BECLIN 1 - РЕГУЛАТОРЕН ПРОТЕИН НА АВТОФАГИЯТА

Камелия Братоева¹, Елеонора Димитрова², Ася Консулова²,
Чавдар Бъчваров³, Георги Тодоров³, Надежда Стефанова⁴, Иван Донеv²

¹Катедра по физиология и патофизиология, УС по патофизиология, МУ-Варна

²Клиника по медицинска онкология, УМБАЛ „Св. Марина“,
Катедра по пропедевтика на вътрешни болести, МУ-Варна

³Катедра по образна диагностика и лъчелечение, МУ-Варна

⁴Катедра по обща и клинична патология, МУ-Варна

BECLIN 1 - THE AUTOPHAGY REGULATORY PROTEIN

Kameliya Bratoeva¹, Eleonora Dimitrova², Assia Konsoulova², Chavdar Bachvarov³,
Georgi Todorov³, Kalin Kalchev⁴, Nadezhda Stefanova⁴, Ivan Donev²

¹Department of Physiology and pathophysiology, Division of pathophysiology,
Medical University of Varna

²Clinic of Medical Oncology, UMHAT „St. Marina“,
Department of Propedeutics of Internal Diseases, Medical University of Varna

³Department of Diagnostics, Imaging and Radiotherapy, Medical University of Varna

⁴Department of General and Clinical Pathology, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Изучаването на пропатогенните ефекти на автофагията е сравнително нова област на изследване, показваща, че тя може да упражни многофункционални патогенетични роли, свързани с клетъчното оцеляване или смърт. Нарушенията в процесите на автофагия предизвикват чувствителност към метаболитен стрес, геномно увреждане, неконтролирана клетъчна пролиферация, резистентност към химиотерапия и оцеляване на ракови клетки. Beclin 1 бе първият открит инициращ протеин с доказана роля в регулиране на процесите на автофагия, която обаче проявява функционална двойственост при селективното взаимодействие на Beclin 1 с регулатори на клетъчната хомеостаза, смърт, растеж, имунен отговор, вкл. вируси и др. Това прави проучванията на Beclin 1 значими не само като специфичен маркер в идентифицирането на регулаторните механизми, участващи в тези процеси, но и като прицелна молекула за фармакологично модулиране на клиничното протичане при различни заболявания.

Ключови думи: Beclin 1, автофагия, неоплазии, липофагия, ксенофагия, протеинопатии

ABSTRACT

The study of the pro-pathogenic effects of autophagy is a relatively new area of study, demonstrating that it can exert multifunctional pathogenetic roles associated with cell survival or death. Disturbances in autophagy processes cause sensitivity to metabolic stress, genome damage, uncontrolled cell proliferation, chemotherapy resistance, and survival of cancer cells. Beclin 1 was the first discovered initiating protein with a proven role in regulating autophagy processes, however, demonstrating functional duality in the selective interaction of Beclin 1 with cell homeostasis regulators, death, growth, immune response, viruses, etc. This makes studies of Beclin 1 not only as a specific marker in identifying the regulatory mechanisms involved in these processes, but also as a target molecule for the pharmacological modulation of the clinical course of various diseases

Keywords: Beclin 1, autophagy, cancer, lipophagy, xenophagy, proteinopathies

ВЪВЕДЕНИЕ

Автофагията е еволюционно-консервативен и генетично регулиран адаптивен метаболитен процес, който удължава оцеляването на клетки, подложени на клетъчен стрес от липса на хранителни вещества, растежни фактори, хипоксия, свободни радикали и др. (10). Реализира се чрез серия от процеси, които селективно разграждат, рециклират излишни или повредени вътреклетъчни компоненти, органели, липиди или нефункционални протеини и се прекратяват по време на клетъчния цикъл (24).

Автофагията е процес на цитозолно „обновяване“, от решаващо значение при вземане решения за съдбата на клетките. Това води до оформянето на няколко последователни етапа - улавяне на цитоплазматични съставки и включването им в новообразувана автофагозома; деградация на включванията; рециклиране и използване на продуктите от разграждането. По този начин се осигуряват алтернативни източници на енергия,

отстраняване на клетъчните увреждания и възстановяване на нормалната клетъчна хомеостаза (40). Затова нарушенията в процесите на автофагия се свързват с пропатогенни ефекти, които предизвикват метаболитен стрес, геномни и дегенеративни увреждания, повишена туморогенеза или апоптоза и клетъчна смърт в засегнатите тъкани (63,69).

До момента са описани три различни вида автофагия – микро-, макро- и шаперон-медирана (Фиг. 1), като в това ревю сме се спрели на макроавтофагията и ролята на Beclin 1 в нейната регулация.

