



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Acta Haematologica Polonicajournal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem**Praca poglądowa/Review****Autofagia – proces o dwóch obliczach***Autophagy – process with two faces***Izabela Dereń-Wagemann^{*}, Marek Kielbiński, Kazimierz Kuliczkowski**

Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku UM, Kierownik: prof. dr hab. Kazimierz Kuliczkowski, Wrocław, Polska

INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 28.11.2012

Zaakceptowano: 10.05.2013

Dostępne online: 23.05.2013

Słowa kluczowe:

- autofagia
- leczenie cytostatyczne
- nowotwory układu krwiotwórczego

Keywords:

- Autophagy
- Cytostatic treatment
- Hematologic malignancies

A B S T R A C T

Autophagy is a process that is involved in the pathogenesis of cancer but also in the development of resistance or sensitivity to cytostatic treatment applied.

Until now, the issue is still unresolved if we should stimulate or inhibit the process of autophagy in cancer treatment through the use of appropriate anticancer therapy so that it is beneficial for the patient and induce remission of the disease. On the one hand autophagy as a mechanism of programmed cell death may also cause the death of tumor cells. On the other hand, as a defense mechanism is the process of cell survival strategy in stress situations such as hypoxia in the peripheral parts of the tumor or using cytostatic drugs.

It would be good to find an answer if the autophagy is the process increasing the effectiveness of therapy or increasing resistance to treatment in a case of specific tumor.

© 2013 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o. All rights reserved.

Wstęp

Autofagia (samostrawienie, samozjadanie) jest procesem ewolucyjnie konserwatywnym i występuje we wszystkich komórkach eukariotycznych, począwszy od drożdży, a skończywszy na ssakach [1]. W przeciwieństwie do procesu apoptozy i martwicy, autofagia nie jest wyłącznie synonimem śmierci komórki. W wielu przypadkach może ona stanowić strategię przeżycia komórki w warunkach stresowych, takich jak głodzenie, niedotlenienie czy stosowanie chemioterapeutyków. Bierze ona także udział w degradacji niepotrzebnych lub uszkodzonych białek o długim okresie

półtrwania oraz różnych części organelli komórki, zapobiegając akumulacji tych struktur oraz utrzymując homeostazę organizmu, co ma miejsce np. w czasie inwolucji gruczołu laktacyjnego [2, 3, 4]. Ponadto uczestniczy także w procesie dojrzewania krwinek czerwonych czy powstawaniu surfaktantu [5].

Określając autofagię jako śmierć komórki według terminologii NCCD z 2012 r. (Nomenclature Committee on Cell Death), zaproponowano ponowne wprowadzenie terminu „autophagic cell death”. W świetle postępu badań biochemicznych i molekularnych nowa klasyfikacja rodzajów śmierci komórek opiera się głównie na kryteriach czynnościowych w przeciwieństwie do klasyfikacji z 2009 roku, gdzie brano

^{*} Adres do korespondencji: Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, ul. Pasteura 4, 50-367 Wrocław. Tel./Fax: +48 71 7842576/71 7840112.

Adres email: izabeladw@gmail.com (I. Dereń-Wagemann).

pod uwagę głównie cechy morfologiczne komórek. Na bazie nowej definicji autofagii określa się jako rodzaj śmierci komórki, w którym pojawiają się czynnościowe markery autofagii, takie jak lipidacja LC3 (lekkie łańcuchy białka związanego z mikrotubulami; *protein light chain 3*) lub zwiększona degradacja autofagalnych substratów, takich jak sekwestosom 1, i który może być zahamowany przez inhibitory autofagii, np. czynniki wpływające na szlak kinazy 3-fosfatydyloinozytoli (PI3K, Vps34; *vesicular protein sorting 34*). [6].

Podział, przebieg oraz regulacja procesu autofagii

Termin autofagia oznaczający dosłownie „samozjadanie” wprowadzono w latach sześćdziesiątych XX wieku. Został on zaproponowany w trakcie „Ciba Foundation Symposium on Lysosomes” – konferencji, która miała miejsce w Londynie w lutym 1963 roku [7]. Obecny podział procesu autofagii na trzy postaci opiera się na różnym mechanizmie dostarczania do lizosomów ładunku komórkowego przeznaczanego do degradacji. Na tej podstawie wyróżniono: makroautofagię, mikroautofagię oraz autofagię zależną od białek opiekuńczych (czaperonów; *chaperones*). Prototypową postacią autofagii stanowi makroautofagia polegająca na formowaniu, dojrzewaniu oraz degradacji przez lizosomy wakuoli autofagicznych (nazywanych autofagosomami). Dlatego też termin „autofagia” powszechnie używany w publikacjach odnosi się jedynie do makroautofagii (dotyczy to również tego opracowania).

Mikroautofagia

Mikroautofagia odnosi się do procesu, w którym białka przeznaczone do degradacji są wprowadzane bez udziału autofagosomu bezpośrednio do wnętrza lizosomów, gdzie dochodzi do ich enzymatycznego strawienia [8]. Jest to najslabiej poznany rodzaj autofagii, a jej rola w onkogenezie pozostaje niewyjaśniona.

Autofagia zależna od białek opiekuńczych – czaperonów

Autofagia zależna od białek opiekuńczych, czyli czaperonów (CMA; *chaperone mediated autophagy*) to proces, w którym białka te wychwytyują np. nieprawidłowo pofałdowane białka cytoplazmatyczne i są następnie przenoszone do lizosomów [9]. W przeciwieństwie do makro- i mikroautofagii, która była opisana zarówno u ssaków, jak i roślin i grzybów, ten rodzaj autofagii został opisany jedynie u ssaków. W trakcie autofagii zależnej od białek opiekuńczych receptory znajdujące się w błonie lizosomów rozpoznają kompleksy złożone z białka opiekuńczego i substratu. Tylko substraty zawierające w swojej budowie specyficzną peptydową sekwencję są rozpoznawane przez białka opiekuńcze. Decyduje to o selektywności procesu. Każdy substrat zawiera w swojej budowie motyw KFERQ (pentapeptyd), który to rozpoznawany jest przez białko szoku termicznego hsc73 należące do rodziny białek opiekuńczych hsc70. Białko to łączy się z receptorem Lamp2a w błonie lizosomu, dzięki czemu substrat dostaje się do wnętrza lizosomu, gdzie podlega hydrolizie [10–13]. Przyłączanie białka hsc70 do substratu

jest regulowane przez przyłączanie ATP i jego hydrolizę [14, 15]. Ponadto proces regulowany jest przez ograniczoną ilość białka Lamp2a [16].

