АВТОФАГИЯ – МОЛЕКУЛНИ МЕХАНИЗМИ И РОЛЯТА ѝ В НЕОПЛАСТИЧНИЯ ПРОЦЕС

Надежда Стефанова¹, Мария Цанева², Антония Хачмериян³, Иван Донеv⁴

¹Катедра обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология, МУ-Варна

²Катедра по предклинични и клинични науки, МУ-Варна

³Катедра по физиология и патофизиология, МУ-Варна

⁴Катедра пропедевтика на вътрешни болести

AUTOPHAGY – MOLECULAR MECHANISMS AND ITS ROLE IN NEOPLASTIC PROCESS

Nadezhda Stefanova¹, Maria Tsaneva², Antoniya Hachmeriyan³, Ivan Donev⁴

¹Department of General and Clinical Pathology, Forensic and Deontology,
Medical University of Varna

²Department of Preclinical and Clinical sciences, Medical University of Varna

³Department of Physiology and Pathophysiology, Medical University of Varna

⁴Department of propedeutics of internal diseases, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Автофагията е общобиологичен процес на разграждане и рециклиране на клетъчните компоненти с цел запазване на жизнено необходимите градивни елементи. Тя функционира при сравнително ниски нива постоянно в клетките на бозайници. Индуцира се при гладуване и стрес на клетките, като осигурява енергия за белтъчен синтез с цел запазване на клетката. Блокирането на автофагията инициира туморни процеси чрез натрупване в клетките на нефункционални белтъчни агрегати и/или чрез предизвикване на хронично възпаление. В развилия се неопластичен процес автофагията се явява механизъм за клетъчно оцеляване на малигнените клетки. Познаването на точните механизми на автофагията може да доведе до прилагане на нови терапевтични стратегии при лечение на злокачествените тумори.

Ключови думи: автофагия, туморогенеза, клетъчно оцеляване, лечение

ABSTRACT

Autophagy is a biological process that enables the recycling of cellular components to maintain cell survival. It functions at relatively low levels constantly in mammalian cells. It can be induced by starvation and cellular stress to provide energy for protein synthesis, allowing the organism to survive. Blocking the autophagy initiates tumor processes by accumulating of dysfunctional proteins aggregates and/or by inducing a chronic inflammation. In well established tumors, autophagy can support tumor cell survival. Knowing the exact mechanisms of the autophagy will allow the application of new therapeutic strategies in the treatment of malignant tumors.

Keywords: autophagy, tumorigenesis, cell survival, treatment

През 1963 за пръв път De Duve, белгийски биолог изследовател, въвежда термина автофагия – от гръцките думи „αὐτοφαγος“, самоизяждане (1). Автофагията е общобиологичен процес, използван от еукариотите за разграждане и рециклиране на клетъчни компоненти, като например остарели белтъци и органели, с цел запазване на АТФ и други жизнено необходими градивни елементи в период на хранителен и/или кислороден дефицит (2). За дълъг период от време автофагията се е приемала единствено за стрес-индуциран клетъчен механизъм за преработване. Проучвания през последните 10 години разкриват многообразната роля на автофагията. Това е процес, който на практика протича във всяка една клетка на бозайниците – от яйцеклетките до невроните, и осигурява поддържане на хомеостаза и качествен контрол в клетките. Автофагията може да насочи голяма част от цитоплазмата или определен клетъчен товар за преработване, отстранявайки увредени митохондрии – митофагия, или пероксисоми (пексофагия). Тя участва в различни клетъчни процеси като стареене, възпаление, вроден и придобит имунитет и клетъчна диференциация (3). С нарушения в процеса на автофагията се свързва появата на редица заболявания, включително и на карциноми.

Видове автофагия

Досега са установени три вида автофагия: микро-, макро- и шаперон-медирана автофа-

гия. Последната е вторичен отговор на клетката при недостиг на хранителни вещества. При шаперон-медирана автофагия цитозолни белтъци, съдържащи пентапептиден мотив, се насочват към лизозомите и с участието на шапероните белтъците се разгъват. При микроавтофагията цитоплазмените компоненти се групират директно върху лизозомната мембрана, която впоследствие се вгъва навътре или се разделя.

