

РОЛЯ НА АПОПТОЗО-ИНДУЦИРАЩИЯ ФАКТОР ПРИ ФИЗИОЛОГИЧНИ СЪСТОЯНИЯ И МАЛИГНЕНИ НЕОПЛАЗМИ

Невена Янулова, Мария Цанева

*Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология,
Факултет по медицина, Медицински университет – Варна*

ROLE OF THE APOPTOSIS-INDUCING FACTOR IN PHYSIOLOGICAL CONDITIONS AND IN MALIGNANT NEOPLASMS

Nevena Yanulova, Maria Tzaneva

*Department of General and Clinical Pathology, Forensic Medicine and Deontology,
Faculty of Medicine, Medical University of Varna*

РЕЗЮМЕ

Апоптозата е процес на програмирана клетъчна смърт, която функционира в условия на сложни взаимодействия с редица други процеси в организма. Тя е неизменен спътник при физиологични събития по време на живота като растеж, развитие и стареене. Все повече са доказателствата, че нарушенията в процесите на осъществяване и контрола ѝ са в основата на редица патологични състояния като автоимунни, невродегенеративни и злокачествени заболявания. Апоптозата се индуцира чрез класически или алтернативен сигнален път, активират се протеини, наречени каспази, които играят съществена роля в клетъчната смърт. Неотдавна се откри каспазо-независим път на клетъчна смърт, която се реализира с участието на локализиран в митохондриите апоптозо-индуциращ фактор (AIF). По време на апоптоза протеинът се освобождава в клетъчната цитоплазма, претърпява конформационни промени, транслокира се в ядрото с помощта на макрофагиален миграционен инхибиторен фактор (MIF) и в резултат настъпва фрагментация на клетъчната ДНК. От друга страна, AIF взема участие в процесите на окислително фосфорилиране, улавя свободните кислородни радикали и предотвратява индуцираната от тях апоптоза. При редица злокачествени тумори туморните клетки са придобили способност да потискат или да избягват апоптозата, което спомага тяхното оцеляване и метастазирание. Задълбоченото изучаване на механизмите, чрез които неопластичните клетки успяват да заобиколят и манипули-

ABSTRACT

Apoptosis is a process of programmed cell death that functions in conditions of complex interactions with a number of other processes in the organism. It is an invariable companion in physiological life events such as growth, development, and aging. There is more and more evidence that disorders in the processes of its implementation and control are the basis of a number of pathological conditions such as autoimmune, neurodegenerative, and malignant diseases. Apoptosis is induced through a classical or alternative signaling pathway and proteins called caspases that play an essential role in cell death are being activated. Recently, a caspase-independent pathway of cell death was discovered, which is executed with the participation of mitochondria-localized apoptosis-inducing factor (AIF). During apoptosis, the protein is released into the cell cytoplasm, it undergoes conformational changes, is translocated to the nucleus with the help of macrophage migration inhibitory factor (MIF), and, as a result, cellular DNA fragmentation occurs. On the other hand, AIF takes part in the processes of oxidative phosphorylation, captures free oxygen radicals and prevents apoptosis induced by them. In a number of malignant tumors, tumor cells have acquired the ability to suppress or avoid apoptosis, which facilitates their survival and metastasis. In-depth study of the mechanisms by which neoplastic cells manage to avoid and manipulate programmed cell death is valuable and extremely important information needed to discover new approaches and drugs for therapeutic impact and overcoming treatment resistance in different types of tumors.

рат програмираната клетъчна смърт, е ценна и изключително важна информация, необходима за откриване на нови подходи и медикаменти за терапевтично повлияване и преодоляване на резистентността към лечението при различните видове тумори.

Ключови думи: апоптоза, апоптозо-индуциращ фактор, каспази, злокачествени тумори

ВЪВЕДЕНИЕ

Апоптозата е процес на програмирана клетъчна смърт. Нормално тя участва по време на развитието и стареенето на организма и има активна роля в хомеостазата, в поддържане на клетъчните популации в тъканите в определени граници. Среща се и като защитен механизъм, например при имунни реакции или при увреда на клетките от различни агенти (22). Въпреки че има голямо разнообразие от стимули и състояния както физиологични, така и патологични, които могат да предизвикат апоптоза, не всички клетки непременно ще загинат в отговор на един и същ стимул (6).