Макроавтофагията е отговорна за рециклирането на дългоживеещи протеини, органели и части от цитоплазмата. Започва с формиране на изолационна мембрана (фагофор) в цитоплазмата, която нараства до образуването на двойно-мембранна структура - автофагозома. Автофагозомите преминават поетапен процес на съзряване, обхващащ и разграждащите се клетъчни продукти (10). След това автофагозомите се

Фиг. 1. Видове автофагия (По Martinet W. et al., 2007) (32).

Легенда: Макроавтофагия - формиране на двойно-мембранна структура - автофагозома (фагофор). Микроавтофагия - лизозомна интернализация и деградация на протеини и липиди. Шаперон-медирана автофагия - лизозомна деградация на специфични протеини

сливат с лизозоми и използвайки техните хидролази, предизвикват смилане на инкапсулираното съдържание, рециклиране или катаболизирането му за продукцията на АТФ (65).

На молекулярно ниво са открити повече от 30 гени, контролиращи автофагията, т.нар. автофагия-свързани гени (ATG). Те регулират както образуването на автофагозомата ATG12-ATG5 и ATG8(LC3), така и последващите етапи на автофагия (ATG10-ATG7, ATG16) (24, 45). Една от основните роли на Beclin 1 е образуване на комплекси, които инициират автофагозоомообразуването. Тези комплекси включват протеини на вакуолното сортиране-34 (Vps34), клас III фосфатидилинозитол 3-киназа (PI3KC3), P150 и ATG14L или UVRAG (18, 29).

Beclin 1 е бил открит от БетЛивайн, който през 1999 г. идентифицира ATG6 ген, кодиращ протеина с молекулно тегло от 60 kDa и с линейна последователност от 450 аминокиселини (23). Beclin 1 се експресира в различни човешки тъкани и се локализира предимно в цитоплазмени структури - ендоплазмен ретикулум, митохондрии и перинуклеарна мембрана. Установено е, че хомозиготни Beclin 1 $-/-$ дефицитни мишки ембриони загиват до 7 ден (68), а хетерозиготни Beclin 1 $+/-$ дефицитни мишки са жизнеспособни, но развиват широка гама от спонтанни злокачествени заболявания с повишена честота - лимфоми, белодробен аденокарцином, хепатоцелуларен карцином и др. (62).

Освен това Beclin 1 протеинът е не само активатор на автофагията, но чрез своите взаимодействия с други регулаторни молекули от клетъчната хомеостаза играе роля на отрицателен контролор на растежа, участва в диференциацията по време на ембриогенезата, модулира вирусна репликация, контролира отлагането на липиди в неадипозни тъкани и др. Натрупване на доказателства сочат, че нарушената автофагия е замесена в патогенезата на редица патологични състояния, включително неврологични заболявания, възпалителни заболявания на червата, диабет, хепатостеатоза, стареене, рак и много други (26).

В молекулата си Beclin 1 съдържа три основни структурни и функционални области, чрез които се свързва с регулаторни протеини и инхибитори: домейни BH3 (аминокиселини 114-123) в N-terminus, централен домейн (CCD, аминокиселини 144-269) и еволюционно запазен домейн (ECD, аминокиселини 244-337).

Регулацията на автофагията и най-вече нейното стартиране е свързано с UKL1 (човешки хо-

молог на ATG1) киназен-комплекс, който се състои от UKL1, ATG13 и ATG17 и свързва стресови сигнали от mTOR комплекс 1 (mTOR1) (41). Когато дейността на mTOR1 киназата се потисне, става възможно експресията на Beclin 1 и формирането на автофагозоми (49). Beclin1 може да участва от формирането на автофагозомата до нейното съзряване, като много от тези ефекти се медираат от дейността на специфични Beclin-1-свързващи протеини, включващи индуктори и инхибитори. Тези взаимодействия могат да бъдат относително нестабилни, преходни или да се проявяват само при определени условия, което определя съдбата на засегнатите клетки - оцеляване, клетъчна смърт или развитието на тумор. Комплексът Beclin-1-Vps34-P150 е положително регулиран от Bif-1, UVRAG, Ambra1 и HMGB1, а негативно регулиран от BCL-2 фамилия и Rubicon (2,44,37).

Активатори и инхибитори на Beclin 1 протеиновия комплекс

Апоптотичните BCL-2 фамилия протеини се свързват към Beclin 1 чрез домейн BH3, активаторите - Ambra1/UVRAG/Atg14L с домейн CCD, а PI3KC3/ Vps34 взаимодействат с ECD и CCD домейни (Фиг. 2). Установено е, че ECD е от съществено значение за способността на Beclin 1 да посредничи автофагия и да инхибира туморогенезата. UVRAG показва тумор-супресорна активност в ракови клетки чрез активиране на Beclin-1 комплекса. Както и в Beclin 1 $+/-$ мутантни мишки и UVRAG дефицит насърчава спонтанната туморогенеза при мишки (60). Bif-1 протеина чрез свързването си с UVRAG и активиране на Beclin-1-Vps34-P150 комплекса потиска спонтанната проява на тумори при Bif-1 $-/-$ мишки (29).

