

## ОБЗОРЫ

---

УДК 615.357.631:577.611

©А.А. Фильченков

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

*А.А. Фильченков*

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, 03022 Киев, ул. Васильковская, 45;  
факс: (380 44) 258-1656; эл.почта: apoclub@mail.ru

Известно о существовании, по крайней мере, двух типов гибели клеток: физиологической (апоптоз) и патологической (некроз). Нарушения апоптоза имеют прямое или косвенное отношение к патогенезу широкого круга заболеваний, что дает ключ к разработке новых терапевтических подходов. В обзоре проанализированы текущее состояние и перспективы терапевтического использования моноклональных антител, биологически активных белков, пептидных фрагментов и соединений небелковой природы, а также препаратов генонаправленного действия, которые способны модулировать апоптоз. Кроме того, обсуждается целесообразность применения апоптомодуляторов с целью повышения эффективности традиционных методов лечения.

**Ключевые слова:** апоптоз, фармакологическая модуляция, моноклональные антитела, цитокины, ингибиторы каспаз, генная терапия, вирусные векторы, антисмысловые олигонуклеотиды, клеточная терапия.

**ВВЕДЕНИЕ.** В многоклеточном организме гомеостаз клеток поддерживается балансом между их пролиферацией, дифференцировкой и элиминацией. Апоптоз является физиологическим механизмом устранения избыточных и/или функционально аномальных клеток, который необходим как для нормального развития многоклеточного организма в эмбриональном периоде, так и для поддержания тканевого гомеостаза у взрослых особей. Главное биологическое значение апоптоза заключается в регуляции количественного и качественного состава клеточных популяций в организме. На молекулярном уровне процесс апоптотической гибели представляет собой сложный каскад реакций, связанных с экспрессией генов и белков, ассоциированных с апоптозом, участием протеинкиназ, протеиназ и эндонуклеаз; конечным результатом этого процесса является нарушение целостной структуры клетки с образованием апоптотических телец [1].

Многочисленные экспериментальные и клинические наблюдения последних лет свидетельствуют о том, что апоптоз, который происходит "со сбоями", в несоответствующий период времени и/или в несоответствующей ткани организма, может способствовать развитию различных патологических состояний. Последние достижения в раскрытии молекулярных механизмов апоптоза стимулировали

## АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

масштабные поиски новых терапевтических препаратов природного и синтетического происхождения, способных направленно регулировать этот процесс. Основными мишенями действия таких препаратов служат гены, обеспечивающие функционирование различных звеньев апоптоза, или продукты этих генов. Направленная модуляция апоптоза действительно открывает новые возможности в лечении многих широко распространенных заболеваний, что объясняет все возрастающее внимание специалистов практически всех областей медицины к фармакологическим модуляторам апоптоза (апоптомодуляторам).

В настоящее время этот интерес настолько вырос, что возникла необходимость во введении специального термина, который мог бы использоваться для определения нового терапевтического направления. Мы полагаем, что лучше всего для этого подходит словосочетание "апоптотерапия". Этим термином мы предлагаем обозначить *метод консервативного лечения больных лекарственными средствами, действие которых направлено, главным образом, на активацию либо ингибирование процессов физиологической гибели клеток*. Хотя понятие "апоптотерапия" условно, его введение позволит выделить из существующего арсенала химио- и биотерапевтических средств именно те препараты, которые прямо или опосредованно модулируют апоптоз. Это даст возможность более целенаправленно изучать механизмы и условия их действия, а также разрабатывать рациональные схемы применения данных препаратов, в том числе в рамках проведения комбинированной терапии.

Препараты, модулирующие апоптоз, представлены широким спектром соединений. Апоптомодуляторы различаются по происхождению (природные, синтезируемые или полученные биотехнологическим способом), биохимическому действию, фармакологическим свойствам и терапевтическому эффекту. Для более удобной характеристики мы разделили все известные апоптомодуляторы на четыре группы (А, Б, В и Г), исходя из способа и направленности их воздействия на клетки-мишени (рис. 1). В рамках журнального обзора трудно описать все существующие подходы апоптотерапии, поэтому мы остановимся лишь на наиболее перспективных, на наш взгляд, разработках, получивших серьезное научное обоснование. Хотя настоящая статья посвящена анализу препаратов, способных направленно стимулировать или ингибировать апоптоз, мы считали необходимым осветить некоторые теоретические вопросы, касающиеся механизмов внутриклеточной регуляции апоптоза.

### 1. Молекулярные механизмы апоптоза.

Известно, что апоптоз может инициироваться под действием как внутри-, так и внеклеточных факторов. Инициация механизмов апоптоза происходит в результате связывания определенных лигандов ("лиганды смерти", глюкокортикоиды и др.) со своими специфическими рецепторами, либо когда вследствие дефицита экзогенных лигандов (факторы выживания клеток, компоненты внеклеточного матрикса и др.) не происходит активации рецепторов, ответственных за передачу антиапоптотических сигналов. Наиболее изученным механизмом рецептор-опосредованной инициации апоптоза является связывание "лигандов смерти" семейства фактора некроза опухоли (TNF) с рецепторами плазматической мембраны.

К семейству рецепторов TNF относится Fas-рецептор. В цитоплазматическом участке его молекулы содержится домен, имеющий существенное значение для передачи проапоптотического сигнала и потому получивший название "домен смерти" (DD, death domain) [2]. Индукция Fas-зависимого апоптоза происходит путем кластеризации рецепторов Fas после специфического связывания тримеров лиганда Fas (FasL) или моноклональными антителами против Fas [3]. Активация тримеров рецептора Fas обуславливает образование особого белкового комплекса DISC (death-inducing signaling complex), инициирующего развитие апоптоза [4]. С помощью двугибридной дрожжевой системы был выявлен адаптерный белок FADD (Fas-associated protein with death domain), связывающийся с цитоплазматическим



Рисунок 1.

Группы апотомодуляторов, находящихся в стадии предклинических и клинических испытаний, а также выведенных на фармакологический рынок. В скобках указаны обозначения групп. Знак ? указывает на возможность разработки препарата этого класса.

доменом Fas, благодаря наличию в его структуре DD-участков [4]. FADD содержит также эффекторный домен смерти (DED, death effector domain), который отвечает за дальнейшую передачу проапоптотического сигнала. У мышей с "нокаутированным" (т. е. лишенным обеих аллелей) геном *FADD* развивается резистентность к Fas-зависимому апоптозу активированных Т-лимфоцитов [5].

При изучении механизма дальнейшей передачи сигнала от адаптера FADD был выявлен белок, первоначально названный FLICE (FADD-like IL-1β-converting enzyme), а ныне называемый каспаза-8 [6]. Каспазы представлены семейством цистеиновых протеаз, содержащих консервативные последовательности участков связывания и катализа субстрата, и расщепляющие свои субстраты после остатка аспарагиновой кислоты. Уже охарактеризовано четырнадцать каспаз, нумерация которых соответствует хронологическому порядку их открытия. Во время апоптоза белки-предшественники каспаз активируются путем протеолиза или образования олигомерных комплексов. Согласно выполняемым функциям, выделяют две группы каспаз: инициаторы и эффекторы. Первые (каспазы-2, -8, -9, -10, и, возможно, -11) активируют вторые (каспазы-3, -6, -7 и -14), которые, в свою очередь, гидролизуют внутриклеточные субстраты. Инициаторные каспазы также могут выступать в роли эффекторных каспаз, что, по-видимому, необходимо для усиления проапоптотических сигналов в иницированной к гибели клетке. В активации каспаз принимают также участие другие протеазы, в том числе катепсины, калпаины и гранзимы [7].

Эндогенные ингибиторы каспаз семейства IAP (cIAP1, cIAP2, сурвивин), и белок FLIP (FLICE-inhibitory protein) способны подавлять Fas-зависимый апоптоз как *in vitro*, так и *in vivo* [8-10]. Белок XIAP, который наиболее эффективно (среди других IAP-белков) ингибирует апоптоз, связывается с эффекторными каспазами-

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

3 и -7, а также с инициаторной каспазой-9 [11]. Другой эндогенный ингибитор каспаз, белок FLIP, с высокой аффинностью связывается с белковым комплексом DISC, что блокирует активацию каспазы-8 (и, возможно, каспазы-10), а также передачу проапоптического сигнала от "рецепторов смерти" семейства TNF [12].

Как известно, в отдельных случаях апоптоз может инициироваться вследствие отсутствия факторов, ответственных за поддержание жизнеспособности клеток. Рассмотрим звенья внутриклеточной передачи антиапоптического сигнала на примере действия нейротрофных факторов, связывание которых со своими специфическими рецепторами (например, фактор роста нервов (NGF) с TrkA) вызывает аутофосфорилирование по тирозиновым остаткам в их цитоплазматических доменах (рецепторы TrkA, TrkB и TrkC обладают тирозинкиназной активностью) [13]. Дальнейшая передача регуляторных сигналов, обеспечивающих выживание клеток, включает последовательную активацию фосфатидилинозитол-3'-киназы, фосфатидилинозитол-зависимой киназы PDK и протеинкиназы В (Akt), которая, взаимодействуя (прямо или опосредованно) с факторами транскрипции CREB и NF-κB, регулирует транскрипцию генов, ответственных за поддержание жизнеспособности клеток. Вместе с тем, фосфорилирование Akt-киназой белка Bad, каспазы-9 и фактора Forkhead, контролирующего транскрипцию FasL, приводит к подавлению активности этих проапоптических белков. Кроме того, при связывании лигандов с Trk-рецепторами происходит (при участии адаптерного белка Shc) активация киназного каскада Ras-Raf-MAPK (mitogen-activated protein kinase), что, в свою очередь, вызывает активацию рибосомальной S6-киназы, фосфорилирующей проапоптический белок Bax (цит. по [14]).

Дефицит нейротрофных факторов (неактивное состояние их рецепторов), вызывает активацию N-концевой киназы c-Jun (JNK) и последующее фосфорилирование белка c-Jun, который, в свою очередь, индуцирует экспрессию гена *DP5/Hrk* (кодирует молекулу, относящуюся к группе белков семейства Bcl-2 с коротким ВНЗ-участком). Белок DP5 необходим для перехода белка Bax из цитоплазмы в митохондрии, что вызывает выход в цитоплазму цитохрома с и последующую гибель клетки путем апоптоза [15].

Апоптоз может также инициироваться рецептор-независимым образом при повреждении отдельных клеточных органелл. Генотоксические эффекты ряда ДНК-повреждающих агентов реализуются за счет непосредственного воздействия на ядро клетки. Центральным звеном в клеточных механизмах, активирующихся в ответ на повреждение ДНК, является фактор транскрипции p53. Ядерный белок p53, кодируемый одноименным геном-супрессором опухолевого роста, регулирует многие клеточные функции, включая митотический цикл, репарацию поврежденной ДНК, дифференцировку клеток и их гибель путем апоптоза [16]. Белок p53 постоянно синтезируется клетками, но очень быстро расщепляется (период его полураспада составляет около 20 мин), поэтому концентрация p53 в большинстве нормальных клеток и тканей очень низка. Когда в клетке под действием проникающей радиации, ультрафиолетового облучения или отдельных химиопрепаратов происходит повреждение ДНК, содержание белка p53 резко повышается вследствие его стабилизации. Негативным регулятором экспрессии p53 является белок Mdm2 (murine double minute 2), который подавляет транскрипционную активность p53, а также индуцирует его протеолитическое расщепление убиквитиновым комплексом [17].

Активация p53 способствует подавлению процессов, связанных с делением клеток. Такое действие белка p53 реализуется с помощью трех основных механизмов, функционирующих независимо друг от друга или в комбинации: 1) при незначительном повреждении структуры ДНК активированный p53 индуцирует транскрипцию генов *WAF1*, *GADD45* и *14-3-3σ*, белковые продукты которых участвуют в остановке клеточного цикла [18]; такая "передышка" позволяет клетке репарировать поврежденную ДНК; 2) в случае значительных

повреждений ДНК белок p53 активирует экспрессию проапоптотических генов, в том числе *bax*, *Fas*, *DR5*, *PIG1-14* (p53-induced genes), *IGF-BP3* (IGF-binding protein 3), *p85* и *PAG608* (цит. по [18]); кроме активации отдельных генов белок p53 способен подавлять экспрессию антиапоптотических генов (например, выявлено p53-зависимое снижение экспрессии генов *bcl-2* и рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGF-I) [19, 20]); 3) опыты по p53-зависимой индукции апоптоза в присутствии ингибиторов синтеза РНК и белков свидетельствуют о существовании механизмов инициации белком p53 апоптоза, которые не связаны с его транскрипционной активностью [21, 22].

