

И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ HSP-БЕЛКОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭНЕРГОТРОПНОГО МЕХАНИЗМА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ЦЕРЕБРОКУРИНА

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Реферат. В статье авторами экспериментальными исследованиями *in vitro* показана способность HSP-белков в условиях МФП-индуцированной гипоксии в суспензии нейронов запускать механизмы дополнительной продукции энергии на дикарбоновом участке цикла Кребса с возможным вовлечением митохондриально-цитозольных шунтов, что обуславливает большую вероятность сохранения жизни нейрона. Установлено, что реализация энерго- и нейротропного эффектов нейропептидного препарата Цереброкурин обусловлена его возможностью повышать синтез HSP-белков в клетке.

Ключевые слова: HSP-белок, цереброкурин, нейропротективное действие

Интенсивная терапия в острейшем и остром периоде мозгового инсульта — одна из сложнейших проблем современной медицины. В этот период проводится большой объем медикаментозных мероприятий (реперфузионная, реканализационная, тромболитическая терапия, первичная и вторичная нейропротекция) [1]. Учитывая выраженность энергетических нарушений при ишемии на определенном этапе обсуждался вопрос о применении в качестве нейропротекторов с энергомодулирующим действием различных метаболитов энергетического обмена — сукцината, малата, изоцитрата, глицерофосфата [2]. Однако, доклинические и клинические исследования показали их низкую терапевтическую эффективность при ишемическом инсульте. Данный факт может быть объяснен только с точки зрения нарушения функции митохондрий и невозможности включения данных препаратов в энергетические реакции. В свете революционных открытий роли митохондриальной дисфункции в формировании гибели нейрона в условиях ишемии целесообразным явилось использование препаратов усиливающих утилизацию субстратов окисления естественными метаболическими путями и активирующих компенсаторные механизмы продукции энергии [1, 3, 4].

В этом аспекте особый интерес представляет отечественный препарат нейропептидной природы — Цереброкурин, продемонстрировавший в ряде экспериментальных исследованиях способность на молекулярно-клеточном уровне повышать экспрессию глобальных факторов транскрипции, что в свою очередь приводит к увеличению синтеза ряда антиоксидантных ферментов, а также интенсифицировать энергетический метаболизм нейронольной клетки за счет активации компенсаторных механизмов продукции АТФ [4-6]. Однако, до конца механизм энерготропного действия Цереброкураина не установлен. В последнее время рядом работ показана роль белков теплового шока (HSP) в развитии компенсаторно-приспособительных механизмов нейронольной клетки в условиях ишемии. Опытами *in vivo*, *in*

vitro установлена способность HSP воздействовать на энергетику клетки за счет влияния HSP-белков на экспрессию генов, кодирующих малатдегидрогеназу (МДГ) — ключевого фермента малат-аспаратного компенсаторного шунта продукции энергии [5, 7, 8]. Кроме того, нашими предыдущими исследованиями раскрыта «митопротективная» функция HSP, реализующаяся за счет их ингибирующего влияния на освобождение из митохондрий итохрома С, способностью снижать образование активных форм кислорода (АФК), тем самым поддерживая мембранный потенциал заряда митохондрий, что препятствует открытию митохондриальной поры [5, 9].

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось изучение роли HSP-белков в реализации энерготропного, нейропротективного эффекта Цереброкураина в условиях моделирования гипоксии *in vitro*.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы

Для исследований *in vitro* нейроны выделяли из коры головного растущих 4-недельных крыс линии Вистар. Выделение обогащенных фракций нейронов и нейроглии проводилось в два этапа. На первом этапе мозговая ткань дезинтегрировалась с целью получения клеточной суспензии, на втором — осуществлялось дифференциальное ультрацентрифугирование в градиенте плотности сахарозы и фиккола. Для получения нейронов и нейроглии крыс декапитировали, быстро извлекали мозг. Кору головного мозга отделяли от белого вещества, измельчали и переносили в раствор, содержащий 7,5% поливинилпирролидона (ПВП), 1% бычий сывороточный альбумин (БСА) и 10 мМ CaCl₂. Полученную суспензию фильтровали через три сита под незначительным давлением для уменьшения потерь нейронольных клеток. После последовательного пропускания через сита клеточную суспензию наслаивали на градиент, состоящий из 1 М и 1,75 М сахарозы. Центрифугирование проводили при 60 000 g в рефрижераторной центрифуге Centrifuge 5804R (Eppendorf, Germany). В результате центрифугирования получали два слоя и плотный осадок. Верхний слой представлен остатками миелиновых оболочек, второй слой состоит из глиальных и нейронольных клеток. Осадок представлен телами нейронов со степенью чистоты 90%. В дальнейшем проводят дополнительную очистку второго слоя путем второго фильтрования и ультрацентрифугирования. Выделенные нейронольные клетки отмывали от сахарозы и альбумина охлажденным физиологическим раствором и помещали в среду Игла, модифицированную Дальбекко [10, 11].