Макроавтофагията е най-ефективният автофагичен почистващ механизъм и най-често срещаният вид автофагия, затова в текста под автофагия ще се има предвид макроавтофагия. По време на този процес цитоплазмените компоненти се доставят до лизозомите за рециклиране след включване в де ново изградени двойно-мембранни везикули, автофагозоми (4). Тези образувания са получени от фагофорите (известни като изолационни мембрани), мембрани с чашковидна форма, които се генерират след индукция на автофагията. Със разрастването си фагофорите отделят / разделят част от цитоплазмата, като накрая напълно я изолират след тяхното структурно завършване (5). Автофагозомите се приплъзват покрай цитоскелетните структури и се сливат с лизозомите, образувайки автофаголизозоми. Процесът продължава с разграждане на включените компоненти във вътрешната автофагозомална мембрана. Автофагията се регулира от автофагия-свързани гени (Atg), кои-

Фиг 1. Процесът на автофагия при гръбначни. (Адаптирано от Helgason et al., 2011)(8)

то са открити при *Saccharomyces cerevisiae* (вид дрожди). Известни са около 31 гена, като 15 са от тях са ключови за осъществяване на автофагията, а само 11 имат недвусмислени ортолози при бозайниците (Таблица 1). Повечето от тези *Atg* гени посредничат при образуването на автофагозомите (5).

Инициация

Посредникът, който стои на върха на йерархията при първата фаза от автофагията - а именно инициация, е Unc-51-like kinase 1 (ULK1), който заедно с Unc-51-like kinase 2 (ULK2) изграждат Atg1 хомолог. Активираният ULKs фосфорилират и активират ATG13 и FIP200 (focal adhesion

Таблица 1. Гени за автофагия при бозайници. (Адаптирана по Kundu et al., 2008; Rubinsztein et al., 2007) (2,6)

Ген	Функция на белтъка	Хромозомна локализация
ATG1, ULK1	Серин/треонин протеин киназа; тя може да участва в индукцията/мембранното рециклиране	12q24.3 17p11.2
ATG3	Убиквитин-свързан E2-подобен ензим; ковалентно свързва ATG8/LC3 към PE	3q13.2
ATG4	Цистеин протеаза; разцепване на ATG8	Xq22.1–q22.3 (ATG4A) 2q37.3 (ATG4B) 1p31.3 (ATG4C) 19p13.2 (ATG4D)
ATG5	Конюгиран с ATG12; свързва AT16 като част от тетрамерен комплекс с неизвестна функция	6q21
ATG6, BECN1	Част от клас III PI3K комплекс, който е необходим за извършване на автофагията	17q21
ATG7	Хомолог на убиквитина-активиращия ензим; Той активира както ATG8 / LC3, така и ATG12	3p25.3
ATG8, MAP1LC3	Убиквитин-подобен протеин, конюгиран с PE; отговаря за формирането и разширяването на автофагозомата	20cen–q13 16q24.2 17p13.1 12p13.2
ATG9	Трансмембранен блтък; може да участва в образуването на автофагозома	2q35 (ATG9A) 7q36.1 (ATG9B)
ATG10	Функционира като убиквитин-свързващ ензим; ковалентно свързва ATG12 към ATG5	5q14.1–q14.2
ATG12	Структурата му е сходна с тази на убиквитин; той се свързва с вътрешен лизин на ATG5	5q21–q22
ATG16	Свързва ATG5 и хомо-олигомерази, за да образува тетраметичен комплекс	2q37.1 (ATG16L1) 11q13.4 (ATG16L2)

Молекулен механизъм на автофагията

Автофагията функционира постоянно в клетките на бозайници при сравнително ниски нива. Тя се индуцира при гладуване и стрес на клетката (7). Процесът на автофагия може да бъде разделен на няколко последователни стъпки: инициация, формиране на автофагозома, сливане и разграждане (Фиг. 1).

kinase family-interacting protein of 200Kd), като по този начин активираният комплекс ULK-ATG13-FIP200 се насочва към фагофорите (9).

