

Б. И. Кузник¹, Н. С. Линькова², В. Х. Хавинсон^{2,3}

БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА: ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ, РАЗВИТИЕ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ И ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНОМА (обзор литературы и собственных данных)

¹ Читинская государственная медицинская академия, 672000 Чита, ул. Горького, 39-а; e-mail: macadem@mail.chita.ru;² Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3;
e-mail: ibg@gerontology.ru; ³ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6;

e-mail: ibgu@medport.ru

Обзор литературы и собственных данных посвящен оценке роли белков теплового шока в регуляции внутриклеточного и тканевого гомеостаза при стрессорных воздействиях и рассматривает снижение их экспрессии как один из важнейших факторов старения. Белки теплового шока, являясь регуляторами пролиферации, апоптоза, дифференциации клеток и внутриклеточного гомеостаза, играют существенную роль в поддержании активности иммунной, сердечно-сосудистой и других систем организма, а также играют существенную роль в развитии атеросклероза, инфаркта миокарда, ишемического инсульта и других заболеваний, сопровождающихся тромботическими осложнениями. Одной из возможностей восстановления и нормализации экспрессии белков теплового шока является применение коротких пептидов, что, вероятно, обуславливает их антистрессорную и геропротекторную активность.

Ключевые слова: белки теплового шока, гомеостаз, гемостаз, старение, пептиды

Общие представления о белках теплового шока. В последние годы особое внимание исследователей привлекают к себе так называемые белки теплового шока — HSP (Heat shock proteins), содержание которых, как было показано А. Tissieres и соавт. [78], резко возрастает при повышении температуры.

Но синтез HSP отмечается не только при воздействии высоких температур, но и под влиянием токсических продуктов, аноксии, гипоксии, ишемии, химиотерапевтических агентов, канцерогенов и даже при дифференциации и развитии клеток и тканей. Интенсивный синтез HSP проявляется при инфекционных заболеваниях, воспалении, лихорадке, ультрафиолетовом облучении, воздействии электромагнитных полей, солей тяжелых металлов, алкалозе и ацидозе, действии липополисахарида,

ишемии, гипоксии, атаке цитокинами, токсинами животного и растительного происхождения. Вот почему эти протеины носят второе название — *стресс-белки* [79]. Локализуются HSP как внутриклеточно, так и непосредственно на мембране клетки [13, 27].

Все HSP, по общепринятой классификации, в соответствии с их молекулярной массой, выраженной в килодальтонах, распределены на шесть семейств. При этом белки теплового шока, имеющие молекулярную массу до 40 кДа, объединены в так называемые малые HSP-белки (small HSP, sHSP). Остальные HSP-протеины представлены семействами HSP70, HSP80, HSP90, HSP100, HSP110 кДа и выше. Но особое внимание исследователей из-за более высокой насыщенности тканей организма в состоянии стресса привлекают HSP с молекулярной массой 70 кДа. Эти белки в настоящее время наиболее хорошо изучены и установлена их роль в деятельности органов и тканей. Оказалось, что HSP70 является ведущим белком, выполняющим функцию *молекулярных шаперонов* и участвующим в утилизации необратимо поврежденных белков, или *фолдинге* [40, 43, 44].

Что же такое шаперонные (chaperon — французское слово, подразумевается пожилая дама, сопровождающая молодую девушку на бал) функции?

Известно, что вновь синтезированным белкам присуща третичная и четвертичная структура. При воздействии высокой температуры, а также при стрессах, которым подвергается клетка, возникают аномальные белки, что обусловлено образованием агрегатов. Функции, которые HSP выполняют в регуляции правильного свертывания (приобретения формы) вновь синтезированных белков и в де-

структуризации аномальных белковых агрегатов, называют *шаперонными*, а сами белки теплового шока — *шаперонами*. Следовательно, основное назначение HSP сводится к защите клетки от повреждающих факторов. Более того, HSP являются неспецифическими адаптогенами, которые защищают клетки от самых разных стрессорных ситуаций.

К шаперонам, кроме HSP70, относятся HSP22, HSP27, HSP60, HSP90. Способность к шаперонингу заложена в структуре белков-шаперонов, позволяющей им осуществлять циклическое АДФ/АТФ-зависимое связывание с другими белками [34, 43, 45, 67, 87].

Установлено, что экспрессия генов HSP70 регулируется фактором транскрипции HSF1 (от слов Heat shock transcription factor). При этом HSF1 и HSP70 вместе с механизмами их активации и синтеза представляют внутриклеточную стресс-сенсорную систему, воспринимающую, оценивающую и соответствующим образом отвечающую на внутри- и внеклеточные стрессорные сигналы.

В нестрессированных клетках HSP70 находится как в цитоплазме, так и в ядре в неактивной мономерной форме, у которой отсутствует ДНК-связывающая активность. Мономерная форма HSF1 стабилизируется лишь благодаря связи с HSP70.

В стрессорной ситуации, когда появляются денатурированные белки, они вытесняют HSF1 из связи с HSP70, и при этом высвобожденные HSF1 быстро переходят в активную гомотримерную форму (структуру, состоящую из трех молекул HSF1), мигрирующую в ядро и входящую в связь с регуляторным участком гена HSP70, после чего HSF1 активирует транскрипцию и синтез HSP70. Увеличение же внутриклеточного содержания HSP70 приводит к снижению в клетке поврежденных белков, которые прежде вытесняли HSF1 из комплекса с HSP70. При этом HSP70 вновь вступает во взаимосвязь с HSF1 и таким образом переводит последний в неактивную мономерную форму, благодаря чему синтез HSP70 прекращается [64].

HSP делят на две группы — конститутивные и индуцибельные. Конститутивные HSP содержатся в относительно высокой концентрации в состоянии покоя, и при стрессе их содержание возрастает незначительно. Индуцибельные HSP в обычных условиях практически не обнаруживаются, но при стрессе их синтез резко возрастает. Однако такое деление является весьма условным, ибо зависит от

специализации и того состояния, в котором находится клетка.

Роль белков теплового шока в деятельности клетки и продолжительности жизни. Наиболее важную роль конститутивные HSP70 играют в восстановлении третичной и четвертичной структуры белка. Оказалось, что HSP70 связываются с вновь синтезированными цепями белков в тех областях, где чаще всего может произойти нежелательное гидрофобное слияние белковых цепей друг с другом. В дальнейшем, благодаря распаду АТФ и выделяющейся при этом энергии, HSP70 транспортирует белковую цепь либо к эндоплазматическому ретикулуму, либо к митохондриям, либо к пластинчатому комплексу (аппарату Гольджи). В этих структурах происходит передача белковой цепи через мембрану на какой-либо другой белок теплового шока. И далее только этот (другой) HSP перечисленных органелл клетки регулирует формирование окончательной субъединичной структуры белка [13, 15, 71].

К сожалению, не все белки после дезагрегации вновь приобретают нативную структуру, часть из них остаётся необратимо повреждённой. Но такие «отбросы», дабы не засорять клетку, обязательно должны быть утилизированы. Это осуществляется либо с помощью лизосомальных ферментов, либо в процессе убиквитинзависимого протеолиза. И в том, и в другом случае участвуют HSP70, выполняющие транспортную функцию: они или облегчают перенос денатурированного белка к лизосомам, или доставляют комплекс протеолитических ферментов непосредственно к денатурированному белку [13, 64].

После действия на клетки повреждающих агентов происходит не только активация синтеза HSP, но и их перемещение внутри клетки. В результате стресса, HSP накапливаются в наиболее уязвимых участках клетки: в первые 4–5 ч — в ядре, затем в перинуклеарной, присарколеммальной зонах и вдоль актиновых филаментов [79].

Смысл накопления HSP в ядре после повреждения клетки заключается в защите генетического материала, в ограничении деградации прерибосом, восстановлении структуры и функции ядрышек, экранировании нуклеозодоступных участков ДНК [14]. Таким образом, HSP играют значительную роль в повышении устойчивости клеточного аппарата биосинтеза белка к повреждающим воздействиям.

В присарколеммной зоне скопление HSP совпадает по времени с появлением в этом участ-

ке клетки большого количества функционально активных, способных к трансляции молекул мРНК и рибосом. Тем самым HSP обеспечивают стресс-индуцированную миграцию рибосом. Предполагается, что скопление HSP и рибосом в присарколеммальной области необходимо для быстрого восстановления мембранных белков, к которым, в частности, относятся белки мембранных каналов, рецепторные белки, ферменты, а также тканевой фактор (*TF*). Следовательно, назначение этого явления сводится к тому, чтобы как можно быстрее и эффективнее компенсировать повреждение мембранных белков [79]. А раз так, то HSP могут рассматриваться как маркеры деструкции клетки [76].