При физиологични условия, в процеса на формиране на тъканите и органите по време на ембрионалното развитие, апоптозата противодейства на процесите на митоза и клетъчната пролиферация и е от критично важно значение за развитието на организма (6). В своето развитие нервната система, както и имунната система възникват чрез свръх образуване на клетки. Първоначалното свръхпроизводство е последвано от смъртта на клетките, които не успяват да установят функционални синаптични връзки или съответни антигенни специфичности (20,24). Програмираната клетъчна смърт взема участие в образуването на грануляционната тъкан при заздравяването на рани, като нарушения в процесите, осъществяващи регулацията ѝ, могат да доведат до патологично заздравяване на раните, например с прекомерно образуване на фиброзна тъкан (10). Ясно е, че апоптозата трябва да бъде строго регулиран процес, тъй като недостатъчна или прекомерна клетъчна смърт може да доведе до патологични състояния, включително дефекти в развитието, автоимунни, невродегенеративни или онкологични заболявания (6). При онкологичните заболявания нормалните механизми на регулиране на клетъчния цикъл са нарушени, което има за резултат свръхпродукция и/или намалено отстраняване на клетките (14).

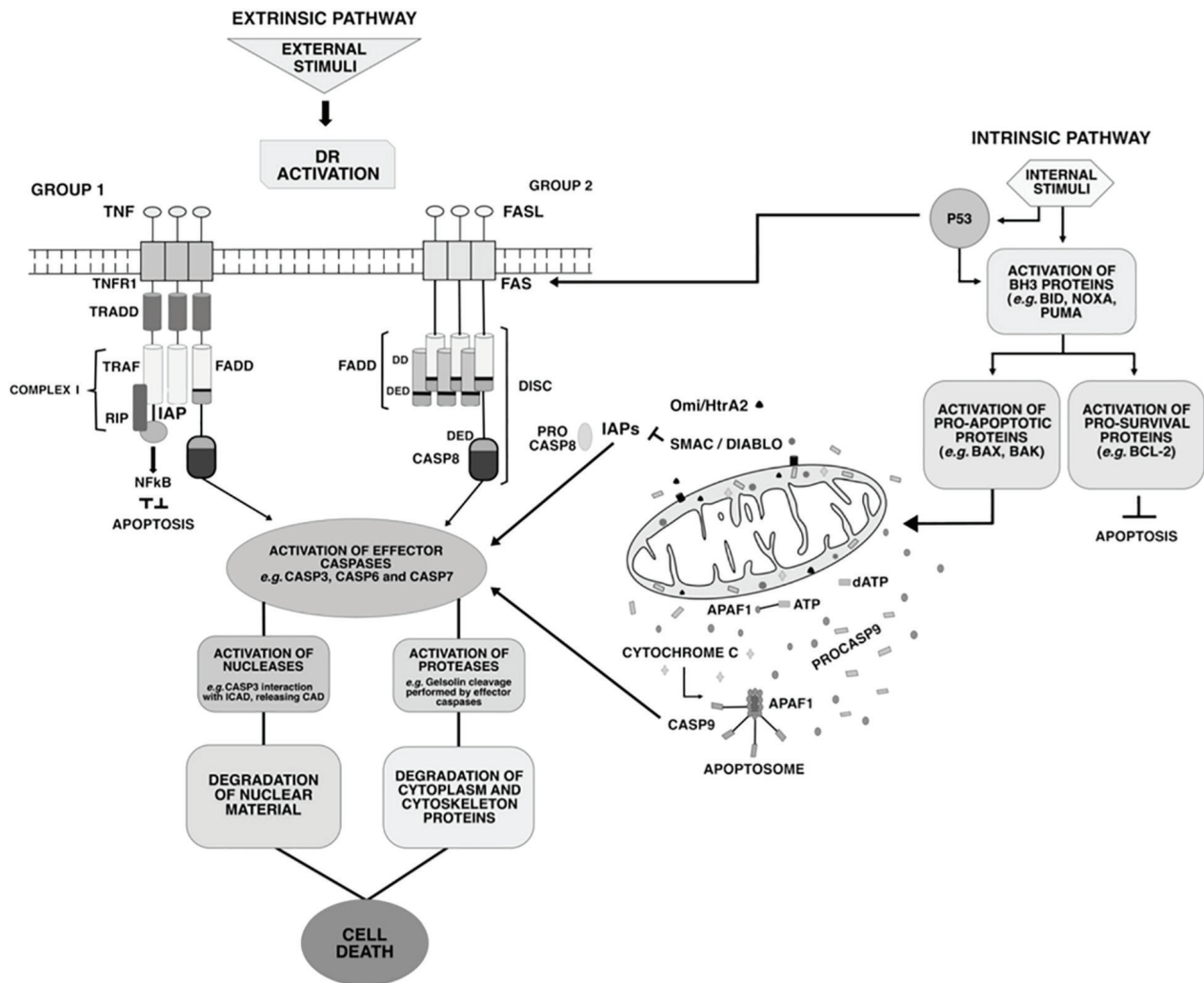
Keywords: apoptosis, apoptosis-inducing factor, caspases, malignant tumors

