37. *Bakris G.L.* When Does New Onset Diabetes Resulting From Antihypertensive Therapy Increase Cardiovascular Risk / G.L. Bakris, J.R. Sowers // Hypertension. – 2004. – Vol.43. – P. 941-942.

38. Adverse Prognostic Significance of New Diabetes in Treated Hypertensive Subjects / *Verdecchia P., Reboldi G., Angeli F. et al.* / / Hypertension. – 2004. – Vol.43. – P. 963-969.

39. Impact of new-onset diabetes mellitus on cardiac outcomes in the Valsartan Antihypertensive Long-term Use Evaluation (VALUE) trial population / *Aksnes T.A., Kjeldsen S.E., Rostrup M. et al.* // Hypertension. – 2007. – Vol.50(3). – P. 467-473.

40. *Johnson M.L.* Patterns of antihypertensive therapy among patients with diabetes / *M.L. Johnson, H.J. Singh* // Gen Intern Med. – 2005. – Vol.20(9). – P. 842-846.

41. Group Effect of the addition of rosiglitazone to metformin or sulfonylureas versus metformin/sulfonylurea combination therapy on ambulatory blood pressure in people with type 2 diabetes: a randomized controlled trial (the RECORD study) / *Komajda M., Curtis P., Hanefeld M. et al.* for The RECORD Study // Cardiovascular Diabetology. – 2008. – Vol.7. – P. 1475-2840.

42. Pioglitazone decreases ambulatory blood pressure in type 2 diabetics with difficult-to-control hypertension / *de Rivas B., Luque M., Martell N. et al.* // J. Clin. Hypertens. (Greenwich). – 2007. – Vol.9(7). – P. 530-537.

Сведения об авторах: Альхамс Мухаммед Адель - аспирант кафедры госпитальной терапии №2 ДГМА.
Адрес для переписки: 49000, г. Днепропетровск, ул. Телевизионная, 2, кв.38. Тел.: (0562) 47-45-87

УДК: 616-001.16: 577.122.8-092:612.017.91

А.М. Камышный , Ю.М. Колесник , А.В. Абрамов, В.А. Любомирская, Г.И. Бессараб

БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА: СТРУКТУРА, ШАПЕРОННЫЕ ФУНКЦИИ, АНТИАПОПТОТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ, МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Запорожский государственный медицинский университет

Ключові слова: *білки теплового шоку, апоптоз, аутоімунні захворювання.*
Ключевые слова*: белки теплового шока, апоптоз, аутоиммунные заболевания*
Key words: *heat-shock proteins, apoptosis, autoimmune diseases.*

Білки теплового шоку (Hsp) – філогенетично старовинні внутрішньо-иклітинні білки, які зустрічаються в усіх ядерних клітинах. Багатозначність функцій Hsp обумовлена їх здатністю зв'язуватися с внутрішньоклітинними пептидами й у вигляді таких комплексів брати участь в різноманітних клітинних процесах (фолдінг, транспортування білків, захист клітин від стресу різного ґенезу і т.п.). Даний огляд присвячено шаперонним функціям Hsp, молекулярним механізмам їх антиапоптотичних ефектів і ролі Hsp в патогенезі розвитку аутоімунної патології.

Белки теплового шока (Hsp) – филогенетически древние внутриклеточные белки, которые встречаются во всех ядерных клетках. Множественность функций Hsp обусловлена их способностью связываться с внутриклеточными пептидами и в виде таких комплексов брать участие в разнообразных клеточных процессах (фолдинг, транспортировка белков, защита клеток от стрессов разного ґенеза иі др.). Данный обзор посвящен шаперонным функциям Hsp, молекулярным механизмам их антиапоптотических эффектов и роли Hsp в патогенезе развития аутоиммунной патологии.

The heat-shock proteins (Hsp) - phylogeneticaly old intracellular proteins that are found in all cells with nucleus. The capacity to connect with intracellular peptides and taking part in the different cellular processes(proteins transport, antistress cells protection etc.) specifies the variability of their functions. This review is devoted to functions of Hsp, molecular mechanisms of their antiapoptotic effects and participation in autoimmune diseases pathogenesis.

В 1974 году A. Tissieres et al. [71] впервые обнаружили, что в ответ на повышение температуры окружающей среды у личинок дрозофилы происходит активация синтеза специфической группы белков. Эта группа получила название белков теплового шока (heat shock proteins, Hsp). Позже было установлено, что синтез этих белков индуцируется не только при повышении температуры, но и при многих других неблагоприятных воздействиях, таких как добавление к клеткам органических растворителей, тяжелых металлов, сильных оксидантов, а также под влиянием некоторых гормонов и ростовых факторов. В связи с этим некоторые авторы называют белки теплового шока стресс-белками (stress proteins) [63]. Hsp кодируются семейством эволюционно устойчивых генов, которые экспрессируются в ответ на разнообразные стрессовые воздействия и участвуют в механизмах адаптации, они относятся к высококонсервативным белкам. Это свидетельствует о том, что Hsp выполняют фундаментальные клеточные функции [80]. Наиболее существенным фактом, полученным на начальном этапе исследования Hsp, было то, что эти белки были обнаружены во всех исследованных организмах и клетках. Hsp обнаруживаются во множестве внутриклеточных структур (в цитоплазме, ядре, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях и хлоропластах), во всех ядерных клетках у всех многоклеточных организмов, начиная с самых примитивных – как у растений, так и у животных, а уровень гомологии между Hsp белками прокариот и эукариот превышает 50% при полной идентичности отдельных доменов [44]. Материалы первого симпозиума, посвященного Hsp (Cold Spring Harbor, США, 1982), вышли под названием «Heat Shock Proteins: From Bacteria to Man». Так было определено одно из приоритетных направлений биологии – белки теплового шока, как наиболее консервативная и универсальная система клеточного ответа на неблагоприятные условия внешней среды. Соотношение уровня Hsp и общего уровня белка в клетке, подвергнутой стрессу, настолько велико, что количество белков теплового шока в ней достигает 15-20% от всех растворенных белков цитоплазмы [70].

Согласно современной классификации, в основу которой положены различия в молекулярных массах, выделяют пять основных классов Hsp: Hsp100, 90, 70, 60 и малые Hsp (small Hsp, sHsp) [34]. Каждый из этих классов белков теплового шока выполняет характерные функции. Так, белки семейства Hsp70 (как и их бактериальный аналог DnaK), взаимодействуют с вновь синтезируемой на ри-

©i . , . x ΔΠΰ é PΰN B. , . x ΣΟΙ ΦΡΜΕ, i .u . i ΕΥΔΠΣΖ, u .i . ´ γ ΕΣΠΜΥΦΕΔΔ, c .t . o I ΦΦΔΥΔΕ, 2008

босомах полипептидной цепью, предотвращают преждевременное неправильное сворачивание незрелой полипептидной цепи и участвуют в транспорте белка к определенным органеллам (митохондриям, эндоплазматическому ретикулуму и т.д.) [80]. Белки класса Hsp100 являются близкими родственниками белков теплового шока с молекулярной массой 70 кДа и выполняют защитную функцию, предохраняя организм в условиях стресса [61]. Hsp90 образуют сложный комплекс с несколькими вспомогательными белками (т.н. кошаперонами). Такой комплекс взаимодействует с рецепторами стероидных гормонов, обеспечивает эффективное связывание гормона с рецепторами и последующий перенос гормон-рецепторного комплекса в ядро. Помимо этого, белки класса Hsp90 участвуют в направленном переносе нескольких типов протеинкиназ к участкам их функционирования [58]. Белки семейства Hsp60 могут участвовать в фолдинге сложно устроенных многодоменных белков (таких как актин или тубулин), а также в АТФ-зависимом исправлении ошибок в структуре частично денатурированных белков [32]. К последней группе белков теплового шока относятся Hsp с малыми молекулярными массами (sHsp), выполняющие множество разных функций в клетке, в том числе участвующих в предотвращении агрегации и защищающих клетку от накопления частично денатурированных белков [69]. Данный обзор преимущественно посвящен описанию структуры, свойств и некоторых функций, выполняемых белками теплового шока с молекулярной массой 70 кДа (Hsp70) как наиболее распространенному и изученному на данный момент семейству Hsp.

