

Received: 2013.08.22
Accepted: 2014.04.23
Published: 2014.07.01

Autofagia, nowe perspektywy w terapii przeciwnowotworowej*

Autophagy, new perspectives in anticancer therapy

Natalia Lisiak, Ewa Totoń, Maria Rybczyńska

Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Autofagia, której rolą jest degradacja zbędnych lub uszkodzonych elementów komórek, jest niezwykle istotna w wielu ludzkich chorobach, zwłaszcza nowotworach. Proces ten wpływa różnorodnie na etapy inicjacji i progresji nowotworu, co jest spowodowane nakładaniem się ścieżek sygnałowych autofagii i kancerogenezy. Jednak, ze względu na złożoność raka jako choroby układowej, o losie komórki nowotworowej nie decyduje jedna ścieżka sygnałowa. Przewlekłe zahamowanie autofagii promuje nowotworzenie, wskutek niestabilności genomu, wadliwego wzrostu komórek, a także w wyniku stresu komórkowego. Jednak zwiększona indukcja autofagii może się stać mechanizmem pozwalającym na przetrwanie komórek guza w stanie niedotlenienia, kwasicy lub pod wpływem chemioterapii. Dlatego też w rozwoju nowotworu, proces autofagii należy rozpatrywać dwukierunkowo. Określenie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw procesu autofagii i jej roli w nowotworzeniu jest podstawowym elementem strategii przeciwnowotworowej. Głównym celem nowoczesnej onkologii, który ostatecznie powinien doprowadzić do powstania spersonalizowanego leczenia pacjentów, jest możliwość przewidywania odpowiedzi konkretnego typu nowotworu na zastosowany lek. Wyniki badań *in vitro* i *in vivo*, przedstawiają ogrom relacji zachodzących między zmianami w genomie, a odpowiedzią na zastosowaną terapię. Informacje te wskazują na mechanizm i tym samym punkt docelowego działania leków. Celem artykułu jest omówienie molekularnego podłoża autofagii i roli tego procesu w terapii nowotworów, co może ułatwić zrozumienie relacji autofagia-rak i wskazać kierunek projektowania nowych leków o aktywności przeciwnowotworowej.

Słowa kluczowe: autofagia • rak • terapia celowana

Summary

Autophagy, the process of degradation of unwanted or damaged cell elements, is extremely important for a variety of human diseases, especially cancers. This process influences various stages of initiation and progression of cancer, which is caused by overlapping signaling pathways of autophagy and carcinogenesis. However, due to the complexity of cancer as a systemic disease, the fate of tumor cells is not determined by one signal pathway. Chronic autophagy inhibition leads to tumor promotion, due to instability of the genome, defective cell growth, also as a result of cellular stress. However, increased induction of autophagy may be a mechanism for tumor cell survival in the state of hypoxia, acidosis, as well as under the influence of chemotherapy. Therefore, in the context of cancer development, the process of autophagy should be considered in two directions. Determination of the molecular mechanisms underlying the process of autophagy and its role in the carcinogenesis is a key element

* Praca została sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki (grant nr 2011/01/N/NZ4/03433).

	<p>of the anticancer strategy. The main objective of modern oncology, which should eventually lead to personalized therapy, is the possibility to predict the response of a particular type of cancer to the used drug. Results of in vitro and in vivo studies show the magnitude of the relationship between changes in the genome, and response to the therapy. This information indicates the mechanism and thereby the target point of the drugs. In this review we focus on the mechanism of autophagy and its role in cancer therapy, which can help to understand the autophagy-cancer relationship and indicate the direction for the design of new drugs with anticancer activity.</p>
Keywords:	autophagy • cancer • targeted therapy
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1111361
Word count:	4910
Tables:	1
Figures:	2
References:	81
Adres autorki:	dr Natalia Lisiak, Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań; e-mail: nszyman@ump.edu.pl
Wykaz skrótów:	<p>AMPK – kinaza aktywowana 5'AMP (5'AMP-activated protein kinase), Atg – geny związane z autofagią (autophagy-related genes), BCR-ABL – kinaza tyrozynowa (BCR-ABL tyrosine kinase), BECN1 – Beklina 1 (Beclin 1), BNIP3 – białko z rodziny Bcl2 (BCL2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3), CCD – domena bekliny 1 centralna superhelisa (coiled coil domain), CMA – autofagia zależna od chaperonów (chaperone-mediated autophagy), DAPK-1 – kinaza białkowa związana ze śmiercią (death-associated protein kinase), DRAM – regulowany zniszczeniem modulator autofagii (damage-regulated autophagy modulator), ECD – ewolucyjnie zachowana domena (evolutionarily conserved domain), EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor), ER – receptor estrogenowy (estrogen receptor), GABARAP – białko typu A związane z receptorem kwasu gamma-aminomasłowego (gamma-aminobutyric acid recepto-associated domain), GATE-16 – białko uczestniczące w transporcie białek wewnątrz aparatu Golgiego o masie 16 kDa (Golgi-associated ATPase enhancer of 16 kDa), HDAC – deacetylaza histonowa (histone deacetylase), HER2 – ludzki receptor 2 epidermalnego czynnika wzrostu (human epidermal growth factor receptor 2), IR – receptor insulinowy (insulin receptor), LAMP-2a – białko związane z błoną lizosomu (lysosomal-associated membrane protein-2a), LC3-II-PE – kompleks białka LC3 II z fosfatydyloetanolaminą (light chain 3-II – phosphatidylethanolamine complex), MAP1-LC3 – lekki łańcuch 3 białka związanego z mikrotubulami (microtubul associated protein light chain 3), mTOR – ssaczy cel dla rapamycyny (mammalian target of rapamycin), mTORC1 – kompleks 1 mTOR (mammalian target of rapamycin complex 1), mTORC2 – kompleks 2 mTOR (mammalian target of rapamycin complex 2), NES – sygnał eksportu jądrowego (nuclear export signal), NSF – białko fuzji wrażliwe na N-etylmalimid (N-ethylmalimide sensitive fusion), PAS – struktury pre-autofagosomalne (preautophagosomal structure), PDGFR – płytkopochodny receptor czynnika wzrostu (platelet-derived growth factor receptor), PDK – kinaza białkowa zależna od fosfatydyloinozytolu (phosphoinositide-dependent kinase), PI3K-III – kinaza fosfatydylo-3 inozytolu klasa III (phosphoinositide 3-kinase class III), PIP3 – fosfatydyloinozytolotrifosforan (phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate), SNARE – białko receptorowe (soluble NSF-attachment protein receptor), SRC – kinaza tyrozynowa (Src tyrosine kinase), TKI – inhibitor kinazy tyrozynowej (tyrosine kinase inhibitor), ULK1 – ortolog Atg1 (unc-51-like kinase 1), UVRAG – produkt genu związanego z opornością na promieniowanie ultrafioletowe (ultraviolet irradiation resistance-associated gene), VEGF-A – czynnik A wzrostu śródbłonna naczyniowego (vascular endothelial growth factor – A), Vps34 – drożdżowy ortolog PI3K (vacuolar protein sorting 34).</p>

WSTĘP

Termin autofagia pochodzi z języka greckiego, w którym oznacza: *auto* (samo), *phagy* (zjadanie). Odnosi się do bardzo konserwatywnego, starego filogenetycznie procesu, służącego degradacji uszkodzonych organelli, elementów cytoplazmy oraz białek o długim okresie półtrwania. Proces ten zachodzi z udziałem lizosomów, a jego występowanie zaobserwowano w komórkach wszystkich organizmów eukariotycznych [39,44,73].