Смята се, че потискането на апоптозата по време на канцерогенезата има ключова роля в развитието и прогресията на някои видове неоплазми (13).

Пътища за осъществяване на апоптоза

Апоптозата може да бъде иницирана от външен и вътрешен сигнален път (фиг. 1), като и двата пътя водят до един и същ краен резултат, програмирана клетъчна смърт (9). Външният механизъм се активира чрез свързване на сигнални молекули с рецептори на плазмената мембрана (3). Лиганди, задействащи апоптозата, са цитокини от супер фамилията на TNF (фактор на туморна некроза), които взаимодействат с рецепторите на смъртта (TNF R). Цитокините от супер фамилията на TNF са мембранни или секретирани протеини, които могат да взаимодействат с един или няколко повърхностни рецептора. Към лигандите от супер фамилията на TNF се отнасят TNF α , Fas L, TRAIL, TWEAK, RANKL, APRIL и Lymphotoxin α (LT α) (40).

Ключов механизъм на вътрешния сигнален път е освобождаването на цитохром С и редица други белтъци в цитозола на клетката в резултат на нарушена проницаемост на митохондриалните мембрани. Участието на митохондриите в апоптотичната каскада се осъществява с помощта на белтъци от семейството на протеините от фамилията на Bcl2 към която се отнасят както антиапоптотични, така и проапоптотични протеини (11,39). Проапоптотичните протеини нарушават проницаемостта на митохондриалната мембрана, като образуват в нея пори и активират вътрешния сигнален път. Пермеабилитацията на външната мембрана на митохондриите (MOMP) се смята за точката на необратимост при индукция на апоптозата. Освобождаване на определени протеини от митохондриалното интермембранно пространство поради MOMP задейства каскада от активирани каспази, която води до необратими събития (фиг. 1), завършващи с клетъчна смърт (35).



Фиг. 1. Основни пътища за осъществяване на апоптоза (адаптирано от Cavalcante G et al., 2019) (3)

Каспазите са важен регулатор на процесите на апоптоза. Те участват като инициатори (каспази 2,8,9,10) и ефектори (каспази 3,6,7) на двата пътя на апоптоза (11,39). В резултат на действието на каспазите се разрушават много белтъци, които участват в поддържане на хомеостазата и репарацията на клетъчните компоненти, на белтъците, регулатори на клетъчния цикъл, структурните белтъци и др.

Апоптозата преминава през няколко последователни етапа: 1). индукция или стартиране на апоптозата; 2). активиране на проапоптотични протеини; 3). участие на каспазната каскада (цистеинови протеази), които разграждат структурните и регулаторните белтъци; 4) разрушаване на вътреклетъчните органи, фрагментация на клетката с формиране на апоптотични тела; 5). последният етап е фагоцитоза на клетъчните фрагменти от макрофаги или съседни клетки (37,40). Апоптотичните тела съдържат ядрени фрагменти, уплътнена цитоплазма, елементи

от апарата на Голджи и др. На повърхността на апоптотичните тела се експресират сигнални и адхезивни молекули, които се разпознават от съседните клетки или макрофаги и се фагоцитират.

