

УДК 615.2: 577.112.5: 77.27

*Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Шумейко О. В., Нагорна О. О.***БІЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКУ – НОВА ЛАНКА
В МЕХАНІЗМАХ ДІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ****Національний медичний університет імені академіка О.О. Богомольця
(м. Київ)****gorchakovan@ukr.net**

Представлена робота є фрагментом НДР «Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування кардіотропних препаратів», № держреєстрації 0111U009417.

У процесі еволюції організм розробив і забезпечив різні механізми адаптації, які підвищують його стійкість до несприятливих факторів. Якщо шкідливий вплив на організм перевищує захисну здатність морфоанатомічних і фізіологічних адаптацій, активується наступний механізм захисту: виробництво так званих білків теплового шоку (HSP) [56]. HSP (heat shock proteins), виникають в результаті експресії певних генів, допомагають клітинам вижити і відновлювати фізіологічні процеси в подальшому. Кожна клітина синтезує десятки тисяч примірників різних молекул білків теплового шоку, поступово зменшуючи їх кількість, тобто синтез HSP має тимчасовий (транзитний) характер. Постійний синтез HSP неможливий через надзвичайно високі енергетичні потреби тому що вони, тимчасово захищаючи організм від руйнування, створюють умови для його подальшої довгострокової адаптації.

Довгий час відкриття HSP не було пов'язане з проблемами фармакології. Як впливає з назви, ці білки були виявлені під час вивчення адаптивної реакції організму на підвищення температури. І хоча пізніше виявилось, що вони мають багато функцій, вчені і сьогодні зацікавлені в їх здатності захищати клітини. Цей ефект, викликаний помірним стресом, допоміг зрозуміти механізм, відомий як гормезис. У науковій літературі гормезис означає ефект посилення захисних функцій організму у відповідь на незначні стреси. Відомо, що деякі фактори викликають реалізацію механізму гормезису. До таких факторів відносяться голодування, низькі дози алкоголю, радіація, токсини та ліки, нагрівання, охолодження та інші.

У 1962 році італійський генетик Ферручіо Мітосса виявив роздуття окремих ділянок хромосом дрозофіли при випадковому підвищенні температури в інкубаторі. Це відкриття також призвело до виявлення білків теплового шоку або стресових білків. Підвищена експресія генів, що кодує ці білки в *Drosophila*, була продемонстрована в 1974 році. Експресія збільшувалася після того, як мухи були піддані стресовим факторам, таким як тепловий шок [5]. З середини 1980-х років визначили, що численні білки теплового шоку можуть діяти як шаперони і грати важливу роль у складанні білків, внутрішньоклітинному транспортуванні білків та денатурації білків, які змінили конформацію після теплового шоку.

Молекула протеїну Heat Shock складається з двох компактних кульок, пов'язаних вільним ланцюгом. HSP – це біологічні маркери несприятливого або незвичайного стану організму. Доведено, що їх синтез обумовлений впливом токсичних речовин з групи розчинників, важких металів, сильних прооксидантів, УФ, патологічних ефектів бактерій, вірусів, під час запалення, пухлинного генезу, а також завдяки фізіологічним ефектам факторів росту, амінокислот, під час росту тканин, гормональної стимуляції та диференціювання клітин. Тому в деяких публікаціях ці білки називаються стресовими білками [5-10].

Цікаво, що HSP дуже консервовані і можуть бути знайдені в бактеріях, у людей і в рослинах [4,17].

HSP постійно синтезуються в певній кількості (до 2%) у будь-яких нуклеофільних клітинах та в внутрішньоклітинних структурах (у цитоплазмі, ядрі, ендоплазматичному ретикулумі, мітохондріях, хлоропластах) усіх багатоклітинних організмів. У клітинах, що відпочивають, було виявлено невелику кількість HSP (2%), однак їх рівень збільшувався при стресових ситуаціях (УФ-випромінюванні, тепловому шоці, впливі солей важких металів та амінокислот, окисному стресі, впливі токсинів, а також при вірусних, паразитарних та бактеріальних інфекціях). Завдяки тому, що HSP є шаперонами, вони полегшують формування вторинних та третинних структур інших білків. Вони можуть брати участь у відновленні або усуненні неформованих або денатурованих білків. Накопичення білкових агрегатів вважається результатом їх невірного формування, і таке накопичення супроводжує певні захворювання (катаракта, цироз печінки, міопатія, енцефалопатія, нейродегенеративні захворювання, хвороба Паркінсона та ін.). Агрегати невірно складених білків утворюють бета-амілоїдні структури, стійкі до протеолізу. Вважається, що взаємодія HSP з білками допомагає з'ясувати патогенез цих захворювань.

Відповідь клітини на стрес регулюється насамперед на рівні транскрипції (ДНК в РНК) факторами теплового шоку (HSF). Родина HSP включає чотири види, з яких ссавці та людина мають HSP 1, HSP 2 і HSP 4. Тоді як HSP є універсальним активатором, що реагує на стрес, HSP 2 більше асоціюється з процесами диференціювання. Там, де немає стресу, ці чинники розташовані в ядрі та цитоплазмі в мономерній формі і не здатні до зв'язування з ДНК. У відповідь на стрес, HSP утворюють тримери (гомотримери HSP 1 або можливо гетеротримери HSP 1 – HSP 2) і переміщуються до ядра, де вони

зв'язуються з специфічними послідовностями ДНК) у промоторах генів теплового шоку.

Вважається, що протеїни теплового шоку здатні самостійно регулювати їх експресію через "авторегуляторну петлю". Існує кілька класифікацій HSP за їх молекулярною масою [26,29,34].

Відповідно до сучасної класифікації, існує 8 типів HSP з малою масою: 25/27 кДа, 22,20 кДа, а також високомолекулярних HSP110, 100, 90, 70, 60, 40 кДа. HSP з високою молекулярною вагою є залежною від АТФ, тоді як активність малих HSP не залежить від АТФ. HSP з малою масою також умовно класифікують за методом синтезу (як NO-синтаза) на конститутивні та індукційні білки. При цьому конститутивні HSP синтезуються постійно в клітині і для їх активації не потрібен пошкоджуючий фактор, тобто при стресі їх синтез не збільшується. У той же час, синтез індукційних HSP відбувається після впливу шкідливих факторів.

Більшість дослідників виділяють 4 основних сімейства HSP -

1) HSP90 (група білків з високою молекулярною масою, маса якої у ссавців дорівнює 90кДа, у дріжджах – 104кДа, а в дрозофілі – 83кДа);

2) у ссавців зустрічаються HSP70 (сім'я білків з молекулярною масою 70 кДа, які виявляють частіше, ніж інші);

3) малі HSP, з молекулярною масою від 15 до 30 кДа;

4) HSP з дуже високою молекулярною вагою, представником яких є HSP110 [9].

Як було зазначено вище, основною функцією HSP є зв'язування новостворених білків та контроль коректного формування їх третинної структури (складання). У клітинах, що піддаються впливу стресу, HSP інтенсивно зв'язуються з денатурованими білками, зберігаючи при цьому пошкоджені білки в стані, здатному до подальшого відновлення. Як правило, у клітині HSP поєднуються з особливим фактором транскрипції, який відокремлюється від HSP під час стресу, утворює тримери, набуває активності зв'язування з ДНК, накопичується в ядрі, активує транскрипцію інших шаперонів і пригнічує транскрипцію інших генів [22,24,29,35,55].

Функції HSP як шаперонів полягають у наступному:

1. Згортання незрілих поліпептидних ланцюгів;
2. Полегшення переміщення білків через різні клітинні компартменти;
3. Модуляція білкової активності за рахунок стабілізації і / або дозрівання до функціонально компетентної конформації;
4. Підтримка утворення / розщеплення мультибілкових комплексів;
5. Виправлення невірно згорнутих білків;
6. Захист білків від агрегації;
7. Сприяє розщепленню повністю пошкоджених білків;
8. Організація агрегатів із зруйнованих білків;
9. Солюбілізація білкових агрегатів для подальшої деградації.

