

УДК 616-097.3

© Колектив авторів, 2013.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ АНТИ-HSP60 АНТИТІЛ В СИРОВАТЦІ КРОВІ НОВОНАРОДЖЕНИХ З ВРОДЖЕНОЮ ВАДОЮ СЕРЦЯ ПІСЛЯ ТРАНСФУЗІЇ АУТОЛОГІЧНОЇ ПУПОВИННОЇ АБО КОМПОНЕНТІВ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ

¹ Я.В. Ткаченко, ² Л.Ф. Яковенко, ¹Г.М. Воробйова, ²Л.Л. Сидорик, ¹І.М. Ємець

¹ДУ «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України»;

² Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, (м. Київ).

EVALUATION OF ANTI-HEAT SHOCK PROTEIN 60 (HSP60) ANTIBODIES IN THE SERUM OF NEWBORNS WITH CONGENITAL HEART DISEASE AUTOLOGOUS UMBILICAL CORD BLOOD WAS APPLIED

Y. V. Tkachenko, L.F. Yakovenko, L. L. Sidoryk, G.M. Vorobyova, I.M. Yemets

SUMMARY

Anti-Hsp60 antibodies has been detected in the plasma of most clinically healthy donors. It has been shown that newborns with congenital heart disease had the same levels of anti-Hsp60 antibodies that their mothers. In neonates who underwent corrective surgery for congenital heart defects using autologous umbilical cord blood serum levels of anti-Hsp60 antibodies decreased significantly in the postoperative period. Among those neonates in whom donor blood was used during surgery significantly increased levels of anti-Hsp60 antibodies in serum were documented in 35% of patients.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АНТИ-HSP60 АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА ПОСЛЕ ТРАНСФУЗИИ АУТОЛОГИЧЕСКОЙ ПУПОВИННОЙ ИЛИ КОМПОНЕНТОВ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

Я.В. Ткаченко, Л.Ф. Яковенко, Л.Л. Сидорик, А.М. Воробьева, И.Н. Емец

РЕЗЮМЕ

Анти-Hsp60 антитела детектируются у всех клинически здоровых лиц, а их содержание широко варьирует. Установлено, что новорожденные с ВПС имеют те же титры анти-Hsp60 антител, что и их матери. Новорожденные с ВПС, которым во время операции на сердце, переливалась аутологическая пуповинная кровь, имели снижение анти-Hsp60 антител в сыворотке крови после операции. Среди новорожденных с ВПС, которым во время операции использовали компоненты донорской крови, 35% пациентов, после операции имели достоверное повышение исследуемых аутоантител в сыворотке крови.

Ключові слова: пуповинна кров, анти-Hsp60 антитіла, вагітні, вроджені вади серця, трансфузія.

В Україні народжується близько 5тис. дітей із вродженими вадами серця. Неонатальна кардіохірургія складних вроджених вад серця (ВВС) потребує невідкладної операції із штучним кровообігом (ШК) та використанням алогенної донорської крові, яка є фізіологічно несумісною з організмом новонародженого за рахунок вікової різниці її молекулярно-біологічного складу. Переливання донорської крові асоційовано з ризиком імунологічних, інфекційних та алергічних ускладнень [1]. Сучасна медицина спрямована на розвиток методів обмеження використання донорської крові під час екстракорпорального кровообігу. В літературі відображені роботи застосування аутологічної пуповинної крові в лікуванні анемії, та при інших патологіях [4].

В науково-практичному центрі дитячої кардіології та кардіохірургії з 2009 по 2012 рік включно, було проведено оперативні втручання новонародже-

ним із складними ВВС із застосуванням власної пуповинної крові під час штучного кровообігу. Проводились дослідження стану імунної системи новонароджених з ВВС після аутогемотрансфузії, авторами було продемонстровано позитивний вплив власної пуповинної крові на імунну систему пацієнтів, в порівнянні із донорською кров'ю [2].