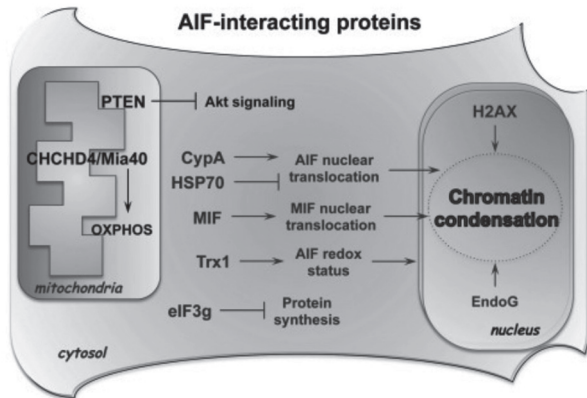
Неотдавна се откри каспазо-независим път на клетъчна смърт, която се реализира с участието на локализиран в митохондриите апоптозо-индуциращ фактор (AIF).

Апоптозо-индуциращ фактор

Полипептидът AIF е с маса от 67-kDa, кодира се от X-свързан ген AIFM1, транспортира се в митохондриите, където се преработва до протеин, свързан с вътрешната мембрана. Впоследствие се разцепва между Met53 и Ala54, генерира се белтък с маса от 62-kDa, който е разположен в интермембранното пространство и представлява зрялата му форма (25).

Зрелият AIF претърпява N-терминална протеолиза, образува се фрагмент, който се освобождава в цитоплазмата и може да индуцира апоптоза (28). Освобождаването на AIF задъл-

жително изисква протеолитично разцепване и повишена митохондриална проникваемост (фиг. 2). Разтворимата форма на AIF има последователности за ядрена локализация, които позволяват нейната нуклеарна транслокация (12,21,28), която се случва след митохондриална пермеабилитация, вероятно при клетки претърпели енергийна криза (1,7). Предполага се, че за транслокацията на AIF не се изисква активен транспорт, а само повишената пропускливост на комплекса на ядрените пори (1,7).



Фиг. 2. Взаимодействия на апоптозо-индуциращ фактор (адаптирано от Vano D and Prehn J, 2018) (2)

Една малка част от AIF е разположена на цитозолната страна на външната митохондриална мембрана (38). AIF включва NADH/NADPH-свързващ домейн и два флавин аденин динуклеотид (FAD)-свързващи мотива.

AIF принадлежи към семейството на оксипероксидазите (19) и участва в окислителното фосфорилиране и редокси контрола в нормалните клетки (8). Намирацията се на вътрешната мембрана на митохондриите протеин се освобождава в цитозола по време на фазата на „екзекуция“ на клетката (5). Механизмите на транслокацията на митохондриалния AIF в ядрото са сложни и не са напълно изяснени (28). Известно е, че след миграцията на AIF в ядрото AIF заедно с ендонуклеаза G предизвикват разпад на ядрената ДНК на големи фрагменти и биохимичните и морфологичните промени на клетъчната смърт не се различават от тези, индуцирани чрез външния или вътрешен сигнален път. Отначало ядрото се кондензира, което е необходимо за фрагментиране на клетките, след което се образуват ДНК фрагменти с размери между 20 до 50 kb (29). Тъй като AIF не притежава нуклеазна дейност, той функционира главно чрез набиране и модулиране на дейността на неспецифична ендонуклеаза G, която директно разцеп-