CMA w warunkach fizjologicznych jest aktywna w komórce na pewnym stałym poziomie. Bierze udział w usuwaniu starych, uszkodzonych białek [17, 18]. Jest zaangażowana w proces prezentacji antygeny i odpowiedzi immunologicznej, dlatego można podejrzewać, że jej zaburzenie może przyczyniać się do rozwoju chorób autoimmunologicznych [19]. Wykazano również, że poziom CMA obniża się wraz z wiekiem [16]. Może mieć to związek z rozwojem chorób neurodegeneracyjnych, w których dochodzi do akumulacji patologicznych białek, jak na przykład: α -synukleiny w chorobie Parkinsona, APP i białka τ w chorobie Alzheimerera czy huntingtyny w chorobie Huntingtona. Wszystkie te proteiny zawierają w swojej budowie motyw KFERQ [18, 20, 21]. Wykazano także, że zaburzenie CMA może być odpowiedzialne za rozwój chorób spichrzeniowych oraz przerost nerki u cukrzyków [22, 23]. Rola CMA w onkogenezie jest problemem otwartym. Wykazano, że może ona być procesem zaangażowanym w rozwój nowotworów, między innymi zaawansowanego raka trzustki z obecnością przerzutów [24]. W jednym z ostatnich badań wykazano, że wyciszenie genu *Lamp2a* powoduje zwiększony poziom białka p53, co skutkuje zmniejszeniem proliferacji i zaburzeniem metabolizmu w komórkach ludzkiego raka płuca *in vitro* oraz zmniejszeniem wzrostu guza i przerzutów *in vivo* [25].

Makroautofagia

Makroautofagia jest najczęściej występującą formą autofagii. Proces ten kontrolowany jest przez produkty genów *Atg* (*AuTophagy-related*), które po raz pierwszy zostały opisane u drożdży. 14 z 32 dotychczas opisanych przedstawicieli białek *Atg* u drożdży wykazuje homologię z białkami ssaków [26, 27]. Przebieg autofagii zależy od kaskady białek *Atg*. Do najważniejszych białek *Atg* biorących udział w formowaniu tzw. autofagosomu zaliczamy kompleks kinazy ULK1/2, białko błonowe *Atg9*, kompleks kinazy 3-fosfatydyloinozytoli klasy III (PI3K-III) oraz ubikwitynopodobne systemy sprzężania *Atg12* i *Atg8* [28].

Proces autofagii jest regulowany przez kilka szlaków wrażliwych na obecność lub brak składników odżywczych. Substancje takie jak aminokwasy, insulina i kinaza aktywowana AMP (AMPK) działają poprzez białkową kinazę serynowo-treoninową mTOR (*mammalian target of rapamycin*) [29]. W środowisku bogatym w składniki odżywcze szlak regulacyjny mTOR jest aktywowany, co prowadzi do zahamowania autofagii i pobudza komórki do proliferacji.

Aktywacja mTOR i zahamowanie przez to autofagii odbywa się głównie poprzez stymulowany przez insulinę szlak kinazy 3-fosfatydyloinozytoli (PI3K, Vps34; *vesicular protein sorting 34*), zwiększającej wytwarzanie fosfatydylo-3-inozytoli (PIP3), który powoduje przemieszczenie się do błony komórkowej kinazy białkowej zależnej od fosfatydyloinozytoli (PDK1) oraz kinazy Akt. Szlak Pi3K–Akt–mTOR jest często aktywowany w sposób konstytutywny w komórkach nowotworowych, co umożliwia ich ciągły wzrost i proliferację [30].

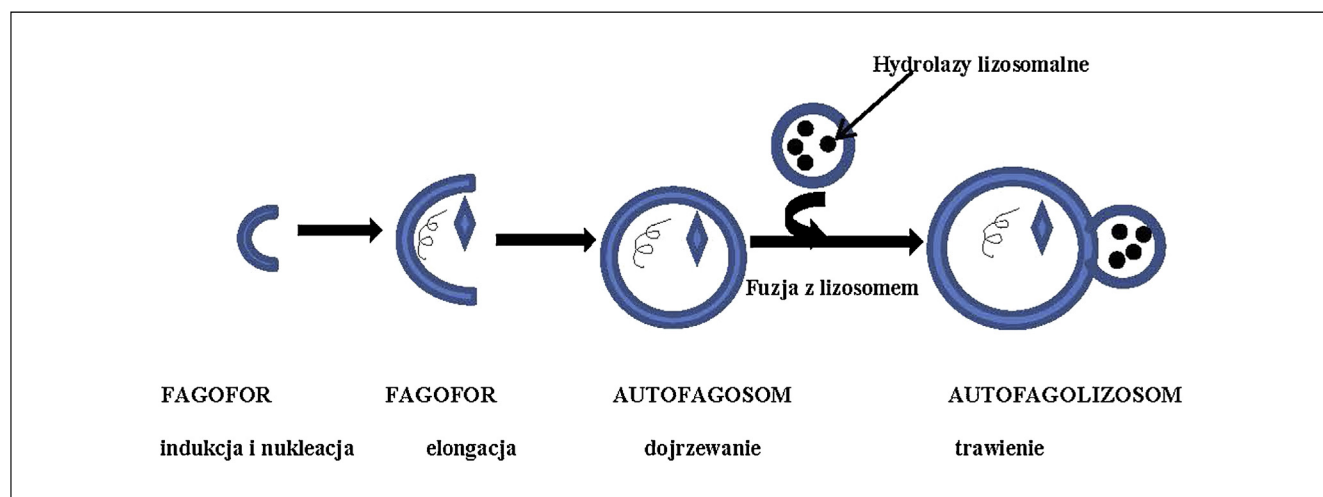
Nadmierną aktywację szlaku mTOR wykazano w wielu nowotworach, w tym u 70% chorych z ostrą białaczką szpikową [31]. Wynika ona najprawdopodobniej z nadmiernej aktywacji białek tego szlaku, gdyż nie opisano dotychczas mutacji, nadekspresji ani translokacji w obrębie genu kodującego mTOR [32]. Z kolei w przypadku stwardnienia guzowego – choroby charakteryzującej się występowaniem objawów, takich jak np. guzy mózgu, skóry, nerek, płuc i serca – stwierdzono, że mutacje w obrębie genów głównego inhibitora mTOR: kompleksu białek hamartyny (TSC1) i tuberyny (TSC2) (*tuberous sclerosis complex 1 and 2*) powodują nadmierną aktywację mTOR, a przez to wzmożony wzrost i namnażanie komórek [33]. Aktywność kinazy mTOR jest także regulowana przez kinazę aktywowaną AMP (AMPK). Szlak ten również uczestniczy w regulowaniu metabolizmu w komórkach nowotworowych. Bodźcem pobudzającym kinazę AMPK są stresory występujące często w obwodowych częściach guzów, takie jak: deficyt energetyczny komórki spowodowany niedoborem składników odżywczych (o czym świadczy podwyższony poziom AMP w komórce lub spadek wytwarzania ATP) oraz hipoksja [34].