В розвитку імунологічних порушень беруть участь біологічні речовини, які надходять в організм із чужорідною кров'ю. В світі сучасного розвитку діагностики та лікування різних захворювань і досягнень у вивченні патофізіології основних систем організму особливо актуальним стає пошук нових маркерів прогнозування результату хвороб, та післяопераційного перебігу. Це і визначає величезний інтерес до ендогенних систем захисту, однією з яких є система білків теплового шоку або стрес-білків. Вважають, що в організмі ссавців не розвивається

імунологічна толерантність по відношенню до білків теплового шоку (HSP), які є внутрішньоклітинними білками. HSP та їх пептиди розглядають в якості антигенів для імунної системи, які можуть індукувати утворення аутоантитіл. Джерелами HSP, доступних для контакту з HSP-реактивними Т-клітинами, можуть бути HSP мікроорганізмів, які є імунодомінантними білками при інфекціях, входять до числа бактеріальних антигенів, проти яких утворюються антитіла. Внаслідок високого ступеня консервативності структури HSP нижчих і вищих організмів утворилися антитіла, які можуть призводити до перехресних реакцій з HSP клітин організму, тобто брати участь в патогенезі ряду хронічних аутоімунних захворювань [5].

У здорових людей в крові постійно присутні природні аутоантитіла, аутореактивні В та Т-клітини, які є частиною аутореактивного репертуару здорової імунної системи [6]. В даний час механізм появи, функціональне значення антитіл до HSP у тварин і людини в нормі, їх можлива захисна роль і шкідлива дія при патології не вивчені. Однак є роботи [7], в яких виказується думка, що підвищена кількість антитіл до HSP, в сироватці крові, ймовірно, може свідчити про перенесені інфекції, стресорних впливах, про наявність аутоімунних захворювань або схильності до них.

Yokota та співавторами [8] встановлено, що аутоантитіла до Hsp60 можуть викликати судинні запальні реакції і відповідно сприяють розвитку хронічних дисфункцій ендотелію з дестабілізацією коронарного атеросклерозу. Відповідно великі титри Hsp60 та анти-Hsp60 аутоантитіл детектувались в зразках крові хворих на гострий коронарний синдром, та у пацієнтів з хронічними захворюваннями серця [9]. Існуючі одиничні дослідження по Hsp60 показують що, після хірургічного втручання підвищений вміст даного білка спостерігається у циркуляції [10], де на нього виробляються аутоантитіла. Експериментальні дослідження [11] показали, що моноклональні анти-Hsp60 антитіла здатні підсилювати запальні реакції, викликані екстрацелюлярним Hsp60, у тому числі продукцію прозапальних цитокінів (ФНП- α та ІЛ-8).

Метою роботи було порівняльне дослідження вмісту анти-Hsp60 антитіл у сироватці крові новонароджених з ТМС, яким під час операції переливали аутологічну пуповинну, або компоненти донорської крові. Співставити кількісний вміст анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові вагітних із пренатально діагностованою вродженою вадою серця плоду із кількісним вмістом цих антитіл у їх новонароджених дітей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Новонароджені з ВВС - 2 групи: 1-а група 42 пацієнта яким під час операції із штучним кровообігом (ШК) переливалась аутологічна пуповинна

кров, 2-а група 60 пацієнтів з перелитою під час операції донорською кров'ю. Здорові новонароджені – 23п. Вагітні жінки з пренатально діагностованою вродженою вадою серця плоду – 91п. Здорові жінки донори – 25п.

Рівень IgG анти-Hsp60 антитіл у зразках сироватки крові визначали методом ELISA з модифікаціями. В якості антигена використовували рекомбінантний білок GroEl Escherichia coli (прокаріотний гомолог Hsp60 людини). Одержання та очистку рекомбінантного білка GroEl E.coli проводили за розробленою методикою [3]. Як позитивний контроль використовували поліклональні антитіла до GroEl E.coli. Антитілопозитивною вважали сироватку, оптична густина якої у розведенні 1:50 перевищувала середнє значення оптичної густини на 2 стандартних відхилення ($m+2sd$). Всі досліджувані сироватки було проскриновано на наявність анти-Hsp60 антитіл одночасно (5 відтворюваних повторів).