Известно, что физическая нагрузка сопровождается ускорением свёртываемости крови и усилением её фибринолитической активности. Одновременно при интенсивной физической работе у большинства испытуемых повышается содержание мРНК HSP70 в лейкоцитах и его концентрация в сыворотке крови. По всей видимости, белок HSP70 выбрасывается в плазму не только из лейкоцитов, но и из других клеток. При этом не наступает гибель клеток, так как содержание в сыворотке креатининфосфата, АЛТ и АСТ не изменяется. Следовательно, большая концентрация HSP70 в сыворотке является результатом адаптации к стрессу [19].

Следует, однако, заметить, что HSP необходимы не только для восстановления структуры и функции повреждённых клеток, они также требуются для нормальной жизнедеятельности клеток, ибо участвуют в поддержании их гомеостаза, процесса роста и дифференциации, и, кроме того, проявляют прямой антиапоптотический эффект [69]. Выраженная антиапоптотическая деятельность присуща конститутивным HSP70 и HSP90 β , предохраняющим клетки от развития дегенеративных изменений при различных стрессорных воздействиях [47].

Установлено, что с возрастом у людей увеличивается содержание HSP32 в моноцитах и лимфоцитах. Но особенно резко концентрация этого белка в лейкоцитах возрастает при острых инфекционных заболеваниях, когда развивается гиперкоагуляция и нередко тормозится фибринолиз. При тепловом шоке содержание HSP32 в моноцитах значительно повышается, а в лимфоцитах снижается. У людей с инфекционными заболеваниями выявляются прямые корреляционные связи между содержанием

C-реактивного белка и интерлейкина 6 (*IL-6*) в плазме и HSP32 в клетках крови [66].

Одной из гипотез, объясняющих наступление смерти, является повреждение клетки свободными радикалами, которые накапливаются в течение жизни и приводят к структурным изменениям цитоплазмы. В старости несостоятельность шаперонной функции HSP приводит к гибели клеток и смерти организма. На самых разных живых объектах (дрозофилы, нематоды, дафнии и другие) показано, что шаперонная функция HSP с возрастом значительно снижается [38, 55, 58, 59, 63]. Если высказанная гипотеза верна, то усиление шаперонной функции HSP должно способствовать продлению жизни. В частности, в опытах на нематодах (*Caenorhabditis elegans*) показано, что мутация единственного гена, способствующего возникновению толерантности к действию температуры, продлевает жизнь животных. Кратковременное повышение температуры у дрозофил также приводит к накоплению HSP70 и также ведёт к увеличению срока их жизни [77, 80]. Наконец, ограничение питания у грызунов уменьшает накопление кислых радикалов (ослабляет процессы ПОЛ), что ведёт к усилению функции шаперонов и увеличению продолжительности жизни [61].

HSP принадлежит важная роль в деятельности иммунной системы. При действии патогенных возбудителей из микроорганизмов или зон аутологичного воспаления (повреждённая ткань) высвобождаемые HSP могут узнаваться поверхностными рецепторами иммунной системы — *TLR-2*, *TLR-4*, *CD14*, *CD91*, *CD94*, *LOX-1* и др. При этом происходит передача информации о наличии в организме патологического процесса и вовлечение иммунной системы в защитную реакцию [15].

Роль белков теплового шока в развитии атеросклероза и тромбоземболических осложнений. В норме HSP содержатся, преимущественно, внутри клетки, благодаря чему к ним не развивается иммунная толерантность. Именно это свойство является причиной участия HSP в патогенезе аутоиммунных и системных сосудистых заболеваний, в том числе развития атеросклероза. Практически любое массивное повреждение тканей или инфекция приводят к выбросу HSP во внеклеточное пространство и, как следствие, к образованию анти-HSP-антител. Одновременно поступившие в тканевую жидкость и экспрессированные на поверхности клеток HSP стимулируют макрофаги и дендритные клетки, в результате чего усиливается синтез провоспалительных цитокинов, а также ад-

гезивных и костимуляторных молекул на их мембране [83].

В настоящее время всё большее значение приобретает инфекционная гипотеза развития атеросклероза и сердечно-сосудистой патологии. При этом наиболее подтвержденной в развитии атеросклероза является роль *Chlamydia pneumoniae* [53, 56, 65].

Установлено, что *Chlamydia pneumoniae*, зачастую выявляемая в атеросклеротических бляшках [53, 55, 56], содержит HSP 60/65, к которым в организме человека и животных возникают антитела. В то же время, антитела, образуемые к бактериальному HSP65 (так же как и HSP60), перекрестно реагируют с HSP60 человека. Иммунизация нормохолестерических кроликов HSP сопровождается довольно быстрым развитием атеросклеротических повреждений в интима аорты, которые носят воспалительный характер. Если же кроликам давать пищу, богатую холестерином, то возникают типичные атеросклеротические бляшки, напоминающие таковые у человека [64]. HSP60/65 способны стимулировать человеческие моноциты, освобождаящие провоспалительные цитокины и тем самым усиливающие течение воспалительного процесса, а также экспрессию *TF* на эндотелиальных клетках. Всё это является одним из ведущих факторов не только развития атеросклероза, но и тромбоза.

Существует высокая степень гомологии между микробным и вирусным, с одной стороны, и человеческим HSP60 — с другой, благодаря чему образующиеся антитела к микробным белкам теплового шока способны реагировать с человеческими HSP, экспрессируемыми в результате воздействия стресса (включая классические факторы риска атеросклероза) эндотелиальными клетками [39, 81]. Образующиеся при этом иммунные комплексы проявляют комплементзависимую и антителозависимую цитотоксичность к эндотелиальным клеткам, повреждая их мембрану, что играет далеко не последнюю роль в формировании атеросклеротических бляшек [72].

Хламидийные и человеческие HSP60/65 обнаруживают даже в бляшках молодых людей и подростков. Кроме того, бактериальные и человеческие HSP выявлены в растворимой форме в крови людей с атеросклерозом. Из-за иммунной молекулярной мимикрии между бактериальными и человеческими HSP, последние могут стать аутоантигенами, вызывающими образование антител, которые, в конечном итоге, приводят к повреждению эндотелиальных клеток и развитию атероскле-

роза [85]. Эти перекрестно реагирующие антитела узнаются эпитопами соответствующих HSP, служащими аутоиммунными мишенями при возникновении самых ранних стадий атеросклероза [68].

Уже на начальных стадиях атерогенеза наблюдается очаговая экспрессия HSP60 в эндотелиоцитах, мононуклеарах, фиксированных на эндотелии и гладко-мышечных клетках интимы аорты. Кроме того, этот шаперон обнаружен в поверхностных отделах атеросклеротических бляшек [15]. Не исключено, что HSP связывается с рецепторами моноцитов и лимфоцитов на поверхности эндотелия [84]. С одной стороны, подобный механизм может обеспечить взаимодействие *T*-лимфоцитов и антител с антигенами, а с другой — запускать провоспалительный путь и миграцию в стенки артерий *T*-реактивных лимфоцитов, направленных против HSP [86].

J. A. Berliner и соавт. [1990] показали, что в макрофагах и гладкомышечных клетках артерий человека в соответствии со степенью выраженности атеросклеротических поражений увеличена экспрессия шаперона HSP70 [35]. При этом HSP70, экспрессируемый макрофагами, концентрируется в центральных отделах атером вокруг мест некроза и липидных отложений, а при экспрессии в гладкомышечных клетках сосудов — в покрышке неосложнённых бляшек.

За последнее время установлено, что в патогенезе атеросклероза принимает участие также низкомолекулярный HSP27. Его содержание в высокой концентрации обнаружено в артериях, поражённых атеросклерозом, в том числе и в самих атеросклеротических бляшках. Вместе с тем, под воздействием плазмينا происходит протеолиз HSP27. Фрагменты этого белка, а также продукты его протеолиза и агрегаты, выявлены в атеросклеротических артериях разных животных. При инкубации миоцитов стенки аорты человека в присутствии плазмينا происходит сверхсильная экспрессия и фосфорилирование HSP27 с дальнейшим выходом из цитоскелета в цитозоль, клеточное ядро и плазматическую мембрану [62].

Вместе с тем, повреждение эндотелия сопровождается высвобождением HSP20 из стенок сосудов в плазму, где они препятствуют агрегации тромбоцитов и развитию новых атеросклеротических бляшек. Однако таким действием обладают лишь нативные, а не агрегированные HSP. Одновременно в сосудистой стенке концентрация HSP20 значительно снижается. Оказалось, что в тромбоцитах человека имеются специфические

сайты, взаимодействующие с HSP20. Более того, HSP20 уменьшает способность тромбина активировать фосфолипазу С и, таким образом, препятствует высвобождению из мембраны кровяных пластинок фосфоинозитола [52]. В этом также заключается защитная роль белков теплового шока, направленная против развития тромботических осложнений.

