

Изучение особенностей экспрессии антистрессовых белков Hsp60 и P450 2E1 при дилатационной кардиомиопатии

Л. Л. Сидорик, В. И. Бобык, Р. Г. Киямова, Л. Н. Капустян, О. Т. Рожко, О. Г. Вигонтина, Д. В. Рябенко¹, И. М. Данко, О. В. Максимчук, В. В. Филоненко, В. Н. Коваленко¹, Н. А. Чащин

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина
E-mail: sidorik@imbg.org.ua

¹ Институт кардиологии им. акад. Н. Д. Стражеско АМН Украины
Ул. Народного ополчения, 5, Киев, 03151, Украина

Впервые представлены данные по изучению особенностей экспрессии мажорного шаперона митохондрий Hsp60 и основного митохондриального цитохрома человека — монооксигеназы P450 (изоформа 2E1) при развитии дилатационной кардиомиопатии (ДКМ) на конечной стадии заболевания с помощью метода иммуноблоттинга (Western-blot). В качестве контрольных образцов использовали ишемический и нормальный миокарды человека. Обнаружено снижение уровня экспрессии Hsp60 в цитоплазматической фракции левых желудочков миокардов, пораженных ДКМ и ишемией, и увеличение ее в митохондриях исследуемых миокардов. В то же время отмечено увеличение уровня экспрессии P450 2E1 в цитоплазматической фракции ДКМ- и ишемического миокардов по сравнению с нормальным миокардом; в митохондриальной фракции всех исследуемых образцов никаких изменений уровня экспрессии цитохрома P450 2E1 не выявлено. Это может быть связано с высоким уровнем окислительного поражения сердечной мышцы при развитии ДКМ. Показано, что изменение уровня экспрессии антистрессовых белков (молекулярных шаперонов и митохондриальных цитохромов) сопровождается значительным снижением уровня АТФ-зависимой активности миозина ДКМ-пораженного миокарда по сравнению с нормальным и ишемическим миокардами, а также повышением уровня специфических антимиокардиальных аутоантител в сыворотке крови пациентов с ДКМ. Выдвинута гипотеза о функциональной взаимосвязи между антистрессовой (HSPs) и антиоксидантной (цитохром-монооксигеназа) системами миокарда при развитии ДКМ

Введение. Различные виды физиологического стресса — тепловой шок, радиация, гемодинамические изменения, мутантные белки, окислительное поражение и др. — вызывают множество изменений в клетках, затрагивая структуру и функции белков. Установлено, что фолдинг белков зависит от функционирования специализированного семейства высококонсервативных антистрессовых белков — молекулярных шаперонов (HSPs). Они ответственны за корректный белковый фолдинг, предотвращение неправильно уложенных полипептидов и их агрегацию в олигомерные комплексы,

определяют импорт предшественников белков органелл в соответствующие им функциональные компартменты и являются основным фактором в механизме контроля качества белков [1, 2].

Показана также активная роль шаперонов в физиологии клетки, включая цитопroteкцию формированием стресс-индуцируемых регуляторных цепей на транскрипционном и посттрансляционном уровнях [3]. Большой массив данных свидетельствует о том, что неправильный фолдинг белков является молекулярной основой многих заболеваний — от аутоиммунных до раковых [3—4].

Стрессовые белки принадлежат к мультигенному семейству белков с молекулярной массой (м. м.) от 10 до 150 кДа. Они обнаружены во всех основ-

© Л. Л. СИДОРИК, В. И. БОБЫК, Р. Г. КИЯМОВА, Л. Н. КАПУСТЯН, О. Т. РОЖКО, О. Г. ВИГОНТИНА, Д. В. РЯБЕНКО, И. М. ДАНКО, О. В. МАКСИМЧУК, В. В. ФИЛОНЕНКО, В. Н. КОВАЛЕНКО, Н. А. ЧАЩИН. 2004

ных клеточных компартментах. Различные виды стресса индуцируют экспрессию генов шаперонов сходным механизмом — быстрой активацией и преимущественной трансляцией. В последнее десятилетие накоплено много данных, подтверждающих потенциальную кардиопротекторную роль основного цитоплазматического шаперона Hsp70, его суперэкспрессия у трансгенных животных улучшает сердечную функцию, поддерживает выздоровление и уменьшает размеры инфарктных зон после экспериментальной ишемии/реперфузии [5, 6].