Известно, что в клетках эукариотических организмов каждая хромосома имеет на своих окончаниях особый ДНК-белковый комплекс, называемый теломерой. Биологическую роль теломеры связывают с обеспечением целостности хромосом и процессов их репликации, а также с регуляцией продолжительности жизни клеток [23]. Теломерный комплекс представлен повторами двуцепочечных участков ДНК, содержащих нуклеотидные повторы (TTAGGG/CCCTAA)<sub>n</sub>, и 3'-концевой участок одноцепочечной ДНК с последовательностью нуклеотидов (TTAGGG)<sub>n</sub>. Поскольку при делении клеток ДНК-полимераза не обеспечивает репликацию концевых нуклеотидов в цепочке ДНК, то с каждым последующим делением длина хромосомы укорачивается примерно на 150 пар оснований нуклеотидной последовательности 5'-конца молекулы ДНК. Достигая определенной критической длины, теломера перестает выполнять свои защитные функции, что приводит к активации белка p53, остановке клеточного цикла и апоптозу [24]. Восстановление длины теломерного участка ДНК обеспечивает РНК-зависимая ДНК-полимераза, которую чаще называют теломеразой. В подавляющем большинстве клеток нормальных тканей теломераза неактивна (исключение составляют стволовые клетки и клетки репродуктивных органов). Ее антиапоптотическое действие состоит в препятствовании естественному "изнашиванию" хромосомной ДНК, и постоянная активация этого фермента может вызывать иммортализацию (бессмертие) клеток [25]. Факт длительного выживания клеток, экспрессирующих теломеразу (> 200 делений *in vitro*), без формирования злокачественного фенотипа [26, 27] не подтверждает существовавшее мнение об участии этого фермента в злокачественной трансформации клеток.

Другой (после ядра) важной органеллой клетки, непосредственно участвующей в индукции апоптоза, является митохондрия. Различают индукторы апоптоза, непосредственно воздействующие на митохондрии, и такие, действие которых на проницаемость мембран митохондрий опосредовано активацией в клетке других проапоптотических механизмов. При индукции апоптоза активными соединениями кислорода, окисью азота, ганглиозидом GD3, токсинами или отдельными химиотерапевтическими препаратами отмечается резкое снижение величины электрохимического потенциала митохондриальной мембраны ( $\Delta\psi_m$ ), которое сопровождается выходом из митохондрии в цитоплазму важного компонента дыхательной цепи митохондрий - цитохрома c [28]. Действие белков семейства Bcl-2 также связано с их способностью повышать проницаемость такой мембраны [29], и вызывать выход в цитоплазму различных проапоптотических медиаторов (активирующий каспазу-9 цитохром c, прокаспазы-2, -3, -9, апоптозиндуцирующий фактор AIF, эндонуклеаза G и др.).

Согласно последним данным, семейство Bcl-2-подобных белков включает более 20 членов, которых разделяют на три группы в зависимости от сходства структуры и функциональной активности [29, 30]. Если белки I группы (например, Bcl-2, Bcl-xL или Bcl-w) проявляют выраженную антиапоптотическую активность, то белки II (*Bax*, *Bak* и др.) и III (*Bid*, *Bim* или *Bik*) групп, наоборот, действуют в качестве промоторов апоптоза. Белки семейства Bcl-2 могут образовывать гомодимеры, а также, что очень важно, гетеродимеры, состоящие из белков с разнонаправленным (про- и антиапоптотическим) действием. При этом каждый из

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

них способен подавлять функцию другого. В результате соотношение Bcl-2-подобных ингибиторов и промоторов апоптоза определяет резистентность или предрасположенность клетки к развитию этого процесса [31].

Большая часть Bcl-2-подобных белков имеют трансмембранный домен, позволяющий им находится в составе внутриклеточных мембран, преимущественно во внешней мембране митохондрий. Показано, что рекомбинантные Bcl-xL, Bcl-2, Bax или Bid способны образовывать в искусственных мембранах ионные каналы с различными свойствами [32]. Можно предположить, что указанные белки участвуют в формировании каналоподобных мембранных структур, через которые проапоптотические факторы покидают пределы митохондрий.

Bcl-2-подобные белки также регулируют переход апоптогенных факторов из митохондрий в цитоплазму, воздействуя на уже имеющиеся мембранные поры. Показано, что в результате взаимодействия белка Bax с потенциал-зависимыми анионными каналами (VDAC) происходит выход из выделенных митохондрий проапоптотических медиаторов [33]. В присутствии АТР, цитохрома *c* и адаптерного белка Araf-1 (apoptotic protease-activating factor 1) активируется каспаза-9, что инициирует последующий каскад реакций с участием каспазы-3, -6 и -7 [34]. При этом антиапоптотический белок Bcl-2 способен закрывать VDAC и ингибировать апоптоз [35]. Интересно, что белок Bcl-2 подавляет также каспазозависимый апоптоз [36], что указывает на универсальность его антиапоптотического действия.

Помимо высвобождения из митохондрий апоптогенных молекул, при апоптозе в цитоплазму также поступают образовавшиеся в митохондриях активные соединения кислорода и свободные радикалы [37]. Их накопление приводит к нарушению биоэнергетического статуса клетки, которые не совместимы с ее нормальной жизнедеятельностью.

В работе [38] описаны случаи выявления митохондрий в ядрах кардиомиоцитов у больных гипертрофической и алкогольной кардиомиопатией. Механизмы, ответственные за перемещение митохондрий к клеточному ядру, а затем и в ядро, в настоящее время абсолютно не известны. По-видимому, попадание митохондрий в ядро способствует доставке туда каспазозависимых активаторов апоптоза (AIF, эндонуклеаза G и др.), а также переходу в митохондрии ядерных белков (p53, TR3 и др.), вызывающих открытие пор во внутренней митохондриальной мембране. Поскольку митохондрии были обнаружены другими исследователями в ядре лимфоцитов, клеток лимфатических узлов больных лимфомой Ходжкина, лейкоэмических миобластах и кардиомиоцитах больного ревмакардитом (цит. по [38]), трудно судить, насколько этот феномен специфичен для определенного типа клеток либо зависит от характера патологического процесса.

В последнее время стал общепризнанным факт, что инициация проапоптотического сигнала может происходить и в других клеточных органеллах - эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), аппарате Гольджи или лизосомах. Как известно, ЭР участвует в регуляции внутриклеточного уровня ионов  $Ca^{2+}$  (ЭР и митохондрии - основные депо для  $Ca^{2+}$ ) и процессов синтеза белков, их фолдинга и экспорта, а также ответа клетки на стресс. Изменения в гомеостазе  $Ca^{2+}$  и накопление в ЭР белков в развернутом состоянии вызывает ЭР-стресс, продолжительное действие которого приводит к гибели клетки [39, 40]. Установлено, что при повышении внутриклеточного уровня  $Ca^{2+}$  или ЭР-стрессе к поверхности ЭР перемещаются кальпаин или каспаза-7, которые расщепляют предшественник каспазы-12 [41, 42]. Последующие активация каспаз-9, -3 и апоптоз зависят от выхода активированной каспазы-12 из ЭР в цитоплазму [41, 43]. Кроме того, в ЭР экспрессируется Bcl-2-подобный белок Bax, который способствует выходу из ЭР ионов  $Ca^{2+}$  [44]. Как показали Nutt с соавт. [45], Bax-опосредуемый переход  $Ca^{2+}$  из ЭР в митохондрии служит важным сигналом для выхода цитохрома *c* в цитозоль и последующей гибели клеток линии PC-3.

Известно, что для каспазы-2 характерна локализация в ядре и аппарате Гольджи. В последнем случае проапоптотическое действие этой протеазы связано со

специфическим расщеплением белка гольджин-160 [46]. При этом блокирование активности каспазы-2 приводит к ингибированию дезинтеграции аппарата Гольджи после инициации апоптоза. Кроме того, аппарат Гольджи является основным местом синтеза ганглиозида GD3 [47]. В условиях индукции физиологической гибели клеток GD3 переходит в митохондрии, где вызывает открытие мембранных пор, формируемых комплексом РТРС (permeability transition pore complex), и выход апоптогенных факторов в цитоплазму [48].

Образующиеся в ЭР и аппарате Гольджи лизосомы содержат в высоких концентрациях гидролитические ферменты, расщепляющие поглощенный клеткой материал и собственные внутренние структуры клетки (аутолизис). При действии индукторов апоптоза лизосомные ферменты, в частности, протеазы семейства катепсинов, могут поступать в цитозоль, что в дальнейшем вызывает выход из митохондрий цитохрома *c* [49]. Пока не известно, выходят ли катепсины из лизосом контролируемым образом (через специфические поры) либо вследствие разрыва лизосомальных мембран. Показано, что в нейроноподобных клетках линии PC12, культивируемых в условиях дефицита сыворотки крови, содержание катепсина D резко возрастает [50]. Клетки этой же линии, гиперэкспрессирующие катепсин D, при недостаточном содержании сыворотки крови в среде культивирования погибают быстрее, чем интактные клетки. Опыты по микроинъекции катепсина D в цитоплазму фибробластов человека подтвердили значение этой протеазы в инициации перераспределения в клетке цитохрома *c*, активации каспаз, уплотнения хроматина и пикноза ядра [51]. Поскольку развитие всех описанных структурных и биохимических изменений не происходило в клетках, предварительно обработанных пепстатином А (ингибитор катепсина D) или ингибитором каспазы-3, можно сделать вывод о каспазозависимой индукции апоптоза цитоплазматическим катепсином D.

## 2. Использование апоптомодуляторов в монотерапии.

Хотя первые моноклональные антитела (МКАТ) были получены более четверти века тому назад, их клиническое использование в качестве терапевтических препаратов началось сравнительно недавно. Это связано с высокой иммуногенностью МКАТ, особенностями их фармакокинетики и частым развитием побочных эффектов. Разработка конъюгатов МКАТ с радиоактивными изотопами, токсинами или химиопрепаратами значительно расширила возможности их терапевтического применения. Более того, получение методами генной инженерии химерных вариантов МКАТ [52], антител, оптимизированных для применения у человека (humanized MAbs) [53], а также высокоаффинных фрагментов МКАТ [54] позволило значительно снизить иммуногенность этих препаратов, что открывает новые перспективы их использования для лечения больных.

Как известно, МКАТ против "рецептора смерти" Fas индуцируют Fas-зависимый апоптоз Т-лимфоцитов и опухолевых клеток, что предполагает их терапевтический потенциал при аутоиммунных и онкологических заболеваниях [55]. Однако их использование в клинике ограничено из-за токсического действия: после введения мышам таких МКАТ животные быстро погибают от печеночной недостаточности с симптомами, подобными острому гепатиту у человека. Недавно были получены МКАТ HFE7A, которые не только не вызывают летальных изменений в ткани печени у мышей, но даже защищают животных от развития высоко агрессивного гепатита, вызванного другими анти-Fas МКАТ [56]. Препарат HFE7A способен снижать содержание CD4-CD8-Т-лимфоцитов, блокировать развитие лимфаденопатии у мышей и, кроме того, индуцировать апоптоз синовиальных клеток, полученных от больных ревматоидным артритом [56]. Это открывает широкие возможности в использовании этих МКАТ при лечении ряда аутоиммунных заболеваний, а также острого гепатита.

К апоптомодуляторам группы А можно также отнести препарат vitaxin, который представляет собой МКАТ против  $\alpha\upsilon\beta\zeta$ -интегрина, оптимизированные для применения у человека. Известно, что белки внеклеточного матрикса,

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

взаимодействуя с интегринами, проявляют свойства факторов выживания опухолевых клеток [57]. Блокирование интегринов с помощью антител приводит к развитию особой формы апоптоза, называемой аноикозом [58]. При этом индукция апоптоза во вновь образующихся эндотелиальных клетках должна препятствовать васкуляризации ткани опухоли. Есть основания полагать, что лечебный эффект МКАТ против  $\alpha\upsilon\beta_3$ -интегрина связан именно с блокадой ангиогенеза. Завершена первая фаза клинических испытаний этих МКАТ у больных с IV стадией рака молочной железы, легкого или толстого кишечника [59]. Из 14 больных у одного наблюдалось частичное улучшение состояния, а у семи - стабилизация течения заболевания. Трое больных получали препарат МКАТ после цикла химиотерапии, и у каждого из них была отмечена ремиссия, продолжительность которой в одном случае равнялась 22 месяцам [59].

Препараты МКАТ против FasL препятствуют взаимодействию этого цитокина со специфическим рецептором. В доклинических испытаниях таких МКАТ была продемонстрирована их способность предупреждать развитие аутоиммунных поражений почек у животных [60]. Показано, что при аутоиммунном энцефаломиелите у мышей (модель рассеянного склероза человека) интратомбальное введение МКАТ против FasL во время острой фазы заболевания приводит к его купированию и блокированию деструкции тканей центральной нервной системы [61]. МКАТ против рецептора Fas также оказались эффективными при лечении больных с токсическим некролизом кожи и в случаях острой фазы реакции "трансплантат против хозяина" после пересадки кожи [62].