HSP и их комплексы с пептидами эффективно захватываются антигенпредставляющими клетками (АПК) с помощью эндоцитоза через следующие рецепторы: CD91 (мультипотентный рецептор, связывающий 32 различных лиганда, в том числе α_2 -макроглобулин, HSP60, HSP90, Grp96 и многие другие), CD40 (член рецепторов семейства TNF), CD36 — рецептор-мусорщик (scavenger-рецептор) на макрофагах и незрелых дендритных клетках, а также через TLR2 и TLR4 [20, 37]. К семейству рецепторов-мусорщиков относится также LOX-1, способствующий экзоцитозу HSP70 в дендритных клетках человека [37]. С помощью указанных рецепторов осуществляется не только иммунный ответ на HSP, но выведение и удаление продуктов их деградации.

Представленные данные свидетельствуют о том, что белки теплового шока являются связующим звеном между инфекцией и атеросклерозом.

Установлено, что при воздействии HSP на TLR2 и TLR4 макрофагов увеличивается концентрация внутриклеточного Ca^{2+} , активируется ядерный фактор NFkB, благодаря чему стимулируется продукция NO, IL-1b, IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α , химокинов и адгезивных молекул, усиливающих воспалительные реакции, повреждение эндотелиальных клеток и развитие атеросклероза [21, 82]. Оказалось, что повышение уровня IL-1, IL-12, IL-18 и IFN γ у экспериментальных животных способствует прогрессивному развитию атеросклероза, тогда как блокада указанных цитокинов снижает выраженность проявлений атеросклеротических изменений на 15–69% [51]. Более того, провоспалительные цитокины IL-1 и TNF- α увеличивают продукцию белка MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), вызывающего миграцию моноцитов в интиму и тем самым являющимся мощным активатором развития атеросклероза [57]. Напомним, кстати, что все указанные без исключения цитокины способствуют экспрессии TF и фактора фон Виллебранда (vWF), а также ингибируют фибринолиз [7–9, 30, 46], способствуя, тем самым, возникновению тромботических осложнений.

Защитная роль HSP особенно ярко проявляется при тромбозах, инфаркте миокарда, инсультах и других тромбоэмболических заболеваниях. W. H. Dillman и R. Mestral (1995) показали, что у мышей с генетически детерминированной гиперпродукцией HSP70 после двадцатиминутной окклюзии коронарной артерии размер зоны некротизированного миокарда и уровень креатинфосфокиназы во время реперфузии были значительно меньше, чем у мышей с обычной экспрессией HSP70 [41]. Более того, у таких мышей отмечались более быстрые темпы восстановления функциональной активности сердца при реперфузии. Чем более устойчивы крысы к развитию острого инфаркта миокарда, тем сильнее у них накапливается HSP в мышце сердца [18]. К сказанному следует добавить, что при диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови (ДВС) и тромбозах содержание HSP70 в плазме увеличивается в 20 раз и более, что в значительной степени может быть связано с освобождением белка из разрушающихся клеток [7–9, 29].

Исследованиями, проведенными В. Т. Ивашкиным и О. М. Драпкиной [4], установлено, что лимфоциты больных с инфарктом миокарда реагируют на заболевание включением системы защитных белков. При этом всех больных в первый день развития инфаркта можно разделить на три группы: 1-я характеризуется ареактивностью системы синтеза индуцибельной формы HSP70_i как при физиологически оптимальной температуре, так и после теплового шока; 2-я характеризуется ареактивностью системы синтеза HSP70_i, но выраженной индукцией синтеза HSP после теплового воздействия; 3-я отличается сохранением синтеза HSP70_i в оптимальном температурном режиме и усилением синтеза этого белка после теплового шока. Следует отметить, что показатели синтеза белка HSP70_i высоко коррелировали с обширностью поражения миокарда в первый и второй дни заболевания. При обширном повреждении отмечалось нарастание уровня HSP70_i в лимфоцитах при физиологически оптимальной температуре и уменьшение способности белков теплового шока к индукции в результате нагревания. Более того, чем выше была разница в содержании HSP70_i до и после подвергания лимфоцитов тепловому шоку, тем благоприятнее был прогноз исхода инфаркта миокарда.

О. М. Драпкина [2] обнаружила, что у больных с постинфарктным кардиосклерозом может наблюдаться как повышение, так и резкое сниже-

ние продукции HSP72₁ в лимфоцитах. Существует три типа реагирования продукции HSP72₁ в ответ на применяемую терапию: отсутствие изменений, увеличение содержания и снижение концентрации этого белка. Два последних типа реагирования расцениваются автором как истощение стресс-модулирующего и адаптационного эффектов HSP72₁. У таких пациентов отмечается тяжелое течение хронической сердечной недостаточности с резистентностью к проводимой терапии и неблагоприятным исходом.

Установлено, что HSP70 находятся непосредственно в кардиомиоцитах, где они функционируют в качестве кардиопротекторного агента, защищая клетки от последствий ишемии, в том числе возникающей при реинфузии. Но эти белки способны при ишемии миокарда покидать кардиомиоциты и оказывать непосредственное влияние на клетки иммунной системы, выполняя функции провоспалительных медиаторов. Под воздействием HSP70 активируются моноциты и макрофаги, в результате чего в крови возрастает концентрация *IL-1*, *IL-6*, *IL-12* и *TNF-α*, действующих на гепатоциты, эндотелиальные клетки и моноциты и усиливающие опасность развития инфаркта миокарда.

Защитные реакции на стрессорные воздействия проявляются в большей степени в тех случаях, когда наступает значительная активация стресс-лимитирующих систем — HSP70 в лейкоцитах и *NO* в плазме [18].

В то же время, и сам HSP70 способен стимулировать агрегацию тромбоцитов и даже приводить к возникновению тромбозов. Установлено, что HSP70 усиливает образование и активность растворимой гуанилилциклазы, катализирующей образование цГМФ, накопление которого, как известно, приводит к агрегации и секреции гранул кровяных пластинок [33]. Следовательно, при увеличении концентрации HSP70 может возникать предрасположение не только к ДВС, но и к развитию тромбоэмболических осложнений. Такое состояние может быть особенно тромбоопасным в тех случаях, когда HSP70 не справляется со своей основной шаперонной функцией.

Следует обратить внимание, что у больных с наиболее тяжелым течением постинфарктного периода в лимфоцитах выявляются чрезвычайно низкие показатели HSP70, а иногда уровень этого белка определить вообще не удаётся. Клиническое течение у таких больных осложнялось развитием острой левожелудочковой недостаточности и симптомами ранней постинфарктной стенокардии.

Одновременно у таких больных была чрезвычайно высока степень оксидативного стресса и выраженная дисфункция эндотелия. Применение у таких больных ингибиторов АПФ, содержащих сульфгидрильную группу, не спасает положения. Через 6 мес после перенесенного инфаркта миокарда уровень HSP70 в лимфоцитах оставался таким же низким, как и в первые сутки заболевания. Представленные данные свидетельствуют об истощении защитных систем организма, что и является неблагоприятным фактором прогноза, течения и исхода заболевания [3].

В одном из исследований у молодых кроликов в возрасте 2–3 нед вызывали ишемию миокарда продолжительностью 45 мин, а затем производили 45-минутную реперфузию [9]. Спустя 24 ч животным внутрибрюшинно вводили Норадrenalин, значительно ускоряющий процесс свёртывания крови. При этом резко увеличивалось содержание HSP70, повышалась концентрация оксипролина, АТФ и активность СОД и снижался уровень МДА и эндотелина в миокарде. Одновременно ограничивались структурные изменения в реперфузируемой сердечной мышце.

Приведенные факты свидетельствуют о том, что увеличение концентрации HSP70 действительно способствует ограничению повреждения клеточных структур, что должно предотвращать освобождение прокоагулянтов из клеток и развитие тромбозов.

Введение эстрогенов при ишемических состояниях приводит к вазодилатации, падению агрегационной активности тромбоцитов и торможению процессов ПОЛ. Одновременно при этом отмечается активация белков теплового шока. В частности, в моделях глобальной ишемии у монгольской песчанки при внутрибрюшинном введении Эстрадиола наблюдается значительная активация HSP25/27 и HSP70 в артериях. Если же Эстрадиол применяли за 20 мин до развития ишемии, эти белки активировались в большей степени [26].

Одной из важнейших функций HSP70 и HSP90 является участие в регуляции синтеза *NO* [67], что способствует вазодилатации сосудов, антиагрегационному эффекту и повышению фибринолитической активности крови. Длительное применение статинов при ИБС и гипертонической болезни повышает уровень HSP70 и HSP90, что сопровождается усилением синтеза *NO* [75].

Но HSP принадлежит также существенная роль в развитии сердечно-сосудистой патологии, сопровождающейся в значительном числе случаев

возникновением тромбоэмболических состояний. В частности, установлено, что у больных со стабильной стенокардией, в период ангинозного приступа, сопровождающегося загрудинными болями, резко увеличивается концентрация аутоантител к HSP27. У людей пожилого возраста, а также при наличии гипертензии и сахарного диабета, содержание аутоантител к белкам теплового шока значительно возрастает [73].