Что касается особенностей экспрессии основного митохондриального шаперона Hsp60, обладающего потенциальным антиапоптотическим действием, то тут наши знания ограничены. Более того, большинство исследований по изучению роли шаперонов при кардиоваскулярных патологиях проведены в условиях острого стресса [2]: практически нет данных об особенностях экспрессии HSPs при хроническом сердечном стрессе, то есть при патологиях, подобных кардиомиопатиям.

Ранее нами показано, что при развитии дилатационной кардиомиопатии (ДКМ) — аутоиммунной кардиоспецифической патологии с митохондриальной дисфункцией — увеличивается иммунореактивность мажорного белка миокарда (миозина) и регуляторных белков миофибриллы (тропонин). Это проявляется в увеличении титра специфических аутоантител и одновременном снижении АТРазной активности актомиозина, выделенного из пораженного ДКМ миокарда [7—9]. Известно, что при патологиях с митохондриальной дисфункцией (к их числу относятся и кардиомиопатии) наблюдаются мутации в митохондриальной ДНК. Это приводит к нарушению функционирования белкового аппарата митохондрий, цикла окислительного фосфорилирования, нарушению импорта митохондриальных белков из цитоплазмы, накоплению активных радикалов кислорода и, как следствие, к индукции апоптоза и гибели клеток-мишеней [10].

Эти результаты и опубликованные недавно данные о кардиопротекторной и антиапоптотической активности некоторых шаперонов (в частности, Hsp70 и Hsp60) при ишемическом поражении миокарда [11, 12] позволили нам предположить, что изменение экспрессии и/или активности молекулярных шаперонов вносит заметный вклад в развитие такой тяжелой сердечной патологии, как ДКМ. Особый интерес в этой связи представляет Hsp60 как основной фактор не только корректного фолдинга и нормального функционирования митохондриальных белков, но и потенциальный антиапоптотический белок цитоплазмы кардиомиоцитов.

С другой стороны, вследствие митохондриальных дефектов, приводящих к накоплению реактивных радикалов кислорода (ROS), поражается сердечная мышца, что в норме должно регулироваться нормальной экспрессией и активностью тех же молекулярных шаперонов. Показано, что существенный вклад в продукцию ROS вносит P450 — цитохром-монооксигеназная система. Изоформа цитохрома P450 2E1 (Cyp 2E1) обладает уникальной способностью генерировать активные формы кислорода даже в отсутствие субстрата [13]. Ее экспрессия отмечена в печени, сердце, легких, поджелудочной железе, мозге и кишечнике [14, 15]. Экспрессия P450 2E1 возрастает в несколько раз при таких патологиях, как сахарный диабет, цирроз печени, ожирение, голодание. P450 2E1 метаболизирует ряд ксенобиотиков, протоксиканов и проканцерогенов, превращая их в мутагены и канцерогены [16], что может способствовать развитию заболеваний, в частности, сердечно-сосудистых.

В связи с вышеизложенным изучение особенностей экспрессии шаперона и цитохрома P450 2E1, а также выявление их функциональной взаимосвязи позволят приблизиться не только к пониманию молекулярных механизмов развития ДКМ, но могут стать и реальной базой для разработки нового поколения диагностических и терапевтических средств.

Материалы и методы. В работе использованы образцы секционного патоморфологического материала из левых желудочков трех миокардов, пораженных ДКМП, пяти миокардов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и трех миокардов практически здоровых людей, погибших в результате несчастного случая. Диагнозы ставили на основе критериев ВОЗ для данной группы патологий.

Сыворотки крови пациентов хранили в 50 %-м глицерине при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. В качестве контрольных использовали тестированные сыворотки здоровых доноров.

Рекомбинантный белок GroEL (прокариотный гомолог эукариотного шаперона Hsp60) выделен по методу [17].

Поликлональные моноспецифические антитела получены по описанному нами методу [18]. Антитела последовательно очищали градиентным высаливанием, хроматографией на DE-Тоуорpearl 650 M-целлюлозе, белок G-сэфарозе и аффинной колонке с конъюгированным на CNBr-активированной сэфарозе 4В антигеном.

