацетилазную активность HDAC6 (histone deacetylase 6) – модификатора F-актиновой сети, участвующей в селективной аутофагии [58].

В клетках карциномы сайленсинг гена *SQSTM1*, кодирующего p62, приводил к появлению аномальных аутофагосом и в итоге к аутофагической гибели клеток [59]. Таким образом, роль p62 в индукции аутофагии оказывается сложной и, вероятно, зависит от конкретных условий. Белок p62 может перемещаться между ядром и цитоплазмой и даже экспортировать убиквитинированные субстраты из ядра в цитозоль – где аутофагия проходит наиболее интенсивно [60].

Многочисленные клеточные органеллы, такие как ядрышки, Р-гранулы, стресс-гранулы и PML-тельца, – это достаточно стабильные образования. Предполагается, что многие из этих безмембранных органелл формируются на границе раздела фаз, где идет конденсация высокомолекулярных соединений (белков, РНК и ДНК) с образованием крупных агрегатов [61–63]. Выяснилось, что не только органеллы, но и образование временных клеточных конденсатов (puncta) также происходит на границе раздела фаз [64]. В этих конденсатах биомолекулы проявляют неодинаковую подвижность, что придает разным конденсатам различные физические свойства. Конденсаты, образующиеся на границе раздела фаз “жидкость–жидкость”, характеризуются высокой подвижностью макромолекул, сконцентрированных внутри этих структур [61, 62]. Хотя точные молекулярные механизмы, лежащие в основе формирования раздела фаз “жидкость–жидкость”, до сих пор не совсем ясны, похоже, что это явление основано на низкоаффинном мультивалентном взаимодействии макромолекул [61]. Наличие неструктурированных областей, также способствует разделению фаз “жидкость–жидкость” [65]. Интересно, что именно такими свойствами

ми обладают нитевидные олигомеры цепей p62 и убиквитина. С одной стороны, убиквитин-связывающий домен UBA p62 взаимодействует с убиквитином с микромолярной аффинностью и связан с остальной частью белка p62 через длинную неструктурированную область. С другой стороны, цепи убиквитина содержат множество сайтов взаимодействия для p62 [66].

УРОВНИ РЕГУЛЯЦИИ p62

Регуляция p62 осуществляется на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Транскрипция гена *SQSTM1* регулируется ТФ NF-κB, AP-1 и FXR (фарнезоидный X-рецептор) [67]. Кроме того, этот ген – мишень NRF2. Ген *SQSTM1* содержит ARE в области –1306…–1295 п.н., формируя тем самым петлю положительной обратной связи [15]. Убиквитинирование белка KEAP1 усиливает его взаимодействие с p62, хотя наибольший вклад в него вносят белки семейства Sestrin (сестрины) [68, 69]. Наличие в промоторе гена *SESN2* (кодирует белок Sestrin 2, SESN2) последовательности ARE усиливает его активирующее действие на систему KEAP1/NRF2/ARE (по механизму положительной обратной связи) [68] (рис. 2). Белок SESN2 способен образовывать комплексы с p62 и KEAP1, а также ингибировать mTORC1, что активирует аутофагию. SESN2 способствует митофагии – специфической форме аутофагии, – либо ингибируя mTORC1, либо используя другие механизмы, такие как взаимодействие с рецептором аутофагии p62 и E3-убиквитинлигазой RBX1 [70, 71].

Механизм активации аутофагии и митофагии сестринами включает ингибирование mTORC1 и активацию ULK1, что способствует снижению уровня АФК и удалению дисфункциональных митохондрий. ULK1 фосфорилирует SESN2, вызывая митофагию, а фосфорилированный SESN2 активирует ULK1, дополнительно индуцируя аутофагию по механизму положительной обратной связи (рис. 2).

Сестрины усиливают чувствительность к инсулину, блокируя сигнальный путь киназ mTORC1 и p70S6K1 (ribosomal protein S6 kinase B1), ответственный за деградацию белка IRS1 (insulin receptor substrate 1), необходимого для передачи сигнала от инсулинового рецептора к PI3K с последующей активацией киназ PDK1 и mTORC2 и фосфорилированием АКТ. Повышение уровня экспрессии SESN2 стимулирует активацию АМПК и ингибирование mTORC1, поддерживая высокую активность АКТ и способствуя супрессии глюконеогенеза и снижению уровня сахара в крови [72]. Кроме того, сестрины подавляют накопление липидов и стресс эн-

доплазматического ретикулула посредством ингибирования mTORC1 за счет активации AMPK и связывания GATOR2 (GAP activity towards Rags 2) [69, 73]. Помимо общей регуляции процесса аутофагии, SESN2 также контролирует специфическое расщепление белков в лизосомах. Показано, что AMPK активирует NRF2 путем ингибирования GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 β) [74]. Конвергенция между путями AMPK и NRF2 важна, например для механизма противовоспалительного действия берберина на макрофаги, стимулированные липополисахаридом, и мышей, подвергшихся эндотоксиновому шоку [75]. Активация AMPK приводит к перепрограммированию метаболизма на усиление катаболизма и снижение анаболизма путем фосфорилирования ключевых факторов во многих биосинтетических путях, в том числе mTOR [76, 77]. К активаторам AMPK относится и известный опухолевый супрессор серин/треониновая киназа 11 (serine/threonine kinase 11, STK11), или LKB1 (liver kinase B1) [78–80]. В экспериментах с тканеспецифичными нокаутами гена *Lkb1* у мышей показано, что в большинстве тканей именно белок Lkb1 – главный посредник в адаптивной активации AMPK при энергетическом стрессе. На основании этих результатов авторы делают вывод о наличии связи между регуляцией энергетического метаболизма и супрессией опухолей [78, 79].

SESN2 играет важную роль в регуляции митофагии при воспалении и сепсисе. Так, этот сестрин контролирует узнавание и доставку поврежденных фрагментов митохондрий в аутофагосомы, взаимодействуя с белком p62 – переносчиком субстратов для аутофагосом [81]. Посредством взаимодействия с белками KEAP1, p62 и RBX1 сестрины вызывают деградацию KEAP1 с последующей активацией NRF2 [70]. Белок SESN2, связываясь с NRF2, не только регулирует стабильность последнего, но также поддерживает его транскрипционную активность в ядре [82]. В некоторых типах клеток, например в почечных клубочках, SESN2 выполняет антиоксидантную функцию, снижая экспрессию NOX4 [83].

Как отмечалось выше, мотивы E(S)T/L/NGE и мотив ³⁴⁹STGE³⁵² p62 в частности, сходны с KEAP1-связывающим мотивом ⁷⁹ETGE⁸² NRF2. Следовательно, p62 может конкурировать с NRF2 за связывание KEAP1. Когда аутофагия нарушается, уровень p62 повышается, что приводит к деградации KEAP1 и, как следствие, к стабилизации NRF2 [14]. Взаимодействие между KEAP1 и p62 происходит после фосфорилирования мотива STGE в p62, которое могут выполнять mTORC1 [84] или TAK1 (TGF- β -activated kinase 1) [85, 86]. Увеличение отрицательного заряда этой последовательности (при фосфори-