Титр аутоантител к HSP27 резко повышается у больных с нестабильной стенокардией, увеличиваясь особенно сильно в первые 12 ч после инфаркта миокарда (в среднем в 5 раз выше, чем у здоровых людей), а затем по мере улучшения состояния начинает снижаться. Высказывается мнение, что повышение титра аутоантител к HSP27 может служить ранним маркером развития инфаркта миокарда [73].

Существует мнение, что с возрастом, и особенно при развитии атеросклероза, когда ИБС, инсульты и тромбоэмболические заболевания угрожают здоровью человека, шаперонная функция белков теплового шока, и в частности HSP70, значительно снижается [74].

Роль белков теплового шока в развитии ДВС-синдрома. Не вызывает сомнения, что экспрессия *TF*, являющегося мощным триггером внутрисосудистого свёртывания крови, происходит интенсивнее всего в месте возникновения патологического очага, где наблюдается разрушение тканей. К очагу повреждения устремляются также и лейкоциты, в том числе моноциты и нейтрофилы, несущие *TF*. Там же скапливаются и лимфоциты, образующие агрегаты с тромбоцитами. Установлено, что провоспалительные цитокины оказывают влияние на иммунокомпетентные клетки и макрофаги, преимущественно, местно [5]. При этом должно происходить образование микровезикул, несущих *TF*, а также секреция макрофагами прокоагулянтов, поступающих сначала в тканевую жидкость, затем в лимфу и, наконец, в кровь. Но и тканевая жидкость, и лимфа содержат все без исключения факторы свёртывания крови. Наши наблюдения [7, 9, 10], а также исследования Ю. М. Левина [11] свидетельствуют о том, что при ДВС-синдроме наблюдается свёртывание не только крови, но и интерстициальной жидкости и лимфы. Более того, нарушение циркуляции лимфы при развитии ДВС при многих состояниях должно предшествовать усиленному внутрисосудистому свёртыванию крови.

Преобладающее большинство заболеваний начинается с местного поражения клеток и тканей и нередко сопровождается повышением температуры, что приводит к появлению белков теплового шока (HSP), или стресс-белков.

Само собой разумеется, что при возникновении заболевания в клетках, повреждённых патологическим процессом, должна происходить агрегация белка. Если этот процесс становится необратимым, то клетка получает приказ к запрограммированной гибели — апоптозу. Если же вслед за агрегацией наступает восстановление обычной структуры цитоплазмы, то клетка постепенно вновь приобретает свои функции и возвращается к нормальной деятельности.

Как же происходит деструктурирование цитоплазмы? Вот тут-то включаются в реакцию индуцибельные HSP70, содержание которых при действии патогенных раздражителей резко возрастает.

К сожалению, не все белки после дезагрегации вновь приобретают нативную структуру, часть из них остаётся необратимо повреждённой. Но такие «отходы», дабы не засорять клетку, обязательно должны быть утилизированы или удалены, что и осуществляется, как мы уже отмечали, с помощью HSP70.

Под влиянием HSP70 наступает активация макрофагов, нейтрофилов и тучных клеток, благодаря чему усиливается синтез провоспалительных цитокинов, в том числе *IL-1*, *TNF-α* и других, способствующих усилению агрегации тромбоцитов, ускорению свёртывания крови и ингибции фибринолиза, что отмечается при ДВС [9, 10, 36, 54, 75].

Оригинальные данные получены В. А. Назаровым и соавт. [16], показавшими, что в макрофагах, исходно не содержащих HSP70, липополисахарид (ЛПС) вызывал активацию стресс-ответа в провоспалительном фенотипе, но не приводил к развитию противовоспалительных реакций. В макрофагах, исходно содержащих HSP70, или в макрофагах с предварительно вызванным ЛПС провоспалительным фенотипом стресс-ответ не развивался, а в противовоспалительном фенотипе отмечался ярко выраженный стресс-ответ. Провоспалительный фенотип характеризовался высокой продукцией провоспалительных цитокинов, таких как *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-12*, *TNF-α* и других, ускоряющих процесс свёртывания крови. Противовоспалительный фенотип, напротив, сопровождался снижением синтеза провоспалительных цитокинов и увеличением концентрации *IL-4*

и IL-10, замедляющих свёртываемость крови. Следовательно, наличие в макрофагах HSP70 приводит к феномену репрограммирования стресс-ответа, заключающегося в трансформации фенотипа макрофагов. Кроме того, установлено, что при отсутствии в макрофагах HSP70 стимуляция ЛПС сопровождалась увеличением продукции NO, тогда как в макрофагах, содержащих HSP70, подобной реакции не наблюдалось [16].

Представленные факты, несомненно, указывают на то, что HSP70 играет защитную роль и тем самым способствует ограничению зоны повреждения и ликвидации ДВС-синдрома, всегда возникающего при введении ЛПС животным или человеку.

Наконец, косвенным подтверждением наших рассуждений являются результаты наблюдений Э. А. Алекперова и соавт. [1], установивших, что при стрессорных воздействиях (введение бактериального ЛПС, форбол-12-миристат-13-ацетата, влияние на тимоциты физиологическими медиаторами стресса — катехоламинами) в различных клетках вначале наблюдается снижение HSP70. Действие на лимфоидные клетки линии EL-4 сильного окислительного стресса (внесение H_2O_2) характеризуется сначала существенным снижением HSP70 с последующим его быстрым ростом, а затем медленным падением его цитоплазматического пула. Авторы высказывают мнение, что такая реакция носит универсальный характер. Обусловлена она тем, что вначале происходит выброс части цитоплазматического пула указанного белка в окружающую среду. Будучи долгоживущим протеином, HSP70 не может быть быстро элиминирован, что и подтверждает выдвигаемую гипотезу.

Вначале под воздействием стрессорных агентов происходит истощение цитоплазматического пула HSP70, что неминуемо должно сопровождаться агрегацией белка в клетке и, следовательно, структурированием цитоплазмы. Безусловно, уже на этой стадии часть клеток не справляется с действием стрессорного агента и получает сигнал к апоптозу. Но для большинства клеток на данной стадии процесс структурирования цитоплазмы является обратимым, так как содержание HSP70 в клетке значительно увеличивается, во много раз превышая его исходный уровень. Однако в дальнейшем эта реакция становится необратимой, так как внутриклеточный пул HSP70 истощается. И тогда, в зависимости от ситуации, усиливается постоянное внутрисосудистое свёртывание крови, или разви-

вается типичный острый или хронический ДВС-синдром.

Исследованиями, проведенными в нашей лаборатории [8, 9], показано, что у больных с осложнённым аппендицитом, острым абсцессом лёгкого и обострением хронического остеомиелита в плазме и сыворотке значительно возрастает содержание аутоантител к HSP70. Так, если в норме в сыворотке содержание антител к HSP70 соответствует всего лишь $32,2 \pm 1,2$ нг/мл, то при осложнённом аппендиците оно возрастает до $540,3 \pm 30,2$ нг/мл в сыворотке и $860,3 \pm 50,3$ нг/мл в плазме. При абсцессе лёгкого концентрация антител в сыворотке достигает $330,2 \pm 20,1$ нг/мл, а в плазме — $640,2 \pm 50,3$ нг/мл. При обострении хронического остеомиелита эти цифры соответствуют $450,5 \pm 24,7$ нг/мл в сыворотке и $720,3 \pm 47,6$ нг/мл в плазме. Следует обратить внимание на то, что уровень аутоантител в плазме оказался в 1,5–2 раза выше, чем в сыворотке. Безусловно, это явление отчасти может быть объяснено тем, что в процессе образования фибринового сгустка лейкоцитами и тромбоцитами могут дополнительно экспрессироваться белки теплового шока, которые способны связать находящиеся в сыворотке аутоантитела. Из сказанного вытекает, что определение антител к HSP следует всегда проводить в плазме, а не сыворотке.

Нет никакого сомнения, что при гнойной хирургической инфекции наступает коагулирование цитоплазматических белков, что является мощнейшим стимулом активации генома HSP, сопровождающегося резким увеличением продукции белков теплового шока ядерными клетками хозяина. В особо тяжёлых случаях протекания патологического процесса синтез собственных белков клетками практически прекращается, а уровень шаперонов резко возрастает и достигает 15–20% всех белков цитоплазмы [60]. Но и этого зачастую оказывается недостаточно для того, чтобы «оживить» патологически поражённые клетки.

