

Autophagy: cell death or survival strategy?

O.V. Kovaleva, M.S. Shitova, and I.B. Zborovskaya

ABSTRACT

The interaction between proliferation, differentiation, and programmed cell death is an integral part of the life-sustaining activity of multicellular organisms. The imbalance between these processes underlies the development of many human diseases. Understanding molecular mechanisms of these processes is important for identifying new diagnostic and therapeutic targets. During the last decade, the autophagy process and its role in the cell life and death became a subject of great scientific interest. Autophagy represents a mechanism of intracellular substance utilization. Autophagy is a process that occurs in all cells under normal conditions. But under certain circumstances, this process can result in the cell death. Impaired autophagy significantly contributes into the development of some diseases (cancer, neurodegenerative and cardiovascular disorders etc.).

Keywords: apoptosis, autophagy, carcinogenesis.

Accepted: January 27, 2014

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, RAMS
115478, Kashirskoye shosse, d. 24, Moscow, Russian Federation

O.V. Kovaleva, PhD, Scientific worker

M.S. Shitova, Student

I.B. Zborovskaya, PhD, Head of Laboratory

Address correspondence to:

O.V. Kovaleva
115478, Kashirskoye shosse, d. 24, Moscow, Russian Federation
Tel.: +7 (499) 6129605, e-mail: ovkvaleva@gmail.com

Аутофагия: клеточная гибель или способ выживания?

О.В. Ковалева, М.С. Шитова, И.Б. Зборовская

РЕФЕРАТ

Взаимодействие процессов пролиферации, дифференцировки и гибели клеток служит неотъемлемой частью жизнедеятельности многоклеточных организмов. Нарушение баланса между этими процессами лежит в основе развития многих заболеваний человека. Понимание их молекулярных механизмов необходимо для поиска новых диагностических и терапевтических мишеней. В последнее десятилетие большой интерес у ученых вызывает процесс аутофагии и ее роль в жизнедеятельности клетки как в норме, так и при патологии. Аутофагия — это процесс утилизации клеточных органелл и макромолекул. Аутофагия сопровождается жизнедеятельностью любой нормальной клетки в обычных условиях. Однако при определенных обстоятельствах аутофагия может приводить к клеточной гибели. Нарушения аутофагии играют роль в развитии онкологических, мышечных и нейродегенеративных заболеваний, кардиомиопатии и др.

Ключевые слова:

апоптоз, аутофагия, канцерогенез.

Принято в печать: 27 января 2014 г.

ВВЕДЕНИЕ

Программируемая гибель клеток — важнейший физиологический механизм функционирования отдельных клеток, их популяций и организма в целом. Эволюционно программируемая клеточная гибель (ПКГ) как механизм противовирусной защиты возникла у прокариот и была закреплена у одноклеточных эукариот и их популяций. В дальнейшем, с появлением многоклеточных организмов механизмы физиологически обусловленной гибели клеток совершенствовались. Наряду с защитой от патогенов они стали служить для реализации важных жизненных функций: дифференцировки клеток и тканей в период эмбриогенеза и постэмбрионального развития, элиминирования клеток иммунной системы, невостребованных, состарившихся клеток либо клеток, подвергшихся воздействию мутагенных факторов. ПКГ у животных и человека признана универсальным

инструментом врожденного и приобретенного иммунитета.

Интенсивные исследования последних 30 лет в клеточной биологии, иммунологии и медицине привели к открытию различных типов ПКГ, регулируемых с помощью как общих, так и специфических сигнальных путей и реализующихся под воздействием различных факторов. Согласно последней классификации, опубликованной в 2012 г., выделяют 12 видов ПКГ (4 основных и 8 дополнительных) [1]. К наиболее распространенным видам ПКГ относятся апоптоз, аутофагия, кератинизация и некроз. Среди нетипичных описаны аноиксис, параптоз, пироптоз, пиронекроз, энтоз, валлеровское перерождение (вторичная дегенерация нервных волокон).

В настоящее время особый интерес у исследователей вызывает изучение аутофагии — процесса, способствующего не только гибели поврежденных клеток, но и их сохранению. Наряду с классическим апоп-

тозом аутофагия имеет особое значение при развитии различных патологических процессов (онкологических, аутоиммунных и нейродегенеративных). Исследование сигнальных механизмов, связанных с их развитием у человека, открывает новые перспективы в предупреждении и лечении целого ряда социально значимых заболеваний.

ВИДЫ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТочНОЙ ГИБЕЛИ

Для того чтобы подробно охарактеризовать типы ПКГ, в первую очередь необходимо понимать, в какой момент клетку можно признать умершей.

Клетка считается мертвой, когда происходит одно из следующих событий:

- клетка потеряла целостность плазматической мембраны;
- клетка, включая ядро, подверглась фрагментации на дискретные тела;
- мертвая клетка или ее фрагменты поглощены соседними клетками (*in vitro*).

Помимо этого существуют так называемые точки невозврата, которые позволяют предположить скорую гибель клетки (массивная активация каспаз, потеря мембранного потенциала митохондрий, выход остатков фосфотидилсерина на внешнюю поверхность клеточной мембраны). Однако при различных обстоятельствах даже перечисленные изменения могут быть обратимыми.

Как уже было упомянуто выше, в настоящее время выделяют 4 основных вида ПКГ: апоптоз, аутофагия, кератинизация и некроз.

Апоптоз

В 1972 г. коллектив британских ученых во главе с Дж. Керром впервые предложили использовать термин «апоптоз» для обозначения ПКГ [2]. Апоптоз — энергозависимый процесс и требует присутствия АТФ. Этот тип ПКГ важен не только для развития организма и нормального функционирования его иммунной системы, но и для защиты от вирусных инфекций и поврежденных клеток, способных к опухолевой трансформации.

Апоптозу присущ ряд морфологических черт:

- округление клетки, ретракция псевдоподий;
- уменьшение объема клетки (пикноз), конденсация хроматина, фрагментация ядра (кариорексис) при сохранении целостности основных цитоплазматических органелл;
- «пузырение» мембраны (с сохранением ее целостности до последних этапов процесса);
- поглощение остатков клетки окружающими фагоцитами, что отличает апоптоз от других типов ПКГ.

Выделяют два основных пути активации апоптоза в клетке: внутренний путь, центральным звеном которого являются митохондрии, и рецепторный (внешний) путь, контролируемый так называемыми рецепторами смерти (рис. 1). Термином «рецепторный апоптоз» называется тип ПКГ, вызываемый внешними сигналами, которые проводятся специфическими трансмембранными рецепторами. Рецепторный путь активируется при взаимодействии рецепторов смерти со своими лигандами. Наиболее изученные рецепторы смерти — CD95 (также известный как Fas или APO-1) и TNFR1 (также называемый p55