Структура Hsp70, шаперонные функции

Один из наиболее хорошо изученных белков теплового шока - белок Hsp70, главный представитель одноименного семейства. Индукция Hsp70 происходит в ответ на действие многих стрессовых факторов [6,80]. Это семейство белков, объединенных сходной структурой и функцией. Геном млекопитающих включает 12-14 генов Hsp, три из которых, Hsp70-1, Hsp70-2 и Hsp70-Hom, картированы на 6-ой хромосоме человека в участке генов главного комплекса гистосовместимости. Все три гена не содержат интронов и кодируют белки, включающие 641 аминокислоту [49]. Последовательности генов Hsp 70-1 и Hsp 70-2 идентичны в кодирующей части, а разница обнаружена только в небольшом фрагменте 3-нетранскрибируемой области. В бактериях имеется всего один ген семейства Hsp70, кодирующий белок DnaK, в дрожжах это семейство представлено несколькими группами белков SSA, SSB и SSC [28].

В одной клетке млекопитающих можно обнаружить одновременно несколько членов семейства Hsp70; основными компонентами являются стресс-индуцибельный Hsp72 –kDa protein (Hsp72), конститутивно синтезирующийся Hsc73, белок, регулируемый глюкозой Grp78 (Grp – от англ. glucose-regulated protein, «белок, регулируемый глюкозой») и митохондриальный Hsp75 [39]. Тотальная гомология последовательности между членами семейства Hsp70 составляет 50%, а для отдельных участков, включая центр связывания АТФ, она достигает 80%. Особую роль в функции Hsp70 играет домен связывания АТФ: он имеется у всех членов семейства, и его структура сходна с соответствующими доменами актина и гексокиназы. Благодаря этому свойству белки семейства Hsp70 можно очищать практически в один этап, используя хроматографию на специальной матрице, геле АТФ-агарозы. В целом, по своему строению молекулы Hsp70 напоминают белки, относящиеся к главным комплексам гистосовместимости (ГКГ) класса I и II [62]. Есть предположения, что Hsp70 могли быть эволюционным предшественником белков ГКГ обоих классов, причем, исходя из способности связывать крупные полипептиды, наиболее близкими Hsp70 являются белки класса II. У некоторых членов семейства в начале N-концевого участка имеется сигнальная последовательность для проникновения в митохондрии или в эндоплазматический ретикулум, а у Grp78 такая последовательность расположена в С-концевой части молекулы. Hsp70 и Hsc70 содержат также NLS-последовательность (nuclear leader sequence), позволяющая этим белкам в одиночку или с другими молекулами мигрировать в ядро [40]. По-видимому, важным свойством Hsp70 и Hsc70 является их способность образовывать смешанные олигомеры, причем в подобные структуры вовлекаются другие клеточные белки [52]. В цитоплазме клеток располагаются индуцибельный Hsp72 и конститутивный Hsc73, тепловой шок и некоторые иные стрессорные факторы вызывают массовый переход этих белков в ядро, точнее ядрышки. Как полагает большинство авторов, Hsp70 призваны защищать от повреждения чувствительную структуру прерибосом [21]; кроме того, возможно, эти белки взаимодействуют со специфическими транскрипционными факторами для гена hsp70, HSF (от англ. heat shock factor – фактор теплового шока), и участвуют в регуляции активности собственных генов [6]. Многочисленные функции белков, относящихся к семейству Hsp70, в клетке являются, по-видимому, производными их шаперонной активности, о чем речь пойдет ниже.

Как цитопротекторные свойства стресс-белков, так и их роль в процессах нормальной жизнедеятельности клетки во многом определяется тем, что эти белки являются шаперонами. Термин шаперон (chaperon – фр., пожилая дама, сопровождающая молодую девушку на балы, компаньонка) впервые применен Laskey R.A. в 1978 году к белку, предотвращавшему нежелательные ионные взаимодействия между гистонами и молекулой ДНК [41]. Шапероны – это белки, которые облегчают сворачивание, сборку и разборку других белков. К шаперонам относятся Hsp70, Hsp90, Hsp60, Hsp27. Все шапероны способны связывать новообразующиеся белки и контролировать корректное формирование их третичной структуры (фолдинг): связываясь с растущими пептидными цепями еще на рибосоме, Hsp предотвращают их неспецифическую агрегацию, предохраняют от преждевременного протеолитического распада и способствуют правильному и своевременному сворачиванию поли-

©i.¸.x ΔΠΫέΡΫΝ Β.¸.x ΣΟΙΦΡΜΈ, i.u.i ΕΥΔΠΣΖ u.i.´γΕΣΠΜΥΦΕΔδ c.t.o ΙΦΦΔΥΔΕ 2008

пептида в трехмерную структуру [4]. Hsp также связывают мутантные белки или белки, чья третичная структура уже сформировалась неверно, и защищают клетку от воздействия таких белков (причем некоторые Hsp – а именно, представители семейства Hsp 70, обладают свойствами фермента, исправляющего неправильно сформировавшиеся белки за счет энергии АТФ) [25]. При воздействии любого стрессорного фактора активность Hsp 70 резко возрастает, они интенсивно связываются с денатурирующими белками и поддерживают их в состоянии, способном к последующему восстановлению [7]. Как уже упоминалось выше, в норме Hsp 70 присутствуют в цитоплазме в комплексе с транскрипционным фактором HSF. При стрессорном воздействии HSF отделяется от Hsp 70, образует тримеры, приобретает ДНК-связывающую активность и накапливается в ядре, где активирует транскрипцию дополнительных шаперонов и подавляет транскрипцию других генов [47]. По прошествии стрессорного воздействия освободившиеся Hsp связывают HSF и переходят в исходное состояние. Таким образом, синтез Hsp является универсальным неспецифическим ответом клетки на стресс, и, по современным данным, не известно такого вида клеточного стресса, при котором не происходило бы синтеза Hsp [35].