Celem autofagii jest utrzymywanie homeostazy w komórce, zapewniając równowagę między wytwarzaniem a degradacją elementów komórkowych. Jednak proces ten może również doprowadzać do całkowitej destrukcji komórki. W związku z tym autofagia jest określana mianem programowanej śmierci komórki typu II [57]. Ten typ śmierci komórki charakteryzuje się częściową kondensacją chromatyny, degradacją elementów subkomórkowych, takich jak na przykład: polirybosomów, retikulum endoplazmatycznego czy aparatu Golgiego. Jest to proces niezależny od kaspaz, przebiegający z podwyższoną aktywnością enzymów lizosomanych. Za regulację autofagii odpowiedzialne są geny *atg* (autophagy-related genes), których produktami są białka Atg, zaangażowane w poszczególne etapy autofagii. Do tej pory w komórkach drożdży zidentyfikowano 34 różne białka należące do tej grupy (Atg1-Atg34), a w komórkach wyższych eukariotów odpowiadające im 34 ortologi [47,75].

Dowodzono, że autofagia bierze udział w procesach fizjologicznych, takich jak na przykład: biosynteza neuromelaniny, dojrzewanie erytrocytów, a także wewnątrzkomórkowa biogeneza surfaktantu na powierzchni pneumocytów. Wykazano również udział autofagii w regulacji długości życia organizmów. Przy występowaniu mutacji w genie *Atg5*, który jest odpowiedzialny za uruchomienie autofagii, dochodzi do śmierci mysich noworodków zaraz po ich urodzeniu [45]. Rola autofagii w procesach fizjologicznych to jednak przede wszystkim utrzymanie homeostazy wewnątrz organizmu [27].

Za indukcję autofagii mogą być odpowiedzialne różne czynniki, m.in.: brak pożywienia, niedotlenienie, cytokiny, hormony, uszkodzenie struktury DNA [44]. Przewlekłe zahamowanie autofagii doprowadza do nowotworzenia, wskutek niestabilności genomu, wadliwego wzrostu komórek, również w wyniku stresu komórkowego. Jednak zwiększona indukcja autofagii może się stać mechanizmem pozwalającym na przetrwanie komórek guza w stanie niedotlenienia, kwasicy lub pod wpływem chemioterapii. Dlatego też w rozwoju nowotworu, proces autofagii należy rozpatrywać dwukierunkowo [38].

MECHANIZM AUTOFAGII

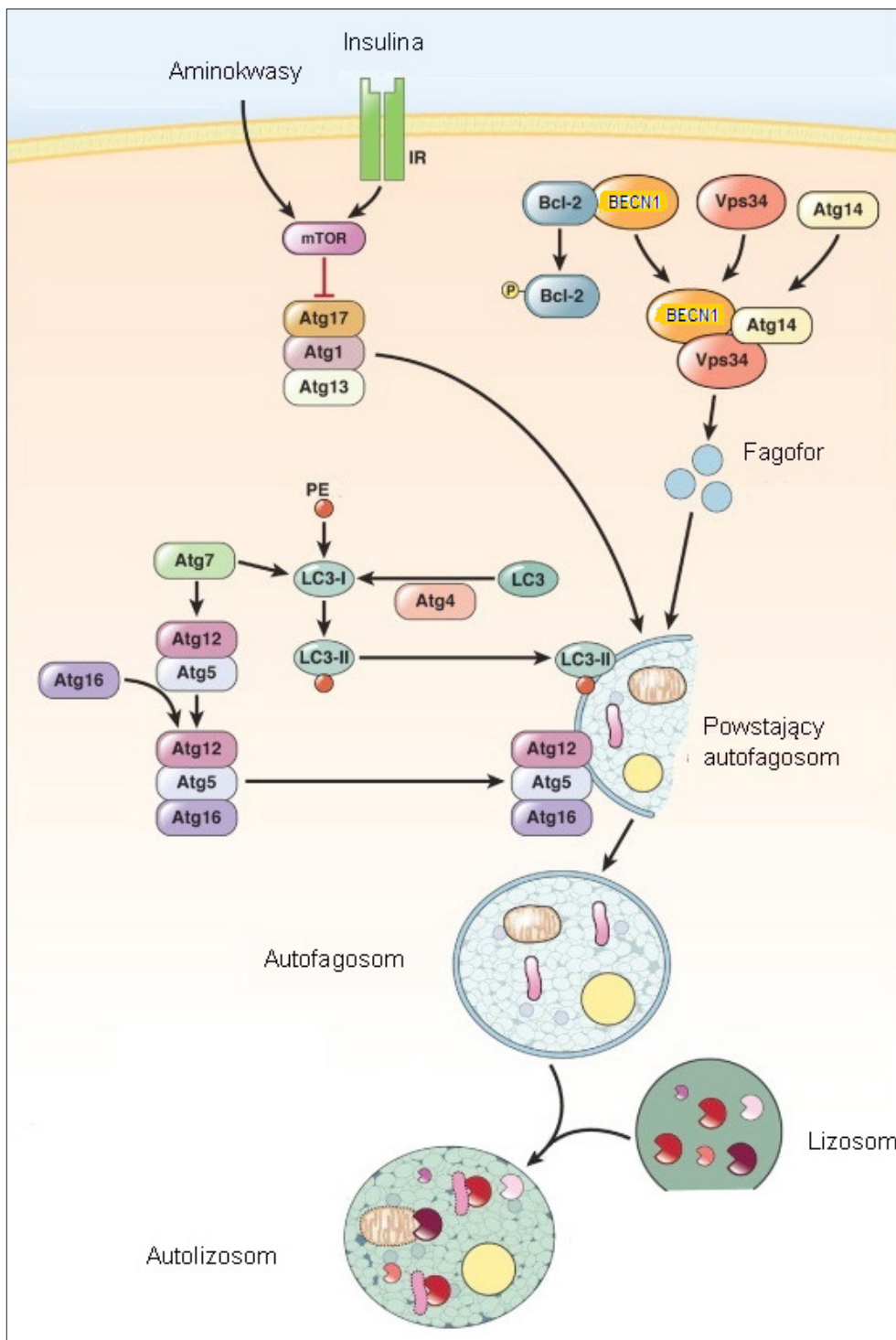
W ciągu wielu lat, wraz z rozwojem technik biologii molekularnej, doszło do lepszego zrozumienia tak skom-

plikowanego procesu, jakim jest autofagia. Jako model badawczy mechanizmu autofagii wykorzystano komórki drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.

W procesie autofagii wyróżniamy: autofagię zależną od chaperonów (chaperone-mediated autophagy, CMA), autofagię swoistą (m.in. lipofagię, mitofagię, peksofagię, rybofagię) oraz mikroautofagię i makroautofagię [50]. Klasyfikację przeprowadzono na podstawie wielkości eliminowanych substratów oraz skali ich degradacji. Podczas CMA trawieniu ulegają pojedyncze białka oraz peptydy, które znajdują się w cytoplazmie. W procesie mikroautofagii eliminacji ulegają związki rozproszone w cytoplazmie, małe organelle, fragmenty jądra komórkowego. Proces makroautofagii polega na degradacji kompleksów białkowych, białkowo-lipidowych znajdujących się w cytoplazmie, a także organelli oraz struktur błoniastych [47]. Makroautofagia charakteryzuje się powstawaniem w cytoplazmie autofagosomów, będących strukturami o podwójnej błonie, której pochodzenie nie jest w pełni udowodnione, choć sugeruje się, że jej źródłem mogą być błony retikulum endoplazmatycznego, aparatu Golgiego bądź zewnętrzna błona mitochondrium [71]. Zwyczajowo przyjęło się nazywać makroautofagię mianem autofagii [20,73]. Proces ten można podzielić na cztery etapy, w których istotną funkcję pełnią białka Atg [6,10] (ryc. 1). Ze względu na pełnione funkcje zostały sklasyfikowane w sześć grup. Pierwsza grupa to kompleks kinazy ULK1 (ULK – mAtg13 – FIP200 – Atg101), którego najważniejszą składową jest mAtg13, będący nośnikiem sygnału do rozpoczęcia autofagii. Drugą grupę stanowi Atg9, białko transportujące składniki lipidowe niezbędne do budowy podwójnej błony izolującej, czyli fagoforu. Trzecią tworzy kompleks kinazy PI3 klasy III, składający się z Vps34 – Bekliny 1 – Vps15 – mAtg14 i pełniący rolę w formowaniu fagoforu. Czwartą grupą jest kompleks PI3K – Atg2 – Atg18, którego zadaniem jest recyrkulacja Atg9 w obrębie struktur preautofagosomalnych (PAS), co jest niezbędne do wydłużania jeszcze niedojrzałej błony fagoforu. Piątą grupę reprezentuje kompleks Atg12 – Atg5 – Atg16L, będący podstawą do tworzenia multimetrów wymaganych do zakrzywienia błony tworzącego się fagoforu. Ostatnią grupą są białka Atg8, które przez połączenie z fosfatydyloetanoloaminą (phosphatidylethanolamine, PE) prowadzą do powstania autofagosomu [52,58,68].