Полученную таким образом клеточную суспензию разделяли на серии:

- интактная проба;
- контрольная проба (моделирование гипоксии *in vitro*)
- проба с внесением HSP
- проба с внесением в инкубационную среду Цереброкурина

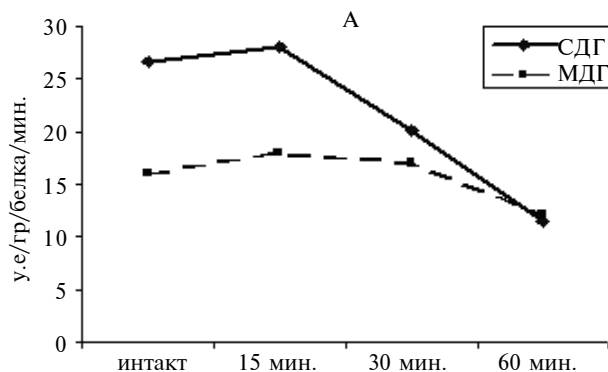
Для моделирования гипоксии в суспензию нейронов вводили, нейротоксин метилфенилпиридиний (МФП) в концентрации 0,6 мМ, являющийся разобщителем митохондриального дыхания и инициирующий открытие митохондриальной поры, развитие митохондриальной дисфункции - изменения характерные для субтотальной ишемии (контрольная серия) [4].

HSP вносили в суспензию за 30 мин до инициирования гипоксии в концентрации 0,001 мкг на пробу [12].

Цереброкурин вносили в концентрации 0,4мг по такой же схеме, что и HSP [4].

Методом Вестерн-блот анализа определяли через 15, 30, 60 минут после инициации гипоксии концентрацию HIF-белков в суспензии нейронов. С этой целью суспензию нейрональных клеток инкубировали в лизис-буфере (50mM Tris-HCl, 5mM EDTA, 1 mM DTT, 1% Triton X-100), pH 7,5 при температуре 4°C. После этого проводили центрифугирование 10 мин при 13000g и 4°C. Супернатант, содержащий белки анализировали с использованием электрофореза и иммуноблотинга. Белки разделяли в 10% полиакриламидном геле (ПААГ). Перенос белков с ПААГ на нитроцеллюлозную мембрану осуществляли электроолюцией в течение 45 мин. Преинкубацию Вестерн-блотов проводили в растворе TBST с 5% обезжиренным молоком в течение 1ч. Затем вестерн-блоты инкубировали в присутствии первичных моноклональных антител (Santa Cruz Biotechnology) против HIF и HSP в разведении 1:1000 в течение 1 ч. После отмывки блоты инкубировали в присутствии вторичных антител (Santa Cruz Biotechnology), конъюгированных с пероксидазой хрена (разведение 1:2000) в течение 1 часа. Детекцию HSP осуществляли при помощи денситометрии в программе Adobe Photoshop [13, 14].

Интенсивность оксидативного стресса в суспензии нейронов оценивали по приросту нитротирозина (НТЗ), который определяли иммуноферментным методом с использованием стандартного набора «Nitrotyrosine» фирмы Nu Cult biotech (Голландия).



Активность энергетического метаболизма оценивали по активности ключевых ферментов — малатдегидрогеназы (МДГ) сукцинатдегидрогеназе (СДГ) как в цитозольной, так и митохондриальной фракциях, а также по содержанию малата [10].

Отличия между группами оценивали статистически с использованием параметрического критерия t-Стьюдента с помощью программы «Biostat» и MS Excell. Достоверность отличий относительных величин оценивалась с применением критерия χ^2 . Достоверными считали отличия с уровнем значимости более 95% ($p < 0,05$) [15].