Наиболее перспективными препаратами МКАТ группы В представляются Rituxan® и Herceptin®, уже поступившие на фармацевтический рынок США и стран Европы. Препарат Rituxan® (rituximab) представляет собой химерные (гибрид "человек-мышь") МКАТ против В-клеточного антигена CD20 и при монотерапии вызывает ремиссию в среднем у 70% больных с вялотекущими формами В-клеточных неходжкинских лимфом, причем общий объективный положительный ответ отмечен у более 50% больных, нечувствительных к ранее проводимой терапии [63]. Хотя Hofmeister и соавт. [64] недавно показали, что при действии *in vitro* на лимфоидные клетки препарат Rituxan® вызывает активацию каспазы-3 и последующую их гибель в результате апоптоза, механизм противоопухолевого действия этих МКАТ *in vivo* может оказаться более сложным.

Препарат Herceptin® (trastuzumab) был первым из МКАТ, предложенных для использования в терапии солидных опухолей. Herceptin® представляет собой мышиные МКАТ против белка HER-2, оптимизированные для применения у человека. Основное действие препарата связано с блокированием активности рецепторного белка HER-2 (ErbB2), который не имеет собственного лиганда и активация его киназной активности происходит после образования гетеродимеров с другими представителями семейства рецептора эпидермального фактора роста (EGF-R) - ErbB1, ErbB3 и ErbB4 [65]. Наиболее широкое применение Herceptin® нашел при лечении метастазирующего рака молочной железы (лечение получили более 1000 женщин [66]). Несомненный интерес представляют также данные о применении МКАТ Herceptin® в лечении больных ревматоидным артритом [67].

Несмотря на достигнутые успехи в применении препаратов МКАТ в клинической практике, их терапевтический эффект пока существенно ограничивается иммуногенностью, слабой способностью "находить" белки-мишени (вследствие недоступности последних), а также невозможностью влиять на синтез этих белков. Отмеченные недостатки МКАТ удалось преодолеть с помощью иных подходов, которые будут рассмотрены далее.

Цитокины представляют собой семейство низкомолекулярных белков, осуществляющих эндогенную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий. Одни цитокины способны выступать в роли "лигандов смерти", тогда как функция других сводится к обеспечению выживаемости клеток. В последнее время большой интерес привлекает представитель семейства TNF -



TRAIL/Apo2L, который проявляет избирательное проапоптотическое действие на различные опухолевые клетки, но не вызывает гибели нормальных клеток. Например, показано, что многократные инъекции бестимусным мышам химерного белка LZ-huTRAIL способствуют подавлению роста у них клеток перевивной аденокарциномы молочной железы человека и, в то же время, не оказывают токсического действия на клетки нормальных тканей [68]. Получены многообещающие результаты при испытании проапоптотического действия цитокина TRAIL на клетки рака щитовидной железы [69]. При тестировании *in vivo* препарат TRAIL не вызывает развития воспалительного процесса или цитотоксического эффекта на нормальные ткани.

Методом генной инженерии получен слитный белок IL-2-IgG-Fas-L, состоящий из интерлейкина-2 (IL-2), который распознает Т-лимфоциты и FasL, инициирующего апоптоз этих клеток [70]. Для продления периода полураспада в конструкцию IL-2-IgG-FasL включен Fc-участок иммуноглобулина G1, соединяющий последовательности IL-2 и FasL. На модели гиперчувствительности замедленного типа у мышей показано, что даже в очень низкой концентрации этот химерный белок усиливает апоптоз активированных Т-лимфоцитов в селезенке, что приводит к подавлению иммунных реакций, в том числе на повторное введение антигена через 10 сут после инъекции животным белка IL-2-IgG-FasL [70].

Несколько иной механизм проапоптотического действия свойственен химерному белку TAT-Casp3, который был недавно предложен для лечения больных СПИД [71]. В нем продомен каспазы-3 замещен участком белка Tat вируса иммунодефицита человека (HIV), содержащим участок, чувствительный к расщеплению протеиназой HIV. После поступления в HIV-инфицированные клетки гибридный белок TAT-Casp3 процессируется вирусным ферментом, в результате чего высвобождается активная форма каспазы-3, которая вызывает гибель клеток. В неинфицированных клетках расщепления белка TAT-Casp3 не происходит, и такие клетки не погибают.

Цитокины, биологическое действие которых связано с обеспечением выживаемости клеток, начинают все шире использоваться в клинике. Например, рекомендуется применение эритропоэтина при отдельных формах миелодиспластического синдрома, причем у 20% больных с рефрактерной анемией отмечается стабильное улучшение показателей эритропоэза [72]. При комбинированном использовании эритропоэтина с G-CSF или GM-CSF положительная динамика наблюдается у 50% больных.

Другими перспективными апоптомодуляторами группы Б являются инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и фактор роста из тромбоцитов (PDGF). Gruber и соавт. [73] показали, что в условиях *in vitro* IGF-1 в концентрации 50-500 нг/мл или PDGF в концентрации 100 нг/мл снижают процент апоптотических клеток в образцах ткани, полученных из различных участков межпозвоночных дисков. Предполагается использование указанных антиапоптотических цитокинов для лечения больных с дегенерацией этих дисков.

Цитокины способны также оказывать опосредованное действие на апоптоз (апоптомодуляторы групп В и Г). Например, введение  $\beta$ -интерферона (IFN) в дозе 8 млн МЕ больным с интермиттирующей формой рассеянного склероза приводит к выраженному снижению популяции как CD8<sup>+</sup>, так и CD8-T-лимфоцитов [74]. Как оказалось, такое действие  $\beta$ -IFN связано с его способностью индуцировать на примированных и непримированных Т-клетках экспрессию рецептора Fas, что обуславливает усиление их Fas-зависимой гибели.

Другой цитокин,  $\alpha$ -IFN, инициирует на активированных Т-лимфоцитах больных меланомой экспрессию "лиганда смерти" TRAIL [75], в результате чего при иммунотерапии этих больных происходит индуцированная TRAIL гибель опухолевых клеток. Подкожное введение низкой дозы IL-2 HIV-инфицированным больным без симптомов заболевания, получающим интенсивную антиретровирусную терапию (HAART), способствует снижению количества

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

мононуклеаров периферической крови, погибающих путем апоптоза. При этом, в отличие от больных, которые получали только HAART, применение IL-2 в комбинации с HAART приводило к существенному повышению содержания как примированных, так и непримированных CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов [76]. Приведенные примеры дают представление о том, как используемые для иммунотерапии больных апоптомодуляторы оказывают опосредованное действие на индукцию/ингибирование апоптоза.

Цитокины являются не единственными низкомолекулярными белками, способными модулировать развитие апоптоза. Для индукции апоптоза в злокачественных клетках различного генеза (в том числе, у которых отсутствует белок p53 или отмечена гиперэкспрессия белка Bcl-2) предложено использовать белок вируса анемии кур, получивший название апоптин [77]. Как оказалось, гибель опухолевых клеток под действием апоптина сопровождается активацией каспазы-3, но не связана с активацией инициаторных каспаз [78]. Необходимо отметить высокую избирательность действия апоптина, который не способен индуцировать апоптоз в нормальных клетках эпидермиса, эндотелия, гладкой мускулатуры и лимфоидной ткани.

Другой апоптомодулятор природного происхождения (но относящийся к группе D) - нейросерпин - ингибирует действие активаторов плазминогена tPA и uPA. В результате через 72 ч после инъекции этого белка в мозг крыс непосредственно после ишемического инсульта отмечается существенное уменьшение участков некроза (до 65%) и количества апоптических клеток в зоне гипоксии (до 50%) [79]. Высказывается оптимизм относительно клинического использования нейросерпина в качестве нейропротектора.

Как и в случае нейтрализующих МКАТ и цитокинов, действие пептидных соединений направлено на нарушение белок-белковых взаимодействий, контролирующих гибель клеток. Однако синтез пептидов более экономичен, чем производство МКАТ или рекомбинантных низкомолекулярных белков. Одной из клеточных "мишеней" пептидов, индуцирующих апоптоз, служат рецепторные белки плазматической мембраны. Показано, что циклический пептид АННР с высоким сродством ( $K_d = 300$  нМ) связывается с рецептором HER2 и, подобно описанному выше препарату Нерсертин®, вызывает апоптоз опухолевых клеток, экспрессирующих этот рецептор [80].

Еще одно интересное направление связано с применением пептидов, блокирующих межклеточные контакты. Как оказалось, растворимые формы пептидов фибронектина (RGD, CS-1 и FN-C/H-V) индуцируют апоптоз фибробластов легкого путем блокирования опосредуемой интегрином передачи антиапоптотического регуляторного сигнала [81]. Циклические RGD-подобные пептиды (cRGDfv) также способны оказывать апоптоз-индуцирующее действие на опухолевые клетки, экспрессирующие  $\alpha_v\beta_3$ -интегрин [82]. D. Giulian и соавт. [83] обнаружили, что пептиды, содержащие NHQK-участок  $\beta$ -амилоидного белка, ингибируют связывание последнего с микроглиальными клетками и препятствуют гибели нейронов головного мозга. Обсуждаются возможности использования таких пептидов в лечении болезни Альцгеймера.

Действие других пептидных препаратов направлено на блокирование функциональной активности внутриклеточных белков, доступ к которым обеспечивается за счет малых размеров пептидов. Для модуляции антиапоптотической функции белка Bcl-2 был получен пептидный компонент cpm (cell permeable moiety)-1285 проапоптотического белка Bad, модифицированный присоединением молекулы жирной кислоты [84]. Этот пептидный апоптомодулятор группы А хорошо проникает в клетку, где связывается с белком Bcl-2, что блокирует взаимодействие последнего с другими белками, регулирующими апоптоз. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что пептид cpm-1285 индуцирует апоптоз опухолевых клеток при остром миелоидном лейкозе, оказывая слабо выраженное действие на лимфоциты периферической крови человека.

Пептидные ингибиторы протеиназ представляют собой группу препаратов, имеющих высокий терапевтический потенциал. Наибольшее внимание

ингибиторам каспаз (апоптомодуляторы группы Б) уделяется исследователями, занимающимися проблемой повышения выживаемости клеток нервной ткани и миокарда. Работы в этой области проводятся в нескольких направлениях. Одно из них связано с блокированием гибели донорских нейронов, используемых для трансплантации больным с нейродегенеративными расстройствами. Например, при болезни Паркинсона трансплантация дофаминсинтезирующих нейронов рассматривается в качестве эффективного метода лечения, однако лишь 3-20% пересаженных клеток выживают в этом случае [85]. Как оказалось, ингибиторы каспаз в значительной степени повышают их жизнеспособность. Антиапоптотическое действие этих препаратов значительно усиливается, когда ингибиторы каспаз используют в сочетании с ингибиторами перекисного окисления липидов [86].

Иное направление терапевтического использования ингибиторов каспаз связано с блокированием гибели нейронов при ишемии головного мозга. Показано, что каспазный ингибитор Ac-YVAD.cmk проявляет выраженное нейропротекторное действие при интрацеребро-вентрикулярном введении крысам через 10 мин после окклюзии средней мозговой артерии [87]. При этом обработка животных указанным препаратом уменьшала зону некроза не только через 24 ч, но даже и через 6 сут после индукции ишемии, что свидетельствует о пролонгированном антиапоптотическом действии Ac-YVAD.cmk. Ингибитор каспаз z-VAD.fmk также защищает нейроны гиппокампа от гибели, вызываемой пневмококковой инфекцией при менингите [88].

Различные ингибиторы каспаз (z-VAD.fmk - для всех типов каспаз; z-IETD.fmk - для каспазы-8; z-LEHD.fmk - для каспазы-9 и Ac-YVAD.cmk - для каспазы-3) были исследованы на способность поддерживать выживание кардиомиоцитов при коронарореклюзии у крыс с последующим возобновлением коронарного кровотока [89]. Все анализируемые препараты ограничивали размер инфаркта и сохраняли миокард от летального повреждения в результате реперфузионной травмы. Панкаспазный ингибитор z-VAD.fmk действовал аналогично в отношении повреждений от ишемии/реперфузии тонкого кишечника [90].

По-видимому, ингибиторы каспаз найдут применение при лечении больных с гнойно-септическими процессами. Центральным звеном патогенеза сепсиса является гибель клеток сосудов и жизненно важных органов. Tinsley и соавт. [91] показали, что при сепсисе апоптоз тимоцитов сопровождается активацией каспаз-2, -3, -6 и -9. Поэтому предсказуемыми оказались результаты, подтверждающие антиапоптотическое действие панкаспазного ингибитора z-VAD.fmk, применение которого повышало выживаемость мышей [92].

У больных сахарным диабетом часто возникают осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы. Одним из факторов их развития является апоптоз клеток эндотелия сосудов, вызванный перекисью водорода, образование которой стимулируется высоким содержанием сахара в крови. В экспериментах *in vitro* было показано, что специфический ингибитор каспазы-3 Ac-DEVD.cho блокирует апоптоз эндотелиальных клеток, индуцированный глюкозой даже при ее высокой концентрации [93]. Поэтому использование пептидных препаратов, ингибирующих активность каспаз, может значительно снизить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний у диабетических больных.

Ингибиторы каспаз фирмы Idun (США) блокируют апоптоз клеток печени, вызываемый токсическим действием алкоголя или химиопрепаратов (например, ацетаминофена) [94]. Эффективность таких ингибиторов каспаз, в том числе при их введении *per os*, пока подтверждена только в опытах на экспериментальных животных.