Ambra-1 е друг протеин, който образува комплекс с Beclin 1. За връзката между двата протеина говорят различни експерименти. Ambra-1 се експресира главно в невронната плоча в най-ранен етап на ембриогенезата и има съществена роля в развитието на нервната система (16). При мутанти мишки с дефицит на Ambra-1 се наблюдава засилена апоптотична клетъчна смърт, а потисната автофагия (инактивация на Beclin 1 комплекса) и неконтролирана клетъчна пролиферация, което е причина за тежки дефекти на невралната тръба и вродени малформации (16).

Апоптотичните протеини от фамилията на Bcl-2 могат да регулират активността на Beclin 1 в зависимост от клетъчната си локализация. Свързването на антиапоптотичния Bcl-2 протеин, локализиран в ендоплазматичния ретикулум (но не митохондриалния), води до за-

Фиг. 2. Регулация на Beclin-1-Vps34-P150 протеиновия комплекс (По Ryter SW et al., 2013) (51).

Легенда: Активатори на Beclin 1-Vps34-P150 комплекс: UVRAG, Ambra1, Bif-1, ниски нива на AMP (аденозинмонофосфат), гладуване. Инхибитори на комплекса- Rubicon (лизозомен белтък, който е основен положителен регулатор на NADPH оксидазния комплекс, предизвикващ продукция на кислородни радикали след микробна инфекция), апоптотични протеини от BCL-2 семейство, инсулин.

губа на Beclin 1 и инхибиране на автофагията. Предполага се, че калциевите нива в ER чрез Bcl-2 протеина регулират активността на Beclin 1 по независим начин (48).

HMGB1 (нехистоновият ДНК-свързващ протеин с висока подвижност група B1) е най-добре проученият специфичен маркер за некротична клетъчна смърт, освен това е и провъзпалителен цитокин. Установено е, че също индуцира автофагия чрез потискане на взаимодействието на Bcl-2 с Beclin 1 в отговор на нарушен клетъчен редокс-баланс и повишен оксидативен стрес (20), което предполага връзка между функционалното състояние на автофагията и интрацелуларните нива на активните форми на кислорода (АФК).

Връзка между апоптоза и Beclin 1

Въпреки че автофагията се смята за адаптивен процес, свързан с оцеляване, връзката ѝ с клетъчната смърт остава ненапълно изяснен. В различни проучвания се доказва, че действа като антагонист на апоптозата, а също и като ефектор на клетъчна смърт в условията на потисната апоптоза (32).

В някои случаи се наблюдава „комуникация“ между биохимичните процеси на апоптоза и автофагия чрез взаимодействие на Beclin 1 с апоптотични протеини. Например, когато апоптозата се инхибира от дефекти във функцията на проапоптотичните протеини Вах и Вак в култури на костномозъчни клетки, настъпва активация на автофагия и клетъчна смърт (30). Обратно, активацията на проапоптотичния Вах протеин предизвиква каспаза 3-, 7- и 8-медирано разцепване на Beclin 1 молекулата в нейния N- и C-терминални фрагменти, като по този начин унищожава способността ѝ да индуцира автофагия (31). Впоследствие транслокацията на C-терминалния фрагмент към митохондриите води до повишаване на чувствителността на клетките към апоптотични сигнали (13). За това, че съществува връзка между процесите на автофагия и апоптоза, говори и противоположен експеримент, при който инхибицията на автофагия посредством 3-метиладенин (3-MA) или малки интерфериращи РНК (siRNAs), насочени срещу Beclin 1, предизвиква апоптоза в HeLa клетки (8, 9, 70).

Yu et al. (2004) установяват, че с таргетиране на Beclin-1 с siRNAs се инхибира etoposide-активираната автофагия при генно модифицирани MEF клетки с липсващи проапоптотични молекули (Вах/Bak), което доказва независимото от апоптозата активиране на автофагията (66). От друга страна при третиране с siRNAs срещу Beclin 1 също се инхибира автофагията, но индуцирана от деплация на хранителни вещества в клетъчни култури от карцином на шийката на матката, което пък води до повишена клетъчна смърт (7). Подобни ефекти се наблюдават и при условия на изчерпване на хранителни елементи при HaLa клетки, чрез добавяне на бафиломицин A1, хидроксихлороквин и монезин - клетките са подложени на апоптоза, доказана с активацията на каспазите и нарушения митохондриален трансмембранен потенциал (64).