Білки HSP70 взаємодіють з синтезованими на рибосомах пептидним ланцюгом, запобігають пе-

редчасному невірному згортання незрілих поліпептидних ланцюгів і беруть участь в транспорті білків в органели (мітохондрії, ендоплазматичний ретикулум і т.д.) [32,44]. Згідно з генетичними та біохімічними даними, гідроліз АТФ є суттєвим елементом активності шаперонів HSP70. Білки цього сімейства зв'язуються з проміжними пептидами внаслідок циклів зв'язування та гідролізу АТФ з подальшим обміном АДФ / АТФ пептидів. Молекули HSP70 містять дві консервативні області що супроводжується вивільненням АТФ-зв'язуючої N-кінцевої (45kDa), і C-кінцевої (15kDa) ділянок, які пов'язують гідрофобні пептиди. Між ними є змінна ділянка – альфа-спіраль. АТФ-зв'язаний HSP70 («кришка» відкрита) вільно взаємодіє з незрілими або невірно згорнутими пептидами, викликаючи конформаційні зміни, які призводять до активації АТФази, а також підсилює асоціацію зі спільним шапероном HSP40, сприяють переходу до АДФ-зв'язаної форми («кришка» закрита). Координатори JDP (J-домени білки) є необхідними для ефективної взаємодії та гідролізу АТФ з зв'язуванням та подальшим вивільненням пептидних субстратів.

HSP70 білки можуть пригнічувати вивільнення цитохрому С з мітохондрій, а також транслокацію в ядро індукуючого апоптозу AIF фактору за рахунок зниження ішемічного ушкодження головного мозку, а також можуть пригнічувати вивільнення проапоптозного білка Smac / DIABLO з мітохондрій міоцитів. Експресія HSP72 в астроцитах призводить до зниження утворення активних форм кисню (ROS) з підтримкою мембранного потенціалу мітохондрій, а також рівня глутатіону, і підвищенню активності супероксиддисмутази при ішемічному пошкодженні кардіоміоцитів. Збільшена експресія HSP72 здатна зменшувати апоптоз безпосередньо, збільшуючи рівень Bcl-2 і гальмуючи транслокацію проапоптозного фактору Bax.

Було показано, що цей клас HSP70 білків інгібує дефосфорилування JNK-кинази (з-Jun N-кінцевої кинази), який грає істотну роль в нейрональному апоптозі і є однією з мішеней при лікуванні інсульту.

Крім того, білки HSP взаємодіють з топоізомеразою-1 (регулятором апоптозу) і є ефекторами важливої антиапоптозної кинази Akt / PKB. Значна активація глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази через протеїни теплового шоку є важливим елементом механізму цитопротекторного ефекту HSP при ішемії.

Білки теплового шоку мають виражений проти-запальний ефект, запобігаючи реакції клітин на запальні цитокіни, такі як TNF та IL-1.

Відомо, що РОС утворюється під час запалення через активацію індукційної форми NO-синтази (iNOS) та NADPH-оксидази, тоді як iNOS виникає у відповідь на вивільнення цитокінів. Закис азоту (NO), що синтезують з iNOS, таким чином, вступає в реакцію з супероксид утворюючи високотоксичний окислювач пероксинітрил: $-O_2^- + -NO \rightarrow ONOO^-$. HSP72 пригнічує експресію iNOS, зменшуючи активацію NFκB. Крім того, білки теплового шоку знижують активність NADPH-оксидази в нейтрофілах і активують супероксиддисмутазу в фагоцитах, а

також регулюють активність матричних металопротеїназ в астрочитах.

Значна частина внутрішньоклітинних ефектів білків HSP під час запалення пов'язана з регуляторами шляху ядерного фактора NFκB, оскільки фактори транскрипції цієї родини відіграють ключову роль при ініціюванні запальної реакції. Транслокація димерів, що складає ядро NFκB, де вони індукують експресію багатьох запальних генів, інгібується білками теплового шоку за рахунок прямої взаємодії або завдяки впливу на сигнальні шляхи NFκB. Також було продемонстровано, що HSP72 взаємодіє з комплексом кінази IKK, що є життєво важливим для вивільнення NFκB та його переходу в ядро. Таким чином, білки HSP70 використовують багато шляхів запобігання запалення в організмі.

Кілька лабораторій вивчали вплив HSP72, виділеного з астрочитів або клітин Шванна, на сусідні нейрони та аксони. Було показано, що позаклітинний HSP72 може індукувати вивільнення цитокінів (TNF, IL-6, IL-1β) з моноцитів, що забезпечується за допомогою рецепторів TLR2, TLR4 і активації NFκB. Існує значна кореляція між підвищеним рівнем сироваткового білка HSP70 та зменшенням проявів атеросклерозу, що оцінюється за товщиною каротидної артерії.

Терапевтичного значення також набуває факт того, що у пацієнтів з коронарною недостатністю спостерігається зворотня кореляція між концентрацією HSP70 у плазмі крові та рівнем ризику цього захворювання, що підтверджено на підставі аналізу ангіограми коронарної артерії.

Білки теплового шоку високо експресуються при багатьох типах раку людини і беруть участь у проліферації клітин, диференціації, метастазуванні та розпізнаванні пухлинних клітин імунною системою. Вони є корисними біомаркерами канцерогенезу в певних тканинах і свідчать про ступінь диференціації та агресивності деяких видів раку. Наприклад, HSP27 та HSP70 допомагають підтримувати стійкість до хіміотерапії при лікуванні раку молочної залози, збільшення концентрації HSP27 свідчить про погану реакцію на хіміотерапію при лейкемії. У той же час експресія HSP70 передбачає хороші хіміотерапевтичні ефекти при остеосаркомах.

HSP виконують подвійну імунореактивну функцію в організмі: цитопротекторну та антиапоптотичну, а також позаклітинну або імуногенну функції.

Це дозволяє розробити дві основні стратегії в раковій терапії:

(1) Фармакологічна модифікація експресії HSP та їх активність грає роль молекулярних шаперонів;

(2) Використання HSP для готування протиракових вакцин через їх здатність діяти як імунологічні допоміжні речовини.

Білок HSP90 виявляється найбільш перспективною антиканцерогенною фармакологічною мішенню. Рівень HSP90 становить 1-2% від загальної концентрації білків при відсутності стресу. Підвищена експресія HSP90 була виявлена в пухлинах молочної залози, раку легень, лейкемії, хворобі Ходжкіна, лімфомі та інших онкозахворюваннях. Тому пригнічення HSP90 може одночасно знищувати велику

кількість онкогенних сигнальних шляхів. Численні лабораторії були залучені до вивчення інгібіторів HSP90. Природні HSP90 інгібітори – гелданаміцин (GA) та 17-аліламін-17-деметоксигелданаміцин (17-AAG) – взаємодіють з АТФ-зв'язуючими ділянками молекули HSP90 з більш високою афінністю, ніж природні нуклеотиди, в результаті чого запобігають АТФ-АДФ переходами білку і, таким чином порушуючи шаперонову активність HSP90, клієнтні білки деградуються за допомогою протеасом. При застосуванні інгібіторів HSP90 при ліквідації клітинних білків у ракових клітинах доведено, що вони не впливають на ті ж білки в нормальних тканинах через їх спорідненість з HSP90, виділеним з пухлин.

Пептидні комплекси HSP70 та GRP96, виділені з пухлин онкохворих, використовуються як протипухлинні вакцини для лікування та профілактики раку. Поліпшені форми HSP-вакцин одержують шляхом відділення пептидних комплексів HSP70 від дендритних клітин, злитих з пухлиною.

Прамоуд К. Срівастава, професор медицини та директор Центру імунотерапії раку та інфекційних хвороб у Університеті Медичної школи в Коннектикуті, є одним з перших дослідників ролі білків теплового шоку в імунній системі. Він брав участь у створенні компанії Antigenics, яка успішно розробляє ракові вакцини, використовуючи HSP, які ізолювані від окремих пухлин. Ці препарати, засновані на різних протеїнах теплового шоку, в даний час проходять клінічні випробування.

Річард І. Морімото, професор біохімії, молекулярної біології та клітинної біології Інституту біомедичних досліджень ім. Райса Північно-західного університету, США, вивчав зв'язок між функціями білків теплового шоку та генетичними шляхами, які регулюють процеси старіння. На моделі *C. elegans* показано, що гени інсуліноподібного шляху сигналізації (ILS), що регулюють старіння та тривалість життя, є потужними модуляторами агрегаційної токсичності, яка пов'язана з утворенням поліглютаматних комплексів PolyQ, характерних для ряду нейродегенеративних захворювань. Активація ILS-рецептора DAF-2 запускає каскад кіназ, який включає фосфатидилінозитол-3-кіназу (AGE-1), AKT / PKB і PDK.

Фосфорилування за допомогою цих кіназ має тенденцію до інгібування транскрипційного фактора DAF-16, що продовжує тривалість життя модельних організмів. Мутації DAF-2 або AGE-1, інгібуючи цей шлях, викликають депресію DAF-16, тобто сприяють стійкості організму до стресу та довголіттю.