В отличие от низкомолекулярных белковых соединений, препараты небелкового происхождения имеют более длительный период полураспада в организме, а также лучшую проникаемость в клетки. При помощи компьютерного скрининга отобрано органическое соединение HA14-1, способное связываться с белком Bcl-2 и ингибировать его антиапоптотическое действие [95]. На модели

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

клеток острого миелобластного лейкоза человека (линия HL-60), гиперэкспрессирующих белок Bcl-2, показано, что препарат HA14-1 вызывает снижение электрохимического потенциала митохондрий, последовательную активацию каспаз-9 и -3 и в итоге - апоптоз клеток.

Изатинсульфонамиды представляют собой новый класс непептидных ингибиторов каспаз, которые, в отличие от их пептидных аналогов, взаимодействуют с S2-, а не S1-участком протеиназы [96]. Эти препараты избирательно действуют на эффекторные каспазы-3 и -7, ингибируя апоптоз хондроцитов. Обсуждается возможность использования изатинсульфонамидов в клинике для предотвращения развития остеоартрита или его лечения.

В эффекторной фазе апоптоза помимо каспаз (или совместно с ними) участвуют другие протеиназы, в том числе кальпаины, активируемые  $Ca^{2+}$ . Поэтому ведутся разработки, связанные с изучением антиапоптотического действия ингибиторов кальпаинов. Один из них - MDL28170 - представлен на рис. 2. В условиях *in vitro* этот препарат блокирует гибель клеток при окислительном стрессе [97]. В других экспериментах [98] показана эффективность

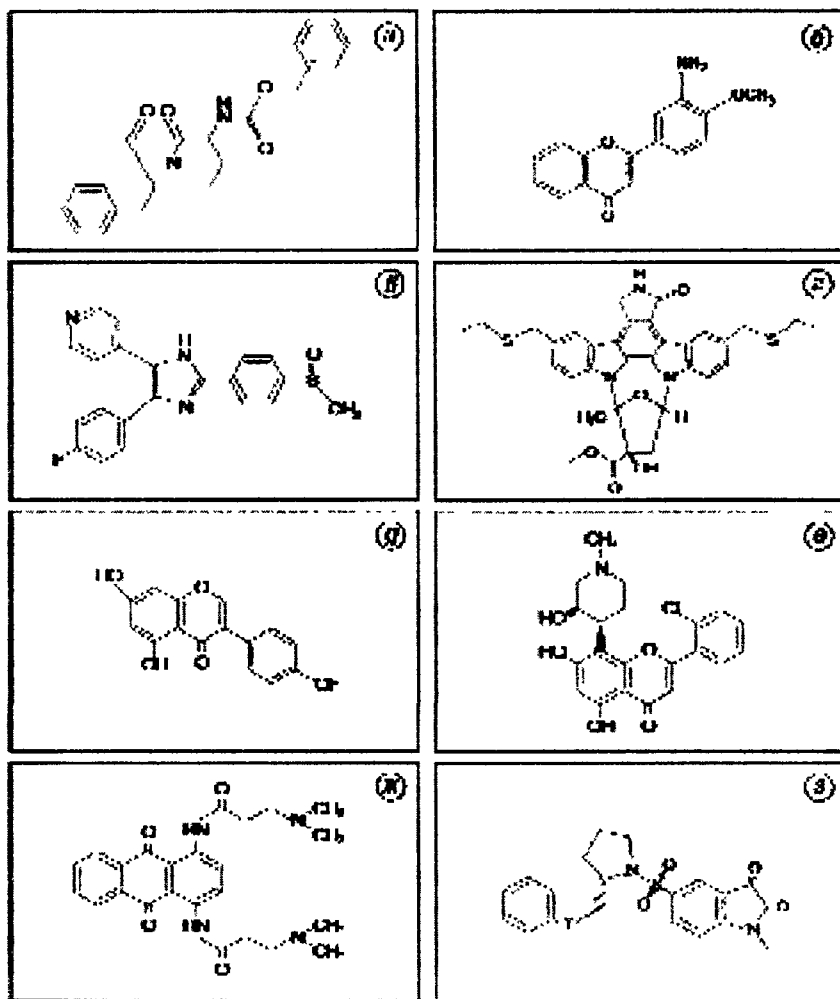


Рисунок 2.

Примеры некоторых апоптомодуляторов органического происхождения: а - ингибитор кальпаина MDL28170; б - ингибитор митоген-активируемой протеинкиназы MKK1 PD98059; в - ингибитор киназы p38 SB203580; г - ингибитор киназы JNK CEP-1347; д - ингибитор тирозинкиназ генистеин; е - ингибитор циклинзависимых киназ флавопиридол; ж - ингибитор теломеразы; з - ингибитор каспаз-3 и -7.

комбинированного использования ингибиторов кальпаинов с ингибиторами каспаз. Установлено их синергичное действие по защите от гибели нейронов гиппокампа при ишемии мозга.

Митоген-активируемые МАРК киназы играют важную роль в передаче внутриклеточных проапоптотических сигналов, а ингибиторы активности этих ферментов обладают выраженным антиапоптотическим действием. Например, препараты PD98059 и SB203580 способны блокировать гибель Т-лимфоцитов и кардиомиоцитов, индуцированную соответственно связыванием Т-клеточного рецептора или длительной ишемией [99, 100].

Препарат СЕР-1347 (см. рис. 2), который является производным индолкарбазола, специфически ингибирует активность проапоптотической протеинкиназы JNK. При его подкожном или внутривенном введении отмечается повышение выживаемости холинергических нейронов срединной перегородки после механической травмы свода мозга [101]. Этот ингибитор JNK также ослабляет вызванную шумом потерю слуха у лабораторных животных [102]. Более детальный анализ такого действия препарата СЕР-1347 позволил выявить способность последнего ингибировать апоптоз слуховых клеток передней части ушного лабиринта. Кроме того, данный препарат повышает выживаемость волосковых сенсорных клеток улитки ушного лабиринта [102], что предполагает возможность его использования в лечении повреждений внутреннего уха.

Природный ингибитор тирозинкиназ генистеин (см. рис. 2), являющийся метаболитом соединений из сои, обладает выраженным противоопухолевым эффектом. Показано, что генистеин блокирует *in vitro* переход опухолевых клеток из S-фазы в фазу G2/M и индуцирует их последующую гибель [103]. Важно отметить, что нормальные клетки мало чувствительны к проапоптотическому действию этого препарата. Кстати, из сои были также выделены биологически активные компоненты с антиапоптотическим действием. Так, в раствор для гипотермического "консервирования" ткани печени после ее отделения и хранения до момента пересадки было предложено добавлять препарат LXR-015 [104]. Фосфолипиды, составляющие основу этого препарата из сои, эффективно защищают клетки от гибели. Использование LXR-015 способствовало сохранению жизнеспособности трансплантируемых органов, если учитывать данные изучения кровотока в системе портальной вены и активность ферментов печени.

На рис. 2 представлена структура препарата флавопиридол, который ингибирует активность нескольких циклинзависимых киназ. В настоящее время этот препарат проходит вторую фазу клинических испытаний у больных раком предстательной и молочной желез. Антибластическую активность флавопиридола связывают с его способностью подавлять экспрессию белка Bcl-2 [105]. Было также показано, что указанный ингибитор циклинзависимых киназ предотвращает гибель *in vivo* около 80% нейронов в зоне ишемии, что предполагает возможность его использования при реперфузионном синдроме после ишемии мозга [106].

Обнаружение активной теломеразы в опухолевых клетках стимулировало проведение исследований по разработке ее ингибиторов, обладающих противоопухолевым действием. В частности, Ретгу и соавт. [107] получили производное амидоантрацен-9,10-диона (см. рис. 2), специфически блокирующее активность теломеразы. Ингибиторы теломеразы предполагаются использовать для ограничения числа циклов деления опухолевых клеток. Кроме того, поскольку теломераза может защищать ДНК от повреждений, опухолевые клетки после подавления активности этого фермента становятся более чувствительными к действию ДНК-повреждающих химиопрепаратов.

Из 10 тыс. выбранных случайным образом химических соединений, Комагов и соавт. [108] отобрали несколько таких, которые блокировали активацию бактериального гена *lacZ*, находящегося под контролем р53-регулируемого промотора. Одно из этих соединений, получившее название  $\alpha$ -пифитрин, подавляло действие р53, возможно, за счет нарушения его ядерного транспорта и

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

предохраняло клетки от гибели, индуцированной *in vitro* повреждением ДНК. После введения  $\alpha$ -пифитрина мышам, клетки которых экспрессировали p53, отмечена 100%-я выживаемость животных, подвергнутых облучению в сублетальной дозе. Результаты этих экспериментов подтвердили предположение о возможности использования ингибиторов белка p53 для ослабления действия на нормальные клетки генотоксического стресса, имеющего место при проведении противоопухолевой терапии.

Препарат танакан представляет собой стандартизованную форму экстракта (запатентованного как EGb 761) из листьев реликтового дерева Гинкго двудольный. Недавно Bastianetto и соавт. [109] показали, что EGb 761 проявляет антиапоптотическую активность. При одновременном добавлении к нейронам гиппокампа препарата EGb 761 и фрагментов  $\beta$ -амилоидного белка, участвующего в патогенезе болезни Альцгеймера, не происходит гибели клеток, индуцированной этим белком. EGb 761 блокирует апоптоз нейронов даже в том случае, когда клетки инкубируют с фрагментами  $\beta$ -амилоидного белка перед добавлением этого препарата. Авторы этой работы связывают нейропротекторное действие EGb 761 с его антиоксидантной активностью и обсуждают перспективность использования этого препарата в терапии больных с нейродегенеративными нарушениями.

К апоптомомодуляторам опосредованного действия также относятся хорошо известные препараты метопролол и карведилол. Первый из них является селективным  $\beta$ -адреноблокатором. На модели декомпенсированного сердца у собак выявлено, что метопролол может значительно уменьшить проявления апоптоза в миокарде [110]. Как показали Liu и соавт. [111], у крыс со спонтанной гипертензией ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) рамиприл также эффективно блокирует апоптоз кардиомиоцитов. Выживание кардиомиоцитов вследствие блокирования их гибели является одним из механизмов, с помощью которого  $\beta$ -адреноблокаторы и ингибиторы АПФ оказывают терапевтический эффект при сердечной недостаточности.

Активно изучаются препараты, оказывающие нейропротекторное действие. Специфический ингибитор моноаминоксидазы типа Б L-депренил (селегилин) предохраняет дофаминергические нейроны от апоптоза, индуцированного эндогенным нейротоксином, образующимся при болезни Паркинсона. Антиапоптотическое действие препарата сохраняется даже после его удаления из среды инкубирования нейронов, что предполагает инициацию под действием L-депренила необратимых процессов, ингибирующих апоптоз [112]. Ингибитор NMDA-рецепторов флупиртин предохраняет нейроны от гибели, индуцированной фрагментом  $\beta$ -амилоидного белка [113]. Флупиртин также проявляет антиапоптотический эффект в отношении нейронов, инфицированных прионами.

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) находят широкое применение в неврологии, кардиологии, ревматологии, онкологии и других областях медицины. Общим механизмом их терапевтического действия считают способность блокировать функции циклооксигеназ (COX), участвующих в образовании простагландинов из арахидоновой кислоты. Доказано, что противовоспалительные, анальгезирующие и антипиретические эффекты НПВП связаны с ингибированием активности изоформы COX-2, но не COX-1. К препаратам, специфически блокирующим COX-2, относятся мелоксикам (Мовалис®), целебрекс (celecoxib), рофекоксиб (МК-0966), флорулид и др. [114]. Пока мало известно о молекулярных мишенях проапоптотического действия этой группы ингибиторов COX, хотя в ряде случаев в апоптотических клетках отмечено нарушение фосфорилирования киназы Akt [115].

Для переноса генов в клетки разработаны различные подходы, а именно трансфекция путем преципитации фосфатом кальция, липофекция, электропорация, микроинъекция, "генное ружье" и др. Пока наиболее эффективными из препаратов генонаправленного действия считаются конструкции на основе вирусных векторов. С этой целью используют РНК- или

ДНК-содержащие вирусы, не способные к репликации в клетках-мишенях. Из ДНК-содержащих векторов для генной терапии чаще всего используются аденовирусные векторы, которые инфицируют как пролиферирующие, так и покоящиеся клетки, и стабильны *in vivo*. Благодаря размеру генома аденовируса, в такие векторы можно встраивать большие генетические конструкции, чем в случае векторов, основанных на использовании РНК-содержащих вирусов.

Среди апоптомодуляторов группы А можно отметить аденовирусный вектор Ad-FADD, предложенный для направленной индукции апоптоза ревматоидных синовиоцитов [116]. Перенос в эти клетки гена *FADD* вызывает их гибель *in vitro*. Индукция апоптоза под действием Ad-FADD также продемонстрирована *in vivo* (модель ревматоидного артрита у мышей) [116]. Перспективность использования указанного вектора в клинике подтверждена данными о высокой избирательности его действия на клетки синовиальной ткани, поскольку при этом погибают синовиоциты, но не хондроциты [116].