Модель аутоиммунного миозин-индуцированного поражения миокарда мышцей, подобного ДКМ человека, получена согласно [9].

Иммунохимический перекрест анти-Hsp60- и

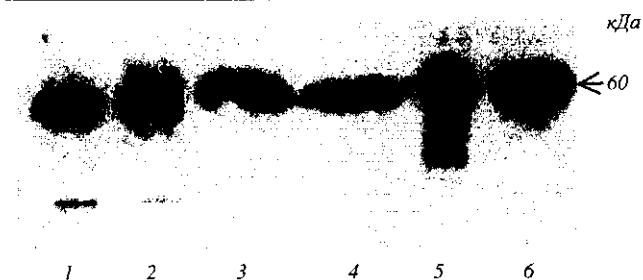


Рис. 1. Иммунохимический перекрест анти-GroEL антител в лизатах мышечного (1), кроличьего (2), бычьего (3) и человеческого (4) миокардов (образцы левых желудочков) и клеток *Escherichia coli* (5), определенный методом иммуноблоттинга; 6 — контрольный белок Hsp60. Условия эксперимента см. в «Материалах и методах»

анти-P450 2E1 антител в лизатах эукариотных клеток и миокардов (от мыши до человека) определяли с помощью метода иммуноблоттинга (Western-blot-analysis) согласно [19], используя протокол фирмы «Pierce» (США) для ECL-системы.

Цитоплазматическая постмитохондриальная и постмикросомная фракции кардиомиоцитов получены по методу [20] с использованием лизирующего буфера RIPA и градиентного центрифугирования лизата при 10000 *g* (выделение митохондрий) и 100000 *g* (осаждение микросомной фракции).

Чистоту белков контролировали электрофорезом в 12 %-м ПААГ в денатурирующих условиях по Лэммли [21]. Концентрацию белков измеряли по методу Брэдфорда [22].

Результаты и обсуждение. Использовали поликлональные антитела, полученные против рекомбинантных бактериального (GroEL) гомолога шаперона млекопитающих Hsp60 и мышечного аналога цитохрома P450 2E1. Несмотря на высокую гомологию как шаперонов семейства Hsp60 различных видов, так и цитохромов семейства P450 2E1, нам необходимо было доказать правомочность использования этих антител при работе с образцами эукариотных клеток и тканей. Данные по исследованию иммунореактивности моноспецифических анти-Hsp60 антител, определенные иммуноблоттингом в лизатах миокардов разных видов (от мыши до человека), приведены на рис. 1. Видно, что анти-Hsp60 антитела узнают полипептид с м. м. около 60 кДа в лизатах миокардов всех исследованных видов. Отметим, что в работе использованы образцы секционного материала только левых желудочков миокардов как болезнеспцифического для ДКМ, что было показано нами ранее [7].

Результаты исследования экспрессии шаперона и цитохрома P450 2E1 в различных фракциях (цитоплазматической, митохондриальной и микросомной) миокарда, пораженного ДКМ, ишемиче-

ского и нормального сердца представлены на рис. 2 и 3. Цитоплазматический уровень шаперона (в норме не более 15 % клеточного содержания), основного фолдингового белка митохондрий, драматически снижается в ДКМ- и ишемическом миокардах по сравнению с нормой. Содержание же его в митохондриях всех исследованных миокардах повышалось именно в сердце, пораженном ДКМ.

Изучение экспрессии цитохрома P450 2E1 в ДКМ миокарде показало, что содержание данного белка в митохондриальной фракции как минимум в 2 раза выше, чем в ишемическом миокарде, и существенно выше, чем в нормальном сердце. С другой стороны, в пораженных ДКМ и ИБС миокардах отмечено повышение цитохрома 2E1 в цитоплазматической фракции кардиомиоцитов по сравнению с нормой. Накопление цитохромов в цитоплазме (что показано, в частности, для цитохрома C) может служить маркером окислительного поражения кардиомиоцитов, индуцирующего апоптоз в клетках сердечной мышцы [2, 6].