Установено е, че активирането на автофагия намалява натрупването на липидни капчици в хепатоцитите. По този начин се осигурява предпазна мярка срещу неалкохолна мастна чернодробна болест (NAFLD) и неалкохолен стеатохепатит (NASH), които увеличават риска от хепатоцелуларен карцином (56, 57). В допълнение, инхибирането на автофагията с 3-МА в плъщи хепатоцити увеличава нивата на триглицеридите, както броя и размера на липидните капчици (58). Според някои изследователи оксидативният стрес при NAFLD стимулира хепатоцитна апоптоза (активиране на вътрешния път чрез Вах протеина), което потиска автофагичната функция (12). В наши изследвания върху фруктоза-индуцирана чернодробна стеатоза установихме, че при инхибирането на единия процес се наблюдава алтернативна активация на другия и обратно (чрез повишена експресия на Вах протеина и загуба на Beclin 1) (1). Предполага се, че антагонизмът между двата процеса е един от механизмите за отлагането на излишни липиди в хепатоцитите. Всъщност в черния дроб на Beclin 1 дефицитни мишки се наблюдава повишена апоптоза, NF- κ B активиране и нива на TNF- α , водещи до прогресивни тъканни увреждания, клетъчна смърт и компенсаторно възпаление (36).

Тумор-потискаща роля на автофагията

Смята се, че автофагията има важна двойствена роля в туморогенезата. От една страна в някои тумори води до клетъчна смърт, а при други тумори промоцира клетъчното оцеляване и може да доведе до резистентност към химиотерапия. На пръв поглед това изглежда доста объркващо, но от друга страна молекули като Beclin 1, които могат да регулират автофагията,

имат потенциал за фармакологично модулиране на клиничното протичане на туморогенезата. Екзогенната експресия на Beclin 1 в човешка клетъчна култура MCF7 (от карцином на млечна жлеза, която ендогенно не го продуцира) води до потискане на пролиферацията и туморогенеза (29). Установено е, че Beclin 1 е алелно изтрит в 50% от случаите с карцином на гърдата. При това положение загубата на автофагия насърчава туморогенезата чрез натрупване на ДНК грешки и хромозомна нестабилност (29). Предполага се, че промотирането на онкогенезата е свързано с взаимодействието на антиапоптотичния BCL-2 с Beclin 1. При малка група от болни с рак на гърдата е открита връзка между загубата на Beclin 1 и мутации в други супресори като p53 и PTEN. Това подкрепя хипотезата, че загубата на Beclin 1 улеснява ДНК увредата и геномна нестабилност при някои карциноми на гърдата.

Противно на това при дебелочревен и стомашен карцином нивата му на експресия е значително по-висока, отколкото в нормална тъкан (3). Беше установено, че колоректалните ракови клетки могат да използват механизмите на автофагия в условията на стрес и недостиг на хранителни вещества, като по този начин си осигуряват алтернативен път на оцеляване (14). Инхибирането на Beclin 1 води до апоптоза в колоректалните клетки *in vivo* (27).

Връзката между самостоятелната роля или селективното взаимодействие на Beclin 1 с други видове клетъчна смърт е установено в редица изследвания, свързани с инхибиторите на автофагия и повлияването им от противотуморни препарати. Например клас III-PIK3 инхибиторът 3-МА блокира формирането на автофагозоми (чрез понижена експресия на Beclin 1) и предотвратява смъртта на клетки, изолирани от карцином на гърдата, третирани с тамоксифен. Това показва, че индукцията на автофагия може да бъде един от механизмите на противотуморно действие на тамоксифена. 3-МА също инхибира гама-облъчване - индуцирана автофагия при карциноми на гърдата, простата и дебело черво (19). За сравнение други инхибитори като бафиломицин A1, хидроксихлороквин и монезин инхибират автофагията (8) чрез предотвратяване на сливането на автофагозомите и лизозомите (64).

Простатният карцином е област, в която индукцията на автофагията представлява също интерес. Lian et al. (2011) установиха, че инхибитор на комплекса BCL-2-Beclin-1 индуцира автофагична клетъчна смърт в клетки на хормонално

неактивен простатен карцином, които експресират високи нива на антиапоптотичния BCL-2 и са били резистентни на апоптоза (28).

Автофагия и невродегенеративни заболявания

Последни проучвания показват, че натрупването на вътреклетъчни аномални протеини в резултат на потисната автофагия са свързани с невродегенеративни заболявания като болест на Паркинсон, болест на Алцхаймер, наследствени миопатии и др. (51,54). Според една от хипотезите причината за невроналната дисфункция и смърт е невъзможността за разграждане на тези агрегати (4). В експерименти, проследяващи базалните нива на протеолиза и автофагична деградация, е установено, че те са намалени. Функцията на убиквитин-протеазомната система е понижена в модели на невродегенерация (7), а свръхекспресията на шапероновите белтъци води до значими положителни ефекти в модели на протеинопатии (34). Предполага се, че загубата на автофагия-свързана протеолитична функция е причина за натрупването на алфа-синуклеин в допаминергичните неврони, което ги прави по-податливи към невродегенерация (35). Постепенната загуба на неврони и прогресивна деменция при пациенти с болестта на Алцхаймер се свързва с натрупването на амилоид, който се продуцира от трансмембранни протеини и протеази, изолирани в неразградени автофагозоми (67). При експериментален модел на болестта на Алцхаймер в хетерозиготни Beclin 1+/- дефицитни животни се наблюдава повишена честота на невродегенерация (32).