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою пакету програм STATISTICA 8.0 (Stat-Soft, 2007, США). Результати представлено у вигляді середніх значень (m) з вказівкою на стандартне відхилення (sd). Для порівняння середніх значень досліджуваних груп використовували U-критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test). Для перевірки відмінностей між двома вибірками парних вимірювань використовували Wilcoxon signed-rank test. Критерій призначений для зіставлення показників, вимірюваних в двох різних умовах на одній і тій же вибірці випробуваних. Він дозволяє встановити не тільки спрямованість змін, але і їх вираженість, тобто, здатний визначити, чи є зрушення показників в одному напрямку більш інтенсивним, ніж в іншому.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Новонародженим з ТМС була проведена операція «Аортальне переключення» по усуненню вади. В 1-й групі новонароджених під час операції зі штучним кровообігом (ШК) використовували цільну власну пуповинну кров, 2-й групі пацієнтів операція проводилася за стандартною методикою, під час ШК застосовувались компоненти донорської крові. Як показали наші дослідження, для проведення операції «Аортальне переключення» новонародженим 1-ї групи вистачало зібраної під час пологів кількості їх власної пуповинної крові (80-100 мл), в той час як новонародженим 2-ї групи за стандартною методикою переливали більшу кількість донорської крові (130,5+52,6 мл), тим самим відбувалось практично повне заміщення фетальної крові в дитячому організмі на дорослу.

Обстежено 91 вагітну з пренатально встановленою вродженою вадою серця плоду на 36-37 тижні вагітності на наявність анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові (Рис. 1.) Встановлено - 30% обстежених з високим вмістом анти-Hsp60 антитіл в сироватці

крові. Після родорозрішення проскриновано сироватку крові новонароджених. Рівні анти-Hsp60 антитіл у вагітних були співставними з такими у їх новонароджених дітей. Тобто всі новонароджені

мали той самий титр анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові, як і їх матері, що свідчить про передачу анти-Hsp60 антитіл (IgG) від матері до дитини через плаценту.

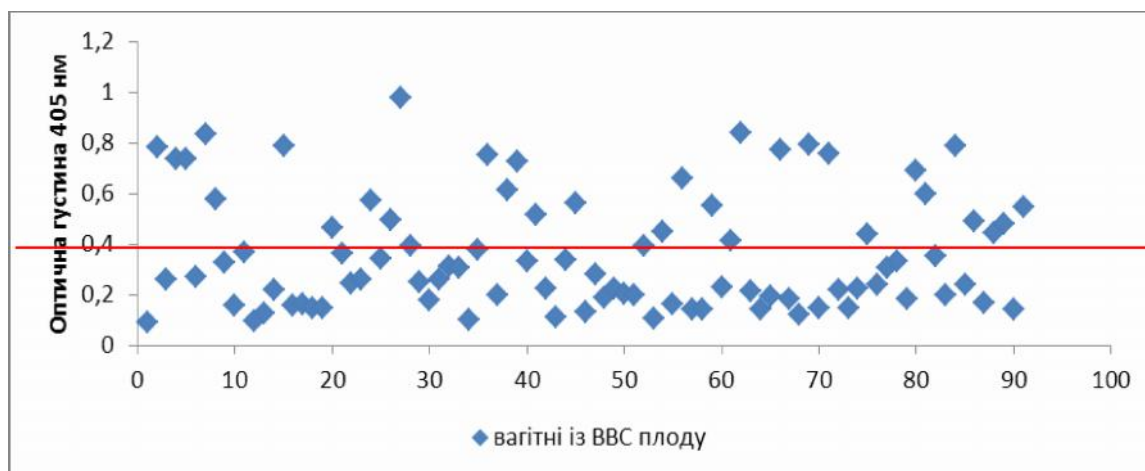


Рис.1. Анти-Hsp60 антитіла в сироватці крові вагітних із пренатально діагностованою вродженою вадою серця плоду. Анти-Hsp60 позитивною (червона) вважали сироватку, оптична густина якої перевищувала середнє значення оптичної густини на 2 стандартних відхилення ($m+2sd$).

