

## Протеїнкіназа ASK1 як перспективна мішень для фармакологічного втручання

Г. П. Волинець, В. Г. Бджола, О. П. Кухаренко, О. В. Совстова, С. М. Ярмолюк

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, Україна, 03680

volinetc\_galina@mail.ru

*Протеїнкіназа ASK1 (Apoptosis signal-regulating kinase 1) – серин/треонінова кіназа 5 кінази MAP-кінази (MAPKKK5), яка зустрічається в усіх еукаріотних організмах. ASK1 індукуює апоптоз через каскади JNK і p38 у відповідь на проапоптичні стимули – активні форми кисню, TNF- $\alpha$ , Fas, стрес ендоплазматичного ретикулуму та ін. ASK1 бере участь у процесах диференціації та загибелі нейронів. Кіназа є важливою сигнальною молекулою в гіпертрофії та апоптозі кардіоміоцитів. ASK1 залучена до розвитку імунної відповіді та до процесів старіння ендотеліальних клітин при діабеті і може бути потенційною терапевтичною мішенню для попередження старіння судин, лікування нейродегенеративних і серцевих хвороб.*

*Ключові слова: ASK1, апоптоз, диференціація, імунна відповідь, гіпертрофія серця.*

**Вступ.** Апоптоз – високорегульований процес загибелі клітин, що відіграє важливу роль у нормальному розвитку та підтриманні гомеостазу багатоклітинних організмів. Порушення регуляції апоптозу призводить до раку, аутоімунних та нейродегенеративних хвороб. Тому з'ясування механізмів регуляції запрограмованої загибелі клітин є фундаментальною проблемою сучасної клітинної біології.

Здатність клітин адекватно реагувати на зміни зовнішніх умов ґрунтується на взаємодії внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. Їх інтеграція лежить в основі регуляції таких фізіологічних процесів, як проліферація, диференціація і контролювана загибель клітин [1]. На сьогодні вважається, що вирішальну роль у регуляції апоптозу відіграють протеїнкіназні шляхи трансдукції сигналів, які активуються мітогенами (МАРК). Вони є надзви-

чайно консервативними і визначають процеси загибелі і виживання еукаріотних клітин від дріжджів до людини. Важливою ланкою МАРК сигнальних каскадів є протеїнкіназа ASK1 (Apoptosis signal-regulating kinase 1), яка здатна реагувати на цитокіни (TNF- $\alpha$  та інтерлейкін-1) і зовнішні стресові стимули, зокрема, УФ-випромінювання та активні форми кисню. Ефекторними молекулами ASK1 є JNK і p38 [2]. У результаті їхнього фосфорилування в клітині активуються відповідні послідовності реакцій, що можуть модифікувати експресію генів, залучених до процесів проліферації, диференціації та апоптозу [3]. Зроблено аналіз сучасних даних, що стосуються структури, механізмів регуляції активності та функцій ASK1.

**Структура ASK1.** ASK1 – серин/треонінова кіназа 5 кінази МАР-кінази (МАРККК5, МАР3К5), яка зустрічається в усіх еукаріотних організмах. ASK1 є білком з молекулярною масою 170 кДа. Ген кінази локалізований на 6-й хромосомі в локусі

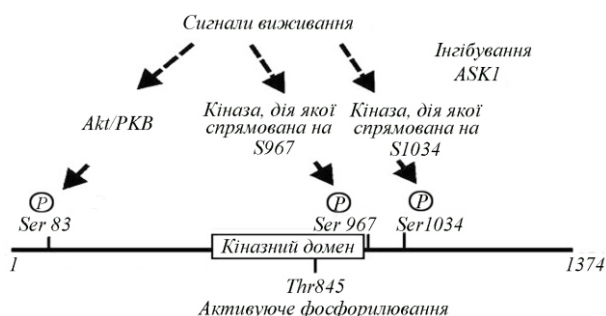


Рис. 1. Схематична модель регуляції активності ASK1 внаслідок фосфорилування. ASK1 активується в результаті автофосфорилування Thr845, що знаходиться в активаційній петлі. Фосфорилування Ser83, Ser967 і Ser1034 призводить до зниження активності ASK1 і негативно контролює проапоптичну активність кінази

6q22.33. ASK1 складається з 1374 і 1380 амінокислотних залишків (а. з.) у людини і миші відповідно та має 11 субдоменів. На С- і N-кінцях розташовані суперспіралізовані райони. С-кінцева ділянка молекули необхідна для формування сигналосоми та самоактивації кінази. N-кінцева слугує центром білково-білкових взаємодій. У середній частині молекули розташований каталітичний домен, що має типову для протеїнкіназ укладку. Він складається з двох субдоменів – малого, утвореного п'ятьма β-складками та однією αС-спіраллю (включає а. з. 670–757), та великого, що має в основному α-спіральну структуру (а. з. 761–940) [4, 5].

**Регуляція активності ASK1.** Активація ASK1 спричиняє такі біологічні відповіді, як диференціація, старіння, запалення і апоптоз залежно від типу та контексту клітин. Зважаючи на важливу фізіологічну роль ASK1, необхідним є дослідження регуляції її активності. Відомо три основних механізми подібного контролю: фосфорилування, олігомеризація, білково-білкові взаємодії. Обов'язковим для активації ASK1 є автофосфорилування Thr845, що знаходиться в активаційній петлі. Модуляція активності здійснюється також іншими кіназами, мішенями яких є три амінокислотних залишки ASK1. Фосфорилування Ser83, Ser967 і Ser1034 призводить до зниження активності ASK1 і негативно контролює проапоптичну активність кінази (рис. 1) [5–7].

Продемонстровано, що внутрішньомолекулярна взаємодія між N- і С-кінцевими доменами ASK1 забезпечує формування неактивної форми, тоді як гомоолігомеризація кінази корелює з її активацією

[4]. Взаємодія між мономерами ASK1 ґрунтується, в основному, на комплементарності поверхонь – N-кінцевий домен однієї молекули взаємодіє з С-кінцевим іншої. Взаємодія між молекулами обумовлена низкою безпосередніх водневих зв'язків (Leu700-Asn776', Asn702-Тур783', Gln703-Thr779', Arg705-Thr813' і навпаки) та зв'язків, опосередкованих молекулами води (Gln756-НОН-Тур814') (штрих визначає симетрію еквівалентної молекули). Крім того, значний внесок у димеризацію роблять також багаточислові π-стекинг і гідрофобні взаємодії Arg705-Тур814'-Pro758/Pro758'-Тур814'-Arg705' [5].

Найбільше значення в регуляції активності ASK1 відіграють білково-білкові взаємодії. У відповідь на сигнали TNF-α і Fas ASK1 зв'язується з TRAF2 (TNF receptor-associated factor 2) і білком Дахх відповідно, що забезпечує функціональну активацію ASK1. Це спричиняє індукцію апоптозу клітин через активацію JNK-залежного сигнального шляху [8, 9].

Проапоптична активність ASK1 інгібуються багатьма іншими білками. У клітині існують партнери – антагоністи ASK1: тіоредоксин (Trx) [10], глутаредоксин (Grx) [11], білки 14-3-3 [12], CHIP (C-terminus of Hsp70-interacting protein) [13], SUMO-1 (Small ubiquitin-related modifier-1) [14], mGSTM1-1 (mouse glutathione S-transferase Mu1-1) [15], Raf-1 [16], фосфатаза Cdc25A (Cell division cycle 25 homolog A (*Schizosaccharomyces pombe*)) [17] та ін.