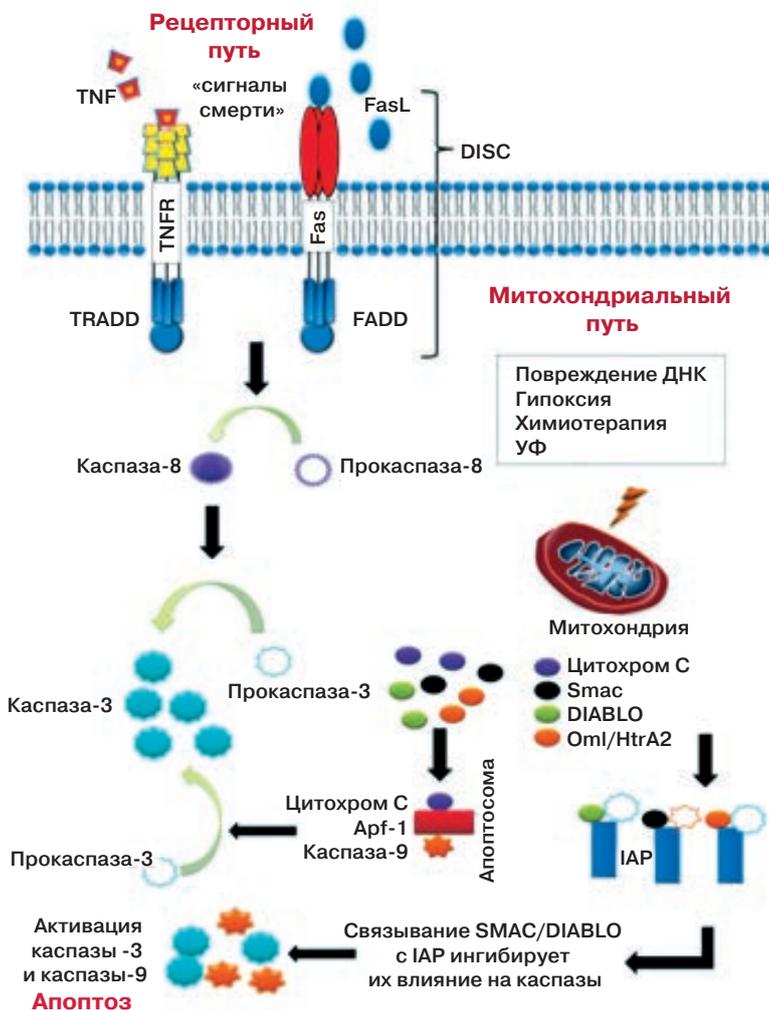


Рис. 1. Механизмы апоптоза [3]

или CD120a). К дополнительным относятся DR3 (death receptor 3), DR4 и DR5. Все рецепторы смерти представляют собой трансмембранные белки, характеризующиеся наличием общей последовательности из 80 аминокислот в цитоплазматическом домене — домене смерти (death domain, DD). Рецепторы смерти взаимодействуют со своими лигандами (CD95L, TNF, Apo3L, Apo2L и т. п.), что приводит к их тримеризации. Активированный рецептор взаимодействует с соответствующими внутриклеточными адаптерными белками. Для рецептора CD95 (Fas/APO-1) адаптерными считаются белки FADD (Fas-associated DD-protein), для рецепторов TNFR1 и DR3 — белки TRADD (TNFR1-associated DD-protein). Адаптерные белки, рекрутированные рецептором смерти, вступают во взаимодействие со своими эффекторами — прокаспазами (неактивными предшественниками протеаз из семейства иницирующих каспаз). В результате формируются белковые комплексы, именуемые DISC (death-inducing signaling complex), что в дальнейшем приводит к активации иницирующих и эффекторных каспаз. Каспазы являются основными протеазами, участвующими в процессе апоптоза, и представляют собой ферменты, содержащие в своем активном центре цистеин и расщепляющие субстраты вблизи остатков аспарагиновой кислоты. Каспазы синтезируются в виде неактивных предшественников, для активации которых требуется их протеолитическое расщепление и последующая димеризация. К инициаторным относятся каспазы -2, -8, -9, -10, -12, к эффекторным — каспазы -3, -6, -7. Кроме того, существуют каспазы, которые не участвуют в процессах ПКГ и необходимы для активации цитокинов, — это каспазы -1, -4 и -5.

Существует и другой путь реализации апоптоза, который включается митохондриальными белками. Наружная мембрана митохондрий пронизана порами, пропускающими соединения с молекулярной массой до 0,5 кДа. Пространство между мембранами служит местом локализации некоторых белков, в т. ч. цитохрома *c* — низкомолекулярного компонента дыхательной цепи, который, будучи положительно заряженным, связывается с отрицательно заряженной поверхностью внутренней мембраны митохондрий. Под воздействием различных стрессовых факторов происходит образование гигантской поры в наружной мембране митохондрий. Через эту пору в цитоплазму попадают белки межмембранного пространства: цитохром *c*, прокаспазы -2, -3, -9, вызывающий апоптоз белок AIF (apoptosis inducing factor). Цитохром *c*, оказавшись в цитоплазме, взаимодействует с цитоплазматическим фактором APAF-1 (apoptotic peptidase activating factor 1). Вместе они участвуют в активации каспазы -9. APAF-1 играет роль «арматуры», на которой происходит аутокаталитический процессинг каспазы -9 [4]. Зрелая каспаза -9 затем расщепляет и активирует прокаспазу -3, и, как упоминалось ранее, процесс клеточной гибели становится необратимым.

Кроме того, апоптоз может осуществляться независимо от каспаз. Высвобождающиеся из межмембранного пространства митохондрий флавопротеин AIF и эндонуклеаза G переходят в ядро, где активируют нуклеазы, которые разрушают ДНК. В случае нарушения внутриклеточного гомеостаза ионов Ca^{2+} инициация апоптоза может происходить за счет активации прокаспазы -12, локализованной в эндоплазматическом ретикулуме. Кроме

того, активация апоптоза возможна при высвобождении лизосомальных протеаз — катепсинов.

Выход всех упомянутых белков в цитоплазму регулируется рядом факторов, которые определяют проницаемость митохондриальной мембраны. Регуляторами освобождения цитохрома *c*, белка AIF и других из митохондрии служат белки семейства Bcl-2 (B-cell lymphoma-2 protein). Bcl-2 был обнаружен в результате хромосомной транслокации t(14;18), распространенной при злокачественных лимфопролиферативных заболеваниях, в т. ч. при фолликулярной лимфоме. Он принадлежит к большому семейству генов, продукты которых характеризуются как антиапоптотическим (*bcl-2*, *bcl-x*), так и проапоптотическим действием (*Bax*, *Bad*, *Bic*). Про- и антиапоптотические белки семейства Bcl-2 локализуются в разных клеточных компартментах (областях). Антиапоптотические белки относятся к интегральным мембранным белкам, находящимся в мембранах митохондрий, эндоплазматического ретикулума и ядра. Проапоптотические белки, напротив, локализуются в цитоплазме и на цитоскелете. При получении сигнала они претерпевают конформационные изменения, позволяющие им интегрироваться в мембраны, особенно наружную мембрану митохондрий. Так, группа проапоптотических белков стимулирует открытие каналов в митохондриальной мембране, в то время как группа антиапоптотических белков закрывает каналы, через которые осуществляется выброс цитохрома *c* и AIF [5].

Немаловажную роль в процессе регуляции апоптоза играют белки семейства IAP (inhibitor of apoptosis proteins). Основная функция всех белков IAP заключается в ингибировании апоптоза [6]. Для IAP, в частности для XIAP, с-IAP1 и с-IAP2, показано прямое ингибирование каспазы -3 и каспазы -7 [7]. Действие IAP подавляется регуляторами Smac/DIABLO и Omi/HtrA2, высвобождающимися из межмембранного пространства митохондрий.

Некроз

Это процесс клеточной гибели, связанный с нарушением целостности плазматической мембраны, деградацией органелл, набуханием и вакуолизацией клетки, конденсацией и неспецифической деградацией ДНК.

Хотя ранее считалось, что некроз — пассивный процесс, в ряде работ показано, что его инициация может регулироваться генетически (так называемый программируемый некроз). Наряду с пассивными процессами в его реализации могут принимать участие активные механизмы, такие как энергозависимая аккумуляция Ca^{2+} и Na^+ в клетке, увеличение проницаемости митохондриальной мембраны, образование свободных форм кислорода в результате нарушения деятельности митохондрий и даже сигналы от рецепторов смерти при определенных обстоятельствах. Наконец, в отдельных клеточных линиях, в которых отсутствует экспрессия или возможность активации отдельных каспаз (вследствие мутаций, недостатка энергии, окислительного стресса, действия других протеаз или ингибиторов каспаз), активация рецепторов смерти приводит к гибели по некротическому типу.

Другим фактором, определяющим переключение между апоптозом и некрозом, служит гиперактивация поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP) — фермента, достраивающего АДФ-рибозу. Активация PARP может быть вызвана повреждением клетки и приводит к быст-

рому расходу его субстрата β -NAD⁺. При ресинтезе β -NAD⁺ АТФ интенсивно расходуется, что может привести к некрозу вследствие недостатка энергии [8].