Aktywacja procesu autofagii rozpoczyna się od formowania fagoforu oraz jego stopniowego rozszerzania, w celu utworzenia autofagosomu. Za inicjację tego etapu jest odpowiedzialny kompleks, w skład którego wchodzi: kinaza 3-fosfatydyloinozytoli klasy III (PI3K-III) (ortolog drożdżowy-Vps34), Beklina 1 oraz kinaza serynowa p150. W ten etap autofagii jest zaangażowane także białko błonowe Atg9, znajdujące się w strukturze preautofagosomalnej (PAS) oraz Atg2, z którym oddziałuje i dzięki temu może formować błonę izolującą [75].

Powstawanie autofagosomu zależy od dwóch ubikwitynopodobnych kompleksów białek: Atg12-Atg5 oraz LC3-



Ryc. 1. Mechanizm procesu autofagii (wg [10]). Inicjacja procesu z udziałem kompleksu: kinaza 3-fosfatydyloinozytolu klasy III (PI3K-III) (ortolog drożdżowy – Vps34), Beklina 1 (BECN1) oraz kinaza serynowa p150. Powstawanie autofagosomu zależy od tworzenia dwóch ubikwitynopodobnych kompleksów białek. Pierwszy kompleks wymaga obecności czterech białek: Atg5, 7, 10, 12. Białka Atg12 i Atg7 zostają połączone ze sobą nietrwale, następnie Atg12 przenoszone zostaje na Atg10, gdzie ulega sprzężeniu z Atg5 i powstaje kompleks Atg12-Atg5. W kolejnym etapie kompleks Atg12-Atg5 zostaje związany z białkiem Atg16, następnie dochodzi do multimeryzacji i powstania tetrameru. Drugi kompleks niezbędny do powstania autofagosomu to LC3-II-PE. Kompleks ten powstaje, gdy białko LC3 znajdujące się w cytosolu, w wyniku cięcia proteolitycznego przez Atg4 ulega przemianom do postaci LC3-I, następnie w wyniku działania Atg7 i Atg3 oraz odwracalnego połączenia LC3-I z grupą aminową fosfatydyloetanolaminy (PE) przekształca się w dojrzałą postać LC3-II, wbudowywaną do błony izolującej autofagosom; Atg14 – białko kompleksu PI3K, odpowiedzialne za swoiste wiązanie kompleksu do struktur preautofagosomalnych (PAS); Atg17-Atg1-Atg13 – kompleks regulujący autofagię przez oddziaływanie z mTOR; Bcl-2 – białko z rodziny Bcl-2, inhibitor autofagii; IR – receptor insulinowy; mTOR – szczyt cel dla rapamycyny, negatywny regulator indukcji autofagii

-II-fosfatydyloetanolamina (LC3-II-PE). Kompleksy te są sprzężone ze sobą i powstanie struktury autofagosomu wymaga prawidłowego działania ich obu [10].

Pierwszy z kompleksów wymaga obecności czterech białek: Atg5, 7, 10, 12. Atg12 jest białkiem zbudowanym z 186 aminokwasów, w którym glicyna na C-końcu zostaje aktywowana przez Atg7. Białko to pełni rolę podobną do enzymu E1, zaangażowanego w ubikwitynację. Białka Atg12 i Atg7 zostają połączone ze sobą nie-trwale, a następnie Atg12 przenoszone zostaje na Atg10, będące odpowiednikiem enzymu ubikwitynującego E2, i sprzężone z Atg5. Rezultatem sprzęgania jest powstanie kompleksu Atg12-Atg5, w którym białka są połączone za pomocą wiązania izopeptydowego. Wiązanie to powstaje przez połączenie glicyny w C-końcowym odcinku Atg12 z lizyną 149 w Atg5 [75,77]. W następnym etapie kompleks Atg12-Atg5 zostaje związany z białkiem Atg16, dochodzi do multimeryzacji i powstania tetrameru, który jest niezbędny do rozpoczęcia formowania autofagosomu przez wydłużenie błony izolującej. We wszystkich komórkach eukariotycznych, w tym w komórkach ssaków czy drożdży, powstanie kompleksu odbywa się w ten sam sposób, jednak w pierwszym przypadku jego masa wynosi 350 kDa, natomiast w komórkach ssaków kompleks ten jest nazywany Atg16L, a jego masa wynosi 800 kDa [16,53]. Tylko niewielka część kompleksu jest związana z błoną, natomiast przeważnie jest umiejscowiony w cytoplazmie. Gdy dochodzi do utworzenia dojrzałego autofagosomu, następuje dysocjacja kompleksu Atg16L, co sprawia, że nie może on stanowić markera procesu autofagii [77].

Drugim ubikwitynopodobnym kompleksem, niezbędnym do powstania autofagosomu jest LC3-II-PE. LC3, łańcuch lekki białka związanego z mikrotubulami, jest ssaczym ortologiem drożdżowego białka Atg8. Białko LC3, znajdujące się w cytosolu, jest syntetyzowane jako prekursor pro-LC3, który w wyniku cięcia proteolitycznego przez Atg4 ulega przemianie do postaci LC3-I. W następstwie działania Atg7 i Atg3, pełniących funkcję enzymów ubikwitynopodobnych (odpowiednio E1 i E2) oraz odwracalnego połączenia LC3-I z grupą aminową fosfatydyloetanolaminy (PE), powstaje dojrzała postać LC3-II wbudowywana do błony izolującej autofagosomu. Obecność LC3-II-PE po obu stronach błony autofagosomu jest niezbędna dla postępu procesu autofagii [50,53,60,77]. Stężenie LC3-II, które koreluje z liczbą powstających autofagosomów, jest wiarygodnym markerem procesu autofagii i można go zmierzyć za pomocą techniki immunoblotingu [54].

Dotąd odkryto jeszcze dwa ssacze ortologi drożdżowego białka Atg8, zaangażowane w proces rozwoju autofagosomów. Są to: białko typu A związane z receptorem kwasu gamma-aminomasłowego (gamma-aminobutyric acid recepto-associated domain, GABARAP) oraz białko uczestniczące w transporcie białek wewnątrz aparatu Golgiego o masie 16 kDa (Golgi-associated ATPase enhancer of 16 kDa, GATE-16) [69].

Podczas dojrzewania autofagosom łączy się z lizosomem, w rezultacie czego powstaje autofagolizosom. Do prawidłowego przebiegu tego etapu autofagii niezbędna jest obecność białek: związanych z błoną lizosomu (LAMP-2a), monomerycznych GTPaz (Rab22 i Rab24), białka receptorowego SNARE (soluble NSF-attachment protein receptor) oraz białka fuzji NSF (N-ethylmaleimide-sensitive fusion). W tym etapie ważną rolę odgrywają także białka cytoszkieletu [74].