Результаты и обсуждение

Введение в суспензию нейронов МФП (0,4мМ) приводило к выраженным нарушениям энергетических процессов в суспензии нейрональных клетках. Так, при изучении уровня активности СДГ и МДГ было отмечено их статистически достоверное снижение, начиная с 30 мин. после внесения МФП. Изучение динамики падения СДГ, показало, что данный фермент оказался более чувствительным к гипоксии, что проявлялось более выраженным торможением его активности на 60 мин. гипоксии как в цитозольной, так и митохондриальной фракциях, более чем на 60% и 48% соответственно, по отношению к интактной серии (рис. 1А, Б). Кроме того, было зарегистрировано снижение уровня малата, особенно в цитозольной фракции более чем на 50% по отношению к интактной серии, что свидетельствовало о повышении его утилизации митохондриями в условиях гипоксии. Известно, что малат, из цитоплазмы проникает в митохондрию, где превращается в шавелевоуксуную кислоту с образованием НАДН, доступного для электротранспортной цепи (из 2 протонов образуется 3 молекулы АТФ) [16]. Соотношение НАДН/НАДН⁺ и малат/шавелевоуксуная кислота регулируется МДГ. Следует отметить, что снижение активности митохондриальной МДГ (мМДГ) при инкубации проб с МФП, происходило менее интенсивно, нежели митохондриальной СДГ (мСДГ). По-видимому, СДГ более чувствительна к гипоксии. Это факт согласуется с работами других исследователей, которыми показана угнетение активности СДГ в условиях субтотальной ишемии и невозможность реализации компенсаторного сукцинатоксидазного пути образования энергии [5, 16].

Параллельно наблюдалось увеличения содержания (на 63% по отношению к интактым

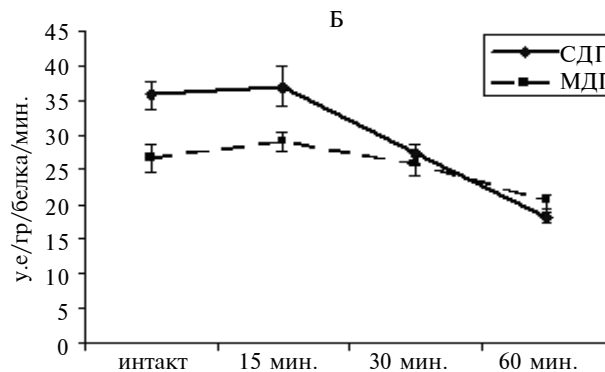


Рис. 1. Уровень активности сукцинатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы в цитозольной (А) и митохондриальной (Б) фракциях нейронов, с моделированием МФП-индуцированной гипоксией *in vitro*

Таблица. Концентрация в суспензии нейронов в разные сроки развития гипоксии *in vitro* АТФ, HSP-белков, нитротрозина

Время, эксперимента, мин	АТФ мкмоль/гр/ткани	цит.Малат мкм/гр/ткани	мит.Малат, мкм/гр/ткани	HSP, кол-во белка, усл.ед.	НТЗ, усл.ед/гр/белка
интакт	3,2±0,14	0,63±0,01	0,79±0,016	14,2±1,65	3,7±0,62
15 мин.	2,3±0,17*	0,47±0,015*	0,83±0,013	18,3±2,0*	4,8±0,73*
30 мин.	2,1±0,11*	0,38±0,011*	0,68±0,012*	9,5±1,21*	8,3±0,9*
60 мин.	1,1±0,078*	0,3±0,014*	0,45±0,017*	6,4±1,98*	10,1±0,86*

Примечание: $p \leq 0,05$ по отношению к интакту

пробам) маркера окислительного стресса - нитротрозина (НТЗ) (табл.). По всей видимости, окислительный стресс играет не последнюю роль в формировании митохондриальной дисфункции и нарушений энергетического метаболизма [1, 4, 5]. Так, нами было зарегистрировано снижение в суспензии нейронов концентрации АТФ (на 65 % по отношению к интактным пробам) на 60 минут после внесения МФП (табл.).

Уровень АТФ в клетках является одним из решающих параметров гомеостаза клеток, и является одним из основных компонентов системы защиты клеток, следящих за нормальным функционированием их метаболических систем и структур, интактностью генома. В клетке предполагается наличие некоторых «АТФ-метров», способных отслеживать изменения уровня АТФ и инициировать гибель клеток при снижении уровня АТФ ниже определенного порогового уровня. Энергетические расстройства в клетках не могут гарантировать нормальное поддержание гомеостаза и целостность генома, поэтому избирательное удаление клеток с пониженным уровнем АТФ может сохранять интактность популяции клеток в целом [17]. При ишемии мозга нейроны гибнут путем апоптоза и некроза [4, 5]. При этом в механизмах гибели нейронов могут принимать участие представители семейства Hsp – Hsp70. Эти белки являются молекулярными шаперонами, снижающими агрегацию окислительно поврежденных белков в условиях теплового шока или энергетического голодания [18]. Как показали, наши исследования, моделирования гипоксии *in vitro* приводило на 15 минуте к незначительному повышению (на 22%) концентрации в суспензии HSP70 белков,

направленных на включение компенсаторных клеточных реакций, с последующим падением содержания HSP, начиная с 30 минуты гипоксии относительно интактного уровня (табл.).