Кератинизация

Ороговение — специфический тип ПКГ, который происходит в эпидермисе. Морфологически и биохимически ороговение как клеточная гибель отличается от апоптоза. Данный процесс наблюдается в эпидермисе кожи, а также в таких структурах организма, как волосы, ногти и т. д., и приводит к формированию корнеоцитов, которые являются мертвыми кератиноцитами, содержащими специфические белки (кератин) и липиды (жирные кислоты и церамиды), необходимые для функционирования верхнего слоя кожи (придающие коже стабильность и механическую прочность, эластичность и водоотталкивающие свойства). В данном процессе могут принимать участие каспазы, особенно каспаза-14 [9].

Аутофагия

Это процесс утилизации клеточных органелл и переработки клеточных структур, который может привести к клеточной гибели. Однако аутофагия для клетки служит не только путем к гибели, но и способом избавиться от долгоживущих белков и поврежденных органелл, а также важным участником процессов метаморфоза, дифференцировки и трансформации клеток. Предполагается, что нарушения аутофагии играют роль в развитии у человека целого ряда заболеваний [10]. Более подробно о механизмах аутофагии и ее значении для жизнедеятельности клетки и организма описано ниже.

Другие виды программируемой клеточной гибели

Помимо вышеописанных существует ряд альтернативных вариантов ПКГ, которые пока определены недостаточно четко. Зачастую они сопровождаются активацией процессов, характерных для основных видов клеточной гибели. Однако стоит вкратце на них остановиться.

Особым видом апоптоза, часто выделяемым в особый вид ПКГ, является **митотическая катастрофа**. Это вид гибели клеток в результате аномалий митоза. Наиболее частой причиной митотической катастрофы бывает нарушение функционирования G2-чекпойнта. G2-чекпойнт

служит пунктом «проверки» нормального состояния генома клетки перед входом в митоз. Нарушения в деятельности белков чекпойнта приводят к митотической катастрофе у клеток с поврежденной ДНК. Другой способ индукции митотической катастрофы — повреждение микротрубочек и, как результат, изменение веретена деления. Нарушение митоза может привести к образованию полиплоидных клеток или к гибели обычно по каспазному механизму [11].

Энтоз, так называемый клеточный каннибализм, неапоптотический процесс ПКГ, при котором одна клетка интернализируется внутрь другой. Энтоз наблюдается при потере клетками межклеточных контактов или при ослаблении контактов с белками внеклеточного матрикса (фокальные контакты).

Термин **«аноикис»** был введен в 1994 г. для обозначения разновидности апоптоза, вызванного откреплением клетки от субстрата. Большинство типов нормальных клеток может размножаться лишь при условии их прикрепления к внеклеточному матриксу (субстрату). Однако опухолевые клетки характеризуются способностью делиться, не прикрепляясь к субстрату и не взаимодействуя с белками внеклеточного матрикса. Таким образом, нарушение аноикиса вносит значимый вклад в развитие новообразований.

Помимо вышеперечисленных в литературе встречаются и другие типы ПКГ, например нетоз (специфическая гибель нейтрофилов), пироптоз (специфическая гибель макрофагов), параптоз, пиронекроз, некроптоз и др. Они имеют черты, присущие нескольким видам ПКГ, поэтому в научном сообществе возникают некоторые проблемы с их характеристикой. Все это ограничивает использование данных терминов [1].

АУТОФАГИЯ

Аутофагия — процесс утилизации клеточных органелл и макромолекул. У млекопитающих аутофагия наблюдается во многих физиологических процессах: избавлении от долгоживущих белков и поврежденных органелл, реакции на голодание, контроле роста клетки, процессах врожденного иммунитета и защите от старения. Кроме того, аутофагия — важный участник процессов дифференцировки и трансформации клеток (рис. 2).



Рис. 2. Процессы, происходящие при участии аутофагии

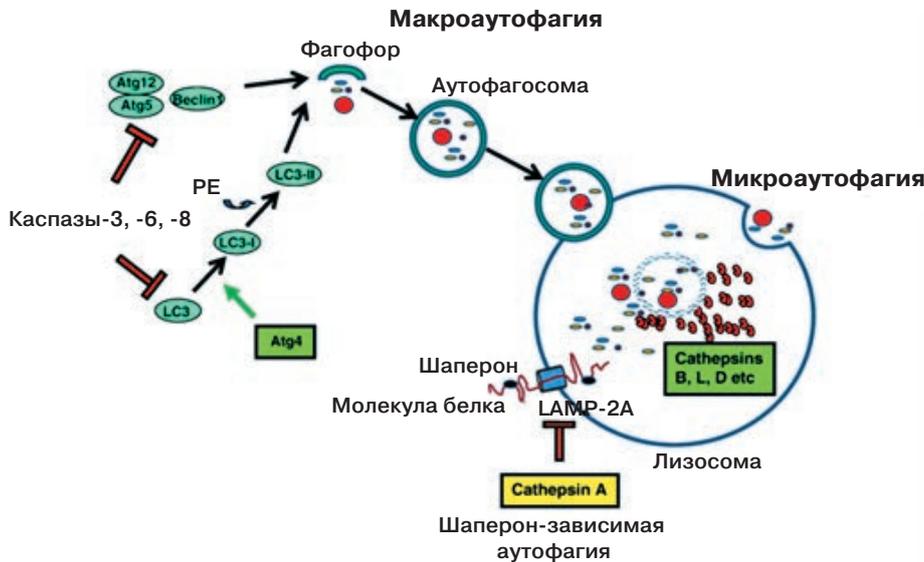


Рис. 3. Типы аутофагии [12]

Аутофагия сопровождает жизнедеятельность любой нормальной клетки в обычных условиях. Однако при определенных обстоятельствах аутофагия может приводить и к клеточной гибели. Основным стимулом к усилению процессов аутофагии может служить нехватка питательных веществ, наличие в цитоплазме поврежденных органелл, частично денатурировавших белков и их агрегатов. Кроме голодания аутофагия может быть индуцирована окислительным или токсическим стрессом. При аутофагическом типе ПКГ происходит «переваривание» всех клеточных органелл. Оставшийся клеточный дебрис («мусор») поглощается макрофагами. Известно, что нарушения аутофагии играют роль в развитии новообразований, кардиомиопатии, мышечных и нейродегенеративных заболеваний [10].

Существует определенный набор морфологических признаков, характеризующих аутофагию. На ранних стадиях наблюдается формирование множества вакуолей (аутофагосом), уменьшение митохондрий и площади эндоплазматического ретикулума, увеличение аппарата Гольджи. В некоторых случаях идет интенсивный эндодцитоз. На поздних стадиях аутофагии количество аутофагосом увеличивается, многие из них содержат включения липидов. Ядро может конденсироваться, однако это не есть обязательный признак [11].

В литературе ведутся активные споры, является ли аутофагия типом клеточной гибели или способом выживания. Предпосылкой к этому послужил тот факт, что умеренная аутофагия спасает клетку от гибели, однако сильная аутофагия вызывает ее гибель, но обеспечивает выживание организма.

Типы аутофагии

Согласно современным данным, аутофагия подразделяется на три типа: микроаутофагия, макроаутофагия и шаперон-зависимая аутофагия (рис. 3).

При микроаутофагии макромолекулы и обломки клеточных мембран попадают в лизосому путем инвагинации ее мембраны. Таким образом, клетка может расщеплять белки при нехватке энергии или «строительного материала» (например, при голодании). Данный тип аутофагии подробно описан у дрожжей, однако слабо охарактеризован у млекопитающих [13].

При макроаутофагии участок цитоплазмы (часто содержащий какие-либо органеллы) окружается мем-

бранным компартментом, похожим на цистерну эндоплазматической сети. В результате этот участок отделяется от остальной цитоплазмы двумя мембранами. Такие двухмембранные органеллы называются аутофагосомами. Аутофагосомы соединяются с лизосомами, образуя аутофаголизосомы, в которых органеллы и остальное содержимое аутофагосом расщепляются. Макроаутофагия контролируется специфическими генами *Atg* (autophagy-related gene) [14] и вовлечена в процесс деградации митохондрий, эндоплазматического ретикулума, пероксисом, рибосом, а также различных белков, липидов и РНК. В дальнейшем речь пойдет именно о макроаутофагии.

