

Исследование экспрессии и клеточной локализации киназы p70S6 при развитии сердечной недостаточности

О. Т. Рожко, Л. Н. Капустян, В. И. Бобык, Л. А. Савинская,
И. А. Тихонкова, Д. В. Рябенко¹, В. С. Усенко², Л. Л. Сидорик

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, Украина, 03680

¹Национальный научный центр «Институт кардиологии имени академика Н. Д. Стражеско» АМН Украины
Ул. Народного ополчения, 5, Киев, Украина, 03151

²Патоморфологическая лаборатория «Бионтек»
Ул. Комсомольская, 52А/88, Днепропетровск, Украина, 49000

Один из важных антиапоптотических путей, поддерживающих жизнедеятельность кардиомиоцитов, первично ассоциирован с активацией инсулиновых рецепторов, запускающей протеинкиназный каскад PI3K/PDK/Akt/mTOR/p70S6K, последнее звено которого (киназа p70S6) – важнейший регулятор скорости и эффективности биосинтеза белков. Показано, что одна из мишеней p70S6K1 – проапоптотический белок BAD, принадлежащий к BCL-2-семейству белков, в нормальном кардиомиоците инaktivирован фосфорилированием по остаткам серина киназой p70S6K1. Цель данной работы состояла в изучении возможных изменений экспрессии и/или клеточной локализации p70S6K1 в пораженном дилатационной кардиомиопатией (ДКМП) миокарде человека и в миокардах мышей с экспериментальной ДКМП-подобной патологией. Методы. Иммуноблоттинг и иммуногистохимия. Результаты. Обнаружено снижение количественного уровня p70S6K1 в миокарде как на конечной стадии прогрессии сердечной недостаточности, так и в динамике патогенеза ДКМП. Впервые показана релокализация исследуемого белка в область эндомизия (соединительная ткань миокарда), что согласуется с данными иммуноблоттинга. Выводы. Полученные результаты помогут в понимании возможной регуляторной роли p70S6K1 в индуцируемых стрессом апоптотических путях кардиомиоцитов при сердечной недостаточности.

Ключевые слова: p70S6K1, апоптоз, сердечная недостаточность, иммуноблоттинг, иммуногистохимия.

Введение. Последнее десятилетие характеризуется бурным развитием исследований молекулярно-генетических основ сердечно-сосудистых патологий, среди которых сердечная недостаточность (heart failure) считается одной из важнейших [1].

Синдрому сердечной недостаточности сопутствуют разрушительные структурные изменения

(сердечное ремоделирование) и необратимое прогрессирование болезни, что ассоциировано с дилатацией и гипертрофией миокарда и драматическим уменьшением (более чем на треть) количества кардиомиоцитов [2]. Гибель клеток кардиомиоцитов при сердечной недостаточности и инфаркте миокарда происходит постоянно, при этом не наблюдается сильных воспалений или значительных гистоморфологических изменений, поэтому ее логичес-

ки ассоциируют с апоптозом, который в своих основных проявлениях подобен апоптозным сигнальным каскадам немиоцитных клеток [3, 4].

В некоторых работах показано, что апоптотические пути в сердце схожи со многими сигнальными путями, существующими в немышечных клетках и приводящими к гибели клеток. Наиболее охарактеризованы два из них: каскад рецепторов гибели и митохондриальный путь. Активация первого связана с экспрессией Fas и Fas-лиганда в сердце. Однако индукция программы смерти не является единственной функцией Fas. В зависимости от стимулятора-лиганда он может быть вовлечен в адаптивный ответ, определяющий гипертрофию [5, 6].

Апоптоз кардиомиоцитов считается важным событием для инициации и развития сердечной недостаточности, типичным проявлением которой является дилатационная кардиомиопатия (ДКМП). Наши знания о его механизмах ограничены недавно описанным уникальным для кардиомиоцитов типом запрограммированной гибели клеток миокарда – так называемым «прерванным, или незавершенным апоптозом», характеризующимся активацией каспазного каскада без видимых изменений в ядре [7]. «Незавершенный апоптоз» наблюдается у части клеток с пониженным уровнем цитоплазматических белков, нарушением энергетики и сократительной функции, но с относительно сохраненными ядрами как средством для дальнейшего восстановления («миоциты-зомби»). Предположительно, этот феномен кардиомиоциты используют для сохранения защитного потенциала при прогрессировании сердечной недостаточности [7].