ровании серина) делает возможным взаимодействие с положительно заряженными остатками домена Kelch KEAP1. Аффинность KEAP1 к домену KIR p62 немного ниже, чем к DLGex (последовательность M17–Q51 в NRF2, важная для взаимодействия с KEAP1), и существенно ниже, чем к ETGE-последовательности NRF2 [14], поэтому структурное сходство KEAP1-связывающих последовательностей p62 и NRF2 не играет роли при классической активации системы NRF2/KEAP1/ARE электрофильными соединениями. Как отмечалось, для p62-опосредованной индукции экспрессии NRF2 необходимо увеличение концентрации p62, что повышает вероятность конкурентного вытеснения DLGex NRF2 из комплекса с KEAP1. Этот механизм, вероятно, работает лишь при длительной активации NRF2 благодаря тому, что NRF2 повышает экспрессию p62, связываясь с промотором гена, кодирующего p62. В результате многочисленные молекулы белка p62 секвестрируют на себе KEAP1, а это, в свою очередь, стабилизирует NRF2 и поддерживает активность последнего [15]. Фосфорилирование p62 по S349 у человека (позиция S351 в p62 мыши) существенно увеличивает его аффинность к KEAP1, которая становится выше, чем сродство KEAP1 к ETGE-мотиву NRF2 и тем более к DLGex [84]. Такая модификация возможна после предварительного фосфорилирования p62 по позиции S403 киназой TBK1 и последующего формирования агрегатов p62 друг с другом и с убиквитинированными мишенями. Эти агрегаты служат, с одной стороны, мишенями для аутофагии, а с другой – сайтами секвестрирования KEAP1, в результате чего происходит индукция NRF2/ARE [84]. Белок KEAP1 способствует очищению клетки от агрегатов убиквитина посредством аутофагии, где он взаимодействует с p62 и LC3. В ответ на селективную аутофагию KEAP1 перемещается в тельца включения после взаимодействия с p62 [15]. KEAP1 колокализуется с p62, что способствует деградации KEAP1 [87]. Взаимодействие между p62 и KEAP1 усиливается, когда p62 подвергается фазовому разделению (и появляется как включение [puncta]), управляемому цитоплазматическим белком DAXX (death-associated protein 6) [88]. Мутация в KIR-домене p62, которая отменяет взаимодействие KEAP1 с p62, имеет место при различных патологиях, например при боковом амиотрофическом склерозе [89].

Кроме того, KEAP1 взаимодействует с регулятором аутофагии ATG5 [90]. Также показано прямое взаимодействие KEAP1 с протеасомными субъединицами PSMD2, PSMD4 и сегрегазой Vcp/p97 [9] – негативным регулятором стабильности NRF2 [91]. Выявлен ряд мутаций KEAP1, носящих общее название ANCHOR (additionally

NRF2-complexed hypomorph), сильно влияющих на ассоциацию с NRF2 и приводящих к стабилизации третичной структуры KEAP1 и образованию р62-зависимых фазоворазделенных сферических кластеров. Эти кластеры содержат KEAP1-положительное ядро, окруженное немодифицированным и фосфорилированным р62, полиубиквитином и NRF2. Эти исследования позволяют лучше понять молекулярные механизмы регуляции и субклеточной локализации KEAP1, а также влияния мутаций на конформационный цикл KEAP1 и транскрипцию генов-мишеней NRF2 [9].

Еще один способ регуляции аутофагии с участием р62 – аргинилирование N-конца белков [92]. В дополнение к созданию субстратов, несущих N-дегрон и предназначенных для протеолиза, N-концевое аргинилирование может запустить селективную макроаутофагию посредством активации аутофагического N-рекогнина и р62 [93, 94]. Y. Zhang с соавт. [95] и H. Cha-Molstad с соавт. [96] показали, что N-концевой аргинин белков (N-дегрон) связывает домен ZZ р62, что облегчает их удаление. Кроме того, аргинилтрансфераза ATE1 (arginyl-tRNA transferase 1) и р62 кластеризуются вместе со своими грузами. Можно предположить, что кластер ATE1 и сборка телец р62 могут быть одним из механизмов, с помощью которого этот фермент облегчает аргинилирование и последующую аутофагическую переработку накопленных субстратов [97]. При липофагии связанные с N-концевым Arg белки р62 подвергаются аутополимеризации и рекрутируют фагофоры LC3+ в место лизосомной деградации липидных гранул. У мышей со специфичным для печени нокаутом гена *Ate1* при диете с высоким содержанием жиров развивалась тяжелая неалкогольная жировая болезнь печени. Низкомолекулярные агонисты р62 облегчали липофагию и оказывали терапевтическое действие при ожирении и гепатостеатозе у мышей дикого типа, но не у мышей с нокаутом гена р62 (*Sqstm1*) [98].

Показано, что белок UXT (ubiquitous expressed transcript) может способствовать селективной аутофагии, опосредованной р62 [99, 100]. UXT связывается с белковыми агрегатами, а также с RB1-доменом р62, образуя олигомер и тем самым увеличивая кластеризацию р62 для его эффективного нацеливания на белковые агрегаты и способствуя образованию р62-телец и их выведению посредством аутофагии [99, 101]. Кроме того, UXT-V2 (короткая изоформа UXT, состоящая из 157 а.о., тогда как UXT-V1 имеет на N-конце на 12 а.о. больше) специфически взаимодействует со STING1 (stimulator of interferon response cGAMP interactor 1) – основным адаптерным белком сигнального пути cGAS (cyclic GMP-AMP synthase)/STING1 [101].

Однако чрезмерная или длительная активация STING1 ассоциирована с аутовоспалительными и аутоиммунными заболеваниями. Таким образом, предотвращение чрезмерной активации STING1 важно для поддержания иммунного гомеостаза. В то же время известно, что STING1 избирательно разрушается при аутофагии посредством взаимодействия с р62 [100]. Yoon и соавт. [99] показали, что в модельной системе *Xenopus* эктопическая экспрессия UXT человека задерживает индуцированную мутированной формой SOD1 (superoxide dismutase 1) дегенерацию мотонейронов, а специфическое нарушение взаимодействия между UXT и р62 ингибирует UXT-опосредованную защиту. На основании этих результатов можно предполагать, что UXT функционирует как адаптер р62-зависимой аутофагии [99]. Другая изоформа UXT, UXT-V2, действует как кофактор транскрипции, который взаимодействует с белком р65, входящим в состав ответственной за развитие воспаления транскрипционной энхансомы NF-κB. Снижение уровня эндогенного UXT-V2 приводит к усилению апоптоза, индуцированного TNF-α [101, 102].

Соединения, которые повышают уровень р62, такие как рапамицин [103] и трегалоза [104], проходили клинические испытания фазы II и III как потенциальные препараты для лечения сахарного диабета, системной красной волчанки и аутосомно-доминантной поликистозной болезни почек. Еще одно лечебное воздействие, голодание, приводит к увеличению активности AMPK и ингибированию mTORC1, которые, предположительно, уменьшают фосфорилирование S351 в STGE-мотиве р62 и сводят к минимуму опосредуемую аутофагосомами деграцию KEAP1. Возобновление диеты с высоким содержанием углеводов после голодания увеличивает деграцию KEAP1 благодаря совместному действию р62 и SESN1/SESN2, что приводит к индукции генов-мишеней NRF2 [70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аутофагия отвечает за деграцию внутриклеточных белков и поврежденных органелл в ответ на эндогенные и экзогенные стрессы, включая окислительный, гипоксический, эндоплазматического ретикулума, а также голодание, вызванное недостатком питательных веществ и факторов роста [105–107]. Окислительный стресс – это не только причина дисфункции митохондрий, но и следствие сбоя в работе системы контроля качества митохондрий. Дисбаланс возникает при дисрегуляции митохондриального биогенеза и митофагии [108]. В условиях подавления биогенеза и активации митофагии

возникает дефицит энергии. И наоборот, при подавлении митохондриальной биогенеза в клетке накапливается большое количество поврежденных митохондрий, которые продуцируют высокие уровни АФК и при этом не удовлетворяют энергетические потребности из-за нефункциональной дыхательной цепи [109]. В этом случае клетку может “выручить” белок NRF2, который, образуя регуляторные петли, участвует в митохондриальном биогенезе. Так, NRF2 усиливает экспрессию PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator) – главного регулятора митохондриального биогенеза – и NRF1 (nuclear respiratory factor 1), которые регулируют транскрипцию митохондриальной ДНК. PGC-1 α , в свою очередь, дезактивирует GSK3 β через p38 [110], что блокирует один из путей инактивации NRF2 (рис. 2). Блокирование второго пути инактивации NRF2 включает взаимодействие с p62, который взаимодействует с ингибитором NRF2 – KEAP1. Однако регуляция митохондриальной биогенеза белком NRF2 этим не ограничивается. Этот ТФ регулирует экспрессию белка PINK1, который играет ключевую роль в индукции митохондриальной биогенеза, а “работала” на поддержания динамического баланса, обеспечивающего стабильность митохондрий [111, 112].