Ранее нами обнаружено существенное снижение уровня экспрессии основного цитоплазматического шаперона Hsp70 [23], который считается основным кардиопротекторным белком клеток сердца. Учитывая опубликованные недавно данные об участии молекулярных шаперонов в презентации внутриклеточных антигенов [24] и о способности самих кардиомиоцитов презентировать внутриклеточные антигены, мы предположили, что нарушение экспрессии шаперонов может быть ключевым механизмом как в поражении кардиомиоцитов при продолжительном стрессе (в случае ДКМ), так и в индукции аутоиммунного процесса. Последнее подтверждается высоким уровнем аутоантител к кардиоспецифическим антигенам (миозину и тропонинам), что было показано нами в предыдущих исследованиях [7—9] (рис. 4).

Недавно сообщено о результатах исследования экспрессии шаперонов разных семейств в биопсийных образцах миокардов, полученных от пациентов с острой сердечной недостаточностью (ДКМ), по сравнению с таковыми из нормального и ишемического миокардов [25]. Показано повышение уровня экспрессии Hsp60 в ДКМ и в ИБС миокардах по сравнению с нормой в части образцов, хотя не было отмечено позитивной корреляции с экспрессией других семейств шаперонов (Hsp27, Hsp70, Hsp90). Авторы высказали предположение о том, что эти расхождения могут быть связаны как с несовершенством экспериментальных подходов (в частности, недостаточная чувствительность метода иммуноблоттинга и ограниченное количество биопсийного материала), так с индивидуальными осо-

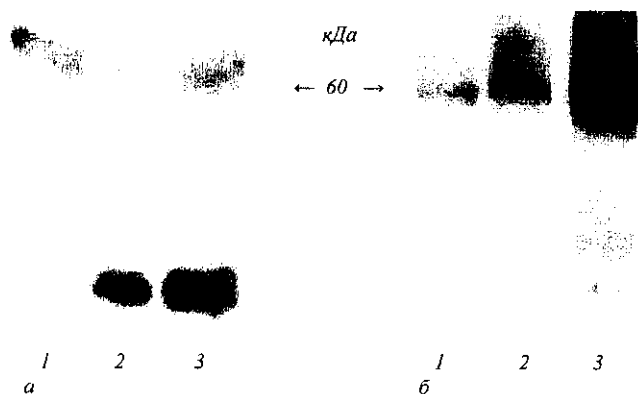


Рис. 2. Экспрессия Hsp60 в цитоплазматической (а) и митохондриальной (б) фракциях, выделенных из нормального (1), ишемического (2) и дилатационного (3) миокардов (образцы левых желудочков), определенная методом иммуноблоттинга. Условия эксперимента см. в «Материалах и методах»

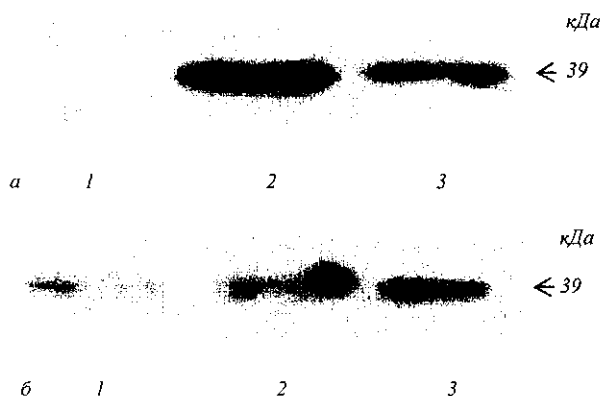


Рис. 3. Экспрессия P450 2E1 в цитоплазматической (а) и микросомной (б) фракциях, выделенных из нормального (1), дилатационного (2) и ишемического (3) миокардов (образцы левых желудочков), определенная методом иммуноблоттинга. Условия эксперимента см. в «Материалах и методах»

бенностями антистрессового ответа организмов разных пациентов. Подчеркивается, что изменения экспрессии шаперонов в миокарде при хроническом стрессе, приводящем к развитию сердечной недостаточности, особенно при ДКМ, тесно связаны со снижением антиапоптотического потенциала миокарда. Это проявляется в митохондриальных дефектах, ведущих к развитию аутоиммунных процессов, а также к запуску апоптотической гибели кардиомиоцитов с последующим фиброзом сердечной мышцы.