Один из антиапоптотических путей, поддерживающих жизнедеятельность кардиомиоцитов, первично ассоциирован с активацией инсулиновых рецепторов, запускающей PI3K/PDK/Akt/mTOR/-протеинкиназный каскад.

Установлено, что p70S6K выполняет важную роль в регуляции эффективности биосинтеза белков [8]. Описаны две ее изоформы – p70S6K1 (альфа) и p70S6K2 (бета). Известно, что активность p70S6K1 критична при физиологической адаптации к стрессу. Это проявляется в возрастании концентрации p70S6K1 и характерно для гипертрофических изменений [9]. Ранее нами установлено, что

в кардиомиоцитах пораженного ДКМП миокарда существенно изменяется как количественный уровень, так и клеточная локализация молекулярного шаперона/шаперонина Hsp60 как потенциального антиапоптотического белка [10].

Возможное участие Hsp60 в регуляции апоптоза, показанное на культуре эмбриональных кардиомиоцитов, за счет активации–деактивации p70S6K1 и фосфорилирования проапоптотического белка BAD [11] стало основой для дальнейшего исследования роли шаперонов и их белков-партнеров в регуляции индуцированных стрессом киназных каскадов при сердечной недостаточности, в том числе ДКМП.

Цель данной работы состояла в иммуногистохимическом изучении возможных изменений экспрессии и/или клеточной локализации p70S6K1 на пораженном ДКМП миокарде человека и на миокардах мышей с экспериментальной ДКМП-подобной патологией, что поможет выявить критические точки участия p70S6K1 в регуляции индуцируемых стрессом апоптотических путей кардиомиоцитов при сердечной недостаточности.

Материалы и методы. Все протоколы работы с животными одобрены комитетом по биоэтике ИМБиГ НАН Украины и проведены в соответствии с рекомендациями Этического комитета Украины. Патоморфологический материал получен в рамках сотрудничества с Национальным научным центром «Институт кардиологии имени академика Н. Д. Стражеско» АМН Украины. Использованы образцы секционного патоморфологического материала из левых желудочков семи сердец, пораженных ДКМП, и 10 нормальных миокардов.

Иммуногенные детерминанты рассчитывали с помощью программы Prediction Antigenic Peptides (immunax.dfci.harvard.edu/Tools/antigenic.html).

Рекомбинантный белок p70S6K1 любезно предоставлен проф. В. В. Филоненко.

Исследование уровня экспрессии p70S6K1 проводили также в ткани сердец подопытных мышей линии BALB/c с экспериментальным аутоиммунным повреждением миокарда, подобным ДКМП человека, разработанным нами ранее [12, 13].

Группу контроля составляли здоровые мыши линии BALB/c такого же возраста. Исследования проводили через 1, 2, 4 и 6 месяцев после иммуни-

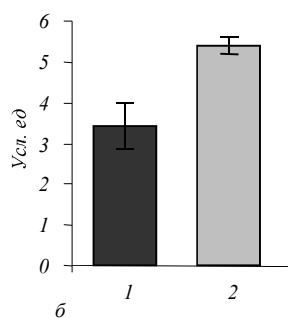
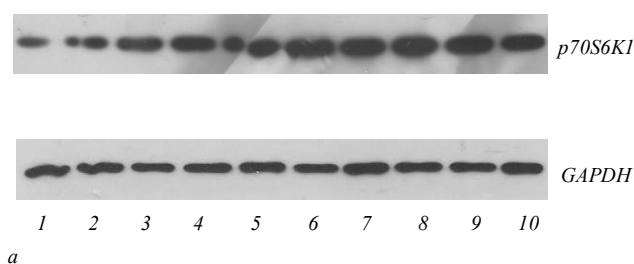


Рис. 1. Определение количественного уровня р70Sk6 в лизатах левого желудочка сердца человека: *a* – результат Вестерн-блот-анализа (1–5 – нормальные сердца; 6–10 – сердца, пораженные ДКМП); *б* – уровень белка р70Sk6, нормализованный относительно контрольного белка GAPDH ($n = 5$)

зации, анализируя на каждом этапе сердца пяти животных. Животных декапитировали под легким эфирным наркозом. Сердце останавливали перфузией охлажденным до 4 °C раствором фосфатно-солевого буфера.