Однако только этими фактами объяснить столь значительные сдвиги в содержании аутоантител к HSP70 невозможно. При наличии гнойного воспаления теряется так называемая «оральная толерантность», и микробы-сапрофиты включают новое звено патогенеза деструктивного воспаления и хронизации процесса. Известно, что под влиянием факторов естественной резистентности (действие антител, сенсibilизированных лимфоцитов, активированных нейтрофилов, стимуляции системы комплемента, бактерицидной активности сыво-

ротки, лизоцима и других), а также под влиянием антибиотиков сапрофитная микрофлора входит в состояние стресса и гиперпродуцирует белки теплового шока. Последние экспрессируются как на поверхности самих микроорганизмов, так и клеток хозяина, включённых в патологический процесс. Обладая выраженной антигенностью, белки теплового шока микроорганизмов и клеток хозяина индуцируют образование антител, а также сенсибилизируют лимфоциты и, тем самым, замыкают порочный круг, усиливающий и пролонгирующий воспалительный процесс. Но одновременно HSP продуцируют и микроорганизмы, являющиеся источником гнойной хирургической инфекции. Следовательно, синтез белков теплового шока, в том числе HSP70, является комплексной реакцией, обусловленной ответом хозяина на внедрение патогенной микрофлоры, а также продукцией самих микроорганизмов.

Но чем выше содержание HSP, тем интенсивнее происходит образование к ним аутоантител. Отсюда становится ясно, что полученные нами данные могут свидетельствовать о том, что при гнойной хирургической инфекции в крови резко увеличивается концентрация HSP70.

К изложенному следует добавить, что экзогенный HSP70, выделяемый при разрушении бактерий, может интернализироваться клетками хозяина и, тем самым, формировать дополнительный пул белка, усиливающего их защитное действие. Сам по себе этот факт чрезвычайно важен, ибо при тяжело протекающих заболеваниях клетки теряют способность экспрессировать HSP70, что сильно увеличивает их уязвимость к действию множества стресс-факторов.

Защитную роль белков теплового шока при развитии внутрисосудистого свёртывания крови можно видеть также на следующем примере. Не подлежит сомнению, что сепсис всегда сопровождается развитием ДВС-синдрома, приводящего к возникновению полиорганной недостаточности [8, 9, 28, 54]. Вместе с тем, предварительное введение крысам HSP70 перед инъекцией ЛПС предотвращает у них на протяжении как минимум 5 ч потребление факторов свёртывания крови (за исключением фибриногена), а также способствует нормализации фибринолиза. При этом сохраняется неповреждённой структура подвергшихся действию ЛПС клеток. Представленные данные позволяют предполагать, что HSP70 в дальнейшем может быть использован как лечебный препарат

для предотвращения развития грамтрицательных инфекций [17].

Ещё более убедительные факты получены М. Dieude и соавт. [42], введившими антитела IgG против HSP60 мышам линии BALB/c с предварительно повреждённой общей сонной артерией. У таких мышей образование тромбов происходило гораздо быстрее, и они отличались большей стабильностью, чем в контрольной группе (вводили иммуноглобулин G (IgG), не связывающий HSP). Более того, окклюзия у анти-HSP60 IgG-обработанных мышей была завершённой, и при этом не возникала реперфузия. В контрольной группе завершённая окклюзия выявлена у 64 % мышей, и в 65 % случаев у них наблюдалась реперфузия. Неповреждённые контралатеральные артерии у HSP60 IgG-обработанных мышей также оказались изменёнными, эндотелиальные клетки подвергались альтерации, на них сильнее экспрессировался P-селектин, а в крови у таких мышей возрастала концентрация vWF. По мнению авторов, полученные данные связаны с тем, что эндотелиальные клетки, обработанные анти-HSP60 IgG-антителами, чрезмерно активируют vWF. Последний, являясь транспортёром фактора VIII, усиливает свёртывание крови, а также способствует внутрисосудистой агрегации тромбоцитов.

Но существует и иной механизм усиления тромбообразования. Резкое увеличение экспрессии P-селектина сопровождается адгезией на эндотелии лейкоцитов и тромбоцитов, что, в конечном итоге, опять-таки приводит к усилению внутрисосудистого свёртывания. При этом стимулированные лейкоциты могут также экспрессировать TF, что приводит не только к локальному тромбообразованию, но и ДВС-синдрому. В частности, у больных системной красной волчанкой имеется прямая зависимость между содержанием антител к HSP60 и тромбообразованием.

Необходимо отметить, что антитела к HSP60 и другим белкам теплового шока могут возникнуть в организме при различных инфекционных и воспалительных заболеваниях, ибо все возбудители независимо от их природы содержат разнообразные HSP. Безусловно, в подобной ситуации создаются благоприятные условия для усиления постоянного внутрисосудистого свёртывания крови и развития ДВС.

Установлено [6–9, 28–30, 54], что все без исключения структуры клеток обладают выраженной прокоагулянтной активностью, а многие из них несут на своей поверхности TF, то есть содержат

частичный или полный тромбопластин. Попадая в сосудистое русло, а также в экстравазальное пространство, эти структуры способны вызывать не только свёртывание крови, но и тканевой жидкости, а также лимфы.

С указанных позиций нам представляется механизм развития ДВС при воспалительных, инфекционных и других заболеваниях следующим образом. Внедрение микроорганизмов, приводящих к развитию патологического процесса, сопровождается не только повреждением клеток, но и структурированием цитоплазмы. При этом усиливается синтез и экспрессия белков теплового шока (в том числе HSP70), что должно сопровождаться восстановлением структуры цитоплазмы и сохранением нормальной деятельности клетки. Если HSP справляются с этой задачей, то патологический процесс приобретает абортный или лёгкий характер, а заболевание вскоре заканчивается выздоровлением. При этом может усиливаться постоянное внутрисосудистое свёртывание, но никогда не развивается выраженная органная недостаточность. Если же HSP не справляются с отведённой им функцией, то повреждённые клетки получают сигнал к осуществлению запрограммированной смерти — апоптозу. Повреждение клетки, как и её гибель, приводит к образованию микровезикул, зачастую экспрессирующих *TF*, что значительно усиливает свёртывание тканевой жидкости, лимфы и крови. Одновременно при этом увеличивается концентрация провоспалительных цитокинов (*L-1*, *IL-6*, *IL-12*, *TNF-α* и других), что сопровождается экспрессией не только *TF*, но и фактора фон Виллебранда (*vWF*), а также ингибиторов фибринолиза (в том числе, *PAI-1* и *TAFI*). Но содержание провоспалительных цитокинов увеличивается не только в крови, но и непосредственно в патологическом очаге, ибо, как известно, все цитокины проявляют, в основном, местное действие [5]. Недаром содержание цитокинов в жидкостях, связанных с местом возникновения патологического процесса (в ликворе при поражениях головного мозга, в слюне при заболеваниях полости рта, в слезах при заболеваниях глаз), во много раз превышает их концентрацию в крови [9]. Следовательно, провоспалительные цитокины, в первую очередь, должны оказывать влияние на свёртывающую и фибринолитическую активность тканевой жидкости и лимфы и лишь затем воздействовать на кровь. Наконец, и сами HSP, главным образом HSP70, стимулируют образование провоспалительных цитокинов; недаром их в

литературе иногда называют шаперокинами [32]. Всё это приводит, в конечном итоге, к усилению постоянного внутрисосудистого свёртывания крови, появлению сладжей, торможению фибринолиза с выраженными нарушениями микроциркуляции вплоть до развития полиорганной недостаточности со всеми вытекающими отсюда последствиями [7–11].

Почему же это происходит? Дело в том, что способность HSP защищать повреждённые клетки не безгранична, ибо работа шаперонного механизма энергозависима. Так, спустя 40 мин после наступления окклюзии коронарных артерий дефицит макроэргов составляет более 90%, что практически несовместимо с жизнью клетки. При электронной микроскопии в ишемизированном кардиомиоците обнаруживается конденсация промежуточных филаментов в перинуклеарные агрегаты, реорганизация цитоплазматической сети, скопление активных филаментов вокруг ядра, вакуолизация и исчезновение митохондрий, а также признаки агрегации хроматина ядра и деструкция мембраны [4].

Известно, что действие тромбина — обязательного участника внутрисосудистого свёртывания крови и тромбообразования — осуществляется через так называемые клеточные протеиназ-активируемые рецепторы, получившие наименование *PAR*. В то же время, обнаружено, что в *PAR1*-опосредованном изменении формы астроцитов и иных клеток нейроглии под действием тромбина принимает участие HSP90. Показано специфическое взаимодействие *PAR1* с HSP90 в дрожжах. На основании этих данных рецептор тромбина *PAR1* включен в список клиентных белков, взаимодействующих с цитозольной формой HSP90. Установлено, что ингибитор HSP90, гелданомицин, блокирует АТФ-азную активность HSP90 и предотвращает его взаимодействие с клиентными белками. Нет никакого сомнения, что представленные данные позволяют говорить о роли свёртывающего белка тромбина в опосредованном изменении структуры цитоплазмы.

Возможности восстановления экспрессии гена белка HSP70 под действием коротких пептидов. Приведённые данные свидетельствуют о том, что белки теплового шока играют важную роль в защите клетки от повреждений, вызванных различными стрессорными факторами (повышенная физическая нагрузка, инфаркт миокарда, инфекционные заболевания), участвуют в процессах клеточной дифференциации и активации иммунной системы. Показано, что при старении экспрессия

белка теплового шока HSP70 снижается. В связи с этим, логично предположить, что повышение экспрессии HSP70 может оказывать не только стресс-, но и геропротекторное действие.

В Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН на основе анализа аминокислотного состава экстрактов из различных тканей разработана технология синтеза коротких пептидов, обладающих рядом геропротекторных эффектов, увеличивающих продолжительность жизни животных, индуцирующих дифференциацию и пролиферацию клеток, а также способных регулировать экспрессию генов [12, 23, 24, 25, 70]. Результаты последних исследований биологической активности коротких пептидов показали, что они способны стимулировать экспрессию генов белков теплового шока, что во многом объясняет широту их стресс-протекторных и геропротекторных эффектов.

Исследование регуляции экспрессии гена белка теплового шока HSP70 под действием пептида T-34 (*Glu-Asp-Gly*) было проведено в модели индуцированной язвы желудка у крыс. Пептид T-34 животным вводили подкожно в дозе 0,5 мкг в 0,5 мл физиологического раствора ежедневно в течение пяти дней с момента возникновения язвы. Материал из края язвы забирали на 7-е сутки и исследовали экспрессию гена белка теплового шока HSP70 методом вестерн-блоттинга. Установлено, что экспрессия гена белка теплового шока HSP70 в образцах слизистой оболочки из края язвы желудка на 7-й день после ее индукции возрастала в 4,5 раза по сравнению с нормальной слизистой оболочкой, взятой у интактных животных. Пептид T-34 оказывал репаративное действие на слизистую оболочку желудка и приводил к снижению экспрессии белка HSP70 до контрольного уровня.

Исследование пептидной регуляции экспрессии гена белка теплового шока HSPA1A при повышенной физической нагрузке, являющейся моделью стресса, было проведено на 20 гимнастках. Спортсменок разделили на две равные группы: 1-я — основная — получала пептид T-36 (*Glu-Asp-Pro*) в виде биологически активной добавки (по 1 капсуле 2 раза в день в течение 20 дней) и 2-я — контрольная — получала поливитаминный комплекс. В контрольной группе при первичном измерении экспрессия гена HSPA1A составила $2,3 \pm 0,08$ и не отличалась от данных повторного измерения ($2,0 \pm 0,16$). В 1-й группе до приема пептидных препаратов экспрессия гена HSPA1A составила $1,9 \pm 0,13$. После приема комплекса ко-

ротких пептидов у спортсменок 1-й группы экспрессия гена HSPA1A равнялась $4,4 \pm 0,15$, что примерно в 2 раза выше по сравнению с исходным значением в 1-й группе и контрольной ($p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о достоверном увеличении экспрессии гена белка теплового шока под воздействием пептида T-36, что указывает на его антистрессорный эффект, в основе механизма действия которого лежит пептидная регуляция экспрессии гена [22, 31, 48–50].

На основе полученных данных нами было выдвинуто предположение о возможности комплементарного взаимодействия трипептида T-34 и промоторного участка гена белка теплового шока. На рис. 1 представлена структура промотора гена белка HSP70 (рис. 2, а) и исследуемого трипептида *Glu-Asp-Gly* (EDG) в развёрнутой конформации (см. рис. 2, б). Видно, что эта молекула имеет одну концевую аминогруппу и три карбоксильных группы — две из них боковые. Продольный размер молекулы, имеющей две пептидные связи, составляет 14 Å. Таким образом, для комплементарного взаимодействия этого трипептида с двойной спиралью ДНК требуется нуклеотидный блок, содержащий не менее пяти нуклеотидных пар.

Статистический анализ нуклеотидной последовательности показал, что промоторный участок гена белка HSP70 содержит пятичленный нуклеотидный блок CATGG, повторяющийся 4 раза. На рис. 3 представлена схема расположения функциональных групп нуклеиновых оснований на поверх-

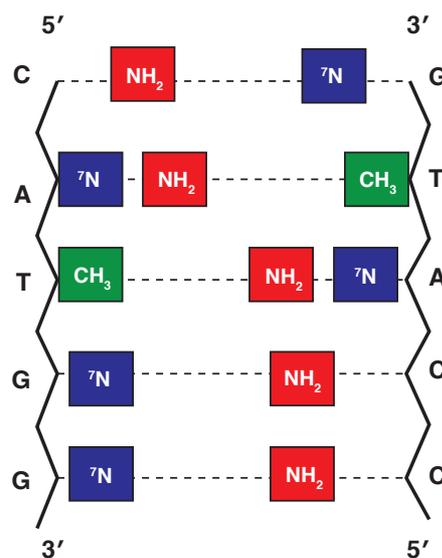
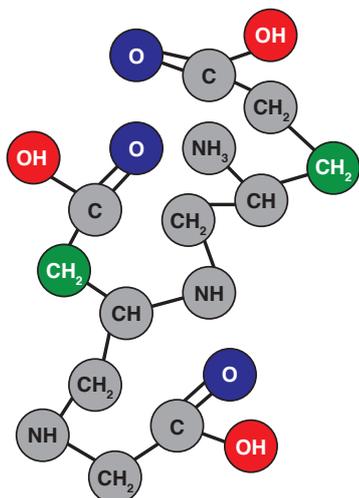


Рис. 1. Расположение нуклеотидных пар блока CATGG и принадлежащих им функциональных групп, экспонированных на поверхность большой канавки двойной спирали ДНК: NH_2 — донор водородной связи; ${}^7\text{N}$ — акцептор водородной связи; CH_3 — акцептор гидрофобной связи

1 c**CATGG**caac actgtcaaca ccggaacaag cacttctac caccocccgc ctcaggaatc
 61 caatctgtcc agatccctct agagagtctt ggacaagggc ggtaccctca a**CATGG**atta
 121 ct**CATGG**gag gcggaagaag tctaacagac ccgaaactgc tggaaagattc ttggccoccaa
 181ggctctccc gctcgtgat tcgcc**CATGG**gaggggtgggc ggggcccggag gagcctcct
 241 aaaggggcag ggcggcgcgc aggcaccagg attcctctc ctaat 285

а



б

Рис. 2. Последовательность нуклеиновых оснований на промоторном участке гена пептида теплового шока (а) и структура биологически активного трипептида Glu–Asp–Gly (EDG) в развёрнутой конформации (б)

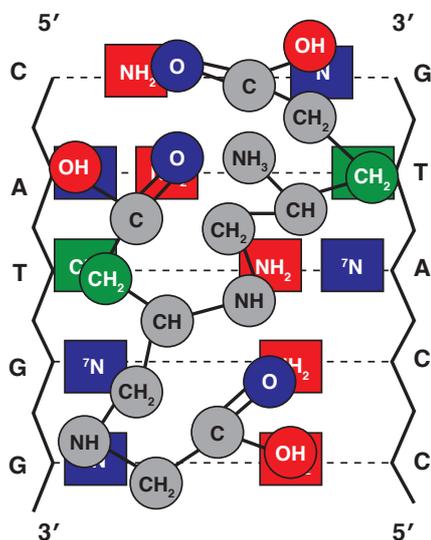


Рис. 3. Комплементарное взаимодействие трипептида Glu–Asp–Gly (EDG) с сайтом связывания **CATGG** на промоторном участке гена белка теплового шока **HSP70**. Прочность этого комплекса определяется семью водородными и двумя гидрофобными связями

ности большой канавки двойной спирали блока **CATGG** и возможная конформация нуклеопептидного комплекса, основанного на комплементарных водородных связях трипептида и ДНК в большой

канавке двойной спирали. Таким образом, данные моделирования комплементарного взаимодействия исследуемого трипептида с промоторным участком гена белка **HSP70** показали возможность их связывания, в результате которого, вероятно, и происходит изменение экспрессии указанного гена.

Приведенные в данном обзоре краткие сведения, бесспорно, свидетельствуют о том, что белки теплового шока, являясь регуляторами пролиферации, апоптоза, дифференциации клеток внутриклеточного и внеклеточного гомеостаза, играют существенную роль в поддержании активности иммунной, сердечно-сосудистой, коагуляционной и других систем организма, а снижение их экспрессии коррелирует с процессами старения. При этом одной из возможностей восстановления и нормализации экспрессии белков теплового шока является применение коротких синтетических пептидов, что, вероятно, обуславливает их антистрессорную и герпротекторную активность.