Формиране на автофагозома

Първият етап от този процес е нуклеация на фагофора. За да се постигне това, се образува комплекс, състоящ се от class III PI3K vacuolar protein sorting 34 (VPS34), регулаторното зве-

но VPS15 (известно преди като p150 в клетки на бозайници) (10, 11) и BECLIN1 (ATG6; Vps30 или Atg6 хомолог при дрожди) (12, 13). Функцията на PI3K-комплекса може да се регулира чрез взаимодействие с BECLIN1 и неговите партньори при образуването на комплекса (не ми става ясно). Апоптотичният регулаторен протеин BCL2 може да потиска автофагията чрез взаимодействие с BN3-подобен домейн в BECLIN1 (14). Това взаимодействие обаче се променя по време на гладуване, позволявайки на BECLIN1 да индуцира автофагия (15). BECLIN1 също може да взаимодейства с UVRAG и да активира автофагията (16). Друг агент, с който BECLIN1 си взаимодейства, е активиращата молекула в BECLIN1-регулацията автофагията протеин 1 (AMBRA1). Произходът на автофагозомалната мембрана е все още неясен. Някои проучвания предполагат, че ендоплазменият ретикулум (ER) или апаратът на Голджи са източникът, докато други предполагат произход едновременно от ER и митохондриите или de novo мембранно образуване (17). Разширяването на фагофора и, в крайна сметка, образуването на автофагозомата зависят от две убиквитин-подобни ubiquitin-like (UBL) конюгиращи системи; ATG12-ATG5 и ATG8-PE (фосфатидилетаноламин) [ATG8 е известен още като микротубул-асоцииран протеин 1 лека верига 3 (LC3)].

Сливане и разграждане

При образуването на пълна автофагозома ATG4 освобождава външно мембрания LC3 от PE (фосфатидилетаноламин) чрез прерязване на амидната връзка, която ги свързва (18). Механизмът и детайлите около сливането на автофагозоми с лизозомите, за да се образуват автолизозоми и автофаголизозоми, е все още неясен. Въпреки това при бозайници се знае, че е необходимо присъствието на лизозомен мембранен протеин LAMP-2, малък GTPase RAB7 и UVRAG (13, 19). След сливането материалът се лизира обикновено от катепсини. Макромолекулите се разграждат до техните мономерни форми, след което се освобождават в цитозола за повторна употреба. Въпреки това този процес трябва допълнително да се изследва, особено при рециклирането на въглехидрати и липиди (20).

Автофагия и клетъчна смърт

Апоптозата, известна още като програмира на клетъчна смърт (PCD) тип I, е фино регулиран процес, при който се активират каспази и протеази за разрушаване на клетката. Съответно продължителната и необратима вакуолизация на цитоплазмата, заедно с разграждането на апарата на Голджи, ендоплазмения ретикулум (ER)

и рибозомите, преди разрушаване на ядрото, се счита от някои за (PCD) тип II (21).

Установено е, че нарушенията в процеса на апоптоза може да може да бъде асоциирано с възникването на туморите, с тяхната прогресия и метастазиране. P53 е широко изследван и известен отдавна транскрипционен фактор, който действа като тумор супресор и е нарушен в повече от 50% от всички туморните заболявания (21, 22, 23). P53 участва в редица механизми за предотвратяване на злокачествени образувания, включващи: поправка на грешки в ДНК, регулация на клетъчния цикъл и инициация на апоптоза. През 2006 г. бе доказано, че DRAM (damage regulated autophagy modulator) - таргет на p53, е необходим за активиране на индуцирана от ДНК-увреда автофагия, като той е незаменим и при p53-медирана апоптоза (23, 24). Предполага се, че регулирането на автофагията от p53 зависи от неговата локализация; ядреният p53 индуцира автофагия на транскрипционно ниво, докато цитозолният p53 я потиска (25). Наскоро Лий и колеги предоставиха първото доказателство за директна връзка между p53 и ATG7 и неавтофагичната роля на ATG7 (26). ATG7 е от съществено значение в условия на гладуване, тъй като иницира спирането на клетъчния цикъл, като се свързва с p53 и индуцира експресия на p21 - неговият инхибитор. В периоди на гладуване на клетката липсата на ATG7 води до увеличаване на увредите на ДНК и натрупване на реактивни кислородни радикали (ROS), както и транскрипционно активиране на проапоптотичните гени PUMA, NOXA и BAX и в крайна сметка на p53-зависима апоптоза.

Друг ген на автофагията, който си взаимодейства с апоптозата, е ATG5, за който се счита, че е „молекулен превключвател“ между автофагията и апоптозата. Стимулацията на клетъчна смърт и други стресови фактори (антитуморна терапия) активира калпейните, фамилия от протеази, които разцепват ATG5. Отцепеният ATG5 продукт (tATG5) задейства освобождаването на митохондриалния цитохром С и води до автофагозо-независима клетъчна смърт (27).