Щоб протеїн виконував свою місію, він повинен бути не тільки в потрібному місці в потрібний час, але також бути "у формі", тобто мати відповідну конфігурацію. Завдяки здібності вірно укладати білкові глобули шаперон HSP60 разом з шапероном HSP70 демонтує білки, які були пошкоджені і руйнують помилково сформовані агрегати.

HSP100 виконує захисну функцію від стресу шляхом дезагрегації білків. HSP здатні утворювати комплекси з кількома білками. Комплекси HSP взаємодіють з рецепторами стероїдних гормонів, полегшують перенесення комплексу гормонорецепторів

до ядра. HSP 90 також бере участь у транспортуванні протеїнази до місць функціонування.

HSP60 бере участь у спрямованому транспортуванні багатоструктурних багатодомених білків (актину та тубуліну) до АТФ-залежних ділянок у структурі частково денатурованих білків.

HSP60 – це молекулярний шаперон, який бере участь у складанні мітохондріальних білків, в цілеспрямованому переносі багатоструктурних мультидомених білків (актину та тубуліну) і полегшує протеолітичну деградацію невірно складених або денатурованих білків. HSP60 залежить від кошаперону HSP10, який регулює активність АТФ. HSP60 концентрується головним чином в мітохондріях і кодується ядерною ДНК. Рівень HSP60 змінюється при патології серцево-судинної системи та при кандидозному вульвовагініті у жінок.

Система HSP90 бере участь у підтримці так званих "клієнтних білків":

(1) протеїнази;

(2) факторів транскрипції та ядерних рецепторів стероїдних гормонів;

(3) білків вірусної реплікації, внутрішньоклітинних рецепторів, пов'язаних із природним імунітетом;

(4) HSP90 разом з HSP70 стабілізує нові синтезовані білки, що беруть участь у збірці / розбиранні мультибілкових комплексів;

З огляду на те, що при ряді захворювань білкові агрегати, як правило, накопичуються в разі невірного згортання білків (цироз, міопатія, катаракта тощо), HSP виконують ключову роль у патогенезі цих станів, діагностиці та ендогенному захист організму.

HSP90 утворює складні комплекси з кількома допоміжними білками (кошаперонами), які взаємодіють з рецепторами стероїдних гормонів, сприяючи приєднанню гормонів до рецепторів з наступним перенесенням комплексу гормону-рецептору до ядра. Білки HSP90 також можуть переносити декілька типів протеїназ до місць функціонування [47]. HSP-пептидні комплекси ініціюють клітинні та гуморальні імунні реакції проти пухлин, які продукують комплекси пептиду HSP. Взаємодія HSP-пептидних комплексів з клітинами, що представляють антиген, підтримується специфічними рецепторами. Першим серед таких рецепторів був рецептор CD91 – альфа-макроглобулін, який також є найбільш дослідженим. HSP90 найчастіше застосовується в онкогематології для виробництва протипухлинних вакцин [33,50].

Блок HSP90 є білком теплового стресу, залученим до патогенезу різних захворювань, і є мішенню для дії препаратів. Родина протеїнів HSP90 виробляється у всіх живих організмах. При тепловому ударі для ефективної реактивації протеїнів, денатурованих теплою, необхідна висока концентрація HSP90, тоді як при нормальних температурах тільки певні групи субстратних білків вимагають HSP90. HSP90 існує у вигляді димерів і функціонально дуже схожий на HSP70. HSP90 бере участь у кількох сигнальних шляхах, включаючи рецептори глюкокортикоїдів, прогестерону, естрогену, діоксину та протеїнази. HSP90а бере участь у міогенезі, захищає ембріональні клітини від несприятливих

факторів. HSP90а діє як шаперон для матричної металопропротеїнази-2 в клітинах фібросаркоми, що призводить до збільшення інвазивності пухлини. Шапереновий комплекс HSP90 вважається молекулярною мішенню при лікуванні раку стравоходу. Оскільки шаперони сприяють злоякісному перетворенню, HSP90 використовується як мішень в протипухлинній терапії. Інгібітор HSP90 (X 66), похідне триазину, інгібував проліферацію пухлинних клітин, не активує HSF-1, не стимулює транскрипцію білка теплового шоку. Комбінація X66 та HSP90 з інгібіторами протеаз була цитотоксичною [39].

Фармакологічне інгібування HSP90 активності АТФ призвело до деградації інгібіторного макрофального лімфотичного фактору, який вважався протизапальним цитокином і продемонстрував підвищений рівень у багатьох пухлинах [65]. Вважається, що ефективність цього лікування не залежить від типу пухлин. У невеликих дозах ін'єкція ліпополісахаридів перед специфічною фармакотерапією повинна викликати збільшення міграції стовбурових клітин в серці, зменшення зони інфаркту при ішемії – реперфузії серця. Механізм цього ефекту пов'язаний з активацією та транслокацією бета-катеніну через HSP90-залежний механізм [53]. Для лікування раку передміхурової залози пропонується використовувати інгібітор, який співіснує з HSP90 і HSP70, виражається в селективності ізоформи до HSP90, при наявності клітин раку передміхурової залози і вважається перспективним для протипухлинної терапії [62].

Появу спиноцеребральної атаксії типу 1 зв'язують з активацією атаксину 1 поліглутамінового тракту. Інгібітори HSP90 зменшують токсичність поліглутаміну. HSF-1 є ключовою молекулою, що регулює гомеостаз білка атаксину 1, тоді як HSP 90 є мішенню терапевтичного впливу при цьому захворюванні [37].

Після запобігання впливу стресу HSP, який був вивільнений, продовжує зв'язуватися з фактором транскрипції. Вважається, що HSP також залучаються до некрозу та очищення організму від некротичних клітин. HSP є імуногенними, володіють рядом особливостей. Імунітет, індукований HSP, специфічний і спрямований проти пухлини, з якої ці HSP були виділені. Розвиток імунітету викликають антигенні пептиди в комплексі з білками теплового шоку. Макрофаги, фібробласти та інші клітини, що представляють антирегенеруючі агенти, захоплюють HSP-пептидні комплекси, екстрагують з них антигенні пептиди і транспортують їх в ефекторні клітини систем разом з біологічно активними молекулами [18,30,36,38].

Вважається, що HSP беруть участь у формуванні явищ перехресної стійкості та адаптаційної стабілізації структур, відновленні інформації білкових молекул, ферментативної активності, взаємодіють з системами генерації оксиду азоту та антиоксидантними системами, забезпечуючи неспецифічну реакцію клітин на пошкодження. Завдяки тому, що HSP беруть участь у механізмі дії глюкокортикоїдів, вони координують взаємодію ендокринної та імунної сис-

тем. HSP також беруть участь у синтезі глікопротеїнів, включаючи тиреоглобулін.

Антигенні пептидні клітини, активовані HSP разом з пептидами, ініціюють клітинні та гуморальні імунні відповіді на протипухлинні антигени, з яких виділяють ці HSPs та пептиди. Взаємодія HSP-пептидного комплексу з клітинами, що представляють антиген, відбувається через взаємодію з ідентифікованими рецепторами на поверхні цих клітин. DM91 був першим рецептором такого виду, який також є рецептором альфа2-макроглобуліну. Моноклональні антитіла до CD91 та альфа2-макроглобуліну можуть інгібувати імуногенні властивості деяких типів HSP.

Білки теплового шоку – це розчинні молекулярні комплекси, які виконують цілий ряд клітинних функцій і можуть взаємодіяти з усіма внутрішньоклітинними пептидами, разом з тим на поверхні антигенів, що представляють клітини, можуть існувати декілька типів рецепторів [42,43,45,46].

На основі HSP-пептидів була розроблена протипухлинна вакцина. Ця вакцина поліпшує стан пацієнтів і активує протипухлинну реакцію Т-клітин, у тому числі при лікуванні меланоми, раку нирки, колоректального раку. Вакцина була протестована на пацієнтів з неходжкінською лімфомою, хронічною мієлоїдною лейкемією. Вакцина, основана на HSP, є істотно нетоксичною [52,57,59].

Особливості та функції HSP відкривають широкі перспективи їх використання, одним з яких є виробництво вакцин. HSP сприяють діагностиці, тому що HSP від пухлинних клітин поєднуються з ліпопротеїнами, які містять всі антигени, властиві даній пухлині. Виявляється можливим розробка вакцини, що використовує HSP з пептидами у хворих з неходжкінською лімфомою та хронічною мієлоїдною лейкемією [58].