Как по отдельности, так и вместе, пути передачи сигналов p62 и NRF2 тесно связаны с выживаемостью клеток [113, 114]. С одной стороны, они могут защищать ткань от дегенерации, в том числе возрастзависимой [115, 116]. Учитывая, что убиквитин играет ключевую роль в элиминации неправильно свернутых и агрегированных белковых молекул, S. Ma с соавт. [117] рассматривают p62 как перспективную мишень для модуляции протеасомных путей. Так, снижение экспрессии или инактивация гена p62 (*Sqstm1*) у мышей вызывало симптомы, подобные болезни Альцгеймера (ухудшение рабочей памяти), и приводило к гиперфосфорилированию tau-белка, образованию нейрофибриллярных клубков и нейродегенерации [118]. Сходные результаты наблюдали на модели крыс с болезнью Альцгеймера, индуцированной введением в гиппокамп белка-предшественника β -амилоида APP (amyloid precursor protein) – экспрессия p62 была снижена в мозге этих животных [119]. Усиление экспрессии p62 приводило к снижению уровня β -амилоида и улучшению когнитивных способностей у мышей APP/PS1 (модель болезни Альцгеймера) [1, 120].

С другой стороны, на животных моделях показано, что активация оси p62–KEAP1–NRF2 может приводить к развитию злокачественных

опухолей, в частности к гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК), за счет увеличения продукции UDP-глюкуроната и глутатиона [121, 122]. Рассматривают несколько механизмов индуцированного p62 и NRF2 канцерогенеза при ГЦК. Это мутации в генах *NFE2L2* (NRF2) и *KEAP1* [123], а также хроническое воспаление [4, 124], которое вызывает конститутивную активацию NRF2 и стабильную сверхэкспрессию p62 [125]. Кроме того, некоторые патологические состояния сопровождаются накоплением aberrантного p62 и возможным ослаблением аутофагии. Эти алкогольный/неалкогольный стеатогепатит, болезнь Вильсона–Коновалова и первичный билиарный холангит [126–129]. Поскольку накопленный p62 взаимодействует с KEAP1, приводя к накоплению NRF2, цитопротекторные гены-мишени NRF2 должны быть высокоэкспрессированы в этих патологических условиях.

Опухолевые клетки, наряду с накоплением p62, экспрессируют высокие уровни генов-мишеней NRF2 [130]. Учитывая, что повышенная экспрессия генов-мишеней NRF2 способствует выживанию клеток (в том числе и трансформированных), логично ожидать неблагоприятный прогноз у пациентов с p62-положительными злокачественными опухолями. Интересно, что в опухолевых клетках фосфорилирование p62 под действием комплекса mTORC1 усиливает его сродство к KEAP1 (то есть “оттягивает на себя” белок-ингибитор NRF2). Таким образом, активность mTORC1 дополнительно усиливает стабилизацию NRF2 и транскрипцию его генов-мишеней [84]. Регуляторную петлю p62–NRF2 уже рассматривают как перспективную мишень для фармакологического вмешательства [131, 132], в том числе для разработки препаратов, направленных на подавление развивающихся с возрастом нейродегенеративных процессов, приводящих к болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера и другим патологиям.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-44-00099 (<https://rscf.ru/project/24-44-00099/>).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang W., Feng C., Jiang H. (2021) Novel target for treating Alzheimer’s diseases: crosstalk between the Nrf2 pathway and autophagy. *Ageing Res. Rev.* **65**, 101207. doi: 10.1016/j.arr.2020.101207

2. Shakya A., McKee N.W., Dodson M., Chapman E., Zhang D.D. (2023) Anti-ferroptotic effects of Nrf2: beyond the antioxidant response. *Mol. Cells*. **46**, 165–175. doi: 10.14348/molcells.2023.0005
3. Baykal-Köse S., Efe H., Yüce Z. (2021) Аутофагия не влияет на ответ линии клеток хронического миелоидного лейкоза, устойчивой к иматинибу, на ингибиторы тирозинкиназ. *Молекуляр. биология*. **55**(4), 626–633. doi: 10.31857/S002689842104004
4. Зиновкин Р.А., Гребенчиков О.А. (2020) Активация транскрипционного фактора Nrf2 как подход к предотвращению цитокинового шторма при COVID-19. *Биохимия*. **85**(7), 978–983. doi: 10.31857/S0320972520070118
5. Шиловский Г.А., Путятин Т.С., Моргунова Г.В., Селиверстов А.В., Ашапкин В.В., Сорокина Е.В., Марков А.В., Скулачев В.П. (2021) Регуляция белков циркадных ритмов и nrf2-опосредованной антиоксидантной защиты: двойная роль киназы гликогенсинтазы 3. *Биохимия*. **86**(4), 511–528. doi: 10.31857/S0320972521040059
6. Зиновкин Р.А., Кондратенко Н.Д., Зиновкина Л.А. (2022) Является ли Nrf2 основным регулятором старения млекопитающих? *Биохимия*. **87**(12), 1842–1855. doi: 10.31857/S0320972522120053
7. Шиловский Г.А. (2022) Лабильность защитной системы клетки Nrf2/Keap1/ARE в различных моделях клеточного старения возрастных патологиях. *Биохимия*. **87**(1), 86–103. doi: 10.31857/S0320972522010067
8. Кондратенко Н.Д., Зиновкина Л.А., Зиновкин Р.А. (2023) Транскрипционный фактор NRF2 в функционировании эндотелия. *Молекуляр. биология*. **57**(6), 1058–1076. doi: 10.31857/S0026898423060101
9. Cloer E.W., Siesser P.F., Cousins E.M., Goldfarb D., Mowrey D.D., Harrison J.S., Weir S.J., Dokholyan N.V., Major M.B. (2018) p62-dependent phase separation of patient-derived Keap1 mutations Nrf2. *Mol. Cell. Biol.* **38**(22), e00644–17. doi: 10.1128/MCB.00644-17
10. Lo S.-C., Hannink M. (2006) PGAM5, a Bcl-XL-interacting protein, is a novel substrate for the redox-regulated Keap1-dependent ubiquitin ligase complex. *J. Biol. Chem.* **281**, 37893–37903. doi: 10.1074/jbc.M606539200
11. O’Mealey G.B., Plafker K.S., Berry W.L., Janknecht R., Chan J.Y., Plafker S.M. (2017) A PGAM5-Keap1-Nrf2 complex is required for stress-induced mitochondrial retrograde trafficking. *J. Cell Sci.* **130**, 3467–3480. doi: 10.1242/jcs.203216
12. Yamada T., Murata D., Adachi Y., Itoh K., Kameoka S., Igarashi A., Kato T., Araki Y., Haganir R.L., Dawson T.M., Yanagawa T., Okamoto K., Iijima M., Sesaki H. (2018) Mitochondrial stasis reveals p62-mediated ubiquitination in PARKIN-independent mitophagy and mitigates nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Metab.* **28**, 588–604.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2018.06.014
13. Rada P., Rojo A.I., Evrard-Todeschi N., Innamorato N.G., Cotte A., Jaworski T., Tobón-Velasco J.C., Devijver H., García-Mayoral M.F., Van Leuven F., Hayes J.D., Bertho G., Cuadrado A. (2012) Structural and functional characterization of Nrf2 degradation by the glycogen synthase kinase 3/β-TrCP axis. *Mol. Cell. Biol.* **32**(17), 3486–3499. doi: 10.1128/MCB.00180-12
14. Komatsu M., Kurokawa H., Waguri S., Taguchi K., Kobayashi A., Ichimura Y., Sou Y.S., Ueno I., Sakamoto A., Tong K.I., Kim M., Nishito Y., Iemura S., Natsume T., Ueno T., Kominami E., Motohashi H., Tanaka K., Yamamoto M. (2010) The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. *Nat. Cell Biol.* **12**(3), 213–223. doi: 10.1038/ncb2021
15. Jain A., Lamark T., Sjøttem E., Larsen K.B., Awuh J.A., Øvervatn A., McMahon M., Hayes J.D., Johansen T. (2010) p62/SQSTM1 is a target gene for transcription factor Nrf2 and creates a positive feedback loop by inducing antioxidant response element-driven gene transcription. *J. Biol. Chem.* **285**(29), 22576–22591. doi: 10.1074/jbc.M110.118976
16. Lamark T., Svenning S., Johansen T. (2017) Regulation of selective autophagy: the p62/SQSTM1 paradigm. *Essays Biochem.* **61**, 609–624. doi: 10.1042/EBC20170035
17. Taguchi K., Fujikawa N., Komatsu M., Ishii T., Unno M., Akaike T., Motohashi H., Yamamoto M. (2012) Keap1 degradation by autophagy for the maintenance of redox homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **109**, 13561–13566. doi: 10.1073/pnas.1121572109
18. Zhang D.D., Lo S.-C., Sun Z., Habib G.M., Lieberman M.W., Hannink M. (2005) Ubiquitination of Keap1, a BTB-Kelch substrate adaptor protein for Cul3, targets Keap1 for degradation by a proteasome-independent pathway. *J. Biol. Chem.* **280**, 30091–30099. doi: 10.1074/jbc.M501279200
19. Duran A., Amanchy R., Linares J.F., Joshi J., Abu-Baker S., Porollo A., Hansen M., Moscat J., Diaz-Meco M.T. (2011) p62 is a key regulator of nutrient sensing in the mTORC1 pathway. *Mol. Cell.* **44**(1), 134–146. doi: 10.1016/j.molcel.2011.06.038
20. Switon K., Kotulska K., Janusz-Kaminska A., Zmorzynska J., Jaworski J. (2017) Molecular neurobiology of mTOR. *Neuroscience*. **341**, 112–153. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.11.017
21. Murugan A.K. (2019) mTOR: Role in cancer, metastasis and drug resistance. *Semin. Cancer Biol.* **59**, 92–111. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.07.003
22. Kim J., Cha Y.-N., Surh Y.-J. (2010) A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. *Mutat. Res.* **690**(1–2), 12–23. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2009.09.007