W pierwszym etapie procesu autofagii dochodzi do odrodzenia części cytoplazmy przez błonę izolującą zwaną fagoforem, który kształtem przypomina literę C [35, 36]. W powstawaniu błony fagoforu (nukleacji) znaczącą rolę odgrywa białko Atg9, które dostarcza składników lipidowych niezbędnych do formowania tej błony, krążąc pomiędzy aparatem Golgiego a późnymi endosomami [37]. Proces ten jest także kontrolowany przez białka Atg1, Atg9 oraz kompleks zawierający kinazę 3-fosfatydyloinozytolo klasy III (Vps34; *vesicular protein sorting 34*), beklinę 1 i p150. Kinaza Vps34, dzięki tworzeniu kompleksu z bekliną 1 i innymi białkami, wykazuje aktywność enzymatyczną i powoduje zwiększone wytwarzanie fosfatydyloinozytolo-trifosforanu (PIP3), który jest niezbędny do wydłużania (elongacji) fagoforu i rekrutacji kolejnych białek Atg do fagoforu [38].

W dalszym etapie procesu elongacji dochodzi do dwóch procesów koniugacji. W pierwszym, przy udziale białka Atg7, dochodzi do aktywacji 186-aminokwasowego białka Atg12

poprzez jego C-końcową glicynę. Następnie białko Atg12 jest przenoszone na białko Atg10, co powoduje kowalencyjne związanie się Atg12 z Atg5. Wiązanie powstaje między C-końcową glicyną Atg12 a wewnętrzną lizyną Atg5. Kompleksy Atg12-Atg5 łączą się następnie z białkiem Atg16L, aby wytworzyć multimery Atg12-Atg5-Atg16L, które łączą się z wydłużającym się fagoforem. Uważa się, że przyłączenie tego multimeru do fagoforu indukuje jego zakrzywienie. Dochodzi do tego wskutek aktywacji drugiego procesu koniugacji z udziałem białek Atg3, Atg4, Atg7 oraz białka LC3 (*protein light chain 3*) [39–41]. Białko LC3 jest to ubikwitynopodobne białko związane z mikrotubulami, występujące u ssaków jako homolog białka Atg8 drożdży [42, 43]. Forma zwana proLC3 jest proteolitycznie rozszczepiana przez proteazę Atg4, wskutek czego powstaje forma LC3-I z wyeksponowaną glicyną na końcu C. Do glicyny tej dołącza się białko Atg7, Atg3 oraz wymienione wyżej multimery Atg12-Atg5-Atg16L, dzięki czemu białko LC3-I może połączyć się z wysoce lipofilną fosfatydyloetanoloaminą (PE) i wytworzyć formę LC3-II [44, 45]. Dzięki tym procesom z fagoforu powstaje autofagosom zamykający w swoim środku część cytoplazmy wraz z białkami. Białko LC3-II odgrywa rolę w selekcjonowaniu ładunku przenoszonego do degradacji poprzez wiązanie się z białkiem p62/SQTM 1 na agregatach przeznaczonych do degradacji [46]. W kolejnym etapie dochodzi do fuzji zewnętrznej błony autofagosomu z lizosomem, wskutek czego powstaje autofagolizosom, w którym dochodzi do enzymatycznego strawienia wewnętrznej błony autofagolizosomu i ładunku zawartego wewnątrz pod wpływem enzymów lizosomalnych [23, 24] (Ryc. 1).

Warto także pamiętać, że istnieje sieć powiązań (*cross-talk*) między ścieżkami autofagii i apoptozy. W komórkach ludzkich białkiem łączącym procesy apoptozy i autofagii jest beklina 1. Beklina 1 oddziałuje z białkami uczestniczącymi w regulacji apoptozy, którymi są białka należące do rodziny Bcl-2. Beklina 1 ma zdolność do łączenia się z białkami antyapoptocycznymi oraz proapoptocznymi. Białka Bcl-2 i Bcl-XL działają jako inhibitory autofagii,



Ryc. 1 – Makroautofagia (objaśnienia w tekście)
Fig. 1 – Macroautophagy (explanations in text)

natomiast białka proapoptotyczne hamują oddziaływanie między bekliną 1 a Bcl-2, indukując w ten sposób autofagię [27, 47-49].

Wykazano, że kaspazy 3, 7 i 8, odgrywające główną rolę w procesie apoptozy mają zdolność proteolizy bekliny 1, przez co uniemożliwiają jej indukowanie autofagii [29]. W wyniku tego rozszczepienia powstają N- i C-końcowe fragmenty. Fragmenty C-końcowe przechodzą do mitochondriów i uwrażliwiają komórki na sygnały proapoptotyczne poprzez uwolnienie cytochromu c i białka HtrA2/Omi.

Stwierdzono też, że rozszczepienie przez kalpainę białka Atg5 biorącego udział w formowaniu autofagosomów aktywuje apoptozę. Po proteolizie jeden z fragmentów tego białka przemieszcza się do mitochondriów i poprzez interakcję z białkami Bcl-XL aktywuje apoptozę [50].

Z kolei rozszczepienie białka Atg4D powoduje powstanie fragmentu o zwiększonej aktywności promującego autofagię.

Co więcej, autofagia może hamować apoptozę częściowo poprzez degradację aktywnej kaspazy 8 oraz hamowanie aktywacji białka Bid (pobudzającego apoptozę) przez beklinę 1 [51].

Wzajemne powiązanie między procesami apoptozy i autofagii zachodzi także poprzez białko o dużej ruchliwości elektroforetycznej HMGB1 (*high mobility group box 1*), które jest niehistonowym białkiem jądrowym, składnikiem chromatyny. Białko to wpływa na strukturę chromatyny, bierze aktywny udział w transkrypcji, replikacji, rekombinacji i naprawie DNA [52]. Jest także późnym mediatorem zapalnym uwalnianym przez tkanki w odpowiedzi na uszkodzenie i infekcję [53, 54]. Białko to łączy uszkodzenie tkanek z aktywacją procesów wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. W odpowiedzi na bodziec pobudzający autofagię białko to przechodzi z jądra komórkowego do cytoplazmy, gdzie bezpośrednio łączy się z bekliną 1, powoduje uwolnienie białka Bcl-2 i umożliwia tym samym beklinie 1 indukcję autofagii [55].

Wzajemne powiązania pomiędzy procesami apoptozy oraz autofagii zachodzą także poprzez białko p53. Białko to jest inhibitorem transformacji nowotworowej. Pobudza proces apoptozy, ale może również wpływać na proces autofagii poprzez pobudzanie lub hamowanie jej w zależności od swojego położenia w komórce. Frakcja położona w cytoplazmie poprzez indukcję mTOR1 hamuje proces autofagii, natomiast frakcja jądrowa uczestniczy w pobudzeniu tego procesu [56].