Антитела, использованные в работе. Поликлональные кроличьи анти-р70S6K1 [14], вторичные козы антитела против IgG кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена («Sigma», США), поликлональные анти-GAPDH антитела [15] применяли для контроля идентичности нанесения образцов.

Суммарный лизат кардиомиоцитов получали по разработанной нами ранее схеме [13]. Уровень экспрессии р70S6K1 в лизатах миокардов устанавливали методом иммуноблоттинга (Western-blot-анализ) [10, 14] по протоколу фирмы «Pierce» (США) для ECL-системы. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорд [15].

Получение гистологических препаратов, иммуногистохимические исследования и количественные оценки осуществляли по [17, 18, 19]. Анти-р70S6K1-антитела использовали в рабочем разведении 1:2000; меченные биотином анти-кроличьи антитела («Sigma») – в разведении 1:400. Третьим слоем служил Vectastain ABC Kit («Vector Lab», США) с пероксидазной меткой.

Эксперименты выполняли на микротоме (REichert-JUNG Mod.1140/Autocut), световом микроскопе «Биолам ЛОМО» (РФ) и микроскопе Axio-plan («Carl Zeiss», ФРГ). Морфометрическую оценку проводили не менее чем на 30 произвольно выбранных участках миокарда.

Статистическая обработка результатов. Применяли пакет статистических программ Total-Lab 1.10 «STATISTICA for Windows 5.1». Достоверность разницы показателей оценивали с помо-

щью *t*-критерия Стьюдента и *U*-теста Манна-Уитни. Значение $P < 0,05$ считали критерием достоверности разницы.

Результаты и обсуждение. Ранее показано, что активность р70S6K1 критична при физиологической адаптации к стрессу [9]. На экспериментальной модели инфаркта кроликов обнаружено, что слабая ишемия (preconditioning) может защищать миокард от поражения в результате ишемии-реперфузии, при этом существенную роль в длительной кардиопротекции играет именно р70S6K1 [20]. Установлено также, что одна из мишеней р70S6K1 в нормальном сердце – это проапоптотный белок BAD (принадлежащий к BCL-2-семейству белков), фосфорилируемый киназой р70S6 по остаткам Ser112 и Ser136. Фосфорилированный BAD, как известно, вытесняет из неактивного цитозольного комплекса белок 14-3-3, освобождая антиапоптотные белки BCL-X1 и BCL-2. Нефосфорилированный BAD активно гетеродимеризуется с BCL-X1 или BCL-2 на митохондриальной мембране, способствуя запуску апоптотного сигнального каскада. Белки семейства BCL-2 вследствие посттрансляционных модификаций, клеточной релокализации и взаимодействия с разными белками-партнерами определяют выбор клетки – жить или умереть. Важную роль в динамике конформационных изменений белков этого семейства играет именно р70S6K1 [21].

Исследование особенностей р70S6K1-экспрессии в миокарде при прогрессии ДКМП дало следующие результаты. Из данных иммуноблоттинга (рис. 1) следует, что уровень киназы в тотальном лизате пораженных ДКМП миокардов снижается по сравнению с нормальными сердцами. Это может существенно затрагивать биосинтез белка в работающем кардиомиоците, который в норме очень вы-

Содержание p70S6K1 в миокарде левого желудочка у животных с экспериментальным ДКМП-подобным аутоиммунным поражением миокарда по данным морфометрического анализа ($M \pm m$, усл. ед.)

Группа	14 суток	1 месяц	2 месяца	4 месяца
Контроль ($n = 5$)	0,27±0,05	0,24±0,06	0,29±0,14	0,36±0,14
DKD ($n = 5$)	0,21±0,16	0,23±0,09	0,19±0,05	0,17±0,13

Примечание. Контроль – неиммунизированные животные; DKD – мыши, иммунизированные миозином, выделенным из пораженного ДКМП миокарда.

сок из-за особенностей функционирования сердца. Косвенно это подтверждают и полученные нами ранее результаты [22] о снижении тотального уровня белка в левом желудочке пораженного ДКМП миокарда, что, несомненно, свидетельствует о нарушении работы белоксинтезирующего аппарата и о возможном сдвиге равновесия между биосинтезом и деградацией белков в кардиомиоците [23] при прогрессии сердечной недостаточности.