Внесение в суспензию нейроцитов HSP70 за 30 минут до инициирования МФП-гипоксии оказывало защитное действие, направленное на повышение активности СДГ и особенно МДГ и увеличение продукции малата. Мы можем сделать предположение, базируя на данные других исследователей [7, 12], что HSP70 в условиях ишемии, модулирует работу компенсаторных шунтов продукции энергии. Действие данных шунтов (Робертса, малат-аспартатный и т.д.) может быть направлено на анаэробное образование сукцината, обеспечивающее протекание редокс превращений в цикле Кребса и на первом участке дыхательной цепи [16]. Это способствует сохранению активности ферментов митохондрий, наработке богатых энергией соединений, а также поддерживает активированный гликолиз за счет притока восстановительных эквивалентов из цитозоля в митохондрии без дополнительного увеличения образования лактата, но с накоплением малата и сукцината [19]. Базируясь на многочисленных экспериментальных исследованиях, можно с определенной уверенностью сказать о преимуществе малат-аспартатного шунта, во-первых, как более устойчивого к гипоксии, а, во-вторых, обеспечивающего протонами в условиях острой ишемии электронно-транспортную цепь, частично замещая сукцинатоксидазный механизма поставки протонов в электронную цепь. Кроме того, шунт Робертса лимитирован содержанием ГАМК в головном мозге [19-21].

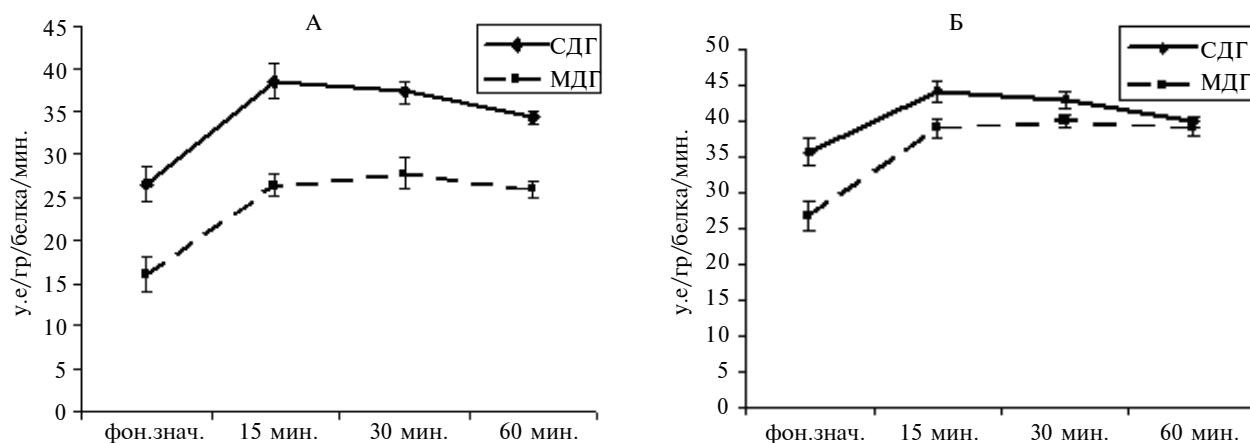


Рис. 2. Уровень активности сукцинатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы в цитозольной (А) и митохондриальной (Б) фракциях нейронов, с моделированием МФП-индуцированной гипоксией *in vitro*, на фоне преинкубации с HSP70

Как видно из рис. 2А, Б, в условиях моделирования гипоксии реализация компенсаторного сукцинатоксидазного механизма затруднена (более выраженное торможение активности как мСДГ так и цСДГ). Внесение в суспензию нейронов преинкубированных с МФП HSP 70, по всей видимости, «включает» компенсаторный малат-аспартатный шунт (значительное повышение активности цМДГ и мМДГ на 42% и 32% соответственно, а также повышение утилизации цитоплазматического малата, на фоне увеличения его концентрации в митохондриях) (рис. 2А, Б; рис. 5). Данное обстоятельство подтверждается и более ранними исследованиями, в которых показана активирующее влияние белков HSP 70 на экспрессию генов, кодирующих МДГ [5, 9]. Кроме того, позитивное влияние HSP-белков на энергетические процессы, в некоторой степени объясняет и их антиапоптотическое действие, связанное с ингибирующим влиянием HSP на стресс-киназы JNK [22]. Известно, что гиперэксперсия последних развивается в ответ на дефицит энергии в клетке и необходима для запуска апоптотической гибели при существенной убыли ее энергетических запасов [23]. За счет компенсаторной активации окислительной продукции энергии на дикарбонном участке цикла Кребса (увеличение малата, повышение активности МДГ и СДГ) с возможным вовлечением малат-аспартатного челночного механизма происходило увеличение АТФ на 48% в суспензии нейронов преинкубированных с МФП и дополнительным внесением HSP (рис. 2).