Dychotomia procesu

W warunkach fizjologicznych, przy prawidłowym poziomie składników odżywczych, na poziomie podstawowym autofagia występuje w większości tkanek, podczas ich wzrostu oraz różnicowania się, przyczyniając się do rutynowego, stałego obiegu białek w komórce, co wpływa na utrzymanie jej homeostazy. W procesie tym dochodzi do trawienia lizosomalnego białek, kompleksów białkowo-lipidowych oraz całych organelli (np. mitochondriów, peroksysomów, fragmentów aparatu Golgiego, fragmentów retikulum endoplazmatycznego). Uwolnione związki mogą być ponownie

wykorzystane do wewnątrzkomórkowych syntez. Komórka pozbywa się więc w ten sposób uszkodzonych, obumarłych, zużytych lub wytworzonych w nadmiarze elementów swej struktury [57, 58]. Śmierć noworodków mysich z mutacją w genie Atg5, uniemożliwiająca uruchomienie procesu autofagii, jest dowodem na to, że proces ten ma charakter fizjologiczny i jest niezbędny do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania organizmu [59, 60]. Wykazano, że autofagia w warunkach fizjologicznych bierze udział w dojrzewaniu retikulocytów, inwolucji gruczołu sutkowego, eliminacji nadmiaru komórek podczas rozwoju zarodkowego. Ponadto sugeruje się, że może ona determinować długość życia organizmu, ponieważ wraz z wiekiem proces autofagii staje się niewydolny, co może sprzyjać rozwojowi chorób głównie nowotworowych i neurodegeneracyjnych [61, 62].

Gdy poziom autofagii zmniejsza się, komórki tracą zdolność do usuwania materiałów i zaczynają gromadzić składniki cytotoksyczne. Może to skutkować niestabilnością wewnątrzkomórkowego środowiska i doprowadzić do zniszczeń DNA oraz przyczynić się do promocji onkogenezy [63]. Autofagię na wyższym niż podstawowy poziomie, stanowiącym strategię przetrwania komórki, spotyka się w warunkach patologicznych – podczas głodzenia, niedotlenienia, infekcji bakteryjnych, powstawania nieprawidłowych białek [64-66]. To może umożliwiać adaptację i przetrwanie komórek w sytuacjach dla nich stresowych.

W przypadku nowotworzenia rola autofagii jest dwojaka. Autofagia odgrywa rolę zarówno w śmierci komórek nowotworowych, jak i oporności na chemioterapię. Ponadto ma ona odmienne znaczenie na różnych etapach rozwoju nowotworu: usuwając uszkodzone białka i organella, może zapobiec inicjacji nowotworu, natomiast w już rozwiniętym guzie może umożliwiać adaptację do warunków stresowych, takich jak niedotlenienie, co umożliwia progresję nowotworu [67, 68]. Paradoksalnie, autofagia może więc z jednej strony przyczyniać do ochrony komórek, ale z drugiej strony może przyczynić się do ich śmierci. Dwojakość ta może mieć pewne, bardzo istotne znaczenie w rozwoju oraz terapii nowotworów.

Z jednej strony liczne dowody wskazują, że autofagia może spełniać funkcję przeciwnowotworową. Stwierdzono, że poziom ekspresji niektórych genów związanych z autofagią jest zmniejszony lub całkowicie zredukowany w niektórych typach nowotworów. Między innymi wykazano, że jedna kopia genu bekliny 1, białka niezbędnego w czasie formowania autofagosomu, ulega delecji w niektórych przypadkach ludzkiego raka piersi oraz jajnika [69]. Wiele nowotworów mózgu charakteryzuje się również zmniejszeniem ekspresji bekliny 1 [70]. Ponadto badania na myszach pozbawionych jednej lub obu kopii genów związanych z autofagią, jak na przykład genu bekliny 1, Atg4c, 5, 7 wykazują, że zwierzęta te mają zwiększoną zapadalność na nowotwory związane z wiekiem, raki wątrobowokomórkowe, chłoniaki z komórek B, raka gruczołowego płuc, włókniakomięsaki i łagodne gruczolaki wątroby [71-74]. Geng i wsp. wykazali, że wyższa ekspresja bekliny 1 w próbkach z węzłów chłonnych zawierających przerzuty raka żołądka jest związana z dłuższym całkowitym przeżyciem pacjentów [75].

Ostatnie badania wykazały, że autofagia odgrywa istotną rolę w usuwaniu uszkodzonych, obciążonych żelazem mitochondriów (proces ten zwany jest w tym przypadku mitofagią). Wykazano, że w erytroblastach pacjentów z rozpoznaniem zespołu mielodysplastycznego niskiego ryzyka w skali IPSS występuje zwiększony poziom mitofagii we wczesnych stadiach rozwoju tych komórek [76]. Podejrzewa się, że zwiększony poziom mitofagii może ochronić DNA przed uszkodzeniami spowodowanymi przez wolne rodniki tlenowe, których powstawanie jest zależne od obecności żelaza zawartego w nadmiarze w mitochondriach u pacjentów z tymi rozpoznaniem. W momencie kiedy mitofagia staje się procesem niewydolnym, zwiększona ilość wolnych rodników tlenowych może powodować zwiększoną ilość uszkodzeń DNA i prawdopodobnie powodować progresję choroby.

Z drugiej strony autofagia może być mechanizmem odpowiedzialnym za nabywanie oporności przez komórki nowotworowe na terapię. Może ona przyczynić się do promocji nowotworu, umożliwiając przeżycie komórek nowotworowych w warunkach niskiego stężenia tlenu i substancji odżywczych, szczególnie w wewnętrznych, słabo unaczynionych częściach guza, które powstają w późniejszym etapie rozwoju choroby nowotworowej [77]. Yang i wsp. wykazali, że w raku trzustki podwyższony w sposób autonomiczny podstawowy poziom autofagii był wymagany dla dalszego rozwoju nowotworu [78]. Wykazano także, że zwiększony poziom autofagii koreluje ze złym rokowaniem u pacjentów z rakiem trzustki. Zwiększony poziom ekspresji białka LC3 wykazano w obwodowych częściach guza u pacjentów z takim właśnie rokowaniem [79]. Wykazano ponadto, że jedną z najczęstszych zmian genetycznych u pacjentów z rakiem trzustki jest aktywacja genu K-Ras. Guzy z tą zmianą mają wysoki podstawowy poziom autofagii. Badania *in vivo* i *in vitro* wykazały, że próby jej zahamowania spowodowały statystycznie wzrost przeżycia.

Wyniki badań pokazują ponadto, że autofagia może ochronić komórki rakowe przed promieniowaniem jonizacyjnym, między innymi poprzez usunięcie uszkodzonych organelli, takich jak mitochondria, które biorą udział w procesie apoptozy i nie pozwalają przez to na przetrwanie transformowanych pod wpływem tego promieniowania komórek [80, 81].