Końcowym etapem autofagii jest degradacja elementów cytoplazmy oraz organelli komórkowych. Na tym etapie zawartość autofagolizosomu ulega trawieniu przez enzymy lizosomalne. W rezultacie powstają tzw. ciała resztkowe, za ich liczę są odpowiedzialne białka Atg15 i Atg22 [78].

REGULACJA PROCESU AUTOFAGII

Regulatorem autofagii jest kompleks białek Beklina 1/PI3K-III. Kompleks ten jest zaangażowany w formowanie autofagosomów, inicjację procesu autofagii. Kompleks Beklina 1/PI3K-III umiejscowiony jest w przestrzeni *trans* aparatu Golgiego i dostarcza trifosforanu fosfatydyloinozytolu z aparatu do błon izolujących [51,62].

Powstawanie autofagosomu odbywa się za pośrednictwem aktywacji kinazy 3-fosfatydyloinozytolu. U ssaków odkryto trzy kompleksy, w skład których wchodzi PI3K, mianowicie: klasa I, II i III. W procesie autofagii biorą udział kompleksy klasy I i III. Pierwszy z nich jest składnikiem błony komórkowej i uczestniczy w szlaku transdukcji sygnału, prowadząc do aktywacji kinazy TOR. Pełni rolę inhibitora autofagii, natomiast kompleks PI3K klasy III jest aktywatorem tego procesu, bierze udział w proliferacji komórek oraz przemieszczaniu wewnątrzkomórkowych elementów cytoszkieletu [11,47,73]. W komórkach drożdży odpowiednikiem PI3K jest Vps34. Białko to tworzy dwa kompleksy: kompleks I składający się z: Vps34, Vps15, Atg6/Vps30, Atg14 oraz kompleks II zawierający: Vps34, Vps15, Atg6/Vps30 i Vps38. Pierwszy z nich jest odpowiednikiem ssaczego kompleksu klasy III [28]. Aktywacja PI3K-I zwiększa wytwarzanie fosfatydyloinozytolotrifosforanu (PIP3), co doprowadza do przemieszczania się kinaz białkowych zależnych od fosfatydyloinozytolu (PDK) oraz kinazy Akt do błony komórkowej. Przez PDK 1 i 2 aktywowana zostaje kinaza Akt, odpowiedzialna za fosforylację kompleksu białek zaangażowanych w regulację podziałów komórkowych, hamartyny i tuberyny. Hamuje w ten sposób aktywność tychże kompleksów, w związku z czym jest głównym inhibitorem szlaku sygnałowego mTOR (mammalian target of rapamycin) [28,56]. Zaobserwowano, że ciągła aktywacja ścieżki sygnalizacyjnej PI3K jest odpowiedzialna za zwiększone wytwarzanie białek, proliferację komórek nowotworowych i hamowanie autofagii przez mTOR [62].

Drugim elementem wchodzącym w skład kompleksu aktywującego proces autofagii jest Beklina 1 (ryc. 2). Jest

to białko o masie cząsteczkowej 60 kDa, składające się z około 450 aminokwasów. Zidentyfikowano dotąd trzy domeny tego białka: na N-końcu – domena BH-3-only (114-123 aminokwasy), centralna super-helisa (CCD, aminokwasy 144-269) oraz na C-końcu – ewolucyjnie zachowana domena (ECD, aminokwasy 244-337). Elementem struktury jest także krótka sekwencja aminokwasów bogata w leucynę, tzw. sygnał eksportu jądrowego (nuclear export signal, NES), odpowiedzialna za indukcję autofagii w cytosolu. ECD jest niezbędna w pośredniczeniu Bekliny 1 w programowanej śmierci komórki typu II oraz w zahamowaniu nowotworzenia przez to białko. Mutacje we fragmencie NES mogą natomiast powodować zaburzenia indukcji autofagii wywoływanej przez niedobór składników odżywczych [6,32,73].

Beklina 1 za pośrednictwem domeny BH-3 oddziałuje z białkiem antyapoptotycznym Bcl-2. Z domeną CCD wiążą się produkty genu związanego z opornością na promieniowanie ultrafioletowe (UVRAG), będące promotorem mechanizmu autofagii. PI3K-III oddziałuje natomiast z dwiema domenami: CCD i ECD [32,41]. Beklina 1 bierze udział w rozwoju zarodka, reguluje długość życia komórki oraz decyduje o jej śmiertelności. Odnotowano jej udział w zapobieganiu chorobom neurodegeneracyjnym: chorobie Alzheimera, Huntingtona i Parkinsona. Zaobserwowano obniżone stężenie Bekliny 1 u pacjentów z nadmiernym odkładaniem patologicznych białek (amyloidu β , huntingtyny i białka tau) w neuronach oraz ich niewystarczającą eliminacją. Beklina 1 wykazuje również działanie kardioprotekcyjne, indukując autofagię w czasie reperfuzji. Podczas niedokrwienia mięśnia sercowego autofagia odgrywa rolę ochronną, ale udowodniono, że w przypadku mutacji w genie Beklina 1 dochodzi do osłabienia reperfuzji. Ponadto Beklina 1 uczestniczy w odpowiedzi immunologicznej, w razie zakażeń wirusowych (kolokalizacja w jądrowych centrach replikacyjnych wirusa) i bakteryjnych (stymulacja TLR) [15,48]. Odgrywa znaczącą rolę w supresji nowotworów, indukując proces autofagii oraz zapobiegając proliferacji komórek nowotworowych [40,41,66,67]. Beklina 1 oddziałuje z PI3K-III oraz p150, a także z Ambra1 (activating molecule in beclin 1 regulated autophagy) oraz z czynnikiem oddziaływującym z Bax (Bif-1) (Bax-interacting factor 1) [24].

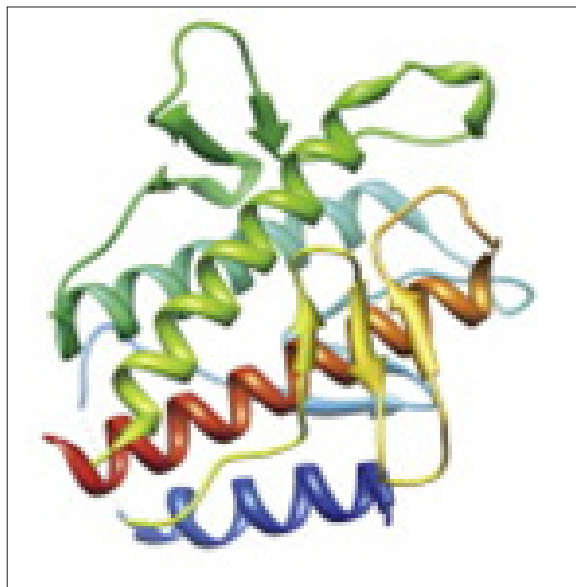
W regulację autofagii jest zaangażowane także ssacze białko docelowe rapamycyny, mTOR. Jest to kinaza serynowo-treoninowa, tworząca w komórkach ssaków dwa kompleksy białkowe odpowiedzialne za regulację procesów komórkowych. Pierwszy z nich mTORC1, składa się z kinazy mTOR oraz białek Raptor i mLST8/GbL. Kompleks ten jest zaangażowany w kontrolę transkrypcji, translacji i autofagii, będąc jej negatywnym regulatorem. mTORC2 składa się z kinazy mTOR oraz białek Rictor, mLST8/GbL i jest odpowiedzialny za regulację funkcji cytoszkieletu komórki przez oddziaływanie m.in. z F-aktyną czy paksyliną. mTORC1 charakteryzuje się dużą wrażliwością na rapamycynę, będącą swoistym inhibitorem mTOR, natomiast drugi z kompleksów, mTORC2, jest mniej wrażliwy

na rapamycynę [28,56]. Działanie rapamycyny polega na defosforylacji Atg1 (ULK1), wskutek czego następuje zahamowanie aktywności mTOR oraz aktywacja autofagii. Aktywność mTORC1 zależy od dostępności substancji odżywczych [13].