Автофагия, възпаление и имунитет

Автофагията има мултиплицирани имунологични функции, които влияят върху инфекцията, възпалението и имунитета (25). Автофагията контролира възпалението чрез регулаторни взаимодействия с вродени имунни сигнални пътища чрез отстраняване на ендогенни агонисти на възпалението и чрез ефекти върху секрецията на имунни медиатори и цитокини. Освен това автофагията допринася за представянето и ендогенно синтезиране на антигени, за хомеостазата на Т-клетките и чрез специфични рецептори осигурява механизъм за разграждане и елиминиране на вътреклетъчните микроорганизми – процес, наричан още ксенофагия (47). В допълнение, автофагията участва в адаптивния имунитет, като изолира в автофагозомите и обработва цитозолни антигени за представяне на главния комплекс на тъканната съвместимост клас II (41).

Инфламазомите са мултипротеинови комплекси, отговарящи за обработката на каспаза-1, последващо съзряване и секреция на проинфламаторни цитокини-IL8 и IL 18 (интерлевкин 8 и 18). Хетерозиготни мишки с дефицит на Beclin 1+/- отделят повишени нива на IL8 и IL 18 (42), което подсказва тясното обвързване на автофагията с инфламазомното активиране и възпалителния отговор срещу различни стимули - бактерии, вируси, кристали пикочна киселина, тумори, нарушена фагоцитоза и др. (21,53).

От друга страна, някои патогенни организми са в състояние да инхибират автофагията (за да избегнат загиване), докато други използват автофагозомни мембрани и автофагичните биохимични процеси за преживяване и подобряване на тяхната репликация. Някои онкогенни вируси като KSHV (сарком-асоцииран херпес вирус на Капоши) кодират вирусни хомолози на клетъчни протеини (вирусен FLICE инхибиторен протеин), vBcl-2 (вирусен Bcl-2 хомолози) (22), грипен M2 протеин и HIV-Nef протеин, които взаимодействат с Atg3 и Beclin 1, блокират автофагозомното образуване или ядрено-клетъчна нуклеация по време на латентност (57). Вирусът на хепатит С (HCV) предизвиква стрес в ендоплазмения ретикулум (ER), активиращ апоптоза, а в други изследвания е установено, че HCV вирусният протеин NS4B взаимодейства с VPS34, като блокира свързването му с Beclin 1 (57). HIV-Nef протеинът се свързва с еволюционно запазен домен на Beclin 1, а херпес вирус 68 кодиран протеин M11 (вирусен Bcl-2) инхибира Beclin 1 чрез неговия BH3 домен. Jackson et. al. (2005) установяват, че някои полиовируси използват двойно мембраните везикули за възпроизвеждане (17). Автофагията има свой собствен набор от рецептори и адаптери (PRR, SLR), за да премахне нахлуващите в клетките микроби, но и в това отношение патогените са развили стратегии за избягване на автофагичното улавяне. *Legionella pneumophila* (5), *Coxiella burnetii* (6), *Brucella abortus* (50), *Porphyromonas gingivalis* (15) и др. също могат активно да използват автофагията, активирайки Beclin 1 за техния жизнен цикъл въз основа на набор от ефекти, включително мембранни платформи за репликация (22,46) и метаболитни ефекти за генериране на хранителни вещества (43).

Болестта на Крон се характеризира с разпадане на чревната епителна бариера, водеща до неконтролиран имунен отговор към бактериални антигени. Наличните данни показват, че в патогенезата на това заболяване също е намесена