Взаємодія між Trx і ASK1 регулюється окисно-відновним станом клітини і відбувається лише за відновлювальних умов. У результаті обробки клітин TNF-α або активними формами кисню (такими як H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Trx дисоціює від ASK1, і вивільнена кіназа активується в процесі олігомеризації і фосфорилування [18]. На сьогодні є експериментальні дані щодо редокс-незалежного інгібування ASK1 тіоредоксином. У разі надекспресії Trx в культурі ендотеліальних клітин аорти бика спостерігали індукцію убіквітилювання і деградацію ASK1 [19].

Білок Grx зв'язується з амінокислотними залишками в С-кінцевій ділянці ASK1. Цей процес також залежить від окисно-відновного статусу

клітини. Така взаємодія інгібує ASK1-опосередкований апоптоз, а надекспресія Grx ефективно пригнічує загибель клітин [11].

Білки 14-3-3 належать до надродини адапторних фосфосерин/фосфотреонін-зв'язувальних молекул [20]. Відомо декілька механізмів, за якими вони пригнічують ASK1-опосередкований апоптоз. При асоціації з ASK1 білки 14-3-3 слугують інгібіторними кофакторами ASK1 і безпосередньо пригнічують каталітичну функцію кінази та блокують її взаємодію з активаторами або субстратами. Зв'язування ASK1 з білками 14-3-3 залежить від фосфорилування амінокислотного залишку Ser967, а саме – його дефосфорилування корелює з дисоціацією цих білків, а мутація за цим залишком блокує їхню взаємодію [21]. Коекспресія білків 14-3-3 з ASK1 пов'язана з транслокацією кінази з цитоплазми до перинуклеарного простору [12]. Ці дані дають підставу стверджувати, що білки родини 14-3-3 регулюють функції ASK1, контролюючи її субклітинний розподіл.

Ще один із шляхів інгібування ASK1 реалізується за допомогою цитозольних шаперонів родини Hsp70. CHIP – це кошаперон і убіквітинлігаза, що взаємодіє з Hsp70 через N-кінцевий тетрапептид-повторюваний домен. Оскільки ASK1 містить акцепторний сайт до такого домену, було передбачено функцію CHIP у регуляції активності ASK1. Виявилося, що CHIP взаємодіє з ASK1 та індукує її убіквітилювання і протеасомо-залежну деградацію [13].

Такий негативний регулятор ASK1, як Raf-1, при зв'язуванні з N-кінцевим доменом кінази індукує утворення її неактивної конформації. Можливо, це порушує взаємодію ASK1 з такими ефекторами, як MKK3, або регуляторами, наприклад Дахх. Існує альтернативна думка стосовно інгібіторної функції Raf-1. Імовірно, останній функціонує як адапторний білок, який рекрутує фактори виживання, зокрема Akt, що супроводжується пригніченням активності ASK1 за рахунок фосфорилування [22].

SUMO-1 і mGSTM1-1 виявляють негативний регуляторний ефект на активність ASK1 саме через білково-білкову взаємодію, а не через ферментативну активність [14, 15].

Відомі також фосфатази, здатні взаємодіяти з ASK1. CDC25A інгібує ASK1 внаслідок асоціації без вияву ферментативної дії. Надекспресія CDC25A попереджає гомоолігомеризацію ASK1 [17], необхідну для її активації [4]. PP5 (Protein phosphatase 5) дефосфорилує Thr845 в активаційній петлі ASK1 і пригнічує H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-індуковану активацію ASK1 [23]. SKRP1 (Stress-activated protein kinase pathway-regulating phosphatase 1) сприяє асоціації ASK1 з її субстратом MKK7, але пригнічує сигналювання, залежне від JNK. Активацію ASK1 забезпечує лише фосфатаза, специфічна до залишку pSer967 [24].

Отже, активність ASK1 контролюється за участі різних молекулярних механізмів на багатьох рівнях. Однак повна картина такої регуляції в клітині на рівні мережі сигнальних шляхів залишається до кінця не з'ясованою.

ASK1 може бути активована різними проапоптотичними стимулами, включаючи оксиданти, рецептори загибелі, стрес ендоплазматичного ретикулуму, викликаний білковою агрегацією, та ін.

Залежно від локалізації у певних компартментах ASK1 здатна опосередковувати відповідь клітини на певний стимул. ASK1, яка знаходиться в цитоплазмі, бере участь в апоптозі, індукованому Fas або стресом ендоплазматичного ретикулуму. Водночас ASK1, локалізована в мітохондріях, забезпечує загибель клітин, викликану TNF- $\alpha$  та активними формами кисню [25].

**Роль ASK1 у сигналюванні, індукованому оксидативним стресом.** Активні форми кисню утворюються в результаті різних процесів у клітині або мають екзогенне походження. Вони виконують важливу роль у регуляції багатьох функцій клітини, включаючи проліферацію, виживання, старіння і апоптоз. Однак неконтрольоване утворення окисників може призводити до порушення структури та функції клітинних компонентів – ДНК, білків і ліпідів, що, в свою чергу, викликає оксидативний стрес. Останній призводить до розвитку багатьох хвороб, зокрема, атеросклерозу, діабету, артриту, раку і нейродегенеративних процесів [26]. Розуміння внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, які регулюють відповідь на стрес, спричинений окисниками, зокрема H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, є важливим для розроб-

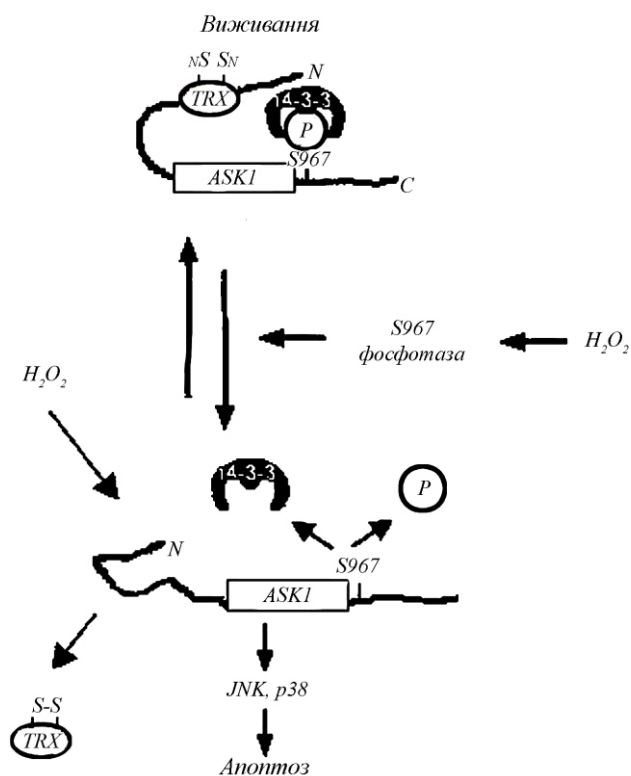


Рис. 2. Механізм регуляції активності ASK1 протягом відповіді клітини на оксидативний стрес.  $H_2O_2$  індукує дисоціацію Trx від N-кінцевої ділянки ASK1 та стимулює фосфатазу, дія якої спрямована на pSer967 ASK1. Дефосфорилування за цим амінокислотним залишком призводить до дисоціації білків 14-3-3, активації ASK1, її ефекторних кіназ та запуску апоптозу

ки ліків, що можуть бути використані в терапії зазначених хвороб.