В наших исследованиях использован секционный патоморфологический материал миокардов, пораженных ДКМ, ИБС, и нормального миокарда. Это позволило провести исследования не только на тотальном тканевом лизате, но и выделить отдельные клеточные органеллы (цитоплазму, митохондрии и микросомы), что важно при работе с белками

типа шаперонов, функционирование которых строго компартментализовано. Результаты количественного изучения методом иммуноблоттинга особенностей экспрессии Hsp60 подтверждаются недавно полученными нами данными иммуногистохимического анализа по локализации Hsp60 в динамике на разработанной нами уникальной модели [26] аутоиммунного миозин-индуцированного поражения миокарда мышей, подобного ДКМ человека (неопубликованные данные).

Известные на сегодня литературные данные совместно с нашими результатами позволяют сформулировать рабочую гипотезу развития ДКМ как следствие нарушения антистрессовых и антиоксидантных механизмов миокарда (рис. 5). С нашей точки зрения, повышение активности цитохрома P450 2E1 вызывает нарушение цикла окислительного фосфорилирования, ведущего к накоплению радикалов активного кислорода. Это приводит как к дисфункции митохондрий, так и к накоплению мутантных белков. Аккумуляция мутантных белков является стрессовым сигналом, индуцирующим повышение уровня экспрессии митохондриального шаперона Hsp60 и снижение экспрессии в цитоплазме Hsp70, которые в норме являются основными апоптотическими и кардиопротекторными шаперонами кардиомиоцитов. Нарушения корректного фолдинга заново синтезированных полипептидов, появление неправильных или агрегированных форм белков вследствие изменения фолдинговой активности шаперонов являются сигналом для иммунной системы, начинающей распознавать собственные антигены как чужие.

Презентация кардиомиоцитами мутантных белков может быть ключевым моментом запуска аутоиммунных процессов, усугубляющих развитие болезни. Является ли окислительное поражение (за счет мутаций в геноме митохондрий) первичным пусковым моментом каскада событий, приводящих к сердечной недостаточности при ДКМ, либо же оно есть следствием нарушения экспрессии молекулярных шаперонов, регулирующих фолдинг и активность других белков миокарда (в том числе и P450 2E1)? Выяснение этого вопроса и составляет цель наших дальнейших исследований. Мы полагаем, что успехи в этом направлении приблизят нас не только к пониманию молекулярных механизмов развития ДКМ, но и помогут создать реальную базу для разработки терапевтических и диагностических средств нового поколения.

Справедливость высказанной гипотезы и правомерность ее распространения на другие кардиоваскулярные патологии с аутоиммунными и митохондриальными дисфункциями может быть под-

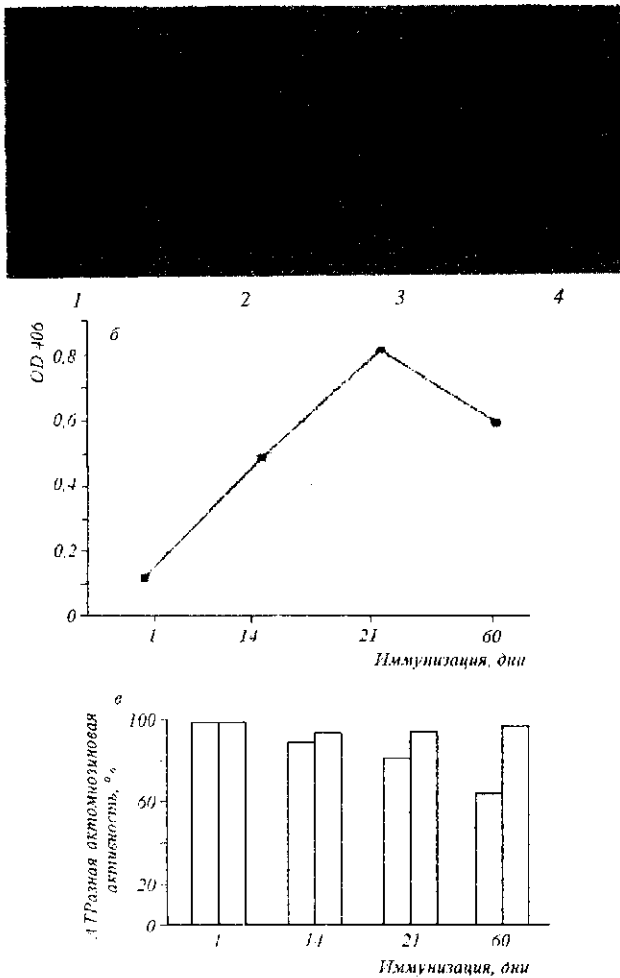


Рис. 4. Динамика экспрессии Hsp70 на мышинной модели кардиомиопатии, определенная методом иммуноблоттинга (а), и иммунореактивность сывороток модельных мышечей против миозина миокарда мышечей, определенная в реакции твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) (б), а также АТФазная активность актомиозина мышечного миокарда на разных временных точках развития экспериментальной патологии (в)