Наконец, третий тип аутофагии — шаперон-зависимая. В отличие от перечисленных выше типов шаперон-зависимая аутофагия не требует формирования везикул или серьезной реорганизации лизосомальной мембраны. При этом способе происходит направленный транспорт частично денатурировавших белков из цитоплазмы сквозь мембрану лизосомы в ее полость, где они деградируют. Данный процесс происходит при участии цитоплазматических белков-шаперонов семейства *hsp-70* (heat shock protein 70), вспомогательных белков и *LAMP-2* (lysosome-associated membrane protein type 2A) [15].

В целом процесс аутофагии можно разделить на несколько основных стадий: инициация, элонгация, формирование аутофагосомы и, на завершающем этапе, формирование аутолизосомы (рис. 4).

Идентифицировано более 30 различных генов и белков, вовлеченных в этот процесс. Инициаторный комплекс служит ядром (основой) для начала сборки аутофагосомной мембраны *de novo*. Он состоит из *Beclin-1*, белков семейства *Bcl-2*, *Vps* (vacuolar protein sorting) киназы-34 и *Atg14L*. В дальнейшем росте мембраны принимает участие большое количество белков, однако главная роль в этом процессе отводится двум убиквитиноподобным конъюгирующим системам. Убиквитиноподобный белок *Atg12* конъюгирует с *Atg5* с помощью *Atg7* и *Atg10*. Образующийся в результате комплекс *Atg5-Atg12* взаимодействует с *Atg16L1* и после этого принимает участие в элонгации аутофагосомальной мембраны. Для второй конъюгирующей системы необходимо присутствие белка *LC3I* (protein 1 light chain 3). Далее происходит расщепление *LC3I* с помощью протеазы *Atg4B* до *LC3II*, который

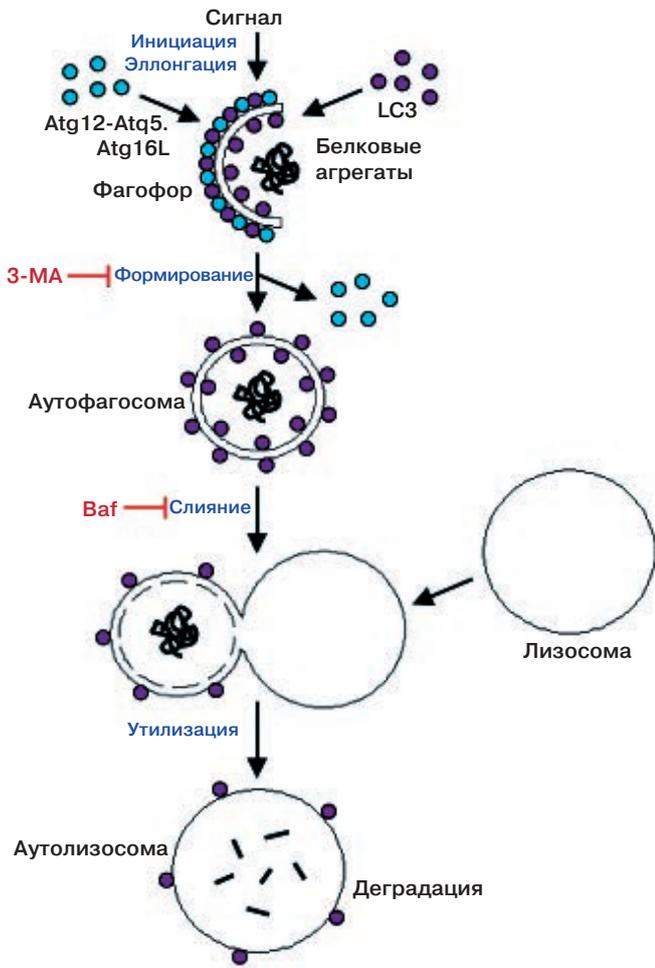


Рис. 4. Механизм аутофагии [16]

после конъюгации с PE (фосфатидилэтаноламин) превращается в аутофagosомальный мембраносвязанный белок, непосредственно принимающий участие в формировании

мембраны. После сборки мембраны белки, участвовавшие в этом процессе, покидают ее — все, кроме LC3II. Для удаления трансмембранного Atg9 привлекается Atg2 и Atg18 [17]. Механизмы докинга (стыковки) и слияния аутофагосомы с аутолизосомой аналогичны тем, которые происходят при слиянии других везикул. В этих процессах участвуют белки SNARE (Vam3, Vam7, Vti1 и Ykt6) и их гомологи [18]. В деградации внутренней мембраны (наружная сливается с аутолизосомой) участвуют протеиназа В и липаза Atg15 [19].

Регуляция аутофагии

Существует три основных пути регуляции аутофагии: сигнальный путь PI3K класса I (активируется в ответ на ростовые факторы), сигнальный путь PI3K класса III (регулируется количеством аминокислот в клетке) и сигнальный путь LKB1/AMPK, который чувствителен к уровню АТФ. Одним из основных компонентов перечисленных выше сигнальных путей служит киназа mTOR. Сигнальные пути, вовлеченные в процесс регуляции аутофагии, представлены на рис. 5.

mTOR — серин-треониновая киназа TOR, относится к семейству киназ PIKK (phosphatidylinositol kinase-related kinase), блокируется рапамицином. Ее основная роль заключается в стимуляции синтеза белка и роста массы клетки [21]. Активируя свои мишени, p70S6K (40S ribosomal protein S6K) и 4E-BP1 (4E-binding protein 1), она регулирует синтез белков, необходимых для жизнедеятельности клетки. mTOR осуществляет свою регуляторную функцию путем фосфорилирования различных белков, участвующих в процессе аутофагии, и выступает основным супрессором данного процесса [22]. Фосфорилирование Atg13, которое осуществляет данная киназа, нарушает образование инициаторного комплекса, необходимого для формирования мембраны аутофагосомы.

Существует два молекулярных комплекса, в состав которых входит mTOR: mTORC1 и mTORC2. К основным

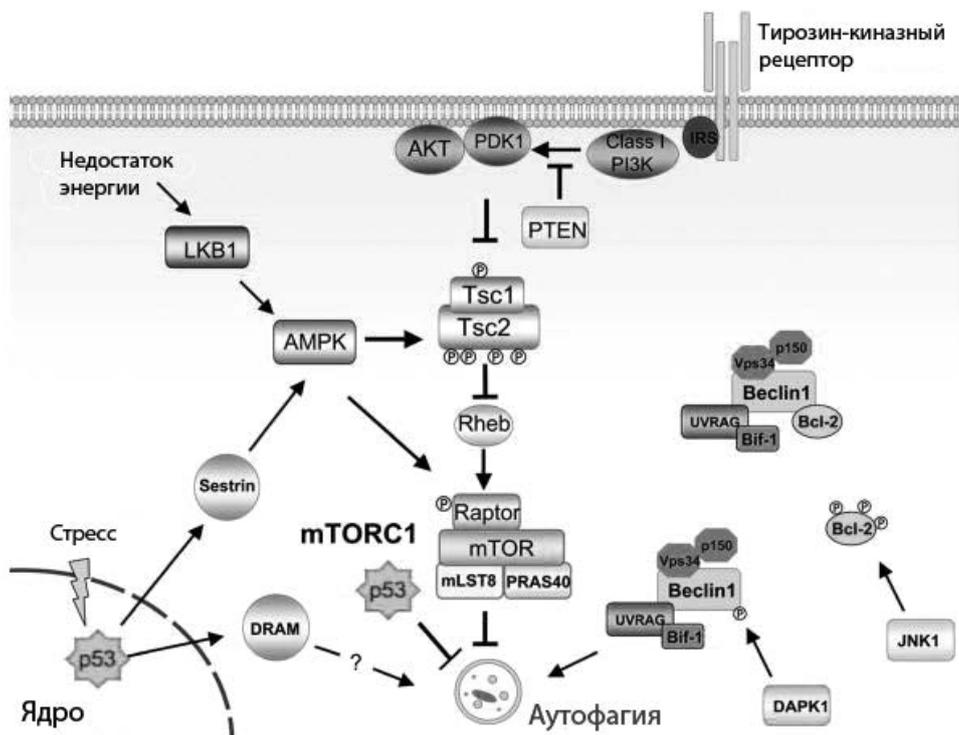


Рис. 5. Регуляция аутофагии [20]