Дослідження останніх років показали важливу роль ASK1 у відповіді клітини на стрес, індукований  $H_2O_2$ . Фібробласти ембріонів мишей з нокауттом гена *ASK1* були резистентними до апоптозу, викликаного  $H_2O_2$  [27]. Одним із механізмів, який опосередковує ефект  $H_2O_2$  на клітину, є дисоціація Trx від ASK1 [18].  $H_2O_2$  контролює також статус фосфорилування ASK1 за Ser967. Дія пероксиду водню необхідна для стимуляції фосфатази, яка каталізує дефосфорилування ASK1 за цим амінокислотним залишком і призводить до дисоціації 14-3-3 білків, активації ASK1 та її ефекторних кіназ (рис. 2) [27]. Фосфорилування Ser967 і разом з тим асоціація з білками 14-3-3 впливають на взаємодію ASK1 і з її внутрішньоклітинними інгібіторами – Trx і Grx. Дефосфорилування pSer967 зменшує спорідненість ASK1 до цих білків, знижуючи таким

чином її чутливість до  $H_2O_2$  [28]. Отже, вірогідно,  $H_2O_2$  індукує ASK1-опосередковану відповідь клітин на стрес через активацію специфічної фосфатази, яка модулює pSer967-залежну взаємодію ASK1 із 14-3-3 та тіоредоксином. Такі дані свідчать про тісний зв'язок між сигналюванням, залежним від активних форм кисню, і ферментами, дія яких специфічно спрямована на залишок Ser967.

Цікавими є результати досліджень, які стосуються ролі інших кіназ, залучених до модулювання активності ASK1. В ендотеліальних клітинах  $H_2O_2$  індукує фосфорилування PKD і її транслокацію з мембрани до цитоплазми, де вона асоціює з ASK1. Така асоціація опосередкована плекстрин-гомологічним (PH) доменом PKD і C-кінцевим районом ASK1. Інгібування PKD стауроспорином або siRNA блокує  $H_2O_2$ -індуковану активацію апоптозу ендотеліальних клітин [29]. Akt-кіназа, навпаки, здатна ефективно пригнічувати відповідь ASK1 на оксидативний стрес за рахунок фосфорилування Ser83 [6]. Таким чином, наявні дані свідчать про надзвичайно складні механізми регуляції активності ASK1 у процесі відповіді клітин на оксидативний стрес.

#### Участь ASK1 в загибелі клітин, регульованій лігандами.

До родини рецепторів загибелі належить Fas. Після взаємодії рецептора з Fas-лігандом проапоптичний білок Daхх зв'язується з N-кінцевою ділянкою ASK1, що змінює автоінгібувальну конформацію кінази на активну. Це призводить до запуску JNK-залежного сигналювання та загибелі клітин (рис. 3) [30].

До процесу активації ASK1 під час Fas-індукованого апоптозу може бути залучена HIPK1 (Homeodomain-interacting protein kinase-1) – одна з Ser/Thr-протеїнкіназ, що регулює активність широкого спектра транскрипційних факторів і локалізована в ядрі. Протягом індукції Fas відбувається транслокація HIPK1 до цитоплазми. У цитозолі кіназа асоціює з сигнальним комплексом AIP-ASK1 і сприяє від'єднанню Trx та білків 14-3-3. Механізм дисоціації до кінця не зрозумілий. Можливо, така дія забезпечується активацією pSer967-специфічної фосфатази [31].

Негативний модулятор ASK1 – глутаміл-тРНК синтетаза (QRS) попереджає Fas-індукований

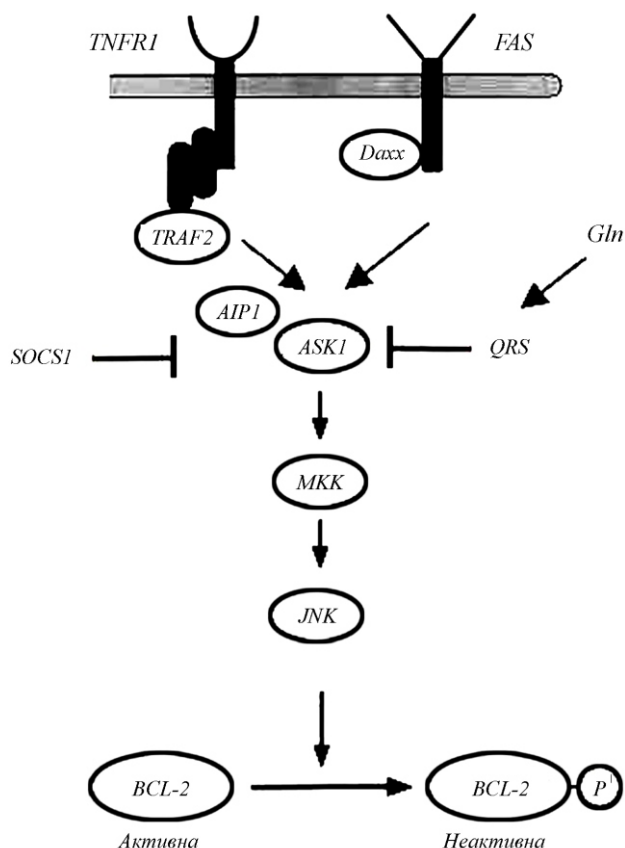


Рис. 3. Теоретична модель TNF- та Fas-залежної активації ASK1. В результаті активації TNFR1 відбувається дисоціація комплексу AIP1–TNFR1 з наступною дифузією AIP1 у цитоплазму, де він взаємодіє з ASK1 і змінює її конформацію. Це сприяє асоціації ASK1 з TRAF2 та запуску JNK-сигнального шляху, що призводить до фосфорилування антиапоптичного білка Bcl-2 та його інактивації. Після індукції Fas білок Daxx зв'язується з N-кінцевою ділянкою ASK1, змінюючи автоінгібуючу внутрішньомолекулярну взаємодію між N- і C-кінцями кінрази на активну конформацію. Останнє спричиняє запуск JNK-залежного сигналювання та загибель клітин. Негативними регуляторами ASK1 є SOCS1 та глутаміл-тРНК синтетаза (QRS), ефект якої підсилюється зростанням концентрації глутаміну в клітині

апоптоз. Цей ефект підсилюється зростанням концентрації глутаміну в клітині [32].

**ASK1 за TNF-викликаного апоптозу.** ASK1 є медіатором TNF- $\alpha$ -індукованого апоптозу. Фізіологічною мішенню TNF- $\alpha$  є ендотеліальні клітини судин [33]. Цитокини родини TNF взаємодіють з TNFR (TNF ресептор). За відсутності дії цитокину рецептор перебуває в неактивному стані у комплексі з адапторним білком, що отримав назву SODD (Silencer of death-domains). TNF- $\alpha$  індукуює дисоціацію SODD від TNFR з наступним рекрутуванням TRADD (TNF ресептор-associated

death-domain protein) [34]. Останній функціонує як основа для утворення мультибілкового комплексу. Він рекрутує RIP1 (Ser/Thr protein kinase receptor-interacting protein 1) і TRAF2, який зв'язується з C-кінцевим доменом ASK1 і сприяє олігомеризації ASK1, що забезпечує її автофосфорилування за Thr845 [35].

Важливу регуляторну роль у формуванні комплексу TRAF2–ASK1 відіграє білок AIP1 (ASK1-interacting protein 1). Останній належить до родини Ras-GAP (білок, що активує ГТФазну активність Ras) і локалізований переважно на цитоплазматичному боці мембрани у комплексі з TNFR1. У відповідь на зв'язування TNF відбувається дисоціація комплексу AIP1–TNFR1 з наступною дифузією AIP1 у цитоплазму, де він взаємодіє з ASK1, змінює її конформацію, сприяючи асоціації з TRAF2. Отже, у такий спосіб позитивно регулюється сигнальний шлях ASK1–JNK, що призводить до фосфорилування антиапоптичного білка Bcl-2 та його інактивації (рис. 3) [36].

Активація TNFR зумовлює дисоціацію Trx від ASK1. Цитоплазматична форма ASK1 опосередковує апоптичний шлях через активацію JNK та наступне процесування Bid і транслокацію Bax. Мітохондріальна ізоформа ASK1 опосередковує JNK-незалежний шлях апоптозу, механізм якого на сьогодні не відомий. Проте обидва каскади спричиняють вивільнення цитохрому C і активації каспази 3 [37].