ва ДНК. Цитозолният AIF се транслоцира в ядрото посредством макрофагиален миграционен инхибиторен фактор (MIF), по-рано неразпозната нуклеаза (33). При активиране на вътрешния сигнален път на програмирана клетъчна смърт както каспазо-зависимият (апоптозома/каспаза-3/CAD/DFF-40), така и каспазо-независимият (AIF) път могат да се задействат едновременно, като двата пътя водят до различни събития в ядрото по време на апоптозата. Предвид ролята на AIF като ефектор на клетъчната смърт не е изненадващо, че той може да има отношение към широк спектър от патологични състояния. Изследване на Tsai M et al. (2017) сочи, че лекарството за астма, монтелукаст, индуцира смърт на клетки при карцином на белия дроб чрез ядрена транслокация на AIF. Оhyama M et al. (2015) наблюдават подобен феномен, при който фосфатидилинозитолови производни индуцират каспазо-независима апоптоза в туморни клетки при карцином на стомаха чрез натрупване на AIF и AIF-хомоложен митохондриално свързан индуктор на смърт в ядрата на туморните клетки. Тези открития показват, че AIF участва в клетъчната хомеостаза и развитието на тумори (34).

AIF първоначално е идентифициран като кандидат за туморен супресор поради ролята му в апоптозата. Парадоксално AIF играе роля също в оцеляването на клетките. Съобщава се, че AIF е необходим за поддържане на митохондриалния дихателен комплекс I. Освен това AIF улавя свободните радикали, като предотвратява апоптоза, индуцирана от реактивни кислородни видове (15,32). Всъщност ролята на AIF при клетъчна смърт може да бъде специфична за различните клетъчни типове. Например потискането на AIF предпазва бъбречните епителни на каналчета от клетъчна смърт, индуцирана от цисплатин (27).

Експресия на AIF при злокачествени тумори

Проучванията на Xu S et al. (2014) откриват, че имунохистохимичната експресия на AIF в туморната тъкан на бъбречноклетъчен карцином е понижена в 84% от случаите и това е свързано с делеция на AIF и метилиране на неговия промотор. Същите автори анализират експресията на AIF при две бъбречноклетъчни линии: Saki-1 и 786-O, и установяват, че експериментално индуцираната експресия на AIF предизвиква масивна апоптоза още на 24 час.

Wang Z et al. (2019) сравняват имунохистохимичната експресия на AIF в туморната тъкан на бъбречноклетъчен карцином с тази на съседната нетуморна тъкан и намират, че в туморната тъкан експресията е ниска. В нормалния бъбречен

паренхим антитялото се експресира интензивно в епителните клетки на тубулите и париеталните клетки на Баумановата капсула главно в митохондриите и по-рядко в ядрата на клетките. В туморната тъкан субклетъчната локализация е обратна, по-честа е ядрената експресия.

Анализът на експресията на AIF в туморната тъкан с клинично-морфологичните показатели: възраст, T стадий, степента на диференциация и общата постоперативна преживяемост на пациентите с бъбречноклетъчен карцином, показва, че с увеличаване на възрастта и T стадия експресията на AIF намалява. Ниската експресия корелира с ниска степен на диференциация и ниска обща преживяемост. Независимо, че Wang Z et al. (2019) не откриват зависимост между N стадия и AIF позитивността в туморната тъкан на бъбречноклетъчния карцином, те стигат до заключението, че с понижаване на експресията на AIF прогнозата на пациентите с бъбречноклетъчен карцином се влошава. Понижаване на AIF е установено и в случаи на бъбречни аденоми, което показва, че редуцирането на AIF е ранно събитие в развитието на бъбречните тумори (36).

Редуцирана експресия на AIF е установена и при други тумори. Letkovska et al. (2021) анализират AIF при герминативноклетъчни тумори и установяват редуцирана експресия в туморната тъкан на неинвазивни и инвазивни неоплазми в сравнение с нетуморната тъкан на тестиса, където позитивност се открива в сперматогенните клетки на семиниферните тубули. В зависимост от хистологичния вариант на инвазивните герминативноклетъчни тумори най-висока позитивност има при ембрионален карцином, следван от yolk sac тумор и семином, понижава се при тератома и е най-ниска при хориокарцинома. Същите автори установяват по-интензивна реакция при несеминомните в сравнение със семиномните тумори. Освен връзката с хистологичния вариант Letkovska et al. (2021) анализират експресията на AIF в зависимост от вида на органните метастази. Ниската експресия в туморната тъкан на герминативноклетъчните тумори корелира с метастази в лимфни възли в ретроперитонеум, медиастиnum, черен дроб и мозък, но не и с белодробните метастази. Метастатичните герминативноклетъчни тумори с високо AIF в туморната тъкан имат по-добра обща преживяемост в сравнение с пациенти с ниско AIF. На базата на получените резултати авторите стигат до заключението, че пониженото тъканно ниво на AIF в туморната тъкан на герминативноклетъч-

ните тумори спомага за оцеляването на туморните клетки и метастазирането.