Способность к шаперонингу заложена в структуре белков-шаперонов, которое позволяет им осуществлять цикличное АТФ/АДФ-зависимое связывание с другими белками [42]. Четвертичная структура шаперонов–представителей семейства Hsp70 представлена димером. Hsp70 состоит из двух функционально значимых доменов: АТФ/АДФ-связывающего домена, соответствующего NH2–терминали, которая по существу представлена АТФ-азой, и пептид-связывающего домена, соответствующего COOH-терминали, которая вариабельна по аминокислотному остатку и определяет субстратную специфичность, а также некоторые различия в функциях HSP в клетках разных видов живых организмов [29]. В субстрат-связывающем домене находится функционально значимая последовательность аминокислот. Четыре остатка лейцина, входящих в эту последовательность, образуют четыре петли, две из которых формируют субстрат-связывающий участок. Последний взаимодействует с гидрофобными аминокислотными последовательностями белков-субстратов. Когда белок-субстрат находится в нативной конформации, гидрофобные последовательности спрятаны в сердцевине глобулы белка и недоступны для Hsp. В активной конформации гидрофобные последовательности белка экспонируются на поверхности молекулы и становятся доступными для субстрат-связывающего участка Hsp70. В результате взаимодействия субстрат-связывающего участка Hsp70 с гидрофобными последовательностями белка-субстрата между ними формируются гидрофобные связи. Для HSP показана способность образовывать комплексы практически со всем спектром клеточных белков: с белками ядрышка, с ДНК-репликативным инициирующим комплексом, белком p53, факторами транскрипции, белками микротубул и др. [45]. Консервативный АТФ-азный домен состоит из двух больших глобулярных субдоменов. Оба субдомена и связывающие их альфа-спирали отвечают за формирование нуклеотид-связывающего участка. В зависимости от насыщенности нуклеотида фосфатными остатками, различают два состояния Hsp70: Hsp70-АТФ и Hsp70-АДФ. В комплексе Hsp70-АТФ субстрат-связывающий участок открыт, т.к. комплекс Hsp70-АТФ обладает низким сродством к субстрату и высокой скоростью обмена субстрата. В комплексе Hsp70-АДФ субстрат-связывающий участок закрыт, т.к. он обладает высоким сродством к субстрату и низкой скоростью его обмена. На первом этапе шаперонного механизма происходит быстрое формирование слабого комплекса между Hsp70-АТФ и субстратом, далее следует медленная структурная перестройка, изменяющая константу диссоциации для АТФ. На втором этапе происходит гидролиз АТФ, сопряженный с изменением конформации пептид-связывающего домена и высвобождением или заменой связанного с Hsp70 субстрата [33].

Антиапоптотические эффекты HSP 70

Изменение экспрессии Hsp70 способно влиять на интенсивность процессов апоптоза, при этом большинство исследований продемонстрировало выраженные антиапоптотические эффекты данного протеина [1]. Показано, что повышенная экспрессия Hsp70 защищает клетки от TNFα- индуцируемой смерти и механизм его действия связан с ингибированием активации фосфолипазы А2 [37].

Кроме того, защитный механизм действия Hsp70 связан с ингибированием активации стресс-индуцируемого JNK киназного каскада (c-Jun N-terminal kinase) [51] *(рис.1)*. Он состоит в связывании Hsp70 с ферментом фосфатазой pJNK, осуществляющей дефосфорилирование JNK-P, фосфорилированной формы JNK. JNK-P образуется из JNK при повышении уровня АФК или других стрессовых воздействий, а также под влиянием TNFα. Образовавшись, JNK-P запускает цепь событий, ведущих к апоптозу [50]. Связывание с Hsp70 активирует фосфатазу, что имеет следствием снижение JNK-P и, стало быть, торможение апоптоза [26]. В клеточной линии с конститутивно повышенной экспрессией Hsp70 этот белок в условиях теплового стресса не влияет на активацию SARK1/JNK киназного каскада, но предотвращает апоптоз, индуцированный церамидами, блокируя процессинг каспазы-3 [51].

Еще один механизм антиапоптотического эффекта Hsp 70 включает его связывание с Apaf-1 (apoptosis protease-activating factor-1), что блокирует формирование комплексов Apaf-1-цитохром с и нарушает связь Apaf-1 с прокаспазой 9, то есть нарушает сам процесс образования апоптосомы [11] *(см.рис.1)*. Другие сообщения показали, что Hsp70 взаимодействует с прокаспазой-3 и прокаспазой-7 и препятствует их созреванию, тем самым оказывая тормозящее влияние на каспаз-зависимую апоптотическую сигнализацию [38].

©ⁱ . ¸ . ˣ ΔΠΫ́ ἐ ΡΫ́Ν В. ¸ . ˣ ΣΟΙ ΦΡΜΕ, ⁱ .ᵘ . ⁱ ΕΥΔΠΣΖ, ᵘ .ⁱ . ´ γ ΕΣΠΜΥΦΕΔδ, ᶜ .ᵗ . ᵒ ΙΦΦΔΥΔΕ, 2008

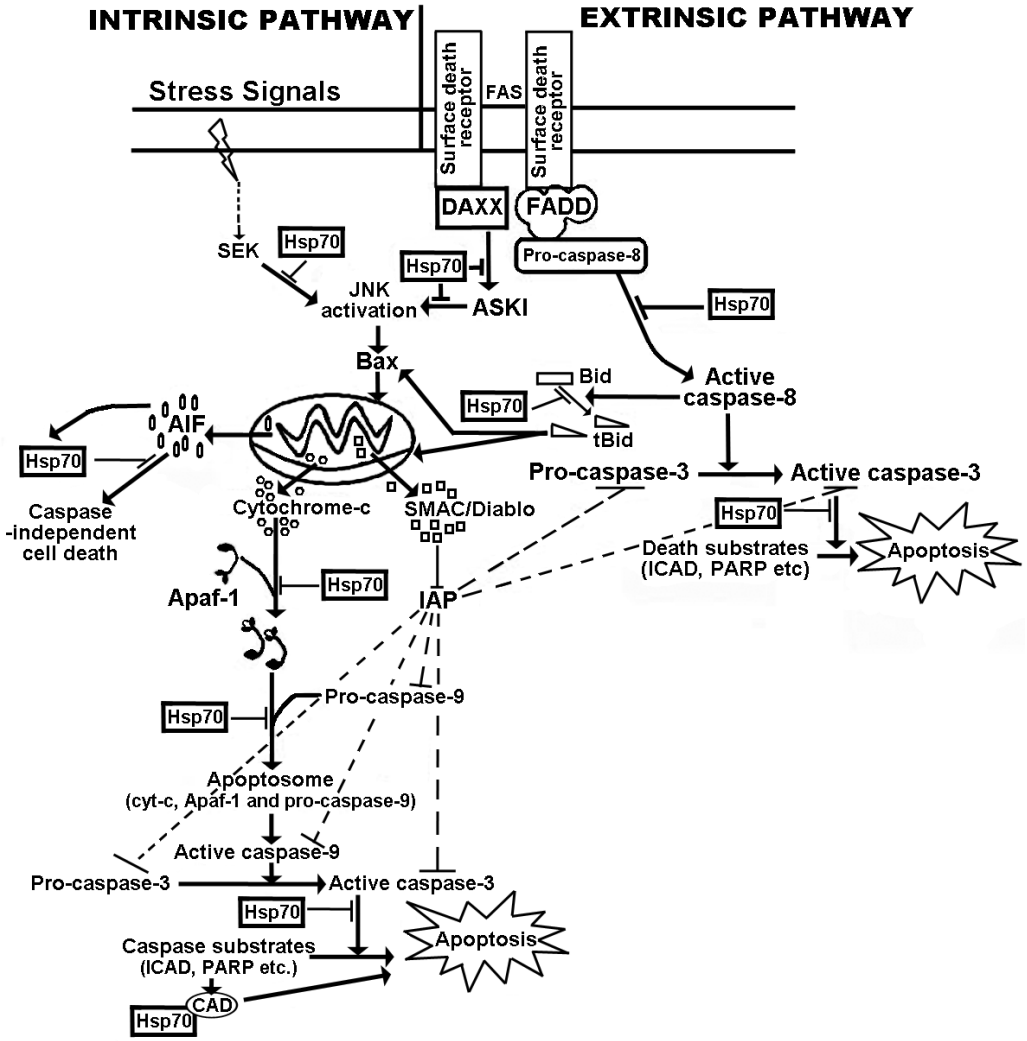

Рис.1. ***Молекулярные механизмы антиапоптотических эффектов Hsp 70 (Aria R., Mallik M., Lakhotia S. Heat shock genes – integrating cell survival and death // J. Biosci.-2007.-Vol.32.-P.595-610)***

Hsp70 способен предотвращать и каспаз-независимые пути апоптоза путем непосредственного связывания фактора, индуцирующего апоптоз (AIF, apoptosis-inducing factor) [31]. AIF - митохондриальный флавопротеин межмембранной локализации с молекулярной массой 57кДа. При поступлении апоптотического сигнала происходит транслокация AIF из митохондрии в цитоплазму, а затем в ядро *(см.рис.1*). Механизм включения апоптоза посредством AIF состоит в активации эндонуклеазы, расщепляющей ядерную ДНК [60]. AIF, как показано, может и самостоятельно вызывать падение трансмембранного потенциала митохондрий, конденсацию хроматина и фрагментацию ДНК. Наряду с этим, была установлена способность Hsp70 ингибировать проапоптотический белок p53 [84]. В свою очередь, обнаружено влияние мутантов p53 на регуляцию промотора гена теплового шока HSP70: p53 дикого типа репрессирует транскрипцию с промотора HSP70 [79].