Іншим білком-партнером та негативним регулятором ASK1 є SOCS1 (Suppressor of cytokine signaling 1). Останній здатний формувати лабільний комплекс з ASK1 за допомогою Src-гомологічного домену типу 2 (SH2). Критичну роль у процесі зв'язування із SOCS1 відіграє рTyr718 ASK1. Мутація за цим сайтом фосфорилування блокує взаємодію ASK1 з SOCS1. TNF- $\alpha$  може індукувати дисоціацію комплексу ASK1–SOCS1 [38].

**Роль ASK1 у стресі ендоплазматичного ретикулуму.** У живих клітинах новосинтезовані білки часто не здатні до нормального згортання. Неправильно укладені білки є токсичними для клітини. Їхня акумуляція в цистернах ендоплазматичної сітки призводить до стресу, потенційно здатного викликати такі нейродегенеративні процеси, як

хвороби Альцгеймера, Паркінсона, поліглутамінова хвороба та ін. Клітини намагаються адаптуватися до стресу ендоплазматичного ретикулуму за рахунок активації стрес-індукованих сигнальних шляхів. На сьогодні відомо низку білків, які опосередковують та реалізують стрес ендоплазматичного ретикулуму: IRE1 (Inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$ ), ATF6 (Activating transcription factor 6), OASIS (Old astrocyte specifically induced substance) та ін. [39]. Останні є інтегральними білками та можуть модулювати транспорт білків, які щойно синтезуються, всередину ендоплазматичної сітки. Якщо ця адаптація недостатня для запобігання стресу, клітини переходять на шлях апоптозу. Велика кількість робіт доводить, що ASK1 бере участь у регуляції апоптозу, викликаного стресом ендоплазматичного ретикулуму, зокрема, під час розвитку нейродегенеративних хвороб. При загибелі нейронів ASK1 взаємодіє з TRAF2 і рекрутується IRE1, що є трансмембранним сенсором ендоплазматичного ретикулуму. Формування білкового комплексу IRE1–TRAF2–ASK1 сприяє активації JNK у процесі реалізації апоптозу [40].

У нейронах мишей з нокаутом гена *ASK1* при стресі клітин, зумовленому агрегацією білків, визначено знижені рівні активації JNK і апоптозу [41]. Ці дані демонструють важливу роль ASK1 у стресі ендоплазматичного ретикулуму.

**Внесок ASK1 у процеси диференціації та апоптозу нейронів.** ASK1 є не лише важливою ланкою шляхів передачі сигналів апоптозу, викликаного різними факторами, а й суттєвим чинником диференціації клітин [42].

ASK1 бере участь у диференціації нейронів та інгібуванні гліогенезу через активацію p38 MAP-кіназного шляху. Індуктором цього каскаду при дії лігандів нейрональних рецепторів слугує Ca<sup>2+</sup>/кальмодулін-залежна протеїнкіназа другого типу (CAMK2), яка фосфорилує ASK1. Остання через фосфорилування MKK3 або MKK6 активує p38. Таким чином, ASK1 є критичною ланкою Ca<sup>2+</sup>-залежного сигналювання між CaMK2 і p38 MAP-кіназою [43]. Показано, що ASK1 індукує експресію деяких нейрон-специфічних білків, сприяючи диференціації клітин (PC12) по нейрональному шляху [42].

Механізм участі ASK1 у пригніченні гліогенезу остаточно не з'ясований. Диференціацію стовбурових клітин у глії визначають фактори BMPs (Bone morphogenetic proteins). Відповідь клітин на BMPs залежить від кількості нейрогеніну в клітині. За низького рівня нейрогеніну BMPs індукують розвиток астрогліальних клітин. Імовірно, ASK1 стимулює синтез нейрогеніну, попереджаючи утворення глії [44].

ASK1 є важливою молекулою у патогенезі нейродегенеративних хвороб. Хвороба Альцгеймера зумовлена накопиченням  $\beta$ -амілоїду ( $A\beta$ ), що є продуктом розпаду трансмембранного білка, попередника амілоїду  $A\beta$ PP (*Amyloid precursor protein*), здатного до утворення волоконних структур [45]. Дослідженнями на мишах з нокаутом гена *A\beta*PP продемонстровано, що цей білок виконує важливі фізіологічні функції у розвитку нервової системи [46]. ASK1 здатна формувати комплекс з  $A\beta$ PP через JIP-1b (JNK signaling scaffold protein). У цьому комплексі С-кінцева ділянка  $A\beta$ PP зв'язує JNK і сприяє її активації, наближуючи останню до ASK1 [47].

В експериментах з використанням  $A\beta$  показано, що після обробки клітин цим білком ASK1–JNK-шлях активується в результаті утворення активних форм кисню, які викликають окиснення Grx1 і Trx1.  $A\beta$ -індукована нейротоксичність у хворобі Альцгеймера ефективно інгібується надекспресією Grx1 або Trx1. Нейрони з нокаутом гена *ASK1* були резистентними до  $A\beta$ -індукованої клітинної загибелі [48].

Отже, зважаючи на роль ASK1 у процесі розвитку хвороби Альцгеймера, її можна розглядати як потенційну терапевтичну мішень для лікування нейродегенеративних хвороб.

**Роль ASK1 у гіпертрофії та апоптозі кардіоміоцитів.** Основні механізми, за якими відбувається ріст м'язової тканини серця – це гіпертрофія та гіперплазія кардіоміоцитів [49]. Обидва цих процеси разом із запрограмованою загибеллю клітини забезпечують нормальний розвиток і функціонування серця.

Гіпертрофія кардіоміоцитів – важливий адаптивний процес у відповідь на такі позаклітинні стимули, як механічний стрес, цитокіни і фактори рос-

ту. Гіпертрофія може призводити до серцевої недостатності та розвитку серцевих хвороб.

ASK1 ідентифікована як посередник у сигнальних шляхах, що активують гіпертрофію кардіоміоцитів. Надекспресія домінантно-негативної мутантної форми ASK1 інгібує гіпертрофію, тоді як конститутивно активна форма ASK1 викликає гіпертрофію через активацію NF- $\kappa$ B [50]. Вважають, що активація ASK1 відбувається в результаті зв'язування з GPCR лігандів-агоністів. Молекула, яка забезпечує передачу гіпертрофного сигналу від GPCR до ASK1, ще не ідентифікована. Беручи до уваги дані літератури, можна передбачити, що таким посередником може бути ГТФаза Rac1. Цей білок регулює активність НАДФН-оксидазної системи, забезпечуючи утворення активних форм кисню, які сприяють дисоціації тіоредоксину від ASK1 та її активації [51].

Механічний стрес може спричинити адаптивну гіпертрофію серцевого м'яза, що характеризується нормальною роботою серця та інтенсифікацією його функції. У мишей з нокаутом гена *ASK1* після тривалого фізичного навантаження спостерігали значний ріст м'язової тканини серця з типовими ознаками фізіологічної гіпертрофії, тобто без патології. Результати цих експериментів свідчать про негативну роль ASK1/p38 сигнального шляху в процесах гіпертрофії міокарда [52].

Цікавою є також думка авторів [53] щодо участі ASK1 у процесах загибелі кардіоміоцитів. Молекулярна основа загибелі клітин серця залишається до кінця не визначеною. У серці мишей дикого типу ішемія призводить до некротичного ураження, тоді як у мишей з дефектом гена *ASK1* частота виникнення інфарктів знижена. Кардіоміоцити з нокаутом гена *ASK1* виявилися стійкішими до апоптозу, індукованого H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> або Ca<sup>2+</sup>, ніж нормальні кардіоміоцити. Ці дані дають підставу для ствердження, що ASK1 залучена як до апоптозу, так і до некрозу кардіоміоцитів [53].