Обстежено 23-х клінічно здорових новонароджених на наявність анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові, які були взяті за контроль. Середнє значення оптичної густини анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові здорових новонароджених плюс два стандартних відхилення ($m+2sd$) зараховувалися як анти-

тілопозитивні.

Проведено порівняльне дослідження вмісту анти-Hsp60 антитіл у 2-х групах новонароджених з ТМС, яким переливали пуповинну або донорську кров, в динаміці, період спостереження 3 роки. Результати представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Частота виявлення пацієнтів з ТМС з підвищеним рівнем анти-Hsp60 антитіл (%)

Період спостереження	Кількість антитілопозитивних сироваток крові у новонароджених з ТМС, яким була перелита			
	аутологічна кров (1група)		пуповинна донорська кров (2група)	
	n=35	%	n=48	%
До операції	5	14,28	14	28,2
1 доба після операції	0	0	13	27*
3 доба після операції	3	9,67*	12	25,53*
7 доба після операції	4	14,8*	10	23,8*
3 місяці після операції	0 (n=29)	0	1 (n=10)	10
6 місяців після операції	1 (n=25)	4*	1 (n=10)	10*
1 рік після операції	1 (n=20)	5	1 (n=13)	7,6
1,5 роки після операції	0 (n=3)	0	1 (n=8)	12,5
2 роки після операції	0 (n=7)	0	1 (n=4)	12
3 роки після операції	0 (n=2)	0	0 (n=1)	0

Примітка: * різниця статистично достовірна між досліджуваними групами $p < 0,05$.

Виходячи з даних, представлених в таблиці 1, серед новонароджених з ТМС – які були взяті за 100%, на доопераційному етапі – 14,28% пацієнтів 1-ї групи, та 28,2% пацієнтів 2-ї групи мали антитілопозитивну сироватку до Hsp60. Як ми встано-

вили, анти-Hsp60 антитіла новонароджені отримали трансплацентарно від матері.

Після проведеної операції з використанням аутологічної пуповинної крові на 1-у, 3-ю, 7-у добу в 1-й групі відбувалося зменшення кількості пацієнтів з

високими рівнями досліджуваних аутоантитіл в сироватці крові. Відмічалась від'ємна кореляція на 3-ю добу після операції між кількістю перелитої власної пуповинної крові та рівнями аутоантитіл в сироватці ($r=-0,39$), також між кількістю перелитої пуповинної крові на 1 кг маси тіла дитини та вмістом анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові ($r=-0,42$). Такий показник кореляційного аналізу свідчить про те,

що під час операції з ШК із аутологічною пуповинною кров'ю рівень анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові знижувався, навіть пацієнти з підвищеним вмістом аутоантитіл в плазмі до операції, мали значне їх зниження після операції, що вказує на їх руйнування частково під впливом самого хірургічного процесу та контуру АШК, а можливо під впливом власної пуповинної крові. Рис. 2.