Литература

1. Алекперов Э. А., Шустова О. А., Сапожников А. М. Изменение содержания БТШ70 в клетках лимфомы EL-4b в условиях окислительного стресса // Мед. иммунология. 2007. № 2–3. С. 113–114.
2. Драпкина О. М. Особенности синтеза белков теплового шока у больных постинфарктным кардиосклерозом // Клини. мед. 2004. № 9. С. 25–28.
3. Задионченко В. С., Лексина К. С., Тимофеева Н. Ю. и др. Влияние ингибитора ангиотензинпревращающего фермента на окислительный стресс, функцию эндотелия у больных с инфарктом миокарда // Кардиология. 2009. № 7–8. С. 32–37.
4. Ивашкин В. Т., Драпкина О. М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока (Интернет, 2006).
5. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008.
6. Кузник Б. И. Свёртываемость лимфы и тканевой жидкости // В кн.: Основы общеклинической лимфологии и эндозкологии. М., 2003. С. 92–107.
7. Кузник Б. И. Защитная и патологическая роль тканевого фактора и сериновых протеиназ при развитии гиперкоагуляции и ДВС-синдрома // В кн.: Проблемы патологии системы гемостаза. Барнаул, 2007. С. 99–111.
8. Кузник Б. И. ТГС, ДВС или гипер-гипокоагуляционный синдром // Пробл. клин. мед. 2009. № 2. С. 74–91.
9. Кузник Б. И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010.
10. Кузник Б. И., Лиханов И. Д., Цепелев В. Л., Сизоненко В. А. Теоретические и клинические аспекты биорегулирующей терапии в хирургии и травматологии. Новосибирск: Наука, 2008.
11. Левин Ю. М. Новый уровень лечения и оздоровления. М., 2008.
12. Линькова Н. С., Полякова В. О., Трофимов А. В. и др. Пептидергическая регуляция дифференцировки, пролиферации и апоптоза тимоцитов при старении вилочковой железы // Бюл. экспер. биол. 2011. Т. 151. № 2. С. 203.
13. Маргулис Б. А., Гущина И. В. Белки стресса // Цитология. 2000. № 4. С. 323–342.

14. Меерсон Ф. З., Малышев И. Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. М.: Наука, 1993.
15. Нагорнев В. А., Пигаревский П. В., Мальцева С. В. Шапероны и их роль в атерогенезе // Вестн. РАМН. 2008. № 1. С. 41–45.
16. Назаров В. А., Круглов С. П., Хоменко И. П. и др. Инверсия феномена репрограммирования стресс-ответа в липополисахаридстимулированных альвеолярных макрофагах // Бюл. exper. биол. 2007. № 10. С. 387–390.
17. Остров В. Ф., Слащёва Г. А., Евгеньев М. Б., Мурашев А. Н. Протекторное действие рекомбинантного человеческого БТШ70 на систему гемостаза при моделировании сепсиса у крыс // В сб.: IV Всерос. конф. «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». М., 2009. С. 368–369.
18. Пшеничникова М. Г., Зеленина О. М., Круглов С. В. и др. Синтез белков теплового шока (HSP) в лейкоцитах крови как показатель устойчивости к стрессорным повреждениям // Бюл. exper. биол. 2006. № 12. С. 614–617.
19. Сахаров Д. А., Степанов А. В., Шуриков М. Ю., Тоневичкий А. Г. Кратковременный высокоинтенсивный физиологический стресс вызывает увеличение экспрессии белка теплового шока в лейкоцитах человека // Бюл. exper. биол. 2009. № 3. С. 335–336.
20. Северин С. Е., Посыпанова Г. А., Москалёва Е. Ю. Разработка новых подходов к лечению рака с помощью препаратов направленного действия и вакцин на основе белка теплового шока rHsp70 // Молекул. биол. 2008. № 4. С. 9–17.
21. Татенкулова С. Н., Мареев В. Ю., Зыков К. А., Беленков Ю. Н. Роль гуморальных воспалительных факторов в патогенезе ишемической болезни сердца // Кардиология. 2009. № 1. С. 4–8.
22. Хавинсон В. Х. Пептидная регуляция старения. СПб.: Наука, 2009.
23. Хавинсон В. Х., Анисимов С. В., Малинин В. В., Анисимов В. Н. Пептидная регуляция генома и старение. М.: Изд-во РАМН, 2005.
24. Хавинсон В. Х., Линькова Н. С., Полякова В. О. и др. Возрастная динамика дифференцировки иммунных клеток тимуса человека // Бюл. exper. биол. 2011. Т. 151. № 5. С. 569–572.
25. Хавинсон В. Х., Линькова Н. С., Трофимов А. В. и др. Морфофункциональные основы пептидной регуляции старения // Успехи соврем. биол. 2011. Т. 131. № 2. С. 115.
26. Хама-Мурад А. Х., Павлинова Л. И., Мокрушин А. А. Геморрагический инсульт: молекулярные механизмы патогенеза и перспективные терапевтические мишени // Успехи физиол. наук. 2008. № 3. С. 45–65.
27. Шилова В. Ю., Гарбуз Д. Г., Евгеньев М. Б., Зацепина О. Г. Низкомолекулярные белки теплового шока и адаптация к гипертермии у разных видов *Drosophila* // Молекул. биол. 2006. № 2. С. 271–276.
28. Шойхет Я. Н., Момот А. П. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов гнойной деструкции органов и тканей // Пробл. клин. мед. 2008. № 4. С. 102–117.
29. Adewoye A. H., Kings E. S., Farber H. W. et al. Sick cell vasoocclusive crisis induces the release of circulating serum heat shock protein-70 // Amer. J. Hemat. 2005. № 3. P. 240–242.
30. Aken B. E., Reitsma P. H., Rosendaal F. R. Interleukin 8 and venous thrombosis: evidence for a role of inflammation in thrombosis // J. Haemat. 2002. Vol. 116. № 1. P. 173–177.
31. Anisimov V. N., Khavinson V. Kh. Peptide bioregulation of aging: results and prospects // Biogerontology. 2010. Vol. 11. P. 139.
32. Asea A., Kabingu E., Stevenson M. A., Calderwood S. K. HSP70 peptidbearing and peptide-negative preparations act as chaperokines // Cell Stress Chaperones. 2000. Vol. 5. № 5. P. 425–431.
33. Bae J. S., Rezaie A. R. Thrombin up-regulates the angiotensin II/Tie2 Axis: EPCR occupancy prevents the thrombin mobilization of angiotensin II and P-selectin from Weibel-Palade bodies // J. Thrombosis and Haemost. 2010. Vol. 8. № 5. P. 1107–1115.
34. Basha E., Jones C., Wysocki V., Vierling E. Mechanistic differences between two conserved classes of small heat shock proteins found in the plant cytosol // J. biol. Chem. 2010. Vol. 285. № 15. P. 11489–11497.
35. Berliner J. A., Territo M. C., Sevanian A. et al. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions // J. clin. Invest. 1990. Vol. 85. № 4. P. 1260–1266.
36. Bernando A., Ball C., Nolasco L. et al. Effect of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow // Blood. 2004. Vol. 104. P. 100–106.
37. Binder R. J., Han D. K., Srivastava P. K. CD91: a receptor for heat shock protein gp96 // Nat. Immunol. 2001. Vol. 1. № 2. P. 151–155.
38. Bond J. A., Gonzalez C. R. M., Bradley B. P. Age-dependent expression of proteins in the cladoceran *Daphnia magna* under normal and heat-stress conditions // Comp. Biochem. Physiol. 1993. Vol. 106. P. 913–917.
39. Burian K., Kis Z., Virok D. et al. Independent and joint effects of antibodies to human heat-shock protein 60 and Chlamydia pneumoniae infection in the development of coronary atherosclerosis // Circulation. 2001. Vol. 103. № 11. P. 1503–1508.
40. Chang Y. W., Sun Y. J., Wang C., Hsiao C. D. Crystal structures of the 70 heat shock proteins in domain disjoining conformation // J. biol. Chem. 2008. Vol. 283. P. 15502–15511.
41. Dillmann W. H., Mestrl R. Heat shock proteins in myocardial stress // J. Kardiol. 1995. Vol. 84 (Suppl. 4). P. 87–90.
42. Dieude M., Gillis M. A., Theoret J. F. Autoantibodies to heat shock protein 60 promote thrombus formation in a murine model of arterial thrombosis // J. Thromb. Haemost. 2009. Vol. 7. № 4. P. 710–719.
43. Fung K. L., Hilgenberg L., Wang N. M., Chiroco W. J. Conformations of the nucleotide and polypeptide binding domains of a cytosolic hsp70 molecular chaperones are couple // J. biol. Chem. 1996. № 35. P. 21559–21565.
44. Hartl F. U. Molecular chaperones in cellular protein folding // Nature. 1996. Vol. 381. № 6583. P. 571–580.
45. Haslbeck M., Franzmann T., Weinfurter D., Buchner J. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins // Nat. Structural Molec. Biol. 2005. Vol. 12. № 10. P. 842–846.
46. Hedman A., Larson P. T., Alam M. et al. CRP, IL-6 and endothelin-1 levels in patients undergoing coronary artery bypass grafting // Int. J. Cardiol. 2007. Vol. 120. P. 108–114.
47. Hooven T. A., Yamamoto Y., Jeffer W. R. Bing cavefish and heat shock protein chaperones: a novel role HSP90a in lens apoptosis // Int. J. Dev. Biol. 2004. Vol. 48. № 3. P. 731–738.
48. Khavinson V. Kh. Peptides and aging // Neuroendocr. Lett. Special Iss., 2002.
49. Khavinson V. Kh., Malinin V. V. Gerontological aspects of genome peptide regulation. Basel: Karger AG, 2005.
50. Khavinson V. Kh., Fedoreeva L. I., Vanyshin B. F. Short peptides modulate the effect of endonucleases of wheat seedling // Biochem. Biophys. Molec. Biol. 2011. Vol. 437. № 1. P. 124.
51. Kleemann R., Zadelaar S., Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice // Cardiovasc. Res. 2008. Vol. 79. № 3. P. 360–376.
52. Kozawa O., Matsuno H., Niwa M. et al. HSP20, low-molecular-weight heat shock-related protein, acts extracellularly as a regulator of platelet functions: a novel defense mechanism // Live Sci. 2002. Vol. 72. № 2. P. 113–124.
53. Kuppusamy V. C., Gupta S. Antibiotic therapy for coronary heart disease // Drugs today (barc). 2005. Vol. 41. № 10. P. 677–685.
54. Kuznik B. I., Tsybikov N. N. Cytokines, immunoglobulins and hemostasis // Hematol. Rev. 1996. Vol. 7. Part 2. P. 43–70.
55. Lee Y. K., Manalo D., Liu A. Y. Heat shock response, heat shock transcript HSP90 and cell aging // Biol. Signals. 1996. № 5. P. 180–191.