Данните, получени от анализа на тъканното ниво на AIF при лимфопрлиферативните заболявания, отчасти се различават от тези при бъбречноклетъчния карцином и герминативноклетъчните тестикуларни тумори. При хроничната лимфоцитна левкемия/дребноноклетъчен лимфоцитен лимфом (CLL/SLL) експресията на AIF в лимфните възли в мнозинството от случаите е слаба по интензитет, докато при дифузния В-едроклетъчен лимфом е интензивна и дифузна и наподобява на експресията при доброкачествени/реактивни лимфни възли (18). При последните позитивната реакция варира от умерена до интензивна и се открива в лимфоидните клетки на герминативните центрове на фоликулите. Според Li S et al. (2011) слабата и цитоплазмена експресия на AIF при хронична лимфоцитна левкемия/дребноноклетъчен лимфоцитен лимфом може да означава, че AIF не играе критична роля като фактор за оцеляването на клетките, както и като апоптотичен фактор. Интензивната реакция в големите клетки в центровете на пролиферация на CLL/SLL, в зоните с пролимфоцитна или В-едроклетъчна трансформация показват потенциална роля на AIF в стимулиране на клетъчната пролиферация и трансформация към агресивен ход на заболяването.

Анализът едновременно на AIF и Smac/DIABLO при дифузния В-едроклетъчен лимфом (DLBCL) показва, че са активни както каспазо-зависимите, така и каспазо-независимите апоптотични сигнални пътища. Отдавна е известно, че апоптозата е строго регулиран процес с участието на множество проапоптотични и антиапоптотични протеини и скоростта на осъществяването ѝ при DLBCL зависи и от други фактори. Предвид двойната функция на AIF, като участник в окислителното фосфорилиране и апоптозата, Porter A and Urbano A (2006) и Li S et al. (2011) допускат, че интензивната цитоплазмена експресия на AIF може да играе роля в туморогенезата, като спомага за оцеляването на туморните клетки и прогресия на DLBCL, докато апоптотичната му активност може да доведе до клетъчна смърт, индуцирана от апоптотични стимули като химиотерапия. Li S и др. (2011) не откриват ядрена експресия на AIF и според авторите тя е временно явление в туморните клетки.

При колоректален карцином експресията на AIF е силно изразена, като тя нараства от доброкачествените към злокачествените тумори, докато липсва в нормалните епителни клетки (4).

При развитие и прогресия малигнените тумори придобиват способност да избягват апоптозата и според Cobanoglu B et al. (2015) повишената експресия на AIF може да стимулира апоптозата. Не всички изследователи подкрепят подобна хипотеза. Urbano A et al. (2015) смятат, че AIF участва в поддържане на трансформираното състояние на туморните клетки при карцином на дебелото черво чрез своята NADH-оксидазна активност. При knockout мишки за AIF клетъчни линии от колоректален карцином не успяват да образуват тумори в атимични мишки, което е в подкрепа на схващането, че AIF функционира като онкогенен протеин.

Подобни на колоректалния карцином са и данните от изследванията върху стомашен карцином. Експресията е интензивна при двата хистологични субтипа: интестинален и дифузен и не зависи от дълбочината на инвазия (16). В нетуморната тъкан експресия на AIF се наблюдава само в париеталните клетки. Тези резултати внушават, че експресията на AIF може да играе роля в развитието на стомашния карцином и да възниква от мукозни клетки, негативни на AIF.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

През последните години цитоплазмената и нуклеарната транслокация на AIF през порите на митохондриите, участието му в модулиране на хроматиновата кондензация и последвалата клетъчната смърт при редица заболявания привлякоха интереса на много учени. Ролята на AIF като еволюционно съхранен ексекUTOR на клетките не е достатъчно изяснена при различните видове неоплазми. Познаването на същността и особеностите на процеса при различните заболявания дава нови възможности за откриване на сигнални пътища за терапевтично повлияване, в това число и при злокачествените тумори, чрез които ще се стимулира и упражнява ефективен контрол на програмираната клетъчна смърт.