Для индукции апоптоза в злокачественных клетках предложено использовать вирусные векторы, несущие немутированную форму гена проапоптического белка p53. Ohashi и соавт. [117] показали, что инфицирование перевиваемых клеток рака желудка человека аденовирусным вектором AdCap53 вызывает их апоптоз. Кроме того, локальное введение этого вектора в область подкожной имплантации опухолевых клеток способствует регрессии их роста. Важно отметить, что такие векторы хорошо проникают в покоящиеся и медленно пролиферирующие опухолевые клетки. Поэтому следует ожидать их эффективности даже в отношении высокодифференцированных опухолей. Применение вирусных векторов более целесообразно при их внутриопухолевом введении, поскольку при системном введении большая часть вирусных частиц элиминируется клетками иммунной системы [118]. Успешно завершена первая фаза клинических испытаний вектора Ad5CMVp53, проводившихся в США у больных с солидными опухолями различной локализации [119, 120].

Альтернативный метод "доставки" в клетки-мишени гена *p53* связан с использованием липосом. Хотя их способность трансфицировать клетки значительно ниже, чем у вирусных векторов, липосомы имеют определенные преимущества в качестве носителя, поскольку после переноса гена клетки не погибают от индукции противовирусного иммунного ответа. Для улучшения их проникновения в опухолевые клетки с мутированным геном *p53* предложено конъюгировать липосомы с трансферрином [121]. Эффективность противоопухолевого действия липосом и вирусных векторов, содержащих ген *p53*, подтверждена не только в экспериментах на лабораторных животных [122, 123], но и в клинических испытаниях у больных немелкоклеточным раком легкого [124]. У трех из девяти больных выявлена регрессия опухоли, а еще у трех - стабилизация опухолевого процесса.

В результате оптимизации липидного состава липофильных везикул, соотношения липиды : ДНК, а также размеров липосомных комплексов получены новые катионные липосомы DP3, пригодные для "впрыскивания" в легкие и трахею [125]. Разработка таких липосом открывает перспективы для аэрозольного введения генетических конструкций больным с различными поражениями легких.

В случае болезней, сопровождающихся повышенной гибелью клеток (аутоиммунные заболевания, атеросклероз, нейродегенеративные заболевания, иммунодефицитные состояния, катаракта, глаукома, отдельные вирусные или бактериальные инфекции и др.), генная терапия может быть направлена на подавление функции генов, кодирующих проапоптотические регуляторы и/или на повышение экспрессии антиапоптотических генов. Среди апоптомодуляторов группы Б несомненный интерес вызывает аденовирусный вектор экспрессии кДНК теломеразы. Согласно данным Rudolph и соавт. [126], восстановление с помощью такого вектора активности теломеразы в клетках печени мышей, имеющих короткие теломеры (что обуславливает нарушения регенерации печени),

### АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

стабилизирует течение цирроза печени и улучшает показатели функциональных печеночных проб.

Получены аденовирусные векторы, экспрессирующие антиапоптотические гены *paip* и *xiap*, которые в значительной степени уменьшают гибель нейронов ядер гиппокампа после ишемии головного мозга [127]. Аденовирус-ассоциированный вектор, несущий ген другого эндогенного ингибитора каспаз из семейства IAP (BIRC4), также способствует выживанию аксонов зрительного нерва в условиях хронического повышения глазного кровяного давления у крыс [128]. Высказано мнение о том, что такие генетические конструкции могут найти применение в лечении глаукомы.

Позитивная генная терапия, направленная на восстановление функций антиапоптотического гена *bcl-2*, может быть эффективной при защите от гибели  $\beta$ -клеток поджелудочной железы у больных аутоиммунным сахарным диабетом. Rabinovitch и соавт. [129] показали, что *in vitro* трансфекция  $\beta$ -клеток поджелудочной железы человека герпес-вирусным вектором, экспрессирующим ген *bcl-2*, предотвращает развитие у них нарушений секреции инсулина и последующую гибель, индуцированную сочетанием IL-1 $\beta$ , TNF и  $\gamma$ -IFN (инкубация в течение 5 сут). Обсуждаются возможности использования такого апоптомодулятора группы Б для предотвращения инициируемой цитокинами гибели клеток поджелудочной железы при инсулинозависимом диабете. Кроме того, при этом заболевании перенос *ex vivo* гена *bcl-2* в  $\beta$ -клетки поджелудочной железы способствует их выживанию до и после трансплантации [130].

Другой подход, позволяющий блокировать отторжение трансплантата, связан с использованием апоптомодуляторов с противоположно направленным механизмом действия (группа А). Описано введение в клетки пересаживаемых тканей или органов проапоптотического гена *FasL* [131]. На модели аллотрансплантации почки у крыс было показано, что после перфузии донорских почек аденовирусным вектором экспрессии кДНК *FasL* средняя выживаемость животных с пересаженными почками повышалась до 27,8 сут, тогда как у контрольных животных этот показатель составлял всего 11,6 сут [131]. Такой подход создает реальные перспективы для повышения эффективности трансплантации различных аллогенных органов.

Примером терапевтического использования апоптомодуляторов группы В является перенос гена тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV) в опухолевые клетки с их последующей обработкой противогерпесными препаратами (ацикловир или ганцикловир). Внутриклеточное фосфорилирование противогерпесных препаратов тимидинкиназой HSV приводит к образованию их метаболитов, ингибирующих активность ДНК-полимеразы. Еще в 1992 г. схему "ген тимидинкиназы HSV/ганцикловир" было предложено использовать при лечении глиом [132]. Тогда фибробласты, которые содержали ретровирусный вектор, включающий ген тимидинкиназы HSV, были подсажены в ткань глиомы крыс. Через 5 сут после этого животным ввели противогерпесный препарат ганцикловир. Такое воздействие вызвало регрессию опухолей у 11 из 13 животных, несмотря на то, что лишь около 10% опухолевых клеток были инфицированы ретровирусным вектором. Этот феномен получил название "эффект присутствия" (bystander effect) и, как оказалось, он связан с переходом (посредством щелевых контактов) метаболитов ганцикловира из клеток, содержащих ген тимидинкиназы HSV, в близлежащие опухолевые клетки. Чрезвычайно важным для развития описанного метода следует считать получение слитных белков, состоящих из тимидинкиназы HSV и структурного белка того же вируса VP22. Благодаря уникальным транспортным свойствам последнего, удалось достичь практически 100%-го заражения клеток [133]. Согласно данным Wybranietz и соавт. [134], межклеточное распространение химерных белков, содержащих VP22, не зависит от типа клеток-мишеней и характерно для клеток различных видов животных и человека.



Терапевтический эффект сочетания гена тимидинкиназы HSV с ганцикловиром был также продемонстрирован в клинических исследованиях. Например, показана эффективность и безопасность использования такого подхода при терапии больных с рецидивирующей глиобластомой, аденокарциномой предстательной железы или СПИД-ассоциированной лимфомой центральной нервной системы [135-137].

Примером апоптомодуляторов группы Г может служить ретровирусный вектор, экспрессирующий рибозим (полирибонуклеотид, обладающий рибонуклеазной активностью), направленный против 5'LTR-участка HIV [138]. Трансфекция таким вектором приводит к увеличению сроков жизни CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов *in vitro*. По-видимому, основой этого эффекта является способность рибозима блокировать апоптоз, индуцированный HIV.

Альтернативным подходом к модуляции апоптоза служит использование коротких синтетических фрагментов генов - антисмысловых олигонуклеотидов (АСОН). После проникновения АСОН в клетку в результате их взаимодействия с мРНК блокируется продвижение последней по рибосоме и, в конечном итоге, синтез белка. Разработано несколько типов АСОН, направленных на стимуляцию апоптоза (апоптомодуляторы группы А). Например, специфические АСОН против  $\alpha$ -субъединицы интегрина ослабляют адгезивные свойства остеокластов, что вызывает их гибель [139]. Эффективным ингибитором гиперплазии интимы сосудов при пересадке сердца является препарат АСОН против гена *bcl-x*, способный индуцировать апоптоз гладкомышечных клеток коронарных артерий [140].

Наибольшее количество разработок, направленных на подавление экспрессии антиапоптотических белков с помощью АСОН, связано с индукцией апоптоза опухолевых клеток и несомненным лидером среди таких препаратов являются АСОН против гена антиапоптотического белка Bcl-2. Показано, что такие АСОН усиливают апоптоз клеток глиомы и мелкоклеточного рака легкого человека [141, 142]. Поскольку для нормальных гематопозитических стволовых клеток не характерна экспрессия белка Bcl-2, то липосомная форма АСОН против *bcl-2* имеет избирательное апоптоз-индуцирующее влияние на бластные клетки при остром миелобластном лейкозе, причем такое действие не зависит от экспрессии других антиапоптотических белков (Bcl-xL, Bag-1, A1 и Mcl-1) [143].

В условиях *in vivo* АСОН подвергаются быстрому расщеплению под действием нуклеаз. Учитывая эти данные, разрабатываются различные модификации данных препаратов, причем наиболее активно - присоединение фосфатных групп (фосфоритоат олигонуклеотиды, PS-oligos) [144]. Для повышения метаболической стабильности АСОН также используют их смешанные формы MBO (mixed backbone oligonucleotide), которые состоят из участков PS-oligos и участков модифицированных олигодезоксирибонуклеотидов или олигорибонуклеотидов. Такие формы АСОН обладают повышенной биологической активностью, меньшим побочным действием и большей стабильностью, что позволяет использовать их в качестве препаратов длительного действия, в том числе для перорального приема [144].

Недавно Waters и соавт. [145] сообщили о результатах первой фазы клинических испытаний АСОН G3139 (Genasense<sup>TM</sup>), комплементарных первым шести кодам открытой рамки считывания *bcl-2*, при системных злокачественных заболеваниях крови и кроветворных органов. Подкожное введение такого препарата вызвало выраженную стабилизацию опухолевого процесса у 9 из 21 больного неходжкинской лимфомой и повышение качества жизни у трех больных (общий объективный ответ у 57% пациентов).

Проводятся клинические испытания АСОН G3139 при раке предстательной железы [146]. На модели карциномы клеток Меркеля человека при тестировании *in vivo* было отмечено апоптоз-индуцирующее действие препарата G3139 [147], что расширяет спектр применения АСОН против *bcl-2* при лечении больных с солидными опухолями.

## АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

Разработан ретровирусный вектор, экспрессирующий АСОН против гена циклина G1 [148]. В результате переноса такого вектора в культуру эпителиальных клеток хрусталика глаза плода человека происходит их интенсивная гибель, что позволило авторам рекомендовать использование таких векторов при лечении помутнения роговой оболочки глаза и катаракты. Вектор с АСОН против гена циклина G1 можно отнести к апоптомодуляторам группы В. Продолжаются исследования по созданию других препаратов АСОН этой группы.

Еще одно активно разрабатываемое направление апоптотерапии связано с трансплантацией больным генетически измененных ауто- или аллогенных клеток. Завершены доклинические испытания дендритных клеток (получены из костного мозга мыши), трансфицированных геном *FasL* [149]. После их внутривенного введения животным отмечено удлинение сроков жизни аллотрансплантатов сердца. По-видимому, предотвращение отторжения пересаженного органа осуществляется путем индукции *Fas*-опосредуемого апоптоза Т-клеток, поскольку оно целиком зависит от взаимодействия *FasL* дендритных клеток с рецептором *Fas* на Т-лимфоцитах.

Разработаны методы выделения из различных тканей человека коммитированных стволовых клеток и клеток-предшественников, генетическая модификация которых позволяет, с одной стороны, повысить эффективность их трансплантации, а с другой - использовать в качестве продуцентов секретируемых белков, в том числе апоптомодуляторов. Veans [150] сообщил о получении мезенхимных стволовых клеток, трансфицированных геном эритропоэтина. В условиях *in vivo* имплантация 1 млн. таких клеток позволяет поддерживать концентрацию трансгенного белка в сыворотке крови на уровне 25-250 нг/мл. Такой подход обеспечивает длительную экспрессию трансгена *in vivo*. С целью повышения эффективности клеточной терапии предложено инкапсулировать мезенхимные клетки-предшественники в биокапсулы, полученные на основе производных гиалуроновой кислоты [151]. В опытах *in vivo* такие капсулы (с клетками или без них) не вызвали развития воспалительных реакций и рассасывались уже через 4 мес после имплантации.

Модуляция апоптоза при генно-клеточной терапии может также осуществляться опосредованно, например, при адаптивной Т-клеточной терапии, когда от больного получают иммунокомпетентные клетки, трансфецируют их генетическими конструкциями и после размножения *in vitro* возвращают обратно больному. Имеется сообщение об успешном использовании такого подхода при лечении больных хроническими инфекционными заболеваниями и злокачественными новообразованиями [152, 153].