компонентам mTORC1 относятся mTOR и регуляторный белок Raptor (regulatory-associated protein of mTOR). mTORC1 обладает классическими функциями, характерными для mTOR, — мониторинг энергетического состояния клетки и контроль синтеза белков. Активация этого комплекса осуществляется в ответ на сигналы, передаваемые инсулином, факторами роста, аминокислотами и в случае окислительного стресса. В mTORC2 входит mTOR, нечувствительный в рапамицину Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR) и G β L (G protein beta subunit-like). mTORC2 играет важную роль в регуляции цитоскелета и способен фосфорилировать серин-треониновую киназу Akt/ПКВ [23]. Изменение функционирования комплекса mTORC1 наблюдается при многих новообразованиях [24]. Известно, что многие сигнальные молекулы, регулирующие mTORC1, могут быть как онкогенами, так и опухолевыми супрессорами. Например, малая ГТФаза Rheb суперэкспрессирована при раке простаты и способствует его прогрессии [25]. Активация сигнального каскада PI3K/Akt/mTOR, который представляется универсальным механизмом интеграции пролиферативного и трансляционного сигналов, отмечается в клетках многих злокачественных опухолей.

Еще одним путем регуляции аутофагии служит сигнальный путь **LKB1/AMPK** [26]. LKB1 (liver kinase B1) — серин-треониновая киназа, которая чувствительна к энергетическому состоянию клетки. При преобладании AMP по отношению к АТФ LKB1 активирует киназу AMPK (AMP-dependent protein kinase), которая осуществляет блокирование mTORC1 путем активации TSC1/2, тем самым способствуя аутофагии. Альтернативным путем активации аутофагии может служить TSC-независимый сигнальный каскад, т. е. AMPK непосредственно фосфорилирует Raptor (один из компонентов комплекса mTORC1), что приводит к ингибированию комплекса и активации аутофагии.

В дополнение LKB1/AMPK может фосфорилировать и стабилизировать ингибитор циклинзависимых киназ p27kip, что приводит к остановке клеточного цикла. В исследованиях показано, что p27 необходим для аутофагии и выживания клеток в условиях недостатка глюкозы [27]. Таким образом, запускаются процессы аутофагии по сигнальным путям LKB1/AMPK, что обеспечивает выживание клетки при нехватке энергии.

При повреждении ДНК, стрессе и гипоксии немаловажную роль в регуляции аутофагии играет важнейший опухолевый супрессор **p53**. p53 циркулирует между ядром и цитоплазмой и в зависимости от клеточной локализации оказывает противоположное влияние на ПКГ. Находясь в цитоплазме, он запускает апоптоз. В ядре он осуществляет контроль генов, продукты которых участвуют в отрицательной регуляции mTORC1: AMPK, TSC2, PTEN (phosphatase and tensin homolog) [28]. Также p53 увеличивает экспрессию гена *DRAM* (damage-regulated autophagy modulator), кодирующего лизосомальные мембранные белки, которые индуцируют макроаутофагию. По такому пути осуществляется p53-индуцируемая *DRAM*-зависимая аутофагия. Продукты генов сестрина, которые находятся под контролем p53, через AMPK активируют TSC, что вызывает ингибирование mTOR и запуск аутофагии.

МАРК (mitogen-activated protein kinase) и **ПКС** (protein kinase C) также осуществляют модуляцию уровня функ-

циональности генов *Atg*. Интеграция сигналов одновременного ингибирования или активации p53, PI3K, mTOR оказывает суммарное влияние на процесс аутофагии.

Роль аутофагии в гемопоэзе

Как было упомянуто выше, аутофагия принимает участие в поддержании клеточного гомеостаза для различных типов клеток, в т. ч. и гемопоэтических. Недавние исследования показали, что ген *Atg7* — важнейший регулятор состояния гемопоэтических стволовых клеток, а его отсутствие приводит к усилению их пролиферации и повреждениям ДНК [29, 30]. Кроме того, процесс аутофагии необходим для поддержания баланса между пролиферацией и клеточной гибелью В- и Т-лимфоцитов. Ключевые белки — регуляторы аутофагии (*Atg5*, *Beclin-1* и *LC3*) обнаруживаются в лимфоцитах CD4+ и CD8+, и их содержание повышается в активированных Т-клетках [31, 32]. *Atg5* необходим для развития В-клеток — его отсутствие приводит к патологии данного типа клеток [33, 34].

Процесс аутофагии также необходим и для терминальной стадии дифференцировки клеток эритроидного ряда. С помощью аутофагии ретикулоциты на конечных стадиях дифференцировки избавляются от митохондрий [35]. Показано, что киназа *Ulk1* также вовлечена в процесс избавления от митохондрий и рибосом, который происходит на завершающих стадиях эритроидной дифференцировки [36].

Как было сказано выше, mTOR — основной ингибитор аутофагии, но она также принимает участие в дифференцировке мегакариоцитов. Показано, что mTOR регулирует пролиферацию мегакариоцитов и принимает участие на финальном этапе их дифференцировки, иницированной тромбopoэтином. Ингибирование mTORC1 с помощью рапамицина приводит к активации аутофагии, уменьшению размера и плоидности мегакариоцитов и вызывает задержку их дифференцировки [37].

Аутофагия выступает непосредственным участником формирования иммунного ответа. Последние литературные данные свидетельствуют в пользу того, что активация аутофагии при иммунном ответе происходит с помощью Toll-подобных рецепторов, например TLR4 и TLR7 [38–40]. Таким образом, можно утверждать, что аутофагия принимает участие в дифференцировке практически всех гемопоэтических клеток.

Роль аутофагии в канцерогенезе

Известно, что важнейшее свойство неопластических клеток — подавление в них апоптоза. Уход от апоптоза резко повышает жизнеспособность неопластической клетки, делает ее менее чувствительной к факторам противоопухолевого иммунитета и терапевтическим воздействиям. Для опухолевых клеток характерны генетические изменения, ведущие к ослаблению различных путей индукции апоптоза [41]. Так, в них закономерно обнаруживаются:

- 1) потеря экспрессии на поверхности клетки рецептора смерти Fas;
- 2) нарушения проведения апоптогенного сигнала к митохондриям (например, при инактивации опухолевых супрессоров p53 и PTEN);
- 3) ингибирование проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома *c* и AIF вследствие изменений экспрессии белков семейства Bcl2;