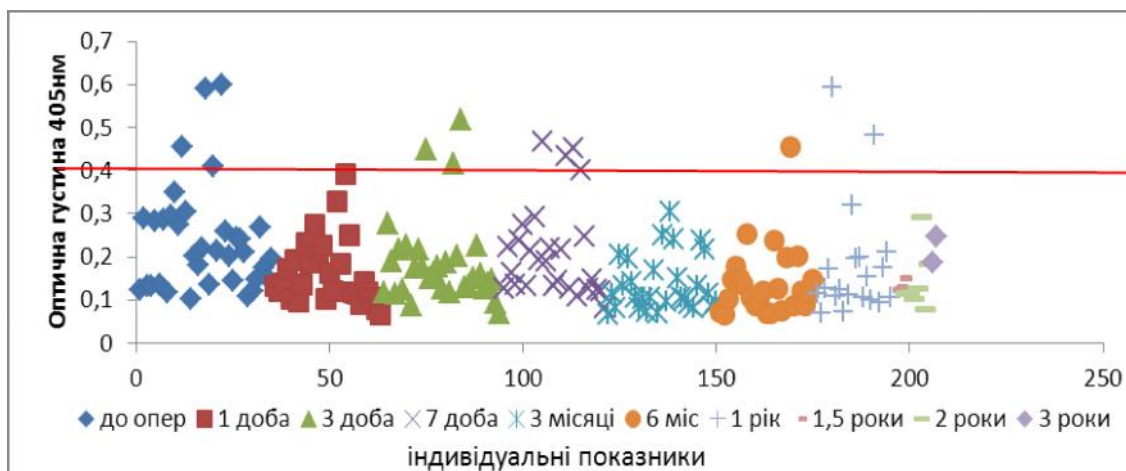


Рис. 2. Динаміка анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові новонароджених з ТМС, яким переливали аутологічну пуповинну кров (індивідуальні показники).

Анти-Hsp60 позитивною (червона лінія) вважали сироватку, оптична густина якої перевищувала середнє значення оптичної густини на 2 стандартних відхилення ($m+2sd$).

На малюнку 2. представлені індивідуальні показники анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові новонароджених з ТМС, яким переливали аутологічну пуповинну кров, до 3-х років спостереження після операції із гемотрансфузією. Слід зазначити, що тільки у деяких серед пацієнтів цієї групи спостерігались підвищені рівні анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові, які згодом знижувались. Для визначення закономірності зниження сироваткових рівнів досліджуваних антитіл використовували критерій

Уилкоксона (Wilcoxon). Цей тест є традиційним непараметричним тестом для порівняння двох залежних вибірок. Він заснований на побудові рангової послідовності абсолютних різниць пар значень. Згідно критерію Уилкоксона виявлено достовірно значиме зменшення рівнів анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові між до операційним та на 1-ю, 3-ю, 7-ю добу після операції (достовірно зниження до 2-х років спостереження), показники тесту представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Визначення закономірності зниження сироваткових рівнів анти-Hsp60 антитіл за критерієм Уилкоксона у групі новонароджених з ТМС яким переливали аутологічну пуповинну кров в динаміці

Достовірно зниження анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові між до та післяопераційними показниками новонароджених з ТМС 1-ї групи	$p < 0,05$ (Wilcoxon)
До операції та 1-а доба після неї	$P=0,00009$
1-а доба та 3-я доба після операції	$P=0,014$
До операції та 7 доба після неї	$P=0,0027$
1-а доба та 7-а доба після операції	$P=0,005$
До операції та 3 місяці після неї	$P=0,0001$
До операції та 6 місяців після неї	$P=0,0006$
До операції та 1 рік після неї	$P=0,021$
До операції та 2 роки після неї	$P=0,027$

Згодом, в процесі розвитку дитини, зіткнення з навколишньою мікрофлорою, перенесеними захворюваннями накопичуються власні - набуті аутоан-

титіла до Hsp60, які довготривало персистують в організмі. Слід відмітити, що в жодного пацієнта 1-ї групи не спостерігалось зростання рівнів анти-

Hsp60 антитіл в післяопераційному періоді на протязі 3-х років спостереження. Але в одного пацієнта цієї групи спостерігався підвищений вміст анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові до операції, який був практично незмінним після операції на протязі року. Тоді як у частини новонароджених, яким пе-

реливали донорську кров, у післяопераційний період, навпаки, зростали рівні анти-Hsp60 антитіл, причому деякі пацієнти, які мали антитілонегативну до Hsp60 сироватку до операції, ставали антитілопозитивними, отримувачи компоненти донорської крові. Рис. 3.