Stwierdzono także, że autofagia może ułatwiać przeżycie komórek nowotworowych po ich oderwaniu od podłoża. Komórki nowotworowe muszą oderwać się od macierzy pozakomórkowej, aby doszło do powstania przerzutów. W warunkach fizjologicznych po oderwaniu od podłoża komórki podlegają śmierci zwanej anoikozą (*anoikis*), która uniemożliwia ich ponowne przyczepienie do nowego podłoża i powstanie przerzutów. Jest to apoptoza występująca w komórkach adherentnych wywołana przez utratę ich przyczepności do powierzchni lub do innych komórek. Wykazano, że niektóre komórki nowotworowe są odporne na wejście w anoikozę, co jest zależne właśnie od autofagii [82]. Oporność na anoikozę jest odpowiedzialna za powstawanie przerzutów zarówno drogą krwi, jak i przez rozsiew w otrzewnej w przypadku raka żołądka czy jajnika [83, 84]. Komórki uzyskują oporność na wejście w anoikozę za pomocą różnych mechanizmów. Jednym z nich może być

zmiana we wzorcu ekspresji poszczególnych integryn, za pomocą których komórki nowotworowe są przyczepione do macierzy zewnątrzkomórkowej, czy też zahamowanie zarówno zewnętrznego toru apoptozy poprzez zwiększenie ekspresji FLIP (białko hamujące FLICE/kaspazę 8; *FLICE/caspase 8-inhibitory protein*) w komórkach nowotworowych, jak i wewnętrznego poprzez osłabienie aktywności białka Bmf i Bim. Stwierdzono także, że po oderwaniu komórek od podłoża dochodzi w nich do nasilenia procesu autofagii. Wykazano, że autofagia ułatwia zachodzenie procesu glikolizy w komórkach nowotworowych. Nasilenie glikolizy na niekorzyść fosforylacji oksydatywnej jest jedną z ważniejszych cech komórek nowotworowych. Zjawisko to zwane jest efektem Warburga. Umożliwia ono przeżycie i rozwój komórek guza dzięki produkcji ATP na drodze glikolizy w niekorzystnych warunkach, takich jak hipoksja, kiedy fosforylacja oksydacyjna, jako zjawisko zależne od obecności tlenu, jest zahamowana. Aktywacja autofagii w komórkach oderwanych od podłoża jest zależna od ekspresji genu *H-Ras* [85-87].

Jeśli brać pod uwagę terapię nowotworów (w tym także hematologicznych), ciągle pozostaje bez odpowiedzi pytanie, czy powinno się hamować, czy też pobudzać autofagię w trakcie ich leczenia. Wiadomo, że zarówno chemio- jak i radioterapia mogą pobudzać autofagię jako mechanizm umożliwiający przeżycie komórek nowotworowych. Z drugiej strony, w komórkach, w których apoptoza jest zahamowana, autofagia może być zjawiskiem prowadzącym do usuwania komórek nowotworowych z organizmu.

W nawiązaniu do pierwszej sytuacji, w której autofagia może być mechanizmem prożyciowym, warto przypomnieć, że jest wiele leków przeciwnowotworowych, które stymulują autofagię w komórkach nowotworowych, co może powodować nabywanie oporności na stosowane leczenie (Tabela 1).

Efekt zahamowania autofagii został przebadany w różnych rodzajach nowotworów, między innymi w: przewlekłej białaczce szpikowej, szpiczaku mnogim, raku jelita grubego, raku nerki, czerniaku, ostrych białaczkach, raku prostaty czy glejakach. Zahamowanie autofagii uzyskiwano poprzez

Tabela I – Leki przeciwnowotworowe pobudzające autofagię [88]

Table I – Anticancer drugs stimulating autophagy [88]

Funkcja leku	Nazwa leku
leki alkilujące	cyklofosfamid, temozolomid
inhibitory Bcl2	GX15-070
inhibitory glikolizy	GX15-070, 2-deoksyglukoza
inhibitory HDAC	worinostat, panobinostat
leki hormonalne	tamoksifen, toremifen
inhibitory mikrotubul	winblastyna
przeciwciała monoklonalne	rituksimab, panitumumab
inhibitory mTOR	sirolimus, temsirolimus, everolimus
składniki naturalne	arszenik, resweratrol
inhibitory proteasomu	bortezomib, epoksomycyna
inhibitory topoizomerazy	doksorubicyna, kaptopotecyna
inhibitory kinazy tyrozynowej	dasatynib, sorafenib, imatinib
analogi witaminy D	EB 1089
inhibitor farnesylotransferazy	lorafarnib

wykorzystanie inhibitorów farmakologicznych, takich jak chlorochinon, hydroksychlorochinon, bafilomycyna A1, 3-metyloadenina, czy też poprzez wyciszenie ekspresji genów, takich jak: *Atg5*, *BECN1*, *Atg10*, *Atg12* [89]. Chlorochinon oraz hydroksychlorochinon są lekami używanymi w leczeniu malarii, a kiedyś były wykorzystywane także w leczeniu chorób autoimmunologicznych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów czy toczeń rumieniowaty układowy. W 1989 roku doniesiono, że w Tanzanii w trakcie programu z użyciem chlorochinonu, który miał na celu zmniejszenie zapadalności na malarię, stwierdzono zmniejszenie ilości zachorowań na chłoniaka Burkitta [90]. Ponadto w jednej z prac wykazano, że wyciszenie w linii szczyrczych komórek glejaka genów odpowiedzialnych za autofagię, takich jak *Atg5*, *Atg7* czy *Ulk1* powoduje zwiększenie apoptozy wywołanej przez cyklosporynę [91].

Leczenie imatinibem indukuje apoptozę, ale w tym samym czasie pobudza także autofagię, co może skutkować opornością na to leczenie. Stwierdzono, że eliminacja procesu autofagii poprzez zastosowanie jej inhibitora (chlorochinonu) uwrażliwia komórki na działanie inhibitora kinazy tyrozynowej [92]. Podobne badania prowadzone są aktualnie wśród pacjentów z rozpoznaniem szpiczaka mnogiego, u których w połączeniu z bortezomibem stosowany jest chlorochinon [93]. W jednej z ostatnich prac opisano także, że zahamowanie procesu autofagii powoduje zwiększenie skuteczności sorafenibu w leczeniu szpiczaka mnogiego [94].

Zahamowanie procesu autofagii może stać się również celem terapeutycznym w leczeniu raka jelita grubego. W doświadczeniach *in vitro* wykazano, że zahamowanie autofagii powoduje zwiększenie procesu apoptozy wywołanej przez 5-fluorouracyl, cytostatyk używany w chemioterapii adjuwantowej oraz paliatywnej [95].

Być może regulacja procesu autofagii może mieć znaczący wpływ na przeżycie pacjentów z rozpoznaniem czerniaka. Wykazano, w badaniach z wykorzystaniem temozolomidu i sorafenibu, że u pacjentów z podwyższonym indeksem autofagii (średnia liczba wakuoli autofagalnych w komórce) występuje gorsza odpowiedź na leczenie oraz krótsze przeżycie [96].