Дослідження, проведене Сьюзан Л. Рутерфорд з Університету штату Вашингтон і Сьюзен Л. Ліндквіст з Уайтхед Інституту медико-біологічних досліджень в Кембриджі (штат Массачусетс), виявили додаткові докази того, що HSP90 швидко набувають нових функцій, таких як стійкість до лікарських препаратів у різних видів грибів Отже, був зроблений висновок, що специфічні до виду інгібітори HSP90 можуть бути використані як антибіотики нового покоління. Оскільки HSP90 впливає на набагато ширший діапазон сигнальних механізмів, ніж будь-який інший тип шаперону, його гальмування може зробити ракові клітини більш чутливими до стресу, такому як хіміотерапія.

У дуже високих дозах HSP мають інгібіторну, а не активуючу дію на імунну систему, тобто шаперони можуть бути не тільки імуностимуляторами, а й імунодепресантами. Експерименти на мишах показали, що у високих дозах HSP ефективний при діабеті 1 типу (аутоімунне захворювання) та енцефаліту. Ірун Коен з Інституту Вейцмана в Реховоті (Ізраїль) вже давно припустив, що HSP60, в поєднанні з одним з пептидів, виконує аутоантигенну функцію при діабеті 1 типу, в результаті чого імунна система може атакувати інсулін-продукуючі клітини. Клінічні випробування показали, що інгібування пептидів частково полегшує симптоми захворювання.

Кожна HSP виконує свою роль. HSP27 експресується у всіх тканинах шляхом зв'язування з фрагментами білків у гладеньких та серцевому м'язі і існує у вигляді великих олігомерів. У відповідь на тепловий шок та інші подразники відбувається фосфорилування HSP27 з наступним зменшенням олігомеризації та здатністю реагувати з активними філаментами. Вважається, що HSP27 активує глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, а потім глутатіонредуктазу. Тільки великі олігомерні комплекси можуть захищати від окисного стресу. Деякі пухлини діагностуються з новим рівнем експресії HSP27, і це корелює з прискореним метаболізмом, можливо і з несприятливим результатом. Проте є дані, що збільшення кількості антитіл і рівнів HSP27 у ракових пацієнтів призводить до збільшення тривалості життя [2,40].

Для виділення мішені впливу ліків особлива увага приділяється HSP70, оскільки у людини є щонайменше 11 генів HSP, котрі кодують групу з близьких білків, що мають молекулярну масу від 66 до 78 кДа. Шаперони HSP70 мають 2 основних функціональних домени. Висококонсервативний NH2-кінцевий домен має активність АТФ і міцно зв'язується з АТФ і АДФ, тоді як COOH-кінцевий домен зв'язується з поліпептидами. HSP70, більш імовірно, щоб зв'язати з розгорнутими або частково згорнутими білками і запобігають їх агрегації у відповідь на клітинний стрес, викликаний несприятливими екологічними умовами або захворюваннями [14], вплив на стабільності лізосомальних мембран, їх проникність, що пов'язана з HSP70 і холестеринном [11,20,23,41,61]. Цитотоксична активність антипроліферативних агентів похідних тіосемікарбазону пов'язана з захисними ефектами HSP70.

Якщо клітина зазнає стресу, HSP70 миттєво стабілізує утворення рибосом, запобігає процесам агрегації при складанні білків і відновлює нормальну структуру міофібрилярного апарату. У період після стресу, HSP70 є частиною клітинної системи регенерації, що захищає синтез білка та структурну цілісність клітинних пептидів. Захисний механізм HSP70 пов'язаний з пригніченням активації стрес-індукованої JNK каскаду каспаз шляхом зв'язування з ферментом прокаспазі JNK, який здійснює реакцію дефосфорилування і запобігає апоптозу, хоча існують і інші антиапоптичні механізми.

Було встановлено, що індукційна форма HSP70 є противірусною мішенню, а алостеричний малорозмірний молекулярний інгібітор є селективним для індукційної форми білка теплового шоку (HSP70), відомий як HS72 і являє собою активоване терапевтичний агент [49]. Вважається також, що вплив на Hsp72 може бути перспективним для лікування метаболічних порушень цукрового діабету 2 типу та в разі резистентності до інсуліну, тому що ці стани пов'язані з окислювальним стресом, ожирінням, стимуляцією прозапальної кінзи і пригніченням NF- κ B кінзи, протеїнкінази [28].

Ін'єкції речовин, які викликають вироблення білків теплового шоку і які сприяють експресії Т-клітинних рецепторів, пов'язаних із білками теплового шоку, полегшують реалізацію протизапаль-

ного ефекту. У молекулярних механізмах HSP70 відбувається взаємодія з глікопротеїнами на поверхні клітин, включаючи сульфатиди, через С-кінцевий пептид-зв'язуючий домен у присутності АТФ [60]. Таким чином, в даний час дослідження інтенсифікуються з метою використання захисних функцій HSP70 в терапевтичних цілях. В експериментальних дослідженнях було встановлено, що існує зв'язок між концентрацією HSP70 у клітинах та стійкістю тканин до ішемії, реперфузії, утворенням термотолерантності [25,52].

Завдяки відкриттям в галузі молекулярної біології встановили важливість функціонування ланок регуляторних білків для зв'язків з компонентами енергетичного обміну. Білок HSP70 та HIF-1В (індукований фактором гіпоксії) стабілізуються в клітинах живих організмів у відповідь на стресові фактори, такі як гіпоксія, ішемія, порушення обміну речовин, вірусна інфекція та наслідки впливу фармакологічних агентів. Гени цих білків активуються не тільки під впливом стресу, але і в головних життєвих процесах, проліферації, диференціювання та апоптозу [16]. В головному мозку монгольських піщанок з гострим інсультом продемонстрували зниження рівня АТФ, малату, активацію малатдегідрогенази, що вказує на дефіцит енергії, паралельно зі зменшенням рівня HSP70. Останній забезпечує протягом тривалого терміну функціонування компенсаторного малат-аспартатного шунта енергії та зменшення рівня HIF1 [4,12]. Білок HSP70 регулює функціонування молекули HIF-1В, так званий домен киснезалежної деградації. В умовах гіпоксії одним з шаперонів (HSP70) витісняється з комплексу з HIF-1В-білком ARNT, який захищає складну структуру від вираженого протеолізу. Вважається, що HSP70, здатний збільшити тривалість життя фактору HIF-1В в умовах до і після гіпоксії, є необхідним для того, щоб клітини вірно реагували на кисневу мішень [43]. У відповідь на церебральну ішемію, виробляється HIF-1 і ініціює комплекс точних механізмів генерації енергії. Далі, регуляція цих процесів переноситься на HSP70, що подовжує ефект HIF-1, а також самостійно підтримує експресію активності NAD-IVADH-мітохондрій, підтримуючи активність малат-аспартатного механізму протягом тривалого часу [4,66].

Йенсен Томас Кіркегаард і Yotelloyu Мері Хелен синтезували новий похідний гидроксиламин агімосломол (застосовуючи HSP70 як регулятор ферментативної активності), який підсилює експресію білків теплового стресу, але тільки в умовах клітинного окисного стресу. Вважається, що аринокломол повинен бути ефективним при лікуванні латерального аміотрофічного склерозу (АЛС) та інших нейродегенеративних розладів, оскільки під час попередніх досліджень він поліпшував нервово-м'язову функцію та якість життя.

Експериментальні дані про мітохондріальну дисфункцію, яка розвивається через дефіцит HSP70, демонструють інтегральні аспекти гіпертензії, сприяючи його загостренню і ініціації каскаду молекулярних і біохімічних механізмів пошкодження міокарда, в тому числі механізмів утворення, обміну, транспорту NO, а також інших метаболічних показників,

в результаті яких розвивається нітрозуючий стрес та апоптоз.

Білок теплового шоку (HSP70) можна розглядати як нову лікарську мішень. Його рівень зменшується в цитозольних і мітохондріальних фракціях міокарду у щурів з генетично детермінованою спонтанною гіпертензією, що пов'язана зі збільшенням потоку нуклеотидних мембран в мітохондріях, формуванням мітохондріальних пор, виходом матричних білків. HSP70 підтвердив свою регулюючу функцію щодо явищ мітохондріальної дисфункції, яка розвивається при ішемічній травмі головного мозку [1,7,31].