23. Pickering A.M., Linder R.A., Zhang H., Forman H.J., Davies K.J.A. (2012) Nrf2-dependent induction of proteasome and Pa28 $\alpha\beta$ regulator ARE required for adaptation to oxidative stress. *J. Biol. Chem.* **287**(13), 10021–10031. doi: 10.1074/jbc.M111.277145
24. Ghanim B.Y., Qinna N.A. (2022) Nrf2/ARE axis signalling in hepatocyte cellular death. *Mol. Biol. Rep.* **49**(5), 4039–4053. doi: 10.1007/s11033-022-07125-6
25. Johansen T., Lamark T. (2011) Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy*. **7**, 279–296. doi: 10.4161/auto.7.3.14487
26. Copple I.M., Lister A., Obeng A.D., Kitteringham N.R., Jenkins R.E., Layfield R., Foster B.J., Goldring C.E., Park B.K. (2010) Physical functional interaction of sequestosome 1 with Keap1 regulates the Keap1–Nrf2 cell defense pathway. *J. Biol. Chem.* **285**, 16782–16788. doi: 10.1074/jbc.M109.096545
27. Katsuragi Y., Ichimura Y., Komatsu M. (2015) p62/SQSTM1 functions as a signaling hub and an autophagy adaptor. *FEBS J.* **282**, 4672–4678.
28. Carroll B., Otten E.G., Manni D., Stefanatos R., Menzies F.M., Smith G.R., Jurk D., Kenneth N., Wilkinson S., Passos J.F., Attems J., Veal E.A., Teysou E., Seilhean D., Millicamps S., Eskelinen E.L., Bronowska A.K., Rubinsztein D.C., Sanz A., Korolchuk V.I. (2018) Oxidation of SQSTM1/p62 mediates the link between redox state and protein homeostasis. *Nat. Commun.* **9**, 256. doi: 10.1038/s41467-017-02746-z
29. Rogov V., Dotsch V., Johansen T., Kirkin V. (2014) Interactions between autophagy receptors and ubiquitin like proteins form the molecular basis for selective autophagy. *Mol. Cell.* **53**(2), 167–178. doi: 10.1016/j.molcel.2013.12.014
30. Dokladny K., Zuhl M.N., Mandell M., Bhattacharya D., Schneider S., Deretic V., Moseley P.L. (2013) Regulatory coordination between two major intracellular homeostatic systems: heat shock response autophagy. *J. Biol. Chem.* **288**(21), 14959–14972. doi: 10.1074/jbc.M113.462408
31. Krämer L., Groh C., Herrmann J.M. (2021) The proteasome: friend and foe of mitochondrial biogenesis. *FEBS Lett.* **595**(8), 1223–1238. doi: 10.1002/1873-3468.14010
32. Jin S.M., Lazarou M., Wang C., Kane L.A., Narendra D.P., Youle R.J. (2010) Mitochondrial membrane potential regulates PINK1 import and proteolytic destabilization by PARL. *J. Cell Biol.* **191**, 933–942. doi: 10.1083/jcb.201008084
33. Novak I. (2012) Mitophagy: a complex mechanism of mitochondrial removal. *Antioxid. Redox Signal.* **17**(5), 794–802. doi: 10.1089/ars.2011.4407
34. Sanz L., Sanchez P., Lallena M.-J., Diaz-Meco M.T., Moscat J. (1999) The interaction of p62 with RIP links the atypical PKCs to NF- κ B activation. *EMBO J.* **18**(11), 3044–3053. doi: 10.1093/emboj/18.11.3044
35. Choe J.Y., Jung H.Y., Park K.Y., Kim S.K. (2014) Enhanced p62 expression through impaired proteasomal degradation is involved in caspase-1 activation in monosodium urate crystal-induced interleukin-1 β expression. *Rheumatology (Oxford)*. **53**(6), 1043–1053. doi: 10.1093/rheumatology/ket474
36. Geisler S., Holmström K.M., Skujat D., Fiesel F.C., Rothfuss O.C., Kahle P.J., Springer W. (2010) PINK1/PARKIN-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat. Cell Biol.* **12**, 119–131. doi: 10.1038/ncb2012
37. Yamada T., Dawson T.M., Yanagawa T., Iijima M., Sesaki H. (2019) SQSTM1/p62 promotes mitochondrial ubiquitination independently of PINK1 and PRKN/PARKIN in mitophagy. *Autophagy*. **15**, 2012–2018. doi: 10.1080/15548627.2019.1643185
38. Sulkshane P., Ram J., Thakur A., Reis N., Kleinfeld O., Glickman M.H. (2021) Ubiquitination and receptor-mediated mitophagy converge to eliminate oxidation-damaged mitochondria during hypoxia. *Redox Biol.* **45**, 102047. doi: 10.1016/j.redox.2021.102047
39. Chu C.T. (2019) Mechanisms of selective autophagy and mitophagy: implications for neurodegenerative diseases. *Neurobiol. Dis.* **122**, 23–34. doi: 10.1016/j.nbd.2018.07.015
40. Pankiv S., Clausen T.H., Lamark T., Brech A., Bruun J.A., Outzen H., Øvervatn A., Bjørkøy G., Johansen T. (2007) p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *J. Biol. Chem.* **282**(33), 24131–24145. doi: 10.1074/jbc.M702824200
41. Boyle K.B., Randow F. (2013) The role of “eat-me” signals and autophagy cargo receptors in innate immunity. *Curr. Opin. Microbiol.* **16**(3), 339–348. doi: 10.1016/j.mib.2013.03.010
42. Korac J., Schaeffer V., Kovacevic I., Clement A.M., Jungblut B., Behl C., Terzic J., Dikic I. (2013) Ubiquitin-independent function of optineurin in autophagic clearance of protein aggregates. *J. Cell Sci.* **126**(Pt. 2), 580–592. doi: 10.1242/jcs.114926
43. Jo C., Gundemir S., Pritchard S., Jin Y.N., Rahman I., Johnson G.V. (2014) Nrf2 reduces levels of phosphorylated tau protein by inducing autophagy adaptor protein NDP52. *Nat. Commun.* **5**, 3496. doi: 10.1038/ncomms4496
44. Inomata M., Niida S., Shibata K., Into T. (2012) Regulation of Toll-like receptor signaling by NDP52-mediated selective autophagy is normally inactivated by A20. *Cell. Mol. Life Sci.* **69**(6), 963–979. doi: 10.1007/s00018-011-0819-y
45. Yang M., Wang L., Chen C., Guo X., Lin C., Huang W., Chen L. (2021) Genome-wide analysis of autophagy-related genes in *Medicago truncatula* highlights their roles in seed development and response to drought stress. *Sci. Rep.* **11**(1), 22933. doi: 10.1038/s41598-021-02239-6
46. Zhou J., Wang J., Cheng Y., Chi Y.J., Fan B., Yu J.Q., Chen Z. (2013) NBR1-mediated selective autophagy targets insoluble ubiquitinated protein aggregates in