56. *Leinonen N., Saikkcu P.* Evidence for infectious agents in cardiovascular disease and atherosclerosis // *Lancet Infect. Dis.* 2002. № 2. P. 11–17.
57. *Libbi P., Suchova G., Lee R. T., Galis S. Z.* Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic Plaque // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1995. Vol. 25. Suppl. 2. P. 9–12.
58. *Lithgow G. J., White T. M., Hinerfeld D. A., Johnson T. E.* Thermotolerance of a long-lived mutant of *Caenorhabditiselegans* // *J. Geront.* 1994. Vol. 49B. P. 270–276.
59. *Lithgow G. J.* Invertebrate gerontology: the age mutations of *Caenorhabditiselegans* // *Bio Essays.* 1996. Vol. 18. P. 809–815.
60. *Lindquist S., Craig E. A.* The heat-shock proteins // *Ann. Rev. Genet.* 1988. Vol. 22. P. 631–677.
61. *Lu Q., Wallrath L. L., Granok H., Elgin S. C.* Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription // *Molec. Cell Biol.* 1993. Vol. 13. P. 2909–2918.
62. *Luis M. J., Valentin N., Havier H. et al.* Biological significance of decreased HSP27 in human atherosclerosis // *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006. № 6. P. 1337–1343.
63. *Marin R., Valet J. P., Tanguay R. M.* Heat shock induces changes in the expression and binding of ubiquitin in senescent *Drosophila melanogaster* // *Dev. Genet.* 1993. Vol. 14. P. 78–86.
64. *Metzler B., Abia R., Ahmad M. et al.* Activation of heat shock transcription factor 1 in atherosclerosis // *Amer. J. Pathol.* 2003. Vol. 162. № 5. P. 1669–1676.
65. *Moutsopoulos N. M., Madianos P. N.* Low-grade inflammation in chronic infectious diseases: paradigm of periodontal infections // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006. 1088. P. 251–264.
66. *Njemini R., Lambert M., Demanet C. H., Mets T.* Heat shock protein 32 in human peripheral blood mononuclear cells: effect of aging and inflammation // *J. clin. Immunol.* 2005. Vol. 25. № 5. P. 405–417.
67. *Pearl L. H., Prodromou C.* Structure and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone machinery // *Ann. Rev. Biochem.* 2006. Vol. 75. P. 271–294.
68. *Perschinka H., Mayr M., Millonig G. et al.* Cross-reactive B-cell epitopes of microbial and human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis // *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003. Vol. 23. № 6. P. 1060–1065.
69. *Pockley A. G.* Heat shock proteins as regulation of the immune response // *Lancet.* 2003. Vol. 362. P. 469–476.
70. *Polyakova V. O., Linkova N. S., Pichugin S. A.* Dynamics of apoptosis and proliferation of pineal gland cells of in aging // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2010. Vol. 150. № 4. P. 468.
71. *Ranford J. C., Henderson B.* Chaperonins in disease: mechanisms, models, and treatments // *Molec. Pathol.* 2002. Vol. 55. № 4. P. 209–213.
72. *Schett G., Xu Q., Amberger A.* Auto antibodies against heat shock protein 60 mediate endothelial cytotoxicity // *J. clin Invest.* 1995. № 6. P. 2569–2577.
73. *Shams S., Shafi S., Bodman-Smith K. et al.* Anti-heat shock protein-27 (Hsp-27) antibody levels in patients with pain: association with established cardiovascular risk factors // *Clin. chim. Acta.* 2008. Vol. 395. № 1–2. P. 42–46.
74. *Sharp F. R., Sagar S. M.* Alterations in gene expression as an index of neuronal injury: heat shock and the immediate early // *Neurotoxicology.* 1994. Vol. 15. № 1. P. 51–59.
75. *Szotowski B., Antoniak S., Poller W. et al.* Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines // *Cir. Res.* 2005. Vol. 96. № 12. P. 1233–1239.
76. *Sharp F. R., Sagar S. M.* Alterations in gene expression as an index of neuronal injury // *Neurotoxicology.* 1994. № 1. P. 51–59.
77. *Tatar M., Khzaeli A. A., Curtsinger J. W.* Chaperoning extended life // *Nature.* 1997. Vol. 390. P. 30.
78. *Tissieres A., Mitchell H. K., Tracy U. M.* Protein synthesis in salivary glands of *drosophila melanogaster* // *J. molec. Biol.* 1974. Vol. 84. № 3. P. 389–398.
79. *Weich W. G., Suhan J. P.* Cellular and biochemical events in mammalian cells during and after recovery from physiological stress // *J. cell. Biol.* 1986. Vol. 103. P. 2035–2052.
80. *Wheeler J. C., Bieschke E. T., Tower J.* Muscle-specific expression of *Drosophila hsp70* in response to aging and oxidative stress // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92. P. 10408–10412.
81. *Wick G., Knoflach M., Xu Q.* Autoimmune and inflammatory mechanisms in atherosclerosis // *Ann. Rev. Immunol.* 2004. Vol. 22. P. 361–403.
82. *Xing J., Xu Y., Tian J. T. et al.* Suppression of shade- or heat-induced leaf senescence in creeping bentgrass through transformation with the *ipt* gene for cytokinin synthesis // *J. Amer. Soc. Horticultural Sci.* 2009. Vol. 134. № 6. P. 602–609.
83. *Xu Y., Lupu F., Esmon C. T.* Inflammation, innate immunity and blood coagulation // *Hämostaseologie.* 2010. Vol. 30. № 1. P. 5–9.
84. *Xu Q.* Role of heat shock proteins in atherosclerosis // *Thrombos. Vasc. Biol.* 2002. Vol. 22. P. 1547–1549.
85. *Xu Q.* Infections, heat shock proteins, and atherosclerosis // *Curr. Opin. Cardiol.* 2003. № 4. P. 245–252.
86. *Xu Q., Wick G.* The role of heat shock proteins in protection and pathophysiology of the arterial wall // *Molec. Med. today.* 1996. № 2. P. 372–379.
87. *Zhao R., Houry W. A.* Hsp90: a chaperone for protein folding and gene regulation // *Biochem. Cell Biol.* 2005. Vol. 83. № 6. P. 703–710.

Adv. geront. 2011. Vol. 24. № 4. P. 539–552

B. I. Kuznik¹, N. S. Linkova², V. Kh. Khavinson^{2,3}

HEAT SHOCK PROTEINS: AGING CHANGES, DEVELOPMENT THROMBOTIC DISEASES AND PEPTIDERGIC REGULATION OF GENES

¹ Chita State Medical Academy, 39-a ul. Gor'kogo, Chita, Russia; e-mail: macadem@mail.chita.ru; e-mail: ibg@gerontology.ru; ² Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, NWB of RAMS, 3 Dinamo pr., St. Petersburg 197110; ³ I. P. Pavlov Institute of Physiology of RAS, 6 Nab. Makarova, St. Petersburg 199034; e-mail: ibgu@medport.ru

The review and the data of our own investigation demonstrated the role of heat shock proteins in regulation of intracellular and tissue homeostasis at stress influence. The review told that decrease of expression of heat shock proteins can be one of the main causes of aging. Heat shock proteins, which are regulators of proliferation, apoptosis, differentiation of cells and intracellular homeostasis, play important role in activity of immune, cardiovascular and other systems and take part in development of atherosclerosis, heart attack, ischemic stroke and other thrombotic diseases. One of the ways to repair the expression of heat shock proteins is using short peptides.

Key words: *heat shock proteins, homeostasis, hemostasis, aging, peptides*