HSP70 також може запобігти порушенню активності глутатіон-S-трансферазу, супероксиддисмутази, лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази та регулювати тіол-дисульфідну систему. HSP70 збільшує тривалість існування стабільної форми HIF-1a, що пояснює адаптивні реакції в клітині [48]. HSP70 продовжує дію HIF-1a і саморегулює експресію НАД-малатдегідрогенази мітохондрій, тим самим підтримуючи компенсаторний механізм утворення АТФ [13], малату-аспартату. Дефіцит HSP70 в міокарді щурів зі спонтанною гіпертензією пов'язаний як з мітохондріальною дисфункцією, так і з порушенням прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, підвищенням рівня маркерів для білків окисного пошкодження, що призводить до змін структури макромолекули HSP70 [6,63,64]. Ендотеліопротектор ангіолін підвищує рівень HSP70 в цитозольній і мітохондріальній фракції кардіоміоцитів щурів з генетично детермінованою гіпертензією, що вказує на здатність препарату зменшити симптоми дисфункції мітохондрій і підвищити стійкість організму до пошкоджуючих факторів.

Інгібітор АПФ квінаприл та інгібітор рецепторів ангіотензину II ірбесартан не достовірно впливають на рівень Hsp70 обох фракцій, але, в поєднанні з ангіоліном, вони стабілізують концентрацію HSP70 в мітохондріальній і цитозольній фракціях кардіоміоцитів в поєднанні з відновленням оптичної густини мітохондрій та рівня аденілових нуклеотидів [7].

Етіологія та патогенез ревматоїдного артриту залишаються незрозумілими. Проте, показано, що при цьому захворюванні продукуються антитіла, спрямовані проти білків теплового шоку. Відомо, що білки теплового шоку з'являються на поверхні синовіальних мембранних клітин при бактеріальних інфекціях. Можливо, антитіла, спрямовані проти бактерій, активно реагують з білками теплового шоку, що спричиняє пошкодження клітин синовіальної мембрани [21].

Пептидні послідовності мікробних білків теплового шоку 60 і 70 є основними факторами, що стимулюють антиінфекційну імунну відповідь. Для білків теплового шоку прокаріотичних (бактерійних) та еукаріотичних клітин (савців та людей) характерний високий ступінь гомології (50-60%) як, наприклад, родина HSP-60. Це може означати, що білки теплового шоку, є потенційними кандидатами для молекулярної мімікрії і можуть бути розпізнані імунною системою як потенційно патогенні антигени, тобто, що вони можуть грати певну роль в розвитку не тільки антиінфекційного імунітету, але і аутоімунітету [3,8].

Дані про підвищення білків теплового шоку 60 і 70, або антитіл до них в плазмі крові при аутоімунних захворюваннях (ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, дерматоміозит, склеродермія, діабет, нефрит), а також при трансплантації органів, як правило, підтримують цю гіпотезу [20,52]. Мухіна Н.А. та ін визначили, що рівень антитіл до HSP70 був значно вищим у пацієнтів, хворих на системний червоний вовчак, дерматоміозит та хронічний гломерулонефрит, ніж у здорових людей.

Першим свідченням захисної функції білка теплового шоку при запальних захворюваннях було те, що ін'єкція у експериментальних тварин з аутоімунним ад'ювантним артритом HSP-60 має проти-запальний ефект і гальмує прогрес захворювання. Далі регуляторний ефект білка теплового шоку був встановлюваний в експериментах на інших моделях аутоімунного захворювання: аутоімунний енцефаломієліт та індукований колагеном артрит та діабет I типу [2,60].

Наявність білків теплового шоку клінічно перевірена у хворих на ревматоїдний артрит (РА) та діабет I типу, де захищальний ефект цих білків найбільш досліджений. Ін'єкційне введення пацієнтам, хворим на ревматоїдний артрит, препарату 89-OM (екстракту *E.coli*, очищеного від ендотоксину, який містить 60 HSP-і HSP-70) з РА в одному дослідженні і DNAJP1 (HSP-40 пептиду) в інших дослідженнях не продемонстрували жодних побічних ефектів і привели до позитивних клінічних результатів. Імуномодулюючий ефект полягав у зміні прозапального фенотипу Т-клітин (Th1) на протизапальний (T reg). При призначенні P277 пептиду (HSP-пептид) 60 DiaPep277 препарату пацієнтам з цукровим діабетом типу I, разом з хорошим клінічним ефектом, виявлено позитивний вплив на імунний статус, визначивши «перемикання» у відповідь протизапального Th1 на протизапальний Th2. В останні роки в експериментальних дослідженнях, переважно з ад'ювантним артритом, успішно застосовувалася вакцинація ДНК HSP. Після одноразової внутрішньом'язової ін'єкції ДНК-вакцини розвивалися клітинні та гуморальні імунні відповіді на кодований антиген, і відбувалася індукція клітин пам'яті [52]. Було продемонстровано, що ДНК вакцинація HSP60 та HSP70 активує специфічні клони Т-клітин, які продукують проти-запальні IL-10 і TGF- β і призводять до гальмування експериментального аутоімунного захворювання [21,53]. Вакцина HSP-70 індукує відповідь не тільки на її власний пептид, але і на багато пептидів HSP-60, тобто у цьому випадку є феномен імунологічного перехресту між молекулами, які не мають структурної гомології [45].

Коли ми старіємо, організм втрачає здатність адекватно реагувати на зовнішній стрес і підтримувати гомеостаз [48,60]. Старі клітини більш схильні до порушень і захворювань, тому з віком їх схильність до цих факторів зростає.

Протягом свого життя стабільний білок проходить різні посттрансляційні модифікації. Стійкість білків порушується численними шкідливими ефектами – глікацією, дезамінуванням залишків аспарагіну та глутаміну, що призводить до утворення

ізопептидних зв'язків. Чутливість до протеолізу підвищують помилки при транскрипції та трансляції, і проявляється дефектами згортання білків. Старіння характеризується збільшенням білкової модифікації, пов'язаної з гомеостазом згортання [5,41,65]. Функції шаперонів порушуються, зростає потреба у деградації білків, але активність головної протеолітичної одиниці, протеасоми, також знижується з віком, що призводить до небезпеки виникнення діабету. Агрегація також супроводжується процесами інгібування і арештом клітинного циклу. З віком також погіршується лісосомна деградація білків (можливо, через пригнічення ліпофусцином). Накопичення невірно сформованих білків та послаблення захисних механізмів призводять до утворення білкових агрегатів, що порушують клітинні функції та викликають захворювання, пов'язані з віком [15,41,65].

Денатуровані та агреговані білки в старіючих клітинах характерні для всіх досліджених видів організмів. Багато хвороб, пов'язаних з віком у людини (хвороби Альцгеймера, Паркінсона, пріонів та ін.), супроводжуються накопиченням неправильно розщеплених та / або згорнутих білків, що пов'язано з порушеною функцією HSP.

У цитоплазмі білки, подібні до HSP-70, індуюються, коли клітина пошкоджується, і вони взаємодіють з мікротрубочками, ймовірно, шляхом стабілізації цитоскелету та підвищення стійкості до механічного ураження клітин, цитоплазматичної агрегації та денатурації білків. Агрегація елементів цитоскелету, зокрема проміжних ниток кератину, є ознакою неспецифічної компоненти пошкодження клітин, і ці агрегати вважають частиною речовини, яка утворюється в пошкодженій клітині і відома в патологічній анатомії як "алкогольний гіалін". Спочатку "алкогольний гіалін" описувався Меллорі як спеціальні клітини пошкоджених гепатоцитів в алкоголіків. Мабуть, з віком знижується здатність певних клітин, зокрема, надниркових, для утворення HSP-70, і це вважається одним із можливих механізмів старіння клітин.

HSP групи 15-30 кДа також здатні взаємодіяти, після пошкодження клітин з елементами хроматину, впливати на клітинний цикл і покращувати опірність клітин до некрозу, принаймні, у міокарді. Ф. З. Мерсон назвав цей ефект "адаптивною стабілізацією структур", що проявляється як збільшення клітинної стійкості до гіпоксії та аутолізу після короткочасного стресу. Отже, HSP, принаймні частково, можуть стати неспецифічним фактором підвищення стійкості організму до раптової смерті, що є звичайним явищем під час стресу.

HSP з низькою молекулярною вагою представлені убіквітином. Убіквітини можна розглядати як рецептори для специфічних протеаз. Ядерні та цитоплазматичні білки, до яких приєднується убіквітин, піддаються позалізосомальному протеолізу [2,5,10,48].

Обмежений протеоліз, як засіб каскадної активації будь-яких конкретних ферментних і рецепторних систем, широко використовується живими клітинами. Обмежений протеоліз, в якому продукт протеолітичної реакції є ферментом, що прискорює

наступну стадію протеолізу, є основою для функціонування системи комплементу, системи коагуляції та антикоагуляції кінінової системи. Можливо, убіквітин необхідний для видалення денатурованих білків або запуску протеолітичних сигнальних систем у пошкодженій клітині.