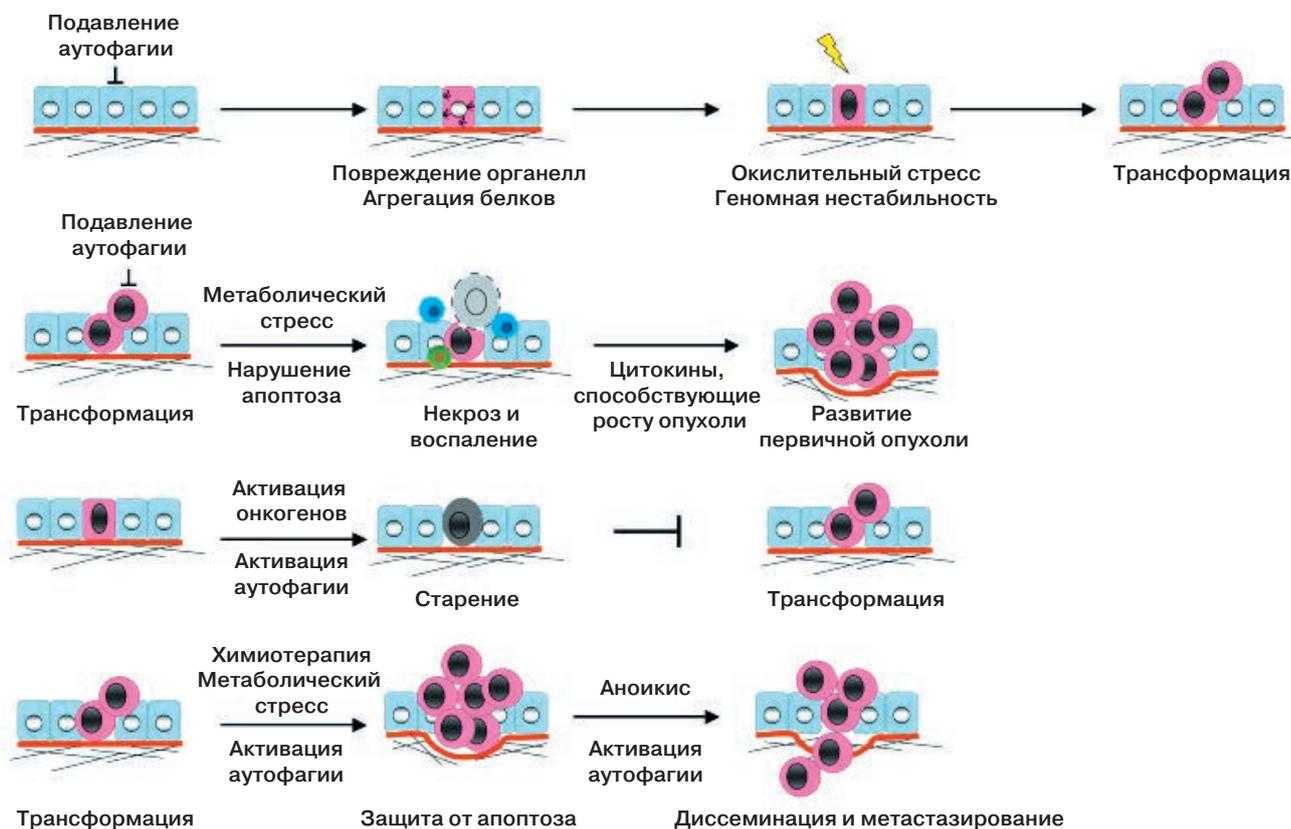


Рис. 6. Роль аутофагии в канцерогенезе [51]

4) блокирование активации каспаз вследствие подавления экспрессии белка APAF-1 в результате метилирования его гена или инактивации p53;

5) уменьшение времени жизни каспаз вследствие их связывания с белками IAP.

Роль аутофагии в канцерогенезе установлена и подтверждена. Однако нельзя не отметить противоречивость литературных данных о ее роли в неопластической трансформации. С одной стороны, процесс аутофагии должен способствовать развитию и выживанию опухолевых клеток, избавляя их от ненужных молекул, таким образом выступая промотором формирования опухолей. С другой стороны, существует достаточно доказательств, что аутофагия может стать супрессором развития новообразований. Например, экспрессия экзогенного Beclin-1 (один из главных регуляторов молекулярных механизмов аутофагии) снижает пролиферативную способность опухолевых клеток *in vitro*, а также их канцерогенный потенциал *in vivo* [42]. Еще одним доказательством супрессорной функции аутофагии может служить тот факт, что гетерозиготные мыши, у которых инактивирован один аллель гена *Beclin1*, склонны к спонтанному развитию опухолей, например аденокарциномы легкого и печени [43, 44].

Следует отметить, что аутофагия важна не только на стадии трансформации клеток, но и в процессах опухолевой прогрессии, а именно при инвазии и метастазировании. Возможные механизмы влияния аутофагии на процессы канцерогенеза представлены на рис. 6. Во-первых, ряд проведенных исследований показал, что подавление аутофагии приводит к накоплению в клетке поврежденных митохондрий и белковых агрегатов. Это влечет за собой каскад событий, таких как окислительный стресс, повреждение ДНК и геномная нестабильность,

что в конечном итоге способствует трансформации клеток в опухолевые [45, 46]. Второй потенциальный механизм участия аутофагии в канцерогенезе основан на том, что в случае блокирования в опухолевых клетках апоптоза подавление аутофагии вызывает гибель клеток путем некроза. Это приводит к развитию очага воспаления, привлечению различных клеток, например макрофагов, что способствует формированию и росту солидной опухоли [47–50].

Недавние исследования показали, что аутофагия также нужна для онкоген-индуцируемого старения [51]. Старение представляется стадией безвозвратной остановки клеточного цикла, ограничивающей процесс деления поврежденной клетки. Показано, что аутофагия активируется в процессе старения, вызванного онкогенами и повреждениями ДНК, что препятствует клеточной трансформации и подтверждает супрессорную функцию аутофагии в канцерогенезе.

Кроме того, необходимо отметить и промоторную функцию аутофагии в канцерогенезе. В отличие от нормальных опухолевые клетки испытывают большую потребность в питательных веществах и кислороде ввиду их неограниченной пролиферации. В отсутствие необходимых веществ в них возникает гипоксия и метаболический стресс, что особенно характерно для слабо васкуляризованных солидных опухолей. Таким образом, в клетках, находящихся внутри опухоли, наблюдается усиление аутофагии по сравнению с поверхностными, что помогает им избежать гибели [47]. Кроме того, промотирующий эффект аутофагии имеет место на поздних стадиях опухолевой прогрессии при инвазии и метастазировании. Например, при откреплении эпителиальной клетки от внеклеточного матрикса активируется процесс аутофагии, помогающий клетке избежать аноикса, что

служит необходимым условием для распространения за пределы первичного очага. Аутофагия играет немаловажную роль в защите опухолевых клеток от химиотерапии, помогая им уходить от апоптоза, что в ряде случаев способствует прогрессии заболевания.

Потенциальное использование аутофагии в клинической практике

Повышение уровня аутофагии в опухолевой клетке часто наблюдается в ответ на химио- и лучевую терапию. Большинство работ показывает, что ингибирование аутофагии в опухолевых клетках увеличивает их восприимчивость к большому спектру противоопухолевых препаратов. Однако ряд авторов утверждают, что гибель опухолевых клеток при воздействии химиопрепаратов возможна только при интактной аутофагии [20]. Для ингибирования аутофагии в настоящее время применяют три ингибитора: 3-МА (3-метиладенин), BafA (бафиломицин A1) и CQ (хлорохин). Так, 3-МА является ингибитором киназы Vps34 (PI3K класса III) и блокирует аутофагию на самых ранних стадиях [52]. Хлорохин (CQ) и гидроксихлорохин (HCQ) оказывают воздействие на стадию деградации, блокируя повышение кислотности в лизосомах [53]. Бафиломицин A1 (BafA) ингибирует слияние аутофагосомы с лизосомой. Таким образом, BafA и CQ блокируют процесс аутофагии на поздних стадиях [54]. Эффект от комбинирования подавления аутофагии и воздействия противоопухолевого препарата показан на различных моделях солидных опухолей, например на глиомах [55–57], раке молочной железы [58, 59] и простаты [60], а также при онкогематологических заболеваниях. Например, устойчивость клеток к иматинибу представляется большой проблемой при лечении хронического миелолейкоза. Показано, что иматиниб вызывает дозозависимую активацию аутофагии в различных клеточных линиях [61–63]. Одновременная обработка клеток иматинибом и CQ приводит к значительному усилению гибели опухолевых клеток [61, 64], подтверждая связь между уровнем аутофагии в клетках и их чувствительностью к противоопухолевым препаратам.