- plant stress responses. *PLoS Genet.* **9**(1), e1003196. doi: 10.1371/journal.pgen.1003196
47. Zientara-Rytter K., Sirko A. (2014) Significant role of PB1 and UBA domains in multimerization of Joka2, a selective autophagy cargo receptor from tobacco. *Front. Plant Sci.* **5**, 13. doi: 10.3389/fpls.2014.00013
 48. Long J., Garner T.P., Pandya M.J., Craven C.J., Chen P., Shaw B., Williamson M.P., Layfield R., Searle M.S. (2010) Dimerisation of the UBA domain of p62 inhibits ubiquitinbinding and regulates NF- κ B signalling. *J. Mol. Biol.* **396**(1), 178–194. doi: 10.1016/j.jmb.2009.11.032
 49. Matsumoto G., Shimogori T., Hattori N., Nukina N. (2015) TBK1 controls autophagosomal engulfment of polyubiquitinated mitochondria through p62/SQSTM1 phosphorylation. *Hum. Mol. Genet.* **24**(15), 4429–4442. doi: 10.1093/hmg/ddv179
 50. Wurzer B., Zaffagnini G., Fracchiolla D., Turco E., Abert C., Romanov J., Martens S. (2015) Oligomerization of p62 allows for selection of ubiquitinated cargo and isolation membrane during selective autophagy. *Elife.* **4**, e08941. doi: 10.7554/eLife.08941
 51. Nagy P., Hegedus K., Piracs K., Varga A., Juhasz G. (2014) Different effects of Atg2 and Atg18 mutations on Atg8a and Atg9 trafficking during starvation in *Drosophila*. *FEBS Lett.* **588**(3), 408–413. doi: 10.1016/j.febslet.2013.12.012
 52. Nagy P., Kárpáti M., Varga A., Piracs K., Venkei Z., Takáts S., Varga K., Erdi B., Hegedűs K., Juhász G. (2014) Atg17/FIP200 localizes to perilyosomal Ref(2)P aggregates and promotes autophagy by activation of Atg1 in *Drosophila*. *Autophagy.* **10**(3), 453–467. doi: 10.4161/auto.27442
 53. Hennig P., Fenini G., Di Filippo M., Karakaya T., Beer H.D. (2021) The pathways underlying the multiple roles of p62 in inflammation and cancer. *Biomedicines.* **9**(7), 707. doi: 10.3390/biomedicines9070707
 54. Panwar V., Singh A., Bhatt M., Tonk R.K., Azizov S., Raza A.S., Sengupta S., Kumar D., Garg M. (2023) Multifaceted role of mTOR (mammalian target of rapamycin) signaling pathway in human health and disease. *Signal Transduct. Target. Ther.* **8**(1), 375. doi: 10.1038/s41392-023-01608-z
 55. Juhász G. (2012) Interpretation of bafilomycin, pH neutralizing or protease inhibitor treatments in autophagic flux experiments: novel considerations. *Autophagy.* **8**(12), 1875–1876. doi: 10.4161/auto.21544
 56. Danieli A., Martens S. (2018) p62-mediated phase separation at the intersection of the ubiquitin-proteasome system autophagy. *J. Cell Sci.* **131**(19), jcs214304. doi: 10.1242/jcs.214304
 57. Pai Y.L., Lin Y.J., Peng W.H., Huang L.T., Chou H.Y., Wang C.H., Chien C.T., Chen G.C. (2023) The deubiquitinase Leon/USP5 interacts with Atg1/ULK1 and antagonizes autophagy. *Cell Death Dis.* **14**(8), 540. doi: 10.1038/s41419-023-06062-x
 58. Yan J., Seibenhener M.L., Calderilla-Barbosa L., Diaz-Meco M.T., Moscat J., Jiang J., Wooten M.W., Wooten M.C. (2013) SQSTM1/p62 interacts with HDAC6 and regulates deacetylase activity. *PLoS One.* **278**(9), e76016. doi: 10.1371/journal.pone.0076016
 59. Nihira K., Miki Y., Ono K., Suzuki T., Sasano H. (2014) An inhibition of p62/SQSTM1 caused autophagic cell death of several human carcinoma cells. *Cancer Sci.* **105**(5), 568–575. doi: 10.1111/cas.12396
 60. Pankiv S., Lamark T., Bruun J.A., Øvervatn A., Bjørkøy G., Johansen T. (2010) Nucleocytoplasmic shuttling of p62/SQSTM1 and its role in recruitment of nuclear polyubiquitinated proteins to promyelocytic leukemia bodies. *J. Biol. Chem.* **285**(8), 5941–5953. doi: 10.1074/jbc.M109.039925
 61. Banani S.F., Lee H.O., Hyman A.A., Rosen M.K. (2017) Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **18**(5), 285–298. doi: 10.1038/nrm.2017.7
 62. Shin Y., Brangwynne C.P. (2017) Liquid phase condensation in cell physiology and disease. *Science.* **357**(6357), eaaf4382. doi: 10.1126/science.aaf4382
 63. Brangwynne C.P., Eckmann C.R., Courson D.S., Rybarska A., Hoegge C., Gharakhani J., Jülicher F., Hyman A.A. (2009) Germline P granules ARE liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation. *Science.* **324**, 1729–1732. doi: 10.1126/science.1172046
 64. Li P., Banjade S., Cheng H.C., Kim S., Chen B., Guo L., Llaguno M., Hollingsworth J.V., King D.S., Banani S.F., Russo P.S., Jiang Q.X., Nixon B.T., Rosen M.K. (2012) Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins. *Nature.* **483**(7389), 336–340. doi: 10.1038/nature10879
 65. Park S., Han S., Choi I., Kim B., Park S.P., Joe E.H., Suh Y.H. (2016) Interplay between leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) and p62/SQSTM-1 in selective autophagy. *PLoS One.* **11**(9), e0163029. doi: 10.1371/journal.pone.0163029
 66. Kurusu R., Morishita H., Komatsu M. (2024) p62 bodies: cytosolic zoning by phase separation. *J. Biochem.* **175**(2), 141–146. doi: 10.1093/jb/mvad089
 67. Jiang T., Harder B., Rojo de la Vega M., Wong P.K., Chapman E., Zhang D.D. (2015) p62 links autophagy and Nrf2 signaling. *Free Radic. Biol. Med.* **88**(Pt. B), 199–204. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.014
 68. Rhee S.G., Bae S.H. (2015) The antioxidant function of sestrins is mediated by promotion of autophagic degradation of Keap1 and Nrf2 activation and by inhibition of mTORC1. *Free Radic. Biol. Med.* **88**(Pt. B), 205–211. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.007
 69. Ro S.H., Fay J., Cyuzuzo C.I., Jang Y., Lee N., Song H.S., Harris E.N. (2020) SESTRINS: emerging dynamic stress-sensors in metabolic and environmental health. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**, 603421. doi: 10.3389/fcell.2020.603421