Парадоксът на автофагията

За пръв път през 1999 г. в експеримент с Beclin-1 при мишки е показана връзката между автофагията и туморогенезата (28). По-късно е установено, че Beclin-1 се заличава моноалелно в 40-70% от спорадичните случаи на карцином на гърдата и яйчника (28) и хаплоинсуфициентните Beclin-1 мишки са предразположени към развитие на злокачествени тумори като лимфоми,

карциноми на белите дробове и хепатоцелуларен карцином (29, 30). Atg-генетично модифицирани мишки, които са с нарушена автофагия в цялото тяло или на тъканно ниво, показват различни невродегенеративни промени, мускулна и чернодробна увреда, хронично възпаление и чести инфекции, както и развитие на спонтанни тумори (31, 32). Тъканни клетки от Atg -/- мишки имат неправилни, абнормални митохондрии, повишен брой полиубиквитиранни белтъчни агрегати, липидни капки, рибозоми, пероксизоми, както и рецептори за автофагия - p62 и NBR1 (31, 32, 33). Тези данни подкрепят теорията, че автофагията действа като туморен супресор, най-вероятно чрез ролята си в поддържането на хомеостазата и качествен контрол. Блокирането на автофагията води до стрес в ER и натрупване на нефункционални белтъчни агрегати в клетката, за които се смята, че благоприятстват туморогенезата (34). Нарушенията в митофагията водят до натрупване на увредени митохондрии с последващ оксидативен стрес поради увеличен брой ROS (реактивни свободни радикали). PINK1 и PARK2 (известни още като Паркин 1 и 2) участва в убиквитиниране на външната митохондриална мембрана, като по този начин насочват увредените митохондрии за автофагично разграждане (35). Тези гени са мутирали при болестта на Паркинсон и тяхната инактивация причинява хепатоцелуларен карцином при мишки (36). Повишеният брой ROS при състояния с дефицит на автофагия предразполага към ДНК увреда, която в крайна сметка води генетична нестабилност (26). Интересно е, че натрупването на p62, поради нарушения в автофагията, се е смятало, че управлява туморогенезата чрез увеличаване на ROS и окислително увреждане на ДНК, което благоприятства натрупването на придобити мутации и активация на тумор-промотиращи сигнални пътища (37). Смята се, че p62 активира транскрипционния ядрен фактор - еритроид 2-свързан фактор- 2(NRF2), който регулира клетъчната защита при оксидативен стрес (38, 39). Потискането на автофагията в черен дроб на мишки води до повишаване нивата на p62, свръхекспресия, активиране и транслокация Nrf2 към ядрото, последвано от транскрипция на Nrf2 таргети и туморогенеза (38, 40, 41). Предполага се, че Nrf2 има двойствена роля в канцерогенезата: от една страна предпазва клетката от оксидативния стрес, а от друга страна свръхекспресията спомага за оцеляването и растежа на туморните клетки (42). Повишените нива на ROS могат намалят

имунитета срещу туморните антигени чрез активиране на апоптоза на Т-клетките.

Потискането на автофагия може да доведе до развитие на неоплазия и чрез повлияване на възпалителния отговор. Оксидативният и ER стрес, геномна нестабилност, които настъпват при нарушаване на автофагията, предизвикват продължително увреждане на тъканите и инициират възпалителна реакция. Подобни промени са наблюдавани при болест на Крон и хроничен панкреатит, при които процесът на автофагия е нарушен и това води до възпаление (43, 44). Отдавна е известно, че хроничното възпаление повишава риска от развитието на карциноми. Експериментално е установено, че при мишки загубата на един алел на Beclin-1 води до поддържане на възпалителната реакция в черния дроб и развитие на хепатоцелуларен карцином (29, 30, 45).

Автофагията е механизъм за клетъчно оцеляване в туморни клетки. Неопластичните клетки в централните зони на туморната формация са подложени на неблагоприятни условия като хипоксия, недостиг на нутриенти и растежни фактор поради неадекватно кръвоснабдяване и интензивно клетъчно делене (46,47). За разлика от нормалните клетки, които имат ниски нива на автофагия, туморните клетки са като че ли „пристрастени“ към високите нива на автофагия (46). В подкрепа на хипотезата за „пристрастяване към автофагия“ на туморните клетки са изследвания, които показват, че има зависимост между тумори с установена RAS мутация и автофагията (48, 49, 50). Фактите показват, че автофагията е нужна за поддържане целостта на митохондриалната мембрана, което е необходимо условие за оцеляване на RAS-експресиращи туморни клетки в условия на стрес и гладуване (48). Трябва да се отбележи, че туморогенната способност на RAS изчезва при ниски нива на автофагия в клетките (48,50).