Для многих онкогематологических заболеваний показана цитотоксическая роль аутофагии. Например, триоксид мышьяка (As_2O_3) проявляет свою противоопухолевую активность путем активации аутофагии, приводящей к гибели опухолевых клеток при остром промиелоцитарном лейкозе [65–67]. Помимо этого триоксид мышьяка активирует аутофагию путем блокирования сигнального пути mTOR. Ингибитор mTOR NVP-BEZ235 демонстрирует обнадеживающие результаты при остром T-клеточном лимфобластном лейкозе за счет подавления сигнального пути PI3K/Akt/mTOR и активации аутофагии [68]. Другой ингибитор mTOR RAD001 (эверолимус) также блокирует выживание клеток путем индукции аутофагии на модели детского острого лимфобластного лейкоза [69, 70]. Еще один привлекательный препарат, индуцирующий гибель клеток с помощью аутофагии, — ресвератрол. Его эффективность продемонстрирована на клетках хронического миелолейкоза [71, 72]. Все приведенные выше данные лишь подчеркивают важнейшую роль аутофагии при онкогематологических заболеваниях.

Споры о том, является ли аутофагия непосредственно процессом клеточной гибели, активно продолжаются [73].

S. Turcotte и соавт. продемонстрировали эффект нового препарата STF-62247 в терапии рака почки. Под воздействием препарата наблюдалось массивное образование вакуолей в клетках, приводящее к их гибели посредством аутофагии [74]. Кроме того, следует отметить, что ингибирование аутофагии различными веществами может вызывать противоположные эффекты в комбинациях с одним и тем же химиопрепаратом, а это свидетельствует о том, что немаловажна стадия аутофагии при ее подавлении [57, 75].

Понимание молекулярных механизмов активации и ингибирования аутофагии, а также механизмов ее регуляции может послужить основой для разработки новых таргетных препаратов и повышения эффективности методов лечения злокачественных новообразований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аутофагия вовлечена во многие процессы жизнедеятельности клеток, и ее нарушения наблюдаются при многих заболеваниях. Следует отметить, что все больше и больше фактов свидетельствует в пользу того, что в процессах канцерогенеза аутофагия имеет двойное значение. По-видимому, данный процесс играет супрессорную роль в развитии новообразований на ранних стадиях клеточной трансформации. Для уже сформировавшихся опухолей аутофагия выполняет защитную функцию, придавая ее клеткам устойчивость к химиотерапии, приводя в конечном итоге к быстрой прогрессии заболевания. В связи с неоднозначной ролью аутофагии необходимо проводить дополнительные исследования, направленные на установление конкретных молекулярных механизмов данного процесса. Опираясь на такие данные, возможен адекватный выбор инструментов для лечения, которые будут вызывать ингибирование или активацию аутофагии в зависимости от молекулярных характеристик опухоли. В настоящее время активно продолжаются клинические исследования ингибиторов аутофагии, использование которых представляется перспективным в терапии злокачественных новообразований.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Работа авторов выполнена при финансовой поддержке РФФИ (Российский фонд фундаментальных исследований). Проект № 12-04-31246.

ЛИТЕРАТУРА

1. Galluzzi L., Vitale I., Abrams J.M. et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ.* 2012; 19(1): 107–20.
2. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 1972; 26: 239–57.
3. Wong R.S. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2011; 26: 30–87.
4. Hu Y., Benedict M.A., Ding L., Nunez G. Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis. *EMBO J.* 1999; 18: 3586–95.
5. Saelens X., Festjens N., Vande Walle L. et al. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene* 2004; 23(16): 2861–74.
6. Altieri D.C. Surviving in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. *Prog. Cell Cycle Res.* 2003; 5: 447–52.
7. Tamm I., Wang Y., Sausville E. et al. IAP-family protein surviving inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res.* 1998; 58(23): 5315–20.
8. Padanilam B.J. Cell death induced by acute renal injury: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2003; 284(4): F608–27.