Но при иммуногистохимическом анализе распределения киназы в динамике развития болезни (на экспериментальной модели ДКМП-подобного аутоиммунного поражения миокарда) видно, что с прогрессией экспериментальной патологии происходит клеточная ре-локализация и/или секреция киназы из кардиомиоцитов в эндомизий. Это снижает как белоксинтезирующую способность кардиомиоцита (характерная черта конечной стадии развития сердечной недостаточности), так и кардиопротекторный потенциал клетки, активируя проапоптотные сигнальные каскады.

В результате иммуногистохимического исследования количественного уровня p70S6K1 в миокарде левого желудочка (рис. 2, см. вклейку) установлено, что во всех экспериментальных группах на 14-е сутки отмечается снижение количественного уровня p70S6K1 (таблица). Наименьшее значение данного параметра отмечено в группе DKD через 2 месяца (в 3,6 раза при сравнении с контролем). В группе DKD выявлено стойкое падение количественного уровня p70S6K1 на протяжении всего эксперимента (таблица).

Незначительное повышение уровня киназы в миокардах животных с экспериментальной патологией иллюстрирует, очевидно, процессы адаптации к апоптотному стрессу, которые, однако, не в состоянии компенсировать нарастающие патологические

изменения в структуре и функциях миокарда. Изменения экспрессии p70S6K1 при прогрессии болезни, как и выявленное нами ранее нарушение экспрессии и клеточной локализации потенциального антиапоптотного белка кардиомиоцитов шаперонина Hsp60, вероятно, отражают процессы повреждения миокарда вследствие развития аутоиммунного процесса, а также индукции апоптоза кардиомиоцитов, в котором критическую роль может выполнять стимуляция проапоптотных белков киназой p70S6K1, активность которой в цитоплазме, как предполагают, может регулироваться и взаимодействием с шаперонином Hsp60.

За последние годы накоплено большое количество данных, свидетельствующих о тесной функциональной взаимосвязи апоптоза и аутоиммунного процесса [24]. Считается, что разрегулированный апоптоз является одной из основных причин индукции аутоиммунного ответа на неправильно уложенные собственные белки, представленные дендритными клетками, утилизирующими апоптотные клетки. Поскольку для кардиомиоцитов характерен так называемый незавершенный апоптоз и большинство клеток сердца сохраняется в состоянии «миоцитов-зомби», то при развитии сердечной недостаточности в сердце увеличивается антигенная нагрузка и, как следствие, прогрессируют аутоиммунные процессы.

Ранее нами изучены особенности экспрессии основного митохондриального шаперона/шаперонина Hsp60 как аутоантигена при ДКМП. Оказалось, что уровень специфических анти-Hsp60-аутоантител был достоверно выше в сыворотках пациентов с ДКМП по сравнению с ишемической кардиомиопатией и здоровыми донорами. Также ранее отмечено повышенное содержание не только специфических аутоантител, но и самого белка Hsp60 у

пациентов с сердечной недостаточностью [11]. Для p70S6K1 при патологиях сердечной недостаточности, типичным представителем острой фазы которой является миокардит, а хронической – ДКМП, таких данных не выявлено.

С помощью биоинформатических методов нами предсказаны наиболее иммуногенные общие детерминанты для шаперонина Hsp60 и p70S6K1. Однако пока неизвестно, каким образом и в каком клеточном компартменте могут взаимодействовать эти два белка при стрессовых условиях и образуют ли они высокомолекулярные гетерокомплексы, что характерно как для киназ, так и для молекулярных шаперонов [25].

В связи с вышеизложенным поиск и идентификация общих белков-партнеров и белков-клиентов для Hsp60 и p70S6K1 в индуцируемых стрессом апоптозных сигнальных путях чрезвычайно важны не только для понимания механизмов развития апоптоза кардиомиоцитов, но и для выяснения особенностей взаимосвязи апоптоза кардиомиоцитов и развития аутоиммунных процессов, усугубляющих прогрессию сердечной недостаточности.