От всичко, казано до тук, изглежда, че автофагията има противоречива роля в туморогенезата; тя може да играе ролята на тумор супресор чрез поддържане на клетъчния интегритет, но във вече установени и нарастващи тумори тя подпомага оцеляването на раковите клетки (46). Ето защо повлияването на автофагията при лечение на неоплазми трябва да става строго специфично в зависимост от вида на тумора, етапа от развитието на заболяването и естеството на лечението.

В заключение, автофагията има противоречива роля в туморогенезата. Тя играе ролята на тумор супресор чрез поддържане на клетъчния

интегритет, но при развил се вече туморен процес спомага за оцеляване на туморните клетки. Познаването на точните механизми на автофагията дава възможност за прилагане на нови терапевтични стратегии при лечение на злокачествените тумори.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klionsky, DJ (2008). „Autophagy revisited: A conversation with Christian de Duve“. *Autophagy*. 4 (6): 740–3. doi:10.4161/auto.6398
2. Kundu, M. and C.B. Thompson, Autophagy: basic principles and relevance to disease. *Annu Rev Pathol*, 2008. 3: p. 427-55.
3. Rosenfeldt, M.T. and K.M. Ryan, The multiple roles of autophagy in cancer. *Carcinogenesis*, 2011. 32(7): p. 955-63.
4. Huang, J. and D.J. Klionsky, Autophagy and human disease. *Cell Cycle*, 2007.6(15): p. 1837-49.
5. Nakatogawa, H., et al., Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009. 10(7): p. 458-67.
6. Rubinsztein, D.C., et al., Potential therapeutic applications of autophagy. *Nat Rev Drug Discov*, 2007. 6(4): p. 304-12.
7. He, C. and D.J. Klionsky, Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet*, 2009. 43: p. 67-93.
8. Helgason, G.V., M. Karvela, and T.L. Holyoake, Kill one bird with two stones: potential efficacy of BCR-ABL and autophagy inhibition in CML. *Blood*, 2011.118(8): p. 2035-43
9. Hosokawa, N., et al., Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell*, 2009. 20(7): p.1981-91.
10. Vanhaesebroeck, B., et al., Synthesis and function of 3-phosphorylated inositol lipids. *Annu Rev Biochem*, 2001. 70: p. 535-602.
11. Lindmo, K. and H. Stenmark, Regulation of membrane traffic by phosphoinositide 3-kinases. *J Cell Sci*, 2006. 119(Pt 4): p. 605-14.
12. Kihara, A., et al., Beclin-phosphatidylinositol 3-kinase complex functions at the trans-Golgi network. *EMBO Rep*, 2001. 2(4): p. 330-5.
13. Liang, C., et al., Beclin1-binding UVRAG targets the class C Vps complex to coordinate autophagosome maturation and endocytic trafficking. *Nat Cell Biol*, 2008. 10(7): p. 776-87.
14. Maiuri, M.C., et al., Functional and physical interaction between Bcl-X(L) and a BH3-like domain in Beclin-1. *EMBO J*, 2007. 26(10): p. 2527-39.
15. Pattingre, S., et al., Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*, 2005. 122(6): p. 927-39.
16. Liang, C., et al., Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol*, 2006. 8(7): p. 688-99
17. Tooze, S.A. and T. Yoshimori, The origin of the autophagosomal membrane. *Nat Cell Biol*, 2010. 12(9): p. 831-5.
18. Geng, J. and D.J. Klionsky, The Atg8 and Atg12 ubiquitin-like conjugation systems in macroautophagy. „Protein modifications: beyond the usual suspects“ review series. *EMBO Rep*, 2008. 9(9): p. 859-64.
19. Jager, S., et al., Role for Rab7 in maturation of late autophagic vacuoles. *J Cell Sci*, 2004. 117(Pt 20): p. 4837-48
20. Tanida, I., et al., Lysosomal turnover, but not a cellular level, of endogenous LC3 is a marker for autophagy. *Autophagy*, 2005. 1(2): p. 84-91.
21. Bursch, W., et al., Programmed cell death (PCD). Apoptosis, autophagic PCD, or others? *Ann N Y Acad Sci*, 2000. 926: p. 1-12.
22. Hollstein, M., et al., p53 mutations in human cancers. *Science*, 1991. 253(5015): p. 49-53.
23. Sigal, A. and V. Rotter, Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer Res*, 2000. 60(24): p. 6788-93.
24. Crighton, D., et al., DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell*, 2006. 126(1): p. 121-34.
25. Crighton, D., S. Wilkinson, and K.M. Ryan, DRAM links autophagy to p53 and