Ważnym regulatorem autofagii jest białko p53, czynnik transkrypcyjny pełniący funkcję supresora transformacji nowotworowej. Jeśli dochodzi do mutacji genu TP53 częściej obserwuje się występowanie nowotworów [65]. p53 wiążąc się do swoistych sekwencji DNA, reguluje ekspresję genów białek zaangażowanych w regulację przebiegu cyklu komórkowego, metabolizm oraz indukcję apoptozy. W ponad połowie przypadków ludzkich nowotworów obserwuje się inaktywację białka p53 w wyniku nadmiernej degradacji proteosomalnej, mutacji genu lub wzmożonego wytwarzania jego inhibitorów. Białko p53 bierze również udział w regulacji autofagii, a jego rola w tym procesie zależy od umiejscowienia białka w komórce. W indukcji autofagii jest zaangażowana frakcja jądrowa p53, co wiąże się z jego funkcją regulatorową transkrypcji genów kodujących białka AMPK, DAPK-1, DRAM, białka proapoptotyczne z rodziny Bcl2 (Bad, Bax, BNIP3, PUMA) oraz sestriny [60]. DRAM w odpowiedzi na działanie czynników uszkadzających DNA, bierze bezpośredni udział w indukcji autofagii niezależnej od kompleksu mTOR. Sestrina 1 i 2, indukowana w wyniku uszkodzeń DNA bądź stresu oksydacyjnego, bierze udział w autofagii przez białka AMPK [73]. Frakcja cytoplazmatyczna p53 przez aktywację mTORC1, niezależnie od roli tego białka jako czynnika transkrypcyjnego, powoduje zahamowanie autofagii. Potwierdzają to badania przeprowadzone przez Tasdemir i wsp. na komórkach raka jelita grubego z inaktywowanym p53 (HCT116), charakteryzujących się podwyższonym podstawowym poziomem autofagii. W wyniku wprowadzenia genu typu dzikiego białka p53 i przywrócenia syntezy p53, poziom autofagii obniżył się. Regulacja autofagii z udziałem białka p53 może zatem zachodzić dwukierunkowo. W warunkach fizjologicznych białko to jest negatywnym regulatorem tego procesu. Natomiast pod wpływem działania czynników onkogennych, dochodzi do aktywacji autofagii [23,56,65].

AUTOFAGIA A PROCES NOWOTWORZENIA

Informacje zawarte w dostępnym piśmiennictwie nie określają jednoznacznie roli autofagii w nowotworzeniu. Jednak prace wielu autorów przedstawiają ten proces jako mechanizm zapobiegający rozwojowi nowotworu [70]. Pierwsze połączenie między nowotworzeniem i autofagią stanowi gen *Beklina 1* (*BECN1*). Zmniejszoną ekspresję *Bekliny 1* zaobserwowano w komórkach raka piersi MCF7 w porównaniu z prawidłowymi komórkami gruczołu piersiowego [37]. W modelu badawczym myszy mutacja z monoalleliczną delecją *BECN1* zwiększyła częstość spontanicznych nowotworów złośliwych (białaczki, chłoniaki, nowotwory wątroby i płuc) w porównaniu z ich typami dzikimi. Ponadto zaobserwowano, że delecja alleli *Bekliny 1* indukuje letalność embrionów. Wykazano, że obni-



Ryc. 2. Struktura Bekliny 1 (wg [7,15]); białko Beklina 1 jest zbudowane z trzech domen: na N-końcu – domena BH-3-only, centralna superhelisa (CCD) oraz na C-końcu – ewolucyjnie zachowana domena (ECD). Elementem struktury jest także krótka sekwencja aminokwasów bogata w leucynę, tzw. sygnał eksportu jądrowego (NES)

żenie ekspresji tego genu jest powiązane z gorszą prognozą u pacjentów z nowotworami złośliwymi, a także ze skróceniem czasu całkowitego przeżycia u pacjentów z rakiem jelita grubego i rakiem przełyku. Zwiększona ekspresja *BECN1* zmniejsza zarówno proliferację komórek nowotworowych, jak i potencjał nowotworzenia *in vivo*. Dowiedziono również, że nadekspresja tego genu sprzyja lepszemu rokowaniu u pacjentów z glejakami o wysokim stopniu złośliwości oraz u pacjentów z nowotworami wątroby [33,36,63,78]. Z badań tych wynika, że utrata genu *BECN1* promuje proces nowotworzenia, natomiast jego nadekspresja hamuje ten proces.

W komórkach nowotworowych znaleziono również mutacje w innych genach zaangażowanych w proces autofagii. Mutacje w genie *UVRAG*, kodującym białko oddziałujące z Bekliną 1, występowały w komórkach nowotworów jelita grubego i żołądka [8]. Stwierdzono również częste delecje genu *MAP1-LC3* w rakach piersi, jajników, stercza i wątroby [42]. Wykazano, że inaktywacja *Atg4* zwiększa podatność myszy na rozwój fibrosarkomy [62]. Ponadto autofagia jest regulowana negatywnie przez szlak *PI3K-Akt-mTOR*, którego wzrost aktywności jest częstym wynikiem mutacji obserwowanych w komórkach nowotworowych. Dowiedziono również, że zahamowanie autofagii może doprowadzić do zwiększonego nowotworzenia przez nadmierną kumulację reaktywnych form tlenu [49].

Należy zwrócić uwagę, że autofagia może być również odpowiedzialna za promocję nowotworzenia. Główną rolę odgrywa wówczas brak składników odżywczych oraz hipoksja. Czynniki indukujący autofagię w warunkach

hipoksji, *HIF-1 α* , jest odpowiedzialny za indukcję transkrypcji genu białka *BNIP3*. Białko to wiąże się z białkami antyapoptocznymi *Bcl-2*, *Bcl-X_L*, które oddziałują z Bekliną 1, regulując autofagię. W wyniku konkurencji *BNIP3* o wiązanie z *Bcl-2* i *Bcl-XL*, dochodzi do osłabienia ich interakcji, a odłączona Beklina 1 indukuje autofagię [29].

W terapii przeciwnowotworowej autofagia może działać jak „obosieczny miecz” i stymulować wzrost komórek nowotworowych oraz ich przeżycie w wyniku działania chemioterapeutyków [52]. Dlatego też poszukuje się leków hamujących ten proces. Obecnie jedną z substancji będącą w fazie badań klinicznych w terapii przeciwnowotworowej wykazującą zdolność hamowania autofagii jest chlorokina i jej analog, hydrochlorokina. Punktem uchwytu dla tej grupy związków jest lizosom, w którym wykazują aktywność przez zahamowanie degradacji białek w obrębie autofagolizosomu [36].

Ponadto autofagia może promować nowotworzenie przez modulację metastazy komórek nowotworowych [42].

Wykazano, że autofagia hamuje rozwój procesu nowotworzenia, zwłaszcza we wczesnej fazie inicjacji, natomiast zahamowanie autofagii przez hamowanie ekspresji określonych genów (np. Bekliny 1) może promować rozwój nowotworu. Ponadto ostatnie badania wskazują na indukcję autofagii w komórkach nowotworowych w wyniku stosowania chemioterapii i radioterapii [62,76]. W przypadku mutacji genów promotorowych, proces ten może rekompensować deficyt apoptozy, co jest korzystne w leczeniu chorych na nowotwory. Autofagia może odgrywać główną rolę w terapii przeciwnowotworowej przez usuwanie uszkodzonych, zawierających mutacje komórek oraz ograniczanie wielkości guza [72].