Важным звеном в энерготропном действии HSP-белков, по нашему мнению, является их способность влиять на процессы свободно-радикального окисления. Так, при изучении концентрации НТЗ, было отмечено ее падение в суспензии нейронов, преинкубированных с HSP более чем на 35% по отношению к контрольной серии (рис. 4). Полученные нами данные относительно антиоксидантной активности HSP-белков не противоречат экспериментальным работам других исследователей, в которых показана способность HSP в условиях ишемии координировать свертывание новосинтезированных белков, исправлять неправильное свертывание поврежденных и окислительно модифицированных белковых молекул, направлять перенос белков через клеточные мембраны, ингибировать агрегацию белков и осуществлять деградацию по протеосомному пути [24-26]. По-видимому, энерготропный эффект HSP-белков напрямую связан с их антиоксидантным эффектом, за счет которого снижаются в условиях гипоксии процессы окислительной деградации белков — переносчиков в дыхательной цепи митохондрий. По всей видимости, защитное действие HSP в острый период ишемии направлено на «мгновенное» переключение энергопродукции на «запасные» механизмы, такие как малат-аспартатный шунт. Судьба нейронов в условиях гипоксии напрямую зависит от своевременной работы HSP их возможности модулировать механизмы дополнительной продукции энергии без вовлечения реакций гликолиза и чем быстрее произойдет «включение» этих механизмов, тем большая вероятность сохранения жизни нейрона.

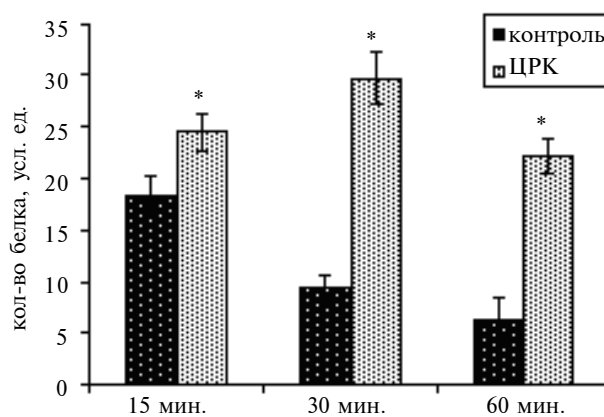


Рис. 3. Динамика изменения концентрации HSP-белка в суспензии нейронов, преинкубированных Цереброкурином на различные сроки моделирования гипоксии

Для установление роли HSP-белков в энерготропном и нейропротективном эффекте Цереброкурина, нами исследовалась динамика накопления в суспензии нейронов, преинкубированных с Цереброкурином HSP-белков. Вестерн-блот анализ показал, что уже с 15 минуты моделирования гипоксии происходит существенное увеличение концентрации HSP, с постепенным ее увеличением на 30 минуте и незначительным падением на 60 минуте эксперимента (рис. 3).

Выявленное нами свойство Цереброкурина активировать синтез HSP-белков, объясняется по нашему мнению, во-первых, его способностью модулировать в условиях гипоксии ответ генома, активируя при этом глобальные факторы транскрипции, запускающие синтез HSP, что было отражено нашими ранними работами [4, 27]. Во-вторых, рядом работ показана способность нейропептидов напрямую связываться с HSP-белками и в таком виде презентовать их дендритным клеткам [28, 29]. Полученные данные позволяют предположить, что реализация энерготропного эффекта Цереброкурина может происходить опосредованно через эксперсию HSP-белков и активацию ферментов, участвующих в работе малат-аспартатного челнока. Однако, следует принимать во внимание и прямую энерготропную активность Цереброкурина, связанную со способностью данного нейропептидного препарата влиять на процессы митохондриальной дисфункции, за счет подавления открытия митохондриальной поры и выхода в цитоплазму цитохрома C, а также его антиоксидантную активность, обусловленную