тверждена не только на конечной стадии сердечной недостаточности, но и в динамике на животных моделях кардиоваскулярных патологий.

Авторы выражают благодарность М. И. Вудмаске за техническое содействие в получении рекомбинантного белка P450 2E1.

L. I. Sidorik, V. I. Bobyk, R. G. Kyamova, L. N. Kapustjan, O. T. Rozhko, O. G. Vigontina, D. V. Ryabenko, I. M. Danko, O. V. Maksymchuk, V. V. Filonenko, V. N. Kovalenko, N. A. Chaschin

Peculiarities of antistress proteins Hsp60 and P450 2E1 expression at dilated cardiomyopathy

Summary

The data concerning peculiarities of abundant mitochondrial chape-

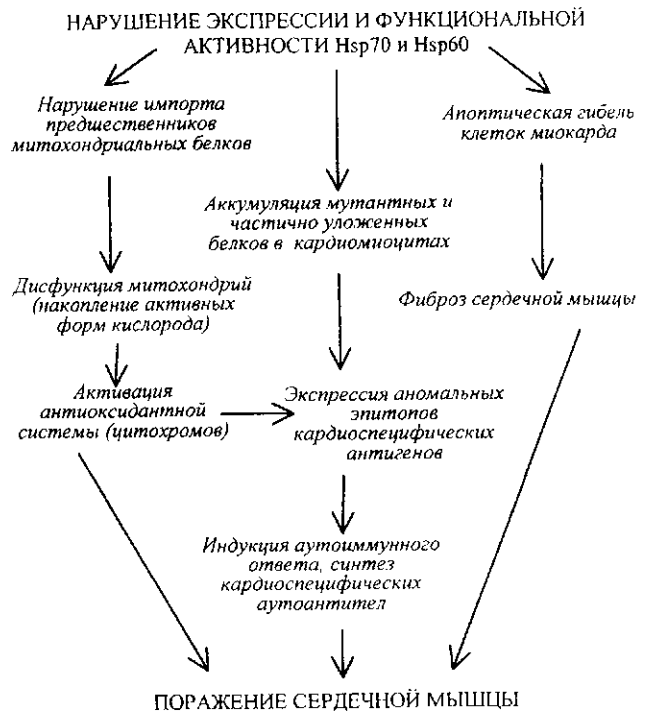


Рис. 5. Рабочая гипотеза функциональной взаимосвязи анти-стрессовых (шапероны) и антиоксидантных (цитохромы) систем в развитии ДКМ

ron Hsp60 and main microsomal cytochrome P450 monooxygenase (2E1 isoform) expression at dilated cardiomyopathy (DCM) progression at the end stage of heart failure have been obtained using Western-blot analysis. The ischemic and normal human hearts were studied as a control. We observed a decrease in Hsp60 level in cytoplasmic fraction of DCM- and ischemia-affected hearts' left ventricular and significant increase in Hsp60 in mitochondrial fractions of all the hearts investigated. At the same time we detected an increase in P450 2E1 expression level in the ischemic and dilated hearts' cytoplasmic fractions in comparison with the normal myocardium while no changes in microsomal fractions of the hearts investigated were detected. This could be related to the increased level of oxidative injury of DCM heart muscle. In addition, all changes described are accompanied by a significant decrease in the ATPase activity of myosin purified from the DCM-affected heart in comparison with the normal and ischemic myocardia as well as an increase in specific antimyocardial autoantibodies level in DCM patients sera. The working hypothesis concerning functional relationship between the antistress (HSPs) and antioxidative (cytochromes) systems at DCM progression is proposed.