- programmed cell death. *Autophagy*, 2007. 3(1): p. 72-4.
26. Tasdemir, E., et al., A dual role of p53 in the control of autophagy. *Autophagy*, 2008. 4(6): p. 810-4.
27. Lee, I.H., et al., Atg7 modulates p53 activity to regulate cell cycle and survival during metabolic stress. *Science*, 2012. 336(6078): p. 225-8.
28. Yousefi, S., et al., Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2006. 8(10): p. 1124-32.
29. Liang, X.H., et al., Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 1999. 402(6762): p. 672-6.
30. Qu, X., et al., Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest*, 2003. 112(12): p. 1809-20.
31. Yue, Z., et al., Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. 100(25): p. 15077-82.
32. Mizushima, N., et al., Mouse Apg16L, a novel WD-repeat protein, targets to the autophagic isolation membrane with the Apg12-Apg5 conjugate. *J Cell Sci*, 2003. 116(Pt 9): p. 1679-88.
33. Levine, B., N. Mizushima, and H.W. Virgin, Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, 2011. 469(7330): p. 323-35.
34. Kirkin, V., et al., A role for ubiquitin in selective autophagy. *Mol Cell*, 2009. 34(3): p. 259-69.
35. Wang, G., Z.Q. Yang, and K. Zhang, Endoplasmic reticulum stress response in cancer: molecular mechanism and therapeutic potential. *Am J Transl Res*, 2010. 2(1): p. 65-74.
36. Jin, S.M., et al., Mitochondrial membrane potential regulates PINK1 import and proteolytic destabilization by PARL. *J Cell Biol*, 2010. 191(5): p. 933-42.
37. Fujiwara, M., et al., Parkin as a tumor suppressor gene for hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2008. 27(46): p. 6002-11.
38. Mathew, R., et al., Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell*, 2009. 137(6): p. 1062-75.
39. Komatsu, M., et al., The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. *Nat Cell Biol*, 2010. 12(3): p. 213-23.
40. Lau, A., et al., A noncanonical mechanism of Nrf2 activation by autophagy deficiency: direct interaction between Keap1 and p62. *Mol Cell Biol*, 2010. 30(13): p. 3275-85.
41. Komatsu, M., et al., Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic inclusion body formation in autophagy-deficient mice. *Cell*, 2007. 131(6): p. 1149-63.
42. Takamura, A., et al., Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. *Genes Dev*, 2011. 25(8): p. 795-800.
43. Lau, A., et al., Dual roles of Nrf2 in cancer. *Pharmacol Res*, 2008. 58(5-6): p. 262-70.
44. Cadwell, K., et al., A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature*, 2008. 456(7219): p. 259-63.
45. Mareninova, O.A., et al., Impaired autophagic flux mediates acinar cell vacuole formation and trypsinogen activation in rodent models of acute pancreatitis. *J Clin Invest*, 2009. 119(11): p. 3340-55.
46. Funderburk, S.F., Q.J. Wang, and Z. Yue, The Beclin 1-VPS34 complex--at the crossroads of autophagy and beyond. *Trends Cell Biol*, 2010. 20(6): p. 355-62.
47. White, E., Deconvoluting the context-dependent role for autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2012. 12(6): p. 401-10.
48. Cuervo, A.M., Autophagy: in sickness and in health. *Trends Cell Biol*, 2004. 14(2): p. 70-7.
49. Guo, J.Y., et al., Activated Ras requires autophagy to maintain oxidative metabolism and tumorigenesis. *Genes Dev*, 2011. 25(5): p. 460-70.
50. Lock, R., et al., Autophagy facilitates glycolysis during Ras-mediated oncogenic transformation. *Mol Biol Cell*, 2011. 22(2): p. 165-78.

51. Yang, S., et al., Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth. Genes Dev, 2011. 25(7): p. 717-29.

Адрес за кореспонденция:
Надежда Стефанова
Катедра обща и клинична патология, съдебна
медицина и деонтология,
Факултет по медицина, МУ-Варна
e-mail: nadezhda_stefanova@yahoo.com