Zatrzymanie rozwoju procesu nowotworowego przez indukcję śmierci komórek nowotworowych jest najistotniejszym celem z punktu widzenia chemioterapii, a różnorodność czynników regulujących programowaną śmierć komórki wzbudza duże zainteresowanie wśród onkologów [14]. Głównym celem nowoczesnej onkologii, który ostatecznie powinien doprowadzić do powstania spersonalizowanego leczenia pacjentów, jest możliwość przewidywania odpowiedzi konkretnego typu nowotworu na zastosowany lek. Przeprowadzone na szeroką skalę badania w kierunku oceny wpływu związków o wysokim potencjale przeciwnowotworowym na panel genetycznie różnorodnych linii komórek nowotworowych, przedstawiają ogrom relacji zachodzących między zmianami w genomie, a odpowiedzią na zastosowaną terapię [9,55]. Informacje te wskazują na mechanizm i tym samym punkt docelowego działania leków. Obecnie poszukuje się coraz skuteczniejszych związków, działających selektywnie na komórki nowotworowe i niewpływających na komórki prawidłowe organizmu. Wykorzystanie

Tabela 1. Wykaz stosowanych obecnie leków w terapii przeciwnowotworowej wraz z punktem uchwytu ścieżki sygnałowej autofagii

INDUKTORY AUTOFAGII	LEK	PUNKT UCHWYTU	TYP NOWOTWORU
	rapamycyna i rapalogi		rak okrężnicy [18], rak piersi, białaczki, czerniak [12]
Inhibitory mTOR	termsirolimus	mTOR	rak nerki [3]
	sunitinib		rak rdzeniasty tarczycy [43]
	everolimus		rak nerki, chłoniak z komórek płaszczka [61]
Inhibitory deacetylazy histonowej (HDAC)	vorinostat	HDAC	skórny chłoniak T-komórkowy, badania kliniczne – glejak [17]
	panobinostat		rak wątroby [35]
	ramidepsin		skórny chłoniak T-komórkowy [22]
Inhibitory proteosomu	bortezomib	proteosom	szpiczak mnogi, chłoniak z komórek płaszczka [79], chłoniak rozlany z dużych komórek B [26]
	NPI-0052		białaczki, szpiczak mnogi [26]
Inhibitory kinazy tyrozynowej	imatinib	BCR-ABL, TIK, PDGFR	przewlekła białaczka szpikowa [80], glejaki
	dasatinib	BCR-ABL, SRC	przewlekła białaczka szpikowa [34]
	sorafenib	TKI inhibitor kinazy tyrozynowej	rak nerki, wątroby [17]
	lapatinib	EGFR, HER2	rak piersi [81]
Antagoniści receptora estrogenowego	tamoksyfen, 4-dehydroksytamoksyfen	ER	rak piersi [31]
Przeciwciała	rituksymab	CD20	chłoniak z komórek płaszczka [1]
	panitumumab	EGFR	przerzutujący rak okrężnicy [19]
	cetuksymab	EGFR	rak okrężnicy, szyi i głowy [59]
	trastuzumab	HER2	rak piersi [25]
Środki alkilujące	temozolomid	DNA	glejak [30]
BH3-mimetyki	obatoclax	Bcl-2	rak piersi [64]
Trójtlenek arsenu		BNIP3	glejak [36]
Biguanidy	metformina	BECN1/ mTOR	czerniak [4]
INHIBITORY AUTOFAGII			
przeciwciała	bevacizumab	VEGF-A	rak wątroby [21]
Aminokwinoliny	Lys05	lizosom	badania kliniczne [2]
	chlorokina	lizosom, p53	malaria, w fazie badań klinicznych w terapii przeciwnowotworowej [36]
	hydroksychlorokina	lizosom, topizoizomera	reumatoidalne zapalenie stawów, malaria, w fazie badań klinicznych w terapii przeciwnowotworowej [46]

BECN1 – Beklina 1; Bcl-2 – białko z rodziny Bcl-2; BCR-ABL – kinaza tyrozynowa; BNIP3 – białko z rodziny Bcl-2; EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu; ER – receptor estrogenowy; HDAC – deacetylaza histonowa; HER2 – receptor naskórkowego czynnika wzrostu 2; mTOR – ssaczy cel dla rapamycyny; PDGFR – płytkopochodny receptor czynnika wzrostu; Src – kinaza tyrozynowa; TIK – inhibitor kinazy tyrozynowej; VEGF-A – czynnik A wzrostu śródbłonna naczyńniowego.

w terapii chorób nowotworowych ścieżek sygnałowych zaangażowanych w proces autofagii przedstawiono w tabeli 1.

PODSUMOWANIE

Określenie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw procesu autofagii i jej roli w nowotworzeniu jest najważniejszym elementem strategii przeciwnowotworowej. Zbadanie tych mechanizmów jest istotne dla zrozumienia jak główne modulatory ścieżki autofagii wpływają na inicjację i progresję tego procesu, a ponadto podkreślają znaczenie celowania w ścieżkę sygnałową autofagii. Podkreślenia wymaga ponownie podwójna rola autofagii w przeżyciu