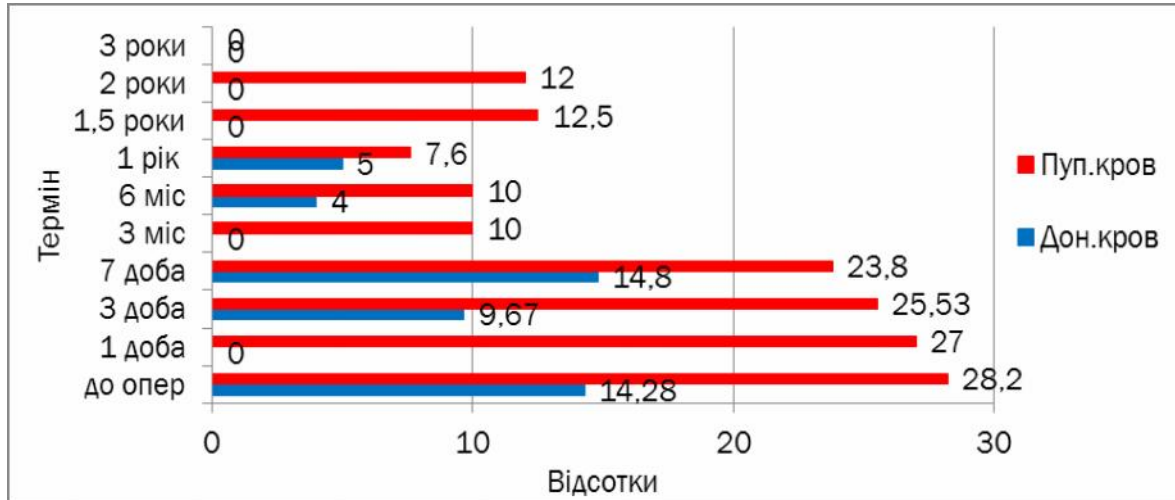


Рис. 3. Динаміка виявлення антитілопозитивної до Hsp60 сироватки крові у новонароджених з ТМС, яким переливали аутологічну пуповинну та компоненти донорської крові.

З іншого боку, в результаті скринінгового аналізу пацієнтів 2-ї групи на наявність досліджуваних нами аутоантитіл після гемотрансфузії, виявилось, що 14,2% новонароджених 2-ї групи мали як на доопераційному етапі, так і після операції з ШК антитілопозитивну до Hsp60 сироватку крові, а у 35,4% дітей, які мали до операції низькі титри анти-Hsp60 антитіл в сироватці, після операції їх рівні достовірно підвищилися до антитілопозитивних, за критерієм Wilcoxon у 2-й групі пацієнтів між рівнями анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові на 3-ю добу після операції та 3-м місяцем після операції $p=0,021$, між 7-ю добою та 6-м місяцем після операції $p=0,017$, між 7-ю добою та 3-м місяцем після операції $p=0,025$. У 35,4% новонароджених з ТМС цієї групи, які мали зростання рівнів анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові після операції, за критерієм Wilcoxона підвищення було достовірним $p=0,00001$

на протязі всього спостереження після операції. Це свідчить за те, що під час операції з ШК дітям було влило донорську кров з високим вмістом анти-Hsp60 антитіл. Раніше, авторами було проведено дослідження по кількісному вмісту анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові здорових донорів, показано, що їх вміст варіювався.

Проведено кореляційний аналіз між кількістю перелитої чужорідної плазми новонародженим 2-ї групи та кількістю анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові пацієнтів 2-ї групи на 1-у та 3-ю добу після операції. Нами виявлено позитивну кореляцію $r=0,37$ (на 1-у добу), $r=0,4$ (на 3-ю добу), тобто чим більшу кількість плазми вливали, тим вищими були рівні анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові новонароджених. На нашу думку, донорська кров є потенційним джерелом анти-Hsp60 антитіл.