Механизмы супрессии апоптоза также могут быть связаны со сложным, АТФ-зависимым взаимодействием между Hsp70, антиапоптическими белками Bag-1 и Bcl-2, различными компонентами киназных каскадов и каспазами [27]. Действительно, обнаружение того, что Hsp70 является Bag-1-связывающим белком, предполагает возможность его влияния на функции Bag-1, антиапоптическая активность которого опосредуется через взаимодействие с рецепторами тирозинкиназы (tyrosine kinase receptors, RTKs), антиапоптическим белком Bcl-2 и серин-треонин Raf-1 киназой, которая при супрессии апоптоза кооперируется также с Bcl-2] [10]. Тот факт, что антиапоптический комплекс Bag-1/Bcl-2 образуется только в присутствии АТФ и Hsp70, позволяет предположить, что Hsp70 опосредует свою защитную функцию в супрессии апоптоза через взаимодействие с этими белками [65]. Не исключено, что он может принимать участие в стабилизации и других комплексов. Так, с одной стороны, показано, что члены антиапоптического Bcl-2-семейства млекопитающих и нематод находятся в гетерокомплексе с каспазами и, как полагают, диссоциация этого комплекса приводит к активации протеаз и клеточной смерти [81]. С другой стороны, обнаружение того, что повышенная экспрессия Hsp70 блокирует активацию

©ⁱ . ¸ . ˣ ΔΠΰ ἑ PΰN B. ¸ . ˣ ΣΟΙ ΦΡΜÆ, ⁱ .ᵘ . ⁱ ΕΥΔΠΣΖ, ᵘ .ⁱ . ´ γ ΕΣΠΜΥΦΕΔδ, ᶜ .ᵗ . ᵒ Ι ΦΦΔΥΔΕ, 2008

этого каспазопротеолитического каскада, позволяет предположить возможность участия Hsp70 в этом процессе и не исключено, что его роль может быть связана именно со стабилизацией комплекса Bcl-2/каспаза. На митохондриальном уровне Hsp70 блокирует транслокацию в митохондрии проапоптотического белка Bax. Bax, находящийся в норме в определенных компартментах цитоплазмы, при апоптогенных сигналах перемещается в митохондриальные мембраны, где он, взаимодействуя с интегральным белком наружной митохондриальной мембраны VDAC (зависящий от напряжения анионный канал), стимулирует открытие канала, через который секретируется цитохром с . Кроме того, Bax образует гетеромерные комлексы с белками Bcl-2, Bcl-x, что, возможно, открывает закрытые до этого каналы [30].

Установлена также функциональная связь между Hsp70 и целостностью лизосомальных мембран. Доказано, что снижение уровня Hsp 70 в клетке вызывает пермеабилизацию мембран лизосом, освобождению лизосомальных ферментов в цитозоль и активацию лизосомального пути апоптоза [55]. Функциональная связь между Hsp 70 и проницаемостью мембран лизосом подтверждается также данными о том, что увеличение экспрессии Hsp 70 предотвращает освобождение цистеиновых катепсинов и увеличивает резистентность к цитотоксическим эффектам TNFα и этопозида у линий опухолевых клеток мышей. Полученные данные позволяют рассматривать Hsp 70 как белок, обеспечивающий выживание клеток за счет стабилизации лизосомальных мембран [22].

Участие белков теплового шока в патогенезе аутоиммунных заболеваний

Возможность активного участия Hsp в патогенезе аутоиммунных заболеваний была обнаружена достаточно случайно - в процессе поиска опухолеспецифических антигенов, когда было установлено, что стресс-белки обладают определенными иммуногенными свойствами [66]. Природа иммуногенности Hsp длительное время оставалась неясна. Поскольку препараты Hsp, использовавшиеся для определения их иммуногенности, были одинаковы по всем критериям, было предположено, что за специфическую иммуногенность разных образцов Hsp отвечают не собственно Hsp, а некие вещества, ассоциированные с ними, но не определяемые стандартными методами [66]. Это предположение получило неожиданное подтверждение. Было обнаружено большое количество пептидов, ассоциированных с Hsp70 [36], а удаление их из препаратов Hsp70 лишало последних иммуногенных свойств [74].

В большом количестве работ было показано, что Hsp могут связывать фрагменты практически любых белков, как эндогенных, так и экзогенных, как природных, так и модельных. Так, D. Arnold et al. (1997) [2] показали, что иммунизация стресс-белком gp96, полученным из клеток, трансфицированных геном β-галактозидазы, вызывает цитотоксический иммунитет против определенного эпитопа β-галактозидазы. Аналогично иммунизация белком gp96 из клеток, экспрессирующих определенные антигены главного комплекса гистосовместимости, вызывает цитотоксический иммунитет против этих антигенов.

T.J. Nieland et al. (1996) [54] идентифицировали вирусный эпитоп, ассоциированный с gp96, выделенным из клеток, инфицированных этим вирусом; данный эпитоп не определялся с Hsp, выделенными из не инфицированных данным вирусом клеток. N.E. Blachere et al., (1997) [16] воспроизвели in vitro комплексы gp96-пептид и Hsp70-пептид и показали на примере широкого спектра пептидов, что Hsp и пептиды сами по себе не вызывают иммунного ответа, но их комплексы (Hsp-peptide complexes, Hsp-pc) вызывают пролиферацию цитотоксических $CD8^+$лимфоцитов. Сходные результаты были получены и в ряде других исследований [20, 53].

Способность Hsp к связыванию пептидов также подтверждается структурными исследованиями X. Zhu et al., 1996 [83], N.A. Linderoth et al., 2000 [43], S. Vogen et al., 2002 [78], в которых было показано наличие пептид- связывающих карманов в молекулах Hsp70 и gp96. Предполагается, что наличие пептид-связывающих структур в молекулах Hsp важно как для выполнения ими шаперонных внутриклеточных функций, так и для участия в процессах межклеточного взаимодействия при иммунных реакциях [68]. В то же время, несмотря на значительное число исследований, структурные требования для связывания пептидов с Hsp остаются окончательно не известными, поскольку первичные аминокислотные последовательности пептидов, элюированных из комплексов с Hsp, весьма различны.

Было показано, что макрофаги, дендритные клетки, фибробласты и другие антигенпредставляющие клетки (АПК) (кроме В-лимфоцитов) захватывают Hsp-pc, выделяют из них антигенные пептиды и презентируют их на своей поверхности эффекторным клеткам иммунной системы в комплексе с молекулами MHC I и II класса [19, 23]. АПК, активированные Hsp-пептидными комплексами, вызывают активацию клеточного и гуморального иммунных ответов против антигенов тканей, из которых эти Hsp-PC выделены, что создает серьезные предпосылки для развития аутоиммунной реакции. Этот процесс «репрезентации» (т.е. выделения антигенных детерминант из комплексов с одними молекулами и презентация в комплексах с другими) включает в себя перемещение антигенных пептидов по определенным внутриклеточным структурами [12] и сопровождается также синтезом широкого спектра провоспалительных цитокинов и костимулирующих молекул [9] *(рис.2)*.