Таким чином, вищевикладене свідчить про те, що ASK1 може бути причетна до розвитку патологічних процесів серця – гіпертрофії, небажаного апоптозу та некрозу кардіоміоцитів. Тому в перспективі її можна розглядати як привабливу мішень для лікування хвороб серця.

**Участь ASK1 в імунній відповіді.** Під час імунної відповіді патогени спочатку сприймаються поверхневими рецепторами клітин. Серед них основними є TLRs (Toll-like receptors), що розпізнають структурно консервативні молекули широкого спектра мікроорганізмів.

Після зв'язування патогенних мікроорганізмів з позаклітинними ділянками TLRs відбуваються конформаційні зміни рецепторів, унаслідок чого їхні цитоплазматичні домени активують сигнальні шляхи, які включають активацію p38 і JNK. Роль шляху ASK1–p38 в імунній відповіді продемонстровано в експериментах з використанням мишей з нокаутом гена *ASK1*. У спленоцитах і дендритних клітинах з дефектом гена *ASK1* була відсутня індукована ліпополісахаридами активація p38MAPK. Також зниженою була продукція цитокінів запалення – TNF, інтерлейкіну-6 та інтерлейкіну-1 $\beta$ . На основі даних літератури можна стверджувати, що шлях ASK1–p38 необхідний для розвитку запалення у відповідь на ліпополісахариди. Передбачено також механізм активації ASK1 ліпополісахаридами. Він полягає у тому, що після стимуляції ліпополісахаридами продукуються активні форми кисню, які індукують дисоціацію тіоредоксину від ASK1; вивільнена ASK1 взаємодіє з TRAF6 і формує активну сигнальну систему ASK1, яка сприяє активації ASK1 і селективній індукції p38-шляху. Експерименти *in vivo* також підтверджують роль ASK1 в імунній відповіді. Коли мишам з нокаутом гена *ASK1* вводили ліпополісахарид, вони були резистентними до виникнення септичного шоку, тоді як більшість мишей дикого типу гинули протягом 40 год [4]. Селективні інгібітори ASK1 можуть виявитися основою для розробки протизапальних ліків та блокаторів розвитку септичного шоку.

**Активація ASK1 за високого рівня глюкози.** При гіперглікемічних станах підвищена активність ASK1 сприяє старінню ендотеліальних клітин. Високий рівень глюкози індукує зростання рівня експресії ASK1. Відомо, що інкубація ендотеліальних клітин у середовищі з підвищеним рівнем глюкози збільшує кількість клітин, які експресують  $\beta$ -галактозидазу, що є відомим фізіологічним маркером процесу старіння. Трансфекція клітин аденовірусним вектором, який трансдукує ген мутова-

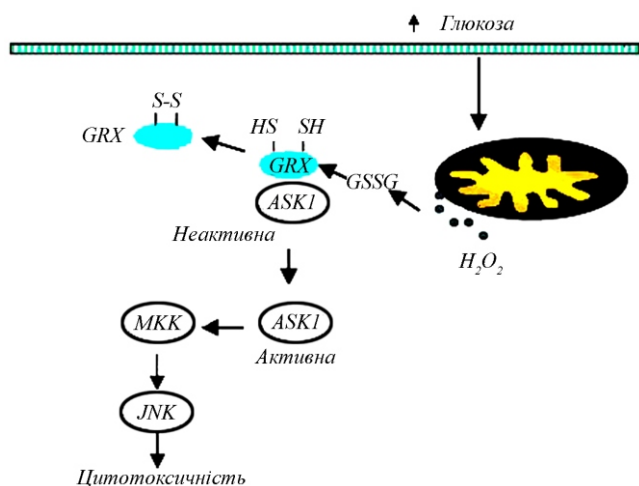


Рис. 4. Активация ASK1 за умови підвищення концентрації глюкози. ASK1 активується при збільшенні концентрації глюкози внаслідок зростання внутрішньоклітинного рівня  $H_2O_2$  та окисненого глутатіону, що призводить до дисоціації глутаредоксину і запуску JNK-залежного сигнального шляху та цитотоксичності

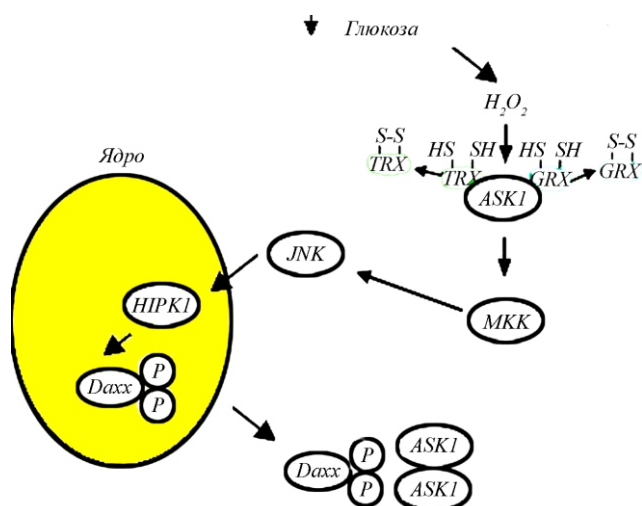


Рис. 5. Схематична модель активації ASK1 за умови зниження рівня глюкози в середовищі. У клітинах аденокарциноми простати людини (DU-145) при падінні рівня глюкози зростає внутрішньоклітинна кількість  $H_2O_2$ , що призводить до дисоціації тіо- та глутаредоксину, активації ASK1-MKK-JNK-сигнального шляху. За цих умов активується HIPK1, яка фосфорилує Daax, що спричиняє його релокалізацію з ядра в цитоплазму. Транслокована форма Daax зв'язується з ASK1 і зумовлює її олігомеризацію і, отже, функціонує як позитивний регулятор активації шляху трансдукції ASK1-MEK-MAPK

ної домінантно-негативної форми ASK1, значно знижує рівень активності  $\beta$ -галактозидази, індукований підвищеною концентрацією глюкози. І навпаки, введення конструкції з геном конститутивно активної форми ASK1 сприяє зростанню рівня  $\beta$ -галактозидазної активності [54].

Активация ASK1 за підвищеної концентрації глюкози може бути зумовлена зростанням внутрішньоклітинного рівня  $H_2O_2$  та окисненого глутатіону, що призводить до дисоціації тіоредоксину та глутаредоксину і запуску JNK-залежного шляху апоптозу (рис. 4) [55]. Окрім того, під час експозиції клітин з глюкозою зростають експресія і активність SLK (*Ste20-like kinase*), яка фосфорилує ASK1 і специфічно активує шлях апоптозу, залежний від p38MAPK [56].

Водночас на клітинах аденокарциноми простати людини (DU-145) показано, що внутрішньоклітинна кількість  $H_2O_2$  зростає при зниженні рівня глюкози в середовищі. За цих умов активується сигнальний шлях ASK1-MEK-MAPK-NIPK1. Активована NIPK1 фосфорилує Daax, що призводить до релокалізації Daax з ядра в цитоплазму. Транслокована форма Daax зв'язується з ASK1 і зумовлює її олігомеризацію і, отже, функціонує як позитивний регулятор активації шляху трансдукції ASK1-MEK-MAPK (рис. 5) [57]. Такі суперечливі результати свідчать про надзвичайно складні механізми регуляції ASK1-залежного сигналювання, що підтверджує необхідність подальших досліджень у цій галузі.