O. T. Rozhko, L. M. Kapustian, V. I. Bobyk, L. O. Savynska, I. O. Tykhonkova, D. V. Ryabenko¹, V. S. Usenko², L. L. Sidorik

Expression and subcellular localization of p70S6 kinase under heart failure

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine
150, Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, Ukraine, 03680

¹NSC «M. D. Strazhesko Institute of Cardiology» MAS of Ukraine
5, Narodnoho opolcheniya Str., Kyiv, Ukraine, 03151

²Pathomorphological Laboratory «BIONTEK»
52A/88, Komsomol'ska Str., Dnipropetrovs'k, Ukraine, 49000

Summary

The PI3K/PDK/Akt/mTOR/p70S6K signaling pathway is primary associated with the activation of insulin receptors and is important for cardiomyocytes survival. p70S6K is a key regulator of the speed and efficiency of protein biosynthesis within the cell. Recently the pro-apoptotic protein BAD has been identified as a new target for p70S6K1. BAD is inactivated in normal cardiomyocytes by p70S6K1 phosphorylation which prevents the cardiomyocytes apoptosis. Aim. To study possible changes in p70S6K1 expression and/or cellular localization at heart failure progression – in DCM-affected human myocardia and murine hearts with experimental DCM-like pathology. Methods. Western-blot analysis and immunohistochemistry. Results. The substantial decrease in p70S6K1 level was observed at the final stage of pathology progression and in the dynamics of DCM pathogenesis as well. For the first time re-

localization of the protein to the connective tissue was shown according to the Western-blot results. Conclusions. The data obtained allow us to understand a possible role of p70S6K1 in the regulation of stress-induced apoptotic signaling in cardiomyocytes.

Keywords: p70S6K1, apoptosis, heart failure, Western-blotting, immunohistochemistry.

O. T. Рожко, Л. М. Капустян, В. І. Бобик, Л. О. Савінська, І. О. Тихонкова, Д. В. Рябенко, В. С. Усенко, Л. Л. Сидорик

Дослідження експресії і клітинної локалізації кінрази p70S6 за розвитку серцевої недостатності

Резюме

Один із важливих антиапоптозних шляхів, що підтримує життєздатність кардіоміоцитів, первинно асоційований з активацією інсулінових рецепторів, які запускають протеїнкіназний каскад PI3K/PDK/Akt/mTOR/p70S6K, остання ланка якого (p70S6K) є ключовим регулятором швидкості і ефективності біосинтезу білків. Показано, що одна з мішеней p70S6K1 – проапоптозний білок BAD (член BCL-2-родини білків), який інактивований у нормальному кардіоміоциті фосфорилуванням за залишками серину кіназою p70S6K1. Мета даної роботи полягала у вивченні можливих змін експресії та/або клітинної локалізації p70S6K1 в ураженому дилатаційною кардіоміопатією (ДКМП) міокарді людини і в міокардах мишей з експериментальною ДКМП-подібною патологією. Методи. Імуноблотинг та імуногістохімія. Результати. Виявлено зниження кількісного рівня p70S6K1 у міокарді як на кінцевій стадії прогресування серцевої недостатності, так і в динаміці патогенезу ДКМП. Вперше показано релокалізацію p70S6K1 до ендомізю (сполучна тканина міокарда), що узгоджується з даними імуноблотингу. Висновки. Отримані результати допоможуть у розумінні можливої регуляторної ролі p70S6K1 в індукованих стресом апоптозних сигнальних шляхах кардіоміоцитів за серцевої недостатності.

Ключові слова: p70S6K1, апоптоз, серцева недостатність, імуноблотинг, імуногістохімія.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Maron B. J., Towbin J. A., Thiene G., Antzelevitch C., Corrado D., Arnett D., Moss A. J., Seidman C. E., Young J. B. An American Heart Association Scientific Statement From the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention // *Circulation.* – 2006. – **113**, N 14. – P. 1807–1816.
2. Hein S., Schaper J. Pathogenesis of dilated cardiomyopathy and heart failure: insights from cell morphology and biology // *Curr. Opin. Cardiol.* – 1996. – **11**, N 3. – P. 293–301.
3. Narula J., Haider N., Virmani R., DiSalvo T. G., Kolodgie F. D., Hajjar R. J., Schmidt U., Semigran M. J., Dec G. W.,