70. Bae S.H., Sung S.H., Oh S. Y., Lim J.M., Lee S.K., Park Y.N., Lee H.E., Kang D., Rhee S.G. (2013) Sestrins activate Nrf2 by promoting p62-dependent autophagic degradation of Keap1 prevent oxidative liver damage. *Cell Metab.* **17**(1), 73–84. doi: 10.1016/j.cmet.2012.12.002
71. Kovaleva I.E., Tokarchuk A.V., Zheltukhin A.O., Dalina A.A., Safronov G.G., Evstafieva A.G., Lyamzaev K.G., Chumakov P.M., Budanov A.V. (2020) Mitochondrial localization of Sesn2. *PLoS One.* **15**(4), e0226862. doi: 10.1371/journal.pone.0226862
72. Gong L., Wang Z., Wang Z., Zhang Z. (2021) Sestrin2 as a potential target for regulating metabolic-related diseases. *Front. Endocrinol.* (Lausanne). **12**, 751020. doi: 10.3389/fendo.2021.751020
73. Fatima M.T., Hasan M., Abdelsalam S.S., Sivaraman S.K., El-Gamal H., Zahid M.A., Elrayess M.A., Korashy H.M., Zeidan A., Parray A.S., Agouni A. (2021) Sestrin2 suppression aggravates oxidative stress and apoptosis in endothelial cells subjected to pharmacologically induced endoplasmic reticulum stress. *Eur. J. Pharmacol.* **907**, 174247. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174247
74. Joo M.S., Kim W.D., Lee K.Y., Kim J.H., Koo J.H., Kim S.G. (2016) AMPK facilitates nuclear accumulation of Nrf2 by phosphorylating at serine 550. *Mol. Cell. Biol.* **36**, 1931–1942. doi: 10.1128/MCB.00118-16
75. Mo C., Wang L., Zhang J., Numazawa S., Tang H., Tang X., Han X., Li J., Yang M., Wang Z., Wei D., Xiao H. (2014) The crosstalk between Nrf2 and AMPK signal pathways is important for the anti-inflammatory effect of berberine in LPS-stimulated macrophages and endotoxin-shocked mice. *Antioxid. Redox Signal.* **20**, 574–588. doi: 10.1089/ars.2012.5116
76. Herzig S., Shaw R.J. (2018) AMPK: Guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **19**, 121–135. doi: 10.1038/nrm.2017.95
77. Morgunova G.V., Klebanov A.A. (2019) Age-related AMP-activated protein kinase alterations: from cellular energetics to longevity. *Cell Biochem. Funct.* **37**(3), 169–176. doi: 10.1002/cbf.3384
78. Shackelford D.B., Shaw R.J. (2009) The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression. *Nat. Rev. Cancer.* **9**, 563–575. doi: 10.1038/nrc2676
79. Li X., Tang X., Su J., Xu G., Zhao L., Qi Q. (2019) Involvement of E-cadherin/AMPK/mTOR axis in LKB1-induced sensitivity of non-small cell lung cancer to gambogic acid. *Biochem. Pharmacol.* **169**, 113635. doi: 10.1016/j.bcp.2019.113635.72
80. O'Neill E.J., Sze N.S.K., MacPherson R.E.K., Tsiani E. (2024) Carnosic acid against lung cancer: induction of autophagy and activation of Sestrin-2/LKB1/AMPK signalling. *Int. J. Mol. Sci.* **25**(4), 1950. doi: 10.3390/ijms25041950
81. Kim M.J., Bae S.H., Ryu J.C., Kwon Y., Oh J.H., Kwon J., Moon J.S., Kim K., Miyawaki A., Lee M.G., Shin J., Kim Y.S., Kim C.H., Ryter S.W., Choi A.M., Rhee S.G., Ryu J.H., Yoon J.H. (2016) SESN2/Sestrin2 suppresses sepsis by inducing mitophagy and inhibiting NLRP3 activation in macrophages. *Autophagy.* **12**(8), 1272–1291. doi: 10.1080/15548627.2016.1183081
82. Tomasovic A., Kurrle N., Surun D., Heidler J., Husnjak K., Poser I., Schnutgen F., Scheibe S., Seimetz M., Jaksch P., Hyman A., Weissmann N., von Melchner H. (2015) Sestrin 2 protein regulates platelet-derived growth factor receptor β (Pdgfr β) expression by modulating proteasomal and Nrf2 transcription factor functions. *J. Biol. Chem.* **290**(15), 9738–9752. doi: 10.1074/jbc.M114.632133
83. Eid A.A., Lee D.Y., Roman L.J., Khazim K., Gorin Y. (2013) Sestrin 2 and AMPK connect hyperglycemia to Nox4-dependent endothelial nitric oxide synthase uncoupling and matrix protein expression. *Mol. Cell. Biol.* **33**(17), 3439–3460. doi: 10.1128/MCB.00217-13
84. Ichimura Y., Waguri S., Sou Y.-S., Kageyama S., Hasegawa J., Ishimura R., Saito T., Yang Y., Kouno T., Fukutomi T., Hoshii T., Hirao A., Takagi K., Mizushima T., Motohashi H., Lee M.-S., Yoshimori T., Tanaka K., Yamamoto M., Komatsu M. (2013) Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. *Mol. Cell.* **51**(5), 618–631. doi: 10.1016/j.molcel.2013.08.003
85. Hashimoto K., Simmons A.N., Kajino-Sakamoto R., Tsuji Y., Ninomiya-Tsuji J. (2016) TAK1 regulates the Nrf2 antioxidant system through modulating p62/SQSTM1. *Antioxid. Redox Signal.* **25**, 953–964. doi: 10.1089/ars.2016.6663
86. Ran D., Ma Y., Liu W., Luo T., Zheng J., Wang D., Song R., Zhao H., Zou H., Gu J., Yuan Y., Bian J., Liu Z. (2020) TGF- β -activated kinase 1 (TAK1) mediates cadmium-induced autophagy in osteoblasts via the AMPK/mTORC1/ULK1 pathway. *Toxicology.* **442**, 152538. doi: 10.1016/j.tox.2020.152538
87. Duleh S., Wang X., Komirenko A., Margeta M. (2016) Activation of the Keap1/Nrf2 stress response pathway in autophagic vacuolar myopathies. *Acta Neuropathol. Commun.* **4**(1), 115. doi: 10.1186/s40478-016-0384-6
88. Yang Y., Willis T.L., Button R.W., Strang C.J., Fu Y., Wen X., Grayson P.R.C., Evans T., Siphthorpe R.J., Roberts S.L., Hu B., Zhang J., Lu B., Luo S. (2019) Cytoplasmic DAXX drives SQSTM1/p62 phase condensation to activate Nrf2-mediated stress response. *Nat. Commun.* **10**(1), 3759. doi: 10.1038/s41467-019-11671-2.19
89. Goode A., Rea S., Sultana M., Shaw B., Searle M.S., Layfield R. (2016) ALS-FTLD associated mutations of SQSTM1 impact on Keap1-Nrf2 signalling. *Mol. Cell. Neurosci.* **76**, 52–58. doi: 10.1016/j.mcn.2016.08.004
90. Rolland T., Taşan M., Charlotiaux B., Pevzner S.J., Zhong Q., Sahni N., Yi S., Lemmens I., Fontanillo C., Mosca R., Kamburov A., Ghiassian S.D., Yang X., Ghamsari L., Balcha D., Begg B.E., Braun P.,