bądź śmierci komórki nowotworowej. Jak wykazały wyniki badań prowadzonych w międzynarodowych ośrodkach badawczych, zahamowanie autofagii może wzmocnić efektywność działania stosowanych obecnie leków przeciwnowotworowych w indukowanej chemioterapii aktywacji ścieżek sygnałowych autofagii. Jednak promowanie autofagii może indukować śmierć, a więc eliminację komórki nowotworowej i ograniczenie wielkości guza. Dlatego też obie strategie mają ogromne znaczenie dla toczących się badań klinicznych i mogą dostarczyć wartościowych informacji dotyczących tego, czy i jak celowanie w ścieżkę sygnałową autofagii ma znaczenie w leczeniu chorych na nowotwory, również w zależności od typu nowotworu i stopnia jego zaawansowania.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Alinari L., Yu B., Christian B.A., Yan F., Shin J., Lapalombella R., Hertlein E., Lustberg M.E., Quinion C., Zhang X., Lozanski G., Muthusamy N., Prætorius-Ibba M., O'Connor O.A., Goldenberg D.M., Byrd J.C., Blum K.A., Baiocchi R.A.: Combination anti-CD74 (milatuzumab) and anti-CD20 (rituximab) monoclonal antibody therapy has *in vitro* and *in vivo* activity in mantle cell lymphoma. *Blood*, 2011; 117: 4530-4541
- [2] Amaravadi R.K., Winkler J.D.: Lys05: a new lysosomal autophagy inhibitor. *Autophagy*, 2012; 8: 1383-1384
- [3] Anbalagan S., Pires I.M., Blick C., Hill M.A., Ferguson D.J., Chan D.A., Hammond E.M.: Radiosensitization of renal cell carcinoma *in vitro* through the induction of autophagy. *Radiother. Oncol.*, 2012; 103: 388-393
- [4] Banerji V., Gibson S.B.: Targeting metabolism and autophagy in the context of haematologic malignancies. *Int. J. Cell Biol.*, 2012; 2012: 595976
- [5] Bellot G., Garcia-Medina R., Gounon P., Chiche J., Roux D., Pouyssegur J., Mazure N.M.: Hypoxia-induced autophagy is mediated through hypoxia-inducible factor induction of BNIP3 and BNIP3L via their BH3 domains. *Mol. Cell. Biol.*, 2009; 29: 2570-2581
- [6] Boya P., Kroemer G.: Beclin 1: a BH3-only protein that fails to induce apoptosis. *Oncogene*, 2009; 28: 2125-2127
- [7] Cao Y., Klionsky D.J.: Physiological functions of Atg6/Beclin 1: a unique autophagy-related protein. *Cell Res.*, 2007; 17: 839-849
- [8] Carew J.S., Kelly K.R., Nawrocki S.T.: Autophagy as a target for cancer therapy: new developments. *Cancer Manag. Res.*, 2012; 4: 357-365
- [9] Corona G., Rizzolio F., Giordano A., Toffoli G.: Pharmacometabolics: an emerging "omics" tool for the personalization of anticancer treatments and identification of new valuable therapeutic targets. *J. Cell. Physiol.*, 2012; 227: 2827-2831
- [10] Czaja J.M.: Functions of autophagy in hepatic and pancreatic physiology and disease. *Gastroenterology*, 2011; 140: 1895-1908
- [11] Chen N., Debnath J.: Autophagy and tumorigenesis. *FEBS Lett.*, 2010; 584: 1427-1435
- [12] Dai Z.J., Gao J., Kang H.F., Ma Y.G., Ma X.B., Lu W.F., Lin S., Ma H.B., Wang X.J., Wu W.Y.: Targeted inhibition of mammalian target of rapamycin (mTOR) enhances radiosensitivity in pancreatic carcinoma cells. *Drug Des. Devel. Ther.*, 2013; 7: 149-159
- [13] Decuypere J.P., Bultynck G., Parys J.B.: A dual role for Ca²⁺ in autophagy regulation. *Cell Calcium*, 2011; 50: 242-250
- [14] Erenpreisa J., Huna A., Salmina K., Jackson T.R., Cragg M.S.: Macroautophagy-aided elimination of chromatin: sorting of waste, sorting of fate? *Autophagy*, 2012; 8: 1877-1881
- [15] Fu L.L., Cheng Y., Liu B.: Beclin-1: Autophagic regulator and therapeutic target in cancer. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2013; 45: 921-924
- [16] Fujita N., Matsunaga K., Noda T., Yoshimori T.: Molecular mechanism of autophagosome formation in mammalian cells. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 2008; 53 (Suppl. 16): 2106-2110
- [17] Gammoh N., Marks P.A., Jiang X.: Curbing autophagy and histone deacetylases to kill cancer cells. *Autophagy*, 2012; 8: 1521-1522
- [18] García-Mauriño S., Alcaide A., Domínguez C.: Pharmacological control of autophagy: therapeutic perspectives in inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *Curr. Pharm. Des.*, 2012; 18: 3853-3873
- [19] Giannopoulou E., Antonacopoulou A., Matsouka P., Kalofonos H.P.: Autophagy: novel action of panitumumab in colon cancer. *Anticancer Res.*, 2009; 29: 5077-5082
- [20] Giansanti V., Torriglia A., Scovassi A.I.: Conversation between apoptosis and autophagy: "Is it your turn or mine?". *Apoptosis*, 2011; 16: 321-333
- [21] Guo X.L., Li D., Sun K., Wang J., Liu Y., Song J.R., Zhao Q.D., Zhang S.S., Deng W.J., Zhao X., Wu M.C., Wei L.X.: Inhibition of autophagy enhances anticancer effects of bevacizumab in hepatocarcinoma. *J. Mol. Med.*, 2013; 91: 473-483
- [22] Harrison S.J., Bishton M., Bates S.E., Grant S., Piekarz R.L., Johnstone R.W., Dai Y., Lee B., Araujo M.E., Prince H.M.: A focus on the preclinical development and clinical status of the histone deacetylase inhibitor, romidepsin (depsipeptide, Istodax®) *Epigenomics*, 2012; 4: 571-589
- [23] Hay N., Sonenberg N.: Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev.*, 2004; 18: 1926-1945
- [24] Jaeger P.A., Wyss-Coray T.: Beclin 1 complex in autophagy and Alzheimer disease. *Arch. Neurol.*, 2010; 67: 1181-1184
- [25] Jain K., Paranandi K.S., Sridharan S., Basu A.: Autophagy in breast cancer and its implications for therapy. *Am. J. Cancer Res.*, 2013; 3: 251-265
- [26] Jia L., Gopinathan G., Sukumar J.T., Gribben J.G.: Blocking autophagy prevents bortezomib-induced NF-κB activation by reducing I-κBα degradation in lymphoma cells. *PLoS One*, 2012; 7: 32584
- [27] Jia W., Pua H.H., Li Q.J., He Y.W.: Autophagy regulates endoplasmic reticulum homeostasis and calcium mobilization in T lymphocytes. *J. Immunol.*, 2011; 186: 1564-1574
- [28] Kang R., Zeh H.J., Lotze M.T., Tang D.: The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ.*, 2011; 18: 571-580