У випадку ушкодження клітин убіквітини можуть також запускати протеоліз в клітині ядра, викликаючи лізис гістонів, анти-онкопротейнів p53 та цикліну всередині ядра клітини.

Вважається, що протеоліз гістонів може призвести до активації ендонуклеазних ферментів та фрагментації хроматину. Протеоліз цикліну може припинити розмноження дефектних клітин, а протеоліз білка p53 може призвести до його активації та запуску програми смерті клітини. Убіквінація хроматинових білків та інтенсифікація синтезу убіквітину настільки часто зустрічаються при апоптозі клітин, що деякі патологи вважають ці білки маркерами апоптозу. Проте для широкого клінічного застосування HSP необхідно проводити багатоцентрові контрольовані дослідження [10,18].

Білки теплового шоку (також відомі як напружені білки, молекулярні шаперони) вивчаються у багатьох лабораторіях у всьому світі. HSP є унікальним біологічним явищем, природним ад'ювантом, що значно підвищує імуногенність пептиду, пов'язаного

з ними. Шаперони беруть активну участь у створенні інфраструктури живих систем, забезпечують конформаційну стабільність білків, усунення безнадійно пошкоджених молекул протеїну, захист поліпептидів від впливу стресу з боку агресивного середовища, а також протидію шкідливому впливу мутацій. HSP є біологічними маркерами несприятливого стану організму.

У ході еволюції шаперони отримали нові функції, які дозволяють їх використовувати в медицині. Чим більше секретів цих незвичайних молекул ми викриємо, тим більшою буде сфера їх використання.

Таким чином, HSP є елементами найдавніших, неспецифічних механізмів реактивності клітин, вони здатні проявляти цитопротекторні ефекти при пошкодженні, одночасно захищаючи клітину від апоптозу і певною мірою на ранніх стадіях від розвитку важкої гіпоксії, а також від некрозу. Перспективними можуть бути використання протипухлинних вакцин, вакцин проти небезпечних інфекційних захворювань, активізація стійкості до стресу та сприяння довголіттю. Необхідно сподіватися, що численні спільні зусилля дослідницьких груп дозволять ефективно використовувати білки теплового шоку як інструмент боротьби з віковими захворюваннями (захворюваннями Альцгеймера, Паркінсона, тощо) і призведуть до радикального продовження життя.

Література

1. Belenichev I.F. Neyroproteksiya i neyroplastichnost / I.F. Belenichev, V.I. Cherniy, E.A. Nagornaya [i dr.]. – K: Logos, 2015. – 512 s.
2. Bilovol O.M. Klinichna immunologiya ta alergologiya / Za red. O.M. Bilovola, P.G. Kravchuna, V.D. Babadzhan, L.V. Kuznecovoyi. – Xarkiv: "Gryf", 2011. – 348 s.
3. Kamyishnyy A.M. Belki teplovogo shoka: struktura, shaperonnyie funktsii, antiapopticheskie efekty, mehanizmy uchastiya v patogeneze autoimunnykh zabolovaniy / A.M. Kamyishnyy, Yu.M. Kolesnik, A.V. Abramov [i dr.] // Zaporozhskiy med. zhurnal. – 2008. – T. 51, № 6. – S. 39-47.
4. Kolesnik Yu.M. Molekulyarno-biohimicheskie mehanizmy aktivizatsii energeticheskogo i plasticheskogo obmena v mitohondriyah i tsitozole pri ostroy tserebralnoy ishemii v eksperimente / Yu.M. Kolesnik, I.S. Chekman, I.F. Belenichev [i dr.] // Dop. Nats AkademiYi nauk UkraYini. – 2012. – № 3. – S. 174-178.
5. Margulis B.A. Belki stressa v eukarioticheskoy kletke / B.A. Margulis, I.V. Gutova // Tsitologiya. – 2000. – T. 42, № 4. – S. 323-339.
6. Nahorna O.O. Vplyv anhiolinu, irbesartanu, kvinaprylu ta yikh kombinatsii na vmist adenilovykh nukleotydiv, bilkiv teplovoho shoku ta mitohondrial'nu funktsiiu / O.O. Nahorna, I.S. Chekman, I.F. Bielenichev, N.O. Horchakova // Visnyk VDNZ «Ukrains'ka medychna stomatolohichna akademiia». – 2016. – T. 15, Vyp. 3 (52), 22. – S. 240-246.
7. Nahorna O.O. Vplyv anhiolinu, irbesartanu, kvinaprylu na pokaznyky oksliuvai'noi modifikatsii bilkiv kardiomiotsytiv schuriv pry arterial'noi hipertenzii / O.O. Nahorna, I.S. Chekman, I.F. Bielenichev, N.O. Horchakova // Visnyk problem biolohii ta medytsyny. – 2015. – Vyp. 2, T. 4 (12). – S. 161-166.
8. Neprintseva N.V. Opredelenie belkov teplovogo shoka v moche i tkani pochki, znachenie v otsenke aktivnosti i progressirovaniya hronicheskogo glomerulonefrita: dissertatsiya ... kandidata meditsynskikh nauk: 14.01.29 / Neprintseva Natalya Viktorovna. – Perviy Moskovskiy gosudarstvennyy meditsynskiy universitet im. I.M. Sechenova. – Moskva, 2014. – 104 s.
9. Nikitin K.D. Belki teplovogo shoka: biologicheskie funktsii i perspektivy primeneniya / K.D. Nikitin // Onkologiya. – 2008. – № 1. – S. 125-130.
10. Podlipaeva Yu.I. Izmenenie urovnya sodержaniya belka teplovogo shoka semeystva 70kDa u infuzorii Tetrahymena pyriformis v protsesse adaptatsii k izmeneniyu solenosti sredy / Yu.I. Podlipaeva, A.O. Smurov, A.V. Gudkov // Tsitologiya. – 2008. – T. 50, № 7. – S. 619-622.
11. Asea A. Mechanisms of HSP70 release / A. Asea // J. Biosci. – 2007. – Vol. 32. – P. 579-584.
12. Beer H.M. The stress of dying: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis / H.M. Beer // J Cell Sci. – 2004. – Vol. 117. – P. 2641-2651.
13. Belenichev I.F. Malate-aspartate shunt in neuronal adaptation to ischemic conditions: molecular-biochemical mechanisms of activation and regulation / I.F. Belenichev, N.N. Kolesnik, N.V. Buchtiyarova, S.V. Pavlov // Neurochemical Journal. – 2012. – Vol. 29, № 1. – P. 28-34.
14. Cho B.K. A proposed mechanisms for the induced of cytotoxic T-lymphocyte production by heat shock fusion proteins / B.K. Cho, D. Pulliser, E. Guillen // Immunity. – 2000. – Vol. 12. – P. 262-272.
15. Dangaard M. The heat shock protein 70 family: highly homologous proteins with overlapping and distinct functions / M. Dangaard, M. Rohde, M. Jaattela // FEBS Lett. – 2007. – Vol. 31. – P. 3702-3710.