### 3. Включение модуляторов апоптоза в комбинированную терапию.

Разрабатываются подходы по применению различных апоптомодуляторов с целью повышения эффективности общепринятых методов лечения. При этом можно ожидать достижения аддитивного или синергического действия, повышения чувствительности клеток к традиционной терапии, либо ослабления токсических эффектов на нормальные клетки. По каждому из перечисленных направлений ведутся интенсивные исследования.

Антибластическая активность многих из используемых в онкологической практике химиотерапевтических препаратов связана с их способностью индуцировать апоптоз в клетках-мишенях [154]. Противоопухолевые эффекты лучевой терапии также обусловлены индукцией фрагментации ДНК и апоптозом облученных клеток [155]. Показано, что апоптомодуляторы группы А и В усиливают повреждающее действие химиопрепаратов или лучевого воздействия. Например, МКАТ против EGF-R, которые подавляют рост у бестимусных мышей клеток опухоли поджелудочной железы человека, при использовании в комбинации с 5-фторурацилом оказывают выраженное синергическое действие, приводящее к регрессии опухолей [156]. Антитела против EGF-R также усиливают терапевтический эффект локального облучения опухоли, особенно при

многократном введении МКАТ (за 6 ч до и через 3 и 6 сут после облучения животных) [157].

В одном из наиболее крупных рандомизированных исследований МКАТ, направленных против HER2 (третья фаза клинических испытаний), проведенном у 469 женщин с не леченным ранее метастазирующим раком молочной железы (клетки которого имели HER2<sup>+</sup>-фенотип), выявлено повышение показателей общей выживаемости при использовании препарата Herceptin® в сочетании с химиотерапией [158]. Согласно данным Winer и соавт. [159], при комбинированном применении МКАТ Herceptin® с винорельбином у ранее леченных больных с метастазирующим раком молочной железы общий положительный ответ получен почти у 71% из них. Эти данные свидетельствуют о возможности использования МКАТ против HER2 в комбинированной химиотерапии в качестве препаратов "первой" и "второй" линии. В таблице приведены другие примеры, касающиеся разработок по комбинированному применению МКАТ с химио- и лучевой терапией.

Изучены в эксперименте и проходят различные стадии клинической апробации ингибиторы протеинкиназ в сочетании с химио- и лучевой терапией. В доклинических экспериментах *in vivo* было показано, что препарат LY333531 (специфический ингибитор  $\beta$ -PKC) усиливает проапоптотическую активность паклитаксела и фракционированного облучения при немелкоклеточном раке легкого [160]. Подобным образом, другой ингибитор PKC, PKC412, потенцирует *in vivo* противоопухолевую активность таксела и доксорубина [161].

В случаях, когда опухолевым клеткам удастся избежать апоптоза, индуцируемого химиопрепаратами, их обработка низкомолекулярными пептидными апоптомодуляторами способствует значительному повышению эффективности повторного использования лекарственных препаратов. Так, антиадгезивные препараты могут в значительной степени подавить "многоклеточную" резистентность опухоли, когда клетки внутри нее становятся менее чувствительными к индукции апоптоза. Например, применяемый в онкологической практике препарат топотекан (ингибитор топоизомеразы I) значительно эффективнее индуцирует апоптоз в опухолевых клетках, находящихся в суспензии [162].

С целью повышения чувствительности клеток-мишеней к повреждающему действию химиопрепаратов предложено использовать генную терапию, направленную на восстановление функции или блокирование экспрессии апоптозассоциированных генов. Изучали комбинированное действие цисплатина и аденовирусного вектора Adp53, содержащего ген *p53*, при лечении 24 больных с немелкоклеточным раком легкого (III-IV клиническая стадия), у которых были выявлены мутации гена *p53* [163]. Стабилизация заболевания была отмечена у 17, а некоторое улучшение - у 2 больных. Комбинированное использование химиотерапии в сочетании с указанным апоптомодулятором прямого действия приводило к достоверному повышению значений апоптотического индекса (доля клеток с признаками апоптоза), что подтверждает клиническую эффективность такого воздействия. Другие возможные сочетания генной терапии с традиционными методами лечения представлены в таблице.

Наконец, еще одно важное направление комбинированного лечения с применением апоптомодуляторов связано с их воздействием на клетки нормальных тканей. По-видимому, для защиты таких клеток от токсического действия противоопухолевых препаратов целесообразно использовать ингибиторы каспаз, хотя пока не описаны случаи их клинического применения с этой целью. Препараты цитокинов могут обеспечивать восстановление нормальных тканей после повреждений, вызванных действием цитотоксических агентов. Например, применение во время проведения курса химиотерапии препарата G-CSF, обладающего антиапоптотическим действием, способствует уменьшению продолжительности нейтропении после окончания лечения и риска развития бактериальных осложнений (цит. по [164]).

## АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

*Таблица. Примеры эффективных комбинаций апоптомодуляторов с химиопрепаратами или другими терапевтическими воздействиями (по [77])*

Апоптомодулятор	Компонент(ы) комбинации	Заболевание или тип клеток-мишеней
Rituximab	Циклофосфан + доксорубин + винкристин	Неходжкинская лимфома
Trastuzumab (Herceptin®)	Антиэстроген ICI 182,780	Рак молочной железы (с экспрессией рецепторов эстрогенов)
C225	Лучевая терапия	Эпидермоидная карцинома
	5-Фторурацил	Рак поджелудочной железы
DC101	Паклитаксел	Рак мочевого пузыря
VEGF Ab	Митоминин С	Рак желудка
Simulect	Циклоспорин	Отторжение почки при пересадке диабетическим больным
Anti-Fas	АСОН против <i>c-myc</i>	Ревматоидный артрит
TRAIL	Доксорубин	Рак молочной железы
	Циклогексимид	Глиома
	Лучевая терапия	Рак молочной железы
α-Интерферон	5-Фторурацил	Гепатоцеллюлярная карцинома
Интерлейкин-2	Лучевая терапия + гистамин	Рак предстательной железы
Генистеин, тирфостин	Цисплатин + доксорубин + этопозид	Немелкоклеточный рак легкого
ZD-1839 (Iressa)	Топотекан + паклитаксел	Рак толстого кишечника, яичника, молочной железы
LY294002	Препараты программы CHOP	Острый миелобластный лейкоз
z-VAD.fmk	Антагонист глутамата МК-801	Церебральный ишемический инсульт
Бетулиновая кислота	Лучевая терапия	Меланома
Bax-содержащий вектор	Кармустин	Глиома
FasL-содержащий вектор	Лучевая терапия	Глиома
p53-содержащий вектор	Доксорубин	Рак щитовидной железы
Липосомы, содержащие p53	Лучевая терапия	Опухоли, локализованные в области головы и шеи
Вектор, экспрессирующий ген каспазы-3	Этопозид	Рак печени (но не клетки, гиперэкспрессирующие белок Bcl-2)
АСОН против Bcl-2	Циклофосфан	Неходжкинская лимфома
	Фотодинамическая терапия	Рак желудка
АСОН против Bcl-2 и Bcl-x <sub>L</sub>	Андрогенная блокада + таксол	Карцинома Шионоги (рак молочной железы самцов)
АСОН против HER-2	Доксорубин	Клетки солидных опухолей (экспрессирующие белок HER-2)
АСОН против p21	Лучевая терапия	Рак толстого кишечника
АСОН против сурвивина	Этопозид	Рак легкого

*Примечания.* Rituximab - МКАТ против В-клеточного антигена CD20; Trastuzumab - МКАТ против HER-2; C225 - МКАТ против EGF-R; DC101 - МКАТ против рецептора VEGF; VEGF Ab - МКАТ против VEGF; Simulect - МКАТ против интерлейкина-2; Anti-Fas - МКАТ против "рецептора смерти" Fas; TRAIL - "лиганд смерти" семейства TNF; ZD-1839 - ингибитор тирозинкиназы EGF-R; LY294002 - ингибитор фосфатидилинозитол-3'-киназы; z-VAD.fmk - ингибитор каспаз.

Известно, что химиотерапия онкологических больных часто сопровождается алопецией. Полное или частичное выпадение волос вызывают препараты с различным механизмом действия и пока отсутствуют эффективные методы предупреждения развития алопеции. Согласно данным Botchkarev и соавт. [165], полученным на модели химически индуцированного выпадения волос у мышей,

при дефиците гена *p53* у животных не развивается алопеция и не происходит гибель кератиноцитов волосяных фолликулов. Эти результаты свидетельствуют о том, что локальное ингибирование гена *p53* или блокирование активности кодируемого им белка в клетках волосяных фолликулов может предупредить выпадение волос у больных в связи с проведением химиотерапии. В этом отношении весьма привлекательно использование в комбинированной противоопухолевой терапии  $\alpha$ -пифитрина [108].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Одной из главных задач данного обзора был анализ достижений и проблем в создании новых эффективных лекарственных препаратов, модулирующих апоптоз. Для наглядности мы попытались максимально охватить весь спектр возможностей апоптотерапии. Для систематизации имеющейся информации мы разделили препараты, используемые в апоптотерапии, на четыре больших класса: МКАТ, низкомолекулярные белки и пептиды, химические соединения небелковой природы и препараты генонаправленного действия. По-видимому, такое деление полезно на этапе общего ознакомления с проблемой фармакологической модуляции апоптоза. Однако для практикующего врача, несомненно, большую ценность представляло бы проведение систематизации по нозологическим формам заболеваний. На рис. 3 приведено такое разделение основных направлений апоптотерапии. Пока существует лишь несколько стандартных схем апоптотерапии, в том числе ее сочетания с другими способами лечения. При этом необходимо учитывать, что большая часть приведенных рекомендаций носит общий характер, и в каждом конкретном случае выбор апоптомодулятора должен проводиться с учетом комплекса параметров, включая индивидуальные особенности больного.



Рисунок 3.

Наиболее перспективные клинические направления апоптотерапии как монотерапии или в комбинации с другими лечебными мероприятиями: + - стимуляция апоптоза; - - его ингибирование.

## АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

Суммируя изложенные выше данные, необходимо отметить значительный прогресс не только в выяснении молекулярных механизмов, лежащих в основе апоптической гибели клеток, но и в использовании модуляторов апоптоза с терапевтической целью. В настоящее время препараты, подавляющие или стимулирующие этот процесс, находятся на разных стадиях разработки: начиная от лабораторных испытаний и заканчивая выходом на фармацевтический рынок. Модулирующие апоптоз официальные препараты МКАТ способствуют стабилизации многих патологических процессов и улучшают результаты лечения. Низкомолекулярные соединения белкового и органического происхождения также начинают широко использоваться в схемах лечения заболеваний, связанных с нарушениями апоптоза. Однако на лидирующие позиции среди последних разработок в этой области начинают выходить препараты генонаправленного действия. В сочетании с другими лечебными мероприятиями генная терапия может обеспечивать подавление лекарственной резистентности, а также ослабление токсических эффектов химиопрепаратов и лучевой терапии на нормальные клетки. К сожалению, многообещающие перспективы клинического использования препаратов генонаправленного действия пока не соответствуют уровню практических достижений в области апоптотерапии. Однако есть все основания ожидать, что уже в ближайшее десятилетие существенно возрастет не только численность больных, получивших генную терапию (а таких сегодня в мире насчитывается более 4000 человек [166]), но и результативность их лечения.

## ЛИТЕРАТУРА.

1. Фильченков А.А., Стойка Р.С. (1999) Апоптоз и рак. Киев: Морион.
2. Itoh N., Nagata S. (1993) J. Biol. Chem. **268**, 10932-10937.
3. Yonehara S., Ishii A., Yonehara M. (1989) J. Exp. Med. **169**, 1747-1756.
4. Kischkel F.C., Hellbardt S., Behrmann I., Germer M., Pawlita M., Krammer P.H., Peter M.E. (1995) EMBO J. **14**, 5579-5588.
5. Zhang J., Cado D., Chen A., Kabra N.H., Winoto A. (1998) Nature. **392**, 296-300.
6. Sulvesen G.S. (1999) Structure. **7**, R225-229.
7. Johnson D.E. (2000) Leukemia. **14**, 1695-1703.
8. Ruemmele F.M., Beaulieu J.F., O'Connell J., Bennett M.W., Seidman E.G., Lentze M.J. (2002) Biochem. Biophys. Res. Commun. **290**, 1308-1314.
9. Conway E.M., Pollefeyt S., Steiner-Mosonyi M., Luo W., Devriese A., Lupu F., Bono F., Leducq N., Dol F., Schaeffer P., Collen D., Herbert J.M. (2002) Gastroenterology. **123**, 619-631.
10. Rasper D., Vaillancourt J., Hadano S., Houtzager V.M., Seiden I., Keen S.L., Tawa P., Xanthoudakis S., Nasir J., Martindale D., Koop B.F., Peterson E.P., Thornberry N.A., Huang J., MacPherson D.P., Black S.C., Hormung F., Lenardo M.J., Hayden M.R., Roy S., Nicholson D.W. (1998) Cell Death Differ. **5**, 271-288.
11. Goyal L. (2001) Cell. **104**, 805-808.
12. Scaffidi C., Schmitz I., Krammer P.H., Peter M.E. (1999) J. Biol. Chem. **274**, 1541-1548.
13. Barbacid M. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. **766**, 442-458.
14. Yuan J., Yankner B.A. (2000) Nature. **407**, 802-809.
15. Putcha G.V., Deshmukh M., Johnson E.M., Jr. (1999) J. Neurosci. **19**, 7476-7485.
16. Wiman K.G. (1997) Exp. Cell Res. **237**, 14-18.
17. Prives C. (1998) Cell. **95**, 5-8.
18. Somasundaram K., el-Deiry W.S. (2000) Front. Biosci. **5**, D424-437.
19. Halder S., Negrini M., Monne M., Sabbioni S., Croce C.M. (1994) Cancer Res. **54**, 2095-2097.
20. Ohlsson C., Kley N., Werner H., LeRoith D. (1998) Endocrinology. **139**, 1101-1107.
21. Caelles C., Helmberg A., Karin M. (1994) Nature. **370**, 220-223.