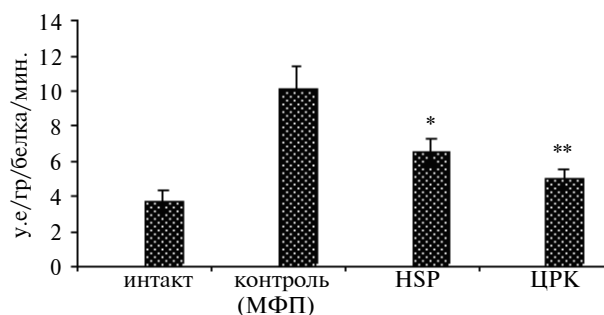


Рис. 4. Концентрация нитротирозина в суспензии нейронов с добавлением HSP, Цереброкурина на 60 минуту МФП-индуцированной гипоксии in vitro

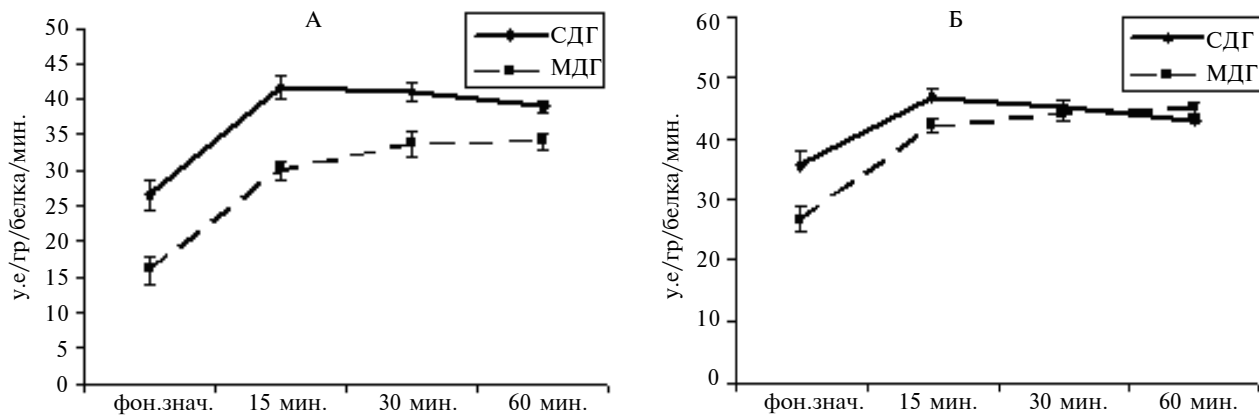


Рис. 5. Уровень активности сукцинатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы в цитозольной (А) и митохондриальной (Б) фракциях нейронов, с моделированием МФП-индуцированной гипоксией *in vitro*, на фоне преинкубации с Цереброкурином

воздействием Цереброкурина на экспрессию генов, кодирующих синтез ферментов антиоксидантной системы – каталазы и супероксиддисмутазы, а также экспрессию *c-fos* [4]. Подобные энерготропные и антиоксидантные эффекты Цереброкурина и HSP-белков объясняют более выраженное повышение активности как мМДГ, так и МДГ и снижение концентрации нитротирозина в суспензии нейронов, преинкубированных с Цереброкурином (рис. 4).

Полученные данные, об активности мСДГ и цСДГ показали повышение её активности на 15 мин. гипоксии (на 35%), с последующим падением на 30 мин., а также существенное увеличение на 30 минуту активности мМДГ и цМДГ (на 57% и 45%), а также увеличение концентрации митохондриального запаса малата (на 35%), что подтверждает, сделанное нами предположение об использовании малат-аспартатного челночного механизма в компенсаторной активации продукции энергии в условиях гипоксии (рис. 5).

Энерготропное действие Цереброкурина проявлялось достоверным ($p < 0,05$) увеличением концентрации АТФ в суспензии нейронов на 48%. Важно отметить, что исследуемые показатели в серии с введением Цереброкурина статистически достоверно превышали таковые в суспензии нейронов, преинкубированных с HSP (рис. 6).

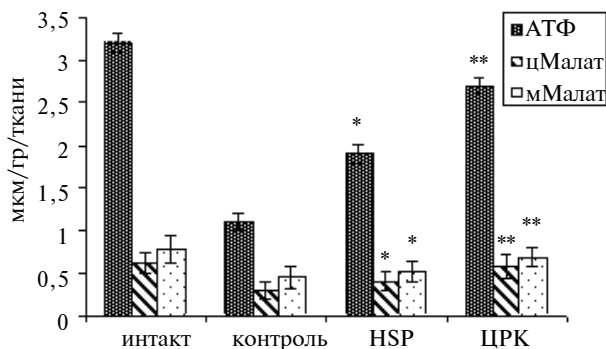


Рис. 6. Концентрация в суспензии нейронов АТФ, цМалата, мМалата в интактной, контрольной, серии с внесением HSP и Цереброкурина на 60 минут гипоксии *in vitro*.