дисфункция в автофагията, причинена от генетични вариации. Загубата на толерантност и индуциране на адаптивна имунна реакция срещу обичайната безвредна флора се свързва с дефект на обработка на антигените на вътреклетъчните и нахлуващи бактерии в резултат на потисната активност на Beclin 1 и нарушено протеазомно разграждане на ендогенните антигени (5), което в крайна сметка води до появата на хронично чревно възпаление.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Beclin 1 е специализирана молекула, която играе мултифункционална роля в много биологични клетъчни процеси. Свързва се обикновено с адаптивния клетъчен отговор при защита от тъканно увреждане, инфекция и болестна патогенеза, активирайки макроавтофагия. Тези защитни функции не се ограничават до оцеляване на клетката, поддържане на митохондриалната хомеостаза, клирънс на патогени и обработка на протеини. Със своите множество взаимодействия с други регулатори от клетъчния метаболизъм Beclin 1 се свързва и с пропатогенни ефекти като например оцеляването на ракови клетки, улесняване на репликацията на патогени, активиране на апоптоза, възпаление, клетъчна смърт и др. Въпреки че автофагията обикновено се счита за тумор-потискащ процес, очевидно връзката между нея и туморите е сложна, защото различните етапи на автофагия имат различни роли в развитието на тумора и неговото оцеляване. Двойствената роля на Beclin 1-активност усложнява ефекта от прилаганите терапии и клиничното протичане на редица заболявания, което изисква по-доброто разбиране и проучване на молекулярните механизми, регулиращи тези процеси. Освен това по-голямата част от наличните изследвания, доказващи патогенетичната роля на Beclin 1 протеина, са установени в експериментални проучвания върху животни и клетъчни култури, а някои от тях са и противоречиви. При тези обстоятелства са необходими допълнителни изследвания, които да изяснят дали тази роля е съпоставима с патогенезата на различните заболявания и в проучвания при хора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Братоева К, Донев И, Цанева М, Бекярова Г. Оксидативен стрес и механизъм на хепатогенно оцеляване при фруктозо-индуцирана чернодробна стеатоза. Наука и младост. 2013; 1: 199-203.

2. Adi-Harel S, Erlich S, Schmukler E., Cohen-Kedar S, Segev O, Mizrachy L, et al. Beclin 1 self-association is independent of autophagy induction by amino acid deprivation and rapamycin treatment. J Cell Biochem. 2010; 110:1262–1271.
3. Ahn, C.H, Jeong, E.G, Lee J.W, Kim M.S, Kim S.H, Kim S. et al. Expression of beclin-1, an autophagy-related protein, in gastric and colorectal cancers. APMIS. 2007; 115:1344–1349.
4. Ambegaokar SS, Jackson GR. The downward spiral of tau and autolysosomes: a new hypothesis in neurodegeneration. Autophagy. 2012 Jul 1;8(7):1144-55.
5. Amer, A.O, Swanson, M.S. Autophagy is an immediate macrophage response to *Legionella pneumophila*. Cell. Microbiol. 2005; 7:765–778.
6. Beron, W, Gutierrez M.G, Rabinovitch M, Colombo M.I. *Coxiella burnetii* localizes in a Rab7-labeled compartment with autophagic characteristics. Infect. Immun. 2002; 70:5816–5821.
7. Bennett E, Bence N, Jayakumar R, and Kopito R. Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates precedes inclusion body formation. Mol Cell. 2005; 17: 351–365.
8. Boya P, González-Polo RA, Casares N, Perferrini JL, Dessed P, Larochette N, Métivier . et al. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. Mol Cell Biol. 2005; 25:1025–1040.
9. Caro LH, Plomp PJ, Wolvetang EJ, Kerkhof C, Meijer AJ. 3-Methyladenine, an inhibitor of autophagy, has multiple effects on metabolism. Eur J Biochem. 1988; 175:325–329.
10. Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease. N Engl J Med. 2013 May 9; 368(19):1845-6.
11. Cuervo, AM, Stefanis, L, Fredenburg, R, Lansbury, PT, and Sulzer, D. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. Science. 2004; 305: 1292–1295.
12. Czaja MJ. Autophagy in health and disease. Regulation of lipid metabolism and