W badaniach nad rakiem prostaty wykazano, że gossypol, aldehyd polifenolowy występujący jako pigment w roślinach z gatunku *Gossypium* (podgatunek *Hibisceae*, rodzina *Malvaceae*), wyizolowany z nasion bawełny, ma również działanie przeciwnowotworowe. Chang i wsp. na podstawie badań prowadzonych na modelach zwierzęcych (gryzonie) potwierdzili antyproliferacyjne i antymetastatyczne działanie tej substancji chemicznej na komórki raka stercza linii MAT-LyLu [97]. Stwierdzono, że cząsteczka ta jest inhibitorem białka Bcl i preferencyjnie pobudza w mechanizmie autofagii śmierć hormonoopornych komórek raka prostaty, które wykazują wysoką ekspresję Bcl-2 i są odporne na apoptozę [98].

Nie zawsze musi jednak tak być, że autofagia w leczeniu chorób nowotworowych stanowi strategię przeżycia komórki. Wykazano na przykład, że trójtlenek arsenu wywołuje śmierć komórek białaczkowych oraz ich progenitorów w mechanizmie autofagii w komórkach ostrej białaczki wywodzących się z limfocytów T, jak również w komórkach glejaka złośliwego [99, 100].

W badaniach III fazy wykazano, że inhibitor mTOR-temsirolimus zwiększał całkowite przeżycie u pacjentów z rozpoznaniem rakiem nerki ze złym rokowaniem [101]. W ostatnich badaniach wykazano także korzystną rolę rapamycyny w ostrej białaczce limfoblastycznej Ph(+). Stwierdzono między innymi, że rapamycyna intensyfikuje zahamowanie proliferacji komórek białaczkowych indukowane przez daunorubicynę, ponadto połączenie daunorubicyny z rapamycyną w porównaniu z zastosowaniem tylko samej daunorubicyny wywołuje znaczne zwiększenie autofagii oraz liczby komórek znajdujących się w fazie G1 cyklu komórkowego. Badania te wykazały znaczny efekt synergistyczny podczas stosowania tych dwóch leków, związany z zahamowaniem szlaku mTOR, zwiększeniem autofagii oraz zablokowaniem cyklu komórkowego w fazie G1 [61].

Wykazano także, że dodanie inhibitora szlaku mTOR-temsirolimusu może być korzystne w leczeniu nawrotowego chłoniaka z komórek płaszczą, ponieważ zwiększał on ilość odpowiedzi oraz przeżycie wolne od progresji w porównaniu ze standardowo stosowanymi lekami [102]. Okazuje się ponadto, że rodzaj odpowiedzi może zmieniać się w zależności od rodzaju zadanego komórce stresu. Świadczą o tym sprzeczne wyniki badań. Głównym białkiem zaangażowanym w proces autofagii, które bierze udział w kontroli regulacji niekontrolowanego podziału komórek, jest beklina 1, niezbędna do formowania autofagosomu. Oddziałuje ona z białkiem antyapoptocznym Bcl-2.

Wykazano, że ekspresja Bcl-2 i Bcl-XL może uwrażliwić komórki na śmierć w mechanizmie autofagii wywołanej przez etopozyd, z drugiej strony natomiast białko Bcl-2 hamuje autofagię zależną od działania bekliny 1 w odpowiedzi na głodzenie [38].

Aktualnie NCI (National Cancer Institute) nadzoruje 34 programy kliniczne, w których badany lub modulowany jest proces autofagii w różnego rodzaju nowotworach. W 27 z nich jako modulator procesu wykorzystywany jest hydroksychlorochinon najczęściej dodawany do leków przeciwnowotworowych, w tym głównie cytostatyków oraz inhibitorów kinazy tyrozynowej. Aktualnie trwające programy kliniczne prowadzone są wśród pacjentów z rozpoznaniem nowotworów, takich jak: rak trzustki, nerki, prostaty, szpiczak mnogi, rak jelita grubego, guzy lite, przewlekła białaczka szpikowa, glejaki oraz drobno- i niedrobnokomórkowy rak płuca [103].

Podsumowanie

Efekt, jaki autofagia wywiera na komórki, zależy od typu tych komórek oraz środowiska, w jakim się znajdują. Wydaje się, że dopiero szczegółowa wiedza określająca, czy w danym nowotworze pod wpływem określonego leczenia dochodzi w mechanizmie autofagii do śmierci komórek, pozwoli podjąć właściwe decyzje odnośnie do wyboru i modulacji terapii przeciwnowotworowej. Jak wynika z powyżej przytoczonych przykładów, postępowanie jest ściśle zależne od rodzaju nowotworu oraz rodzaju stosowanej terapii. W niektórych przypadkach dopiero dołożenie do standardowo stosowanego leczenia dodatkowego leku w określony sposób modyfikującego proces autofagii (indukującego lub hamującego proces) może sprowadzić to leczenie na drogę korzystną dla pacjenta.

Wkład autorów/Authors' contributions

ID-W – koncepcja i przygotowanie pracy zebranie literatury.
MK – koncepcja pracy. KK – przygotowanie literatury.

Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004;6:463–477.
- [2] Gajewska M, Gajkowska B, Motyl T. Apoptosis and autophagy induced by TGF-β1 in bovine mammary epithelial BME-UV1 cells. *J Physiol Pharmacol* 2005;56:143–157.
- [3] Broker LE, Kruyt FA, Giaccone G. Cell death independent of caspases: a review. *Clin Cancer Res* 2005;11:3155–3162.
- [4] Okada H, Mak TW. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. *Nat Rev Cancer* 2004;4:592–603.
- [5] Kim R. Recent advances in understanding the cell death pathways activated by anticancer therapy. *Cancer* 2005;103:1551–1560.
- [6] Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ* 2012;19:107–120.
- [7] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ* 2009;16:3–11.
- [8] Klionsky DJ. Autophagy revisited: a conversation with Christian de Duve. *Autophagy* 2008;4:740–743.
- [9] Lockshin RA, Zakeri Z. Apoptosis autophagy, and more. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:2405–2419.
- [10] Massey A, Kiffin R, Cuervo AM. Pathophysiology of chaperone-mediated autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:2420–2434.
- [11] Arias E, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy in protein quality control. *Curr Opin Cell Biol* 2011;23:184–189.
- [12] Cuervo AM. Autophagy: Many paths to the same end. *Mol Cell Biochem* 2004;263:55–72.
- [13] Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: selectivity pays off. *Trends Endocrinol Metab* 2010;21:142–150.
- [14] Kaushik S, Bandyopadhyay U, Sridhar S, et al. Chaperone-mediated autophagy at a glance. *J Cell Sci* 2011;124:495–499.
- [15] Cuervo AM, Terlecky SR, Dice JF, et al. Selective binding and uptake of ribonuclease A and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by isolated rat liver lysosomes. *J Biol Chem* 1994;269:26374–26380.
- [16] Agarraberes FA, Dice JF. A molecular chaperone complex at the lysosomal membrane is required for protein translocation. *J Cell Sci* 2001;114:2491–2499.
- [17] Cuervo AM, Dice JF. Age-related decline in chaperone-mediated autophagy. *J Biol Chem* 2000;275:31505–31513.
- [18] Orenstein SJ, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: molecular mechanisms and physiological relevance. *Semin Cell Dev Biol* 2010;21:719–726.
- [19] Yang Q, She H, Gearing M, et al. Regulation of Neuronal Survival Factor MEF2D by Chaperone-Mediated Autophagy. *Science* 2009;323:124–127.
- [20] Zhou D, Li P, Lin Y, et al. Lamp-2a facilitates MHC class II presentation of cytoplasmic antigens. *Immunity* 2005;22:571–581.
- [21] Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science* 2004;305:1292–1295.
- [22] Kon M, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy in health and disease. *FEBS Lett* 2010;584:1399–1404.
- [23] Cuervo AM, Bonten L, Mann EJ, et al. Cathepsin A regulates chaperone-mediated autophagy through cleavage of the lysosomal receptor. *EMBO J* 2003;22:47–59.
- [24] Maalouf M, Rho JM, Mattson MP. The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies. *Brain Res Rev* 2009;59:293–315.
- [25] Welsch T, Younsi A, Disanza A, et al. Eps8 is recruited to lysosomes and subjected to chaperone-mediated autophagy in cancer cells. *Exp Cell Res* 2010;316:1914–1924.
- [26] Kon M, Kiffin R, Koga H, et al. Chaperone-Mediated Autophagy Is Required for Tumor Growth. *Sci Transl Med* 2012;3:109–117.
- [27] Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J Pathol* 2010;221:3–12.
- [28] Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:931–937.
- [29] Mizushima N. Autophagy: process and function. *Genes Dev* 2007;21:2861–2873.
- [30] Chen N, Karantza-Wadsworth V. Role and regulation of autophagy in cancer. *Biophys Acta* 2009;1739:1516–1523.
- [31] Xu Q, Simpson SE, Scialla TJ, et al. Survival of acute myeloid leukemia cells requires PI3 kinase activation. *Blood* 2003;102:972–980.
- [32] Janus A, Smolewski P. Inhibitory kinazy mTOR w leczeniu ostrej białaczki szpikowej. *Acta Haematol Pol* 2007;38:203–211.
- [33] Tyburczy M, Kotulska K, Pokarowski P, et al. Odkrycie nowych białek regulowanych przez kinazę mTOR w guzach mózgu pacjentów ze stwardnieniem guzowatym. *Am J Pathol* 2010;176:1878–1890.
- [34] Yang YP, Liang ZQ, Gu ZL, et al. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation. *Curr Opin Cell Biol* 2010;22:124–131.
- [35] Towler MC, Hardie DG. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res* 2007;100:328–341.
- [36] Eskelinen EL. Maturation of autophagic vacuoles in mammalian cells. *Autophagy* 2005;1:1–10.
- [37] Rami A. Review: autophagy in neurodegeneration: firefighter and/or incendiary? *Neuropathol Appl Neurobiol* 2009;35:449–461.
- [38] Pattingre S, Tassa A, Qu X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell* 2005;122:927–939.