- Khaw B. A. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure // *N. Engl. J. Med.*—1996.—**335**, N 16.—P. 1182–1189.
4. Dorn G. W., 2nd. Apoptotic and non-apoptotic programmed cardiomyocyte death in ventricular remodeling // *Cardiovasc. Res.*—2009.—**81**, N 3.—P. 465–473.
 5. Masri C., Chandrashekar Y. Apoptosis: a potentially reversible, meta-stable state of the heart // *Heart Fail. Rev.*—2008.—**13**, N 2.—P. 175–179.
 6. Edinger A. L., Thompson C. B. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy // *Curr. Opin. Cell Biol.*—2004.—**16**, N 6.—P. 663–669.
 7. Reeve J. L., Duffy A. M., O'Brien T., Samali A. Don't lose heart – therapeutic value of apoptosis prevention in the treatment of cardiovascular disease // *J. Cell. Mol. Med.*—2005.—**9**, N 3.—P. 609–622. Baines C. P., Molkentin J. D. STRESS signaling pathways that modulate cardiac myocyte apoptosis // *J. Mol. Cell. Cardiol.*—2005.—**38**, N 1.—P. 47–62.
 8. Valovka T. I., Gout I. T., Filonenko V. V. Effect of point mutations of regulatory aminoacids residues and N- and C-terminal deletions of S6K1 i S6K2 on kinase activity // *Biopolym. cell.*—2005.—**2**, N 1.—P. 42–47.
 9. Kozma S. C., Thomas G. Regulation of cell size in growth, development and human disease: PI3K, PKB and S6K // *Bioessays.*—2002.—**24**, N 1.—P. 65–71.
 10. Kapustian L. M., Rozhko O. T., Bobyk V. I., Kroupskaya I. V., Riabenko D. V., Khozhaenko Yu. S., Gurtovyy V. A., Usenko V. S., Sidorik L. L. Changes in the content of molecular chaperone Hsp60 in heart tissue at dilated cardiomyopathy // *Biopolym. Cell.*—2008.—**24**, N 3.—P. 238–245.
 11. Kim S. C., Stice J. P., Chen L., Jung J. S., Gupta S., Wang Y., Baumgarten G., Trial J., Knowlton A. A. Extracellular heat shock protein 60, cardiac myocytes, and apoptosis // *Circ. Res.*—2009.—**105**, N 12.—P. 1186–1195.
 12. Ryabenko D. V., Sidorik L. L., Bobyk V. I., Sergienko O. V., Fedorkova O. M., Trunina I. V., Matsuka G. Kh. Morphological features of autoimmune damage of myocardium caused by various human myocardial antigens: comparative experimental examination // *Ukr. Reumatol. Zhur.*—2000.—N 2.—P. 55–60.
 13. Bobyk V. I., Ryabenko D. V., Sergienko O. V., Trunina I. V., Fedorkova O. M., Morozova L. M., Sidorik L. L. Experimental model of autoimmune myosin-induced myocardium injury // *Biopolym. Cell.*—2007.—**23**, N 2.—P. 115–121.
 14. Matsiota P., Druet P., Dosquet P., Guilbert B., Avrameas S. Natural autoantibodies in systemic lupus erythematosus // *Clin. Exp. Immunol.*—1987.—**69**, N 1.—P. 79–88.
 15. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.*—1976.—**72**, N 1–2.—P. 248–254.
 16. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.*—1970.—**227**, N 5259.—P. 680–685.
 17. Lie J. T., Holley K. E., Kampa W. R., Titus J. L. New histochemical method for morphologic diagnosis of early stages of myocardial ischemia // *Mayo. Clin. Proc.*—1971.—**46**, N 5.—P. 319–327.
 18. Cellarius Yu. G., Semenova L. A., Nepomniaschij L. M. Ochagovye povrezhdeniya i infarkt miokarda: svetovaya, poliari-zatsionnaya i elektronnaya mikroskopiya: Metod. razrabotka po patolog. anatomii.—Novosibirsk, 1980.—72 s.
 19. Avtandilov G. G., Yabluchanskiy N. I., Gubenko V. G. Sistem naya stereometriya v izuchenii patologicheskogo protsessa.—M.: Meditsina, 1981.—191 s.
 20. Kis A., Yellon D. M., Baxter G. F. Second window of protection following myocardial preconditioning: an essential role for PI3 kinase and p70S6 kinase // *J. Mol. Cell Cardiol.*—2003.—**35**, N 9.—P. 1063–1071.
 21. Harada H., Andersen J. S., Mann M., Terada N., Korsmeyer S. J. p70S6 kinase signals cell survival as well as growth, inactivating the pro-apoptotic molecule BAD // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*—2001.—**98**, N 17.—P. 9666–9670.
 22. Bobik V. I., Veberov A. V., Ryabenko D. V., Dubrovskaya G. V., Rodnin N. V., Sidorik L. L. The purification of the main tissue-specific antigens from the normal and effected by dilatative cardiomyopathy human heart // *Biopolym. Cell.*—1993.—**9**, N 6.—P. 63–66.
 23. Zolk O., Schenke C., Sarikas A. The ubiquitin-proteasome system: focus on the heart // *Cardiovasc. Res.*—2006.—**70**, N 3.—P. 410–421.
 24. Clemens M. J., van Venrooij W. J., van de Putte L. B. Apoptosis and Autoimmunity // *Cell Death Differ.*—2000.—**7**, N 1.—P. 131–133.
 25. Kapustian L. M., Rozhko O. T., Tykhonkova I. O., Sidorik L. L. Interaction between Hsp60 and Bax in normal human myocardium and in myocardium affected by dilated cardiomyopathy // *Biopolym. Cell.*—2009.—**25**, N 2.—P. 142–145.
 26. Soti C., Pal C., Papp B., Csermely P. Molecular chaperons as regulatory elements of cellular networks // *Curr. Opin. Cell Biol.*—2005.—**17**, N 2.—P. 210–215.