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

16. Dery M.A. Hypoxia-inducible factor 1: regulation by hypoxic and nonhypoxic activators / M.A. Dery, M.D. Michaud, D.E. Richard // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2005. – Vol. 37. – P. 535-540.
17. Dice J. Chaperon-mediated autophagy / J. Dice // *Autophagy.* – 2007. – Vol. 3. – P. 295-299.
18. Ding Y. BiiB021 a synthetic HSP90 inhibitor induces mutant ataxin-1 degradation through the activation of heat shock factor 1 / Y. Ding, H. Adachi, M. Katsuno [et al.] // *Neuroscience.* – 2016. – Apr 4 pils0306-4522(16) 300513.
19. Gabai V. HSP 72 and stress Kinase c-jun N-terminak Kinase regulate the bid-dependent pathway in tumor necrosis factor-induced apoptosis / V. Gabai, K. Mabuchi, D. Mosser, M. Sherman // *Mol. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 22. – P. 3415-3424.
20. Goloubinoff P. The mechanism of HSP70 chaperones: entropic pulling and models together / P. Goloubinoff, P. De Los Rios // *Trends Biochem Sci.* – 2007. – Vol. 32. – P. 372-380.
21. Grundtman C. The autoimmune concept of atherosclerosis / C. Grundtman, G. Wick // *Curr Opin Lipidol.* – 2011. – Vol. 22, № 5. – P. 327-334.
22. Gurbuxani S. Heat shock protein 70 binding inhibits the nuclear import of apoptosis-induced factor / S. Gurbuxani, E. Schmidt, C. Cande [et al.] // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22. – P. 6669-6678.
23. Gutierrez E.M. Lysosomal membrane stability plays a major role in the cytotoxic activity of the antiproliferative agent, di-2-pyridylketone 4,4 dimethyl-3thiosemicarbazone (Dpp44mT) / E.M. Gutierrez, N.A. Seebacher, L. Azzumau [et al.] // *Biochem Biophys Acta.* – 2016. – Apr 19. – P. 80167-4889.
24. Habich C. Heat shock protein 60 regulatory role on the innate immune cells / C. Habich, V. Barcart // *Cell Mol Life Sci.* – 2007. – Vol. 64. – P. 742-751.
25. Harada Y. Sulfatide HSP70 interaction promotes HSP70 clustering and stabilizes binding to unfolded protein / Y. Harada, C. Sato, K. Kitagiima // *Biomolecules.* – 2015. – Vol. 5, № 2. – P. 958-973.
26. Harit F. Molecular chaperons in the cytosol from nascent chains to folded protein / F. Haritil, M. Haver-Hartil // *Science.* – 2002. – Vol. 295. – P. 1852-1858.
27. Henstridge D.C. Chaperoning to the metabolic party: the emerging therapeutic role of heat shock proteins in obesity and type 2 diabetes / D.C. Henstridge, M. Whitharn, M.A. Febbraio // *Mol. Metab.* – 2014. – Vol. 8, № 3. – P. 781-793.
28. Howe M.T. An inducible heat shock protein 70 small molecule inhibitor demonstrates anti-dengue virus activity validating HSP70 as a host antiviral target / M.T. Howie, B.L. Speer, P.F. Haghnes [et al.] // *Antiviral Res.* – 2016. – Vol. 130. – P. 81-92.
29. Hut M. HSP70 protects mitotic cells against heat-induced centrosome damage and division abnormalities / M. Hut, H. Kampinya, G. Sibon // *Mol. Biol. Cell.* – 2005. – Vol. 16. – P. 3776-3785.
30. Johnson J. Relating signals, secretory pathways and immune function of endogenous extracellular heat shock protein / J. Johnson, M. Fleshner // *J. Leukoc. Biol.* – 2006. – Vol. 79. – P. 425-434.
31. Kalmar B. The role of heat shock proteins in Amyotrophic Lateral Sclerosis: the therapeutic potential of Arithoclolomol / B. Kalmar, Ch. Lu, L. Greensmith // *Pharmacol Ther.* – 2014. – Vol. 141, № 1. – P. 40-54.
32. Kaur J. Induction of apoptosis by abrogation of HSP70 expression in human oral cancer cells / J. Kaur, R. Ralhan // *J. Cancer.* – 2000. – Vol. 85. – P. 1-5.
33. Levey D.I. The potential of heat shock protein-peptide complexes as a therapeutic vaccine / D.I. Levey, S. Brander, P.K. Strivastava // *J. Hiv. Ther.* – 2005. – Vol. 10, № 3. – P. 50-59.
34. Li X. Targeting allosteric control Mechanisms in heat shock protein 70 (HSP70) / X. Li, H. Shao, I.R. Taylor, J.E. Gestwick // *Curv. Top. Med. Chem.* – 2016. – Apr. 13.
35. Liberek K. Chaperones in control of protein disaggregation / K. Liberek, A. Lewandowska, S. Zietkiewicz // *EMBO J.* – 2008. – Vol. 23. – P. 328-395.
36. Linderoth N. Identification of the peptide-binding site in the heat shock chaperone tumor rejection antigen grp96 (Grp 94) / N. Linderoth, A. Popowicz, S. Sastry // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 5472-5477.
37. Liu W. KUG75, a concomitant shock protein inhibitor of HSP90 and HSP70 that manifests isoform selectivity for HSP90 in prostate Cancer Cells / W. Liu, G.A. Vielhauer, J.M. Holzbelerlein [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 88, № 1. – P. 121-130.
38. Macario A. Molecular chaperones: multiple function pathologies and potential applications / A. Macario, E. Conway de Macario // *Front biosci.* – 2007. – Vol. 12. – P. 2588-2600.
39. Manjili M.H. Development of recombinant HSP110 HER-2/ new vaccine using the chaperoning properties of HSP110 / M.H. Manjili, R. Henderson, X.Y. Wang [et al.] // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62. – P. 1737-1742.
40. Massac A. Enhanced efficacy of tumor cells' vaccines transfected with secretable HSP70 / A. Massac, C. Guiducci, I. Arioli [et al.] // *Cancer Res.* – 2004. – Vol. 64. – P. 1502-1508.
41. Mayer M. HSP70 chaperones: cellular function and molecular mechanisms / M. Mayer, B. Bukau // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2005. – Vol. 62. – P. 670-684.
42. Multhoff G. Heat shock protein 70 (HSP70) membrane location export and immunological relevance / G. Multhoff // *Method.* – 2007. – Vol. 43. – P. 299-237.
43. Navaratnam M. Heat shock protein-peptide complexes elicit cytotoxic T-lymphocyte and antibody response specific for bovin herpes virus / M. Navaratnam, M. Deslipande, M. Hariharam [et al.] // *Vaccine.* – 2001. – Vol. 9. – P. 1425-1434.
44. Noessner E. Tumor-derived heat shock protein 70 peptide complexes are cross-presented by human dendritic cells / E. Noessner, R. Gastrar, V. Milani // *J. Immunol.* – 2002. – Vol. 169. – P. 5424-5432.
45. Nylandsted J. Heat shock protein 70 promotes cell survival by inhibiting lysosomal membrane permeabilization / J. Nylandsted, M. Gyrd-Hansen, A. Danielewicz [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2004. – Vol. 200. – P. 425-435.
46. Ohashi K. Cutting edge heat shock protein 60 is putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4-complex / K. Ohashi, V. Burkart, S. Flone, H. Kolb // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164. – P. 558-561.
47. Pearl L. The HSP90 molecular chaperone on open and shut case for treatment / L. Pearl, C. Prodronou, P. Workman // *Biochem J.* – 2008. – Vol. 410. – P. 439-453.
48. Ram R. HSP70 promotes TNF-mediated apoptosis by binding IKK gamma and impairing NF-kappa-B survival signaling / R. Ran, A. Lu, L. Zhang [et al.] // *Genes Develop.* – 2004. – № 18. – P. 1466-1481.