Помимо активации $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-лимфоцитов, Hsp способны стимулировать и NK-ответ, что, вероятно, является следствием синтеза цитокинов АПК и, в первую очередь, IL-12. В конечном итоге репрезентированные в комплексе с молекулами MHC I и II классов антигенные пептиды вызывают специфическую активацию иммунного ответа.

Первый ключ к разгадке механизмов, посредством ко-

©ι . ¸ . ˣ ΔΠΫ́ έ ΡΫ́Ν Β. ¸ . ˣ ΣΟΙ ΦΡΜΕ, ι .ᵘ . ι ΕΥΔΠΣΖ, ᵘ .ι . ´ γ ΕΣΠΜΎΦΕΔδ, ᶜ . ᵗ . ᵒ ΙΦΦΔΥΔΕ, 2008

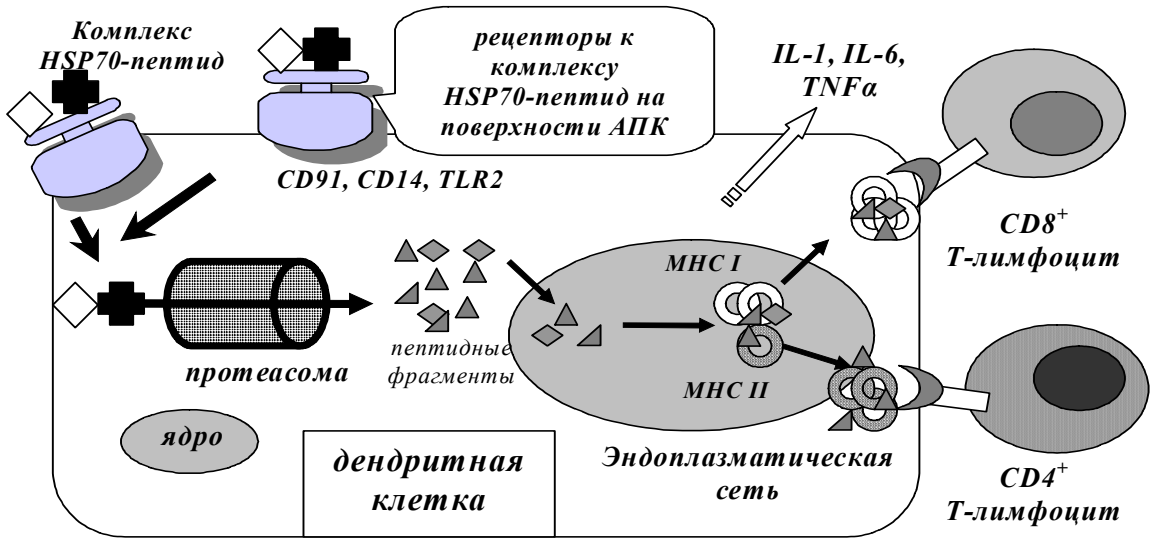

Рис.2. ***"Репрезентация" комплекса Hsp70-рс на поверхности АПК.***

торых Hsp-рс вызывает активацию антиген-специфических $CD8^+$ Т-лимфоцитов, был найден в исследованиях, которые показали, что инициация иммунного ответа с помощью Hsp-рс исключительно чувствительна к нормальному функционированию фагоцитирующих клеток, но не зависит от $CD4^+$ Т-лимфоцитов [73]. Это наблюдение, а также тот факт, что даже чрезвычайно малые количества Hsp-рс вызывают при иммунизации специфический иммунный ответ, привели к предположению о существовании рецепторов к Hsp-рс на поверхности АПК [67]. Свидетельства существования рецептора (или рецепторов) к Hsp-рс были получены независимо несколькими группами исследователей [13, 64].

Первым из таких рецепторов был идентифицирован CD91, он же рецептор α2-макроглобулина (α2-MG) [15]. Впоследствии в качестве подобных рецепторов были предложены также молекулы TLR2 и TLR4 [8], CD14 [3], LOX1 [46].

Наиболее изученным на сегодняшний день является взаимодействие Hsp-рс с CD91. Связывание gp96-рс с CD91 ведет к погружению (интернализации) комплекса в клетку и через последующие внутриклеточные события к презентации антигенного пептида в комплексе с молекулами MHC I и II классов [48]. Моноклональные антитела к CD91 ингибируют иммуногенные свойства gp96-рс. Кроме того, экспрессия CD91 коррелирует со способностью АПК репрезентировать пептиды из gp96-рс [14]. B. Berwin et al. (2002) [12] в своих исследованиях не получили подтверждения роли CD91 как рецептора к Hsp-рс, однако это противоречие позднее было объяснено особенностями использованных экспериментальных методик [14].

TLR (от англ. «toll-like receptors») – группа рецепторов на поверхности клеток иммунной системы, осуществляющая неспецифическое распознавание патогенов: TLR2 распознает пептидогликан бактериальной клеточной стенки, TLR4 – липополисахарид, TLR9 – бактериальную ДНК [72], и, таким образом, эти рецепторы участвуют в процессах активации врожденного иммунитета. Было установлено, что Hsp60 не активирует не несущие TLR4 макрофаги мышей линии C3H/HeJ [56]. В дальнейшем было показано, что генетическая модификация таких клеток генами TLR2 или TLR4 возвращает им возможность активации в ответ на Hsp60. R. Vabulas et al., (2002) [75] показали, что в ответ на связывание gp96 с TLR2 и TLR4 (но не TLR3, TLR7 и TLR8) дендритные клетки начинают синтезировать IL-12 и TNFα, на их поверхности повышается экспрессия костимуляторных молекул CD86 и CD40, а в самой клетке происходит активация NF-κB сигнального пути и ряда ферментов, что в целом свидетельствует о созревании клеток. Получены также данные о взаимодействии Hsp70 с TLR2 и TLR4 [5].

Предполагается, что между функциями этих рецепторов к Hsp-рс существует принципиальная разница. С помощью CD91 и LOX1 происходит транспорт антигенных пептидов, находящихся в комплексе с Hsp, через межклеточное пространство и клеточные мембраны. При связывании Hsp-рс с CD14, TLR2 или TLR4 не происходит их интернализации, но запускается каскад внутриклеточного сигнализирования, в результате которого транскрипционный фактор NF-κB перемещается в ядро и происходит синтез клеткой широкого спектра провоспалительных цитокинов и костимулирующих молекул, способствующих дальнейшему развитию иммунного ответа [9].

Другие детали механизмов активации иммунного ответа, вызванного Hsp-рс – такие, как природа структур макрофагов, участвующих в захвате Hsp-рс, механизмы транспортировки Hsp-рс в эндоплазматический ретикулум, зависимость этих процессов от протеасом – по-прежнему остаются неясны, хотя в этом направлении ведутся интенсивные исследования.