22. *Wagner A.J., Kokontis J.M., Hay N.* (1994) *Genes Dev.* **8**, 2817-2830.
23. *Liu J.P.* (1999) *FASEB J.* **13**, 2091-2104.
24. *Chin L., Artandi S.E., Shen Q., Tam A., Lee S.L., Gottlieb G.J., Greider C.W., DePinho R.A.* (1999) *Cell.* **97**, 527-538.
25. *Vaziri H., Benchimol S.* (1998) *Curr. Biol.* **8**, 279-282.
26. *Jiang X.R., Jimenez G., Chang E., Frolkis M., Kusler B., Sage M., Beeche M., Bodnar A.G., Wahl G.M., Tlsty T.D., Chiu C.P.* (1999) *Nat. Genet.* **21**, 111-114.
27. *Morales C.P., Holt S.E., Ouellette M., Kaur K.J., Yan Y., Wilson K.S., White M.A., Wright W.E., Shay J.W.* (1999) *Nat. Genet.* **21**, 115-118.
28. *Loeffler M., Kroemer G.* (2000) *Exp. Cell Res.* **256**, 19-26.
29. *Antonsson B., Martinou J.C.* (2000) *Exp. Cell Res.* **256**, 50-57.
30. *Adams J.M., Cory S.* (1998) *Science.* **281**, 1322-1326.
31. *Yang E., Korsmeyer S.J.* (1996) *Blood.* **88**, 386-401.
32. *Schendel S.L., Montal M., Reed J.C.* (1998) *Cell Death Differ.* **5**, 372-380.
33. *Narita M., Shimizu S., Ito T., Chittenden T., Lutz R.J., Matsuda H., Tsujimoto Y.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 14681-14686.
34. *Srinivasula S.M., Ahmad M., Fernandes-Alnemri T., Alnemri E.S.* (1998) *Mol. Cell.* **1**, 949-957.
35. *Shimizu S., Narita M., Tsujimoto Y.* (1999) *Nature.* **399**, 483-487.
36. *Okuno S., Shimizu S., Ito T., Nomura M., Hamada E., Tsujimoto Y., Matsuda H.* (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 34272-34277.
37. *Lee H.C., Wei Y.H.* (2000) *J. Biomed. Sci.* **7**, 2-15.
38. *Бакеева Л.Е., Скулачев В.П., Сударикова Ю.В., Цыпленкова В.Г.* (2001) *Биохимия.* **66**, 1651-1658.
39. *Kaufman R.J.* (1999) *Genes Dev.* **13**, 1211-1233.
40. *Mattson M.P., LaFerla F.M., Chan S.L., Leissring M.A., Shepel P.N., Geiger J.D.* (2000) *Trends Neurosci.* **23**, 222-229.
41. *Rao R.V., Hermel E., Castro-Obregon S., del Rio G., Ellerby L.M., Ellerby H.M., Bredesen D.E.* (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 33869-33874.
42. *Nakagawa T., Yuan J.* (2000) *J. Cell Biol.* **150**, 887-894.
43. *Morishima N., Nakanishi K., Takenouchi H., Shibata T., Yasuhiko Y.* (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 34287-34294.
44. *Pan Z., Bhat M.B., Nieminen A.L., Ma J.* (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 32257-32263.
45. *Nutt L.K., Chandra J., Pataer A., Fang B., Roth J.A., Swisher S.G., O'Neil R.G., McConkey D.J.* (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 20301-20308.
46. *Mancini M., Machamer C.E., Roy S., Nicholson D.W., Thornberry N.A., Casciola-Rosen L.A., Rosen A.* (2000) *J. Cell Biol.* **149**, 603-612.
47. *Maxzud M.K., Maccioni H.J.* (1997) *Neurochem. Res.* **22**, 455-461.
48. *Tomassini B., Testi R.* (2002) *Biochimie.* **84**, 123-129.
49. *Roberg K.* (2001) *Lab. Invest.* **81**, 149-158.
50. *Uchiyama Y.* (2001) *Arch. Histol. Cytol.* **64**, 233-246.
51. *Roberg K., Kagedal K., Ollinger K.* (2002) *Am. J. Pathol.* **161**, 89-96.
52. *Shaw D.R., Khazaeli M.B., LoBuglio A.F.* (1988) *J. Natl. Cancer Inst.* **80**, 1553-1559.
53. *Vaughan T.J., Osbourn J.K., Tempest P.R.* (1998) *Nat. Biotechnol.* **16**, 535-539.
54. *Hudson P.J.* (1999) *Curr. Opin. Immunol.* **11**, 548-557.
55. *Степанов Ю.М., Фильченков А.А., Кушлинский Н.Е.* (2000) Система Fas/Fas-лиганд. Киев: ДИА.
56. *Ichikawa K., Yoshida-Kato H., Ohtsuki M., Ohsumi J., Yamaguchi J., Takahashi S., Tani Y., Watanabe M., Shiraishi A., Nishioka K., Yonehara S., Serizawa N.* (2000) *Int. Immunol.* **12**, 555-562.
57. *Bozzo C., Bellomo G., Silengo L., Tarone G., Altruda F.* (1997) *Exp. Cell Res.* **237**, 326-337.
58. *Rozzo C., Chiesa V., Caridi G., Pagnan G., Ponzoni M.* (1997) *Int. J. Cancer.* **70**, 688-698.
59. *Gutheil J.C., Campbell T.N., Pierce P.R., Watkins J.D., Huse W.D., Bodkin D.J.,*

# АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

- Cheresh D.A. (2000) Clin. Cancer Res. **6**, 3056-3061.
60. Nakajima A., Hirai H., Kayagaki N., Yoshino S., Hirose S., Yagita H., Okumura K. (2000) J. Autoimmun. **14**, 151-157.
61. Okuda Y., Sakoda S., Fujimura H., Nagata S., Yanagihara T., Bernard C.C. (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. **275**, 164-168.
62. Wehrli P., Viard I., Bullani R., Tschopp J., French L.E. (2000) J. Invest. Dermatol. **115**, 141-148.
63. Hainsworth J.D. (2000) Oncologist. **5**, 376-384.
64. Hofmeister J.K., Cooney D., Coggeshall K.M. (2000) Blood Cells Mol. Dis. **26**, 133-143.
65. Фильченков А.А. (1998) Эксперим. онкология. **20**, 83-108.
66. Shak S. (1999) Semin. Oncol. **26** (Suppl 12), 71-77.
67. Satoh K., Kikuchi S., Sekimata M., Kabuyama Y., Homma M.K., Homma Y. (2001) Arthritis Rheum. **44**, 260-265.
68. Walczak H., Miller R.E., Ariail K., Gliniak B., Griffith T.S., Kubin M., Chin W., Jones J., Woodward A., Le T., Smith C., Smolak P., Goodwin R.G., Rauch C.T., Schuh J.C., Lynch D.H. (1999) Nat. Med. **5**, 157-163.
69. Ahmad M., Shi Y. (2000) Oncogene. **19**, 3363-3371.
70. Bulfone-Paus S., Ruckert R., Krause H., von Bernuth H., Notter M., Pohl T., Tran T.H., Paus R., Kunzendorf U. (2000) Transplantation. **69**, 1386-1391.
71. Vocero-Akbani A.M., Heyden N.V., Lissy N.A., Ratner L., Dowdy S.F. (1999) Nat. Med. **5**, 29-33.
72. Seipelt G., Ottmann O.G., Hoelzer D. (2000) Curr. Opin. Hematol. **7**, 156-160.
73. Gruber H.E., Norton H.J., Hanley E.N., Jr. (2000) Spine. **25**, 2153-2157.
74. Rep M.H., Schrijver H.M., van Lopik T., Hintzen R.Q., Roos M.T., Ader H.J., Polman C.H., van Lier R.A. (1999) J. Neuroimmunol. **96**, 92-100.
75. Nguyen T., Thomas W., Zhang X.D., Gray C., Hersey P. (2000) Forum. **10**, 243-252.
76. Pandolfi F., Pierdominici M., Marziali M., Livia Bernardi M., Antonelli G., Galati V., D'Offizi G., Aiuti F. (2000) Clin. Immunol. **94**, 153-159.
77. Pietersen A., Noteborn H.M. (2000) Adv. Exp. Med. Biol. **465**, 153-161.
78. Danen-van Oorschot A.A., van Der Eb A.J., Noteborn M.H. (2000) J. Virol. **74**, 7072-7078.
79. Yepes M., Sandkvist M., Wong M.K., Coleman T.A., Smith E., Cohan S.L., Lawrence D.A. (2000) Blood. **96**, 569-576.
80. Park B.W., Zhang H.T., Wu C., Berezov A., Zhang X., Dua R., Wang Q., Kao G., O'Rourke D.M., Greene M.I., Murali R. (2000) Nat. Biotechnol. **18**, 194-198.
81. Hadden H.L., Henke C.A. (2000) Am. J. Respir. Crit. Care Med. **162**, 1553-1560.
82. Chatterjee S., Matsumura A., Schradermeier J., Gillespie G.Y. (2000) J. Neurooncol. **46**, 135-144.
83. Giulian D., Haverkamp L.J., Yu J., Karshin W., Tom D., Li J., Kazanskaia A., Kirkpatrick J., Roher A.E. (1998) J. Biol. Chem. **273**, 29719-29726.
84. Wang J.L., Zhang Z.J., Choksi S., Shan S., Lu Z., Croce C.M., Alnemri E.S., Korngold R., Huang Z. (2000) Cancer Res. **60**, 1498-1502.
85. Brundin P., Karlsson J., Emgard M., Schierle G.S., Hansson O., Petersen A., Castilho R.F. (2000) Cell Transplant. **9**, 179-195.
86. Hansson O., Castilho R.F., Schierle G.S., Karlsson J., Nicotera P., Leist M., Brundin P. (2000) Exp. Neurol. **164**, 102-111.
87. Rabuffetti M., Sciorati C., Tarozzo G., Clementi E., Manfredi A.A., Beltramo M. (2000) J. Neurosci. **20**, 4398-4404.
88. Braun J.S., Novak R., Herzog K.H., Bodner S.M., Cleveland J.L., Tuomanen E.I. (1999) Nat. Med. **5**, 298-302.
89. Mocanu M.M., Baxter G.F., Yellon D.M. (2000) Br. J. Pharmacol. **130**, 197-200.
90. Farber A., Connors J.P., Friedlander R.M., Wagner R.J., Powell R.J., Cronenwett J.L. (1999) J. Vasc. Surg. **30**, 752-760.