49. Ravagnan L. Heat shock protein 70 antagonizes apoptosis-inducing factor / L. Ravagnan, S. Gurfocani, S. Sustin [et al.] // *Nat. Cell. Biol.* – 2001. – Vol. 3. – P. 839-843.
50. Saibil H. Chaperons machines in action / H. Saibil // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2008. – Vol. 18. – P. 35-42.
51. Schlesinger M.J. Heat shock proteins / M.J. Schlesinger // *The Journal of Biological Chemistry.* – 1990. – Vol. 265, № 21. – P. 12111-12114.
52. Schmitt E. Intracellular and extracellular function of heat shock proteins: repercussion in cancer therapy / E. Schmitt, M. Gehrmann // *J. of Leukocyte Biology.* – 2007. – Vol. 81. – P. 15-27.
53. Schulz R. Targeting the heat shock protein 90: a rational way to inhibit macrophage migration inhibitory factor function in cancer / R. Schultz, U.M. Moll // *Curr Opin Oncol.* – 2014. – Vol. 26, № 1. – P. 108-113.
54. Song J. Bag1-HSP70 mediates a physiological stress signaling pathway that regulates Raf-1/ERK and cell growth / J. Song, M. Takeda, R. Morimoto // *Nat. Cell Biol.* – 2001. – Vol. 3. – P. 276-282.
55. Sun Y. Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function / Y. Sun, T. Mac, O. Raet // *Cell Mol Life Sci.* – 2005. – Vol. 62. – P. 2460-2476.
56. Tissieres A. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster* Relation to chromosome puffs / A. Tissieres, H.K. Mitchell, U.M. Tracy // *Mol. Biol.* – 1974. – Vol. 84. – P. 389-398.
57. Tsan M. Heat shock protein and innate immunity / M. Tsan, B. Gao // *J. Cellular and molecular immunology.* – 2004. – Vol. 1. – P. 271-279.
58. Vab Eden W. Heat shock proteins induce T-cell regulation if chronic inflammation / W. Van Eden, R. Vander Zell, B. Praklen // *Nat. Reg. Immunol.* – 2005. – Vol. 277. – P. 40472-40750.
59. Vabulas R. The endoplasmic reticulum-resident heat shock protein GP 96 activates dendritic cells via the toll-like receptor 2/4 pathway / R. Vabulas, S. Braedel, N. Hief [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 277. – P. 20847-20853.
60. Van Eden W. Diet and the antiinflammatory effect of heat shock proteins / W. Van Eden // *Endocr Metab Immune Discord Drug Targets.* – 2015. – Vol. 15, № 1. – P. 31-36.
61. Whitham M. Heat shock protein 70: release and biological significance during exercise / M. Whitham, M. Fortes // *Front Biosci.* – 2008. – Vol. 13. – P. 1328-1329.
62. Zhang L. Lipopolysaccharide pretreatment promotes cardiac stem cell migration through heat shock protein 90-dependent B-catenin activation / L. Zhang, W.R. Geng, J. Hu [et al.] // *Life Sci.* – 2016. – ml:S0024-3205 (1) 30242-9.
63. Zhang Y. Dendritic-tumor fusion cells derived heat shock protein 70-peptide complex has enhanced immunogenicity / Y. Zhang, G. Zhang, J. Chen // *PLOSones.* – 2015. – Vol. 10, № 5. – doc 0126075.
64. Zhang Y. Enhanced antitumor immunity of nanoliposome-encapsulated heat shock protein 70 peptide complex derived from dendritic tumor fusion cells / Y. Zhang, W. Luo, Y. Wang [et al.] // *Oncol. Rep.* – 2015. – Vol. 33 № 6. – P. 2695-1702.
65. Zhao Z. X66, a novel N-terminate heat shock protein 90 inhibitor exerts antitumor effects without induction of heat shock response / Z. Zhao, J. Zhu, H. Quan [et al.] // *Oncotarget.* – 2016. – Apr 18. – doc. 10 18632 / oncotarget 8818.
66. Zhou J. PI3K/AKT is required from heat shock proteins to protect hypoxia-inducible factor – 16 from p.VHL-independend degradation / J. Zhou, T. Schmid, R. Franc, R. Bruno // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 13506-13514.

УДК: 615.2: 577.112.5: 77.27

БІЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКУ – НОВА ЛАНКА В МЕХАНІЗМАХ ДІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Шумейко О. В., Нагорна О. О.

Резюме. В процесі еволюції організм розробив і забезпечив різні механізми адаптації, які підвищують його стійкість до несприятливих факторів. Якшо несприятливий вплив на організм перевищує захисні можливості морфо-анатомічної і фізіологічної адаптації, проявляється наступний механізм захисту – виробництво так званих білків теплового шоку. Дослідники класифікують ці білки на чотири класи:

- 1) HSP 90, група білків зі значною масою (90-100kDA, можливо 83kDA);
- 2) HSP 70 група білків з молекулярною масою 70kDA;
- 3) HSP з малою молекулярною масою (15-30kDA);
- 4) HSP 100, білки теплового шоку з дуже значною молекулярною масою до 110kDA.

Функції білків теплового шоку полягають в згортанні незрілих пептидних ланцюгів, полегшенні перенесення білків через різні клітинні компартменти, модуляції білкової активності, підтримці мультибілкових комплексів і захисті інших агрегаційних властивостей.

HSP100 виконують захисну роль щодо організму під час стресу. HSP60 впроваджуються в транспорт структурних мультидоменних протеїнів. HSP90 утворюють комплекси з кошаперонами, які взаємодіють з рецепторами гормонів та мають значення у виробництві протипухлинних вакцин. HSP70, HSP90 вважають новою мішенню для протипухлинних, серцево-судинних засобів, препаратів для лікування діабету.

Ключові слова: білки теплового шоку, вакцини, мішені протипухлинних і серцево-судинних, гормональних лікарських засобів.

УДК: 615.2: 577.112.5: 77.27

БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА – НОВОЕ ЗВЕНО В МЕХАНИЗМАХ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Зайченко А. В., Горчакова Н. А., Шумейко Е. В., Нагорная Е. А.

Резюме. В процессе эволюции организм разработал и обеспечил разные механизмы адаптации, которые повышают его стойкость к неблагоприятным факторам. Если неблагоприятное влияние на организм превышает защитные возможности морфо-анатомической и физиологической адаптации, проявля-

ется следующий механизм защиты – производство так называемых белков теплового шока. Исследователи классифицируют эти белки на четыре класса:

- 1) HSP 90, группа белков со значительной массой (90-100kDa, возможно 83kDa);
- 2) HSP 70 группа белков с молекулярной массой 70kDa;
- 3) HSP с малой молекулярной массой (15-30kDa);
- 4) HSP 100, белки теплового шока с очень значительной молекулярной массой до 110kDa.

Функции белков теплового шока заключаются в свертывании незрелых пептидных цепей, облегчении переноса белков через различные клеточные компартменты, модуляции белковой активности, поддержке мультибелковых комплексов и защите других агрегационных свойств.

HSP 100 исполняют защитную функцию относительно организма при стрессе. HSP 60 внедряются в транспорт структурных мультидоменных протеинов. HSP 90 образуют комплексы с кошаперонами, которые взаимодействуют с рецепторами гормонов имеют значения в производстве противоопухолевых вакцин. HSP70, HSP90 считают новой мишенью противоопухолевых, сердечно-сосудистых средств, препаратов для лечения диабета.

Ключевые слова: белки теплового шока, вакцины, мишени противоопухолевых, гормональных, сердечно-сосудистых средств.

UDC: 615.2: 577.112.5: 77.27

HEAT SHOCK PROTEINS – NEW LINK IN THE MECHANISM OF DRUG EFFECT

Zaychenko A. V., Gorchakova N. A., Shumeiko E. A., Nagornaya E. A.

Abstract. In the process of evolution, the body has developed and secured various adaptation mechanisms that improve its resistance to adverse factors. If a damaging effect on the body exceeds the protective capacity of the morpho-anatomical and physiological adaptations, then the following protection mechanism is activated: the production of the so-called heat shock proteins (HSP). According to modern classification, there are 8 model HSPs with low HSP mass of 25/27 kDa, 22.20 kDa, as well as high molecular weight HSP – 110, 100, 90, 70, 60, 40. HSPs with high-molecular weight are ATP-dependent, while the activity of small HSPs does not depend on ATP.

Most researchers identify 4 main families of HSP:

- 1) HSP90 (a group of proteins with high molecule weight, which mass in mammals is 90kDa, in yeast – 104kDa and in *Drosophila* – 83 kDa);
- 2) HSP70 (a family of proteins with molecular weight of 70 kDa, which are more common than others, are found in mammals);

- 3) small HSP, with molecular weight from 15 to 30 kDa;

- 4) HSPs with very high molecular weight, as HSP110.

HSP chaperone functions are as follows:

Folding of immature polypeptide chains;

Facilitation of movement of proteins through different cellular compartments;

Modulation of protein activity by stabilizing and/or maturation to functionally competent conformation;

Assistance in synthesis / breakdown of multiprotein complexes;

Improvement of misfolded proteins;

Protection of proteins from aggregation;

Direction of completely damaged proteins to cleavage;

Composition of aggregates of ruined proteins;

Solubilization of protein aggregates for further degradation.

Heat shock proteins have a pronounced anti-inflammatory effect, preventing cell response to inflammatory cytokines such as TNF and IL-1.

HSPs are characterized with double immunoreactive function in the body: intracellular cytoprotective and anti-apoptotic, as well as extracellular or immunogenic functions. Protein HSP90 proves to be the most promising anticarcinogenic pharmacological target. HSP100 performs protective function, protecting the body under stress by disaggregating proteins. HSP90 form complicated complexes with several auxiliary proteins (co-chaperones) which complexes interact with steroid hormone receptors. HSP90 is most commonly used in oncohematology for the production of anti-tumor vaccines. The effect on HSP72 may be promising for treatment of metabolic disorders of type 2 diabetes. Heat shock protein (HSP70) can be considered as a new drug target. Endothelial protector Angiolin increases HSP70 levels in cytosolic and mitochondrial fractions of cardiomyocytes of rats with genetically determined hypertension, indicating that the drug's ability to reduce the symptoms of mitochondrial dysfunction and increase the body's resistance to damaging factors. In the course of evolution, chaperones obtained new functions which enable to use them in medicine.

Keywords: heat shock proteins, vaccines, targets for antitumor, hormonal, cardio-vascular drugs.

Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 10.08.2017 року