Для об'єктивного аналізу отриманих даних

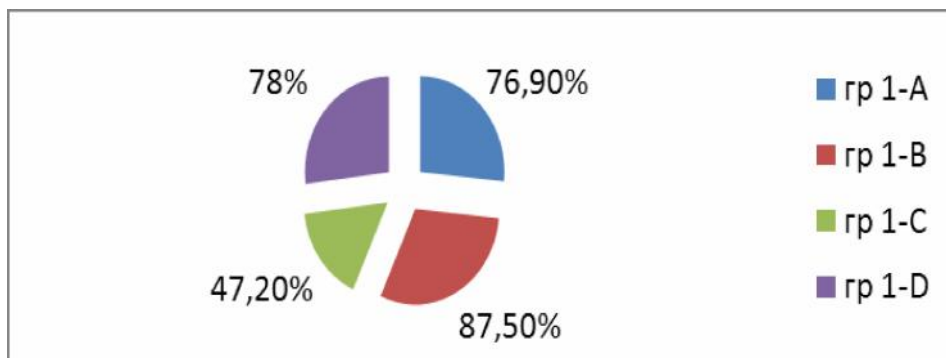


Рис.4. Післяопераційна гіпертермія у пацієнтів з перелитою донорською кров'ю по підгрупах (1-A, 1-B, 1-C, 1-D) з антитілопозитивною, та антитілонегативною до Hsp60 сироваткою крові у відсотках.

пацієнтів 2-ї групи було поділено на підгрупи:

1А- пацієнти, які як до операції, так і після неї мали високі титри анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові;

1В- діти, які до операції мали низькі титри анти-Hsp60 антитіл в сироватці, після операції мали антитілопозитивну сироватку крові;

1С- новонароджені, які як до, так і після операції мали низькі титри анти-Hsp60 антитіл;

1D- діти, які до операції мали низькі титри анти-Hsp60 антитіл в сироватці, а після операції їх рівень зростає і вони мали як підвищені, так і високі анти-Hsp60 антитіла в сироватці крові.

При проведенні статистично-логічного аналізу за наявністю гіпертермії у пацієнтів досліджуваних

підгруп ми виявили: в підгрупі 1-А після операції підвищення температури тіла зустрічалось у 79% пацієнтів, в підгрупі 1-В післяопераційна гіпертермія у 87,5% дітей, в підгрупі 1-С у 47,2% новонароджених, в підгрупі 1-Д у 78%. Рис.4.

Найвищий відсоток гіпертермії в підгрупі 1-В, де новонароджені мали низький вміст анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові до операції, але після неї їх кількість значно виросла. В підгрупі 1-С найменша кількість новонароджених з гіпертермією, пацієнти цієї підгрупи мали низькі рівні анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові як до-, так і після операції.

Дослідження деяких клінічних показників у новонароджених 2-ї групи, а саме ІЛ-8, терміну перебування пацієнтів в реанімації, кількість днів антибіотикотерапії, продемонстровано в табл.3.

Таблиця 3

Характеристика клінічних показників у новонароджених з ТМС 2-ї групи (в підгрупах 1-А, 1-В, 1-С, 1-Д), яким переливалася донорська кров

2-га група новонароджених поділена на підгрупи	ІЛ-8 на 8 добу після операції (пг/мл)	Години перебування у відділенні реанімації (год)	Кількість днів антитібіотикотерапії
1-А	*84,3±81	187	8,5±5,6
1-В	*73,5±72	171	8,3±2,3
1-С	*43,3±29	155	7±5
1-Д	*70,2±65	165	7,9±4,9

Примітка: *різниця статистично достовірна між підгрупами 1-А,В, D та 1-С, p<0,002.

Згідно даних таблиці між підгрупами спостерігається статистично достовірна відмінність за рівнем ІЛ-8 в сироватці крові між 1-С – антитілонегативними пацієнтами і 1-А, В, D – пацієнтами з антитілопозитивною сироваткою до Hsp60 (на 8 добу після операції), що може вказувати на залучення досліджуваних антитіл до підсилення продукції прозапального ІЛ-8. Новонароджені з високим вмістом анти-Hsp60 антитіл довше перебували у відділенні реанімації і отримували довготривалішу антибіотикотерапію за новонароджених, яким була перелита донорська кров з меншою кількістю досліджуваних антитіл.