Получен целый ряд интересных и достаточно противоречивых данных о механизмах участия стресс-белков в патогенезе развития сахарного диабета 1 типа (СД 1 типа) и других аутоиммунных заболеваний и были предприняты попытки применения вакцин на их основе для предотвращения развития диабета у экспериментальных

©i . ¸ . x ΔΠΫ́ έ ΡΫ́Ν B. ¸ . x ΣΟΙ ΦΡΜΈ, i .u . i ΕΥΔΠΣΖ u .i . ´ γ ΕΣΠΜΥΦΕΔδ c .t . o I ΦΦΔΥΔΕ 2008

животных [59]. Так, иммунизация NOD-мышей Hsp60, выделенными из M.avium, уменьшает частоту случаев возникновения у них СД [17]. Наряду с этим, адоптивный перенос клонов CD4$^+$-лимфоцитов, специфичных к микобактериальному Hsp60, ускоряет начало СД у NOD-мышей [24], а β-клетки панкреатических островков у мышей линии NOD характеризуются повышенной экспрессией Hsp60, который рассматривается как один из основных кандидатов на островковые аутоантигены [18]. Возможно, данные факты объясняются кросс-реактивностью CD4+-лимфоцитов к Hsp60 и глутаматдекарбоксилазе (GAD), которые, как оказалось, имеют практически одинаковые эпитопы, отличающиеся лишь несколькими аминокислотными последовательностями [82].

В качестве возможных Hsp-специфичных механизмов предотвращения развития СД у экспериментальных животных рассматриваются несколько теорий: стимуляция белками теплового шока клонов иммунорегуляторных CD25$^+$-лимфоцитов, стимуляция выработки супрессорных цитокинов IL-10 и TGF-β [77]; влияние на процессы костимуляции с преимущественным преобладанием отрицательной костимуляции, обусловленной активными взаимодействиями между CTLA-4 на Т-лимфоцитах и B7.2 (CD86) на АПК [57]; постоянный низкий уровень конститутивной экспрессии стресс-белков во всех клетках и возможность их участия в роли “непрофессиональных” АПК приводит к дефициту костимуляторных молекул и развитию Т-клеточной анергии [76].

ВЫВОД

Таким образом, Hsp являются одними из наиболее консервативных и повсеместно распространенных внутриклеточных белков. Помимо шаперонных функций Hsp обладают выраженными антиапоптотическими эффектами, а также способны вызывать активацию как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Hsp образуют комплексы практически со всеми пептидами, синтезирующимися в клетке - как с нормальными, так и с чужеродными, мутантными или патологически измененными. На поверхности АПК существует несколько типов специфических рецепторов к комплексам Hsp-pc, опосредующих их погружение в эндоплазматический ретикулум АПК, где происходит диссоциация Hsp-pc на Hsp и пептиды. Последние в дальнейшем связываются с молекулами MHC I и, возможно, II классов и репрезентируются на поверхности АПК для распознавания эффекторными клетками иммунной системы – Т-лимфоцитами. Кроме того, связывание с TLR2 и TLR4 на поверхности АПК ведет к запуску каскадов внутриклеточного сигнализирования, к активации АПК и синтезу ими широкого спектра цитокинов, преимущественно провоспалительных. Учитывая вышеизложенные факты, становятся очевидными механизмы участия Hsp в патогенезе развития аутоиммунных заболеваний, в том числе и СД 1 типа. В целом, иммунологические эффекты, вызываемые изменениями экспрессии Hsp, в первую очередь будут определяться локализацией таких изменений. Так, усиление экспрессии Hsp в панкреатических островках, по-видимому, является фактором риска развития СД из-за интенсивной репрезентации панкреатических антигенов на АПК и стимулирования иммунной агрессии против β-клеток CD8$^+$-лимфоцитами, а также выработкой супрессорных цитокинов. Наряду с этим, возрастание экспрессии Hsp в тимусе, наоборот, может способствовать выработке центральной толерантности к панкреатическим антигенам ввиду их дополнительной “незапланированной” репрезентации в комплексе со стресс-белками в ходе негативной селекции лимфоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Aria R., Mallik M., Lakhotia S.* Heat shock genes – integrating cell survival and death // J. Biosci.-2007.-Vol.32.-P.595-610
2. *Arnold D., Wahl C., Faath S. et al.* Influences of transporter associated with antigen processing (TAP) on the repertoire of peptides associated with the endoplasmic reticulum-resident stress protein gp96 // J. Exp. Med. –1997. – Vol. 186. – P. 461–466
3. *Asea A., Kraeft S., Kurt-Jones E.A. et al.* Hsp70 stimulates cytokine production through a CD14-dependent pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine // Nat. Med. – 2000. – Vol. 6. – P. 435–442
4. *Asea A.* Chaperokine-induced signal transduction pathways // Exerc.Immunol.-2003.-Vol.9.-P.25-33
5. *Asea A.* Heat shock proteins and toll-like receptors // Handb.Exp.Pharmacol.-2008.-Vol.183.-P.11-127
6. Asea A. Mechanisms of HSP 72 release // J. Biosci.-2007.-Vol.32.-P.579-584
7. *Asea A., Kabingu E., Stevenson M., Calderwood S.* HSP70 peptide-bearing and peptide-negative preparations act as chaperokines // Cell Stress Chaperones.-2000.-Vol.5.-P.425-431
8. *Asea A., Rehli M., Kabingu E. et al.* Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 15028–15034
9. *Basu S., Suto R., Binder R., Srivastava P.* Heat shock proteins as novel mediators of cytokine secretion by macrophages // Cell Stress Chaperones. – 1998. – Vol. 3. – P. 11
10. *Beere H.* The stress of dying: the role of heat shock proteins in the regulations of apoptosis // Journal of Cell Science.-2004.-Vol.117.-P.2641-2651
11. *Beere H., Wolf B., Cain K. et al.* Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome // Nat. Cell Biol.-2000.-Vol. 2.-P. 469–475
12. *Berwin B., Hart J., Pizzo S., Nicchitta C.* Cutting edge: CD91-independent cross-presentation of GRP94(gp96)-associated peptides // J. Immunol. – 2002. – Vol. 168. – P. 4282–4286
13. *Binder R., Harris M., Menoret A., Srivastava P.* Saturation, competition and specificity in interaction of heat shock proteins (hsp) gp96, hsp90 and hsp70 with CD11b$^+$ cells // J. Immunol. – 2000. – Vol. 165. – P. 2582–2587.
14. *Binder R., Srivastava P.* Essential role of CD91 in representation of gp96-chaperoned peptides // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – Vol. 101. – P. 6128–6133
15. *Binder R., Han D., Srivastava P.* CD91: a receptor for heat shock protein gp96 // Nat. Immunol. –2000. – Vol. 1. – P.151
16. *Blachere N., Li Z., Chandawarkar R. et al.* Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity // J. Exp. Med. – 1997. – Vol. 186. – P. 1315–1322
17. *Bras A., Aguas A.* Diabetes-prone NOD mice are resistant to Mycobacterium avium and the infection prevents autoimmune disease // Immunology.-1996.-Vol. 89.-P. 20–25
18. *Brudzynski K., Martinez V., Gupta R.* Secretory granule autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus is related to the 62 kDa heat-shock protein (hsp60) // J. Autoimmun.-1992.-Vol. 5.-P. 453–463

©ΔΠΫ́ΕΡΫ́Ν Β. ΣΟΙΦΡΜΕ, ΕΥΔΠΣΖ, ΥΕΣΠΜΥΦΕΔΔ, ΙΦΦΔΥΔΕ, 2008

19. *Castellino F., Boucher P., Eichelberg K. et al.* Receptor-mediated uptake of antigen/heat shock protein complexes results in major histocompatibility complex class I antigen presentation via two distinct processing pathways // J. Exp. Med. – 2000. – Vol. 191. – P. 1957–1964