Благодарности: Статията е резултат на изследванията по проект № 21002, извършени в рамките на научноизследователската дейност към МУ-Варна, финансирана целево от държавния бюджет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bano D, Dinsdale D, Cabrera-Socorro A, Maida S, Lambacher N, Mccoll B et al. Alteration of the nuclear pore complex in Ca(2+)-mediated cell death. *Cell Death Differ.* 2010;17:119–133.
2. Bano D and Prehn J. Apoptosis-Inducing Factor (AIF) in Physiology and Disease: The Tale of a Repented Natural Born Killer. *EBioMedicine.* 2018;30:29-37.
3. Cavalcante G, Schaan A, Cabral G, Santanada-Silva M, Pinto P, Amanda F et al. A Cell's Fate: An Overview of the Molecular Biology and Genetics of Apoptosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(17):4133.
4. Cobanoglu B, Ceyran B, Simsek M, Serkan Şenol S. Immunohistochemical analysis of Bax and AIF in colorectal tumors. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(9):16071-16076. www.ijcem.com / ISSN:1940-5901/IJCEM0008489
5. Daugas E, Nochy D, Ravagnan L, Loeffler M, Susin S, Zamzami N et al. Apoptosis-inducing factor (AIF): a ubiquitous mitochondrial oxidoreductase involved in apoptosis. *FEBS Lett.* 2000;476:118–23.
6. Elmore Susan. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 2007; 35(4): 495–516.
7. Ferrando-May E, Cordes V, Biller-Ckovric I, Mirkovic J, Gorlich D, Nicotera P. Caspases mediate nucleoporin cleavage, but not early redistribution of nuclear transport factors and modulation of nuclear permeability in apoptosis. *Cell Death Differ.* 2001; 8:495–505.
8. Ghezzi D, Sevrioukova I, Invernizzi F, Lamperti C, Mora M, D'Adamo P et al. Severe X-linked mitochondrial encephalomyopathy associated with a mutation in apoptosis inducing factor. *Am J Hum Genet.* 2010; 86: 639-649.
9. Goldar S, Khaniani M, Derakhshan S, Baradaran B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(6):2129–44.
10. Greenhalgh D. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998;30:1019–30.
11. Jan R, Chaudhry G. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Adv Pharm Bull.* 2019; 9(2): 205–218.
12. Joza N, Pospisilik J, Hangen E, Hanada T, Modjtahedi N, Penninger J et al.: AIF: Not just an apoptosis-inducing factor. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; 1171: 2-11.
13. Kerr J, Winterford C, Harmon B. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer.* 1994;73:2013–26.
14. King K, Cidlowski J. Cell cycle regulation and apoptosis. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:601–17.