- storage by autophagy: pathophysiological implications. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010 May; 298(5):C973-8.
13. Djavaheri-Mergny M, Maiuri MC, Kroemer G. Cross talk between apoptosis and autophagy by caspase-mediated cleavage of Beclin1. *Oncogene*. 2010; 29:1717-1719.
14. Dimitrova E, Chaushev B, Conev N, Kashlov J, Zlatarov A, Petrov D et al. Role of the pretreatment 18 F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography maximal standardized uptake value in predicting outcomes of colon liver metastases and that value's association with Beclin-1 expression. *BioScience Trends*. 2017; 11(2):221-228.
15. Dorn, B.R., Dunn, W.A., Progulske-Fox, A. *Porphyromonas gingivalis* traffics to autophagosomes in human coronary artery endothelial cells. *Infect. Immun*. 2001; 69:5698-5708.
16. Fimia GM, Stoykova A, Romagnoli A, Giunta L, Di Bartolomeo S, Nardacci R, et al. Ambra1 regulates autophagy and development of the nervous system. *Nature*. 2007; 447:1121-1125.
17. Jackson W.T, Giddings T.H, Taylor M.P, Mulinyawe, S., Rabinovitch, M., et al. Subversion of cellular autophagosomal machinery by RNA viruses. *PLoS Biol*. 2005; 3:e156.
18. Itakura E, Kishi C, Inoue K, Mizushima N. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol. Biol. Cell*. 2008; 19:5360-5372.
19. Kanazawa T, Taneike I, Akaishi R, Yoshizawa F, Furuya N, et al. Amino acids and insulin control autophagic proteolysis through different signaling pathways in relation to mTOR in isolated rat hepatocytes. *J. Biol. Chem*. 2004; 279:8452-8459.
20. Kang R, Livesey KM, Zeh HJ, Loze MT, Tang D. HMGB1: a novel Beclin 1-binding protein active in autophagy. *Autophagy*. 2010; 6:1209-1211.
21. Krelín Y, Voronov E, Dotan S, Elkabets M, Reich E, Fogel M, et al. Interleukin-1 β -driven inflammation promotes the development and invasiveness of chemical carcinogen-induced tumors. *Cancer Res*. 2007; 67:1062-1071.
22. Ku B. Structural and biochemical bases for the inhibition of autophagy and apoptosis by viral BCL-2 of murine gamma-herpesvirus 68. *PLoS Pathog*. 2008; 4:e25.
23. Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004; 6: 463-477.
24. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*. 2008 Jan 11;132(1):27-42.
25. Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*. 2011; 469:323-335.
26. Li BX, Li CY, Peng RQ, Wu XJ, Wang HY, Wan DS, et al. The expression of beclin 1 is associated with favorable prognosis in stage IIIB colon cancers. *Autophagy*. 2009; 5:303-306.
27. Li J, Hou N, Faried A, Tsutsumi S, Kuwano H. Inhibition of autophagy augments 5-fluorouracil chemotherapy in human colon cancer in vitro and in vivo model. *Eur J Cancer*. 2010; 46:1900-9.
28. Lian J, Wu X, He F, Karnak D, Tang W, Meng Y, et al. A natural BH3 mimetic induces autophagy in apoptosis-resistant prostate cancer via modulating Bcl-2-Beclin1 interaction at endoplasmic reticulum. *Cell Death Differ*. 2011; 18(1):60-71.
29. Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*. 1999; 402:672-676.
30. Lum JJ, Bauer DE, Kong M, Harris MH, Li C, et al. Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis. *Cell* 2005; 120: 237-248.
31. Luo S, Rubinsztein DC. Apoptosis blocks Beclin 1-dependent autophagosome synthesis: an effect rescued by Bcl-xL. *Cell Death Differ*. 2010; 17:268-277.
32. Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 741-752.

33. Martinet W, Knaapen MW, Kockx MM, De Meyer GR. Autophagy in cardiovascular disease. *Trends Mol Med.* 2007; 13(11):482-91.
34. Massey, AC, Kaushik, S, Sovak, G, Kiffin, R, and Cuervo, AM. Consequences of the selective blockage of chaperone-mediated autophagy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103: 5805–5810.
35. Martinez-Vicente M, Cuervo AM. Autophagy and neurodegeneration: when the cleaning crew goes on strike. *Lancet Neurol.* 2007; 6:352–361.
36. Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, Vuong N, Chen G, Chen HY, et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell.* 2009; 137:1062–1075.
37. Matsunaga K, Saitoh T, Tabata K, Omori H, Satoh T, Kurotori N, et al. Two Beclin 1-binding proteins, Atg14L and Rubicon, reciprocally regulate autophagy at different stages. *Nat Cell Biol.* 2009; 11:385–396.
38. Matsunaga K, Morita E, Saitoh T, Akira S, Ktistakis NT, Izumi T, et al. Autophagy requires endoplasmic reticulum targeting of the PI3-kinase complex via Atg14L. *J Cell Biol.* 2010; 190:511–521.
39. Mizushima, N. The pleiotropic role of autophagy: From protein metabolism to bactericide. *Cell Death Differ.* 2005; 12 (2) 1535–1541.
40. Mizushima, N. and Levine, B. Autophagy in mammalian development and differentiation. *Nat. Cell Biol.* 2010; 12, 823-830.
41. Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2010; 22:132–139.
42. Nakahira, K. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat. Immunol.* 2011; 12, 222–230.
43. Niu H, Xiong Q, Yamamoto A, Hayashi-Nishino M, Rikihisa Y. Autophagosomes induced by a bacterial Beclin 1 binding protein facilitate obligatory intracellular infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109:20800–20807.
44. Noble CG, Dong JM, Manser E, Song H. Bcl-xL and UVRAG cause a monomer-dimer switch in Beclin 1. *J Biol Chem.* 2008; 283:26274–26282.
45. Ohsumi Y. Molecular dissection of autophagy: Two ubiquitin-like systems. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2001; 2:211–216.
46. Orvedahl, A., Alexander, D., Tallóczy, Z., Sun, Q., Wei, Y., Zhang, W. et al. HSV-1 ICP34.5 Confers Neurovirulence by Targeting the Beclin 1 Autophagy Protein. *Cell Host and Microbe.* 2007; 1:23–35.
47. Paludan C., Schmid D., Landthaler M., Vockerodt M., Kube D et al. Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *Science.* 2005; 307:593-596.
48. Pattingre S., Tassa A., Qu X., Garuti R., Liang X.H., Mizushima N., et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell.* 2005; 122:927–939.
49. Pattingre S., Espert L., Biard-Piechaczyk M., Codogno P. Regulation of macroautophagy by mTOR and Beclin 1 complexes. *Biochimie.* 2008; 90:313–323.
50. Pizarro-Cerda, J., Moreno, E., Sanguedolce, V., Mege, J.L., Gorvel, J.P. Virulent *Brucella abortus* prevents lysosome fusion and is distributed within autophagosome-like compartments. *Infect. Immun.* 1998; 66:2387–2392.
51. Ravikumar, B, Vacher, C, Berger, Z., Davies JE, Luo S, Oroz LG. et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet.* 2004; 36: 585–595.
52. Ryter SW, Cloonan SM, Choi AM. Autophagy: a critical regulator of cellular metabolism and homeostasis. *Mol Cells.* 2013; 36(1):7-16.
53. Saitoh T., Fujita N., Jang M. H., Uematsu S., Yang B. G., Satoh T., et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 β production. *Nature.* 2008; 456 264–268.
54. Scheibel, T and Buchner, J. Protein aggregation as a cause for disease. *Handb Exp Pharmacol.* 2006; 172: 199–219.