20. *Ciupitu A., Peterson M., O'Donnell C. et al.* Immunization with a lymphocytic choriomeningitis virus peptide mixed with heat shock protein 70 results in protective antiviral immunity specific cytotoxic T lymphocytes // J. Exp. Med. – 1998. – Vol. 187. – P. 685-687

21. *Daugaard M., Rohde M., Jaattela M.* The heat shock protein 70 family: highly homologous proteins with overlapping and distinct functions // FEBS Lett. -2007.-Vol. 31.-P.3702-3710

22. *Dice J.* Chaperone-mediated autophagy // Autophagy.- 2007.-Vol.3.-P.295-299

23. *Doody A., Kovalchin J., Mihalyo M. et al.* Glycoprotein 96 can chaperone both MHC class I- and class II-restricted epitopes for in vivo presentation, but selectively primes CD8+T cell effector function // J. Immunol. – 2004. – Vol. 172. – P. 6087-6089

24. *Elias D., Reshef T., Birk O., van der Zee R., Walker M., Cohen I.* Vaccination against autoimmune mouse diabetes with a T-cell epitope of the human 65-kDa heat shock protein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1991.-Vol. 88.-P. 3088–3091

25. *Fink A.* Chaperone-mediated protein folding // Physiol. Rev.-1999.-Vol.79.-P.425-449

26. *Gabai V., Mabuchi K., Mosser D., Sherman M.* Hsp72 and stress kinase c-jun N-terminal kinase regulate the bid-dependent pathway in tumor necrosis factor-induced apoptosis // Mol. Cell. Biol.-2002.-Vol. 22.-P. 3415–3424

27. *Garrido C., Solary E.* A role of HSPs in apoptosis through "protein triage"? // Cell Death and Differentiation.-2003.-Vol.10.-P.619-620

28. *Genevaux P., Georgopoulos C., Kelley W.* The Hsp70 chaperone machines of Escherichia coli: a paradigm for the repartition of chaperone functions // Mol. Microbiol. -2007.-Vol.66.-P.840-857

29. *Goloubinoff P., De Los Rios P.* The mechanism of Hsp70 chaperones: entropic pulling the models together // Trends Biochem. Sci. -2007.-Vol.32.-P.372-380

30. *Green D., Reed J.* Mitochondria and apoptosis // Science.-1998.-Vol. 281.-P. 1309–1312

31. *Gurbuxani S., Schmitt E., Cande C. et al.* Heat shock protein 70 binding inhibits the nuclear import of apoptosis-inducing factor // Oncogene .-2003.-Vol.22.-P. 6669–6678

32. *Habich C., Burkart V.* Heat shock protein 60: regulatory role on innate immune cells // Cell. Mol. Life Sci.-2007.-Vol.64.-P.742-751

33. *Hartl F., Hayer-Hartl M.* Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein // Science.-2002.-Vol. 295.-P. 1852–1858

34. *Hightower L., Hendershot L.* Molecular chaperones and the heat shock response at Cold Spring Harbor // Cell Stress Chaperones.-1997.-Vol.2.- P.1-11

35. *Hut M., Kampinga H., Sibon O.* Hsp70 protects mitotic cells against heat-induced centrosome damage and division abnonralities // Mol.Biol.Cell.-2005.-Vol.16.-P.3776-3785

36. *Ishii T., Udono H., Yamano T. et al.* Isolation of MHC class I-restricted tumor antigen peptide and its precursors associated with heat hock proteins hsp70, hsp90, and gp96 // The Journal of Immunology. – 1999. – Vol. 162. – P. 1303–1309

37. *Jaattela M., Wissing D., Bauer P., Li G.* Major heat shock protein hsp70 protects tumor cells from tumor necrosis factor cytotoxicity // EMBO J.-1992.-Vol. 11.-P. 3507–3512

38. *Jaattela M., Wissing D., Kokholm K., Kallunki T., Egeblad M.* Hsp70 exertsits anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases // EMBO J.-1998.-Vol. 17.-P. 6124–6134

39. *Johnson J., Fleshner M.* Releasing signals, secretory pathways, and immune function of endogenous extracellular heat shock protein // J. Leukoc. Biol.-2006.-Vol.79.-P.425-434

40. *Lamian V., Small G., Feldherr C.* Evidence for the existence of a novel mechanism for the nuclear import of Hsc70 // Exp. Cell Res. -1996.-Vol. 228.-P.84-91

41. *Laskey R., Hoda B., Mills A., Finch J.* Nucleosomes a reassembled by an acidic protein that binds histones and transfer them to DNA. // Nature.-1978.- Vol.275-P.416-420

42. *Liberek K., Lewandowska A., Zietkiewicz S.* Chaperones in control of protein disaggregation // EMBO J. -2008.-Vol. 23.-P.328-335

43. *Linderoth N., Popowicz A., Sastry S.* Identification of the peptide-binding site in the heat shock chaperone/tumor rejection antigen gp96 (Grp94) // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275. – P. 5472–5477

44. *Lindquist S., Craig E.* The heat-shock proteins // Annu. Rev. Genet. – 1988. – Vol. 22. – P. 631–677.

45. *Macario A., Conway de Macario E.* Molecular chaperones: multiple functions, pathologies, and potential applications // Front. Biosci. -2007.-Vol.12.-P.2588-2600

46. *Magistrelli G., Gauchat J. et al.* Involvement of LOX-1 in dendritic cell-mediated antigen cross-presentation // Immunity – 2002. – Vol. 17. – P. 353–362

47. *Mathew A., Mathur S., Morimoto R.* Heats shock response and protein degradation: regulation of Hsf2 by the ubiquitin-proteasome pathway // Mol. Cell Biol.-1998.-Vol. 18.-P. 5091–5098

48. *Matsuke T., Srivastava P.* CD91 is involved in MHC class II presentation of gp96-chaperoned peptides // Cell Stress Chaperones. – 2000. – Vol. 5. – P. 378-379

49. *Mayer M., Bukau B.* Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism // Cell Mol. Life Sci.-2005.-Vol.62.-P.670-684

50. *Meriin A., Yaglom J., Gabai V., Zon L., Ganiatsas S., Mosser D., Sherman M.* Protein-damaging stresses activate c-Jun N-terminal kinase via inhibition of its dephosphorylation: a novel pathway controlled by HSP72 // Mol. Cell Biol.-1999.-Vol.19.-P. 2547–2555

51. *Mosser D., Caron A., Bourget L., Denis-Larose C., Massie B.* Role of the human heat shock protein hsp70 in protection against stress-induced apoptosis // Mol. Cell Biol.-1997.-Vol.17.-P. 5317–5327

52. *Multhoff G.* Heat shock protein 70 (Hsp70): membrane location, export and immunological relevance // Methods. -2007.-Vol.43.-P.229-237

53. *Navaratnam M., Deshpande M., Hariharan M. et al.* Heat shock protein-peptide complexes elicit cytotoxic T-lymphocyte and antibody responses specific for bovine herpesvirus 1 // Vaccine. – 2001. – Vol. 19. – P. 1425–1434

54. *Nieland T., Tan M., Muijen M. et al.* Isolation of an immunodominant viral peptide that is endogenously bound to the stress protein GP96/GRP94 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1996. – Vol. 93. – P. 6135–6139

55. *Nylandsted J., Gyrd-Hansen M., Danielewicz A. et al.* Heat shock protein 70 promotes cell survival by inhibiting lysosomal membrane permeabilization // J. Exp. Med.-2004.-Vol. 200.-P. 425–435

56. *Ohashi K., Burkart V., Flohe S., Kolb H.* Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex// J. Immunol. – 2000. – Vol. 164. – P. 558–561