Л. Л. Сидорик, В. І. Бобик, Р. Г. Киямова, Л. Н. Капустян, О. Т. Рожко, О. Г. Вігонтіна, Д. В. Рябенко, І. М. Данко, О. В. Максимчук, В. В. Філоненко, В. Н. Коваленко, М. О. Чащин

Вивчення особливостей експресії антистресових білків Hsp60 і P450 2E1 при дилататійній кардіоміопатії

Резюме

Представлено отримані вперше результати вивчення особливостей експресії мажорного шаперона митохондрій Hsp60 і основного мікросомного цитохрому людини — монооксигенази

P450 (ізоформа 2E1) при розвитку дилатаційної кардіоміопатії (ДКМ) на кінцевій стадії захворювання за допомогою методу імуноблотингу (Western-blot). Як контрольні зразки використовували ішемічний і нормальний міокарди людини. Виявлено зниження рівня експресії Hsp60 у цитоплазматичній фракції лівих шлуночків міокардів, уражених ДКМ та ішемією, і підвищення його в мітохондріях досліджуваних міокардів. У той же час відмічено зростання рівня експресії P450 2E1 у цитоплазматичній фракції ДКМ- та ішемічного міокардів порівняно з нормальним; у мікросомній фракції усіх досліджуваних зразків ніяких змін рівня експресії цитохрому P450 2E1 не знайдено. Це може бути пов'язано з високим рівнем окислювального ураження серцевого м'яза при розвитку ДКМ. Показано, що зміна рівня експресії антистресових білків (молекулярних шаперонів і мікросомних цитохромів) супроводжується значним зниженням рівня АТРазної активності міозину ДКМ-ураженого міокарда порівняно з нормальним і ішемічним міокардами, а також підвищенням рівня специфічних антиміокардальних аутоантитіл у сироватці крові пацієнтів з ДКМ. Висунуто гіпотезу щодо функціонального взаємозв'язку між антистресовою (HSPs) і антиоксидантною (цитохром-монооксигеназа) системами міокарда при розвитку ДКМ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Gething M. J., Sambrook J. Protein folding in the cell // *Nature*.—1992.—355.—P. 33—45.
- Benjamin I. J., McMillan D. R. Stress (heat shock) proteins. Molecular chaperons in cardiovascular biology and diseases // *Circ. Res.*—1998.—83.—P. 117—132.
- Thomas P. J., Qu B. H., Pedersen P. L. Defective protein folding as a basis of human disease // *TIBS*.—1995.—N 20.—P. 456—459.
- Linquist S., Craig E. A. The heat-shock proteins // *Ann. Rev. Chem.*—1998.—22.—P. 631—672.
- Donnelly T. J., Sievers R. E., Vissein F. L., Welch W. J., Wolfe C. L. Heat shock protein induction in rat hearts: a role for improved myocardial salvage after ischemia and reperfusion // *Circular*.—1992.—85.—P. 769—776.
- Snoeckx L. H. E. H., Cornelusson R. N., Van Nieuwenhoven F. A., Reneman R. S., Van der Vusse G. J. Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology // *Physiol. Rev.*—2001.—N 8.—P. 1461—1497.
- Sidorik L., Rodnin N., Bobyk V., Ryabenko D., Veberov A., Tkachenko T. Investigation of autoantibodies directed against tissue-specific myocardial antigens at dilated cardiomyopathy // *Биополимеры и клетка*.—1995.—11, № 1.—С. 81—87.
- Федоркова О. М., Сидорик Л. Л., Бобык В. И., Ковеня Т. В., Рябенко Д. В., Трегунов В. С., Данилова В. М., Мацука Г. Х. Изучение молекулярных механизмов функционирования кардиомиоцита при дилатационной кардиомиопатии на реконструированной сердечной миофибрилле // *Биополимеры и клетка*.—2000.—16, № 5.—С. 425—429.
- Рябенко Д. В., Сидорик Л. Л., Бобык В. И., Сергиенко О. В., Федоркова О. М., Трунина И. В., Мацука Г. Х. Морфологические особенности аутоиммунного поражения миокарда, вызываемого различными миокардиальными антигенами человека: сравнительное экспериментальное исследование // *Укр. ревматол. журн.*—2000.—1, № 2.—С. 55—60.