Всі клінічні показники демонструють більш виражений розвиток післяопераційних ускладнень саме у пацієнтів 2-ї групи, які із донорською кров'ю трансфузійно отримали значну кількість анти-Hsp60 антитіл.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що серед вагітних із пренатально діагностованою вродженою вадою серця плоду, спостерігається 30% жінок, у яких спостерігається високий вміст анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові.

Показано, у новонароджених з ВВС рівні анти-Hsp60 антитіл (Ig G) в сироватці крові співставні із їх матерями.

Порівняльний аналіз вмісту анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові новонароджених з ТМС показав, що у жодного пацієнта в групі з перелитою аутологічною пуповинною кров'ю, у післяопераційний період не спостерігалось підвищення рівня анти-Hsp60 антитіл, навпаки їх вміст достовірно знижувався. У новонароджених з ТМС яким була перелита донорська кров після операції вміст анти-Hsp60 антитіл в сироватці крові достовірно зростає.

ЛІТЕРАТУРА

1. Воробьев А. И. Современные подходы к лечению острой кровопотери // Бескровная хирургия на пороге XXI века. М., 2000. С. 17–27.
2. Ткаченко Я.В., Воробйова Г.М., Жовнір В.А., Ємець І.М // Вплив аутологічної пуповинної та донорської крові на цитокіновий профіль у новонароджених з транспозицією магістральних судин. // Фізіологічний журнал К., 2012. Т. 58. N 2. С. 44-50.
3. Капустян Л. Н., Киямова Р. Г., Гришкова В. С., Терентьев А. Г., Филоненко В. В., Сидорик Л. Л. / Получение рекомбинантного шаперона GroEL и его иммунологическая кросс-реактивность с Hsp60 // Biopolym. Cell. – 2006. – 22. - No 2. – P. 117 – 121.
4. Bhattacharya N: Placental umbilical cord blood transfusion in transfusion-dependent beta thalassemic patients: a preliminary communication. Clin Exp Obstet

Gynecol 2005; 32:102– 106.

5. Wick G, Knoflach M, Xu Q. \Autoimmune and inflammatory mechanisms in atherosclerosis. \ Annu.Rev.Immunol. 2004,22: 361-403.

6. Varbiro Sz et al.repertoire: \ life-long stability of reactivities toward self antigens contrasts with age-dependent diversification of reactivities against bacterial antigens.\ Eur. J. Immunol. 1995. 25, 2598–2604.

7. Lamb DJ, Ferns GA. \ The magnitude of the immune response to heat shock protein-65 following BCG immunisation is associated with the extent of experimental atherosclerosis. \ Atherosclerosis. 2002 Dec;165(2):231-40.

8. Xu Q.,\ Role of heat shock proteins in atherosclerosis // Arther. Thromb. Vasc. Biol. - 2002. 22.- P.1547-1559.

9. Daniela Giannessi, Chiara Colotti, Maristella Maltinti, Silvia Del Ry, Concetta Prontera, Stefano Turchi, Antonio L'Abbate, Danilo Neglia \ Circulating heat shock proteins and inflammatory markers in patients with idiopathic left ventricular dysfunction: their relationships with myocardial and microvascular impairment. \ Cell Stress & Chaperones 2007. 12 (3), 265–274.

10. Pockley A, Blumer J, Hanks B, Wright B. / Identification of human heat shock protein 60 (Hsp60) and anti-Hsp60 antibodies in the peripheral circulation of normal individuals. / Cell Stress Chap. 1999.- 4, 29-35.

11. Brophy C.M., Dickinson M., Woodrum O. \ Phosphorylation of the small heat shock-related protein, HSP20, in vascular smooth muscles is associated with changes in the macromolecular associations of HSP20. \ Biol. Chem. 1999. 274, 6324-6329.