- Brehme M., Broly M.P., Carvunis A.-R., Convery-Zupan D., Corominas R., Coulombe-Huntington J., Dann E., Dreze M., Dricot A., Fan C., Franzosa E., Gebreab F., Gutierrez B.J., Hardy M.F., Jin M., Kang S., Kiroos R., Lin G.N., Luck K., MacWilliams A., Menche J., Murray R.R., Palagi A., Poulin M.M., Rambout X., Rasla J., Reichert P., Romero V., Ruysinck E., Sahalie J.M., Scholz A., Shah A.A., Sharma A., Shen Y., Spirohn K., Tam S., Tejada A.O., Trigg S.A., Twizere J.-C., Vega K., Walsh J., Cusick M.E., Xia Y., Barabási A. L., Iakoucheva L.M., Aloy P., De Las Rivas J., Tavernier J., Calderwood M.A., Hill D.E., Hao T., Roth F.P., Vidal M. (2014) A proteome-scale map of the human interactome network. *Cell*. **159**, 1212–1226. doi: 10.1016/j.cell.2014.10.050
91. Seth D., Hess D.T., Hausladen A., Wang L., Wang Y.-J., Stamler J.S. (2018) A multiplex enzymatic machinery for cellular protein S-nitrosylation. *Mol. Cell*. **69**, 451–464.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2017.12.025
92. Bonnet L.V., Palandri A., Flores-Martin J.B., Hallak M.E. (2024) Arginyltransferase 1 modulates p62-driven autophagy via mTORC1/AMPK signaling. *Cell Commun. Signal*. **22**(1), 87. doi: 10.1186/s12964-024-01499-9
93. Ji C.H., Kwon Y.T. (2017) Crosstalk and interplay between the ubiquitin-proteasome system and autophagy. *Mol. Cells*. **40**(7), 441–449. doi: 10.14348/molcells.2017.0115
94. Lee S.J., Kim H.Y., Lee M.J., Kim S.B., Kwon Y.T., Ji C.H. (2023) Characterization and chemical modulation of p62/SQSTM1/Sequestosome-1 as an autophagic N-recognin. *Methods Enzymol*. **686**, 235–265. doi: 10.1016/bs.mie.2023.02.005
95. Zhang Y., Mun S.R., Linares J.F., Ahn J., Towlers C.G., Ji C.H., Fitzwalter B.E., Holden M.R., Mi W., Shi X., Moscat J., Thorburn A., Diaz-Meco M.T., Kwon Y.T., Kutateladze T.G. (2018) ZZ-dependent regulation of p62/SQSTM1 in autophagy. *Nat. Commun*. **9**(1), 4373. doi: 10.1038/s41467-018-06878-8
96. Cha-Molstad H., Yu J.E., Feng Z., Lee S.H., Kim J.G., Yang P., Han B., Sung K.W., Yoo Y.D., Hwang J., McGuire T., Shim S.M., Song H.D., Ganipiseti S., Wang N., Jang J.M., Lee M.J., Kim S.J., Lee K.H., Hong J.T., Ciechanover A., Mook-Jung I., Kim K.P., Xie X.Q., Kwon Y.T., Kim B.Y. (2017) p62/SQSTM1/Sequestosome-1 is an N-recognin of the N-end rule pathway which modulates autophagosome biogenesis. *Nat. Commun*. **8**(1), 102. doi: 10.1038/s41467-017-00085-7
97. Demishtein A., Fraiberg M., Berko D., Tirosh B., Elazar Z., Navon A. (2017) SQSTM1/p62-mediated autophagy compensates for loss of proteasome polyubiquitin recruiting capacity. *Autophagy*. **13**(10), 1697–1708. doi: 10.1080/15548627.2017.1356549
98. Jung E.J., Sung K.W., Bae T.H., Kim H.Y., Choi H.R., Kim S.H., Jung C.H., Mun S.R., Son Y.S., Kim S., Suh Y.H., Kashina A., Park J.W., Kwon Y.T. (2023) The N-degron pathway mediates lipophagy: the chemical modulation of lipophagy in obesity and NAFLD. *Metabolism*. **146**, 155644. doi: 10.1016/j.metabol.2023.155644
99. Yoon M.J., Choi B., Kim E.J., Ohk J., Yang C., Choi Y.G., Lee J., Kang C., Song H.K., Kim Y.K., Woo J.S., Cho Y., Choi E.J., Jung H., Kim C. (2021) UXT chaperone prevents proteotoxicity acting as an autophagy adaptor for p62-dependent aggrephagy. *Nat. Commun*. **12**(1), 1955. doi: 10.1038/s41467-021-22252-7
100. Pan M., Yin Y., Hu T., Wang X., Jia T., Sun J., Wang Q., Meng W., Zhu J., Dai C., Hu H., Wang C. (2023) UXT attenuates the CGAS-STING1 signaling by targeting STING1 for autophagic degradation. *Autophagy*. **19**(2), 440–456. doi: 10.1080/15548627.2022.2076192
101. Han P., Mo S., Wang Z., Xu J., Fu X., Tian Y. (2023) UXT at the crossroads of cell death, immunity and neurodegenerative diseases. *Front. Oncol*. **13**, 1179947. doi: 10.3389/fonc.2023.1179947
102. Sun S., Tang Y., Lou X., Zhu L., Yang K., Zhang B., Shi H., Wang C. (2007) UXT is a novel and essential cofactor in the NF- κ B transcriptional enhanceosome. *J. Cell Biol*. **178**(2), 231–244. doi: 10.1083/jcb.200611081
103. Sarkar S., Rubinsztein D.C. (2008) Small molecule enhancers of autophagy for neurodegenerative diseases. *Mol. Biosyst*. **4**(9), 895–901. doi: 10.1039/b804606a
104. Mizunoe Y., Kobayashi M., Sudo Y., Watanabe S., Yasukawa H., Natori D., Hoshino A., Negishi A., Okita N., Komatsu M., Higami Y. (2018) Trehalose protects against oxidative stress by regulating the Keap1-Nrf2 and autophagy pathways. *Redox Biol*. **15**, 115–124. doi: 10.1016/j.redox.2017.09.007
105. Galati S., Boni C., Gerra M.C., Lazzaretti M., Buschini A. (2019) Autophagy: a player in response to oxidative stress and DNA damage. *Oxid. Med. Cell. Longev*. **2019**, 5692958. doi: 10.1155/2019/5692958
106. Beese C.J., Brynjólfssdóttir S.H., Frankel L.B. (2020) Selective autophagy of the protein homeostasis machinery: ribophagy, proteaphagy and ER-phagy. *Front. Cell Dev. Biol*. **7**, 373. doi: 10.3389/fcell.2019.00373
107. Kim J., Lee S., Kim H., Lee H., Seong K.M., Youn H., Youn B. (2021) Autophagic organelles in DNA damage response. *Front. Cell Dev. Biol*. **9**, 668735. doi: 10.3389/fcell.2021.668735
108. Jadia P., Tomar D. (2020) Mitochondrial protein quality control mechanisms. *Genes (Basel)*. **11**(5), 563. doi: 10.3390/genes11050563
109. Rödl S., Herrmann J.M. (2023) The role of the proteasome in mitochondrial protein quality control. *IUBMB Life*. **75**(10), 868–879. doi: 10.1002/iub.2734
110. Gureev A.P., Shaforostova E.A., Popov V.N. (2019) Regulation of mitochondrial biogenesis as a way for active longevity: interaction between the Nrf2 and