- [39] Zhou F, Yang Y, Xing D. Bcl-2 Bcl-xL play important roles in the crosstalk between autophagy and apoptosis. *FEBS J* 2011;278:403–413.
- [40] Chen N, Karantza-Wadsworth V. Role and regulation of autophagy in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793:1516–1523.
- [41] Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:741–752.
- [42] Djavaheri-Mergny M, Maiuri MC, Kroemer G. Cross talk between apoptosis and autophagy by caspase-mediated cleavage of Beclin 1. *Oncogene* 2010;29:1717–1719.
- [43] Wirawan E, Vande Walle L, Kersse K. Caspase-mediated cleavage of Beclin-1 inactivates Beclin-1-induced autophagy and enhances apoptosis by promoting the release of proapoptotic factors from mitochondria. *Cell Death Dis* 2010;1:18.
- [44] Reggiori F, Shintani T, Nair U, et al. Atg9 cycles between mitochondria and the pre-autophagosomal structure in yeasts. *Autophagy* 2005;1:101–109.
- [45] Høyer-Hansen M, Jäättelä M. Connecting endoplasmic reticulum stress to autophagy by unfolded protein response and calcium. *Cell Death Differ* 2007;14:1576–1582.
- [46] Wang CW, Klionsky DJ. The molecular mechanism of autophagy. *Mol Med* 2003;9:65–76.
- [47] Barth S, Glick D, Macleod KF. Autophagy: assays and artifacts. *J Pathol* 2010;221:117–124.
- [48] Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J* 2000;19:5720–5728.
- [49] He H, Dang Y, Dai F, et al. Post-translational modifications of three members of the human MAP1LC3 family and detection of a novel type of modification for MAP1LC3B. *J Biol Chem* 2003;278:29278–29287.
- [50] Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, et al. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009;10:458–467.
- [51] Nakatogawa H, Ichimura Y, Ohsumi Y, Atg8. a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediated membrane tethering and hemifusion. *Cell* 2007;130:165–178.
- [52] Hudes G, Carducci M, Tomczak P, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007;356:2271–2281.
- [53] Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, et al. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ* 2011;18:571–580.
- [54] Travens A. Priming the nucleosome: a role for HMGB proteins. *EMBO Rep* 2003;4(2):131–136.
- [55] Dumitriu IE, Baruah P, Manfredi AA, et al. HMGB1: guiding immunity from within. *Trends Immunol* 2005;26:381–387.
- [56] Ulloa L, Messmer D. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: friend and foe. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17:189–201.
- [57] Tang D, Kang R, Livesey KM, et al. Endogenous HMGB1 regulates autophagy. *J Cell Biol* 2010;190:881–892.
- [58] Ryan KM. p53 and autophagy in cancer: guardian of the genome meets guardian of the proteome. *Eur J Cancer* 2011;47:44–50.
- [59] Mizushima N, Ohsumi Y, Yoshimori T. Autophagosome formation in mammalian cells. *Cell Struct Funct* 2002;27:421–429.
- [60] Uchiyama Y, Shibata M, Koike M. Autophagy-physiology pathophysiology. *Histochem Cell Biol* 2008;129:407–420.
- [61] Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: Molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004;6:463–477.
- [62] Lockshin RA, Zakeri Z. Apoptosis autophagy, and more. *IJBCB* 2004;36:2405–2419.
- [63] Yang Z, Klionsky DJ. An overview of the molecular mechanism of autophagy. *Curr Top Microbiol Immunol* 2009;335:1–32.
- [64] Kundu M, Lindsten T, Yang CY, et al. Ulk1 plays a critical role in the autophagic clearance of mitochondria and ribosomes during reticulocyte maturation. *Blood* 2008;112:1493–1502.
- [65] Mathew R, Kongara S, Beaudoin B, et al. Autophagy suppresses tumor progression by limiting chromosomal instability. *Genes Dev* 2007;21:1367–1381.
- [66] Komatsu M, Waguri S, Ueno T, et al. Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J Cell Biol* 2005;169:425–434.
- [67] Kuma A, Hatano M, Matsui M, et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 2004;432:1032–1036.
- [68] Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* 2004;306:990–995.
- [69] Garcia-Escudero V, Gargini R. Autophagy induction as an efficient strategy to eradicate tumors. *Autophagy* 2008;4:923–925.
- [70] Amaravadi RK, Yu D, Lum JJ, et al. Autophagy inhibition enhances therapy-induced apoptosis in a Myc-induced model of lymphoma. *J Clin Invest* 2007;117:326–336.
- [71] Yue Z, Jin S, Yang C, 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;100:15077–15082.
- [72] Saito H, Inazawa J, Saito S, et al. Detailed deletion mapping of chromosome 17q in ovarian and breast cancers: 2-cM region on 17q21.3 often and commonly deleted in tumors. *Cancer Res* 1993;53:3382–3385.
- [73] Miracco C, Cosci E, Oliveri G, et al. Protein and mRNA expression of autophagy gene Beclin 1 in human brain tumours. *Int J Oncol* 2007;30:429–436.
- [74] Qu X, Yu J, Bhagat. et al. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest* 2003;112:1809–1820.
- [75] Marino G, Salvador-Montoliu N, Fueyo A, et al. Tissue-specific autophagy alterations and increased tumorigenesis in mice deficient in Atg4C/autophagin-3. *J Biol Chem* 2007;282:18573–18583.
- [76] Takamura A, Komatsu M, Hara T, et al. Autophagy deficient mice develop multiple liver tumours. *Gene Dev* 2011;25:795–800.
- [77] Geng QR, Xu DZ, He LJ, et al. Beclin-1 expression is a significant predictor of survival in patients with lymph node-positive gastric cancer. *PLoS One* 2012;7:45968.
- [78] Houwerzijl EJ, Pol HW, Blom NR, et al. Erythroid precursors from patients with low-risk myelodysplasia demonstrate ultrastructural features of enhanced autophagy of mitochondria. *Leukemia* 2009;23:886–891.
- [79] Cuervo AM. Autophagy: in sickness and in health. *Trends Cell Biol* 2004;14:70–77.
- [80] Yang S, Kimmelman AC. A critical role for autophagy in pancreatic cancer. *Autophagy* 2011;7:912–913.
- [81] Fujii S, Mitsunaga S, Yamazaki M, et al. Autophagy is activated in pancreatic cancer cells and correlates with poor patient outcome. *Cancer Sci* 2008;99:1813–1819.
- [82] Paglin S, Hollister T, Delohery T, et al. A novel response of cancer cells to radiation involves autophagy and formation of acidic vesicles. *Cancer Res* 2001;61:439–444.
- [83] Alva AS, Gultekin SH, Baehrecke EH. Autophagy in human tumors: cell survival or death? *Cell Death Differ* 2004;11:1046–1048.
- [84] Fung C, Lock R, Gao S, et al. Induction of autophagy during extracellular matrix detachment promotes cell survival. *Mol Biol Cell* 2008;19:797–806.

- [85] Masoumi Moghaddam S, Amini A, Morris DL, Pourgholami MH. Significance of vascular endothelial growth factor in growth and peritoneal dissemination of ovarian cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2012;31:143-162.
- [86] Simpson CD, Anyiwe K, Schimmer AD. Anoikis resistance and tumor metastasis. *Cancer Lett* 2008;272:177-185.
- [87] Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer* 2011;11:85-95.
- [88] Benbrook DM, Long A. Integration of autophagy, proteasomal degradation, unfolded protein response and apoptosis. *Exp Oncol* 2012;34:286-297.
- [89] Dalby KN, Tekedereli I, Lopez-Berestein G, et al. Targeting the prodeath and prosurvival functions of autophagy as novel therapeutic strategies in cancer. *Autophagy* 2010;6:322-329.
- [90] Geser A, Brubaker G, Draper CC. Effect of a malaria suppression program on the incidence of African Burkitt's lymphoma. *Am J Epidemiol* 1989;129:740-752.
- [91] Calabretta B, Salomoni P. Inhibition of autophagy: a new strategy to enhance sensitivity of chronic myeloid leukemia stem cells to tyrosine kinase inhibitors. *Leuk Lymphoma* 2011;52:54-59.
- [92] Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005;352:2487-2498.
- [93] Kharaziha P, De Raeve H, Fristedt C, et al. Sorafenib Has Potent Antitumor Activity against Multiple Myeloma In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo in the 5T33MM Mouse Model. *Cancer Res* 2012;72:5348-5362.
- [94] Li J, Hou N, Faried A, et al. Inhibition of autophagy augments 5-fluorouracil chemotherapy in human colon cancer in vitro and in vivo model. *Eur J Cancer* 2010;46:1900-1909.
- [95] Ma X, Piao S, Wang DW, et al. Measurements of tumor cell autophagy predict invasiveness, resistance to chemotherapy, and survival in melanoma. *Clin Cancer Res* 2011;17:3478-3489.
- [96] Chang CJ, Ghosh PK, Hu YF, Brueggemeier RW, Lin YC. Antiproliferative and antimetastatic effects of gossypol on Dunning prostate cell-bearing Copenhagen rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1993;79:293-312.
- [97] Lian J, Wu X, He F, 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;18:60-71.
- [98] Kanzawa T, Kondo Y, Ito H, Kondo S, Germano I. Induction of autophagic cell death in malignant glioma cells by arsenic trioxide. *Cancer Res* 2003;63:2103-2108.
- [99] Kanzawa T, Zhang L, Xiao L, et al. Arsenic trioxide induces autophagic cell death in malignant glioma cells by upregulation of mitochondrial cell death protein BNIP3. *Oncogene* 2005;24:980-991.
- [100] Yang X, Lin J, Gong Y, et al. Antileukaemia effect of rapamycin alone or in combination with daunorubicin on ph+ acute lymphoblastic leukaemia cell line. *Hematol Oncol* 2012;30:123-130.
- [101] Galimberti S, Petrini M. Temsirolimus in the treatment of relapsed and/or refractory mantle cell lymphoma. *Cancer Manag Res* 2010;28(2):181-189.
- [102] Shimizu S, Kanaseki T, Mizushima N, et al. Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. *Nat Cell Biol* 2004;6:1221-1228.
- [103] www.cancer.gov 01.04.2013.