55. Schmid, D., Münz, C. Innate and adaptive immunity through autophagy. *Immunity*. 2007; 27:11–21.
56. Schneider, J.L., and A.M. Cuervo. Autophagy and human disease: emerging themes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2014; 26:16–23.
57. Silva L.M., Jung J.U. Modulation of the autophagy pathway by human tumor viruses. *Semin. Cancer Biol.* 2013; 23:323–328.
58. Singh R., Kaushik S., Wang Y., Xiang Y., et al. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*. 2009 Apr 30; 458(7242):1131–5.
59. Starley, B.Q., Calcagno, C.J., and Harrison, S.A. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology*. 2010; 51:1820–1832.
60. Takahashi Y, Coppola D, Matsushita N, Cualing HD, Sun M, Sato Y, et al. Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis. *Nat Cell Biol.* 2007; 9:1142–1151.
61. Tang D., Kang R., Cheh C. W., Livesey K. M., Liang X., Schapiro N. E., et al. HMGB1 release and redox regulates autophagy and apoptosis in cancer cells. *Oncogene*. 2010a; 29 5299–5310.
62. Turcotte S., Giaccia A. Targeting cancer cells through autophagy for anticancer therapy. *Curr Opin Cell Biol.* 2010; 22: 246–251.
63. Wirawan E, VandenBerghe T, Lippens S, Agostinis P, Vandenabeele P. Autophagy: for better or for worse. *Cell Res.* 2012; 22(1):43–61.
64. Yamamoto A., Tagawa Y., Yoshimori T., Moriyama Y., Masaki R., Tashiro Y. Bafilomycin A1 prevents maturation of autophagic vacuoles by inhibiting fusion between autophagosomes and lysosomes in rat hepatoma cell line, H-4-II-E cells. *Cell Struct. Funct.* 1998; 23:33–42.
65. Yang Z, Klionsky DJ. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation. *Curr Opin Cell Biol.* 2010; 22:124–131.
66. Yu, L., Alva A., Su H., Dutt P., Freundt E., Welsh S., et al. Regulation of an ATG7-beclin 1 program of autophagic cell death by caspase-8. *Science*. 2004; 304:1500–1502.
67. Yu, WH, Cuervo, AM, Kumar, A et al. Macroautophagy: a novel beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease. *J Cell Biol.* 2005; 171:87–98.
68. Yue Z, Jin S, Yang C, Levine AJ, Heintz N. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl AcadSci USA.* 2003; 100:15077–15082.
69. Zhang Y, Goldman S, Baerga R, Zhao Y, Komatsu M, Jin S. Adipose-specific deletion of autophagy-related gene 7 (atg7) in mice reveals a role in adipogenesis. *Proc Natl AcadSci U S A.* 2009; 106(47):19860–19865.
70. Zhu H, Wu H, Liu X, Li B, Chen Y, Ren X, et al. Regulation of autophagy by a beclin 1-targeted microRNA, miR-30a, in cancer cells. *Autophagy*. 2009; 5:816–823.

Адрес за кореспонденция:
Камелия Жечкова Братоева
Катедра по физиология и патофизиология
Медицински университет
„Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна
9000, гр. Варна, ул. „проф. Марин Дринов“ 55,
e-mail: k_brat@abv.bg