9. Hoste E., Kemperman P., Devos M. et al. Caspase-14 is required for filaggrin degradation to natural moisturizing factors in the skin. *J. Invest. Dermatol.* 2011; 131(11): 2233–41.
10. Levine B., Klionsky D.J. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev. Cell* 2004; 6(4): 463–77.
11. Okada H., Mak T.W. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumor cells. *Nat. Rev. Cancer* 2004; 4(8): 592–603.
12. Kaminskyy V., Zhivotovsky B. Proteases in autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2012; 1824: 44–50.
13. Mijaljica D., Prescott M., Devenish R.J. Microautophagy in mammalian cells: Revisiting a 40-year-old conundrum. *Autophagy* 2011; 7: 673–82.
14. Klionsky D.J., Codogno P., Cuervo A.M. et al. A comprehensive glossary of autophagy-related molecules and processes. *Autophagy* 2010; 6(4): 438–48.
15. Massey A.C., Zhang C., Cuervo A.M. Chaperone-mediated autophagy in aging and disease. *Curr. Top. Dev. Biol.* 2006; 73: 205–35.
16. Kimmelman A.C. The dynamic nature of autophagy in cancer. *Genes Dev.* 2011; 25(19): 1999–2010.
17. Reggiori F., Tucker K.A., Stromhaug P.E., Klionsky D.J. The Atg1-Atg13 complex regulates Atg9 and Atg23 retrieval transport from the pre-autophagosomal structure. *Dev. Cell* 2004; 6(1): 79–90.
18. Wang C.W., Klionsky D.J. The molecular mechanism of autophagy. *Mol. Med.* 2003; 9: 65–76.
19. Teter S.A., Klionsky D.J. Transport of proteins to the yeast vacuole: autophagy, cytoplasm-to-vacuole targeting, and role of the vacuole in degradation. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2000; 11(3): 173–9.
20. Chen N., Debnath J. Autophagy and Tumorigenesis. *FEBS Lett.* 2010; 584(7): 1427–35.
21. Guertin D.A., Sabatini D.M. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007; 12: 9–22.
22. He C., Klionsky D.J. Regulation Mechanisms and Signaling Pathways of Autophagy. *Annu. Rev. Genet.* 2009; 43: 67–93.
23. Zhou H., Huang S. The complexes of mammalian target of rapamycin. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2010; 11: 409–24.
24. Teter T., Hall M.N. TOR, a central controller of cell growth. *Cell* 2000; 103(2): 253–62.
25. Tee A.R., Manning B.D., Roux P.P., Cantley L.C., Blenis J. Tuberous sclerosis complex gene products, Tuberin and Hamartin, control mTOR signaling by acting as a GTPase-activating protein complex toward Rheb. *Curr. Biol.* 2003; 13: 1259–68.
26. Shackelford D.B., Shaw R.J. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumor suppression. *Nat. Rev. Cancer* 2009; 9: 563–75.
27. Liang J., Shao S.H., Xu Z.X. et al. The energy sensing LKB1-AMPK pathway regulates p27(kip1) phosphorylation mediating the decision to enter autophagy or apoptosis. *Nat. Cell Biol.* 2007; 9: 218–24.
28. Feng Z., Hu W., Stanchina E. et al. The regulation of AMPK beta1, TSC2, and PTEN expression by p53: stress, cell and tissue specificity, and the role of these gene products in modulating the IGF-1-AKT-mTOR pathways. *Cancer Res.* 2007; 67: 3043–53.
29. Mortensen M., Watson A.S., Simon A.K. Lack of autophagy in the hematopoietic system leads to loss of hematopoietic stem cell function and dysregulated myeloid proliferation. *Autophagy* 2011; 7(9): 1069–70.
30. Mortensen M., Soilleux E.J., Djordjevic G. et al. The autophagy protein Atg7 is essential for hematopoietic stem cell maintenance. *J. Exp. Med.* 2011; 208: 455–67.
31. Pua H.H., Komatsu M., He Y.W. Autophagy is essential for mitochondrial clearance in mature T lymphocytes. *J. Immunol.* 2009; 182: 4046–55.
32. Pua H.H., Dzhagalov I., Chuck M. et al. A critical role for the autophagy gene Atg5 in T cell survival and proliferation. *J. Exp. Med.* 2007; 204: 25–31.
33. Pua H.H., He Y.W. Maintaining T lymphocyte homeostasis: another duty of autophagy. *Autophagy* 2007; 3: 266–7.
34. Miller B.C., Zhao Z., Stephenson L.M. et al. The autophagy gene Atg5 plays an essential role in B lymphocyte development. *Autophagy* 2008; 4: 309–14.
35. Novak I., Kirkin V., McEwan D.G. et al. Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance. *EMBO Rep.* 2010; 11(1): 45–51.
36. Kundu M., Lindsten T., Yang C.Y. et al. Ulk1 plays a critical role in the autophagic clearance of mitochondria and ribosomes during reticulocyte maturation. *Blood* 2008; 112: 1493–502.
37. Raslova H., Kauffmann A., Sekkai D. et al. Interrelation between polyploidization and megakaryocyte differentiation: a gene profiling approach. *Blood* 2007; 109: 3225–34.
38. Delgado M.A., Elmaoued R.A., Davis A.S., Kyei G., Deretic V. Toll-like receptors control autophagy. *EMBO J.* 2008; 27: 1110–21.
39. Shi C.S., Kehrl J.H. MyD88 and Trif target Beclin 1 to trigger autophagy in macrophages. *J. Biol. Chem.* 2008; 283: 33175–82.
40. Xu Y., Jagannath C., Liu X.D. et al. Toll-like receptor 4 is a sensor for autophagy associated with innate immunity. *Immunity* 2007; 27: 135–44.
41. Канцерогенез. Под ред. Д.Г. Заридзе. М.: Медицина, 2004. [Kantserogenez. Pod red. D.G. Zaridze (Carcinogenesis. Ed. by: D.G. Zaridze). M.: Meditsina, 2004.]
42. Liang X.H., Jackson S., Seaman M. et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999; 402: 672–6.
43. Yue Z., Jin S., Yang C., Levine A.J., Heintz N. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2003; 100: 15077–82.
44. Qu X., Yu J., Bhagat G. et al. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J. Clin. Invest.* 2003; 112: 1809–20.
45. Karantza-Wadsworth V., Patel S., Kravchuk O. et al. Autophagy mitigates metabolic stress and genome damage in mammary tumorigenesis. *Genes Dev.* 2007; 21: 1621–35.
46. Meek D.W. Tumor suppression by p53: a role for the DNA damage response? *Nat. Rev. Cancer* 2009; 9: 714–23.
47. Degenhardt K., Mathew R., Beaudoin B. et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell* 2006; 10: 51–64.
48. DeNardo D., Johansson M., Coussens L. Immune cells as mediators of solid tumor metastasis. *Cancer Metast. Rev.* 2008; 27: 11–8.
49. DeNardo D.G., Barreto J.B., Andreu P. et al. CD4+ T Cells Regulate Pulmonary Metastasis of Mammary Carcinomas by Enhancing Protumor Properties of Macrophages. *Cancer Cell* 2009; 16: 91–102.
50. Bingle L., Brown N.J., Lewis C.E. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J. Pathol.* 2002; 196: 254–65.
51. Young A.R., Narita M., Ferreira M. et al. Autophagy mediates the mitotic senescence transition. *Genes Dev.* 2009; 23: 798–803.
52. Petiot A., Ogier-Denis E., Blommaert E.F., Meijer A.J., Codogno P. Distinct classes of phosphatidylinositol 3'-kinases are involved in signaling pathways that control macroautophagy in HT-29 cells. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 992–8.
53. Luiken J.J., Aerts J.M., Meijer A.J. The role of the intralysosomal pH in the control of autophagic proteolytic flux in rat hepatocytes. *Eur. J. Biochem.* 1996; 235: 564–73.
54. Yamamoto A., Tagawa Y., Yoshimori T. et al. 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.
55. Ito H., Daido S., Kanzawa T., Kondo S., Kondo Y. Radiation-induced autophagy is associated with LC3 and its inhibition sensitizes malignant glioma cells. *Int. J. Oncol.* 2005; 26: 1401–10.
56. Lomonaco S.L., Finniss S., Xiang C. et al. The induction of autophagy by gamma-radiation contributes to the radioresistance of glioma stem cells. *Int. J. Cancer* 2009; 125: 717–22.
57. Shingu T., Fujiwara K., Bogler O. et al. Stage-specific effect of inhibition of autophagy on chemotherapy-induced cytotoxicity. *Autophagy* 2009; 5: 537–9.
58. Vazquez-Martin A., Oliveras-Ferreros C., Menendez J.A. Autophagy facilitates the development of breast cancer resistance to the anti-HER2 monoclonal antibody trastuzumab. *PLoS One* 2009; 4: e6251.
59. Abedin M.J., Wang D., McDonnell M.A., Lehmann U., Kelekar A. Autophagy delays apoptotic death in breast cancer cells following DNA damage. *Cell Death Differ.* 2007; 14: 500–10.
60. Kim R.H., Coates J.M., Bowles T.L. et al. Arginine deiminase as a novel therapy for prostate cancer induces autophagy and caspase-independent apoptosis. *Cancer Res.* 2009; 69: 700–8.
61. Bellodi C., Lidonnici M.R., Hamilton A. et al. Targeting autophagy potentiates tyrosine kinase inhibitor-induced cell death in Philadelphia chromosome-positive cells, including primary CML stem cells. *J. Clin. Invest.* 2009; 119: 1109–23.
62. Carew J.S., Nawrocki S.T., Kahue C.N. et al. Targeting autophagy augments the anticancer activity of the histone deacetylase inhibitor SAHA to overcome Bcr-Abl-mediated drug resistance. *Blood* 2007; 10: 313–22.
63. Ertmer A., Huber V., Gilch S. et al. The anticancer drug imatinib induces cellular autophagy. *Leukemia* 2007; 21: 936–42.
64. Kamitsui Y., Kuroda J., Kimura S. et al. The Bcr-Abl kinase inhibitor INNO-406 induces autophagy and different modes of cell death execution in Bcr-Abl-positive leukemias. *Cell Death Differ.* 2008; 15: 1712–22.
65. Goussetis D.J., Altman J.K., Glaser H. et al. Autophagy is a critical mechanism for the induction of the antileukemic effects of arsenic trioxide. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 29989–97.
66. Qian W., Liu J., Jin J. et al. Arsenic trioxide induces not only apoptosis but also autophagic cell death in leukemia cell lines via up-regulation of Beclin-1. *Leuk. Res.* 2007; 31: 329–39.
67. Charoensuk V., Gati W.P., Weinfeld M. et al. Differential cytotoxic effects of arsenic compounds in human acute promyelocytic leukemia cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009; 239: 64–70.
68. Chiarini F., Grimaldi C., Ricci F. et al. Activity of the novel dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235 against T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.* 2010; 70: 8097–107.
69. Crazzolara R., Bradstock K.F., Bendall L.J. RAD001 (everolimus) induces autophagy in acute lymphoblastic leukemia. *Autophagy* 2009; 5: 727–8.
70. Crazzolara R., Cisterne A., Thien M. et al. Potentiating effects of RAD001 (everolimus) on vincristine therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2009; 113: 3297–306.
71. Puissant A., Auberger P. AMPK- and p62/SQSTM1-dependent autophagy mediate resveratrol-induced cell death in chronic myelogenous leukemia. *Autophagy* 2010; 6(5): 655–7.

72. *Puissant A., Robert G., Fenouille N. et al.* Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. *Cancer Res.* 2010; 70: 1042–52.

73. *Kroemer G., Levine B.* Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2008; 9: 1004–10.

74. *Turcotte S., Chan D.A., Sutphin P.D. et al.* A molecule targeting VHL-deficient renal cell carcinoma that induces autophagy. *Cancer Cell.* 2008; 14: 90–102.

75. *Kanzawa T., Germano I.M., Komata T. et al.* Role of autophagy in temozolomide-induced cytotoxicity for malignant glioma cells. *Cell Death Differ.* 2004; 11: 448–57.

О.В. Ковалева — кандидат биологических наук, научный сотрудник

М.С. Шитова — студент

И.Б. Зборовская — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией

Адрес для переписки: О.В. Ковалева, 115478, Каширское шоссе, д. 24, Москва, Российская Федерация,
тел.: +7 (499) 6129605, e-mail: ovkovaleva@gmail.com