**Фармакологічна перспектива інгібіторів ASK1.** Дослідженнями останніх років, спрямованими на з'ясування ролі ASK1 у функціонуванні сигнальних мереж клітини та її безпосередньої участі у регуляції виживання та загибелі клітин, встановлено зв'язок підвищеної активності кінрази з виникненням багатьох патологій. Це є передумовою для пошуку перспективних інгібіторів ASK1, які можуть бути використані у медичній терапії. Протеїнкіназа ASK1 є важливим проапоптичним інтермедіатом клітини у відповідь на дію активних форм кисню, Fas, TNF- $\alpha$ , неправильного фолдингу білків та ін. Окрім регулювання сигнальних шляхів, індукованих стресом, ASK1 виконує низку інших біологічних функцій, зокрема, модулює процеси диференціації та старіння клітин. Кінза залучена до різних патологічних процесів. Наприклад, активація ASK1 окисниками є ключовим механізмом  $A\beta$ -індукованої нейротоксичності при хворобі Альцгеймера. Охарактеризовано її роль в імунній відповіді та розвитку запалення. Зростає



кількість даних, що свідчать про її участь у гіпертрофії серця та старінні ендотеліальних клітин під час діабету.

Експерименти з блокування функції цієї мішені із застосуванням різних генетичних, біохімічних та хімічних підходів, прямо чи опосередковано – через інші молекули-партнери і регуляторні шляхи, проведені *in vitro* та *in vivo*, вже зараз доводять, що симптоми та наслідки зазначених вище патологій можна значно послабити. Все викладене, безперечно, буде позиціонувати вказану терапевтичну мішень як об'єкт ретельної уваги для багатьох фармацевтичних компаній та спонукатиме науковців до пошуку лікарських засобів впливу на цей білок. Такий пошук триватиме, аж поки клінічними випробуваннями не буде з'ясовано ефективність терапевтичних препаратів та можливі негативні наслідки їхнього застосування.

На сьогодні цей процес тільки розпочався, оскільки лише протягом 2006–2007 років отримано найважливішу наукову передумову подібного пошуку на рівні, що відповідає сучасним підходам спрямованої раціональної розробки специфічних інгібіторів кіназ: встановлено просторову будову молекули цієї кінази методом рентгеноструктурного аналізу. Провідні біологічно-фармацевтичні компанії, які спеціалізуються на дизайні інгібіторів протеїнкіназ, ще декілька років тому включили згадану мішень до панелі скринінгу хімічних бібліотек. Однак дотепер офіційно не опубліковано жодних результатів щодо успіхів у пошуку синтетичних інгібіторів, які б мали високу активність та специфічність стосовно ASK1.

Якщо спробувати спрогнозувати можливі клінічні ефекти від застосування ASK1-специфічного інгібітора, тобто його фармакологічний спектр дії, то в першу чергу варто очікувати випробувань при патологіях, які на сьогодні пов'язують із функціями кіназ родини JNK, що є нижчерозташованими мішенями сигнального шляху ASK1. Дещо меншою мірою інгібітори ASK1 можуть також виступати блокаторами шляху p38MAPK.

Препарати, дія яких спрямована на пригнічення функції протеїнкінази ASK1, потенційно можуть слугувати ліками невідкладної дії у гострих періодах після церебральних інсультів та серцевих

інфарктів. Є певний сенс у тимчасовому їхньому вживанні при септичному шоку, локальних гострих запальних процесах та токсичних ураженнях окремих органів, які можуть спричиняти утворення значних зон некрозу та деструкції через гостру активацію апоптозу. Серед згаданих патологій може бути гострий токсичний гломерулонефрит, гепатит і панкреатит. І навпаки, гострий інфекційний процес, особливо специфічного характеру – вірусного або бактеріального, робить, швидше, небажаним блокування MAPK-сигнальних шляхів через можливе пригнічення імунної відповіді. Крім того, тривалий прийом сполук, які критично впливатимуть на один із важливих для функціонування клітини сигнальних шляхів, може мати негативні ефекти на регуляторні системи клітин.

Серед можливих наслідків зниження функцій ASK1 є порушення біохімічних реакцій клітин на рівні систем репарації/ремоделювання тканини, блокування клітинного циклу, протидії оксидативним стресам, мутаціям та зниження безпеки трансформації клітин певних типів. Також можуть виникати імунодефіцит та неспецифічні інфекційні процеси. Тривале застосування інгібіторів MAPK-кіназного шляху сигналювання інколи призводить до зростання в окремих типах тканин вірогідності утворення пухлин. Тим не менше, ліки – антагоністи MAPK-каскаду, які є інгібіторами кіназ, ефекторними відносно ASK1, вже проходять передклінічні випробування. Отже, інгібітори ASK1 виглядають цілком раціональним терапевтичним засобом.

G. P. Volynets, V. G. Bdzhola, O. P. Kukhareenko, O. V. Sovetova, S. M. Yarmoluk

Protein kinase ASK1 as potential therapeutic target

Summary

*Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) is serine/threonine kinase of kinase 5 that activates MAP-kinase (MAPKKK5). ASK1 induces apoptosis via the JNK and p38 signaling pathways. This review is focused on three main characteristics of ASK1: the structure, the regulatory mechanisms of kinase activity and the physiological role. ASK1 is required for apoptosis induced by oxidative stress, TNF- $\alpha$ , Fas and endoplasmic reticulum. It also regulates differentiation and death of neurons. ASK1 has been shown to be required for the innate immune response. This kinase is a critical signaling molecule for cardiac hypertrophy and remodeling. ASK1 also accelerates endothelial cell senescence in diabetic patients. Inhibition of the ASK1-p38 pathway could be*

useful for preventing vascular ageing and treatment of neurodegenerative and cardiac diseases.

Keywords: ASK1, apoptosis, differentiation, immune response, cardiac hypertrophy.

Г. П. Волинець, В. Г. Бджола, О. П. Кухаренко, О. В. Советова, С. М. Ярмолюк

Протеинкиназа ASK1 как перспективная фармакологическая мишень

Резюме

Протеинкиназа ASK1 (Apoptosis signal-regulating kinase 1) – серин/треонин/тирозинкиназа 5 киназы MAP-киназы (MAPKKK5) – обнаружена во всех эукариотных организмах. ASK1 индуцирует апоптоз посредством активации путей сигналинга JNK и p38 в ответ на проапоптотические стимулы – активные формы кислорода, TNF- $\alpha$ , Fas, стресс эндоплазматического ретикулума и др. ASK1 необходима в процессах дифференциации и гибели нейронов. Киназа участвует в развитии иммунного ответа и в процессах старения эндотелиальных клеток при диабете. ASK1 является ключевой молекулой в гипертрофии и апоптозе кардиомиоцитов и может быть потенциальной терапевтической мишенью для предупреждения старения сосудов и лечения нейродегенеративных и кардиологических заболеваний.

Ключевые слова: ASK1, апоптоз, дифференциация, иммунный ответ, гипертрофия сердца.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Tibbles L. A., Woodgett J. R. The stress-activated protein kinase pathways // Cell Mol. Life Sci.–1999.–**55**, N 10.–P. 1230–1254.
2. Tobiume K., Matsuzawa A., Takahashi T., Nishitoh H., Morita K., Takeda K., Minowa O., Miyazono K., Noda T., Ichijo H. ASK1 is required for sustained activations of JNK/p38 MAP kinase and apoptosis // EMBO Rep.–2001.–**2**, N 3.–P. 222–228.
3. Kyriakis J. M. Activation of the AP-1 transcription factor by inflammatory cytokines of the TNF family // Gene Exp.–1999.–**7**, N 4–6.–P. 217–231.
4. Hayakawa T., Matsuzawa A., Noguchi T., Takeda K., Ichijo H. The ASK1-MAP kinase pathways in immune and stress responses // Microbes Infect.–2006.–**8**, N 4.–P. 1098–1107.
5. Bunkoczi G., Salah E., Filippakopoulos P., Fedorov O., Muller S., Sobott F., Parker S. A., Zhang H., Min W., Turk B. E., Knapp S. Structural and functional characterization of the human protein kinase ASK1 // Structure.–2007.–**15**, N 10.–P. 1215–1226.
6. Kim A. H., Khursigara G., Sun X., Franke T. F., Chao M. V. Akt phosphorylates and negatively regulates apoptosis signal-regulating kinase 1 // Mol. Cell Biol.–2001.–**21**, N 3.–P. 893–901.
7. Fujii K., Goldman E., Park H. R., Zhang L., Chen J., Fu H. Negative control of apoptosis signal-regulating kinase 1 through phosphorylation of Ser-1034 // Oncogene.–2004.–**23**, N 29.–P. 5099–5104.
8. Ichijo H., Nishida E., Irie K., Dijke P., Saitoh M., Moriguchi T., Takagi M., Matsumoto K., Miyazono K., Gotoh Y. Induc-