- [29] Kimmelman A.C.: The dynamic nature of autophagy in cancer. *Genes Dev.*, 2011; 25: 1999-2010
- [30] Knizhnik A.V., Roos W.P., Nikolova T., Quiros S., Tomaszowski K.H., Christmann M., Kaina B.: Survival and death strategies in glioma cells: autophagy, senescence and apoptosis triggered by a single type of temozolomide-induced DNA damage. *PLoS One*, 2013; 8: e55665
- [31] Kohli L., Kaza N., Coric T., Byer S.J., Brossier N.M., Klocke B.J., Bjornsti M.A., Carroll S.L., Roth K.A.: 4-hydroxytamoxifen induces autophagic death through K-Ras degradation. *Cancer Res.*, 2013; 73: 4395-4405
- [32] Kost A., Kasprowska D., Labuzek K., Wiaderkiewicz R., Gabriel B.: Autophagy in brain ischemia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 524-533
- [33] Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Pitiakoudis M., Gatter K.C., Harris A.L.: Beclin 1 over- and underexpression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia. *Br. J. Cancer*, 2010; 103: 1209-1214
- [34] Kuroda J., Shimura Y., Yamamoto-Sugitani M., Sasaki N., Tanigaki M.: Multifaceted mechanisms for cell survival and drug targeting in chronic myelogenous leukemia. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2013; 13: 69-79
- [35] Lachenmayer A., Toffanin S., Cabellos L., Alsinet C., Hoshida Y., Villanueva A., Minguez B., Tsai H.W., Ward S.C., Thung S., Friedman S.L., Llovet J.M.: Combination therapy for hepatocellular carcinoma: additive preclinical efficacy of the HDAC inhibitor panobinostat with sorafenib. *J. Hepatol.*, 2012; 56: 1343-1350
- [36] Lee S.J., Kim H.P., Jin Y., Choi A.M., Ryter S.W.: Beclin 1 deficiency is associated with increased hypoxia-induced angiogenesis. *Autophagy*, 2011; 7: 829-839
- [37] Lefranc F., Facchini V., Kiss R.: Proautophagic drugs: a novel means to combat apoptosis-resistant cancers, with a special emphasis on glioblastomas. *Oncologist*, 2007; 12: 1395-1403
- [38] Levine B., Kroemer G.: Autophagy in aging, disease and death: the true identity of a cell death impostor. *Cell Death Differ.*, 2009; 16: 1-2
- [39] Levine B., Mizushima N., Virgin H.W.: Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, 2011; 469: 323-335
- [40] Levine B., Sinha S., Kroemer G.: Bcl-2 family members: dual regulators of apoptosis and autophagy. *Autophagy*, 2008; 4: 600-606
- [41] Li Z., Chen B., Wu Y., Jin F., Xia Y., Liu X.: Genetic and epigenetic silencing of the beclin 1 gene in sporadic breast tumors. *BMC Cancer*, 2010; 10: 98
- [42] Liang C., Feng P., Ku B., Dotan I., Canaani D., Oh B.H., Jung J.U.: Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat. Cell Biol.*, 2006; 8: 688-699
- [43] Lin C.I., Whang E.E., Lorch J.H., Ruan D.T.: Autophagic activation potentiates the antiproliferative effects of tyrosine kinase inhibitors in medullary thyroid cancer. *Surgery*, 2012; 152: 1142-1149
- [44] Liu B., Cheng Y., Liu Q., Bao J.K., Yang J.M.: Autophagic pathways as new targets for cancer drug development. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2010; 31: 1154-1164
- [45] Lockshin R.A., Zakeri Z.: Apoptosis, autophagy, and more. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004; 36: 2405-2419
- [46] Mancias J.D., Kimmelman A.C.: Targeting autophagy addiction in cancer. *Oncotarget*, 2011; 2: 1302-1306
- [47] Martyniszyn L., Orłowski P., Krzyżowska M., Niemiałtowski M.G.: Autofagia w zakażeniach wirusowych i bakteryjnych: molekularna ruletka. *Postępy Biol. Kom.*, 2008; 35: 351-368
- [48] Martyniszyn L., Szulc L., Boratyńska A., Niemiałtowski M.G.: Beclin 1 is involved in regulation of apoptosis and autophagy during replication of ectromelia virus in permissive L929 cells. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2011; 59: 463-471
- [49] Maycotte P., Thorburn A.: Autophagy and cancer therapy. *Cancer Biol. Ther.*, 2011; 11: 127-137
- [50] Mehrpour M., Esclatine A., Beau I., Codogno P.: Autophagy in health and disease. 1. Regulation and significance of autophagy: an overview. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2010; 298: C776-C785
- [51] Mizushima N.: Autophagy: process and function. *Genes Dev.*, 2007; 21: 2861-2873
- [52] Mizushima N., Levine B.: Autophagy in mammalian development and differentiation. *Nat. Cell Biol.*, 2010; 12: 823-830
- [53] Mizushima N., Ohsumi Y., Yoshimori T.: Autophagosome formation in mammalian cells. *Cell Struct. Funct.*, 2002; 27: 421-429
- [54] Morselli E., Galluzzi L., Kepp O., Criollo A., Maiuri M.C., Tavernarakis N., Madeo F., Kroemer G.: Autophagy mediates pharmacological lifespan extension by spermidine and resveratrol. *Aging*, 2009; 1: 961-970
- [55] Notte A., Leclere L., Michiels C.: Autophagy as a mediator of chemotherapy-induced cell death in cancer. *Biochem. Pharmacol.*, 2011; 82: 427-434
- [56] Perycz M., Świech Ł., Malik A., Jaworski J.: mTOR w fizjologii i patologii układu nerwowego. *Postępy Biol. Kom.*, 2007; 34: 511-525
- [57] Qu X., Zou Z., Sun Q., Luby-Phelps K., Cheng P., Hogan R.N., Gilpin C., Levine B.: Autophagy gene-dependent clearance of apoptotic cells during embryonic development. *Cell*, 2007; 128: 931-946
- [58] Reggiori F., Shintani T., Nair U., Klionsky D.J.: Atg9 cycles between mitochondria and the pre-autophagosomal structure in yeasts. *Autophagy*, 2005; 1: 101-109
- [59] Rikiishi H.: Autophagic action of new targeting agents in head and neck oncology. *Cancer Biol. Ther.*, 2012; 13: 978-991
- [60] Rosenfeldt M.T., Ryan K.M.: The multiple roles of autophagy in cancer. *Carcinogenesis*, 2011; 32: 955-963
- [61] Rosich L., Xargay-Torrent S., López-Guerra M., Campo E., Colomer D., Roué G.: Counteracting autophagy overcomes resistance to everolimus in mantle cell lymphoma. *Clin. Cancer Res.*, 2012; 18: 5278-5289
- [62] Roy S., Debnath J.: Autophagy and tumorigenesis. *Semin. Immunopathol.*, 2010; 32: 383-396
- [63] Rubinsztein D.C., Gestwicki J.E., Murphy L.O., Klionsky D.J.: Potential therapeutic applications of autophagy. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2007; 6: 304-312
- [64] Schwartz-Roberts J.L., Shajahan A.N., Cook K.L., Wärrri A., Abu-Asab M., Clarke R.: GX15-070 (obatoclox) induces apoptosis and inhibits cathepsin D- and L-mediated autophagosomal lysis in antiestrogen-resistant breast cancer cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2013; 12: 448-459
- [65] Sridharan S., Basu A.: S6 kinase 2 promotes breast cancer cell survival via Akt. *Cancer Res.*, 2011; 71: 2590-2599
- [66] Subauste C.S.: Autophagy as an antimicrobial strategy. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, 2009; 7: 743-752
- [67] Sun Q., Fan W., Zhong Q.: Regulation of Beclin 1 in autophagy. *Autophagy*, 2009; 5: 713-716
- [68] Suzuki K., Kubota Y., Sekito T., Ohsumi Y.: Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization. *Genes Cells*, 2007; 12: 209-218
- [69] Tanida I., Ueno T., Kominami E.: LC3 and autophagy. *Methods Mol. Biol.*, 2008; 445: 77-88
- [70] Tasdemir E., Chiara Maiuri M., Morselli E., Criollo A., D'Amelio M., Djavaheri-Mergny M., Cecconi F., Tavernarakis N., Kroemer G.: A dual role of p53 in the control of autophagy. *Autophagy*, 2008; 4: 810-814

- [71] Tooze S.A., Yoshimori T.: The origin of the autophagosomal membrane. *Nat. Cell Biol.*, 2010; 12: 831-835
- [72] Turcotte S., Giaccia A.J.: Targeting cancer cells through autophagy for anticancer therapy. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2010; 22: 246-251
- [73] Wang C., Wang Y., McNutt M.A., Zhu W.G.: Autophagy process is associated with anti-neoplastic function. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 2011; 43: 425-432
- [74] Weidberg H., Shpilka T., Shvets E., Elazar Z.: Mammalian Atg8s: one is simply not enough. *Autophagy*, 2010; 6: 808-809
- [75] Weidberg H., Shvets E., Elazar Z.: Biogenesis and cargo selectivity of autophagosomes. *Annu. Rev. Biochem.*, 2011; 80: 125-156
- [76] Wu W.K., Coffelt S.B., Cho C.H., Wang X.J., Lee C.W., Chan F.K., Yu J., Sung J.J.: The autophagic paradox in cancer therapy. *Oncogene*, 2012; 31: 939-953
- [77] Yang Y.P., Liang Z.Q., Gu Z.L., Qin Z.H.: Molecular mechanism and regulation of autophagy. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2005; 26: 1421-1434
- [78] Yang Z., Klionsky D.J.: Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2010; 22: 124-131
- [79] Zang Y., Thomas S.M., Chan E.T., Kirk C.J., Freilino M.L., DeLancey H.M., Grandis J.R., Li C., Johnson D.E.: The next generation proteasome inhibitors carfilzomib and oprozomib activate prosurvival autophagy via induction of the unfolded protein response and ATF4. *Autophagy*, 2012; 8: 1873-1874
- [80] Zhu K., Dunner K.Jr., McConkey D.J.: Proteasome inhibitors activate autophagy as a cytoprotective response in human prostate cancer cells. *Oncogene*, 2010; 29: 451-462
- [81] Zhu X., Wu L., Qiao H., Han T., Chen S., Liu X., Jiang R., Wei Y., Feng D., Zhang Y., Ma Y., Zhang S., Zhang J.: Autophagy stimulates apoptosis in HER2-overexpressing breast cancers treated by lapatinib. *J. Cell. Biochem.*, 2013; 114: 2643-2653

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.