15. Klein J, Longo-Guess C, Rossmann M, Seburn K, Hurd R, Wayne N et al. The harlequin mouse mutation downregulates apoptosis-inducing factor. *Nature*.2002; 419: 367–374.
16. Lee J, Jeong E, Soung Y, Kim S, Nam S, Kim S et al. Immunohistochemical analysis of apoptosis-inducing factor (AIF) expression in gastric carcinomas. *Pathology – Research and Practice* 2006;202:497–501.
17. Letkovska K, Babal P, Cierna Z, Schmidtova S, Liskova V, Kalavska K et al. Prognostic Value of Apoptosis-Inducing Factor (AIF) in Germ Cell Tumors. *Cancers*. 2021;13: 776.
18. Li S, Wan M, Cao X, Ren Y. Expression of AIF and HtrA2/Omi in small lymphocytic lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2011; 135:903–908.
19. Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000-2013. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6197/>
20. Nijhawan D, Honarpour N, Wang X. Apoptosis in neural development and disease. *Annu Rev Neurosci.* 2000;23:73–87.
21. Norberg E, Karlsson M, Korenovska O, Szydowski S, Silberberg G, Uhlén P et al. Critical role for hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 2 in the AIF-mediated apoptosis. *EMBO J.* 2010 Nov 17; 29(22): 3869–3878.
22. Norbury C, Hickson I. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001;41:367–401.
23. Ohya M, Tsuchiya A, Kaku Y, Kanno T, Shimizu T, Tanaka A et al. Phosphatidylinositol derivatives induce gastric cancer cell apoptosis by accumulating AIF and AMID in the nucleus. *Anticancer Res.*2015; 35: 6563-6571.
24. Opferman J, Korsmeyer S. Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat Immunol.* 2003;4:410–5.
25. Otera H, Ohsakaya S, Nagaura, Z, Ishihara N, Mihara K, 2005. Export of mitochondrial AIF in response to proapoptotic stimuli depends on processing at the intermembrane space. *EMBO J.* 2005;24:1375–1386.
26. Porter A and Urbano A. Does apoptosis-inducing factor (AIF) have both life and death functions in cells? *Bioessays*.2006; 28(8):834–843.
27. Seth R, Yang C, Kaushal V, Shah S, Kaushal G. p53-dependent caspase-2 activation in mitochondrial release of apoptosis-inducing factor and its role in renal tubular epithelial cell injury. *Journal of Biological Chemistry*.2005; 280:31230–31239.
28. Sevrioukova I. Apoptosis-inducing factor: structure, function, and redox regulation. *Antioxid Redox Signal.* 2011;14(12):2545-79.
29. Susin S, Lorenzo H, Zamzami N, Marzo I, Snow B, Brothers G et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature*.1999; 397: 441–446.
30. Tsai M, Chang W, Tsai P, Wu C, Ho Y, Yen M et al. Montelukast induces apoptosis-inducing factor-mediated cell death of lung cancer cells. *Int J Mol Sci.*2017;18: E1353, 2017.
31. Urbano A, Lakshmanan U, Choo P, Kwan J, Ng P, Guo K et al. AIF suppresses chemical stress-induced apoptosis and maintains the trans-873 formed state of tumor cells. *EMBO J* 2005; 24: 2815-2826.
32. Vahsen N, Cande' C, Brie're JJ, Benit P, Joza N, Larochette N et al. AIF deficiency compromises oxidative phosphorylation. *The EMBO journal*.2004; 23: 4679–4689.
33. Wang Y, An R, Umanah G, Park H, Nambiar K, Eacker S et al. A nuclease that mediates cell death induced by DNA damage and poly (ADP-ribose) polymerase-1. *Science.* 2016b; 354(6308):aad6872.
34. Wang Z, Yuan C, Huang Y, Liu Z, Yu X, Lv C and Su Z. Decreased expression of apoptosis inducing factor in renal cell carcinoma is associated with poor prognosis and reduced postoperative survival. *ONCOLOGY LETTERS*.2019;18: 2805-2812.
35. Xu G and Shi Y. Apoptosis signaling pathways and lymphocyte homeostasis. *Cell Research.* 2007;17:759–771.
36. Xu S, Wu H, Nie H, Yue L, Jiang H, Xiao S et al. AIF downregulation and its interaction with STK3 in renal cell carcinoma. *PLoS ONE.* 2014; 9(7):e100824.
37. Xu X, Lai Y, Hua Z. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep* 2019;39(1):BSR20180992.
38. Yu S, Wang Y, Frydenlund D, Ottersen O, Dawson V, Dawson T. Outer mitochondrial membrane localization of apoptosis-inducing factor: mechanistic implications for release. *ASN Neuro.* 2009;18:1(5):e00021.
39. Дятлова А, Дудков А, Линькова Н, Хавинсон В. Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии и в процессах клеточного старения. *Успехи современной биологии.* 2018;138(2):126–137.
40. Савицкая М, Онищенко Г. Механизмы апоптоза. *Биохимия.* 2015; 80 (11):1613 – 1627.

Адрес за кореспонденция:

Невена Янулова

Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология

МУ-Варна

ул. Проф. „Марин Дринов“ 55

Варна, 9002

e-mail: nevena.yanulova@abv.bg