- Luft R. The development of mitochondrial medicine // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1994.—91.—P. 8731—8738.
- Radford N. B., Fina M., Benjamin I. J., Moreadith R. W., Graves K. H., Zhao P., Gavva S., Wiethoff A., Sherry A. D., Malloy C. R., Williams R. S. Cardioprotective effects of 70-kDa heat shock protein in transgenic mice // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1996.—93.—P. 2339—2342.
- Kirchoff B. A., Gupta S., Knowlton A. A. Cytosolic heat shock protein 60, apoptosis and myocardial injury // *Circular*.—2002.—105, N 2.—P. 2899—2904.
- Novak R. F., Woodcroft K. J. The alcohol-inducible form of cytochrome P450 (Cyp 2E1): role in toxicology and regulation of expression // *Arch. Pharm. Res.*—2000.—23, N 1.—P. 267—282.
- Ingelman-Sundberg M., Johanson I., Yin H., Terelius Y., Eliasson E., Clot P., Albano S. Ethanol-inducible cytochrome P450 2E1: genetic polymorphism, regulation, and possible role in the etiology of alcohol-induced liver disease // *Alcohol*.—1993.—N 10.—P. 447—452.
- Thum T., Borlak J. Gene expression in distinct regions of the heart // *Lancet*.—2000.—355.—P. 979—983.
- Lieber C. S. Cytochrome P450 2E1: its physiological and pathophysiological role // *Physiol. Rev.*—1997.—77.—P. 517—544.
- Vigontina O. G., Efimenko O. A., Yakovenko L. F., Kyuyamova R. G., Filonenko V. V., Gout I. T., Ros N. V., Kosey N. V., Tatarchuk T. F., Sidorik L. L., Matsuka G. Kh. Shaperon Hsp60 as autoantigen at development of dys hormonal breast diseases // *Эксперим. онкология*.—2002.—24, № 2.—С. 112—115.
- Sidorik L. L., Gudzera O. I., Dragovoz V. A., Tukalo M. A., Beresten S. F. Immunochemical non-cross-reactivity between eukaryotic and prokaryotic seryl-tRNA synthetases // *FEBS Lett.*—1991.—292, N 1, 2.—P. 76—78.
- Guilbert B., Dihiero G., Avrameas S. Naturally occurring antibodies against nine common antigen in human sera. I. Detection, isolation and characterization // *J. Immunol.*—1982.—128.—P. 2779—2787.
- Sidorik L., Rybkinska T., Bakhiya N., Rodnin N., Filonenko V., Entelis N., Martin R., Tarassov I., Matsuka G. Kh. The immunochemical cross-reactivity between cytoplasmic and mitochondrial mammalian lysyl-tRNA synthetases // *Биополимери і клітина*.—2001.—17, № 5.—С. 363—368.
- Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of bacteriophage T4 // *Nature*.—1970.—227, N 52.—P. 680—685.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding // *Anal. Biochem.*—1976.—86, N 1.—P. 193—200.
- Коваленко В. Н., Рябенко Д. В., Сидорик Л. Л., Федоркова О. М., Бобык В. И., Капустян Л. Н. Дилатационная кардиомиопатия: снижение уровня экспрессии шаперона Hsp70 в цитоплазме и митохондриях миокарда // *Кардиология СНГ*.—2003.—1, № 1.—С. 78—83.
- Li Z., Menoret A., Srivastava P. Role of heat-shock proteins in antigen presentation and cross-presentation // *Curr. Opin. Immunol.*—2002.—14.—P. 45—51.
- Knowlton A. A., Kapadia S., Torre-Amione G., Durand J.-B., Bies R., Young J., Mann D. Differential expression of heat shock proteins in normal and failing human hearts // *J. Mol. Cell Cardiol.*—1998.—30.—P. 811—818.
- Сидорик Л. Л., Дубей И. Я., Бобык В. И., Козлов А. В., Федоркова О. М., Ковеня Т. В., Рябенко Д. В., Сергиенко О. В., Трунина И. В., Погребной П. В., Мацука Г. Х. Эффекты профилактического действия различных доз 2'-5'-олигодендрата при экспериментальном миозин-индуцированном поражении миокарда // *Доп. НАН України*.—2001.—№ 10.—С. 171—174.

УДК 616.127-007.64:612.017
Надійшла до редакції 01.12.03