- PGC-1 α signaling pathways. *Front. Genet.* **10**, 435. doi: 10.3389/fgene.2019.00435
111. Gureev A.P., Sadovnikova I.S., Starkov N.N., Starkov A.A., Popov V.N. (2020) p62-Nrf2-p62 mitophagy regulatory loop as a target for preventive therapy of neurodegenerative diseases. *Brain Sci.* **10**(11), 847. doi: 10.3390/brainsci10110847
 112. Шиловский Г.А., Ашапкин В.В. (2022) Транскрипционный фактор Nrf2 и митохондрии – друзья или противники в редокс-регуляции темпов старения. *Биохимия.* **87**(12), 1856–1867. doi: 10.31857/S0320972522120065
 113. Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A. (2021) Interactions between reactive oxygen species and autophagy: Special issue: Death mechanisms in cellular homeostasis. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.* **1868**(8), 119041. doi: 10.1016/j.bbamcr.2021.119041
 114. Lu C., Jiang Y., Xu W., Bao X. (2023) Sestrin2: multifaceted functions, molecular basis, and its implications in liver diseases. *Cell Death Dis.* **14**(2), 160. doi: 10.1038/s41419-023-05669-4
 115. Далина А.А., Ковалева И.Е., Буданов А.В. (2018) Сестрины – шлагбаумы на путях от стресса к старению и болезням. *Молекуляр. биология.* **52**(6), 948–962. doi: 10.1134/S0026898418060046
 116. Haidurov A., Budanov A.V. (2020) Sestrin family – the stem controlling healthy ageing. *Mech. Ageing Dev.* **192**, 111379. doi: 10.1016/j.mad.2020.111379
 117. Ma S., Attarwala I.Y., Xie X.Q. (2019) SQSTM1/p62: a potential target for neurodegenerative disease. *ACS Chem. Neurosci.* **10**, 2094–2114. doi: 10.1021/acscchemneuro.8b00516
 118. Ramesh Babu J., Lamar Seibenhener M., Peng J., Strom A.L., Kemppainen R., Cox N., Zhu H., Wooten M.C., Diaz-Meco M.T., Moscat J., Wooten M.W. (2008) Genetic inactivation of p62 leads to accumulation of hyperphosphorylated tau and neurodegeneration. *J. Neurochem.* **106**(1), 107–120. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05340.x
 119. Zheng X., Wang W., Liu R., Huang H., Zhang R., Sun L. (2012) Effect of p62 on tau hyperphosphorylation in a rat model of Alzheimer's disease. *Neural Regen. Res.* **7**, 1304–1311. doi: 10.3969/j.issn.1673-5374.2012.17.004
 120. Caccamo A., Ferreira E., Branca C., Oddo S. (2017) p62 improves AD-like pathology by increasing autophagy. *Mol. Psychiatry.* **22**, 865–873. doi: 10.1038/mp.2016.139
 121. Katsuragi Y., Ichimura Y., Komatsu M. (2016) Regulation of the Keap1–Nrf2 pathway by p62/SQSTM1. *Curr. Opin. Toxicol.* **1**, 54–61. doi: 10.1016/j.cotox.2016.09.005
 122. Saito T., Ichimura Y., Taguchi K., Suzuki T., Mizushima T., Takagi K., Hirose Y., Nagahashi M., Iso T., Fukutomi T., Iso T., Fukutomi T., Ohishi M., Endo K., Uemura T., Nishito Y., Okuda S., Obata M., Kouno T., Imamura R., Tada Y., Obata R., Yasuda D., Takahashi K., Fujimura T., Pi J., Lee M.S., Ueno T., Ohe T., Mashino T., Wakai T., Kojima H., Okabe T., Nagano T., Motohashi H., Waguri S., Soga T., Yamamoto M., Tanaka K., Komatsu M. (2016) p62/Sqstm1 promotes malignancy of HCV-positive hepatocellular carcinoma through Nrf2-dependent metabolic reprogramming. *Nat. Commun.* **7**, 12030. doi: 10.1038/ncomms12030
 123. Menegon S., Columbano A., Giordano S. (2016) The dual roles of Nrf2 in cancer. *Trends Mol. Med.* **22**, 578–593. doi: 10.1016/j.molmed.2016.05.002
 124. Ahmed S.M., Luo L., Namani A., Wang X.J., Tang X. (2017) Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* **1863**, 585–597. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.11.005
 125. Hennig P., Di Filippo M., Bilfeld G., Mellett M., Beer H.D. (2022) High p62 expression suppresses the NLRP1 inflammasome and increases stress resistance in cutaneous SCC cells. *Cell Death Dis.* **13**(12), 1077. doi: 10.1038/s41419-022-05530-0
 126. Jeong S.J., Zhang X., Rodriguez-Velez A., Evans T.D., Razani B. (2019) p62/SQSTM1 and selective autophagy in cardiometabolic diseases. *Antioxid. Redox Signal.* **31**(6), 458–471. doi: 10.1089/ars.2018.7649
 127. Davidson J.M., Chung R.S., Lee A. (2022) The converging roles of sequestosome-1/p62 in the molecular pathways of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD). *Neurobiol. Dis.* **166**, 105653. doi: 10.1016/j.nbd.2022.105653
 128. Jiang B., Zhou X., Yang T., Wang L., Feng L., Wang Z., Xu J., Jing W., Wang T., Su H., Yang G., Zhang Z. (2023) The role of autophagy in cardiovascular disease: cross-interference of signaling pathways and underlying therapeutic targets. *Front. Cardiovasc. Med.* **10**, 1088575. doi: 10.3389/fcvm.2023.1088575
 129. Tan C.T., Soh N.J.H., Chang H.C., Yu V.C. (2023) p62/SQSTM1 in liver diseases: the usual suspect with multifarious identities. *FEBS J.* **290**(4), 892–912. doi: 10.1111/febs.16317
 130. Yang H., Ni H.M., Ding W.X. (2019) Emerging players in autophagy deficiency-induced liver injury and tumorigenesis. *Gene Exp.* **19**(3), 229–234. doi: 10.3727/105221619X15486875608177
 131. Yu M., Zhang H., Wang B., Zhang Y., Zheng X., Shao B., Zhuge Q., Jin K. (2021) Key signaling pathways in aging and potential interventions for healthy aging. *Cells.* **10**(3), 660. doi: 10.3390/cells10030660
 132. Si J., Liu B., Qi K., Chen X., Li D., Yang S., Ji E. (2023) Tanshinone IIA inhibited intermittent hypoxia induced neuronal injury through promoting autophagy via AMPK-mTOR signaling pathway. *J. Ethnopharmacol.* **315**, 116677. doi: 10.1016/j.jep.2023.116677

p62: Intersection of Antioxidant Defense and Autophagy Pathways

G. A. Shilovsky^{1, 2, *}

¹*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russia*

²*Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, 127051 Russia*

**email: gregory_sh@list.ru, gr_gerontol@gmail.com*

Numerous regulatory cascades link the cell's response to oxidative stress and the mechanisms of maintaining homeostasis and cell viability. The review summarizes the molecular mechanisms of interaction of the autophagy protein p62 with cell defense systems, primarily through the NRF2/KEAP1/ARE pathway. Understanding the cross-regulation of antioxidant defense and autophagy pathways contributes to the search for promising molecular targets for the treatment of age-related diseases.

Keywords: p62, NRF2, autophagy, feedback loop, KEAP1, age-related diseases, sestrins