- tion of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways // Science.–1997.–**275**, N 5296.–P. 90–99.
9. Chang H. Y., Nishitoh H., Yang X., Ichijo H., Baltimore D. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) by the adapter protein Daxx // Science.–1998.–**281**, N 5384.–P. 1860–1863.
10. Yamawaki H., Haendeler J., Berk B. C. Thioredoxin: a key regulator of cardiovascular homeostasis // Circ. Res.–2003.–**93**, N 11.–P. 1029–1033.
11. Song J. J., Rhee J. G., Suntharalingam M., Walsh S. A., Spitz D. R., Lee Y. J. Role of glutaredoxin in metabolic oxidative stress. Glutaredoxin as a sensor of oxidative stress mediated by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> // J. Biol. Chem.–2002.–**277**, N 48.–P. 46566–46575.
12. Subramanian R. R., Zhang H., Wang H., Ichijo H., Miyashita T., Fu H. Interaction of apoptosis signal-regulating kinase 1 with isoforms of 14-3-3 proteins // Exp. Cell Res.–2004.–**294**, N 2.–P. 581–591.
13. Hwang J. R., Zhang C., Patterson C. C-terminus of heat shock protein 70-interacting protein facilitates degradation of apoptosis signal-regulating kinase 1 and inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1-dependent apoptosis // Cell Stress Chaperones.–2005.–**10**, N 2.–P. 147–156.
14. Lee Y. S., Jang M. S., Lee J. S., Choi E. J., Kim E. SUMO-1 represses apoptosis signal-regulating kinase 1 activation through physical interaction and not through covalent modification // EMBO Reports.–2005.–**6**, N 10.–P. 949–955.
15. Cho S. G., Lee Y. H., Park H. S., Ryoo K., Kang K. W., Park J., Eom S.-J., Kim M. J., Chang T. S., Choi S. Y., Shim J., Kim Y., Dong M. S., Lee M. J., Kim S. G., Ichijo H., Choi E. J. Glutathione S-transferase Mu modulates the stress-activated signals by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1 // J. Biol. Chem.–2001.–**276**, N 16.–P. 12749–12755.
16. Chen J., Fujii K., Zhang L., Roberts T., Fu H. Raf-1 promotes cell survival by antagonizing apoptosis signal-regulating kinase 1 through a MEK-ERK independent mechanism // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–2001.–**98**, N 14.–P. 7783–7788.
17. Zou X., Tsutsui T., Ray D., Blomquist J. F., Ichijo H., Ucker D. S., Kiyokawa H. The cell cycle-regulatory CDC25A phosphatase inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1 // Mol. and Cell. Biol.–2001.–**21**, N 14.–P. 4818–4828.
18. Bishopric N. H., Webster K. A. Preventing apoptosis with thioredoxin. Ask me how // Circ. Res.–2002.–**90**.–P. 1237–1239.
19. Liu Y., Min W. Thioredoxin promotes ASK1 ubiquitination and degradation to inhibit ASK1-mediated apoptosis in a redox activity-independent manner // Circ. Res.–2002.–**90**, N 12.–P. 1259–1266.
20. Yaffe M. B. How do 14-3-3 proteins work? – Gatekeeper phosphorylation and the molecular anvil hypothesis // FEBS Lett.–2002.–**513**, N 1.–P. 53–57.
21. Zhang L., Chen J., Fu H. Suppression of apoptosis signal-regulating kinase 1-induced cell death by 14-3-3 proteins // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–1999.–**96**, N 15.–P. 8511–8515.
22. Rommel C., Clarke B. A., Zimmermann S., Nunez L., Rossman R., Reid K., Moelling K., Yancopoulos G. D., Glass D. J. Differentiation stage-specific inhibition of the Raf-MEK-ERK pathway by Akt // Science.–1999.–**286**, N 5445.–P. 1738–1741.
23. Morita K., Saitoh M., Tobiume K., Matsuura H., Enomoto S., Nishitoh H., Ichijo H. Negative feedback regulation of ASK1 by protein phosphatase 5 (PP5) in response to oxidative stress // EMBO J.–2001.–**20**.–P. 6028–6036.