UDC 616.127-007.64:612.07

Received 19.08.10

Figures to article by O. T. Rozhko et al.

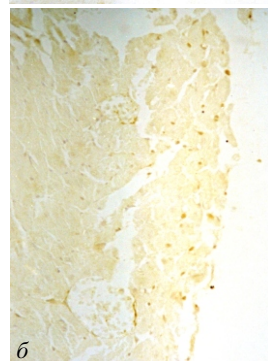


Рис. 2. Клеточная локализация p70S6K1 на срезах левого желудочка нормального (а) и пораженного ДКМП (б) миокардов человека, определенная методом иммуногистохимии с использованием моноклональных антител против p70S6K1. Ядра окрашены гематоксилином. Окуляр: 2,5 ;

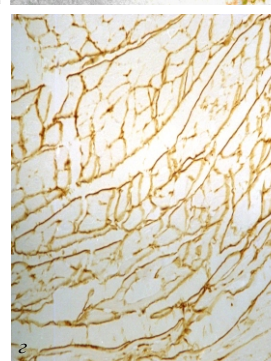
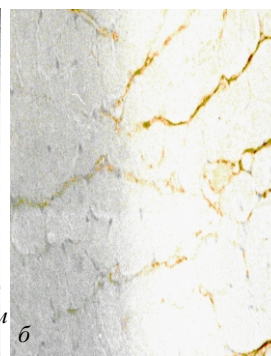
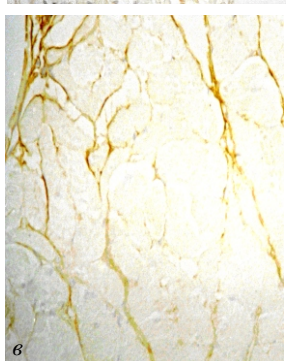
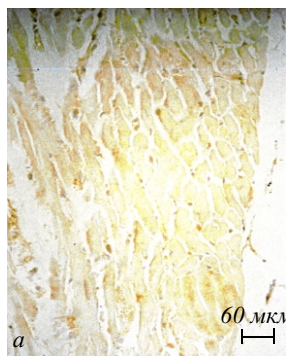


Рис. 3. Клеточная локализация p70S6K1 на срезах левого желудочка миокарда мышей с экспериментальным аутоиммунным поражением миокарда, подобным ДКМП человека, определенная методом иммуногистохимии: а – контрольные мыши (коричневым цветом окрашены зоны локализации антигена преимущественно в цитоплазме); б – миокард мыши из группы DKD через 1, 2 (б) и 4 месяца (с) после индукции экспериментальной патологии (коричневым цветом окрашены зоны локализации антигена преимущественно в эндомизии – стромальные клетки). Иммуногистохимическое окрашивание с использованием поликлональных антител против p70S6K1; черточка = 60 мкм