57. *Paul A.,van der Zee R.,Taams L.,* van Eden W. Aself-hsp60 peptide acts as a partial agonist inducing expression of B7-2 on mycobacterial hsp60-specihc T cells: a possible mechanism for inhibitory T cell regulation of adjuvant arthritis? // Int. Immunol.-2000.-Vol. 12.-P. 1041–1050

58. *Pearl L., Prodromou C., Workman P.* The Hsp90 molecular chaperone: an open and shut case for treatment // Biochem J. -2008.-Vol.410.-P.439-453

59. *Raska M., Weigl E.* Heat shock proteins in autoimmune diseases // Biomed Pap. Med. Fac. Univ. Olomouc.-2005.-Vol.149.-P.243-249

60. *Ravagnan L., Gurbuxani S., Susin S. et al.* Heat-shock protein 70 antagonizes apoptosis- inducing factor // Nat. Cell. Biol.-2001.-Vol. 3.-P. 839–843

©i . ¸ . x ΔΠΫ́ ἑ ΡΫ́Ν B. ¸ . x ΣΟΙ ΦΡΜΈ, i .u . i ΕΥΔΠΣΖ, u .i . ´ γ ΕΣΠΜΥΦΕΔδ, c .t . o I ΦΦΔΥΔΕ, 2008

61. *Saibil H.* Chaperones machines in action // Curr. Opin. Struct. Biol.- 2008.-Vol.18.-P.35-42

62. *Salter-Cid L., Kasahara M., Flajnik M.* Hsp70 genes are linked to the Xenopus major histocompatibility complex // Immunogenetics- 1994.-Vol.39.-P.1-7

63. *Schmitt E., Gehrmann M. et al.* Inracellular and extracellular function of heat shock proteins: repercussion in cancer therapy // J. of Leukocyte Biology.-2007.-Vol.81.-P.15-27

64. *Singh-Jasuja H., Toes R., Spee P. et al.* Cross-presentation of glycoprotein 96-associated antigens on major histocompatibility complex class I molecules requires receptor-mediated endocytosis // J. Exp. Med. –2000. – Vol. 191. – P. 1965–1974

65. *Song J., Takeda M., Morimoto R.* Bag1-Hsp70 mediates a physiological stress signalling pathway that regulates Raf-1/ERK and cell growth // Nat. Cell Biol.-2001.-Vol. 3.-P. 276 –282

66. *Srivastava P., Maki R.* Stress induced proteins in immune response to cancer // Curr. Top Microbiol. Immunol. – 1991. – Vol. 167. – P. 109–123

67. *Srivastava P.* Peptide-binding heat shock proteins in the endoplasmic reticulum: role in immune response to cancer and in antigen presentation // Adv. Cancer. Res. – 1993. – Vol. 62. – P. 153–177

68. *Srivastava P., Menoret A., Basu S. et al.* Heat shock proteins come of age: primitive functions acquire new roles in an adaptive world // Immunity. – 1998. – Vol. 8. – P. 657–665

69. *Sun Y., MacRae T.* Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function // Cell Mol. Life Sci.- 2005.-Vol.62.-P.2460-2476

70. *Theodorakis N., Morimoto R.* Posttranscriptional regulation of hsp70 expression in human cells; effect of heat shock, inhibition of protein syntesis, and adenovirus infection on translation and mRNA stability.//Mol.Cell.Biol.-1987.-Vol.7.- P.4357-4368

71. *Tissieres A., Mitchell H., Tracy U.* Protein syntesis in salivary glands of Drosophila melanogaster // J.Mol.Biol.-1974.-Vol.84.-P.389-398.

72. *Tsan M., Gao B.* Heat shock protein and innate immunity // J. Cellular and molecular immunology.-2004.-Vol. 1.-P.274-279

73. *Udono H., Levey D., Srivastava P.* Cellular requirements for tumor-specific immunity elicited by heat shock proteins: tumor rejection antigen gp96 primes CD8+ T cells in vivo // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – Vol. 91. – P. 3077-3078

74. *Udono H., Srivastava P.* Heat shock protein 70-associated peptides elicit specific cancer immunity // J. Exp. Med. – 1993. – Vol. 178. – P. 1391–1396

75. *Vabulas R., Braedel S., Hilf N. et al.* The endoplasmic reticulum-resident heat shock protein Gp96 activates dendritic cells via the toll-like receptor 2/4 pathway // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 20847–20853

76. *van Eden W., Waksman B.* Immune regulation in adjuvant-induced arthritis possible implications for innovative therapeutic strategies in arthritis // Artritis Rheumatism.-2003.-Vol. 48.-P. 1788–1796

77. *van Eden W., van der Zee R., Prakken B.* Heat-shock proteins induce T-cell regulation of chronic in?ammation // Nat. Rev. Immunol.-2005.-Vol. 5.-P. 318–330

78. *Vogen S., Gidalevitz T., Biswas C. et al.* Radicicol-sensitive peptide binding to the N-terminal portion of GRP94 // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – P. 40742–40750

79. *Wadhwa R., Yaguchi T., Hasan M., Mitsui Y., Reddel R., Kaul S.* Hsp70 family member, mot-2/mthsp70/GRP75, binds to the cytoplasmic sequestration domain of the p53 protein // Exp. Cell Res.-2002.-Vol 274.-P. 246 –253

80. *Whitham M., Fortes M.* Heat shock protein 72: release and biological significance during exercise // Front Biosci.-2008.-Vol.13.-P.1328-1339

81. *Willis S., Day C., Hinds M., Huang D.* The Bcl-2- regulated apoptotic pathway // J. Cell Sci.-2003.-Vol. 116.-P. 4053–4056

82. *Zechel M., Elliott J., Atkinson M., Singh B.* Characterization of novel T-cell epitopes on 65 kDa and 67 kDa glutamic acid decarboxylase relevant in autoimmune responses in NOD mice // J. Autoimmun.-1998.-Vol. 11.-P. 83–95

83. *Zhu X., Zhao X., Burkholder W. et al.* Structural analysis of substrate binding by the molecular chaperone DnaK // Science – 1996. – Vol. 272. – P. 1606–1614

84. *Zyllicz M., King W., Wawrzynow A.* Hsp70 interactions with the p53 tumour suppressor protein // The EMBO J.-2001.-Vol.20.-P.4634-4638

Сведения об авторах: Колесник Ю.М., д.мед.н., профессор, ректор ЗГМУ, заведующий кафедрой патологической физиологии. Абрамов А.В., д.мед.н., профессор кафедры патологической физиологии ЗГМУ, заведующий ЦНИЛ ЗГМУ. Камышный А.М., к.мед.н., ассистент кафедры патологической физиологии ЗГМУ. Любомирская В. А., к.мед.н., асс. кафедры общей хирургии с курсом оперативной хирургии и топографической анатомии ЗГМУ. Бессараб Г.И., к.мед.н., доц. кафедры нормальной физиологии ЗГМУ.

Адрес для переписки: Камышный А.М. 69035, г. Запорожье, пр-т Маяковского 26, ЗГМУ, кафедра патологической физиологии, тел. раб.: 8 (0612) 34-35-61, 8 (0612) 34-27-22, тел. моб. 8-066-926-63-08. e-mail: Kamyshny@patho.zsmu.edu.ua

©ⁱ . ¸ . ˣ ΔΠΫ́ ἐ ΡΫ́Ν̣ Β. ¸ . ˣ ΣΟΙ ΦΡΜΕ, ⁱ .ᵘ . ⁱ ΕΥΔΠΣΖ, ᵘ .ⁱ . ´ γ ΕΣΠΜΥΦΕΔδ, ᶜ .ᵗ . ᵒ ΙΦΦΔΥΔΕ, 2008