91. Tinsley K.W., Cheng S.L., Buchman T.G., Chang K.C., Hui J.J., Swanson P.E., Karl I.E., Hotchkiss R.S. (2000) Shock. **13**, 1-7.
92. Hotchkiss R.S., Tinsley K.W., Swanson P.E., Chang K.C., Cobb J.P., Buchman T.G., Korsmeyer S.J., Karl I.E. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **96**, 14541-14546.
93. Ho F.M., Liu S.H., Liao C.S., Huang P.J., Lin-Shiau S.Y. (2000) Circulation. **101**, 2618-2624.
94. <http://www.idun.com>.
95. Wang J.L., Liu D., Zhang Z.J., Shan S., Han X., Srinivasula S.M., Croce C.M., Alnemri E.S., Huang Z. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **97**, 7124-7129.
96. Lee D., Long S.A., Adams J.L., Chan G., Vaidya K.S., Francis T.A., Kikly K., Winkler J.D., Sung C.M., Debouck C., Richardson S., Levy M.A., DeWolf W.E., Jr, Keller P.M., Tomaszek T., Head M.S., Ryan M.D., Haltiwanger R.C., Liang P.H., Janson C.A., McDevitt P.J., Johanson K., Concha N.O., Chan W., Abdel-Meguid S.S., Badger A.M., Lark M.W., Nadeau D.P., Suva L.J., Gowen M., Nuttall M.E. (2000) J. Biol. Chem. **275**, 16007-16014.
97. Ray S.K., Fidan M., Nowak M.W., Wilford G.G., Hogan E.L., Banik N.L. (2000) Brain Res. **852**, 326-334.
98. Rami A., Agarwal R., Botez G., Winckler J. (2000) Brain Res. **866**, 299-312.
99. Mackay K., Mochly-Rosen D. (1999) J. Biol. Chem. **274**, 6272-6279.
100. Zhu L., Yu X., Akatsuka Y., Cooper J.A., Anasetti C. (1999) Immunology. **97**, 26-35.
101. Harper S.J., Saporito M.S., Hewson L., Young L., Smith D., Rigby M., Jackson P., Curtis N., Swain C., Hefti F., Vaught J.L., Sirinathsinghji D. (2000) Neuroreport. **11**, 2271-2276.
102. Pirvola U., Xing-Qun L., Virkkala J., Saarma M., Murakata C., Camoratto A.M., Walton K.M., Ylikoski J. (2000) J. Neurosci. **20**, 43-50.
103. Alhasan S.A., Pietraszkiewicz H., Alonso M.D., Ensley J., Sarkar F.H. (1999) Nutr. Cancer. **34**, 12-19.
104. Wu G., Tomei L.D., Bathurst I.C., Zhang F., Hong C.B., Issel C.J., Columbano A., Salley R.K., Chien S. (1997) Transplantation. **63**, 803-809.
105. Li Y., Chinni S.R., Senderowicz A.M., Sarkar F.H. (2000) Int. J. Oncol. **17**, 755-759.
106. Osuga H., Osuga S., Wang F., Fetni R., Hogan M.J., Slack R.S., Hakim A.M., Ikeda J.E., Park D.S. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **97**, 10254-10259.
107. Perry P.J., Gowan S.M., Reszka A.P., Polucci P., Jenkins T.C., Kelland L.R., Neidle S. (1998) J. Med. Chem. **41**, 3253-3260.
108. Komarov P.G., Komarova E.A., Kondratov R.V., Christov-Tselkov K., Coon J.S., Chernov M.V., Gudkov A.V. (1999) Science. **285**, 1733-1737.
109. Bastianetto S., Ramassamy C., Dore S., Christen Y., Poirier J., Quirion R. (2000) Eur. J. Neurosci. **12**, 1882-1890.
110. Sabbah H.N., Sharov V.G., Gupta R.C., Todor A., Singh V., Goldstein S. (2000) J. Am. Coll. Cardiol. **36**, 1698-1705.
111. Liu J.J., Peng L., Bradley C.J., Zulli A., Shen J., Buxton B.F. (2000) Cardiovasc Res. **45**, 729-735.
112. Naoi M., Maruyama W., Yagi K., Youdim M. (2000) Neurobiology. **8**, 69-80.
113. Perovic S., Bohm M., Meesters E., Meinhardt A., Pergande G., Muller W.E. (1998) Mech. Ageing Dev. **101**, 1-19.
114. Fosslien E. (2000) Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. **37**, 431-502.
115. Hsu A.L., Ching T.T., Wang D.S., Song X., Rangnekar V.M., Chen C.S. (2000) J. Biol. Chem. **275**, 11397-11403.
116. Kobayashi T., Okamoto K., Kobata T., Hasunuma T., Kato T., Hamada H., Nishioka K. (2000) Gene Ther. **7**, 527-533.
117. Ohashi M., Kanai F., Ueno H., Tanaka T., Tateishi K., Kawakami T., Koike Y., Ikenoue T., Shiratori Y., Hamada H., Omata M. (1999) Gut. **44**, 366-371.
118. Crystal R.G. (1995) Science. **270**, 404-410.
119. Pagliaro L.C. (2000) World J. Urol. **18**, 148-151.

# АПОПТОМОДУЛЯТОРЫ

120. Sweeney P., Pisters L.L. (2000) *World J. Urol.* **18**, 121-124.
121. Xu L., Pirollo K.F., Chang E.H. (1997) *Hum. Gene Ther.* **8**, 467-475.
122. Hwang R.F., Gordon E.M., Anderson W.F., Parekh D. (1998) *Surgery.* **124**, 143-150.
123. Zou Y., Zong G., Ling Y.H., Hao M.M., Lozano G., Hong W.K., Perez-Soler R. (1998) *J. Natl. Cancer Inst.* **90**, 1130-1137.
124. Roth J.A., Nguyen D., Lawrence D.D., Kemp B.L., Carrasco C.H., Ferson D.Z., Hong W.K., Komaki R., Lee J.J., Nesbitt J.C., Pisters K.M., Putnam J.B., Schea R., Shin D.M., Walsh G.L., Dolormente M.M., Han C.I., Martin F.D., Yen N., Xu K., Stephens L.C., McDonnell T.J., Mukhopadhyay T., Cai D. (1996) *Nat. Med.* **2**, 985-991.
125. Zou Y., Zong G., Ling Y.H., Perez-Soler R. (2000) *Cancer Gene Ther.* **7**, 683-696.
126. Rudolph K.L., Chang S., Millard M., Schreiber-Agus N., DePinho R.A. (2000) *Science.* **287**, 1253-1258.
127. Robertson G.S., Crocker S.J., Nicholson D.W., Schulz J.B. (2000) *Brain Pathol.* **10**, 283-292.
128. McKinnon S.J., Lehman D.M., Tahzib N.G., Ransom N.L., Reitsamer H.A., Liston P., LaCasse E., Li Q., Korneluk R.G., Hauswirth W.W. (2002) *Mol. Ther.* **5**, 780-787.
129. Rabinovitch A., Suarez-Pinzon W., Strynadka K., Ju Q., Edelstein D., Brownlee M., Korbitt G.S., Rajotte R.V. (1999) *Diabetes.* **48**, 1223-1229.
130. Contreras J.L., Bilbao G., Smyth C.A., Eckhoff D.E., Jiang X.L., Jenkins S., Thomas F.T., Curiel D.T., Thomas J.M. (2002) *Kidney Int.* **61** (Suppl. 1), 79-84.
131. Swenson K.M., Ke B., Wang T., Markowitz J.S., Maggard M.A., Spear G.S., Imagawa D.K., Goss J.A., Busuttil R.W., Seu P. (1998) *Transplantation.* **65**, 155-160.
132. Culver K.W., Ram Z., Wallbridge S., Ishii H., Oldfield E.H., Blaese R.M. (1992) *Science.* **256**, 1550-1552.
133. Phelan A., Elliott G., O'Hare P. (1998) *Nat. Biotechnol.* **16**, 440-443.
134. Wybranietz W.A., Prinz F., Spiegel M., Schenk A., Bitzer M., Gregor M., Lauer U.M. (1999) *J. Gene Med.* **1**, 265-274.
135. Shand N., Weber F., Mariani L., Bernstein M., Gianella-Borradori A., Long Z., Sorensen A.G., Barbier N. (1999) *Hum. Gene Ther.* **10**, 2325-2335.
136. Herman J.R., Adler H.L., Aguilar-Cordova E., Rojas-Martinez A., Woo S., Timme T.L., Wheeler T.M., Thompson T.C., Scardino P.T. (1999) *Hum. Gene Ther.* **10**, 1239-1249.
137. Raez L., Cabral L., Cai J.P., Landy H., Sfakianakis G., Byrne G.E., Jr, Hurley J., Scerpella E., Jayaweera D., Harrington W.J., Jr. (1999) *AIDS Res. Hum. Retro-viruses.* **15**, 713-719.
138. Klebba C., Ottmann O.G., Scherr M., Pape M., Engels J.W., Grez M., Hoelzer D., Klein S.A. (2000) *Gene Ther.* **7**, 408-416.
139. Villanova I., Townsend P.A., Uhlmann E., Knolle J., Peyman A., Amling M., Baron R., Horton M.A., Teti A. (1999) *J. Bone Miner. Res.* **14**, 1867-1879.
140. Suzuki J., Isobe M., Morishita R., Nishikawa T., Amano J., Kaneda Y. (2000) *Cardiovasc Res.* **45**, 783-787.
141. Julien T., Frankel B., Longo S., Kyle M., Gibson S., Shillitoe E., Ryken T. (2000) *Surg. Neurol.* **53**, 360-368.
142. Ziegler A., Luedke G.H., Fabbro D., Altmann K.H., Stahel R.A., Zangemeister-Wittke U. (1997) *J. Natl. Cancer Inst.* **89**, 1027-1036.
143. Konopleva M., Tari A.M., Estrov Z., Harris D., Xie Z., Zhao S., Lopez-Berestein G., Andreeff M. (2000) *Blood.* **95**, 3929-3938.
144. Agrawal S., Zhao Q. (1998) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2**, 519-528.
145. Waters J.S., Webb A., Cunningham D., Clarke P.A., Raynaud F., di Stefano F., Cotter F.E. (2000) *J. Clin. Oncol.* **18**, 1812-1823.
146. Morris M., Tong W., Osman I. (1999) *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **18**, 323a.
147. Schlagbauer-Wadl H., Klosner G., Heere-Ress E., Waltering S., Moll I.,

148. Wolff K., Pehamberger H., Jansen B. (2000) *J. Invest. Dermatol.* **114**, 725-730.
149. Kampmeier J., Behrens A., Wang Y., Yee A., Anderson W.F., Hall F.L., Gordon E.M., McDonnell P.J. (2000) *Hum. Gene Ther.* **11**, 1-8.
150. Min W.P., Gorczynski R., Huang X.Y., Kushida M., Kim P., Obataki M., Lei J., Suri R.M., Catral M.S. (2000) *J. Immunol.* **164**, 161-167.
151. Beans R. (2000) *Eur. Cytokine Netw.* **11**, 323-324.
152. Li R.H., Williams S., White M., Rein D. (1999) *Tissue Eng.* **5**, 453-466.
153. Greenberg P.D., Yee C., Warren E.H., Gavin M., Topp M., Cooper L., Nelson B., Ohlen C., Riddell S.R. (2000) *Eur. Cytokine Netw.* **11**, 304-305.
154. Eaton D., Gilham D.E., O'Neill A., Hawkins R.E. (2002) *Gene Ther.* **9**, 527-535.
155. Makin G. (2002) *Expert Opin. Ther. Targets.* **6**, 73-84.
156. Rosen E.M., Fan S., Rockwell S., Goldberg I.D. (1999) *Cancer Invest.* **17**, 56-72.
157. Overholser J.P., Prewett M.C., Hooper A.T., Waksal H.W., Hicklin D.J. (2000) *Cancer.* **89**, 74-82.
158. Milas L., Mason K., Hunter N., Petersen S., Yamakawa M., Ang K., Mendelsohn J., Fan Z. (2000) *Clin. Cancer Res.* **6**, 701-708.
159. Slamon D., Leyland-Jones B., Shak S. (1998) *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **17**, 98a.
160. Winer E.P., Burstein H.J., Kuter I. (1999) *Abstr. San Antonio Breast Cancer Symp. San Antonio, Dec 8-11, 1999.*
161. Teicher B.A., Alvarez E., Mendelsohn L.G., Ara G., Menon K., Ways D.K. (1999) *Adv. Enzyme Regul.* **39**, 313-327.
162. Fabbro D., Ruetz S., Bodis S., Pruschy M., Csermak K., Man A., Campochiaro P., Wood J., O'Reilly T., Meyer T. (2000) *Anticancer Drug Des.* **15**, 17-28.
163. Whitacre C.M., Berger N.A. (1997) *Cancer Res.* **57**, 2157-2163.
164. Nemunaitis J., Swisher S.G., Timmons T., Connors D., Mack M., Doerksen L., Weill D., Wait J., Lawrence D.D., Kemp B.L., Fossella F., Glisson B.S., Hong W.K., Khuri F.R., Kurie J.M., Lee J.J., Lee J.S., Nguyen D.M., Nesbitt J.C., Perez-Soler R., Pisters K.M., Putnam J.B., Richli W.R., Shin D.M., Walsh G.L., et al. (2000) *J. Clin. Oncol.* **18**, 609-622.
165. Астрелина Т.А. (2000) *Гематол. трансфузиол.* **45** (4), 34-38.
166. Botchkarev V.A., Komarova E.A., Siebenhaar F., Botchkareva N.V., Komarov P.G., Maurer M., Gilchrist B.A., Gudkov A.V. (2000) *Cancer Res.* **60**, 5002-5006.
167. Yamaoka T. (2001) *Curr. Mol. Med.* **1**, 325-337.

Поступила 02. 10.02

## APOPTOMODULATORS

A.A. Fil'chenkov

Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Vasylkivska 45, Kiev, 03022, Ukraine;  
fax:(38044) 258-1656; e-mail: apoclub@mail.ru

At least two types of cell death are known: physiological (apoptosis) and pathological (necrosis). Dysregulation of apoptosis plays an important role in the pathogenesis of many pathological conditions. Their analysis gives a key for the development of novel therapeutic approaches. In this review the recent advances and perspectives for clinical use of apoptosis-modulating monoclonal antibodies, low-molecular-weight proteins, peptides, small non-peptide molecules and drugs targeting apoptosis-associated genes are summarized. The rationale for clinical application of apoptomodulators with the aim of increasing efficacy of existing standard therapies are also discussed.

**Key words:** apoptosis, pharmacological modulation, monoclonal antibodies, cytokines, caspase inhibitors, gene therapy, viral vectors, antisense oligonucleotides, cell therapy.