Примечание: ЦРК – суспензия нейронов с введением Цереброкурина (здесь и далее); HSP – суспензия нейронов, преинкубированных с HSP; * – $p < 0,05$ по отношению к контролю; ** – $p < 0,05$ по отношению к HSP.

Таким образом, нейропротективное действие Цереброкурина, возможно, реализуется опосредованно через повышение содержания HSP и компенсаторной активации окислительной продукции энергии на дикарбонном участке цикла Кребса с вовлечением митохондриально-цитозольных челночных механизмов. Для более углубленного изучения энерготропного механизма нейропротективного действия цереброкурина необходимы дополнительные исследования.

I.F. Belenichev, S.V. Pavlov

Possible Role of HSP-proteins in Realization Energy Mechanism of Neuroprotective Action of Cerebrocurin

In the article by authors is shown ability of HSP-proteins in experimental researches *in vitro* in conditions MFP-induced hypoxia in suspension of neurons to start mechanisms of additional production of energy on dicarboxylic site of cycle Krebs with possible involving mitochondrial-cytosol shunts, that causes a high probability of preservation of neurons life. It is established, that realization energy- and neurotropic effects of neuropeptide preparation Cerebrocurin is caused by its opportunity to increase synthesis of HSP-proteins in cell. (Neuroscience: Theor. Clin. Asp. — 2010. — Vol. 6, № 1. — P.31-36.).

Key words: HSP-proteins, cerebrocurin, neuroprotective action

І.Ф. Беленічев, С.В. Павлов

Можлива роль HSP-білків у реалізації енерготропного механізму нейропротективної дії цереброкурину

У статті авторами експериментальними дослідженнями *in vitro* продемонстрована здатність HSP-білків в умовах МФП-індукованої гіпоксії у суспензії нейронів модулювати механізми додаткової продукції енергії на дикарбонної ділянки циклу Кребса з вірогідним залученням митохондриально-цитозольних шунтів, що обумовлює більшу вірогідність збереження життєдіяльності нейрональної клітини. Встановлено, що реалізація енерго- та нейротропного ефектів нейропептидного препарату Цереброкурина обумовлена його можливістю підвищувати синтез HSP-білків у клітині. (Нейронаука: теор. клін. асп.— 2010. — Т. 6, № 1. — С.31-36.).

Ключові слова: HSP-білки, цереброкурин, нейропротективна дія

ЛИТЕРАТУРА:

1. *І.С. Зозуля, В.І. Боброва.* Гострі порушення мозкового кровообігу як критичні стани в невропатології // Укр. неврологічний журнал. – 2006. – №1. – С. 5 – 8.
2. *Воронина Т.А.* Гипоксия и память. Особенности эффектов и применения ноотропных препаратов // Вестн. РАМН. – 2000. – №9. – С.531-537.
3. *Пирадов М.А.* Нейрореаниматология инсульта: состояние проблемы // Вестник РАМН. – 2003. – №12. – С.68-70.
4. *Беленичев И.Ф., Колесник Ю.М., Павлов С.В., Абрамов А.В., Бухтиярова Н.В.* Митохондриальная дисфункция при церебральной патологии. Нейропротекция Цереброкурином // Международный неврологический журнал. – 2008. – №4 (20). – С. 23-29.
5. *Беленичев И.Ф., Черный В.И., Колесник Ю.М., и др.* Рациональная нейропротекция, Донецк, Издательский дом Заславский, 2009. – 260 с.
6. *Тишкин В.С.* Клинико-экспериментальное исследование эффективности средств метаболической коррекции в комбинированной терапии острого инфаркта миокарда. – Дисс. д.мед.н. – Москва, 1989. – 402 с.
7. *Katschinski D. M., Le L., Schindler S. G., et al.* HInteraction of the PAS B domain with HSP90 accelerates hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization // Cell Physiol. Biochem. – 2004. – Vol.14. – P. 351-360.
8. *Suzuki K., Sawa Y., Kaneda Y., et al.* Overexpressed heat shock protein 70 attenuates hypoxic injury in coronary endothelial cells // J. Mol. Cell Cardiol. – 1998. – Vol. 30. – P. 1129-1136.
9. *И.Ф. Беленичев, Павлов С.В.* Антиоксидантные и митохондриальные аспекты нейропротективного действия модулятора ER-β-рецепторов – тамоксифена в условиях острого нарушения мозгового кровообращения // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти – 2009. – Т.5, №1-2. – С. 108-113.
10. *Прохорова М.И.* Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) – Л.: Изд-во Ленинградского университета. – 1982. – 272с.
11. *Sidoric L., Rodnin N., Bobyk V. et al.* Investigation of autoantibodies directed against tissue-specific myocardial antigens at dilated cardiomyopathy // Biopolymers and cell. – 1995. – Vol. 11, №1. – P. 81-87.
12. *Morimoto R. I., Kline M. P., Bimston D. N., Cotto J. J.* The heat-shock response: regulation and function of heat-shock proteins and molecular chaperones // Essays Biochem. – 1997. – Vol. 32. – P. 17-29.
13. *Avrames S., Termynck T.* Monoclonal IgG and autoantibodies obtained after polyclonal activation, show reactivities similar to those of polyclonal natural autoantibodies // Mol. Immunol. – 1993. – Vol. 30. – P. 119-127.
14. *Beere H.M.* 'The stress of dying': the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis // J. Cell Science. – 2004. – Vol. 117. – P. 2641-2651.
15. *Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. – К.: «МОРИОН», 2002. – 640с.
16. *Ливанов Г.А., Батоцаренков Б.В., Глушков С.И.* Нарушение транспорта кислорода при острых отравлениях нейротропными препаратами и его метаболическая коррекция // Междунар. неврол. журн. – 2002. – Т.1. – С. 33-36.
17. *Khoynezhad A., Jalali Z., Tortolani A.J.* Apoptosis: Pathophysiology and therapeutic implications for the cardiac surgeon // Ann. Thorac. Surg. 2004. – Vol. 78. – P. 1109-1118.
18. *Hartl F.U.* Molecular chaperons in cellular protein folding // Nature. – 1999. – Vol. 381. – P. 571-580.
19. *Скулачев В.П.* Эволюция биологических механизмов запасаения энергии. // Соросовский образовательный журнал. – 1997 – №5 – С.11-19.
20. *Самарцев В.Н.* Жирные кислоты как разобшители окислительного фосфорилирования. // Биохимия. – 2000 – Т.65. Вып.9 – с.1173-1189
21. *Галенко-Ярошевский П.А., Чекман И.С., Горчакова Н.А.* Очерки фармакологии средств метаболической терапии – М.: Медицина, 2001. – 240 с.
22. *Jaattela M., Wissing D., Kokholm K. et al.* Hsp 70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases // EMBOJ. – 1998. – Vol.17, №21. – P. 6124-6134.
23. *Лю Б.Н.* Кислородно-перекисная концепция апоптоза и возможные варианты его механизма // Усп. совр. биологии. – 2001. – 121, №5. – С. 488-501.
24. *Plumier J.C., Krueger A.M., Currie R.W., et al.* Transgenic mice expressing the human inducible Hsp70 have hippocampal neurons resistant to ischemic injury // Cell Stress Chaperones. – 1997. – № 2. – P. 162-167.
25. *Suzuki K., Sawa Y., Kaneda Y., et al.* Overexpressed heat shock protein 70 attenuates hypoxic injury in coronary endothelial cells // J. Mol. Cell Cardiol. – 1998. – Vol. 30. – P. 1129-1136.
26. *Yenari M.A., Giffard R.G., Sapolsky R.M., et al.* The neuroprotective potential of heat shock protein 70 (HSP70) // Mol. Med. Today. – 1999. – Vol. 5. – P. 525-531.
27. *Беленичев И.Ф., Павлов С.В., Дунаев В.В.* Нейропротекторное действие Цереброкурина в условиях острого нарушения мозгового кровообращения // Экспер. и клинич. фармакол. – 2010. – №2. – С. 7-12.
28. *Papadopoulos M.C., Sun X.Y., Cao J., et al.* Overexpression of Hsp-70 protects astrocytes from combined oxygen-glucose deprivation // Neuroreport. – 1996. – Vol. 7. – P. 429-432.
29. *Долотов О.В., Середенина Т.С., Левицкая Н.Г. и др.* Гектапептид семакс стимулирует экспрессию BDNF в различных отделах мозга крысы in vivo // Докл. АН. – 2003. – Т.391, №1. – С.131-134.

Надійшла до редакції: 03.10.2009 р.