24. Zama T., Aoki R., Kamimoto T., Inoue K., Ikeda Y., Hagiwara M. Scaffold role of a mitogen-activated protein kinase phosphatase, SKRP1, for the JNK signaling pathway // *J. Biol. Chem.*—2002.—**277**, N 26.—P. 23919–23926.
25. Hatai T., Matsuzawa A., Inoshita S., Mochida Y., Kuroda T., Sakamaki K., Kuida K., Yonehara S., Ichijo H., Takeda K. Execution of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-induced apoptosis by the mitochondria-dependent caspase activation // *J. Biol. Chem.*—2000.—**275**, N 34.—P. 26576–26581.
26. Martindale J. L., Holbrook N. J. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival // *J. Cell Physiol.*—2002.—**192**, N 1.—P. 1–15.
27. Matsukawa J., Matsuzawa A., Takeda K., Ichijo H. The ASK1-MAP kinase cascades in mammalian stress response // *J. Biochem.*—2004.—**136**, N 3.—P. 261–265.
28. Goldman E. H., Chen L., Fu H. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 by reactive oxygen species through dephosphorylation at serine 967 and 14-3-3 dissociation // *J. Biol. Chem.*—2004.—**279**, N 11.—P. 10442–10449.
29. Zhang W., Zheng S., Storz P., Min W. Protein kinase D specifically mediates apoptosis signal-regulating kinase 1-JNK signaling induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> but not tumor necrosis factor // *J. Biol. Chem.*—2005.—**280**, N 19.—P. 19036–19044.
30. Song J. J., Lee Y. J. Dissociation of Akt1 from its negative regulator JIP1 is mediated through the ASK1-MEK-JNK signal transduction pathway during metabolic oxidative stress: a negative feedback loop // *J. Cell Biol.*—2005.—**170**, N 1.—P. 61–72.
31. Li X., Zhang R., Luo D., Park S. J., Wang Q., Kim Y., Min W. Tumor necrosis factor-induced desumoylation and cytoplasmic translocation of homeodomain-interacting protein kinase 1 are critical for apoptosis signal-regulating kinase 1-JNK/p38 activation // *J. Biol. Chem.*—2005.—**280**, N 15.—P. 15061–15070.
32. Ko Y. G., Kim E. K., Kim T., Park H., Park H. S., Choi E. J., Kim S. Glutamine-dependent antiapoptotic interaction of human glutaminyl-tRNA synthetase with apoptosis signal-regulating kinase 1 // *J. Biol. Chem.*—2001.—**276**, N 8.—P. 6030–6036.
33. Madge L. A., Pober J. S. TNF signaling in vascular endothelial cells // *Exp. Mol. Pathol.*—2001.—**70**, N 3.—P. 317–325.
34. Jiang Y., Woronicz J. D., Liu W., Goeddel D. V. Prevention of constitutive TNF receptor 1 signaling by silencer of death domains // *Science.*—1999.—**283**, N 5401.—P. 543–546.
35. Tobiume K., Saitoh M., Ichijo H. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 by the stress-induced activating phosphorylation of preformed oligomer // *J. Cell Physiol.*—2002.—**191**, N 1.—P. 95–104.
36. Zhang H., Zhang R., Luo Y., D'Alessio A., Pober J. S., Min W. AIP1/DAB2IP, a novel member of the Ras-GAP family, transduces TRAF2-induced ASK1-JNK activation // *J. Biol. Chem.*—2004.—**279**, N 43.—P. 44955–44965.
37. Lim P. L. K., Liu J., Go M. L., Boelsterli U. A. The mitochondrial superoxide/thioredoxin-2/ASK1 signaling pathway is critically involved in troglitazone-induced cell injury to human hepatocytes // *Toxicol. Sci.*—2008.—**101**, N 2.—P. 341–349.
38. He Y., Zhang W., Zhang R., Zhang H., Min W. SOCS1 inhibits tumor necrosis factor-induced activation of ASK1-JNK inflammatory signaling by mediating ASK1 degradation // *J. Biol. Chem.*—2006.—**281**, N 9.—P. 5559–5566.
39. Kondo S., Saito A., Hino S., Murakami T., Ogata M., Kanemoto S., Nara S., Yamashita A., Yoshinaga K., Hara H., Imaizumi K. BBF2H7, a novel transmembrane bZIP transcription factor, is a new type of endoplasmic reticulum stress transducer // *Mol. Cell Biol.*—2007.—**27**, N 5.—P. 1716–1729.
40. Sekine Y., Takeda K., Ichijo H. The ASK1-MAP kinase signaling in ER stress and neurodegenerative diseases // *Curr. Mol. Med.*—2006.—**6**, N 1.—P. 87–97.
41. Nishitoh H., Matsuzawa A., Tobiume K., Saegusa K., Takeda K., Inoue K., Hori S., Kakizuka A., Ichijo H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats // *Res. Paper.*—2002.—**16**, N11.—P. 1345–1355.
42. Takeda K., Hatai T., Hamazaki T. S., Nishitoh H., Saitoh M., Ichijo H. Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) induces neuronal differentiation and survival of PC12 cells // *J. Biol. Chem.*—2000.—**275**, N 13.—P. 9805–9813.
43. Takeda K., Matsuzawa A., Nishitoh H., Tobiume K., Kishida S., Ninomiya-Tsuji J., Matsumoto K., Ichijo H. Involvement of ASK1 in Ca<sup>2+</sup>-induced p38 MAP kinase activation // *EMBO Rep.*—2004.—**5**, N 2.—P. 161–166.
44. Faigle R., Brederlau A., Elmi M., Arvidsson Y., Hamazaki T. S., Uramoto H., Funa K. ASK1 inhibits astroglial development via p38 mitogen-activated protein kinase and promotes neuronal differentiation in adult hippocampus-derived progenitor cells // *Mol. and Cell. Biol.*—2004.—**24**, N 1.—P. 280–293.
45. Kang J., Lemaire H. G., Unterbeck A., Salbaum J. M., Masters C. L., Grzeschik K. H., Multhaup G., Beyreuther K., Muller-Hill B. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor // *Nature.*—1987.—**325**, N 6106.—P. 733–736.
46. Heber S., Herms J., Gajic V., Hainfellner J., Aguzzi A., Rulicke T., von Kretyschmar H., von Koch C., Sisodia S., Tremml P., Lipp H. P., Wolfner D. P., Muller U. Mice with combined gene knock-outs reveal essential and partially redundant functions of amyloid precursor protein family members // *J. Neurosci.*—2000.—**20**, N 21.—P. 7951–7963.
47. Scheinfeld M. H., Roncarati R., Vito P., Lopez P. A., Abdallah M., D'Adamio I. Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase (JNK) interacting protein 1 (JIP1) binds the cytoplasmic domain of the Alzheimer's beta-amyloid precursor protein (APP) // *J. Biol. Chem.*—2002.—**277**, N 5.—P. 3767–3775.
48. Akterin S., Cowburn R. F., Miranda-Vizuete A., Jimenez A., Bogdanovic N., Winblad B., Cedazo-Minguez A. Involvement of glutaredoxin-1 and thioredoxin-1 in beta-amyloid toxicity and Alzheimer's disease // *Cell Death Differ.*—2006.—**13**, N 9.—P. 1454–1465.
49. Cataldi A., Rapino C., Bianchi G., Centurione L., Zingariello M., Di Giulio C., Antonucci A. Balance between hypertrophic and hypoxic stimulus in caspase-3 activation during rat heart development // *J. Mol. Histo.*—2005.—**36**, N 3.—P. 217–224.
50. Kashiwase K., Higuchi Y., Hirotsani S., Yamaguchi O., Hikoso S., Takeda T., Watanabe T., Taniike M., Nakai A., Tsujimoto I., Matsumura Y., Ueno H., Nishida K., Hori M., Otsu K. CAMK2 activates ASK1 and NF-kappaB to induce cardiomyocyte hypertrophy // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—2005.—**327**, N 1.—P. 136–142.
51. Higuchi Y., Otsu K., Nishida K., Hirotsani S., Nakayama H., Yamaguchi O., Hikoso S., Kashiwase K., Takeda T., Watanabe T., Mano T., Matsumura Y., Ueno H., Hori M. The small GTP-binding protein Rac1 induces cardiac myocyte hypertrophy through the activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 and nuclear factor-kB // *J. Biol. Chem.*—2003.—**278**, N 23.—P. 20770–20777.

52. Taniike M., Yamaguchi O., Tsujimoto I., Hikoso S., Takeda T., Nakai A., Omiya S., Mizote I., Nakano Y., Higuchi Y., Matsumura Y., Nishida K., Ichijo H., Hori M., Otsu K. Apoptosis signal-regulating kinase 1/p38 signaling pathway negatively regulates physiological hypertrophy // *Circulation*.—2008.—**117**, N 4.—P. 545–552.
53. Watanabe T., Otsu K., Takeda T., Yamaguchi O., Hikoso S., Kashiwase K., Higuchi Y., Taniike M., Nakai A., Matsumura Y., Nishida K., Ichijo H., Hori M. Apoptosis signal-regulating kinase 1 is involved not only in apoptosis but also in non-apoptotic cardiomyocyte death // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—2005.—**333**, N 2.—P. 562–567.
54. Yokoi T., Fukuo K., Yasuda O., Hotta M., Miyazaki J., Take-mura Y., Kawamoto H., Ichijo H., Ogi-hara T. Apoptosis signal-regulating kinase 1 mediates cellular senescence induced by high glucose in endothelial cells // *Diabetes*.—2006.—**55**, N 5.—P. 1197–1204.
55. Imoto K., Kukidome D., Nishikawa T., Matsuhisa T., Sonoda K., Fujisawa K., Yano M., Motoshima H., Taguchi T., Tsuruzoe K., Matsumura T., Ichijo H., Araki E. Impact of mitochondrial reactive oxygen species and apoptosis signal-regulating kinase 1 on insulin signaling // *Diabetes Res. Clin. Pract.*—2007.—**77**.—P. 161–164.
56. Hao W., Takano T., Guillemette J., Papillon J., Ren G., Cybulsky A. V. Induction of apoptosis by the Ste20-like kinase SLK, a germinal center kinase that activates apoptosis signal-regulating kinase and p38 // *J. Biol. Chem.*—2006.—**281**, N 6.—P. 3075–3084.
57. Song J. J., Lee Y. J. Role of the ASK1-SEK1-JNK1-HIPK1 signal in Daxx trafficking and ASK1 oligomerization // *J. Biol. Chem.*—2003.—**278**, N 47.—P. 47245–47252.

УДК 577.151.6

Надійшла до редакції 15.05.08