

Т.Ю. Король, О.П. Костюк, П.Г. Костюк

Вплив білка β -амілоїду на кальцієві канали плазматичної мембрани культивованих нейронів гіпокампа

Аномальне накопичення білка β -амілоїду в нейронах головного мозку відіграє центральну роль у патогенезі хвороби Альцгеймера. Одним з суттєвих патогенетичних факторів при цьому у порушення кальцієвого гомеостазу в клітинах центральної нервової системи. В нашій роботі встановлено, що 24-годинна інкубація нейронів гіпокампа щурів з білком β -амілоїдом зумовлювала більш ніж подвійне підвищення базової концентрації кальцію порівняно з контролем ($153,4 \pm 11,5$ і $71,7$ нмоль/л $\pm 5,4$ нмоль/л відповідно; $P < 0,05$). За допомогою методу фіксації потенціалу в конфігурації „ціла клітина” показано збільшення щільності кальцієвих струмів порівняно з контрольними значеннями на 70 % ($P < 0,05$, $n=12$) за умови додавання β -амілоїду до культурального середовища. Отримані результати розширюють розуміння порушення молекулярних механізмів кальцієвого гомеостазу нейронів при хворобі Альцгеймера, зокрема, механізмів підвищення базової концентрації кальцію завдяки збільшенню його входу через потенціалкервані кальцієві канали плазматичної мембрани.

Ключові слова: β -амілоїд, хвороба Альцгеймера, культура нейронів гіпокампа, потенціалкервані кальцієві канали, кальцієвий гомеостаз.

ВСТУП

Акумуляція білка β -амілоїду в нейронах головного мозку відіграє центральну роль у патогенезі хвороби Альцгеймера [2, 9, 21]. Накопичення цього протеїну в мозку у вигляді сенільних бляшок є визначальною ознакою при встановленні діагнозу цієї хвороби, і цей феномен тісно пов'язаний з порушеннями когнітивної діяльності [19]. β -Амілоїд являє собою пептид, який продукується при розщепленні доволі великого мембранного глікопротеїну – білка-попередника амілоїду. Точна функція останнього невідома, але найбільш імовірним є те, що він бере безпосередню участь у синаптогенезі [2, 15]. В організмі людини в умовах як норми, так і патології була виявлена велика кількість різновидів β -амілоїдів, котрі різняться довжиною амінокислотного ланцюга (від 39 до 43 амінокислотних

залишків). Експериментально було показано, що при хворобі Альцгеймера збільшується концентрація порівняно довгих молекул амілоїдів, а саме молекул із 42 амінокислотними залишками. Було встановлено, що фібрилярний β -амілоїд, наявний у надлишкових кількостях, може проявляти в мозку нейротоксичні властивості. Його акумуляція викликає продукування великого числа вільних радикалів, збільшення кількості реактивних форм кисню (РФК), підвищення фосфорилування τ -білка, пошкодження дендритного дерева нервових клітин і, врешті-решт, індукцію апоптозу та некрозу [12, 16].

Відомо, що кальцій має істотне значення для функціонування клітини взагалі і нейронів зокрема. Іони кальцію відіграють важливу роль в опосередкуванні таких процесів, як екзоцитоз і, відповідно, синаптична передача, транскрипція генів, синап-

© Т. Ю. Король, О. П. Костюк, П. Г. Костюк

тична пластичність [1]. Концентрація кальцію всередині клітини змінюється завдяки функціонуванню не тільки мембранних каналів, але й внутрішньоклітинних кальцій-регулювальних структур (ендоплазматичного ретикулума, мітохондрій) та ензимів (кальційзалежних АТФаз). Було встановлено, що β -амілоїд може порушувати кальцієвий гомеостаз через збільшення вивільнення кальцію з внутрішньоклітинних депо ендоплазматичного ретикулума [4, 13], а також через канали, сформовані самим β -амілоїдом [11].

Основними відділами мозку, в яких відбуваються морфологічні та функціональні зміни при хворобі Альцгеймера, є гіпокамп, медіобазальні відділи лобних частин мозку, а також амігдаллярні ядра та медіальні відділи скроневи частин кори [8, 20]. Тому визначення впливу β -амілоїду на кальцієвий гомеостаз у клітинах гіпокампа слід вважати особливо доцільним і цікавим.

Мета нашої роботи – прослідкувати зміни у функціонуванні потенціалкероаних каналів плазматичної мембрани культивованих нейронів гіпокампа щурів за умов 24-годинної інкубації з β -амілоїдом.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили на культивованих нейронах гіпокампа самців щурів лінії Вістар. Для отримання експериментальної моделі хвороби Альцгеймера концентрований розчин β -амілоїду додавали до культурального середовища в кінцевій концентрації 2 мкмоль/л за 24 год до експериментів для вимірювання внутрішньоклітинної концентрації кальцію ($[Ca^{2+}]_i$) та реєстрації струмів у нейронах культури гіпокампа.

Для одержання клітин для культивування новонароджених щурів декапітували та виділяли гіпокампи. Потім гіпокампи переносили в розчин, який містив 0,05 % пронази Е (“Serva”, США). Ферментативну

обробку проводили протягом 18 хв при 32°C. Для отримання ізольованих клітин шматочки гіпокампа переносили в розчин, який готували додаванням 1 мл розчину для виділення до 1 мл поживного середовища, та диспергували за допомогою Пастєрївських піпеток з діаметрами кінчиків, що послїдовно зменшувались (остання піпетка мала діаметр кінчика 250 мкм). Після 2 год інкубації при 36 °C в атмосфері, збагаченї CO₂ (5 %) в кожну чашку Петрі додавали 2 мл поживного середовища, до складу якого входило 90 % мінімального середовища Ігла (MEM, “Sigma”, США), бікарбонатний буфер (2,2 г/л NaHCO₃), 10 % кїнської сиворотки (“Gibco”, США), 10 мкг/мл інсуліну та антибіотики: натрієва сіль бензилпеніцелїну – 50 од/мл, і сульфат стрептомїцину 50 мкг/мл. Клітини брали в експеримент на 12-ту добу культивування. Для пригнїчення проліферації гліальних клітин *in vitro* культуру обробляли фторурацилом (1 мкмоль/л; “Sigma”, США). Розчин для виділення гіпокампа мав такий склад: NaCl – 140, KCl – 5, CaCl₂ – 0,2, HEPES – 10, глюкоза – 10; рН доводили до значення 7,35 за допомогою NaOH, антибіотики: натрієва сіль бензилпеніцелїну – 50 од/мл та сульфат стрептомїцину – 50 мкг/мл.

Мембранні іонні струми в нейронах культури гіпокампа реєстрували за допомогою методу patch-clamp у конфїгурації „цїла клітина”. Скляні мікропіпетки виготовлювали за допомогою електронного пулеру (“Sutter”, США) з капїлярів, виготовлених з боросилїкатного скла (“WPI”, США), зовнїшній діаметр яких становив 1,5 мм. Опір мікропіпеток при заповненні стандартним „внутрішньоклітинним” розчином був 9–14 МОм. Реєстрацію струмів і генерацію командних імпульсів було забезпечено комп’ютерною системою з використанням програмного забезпечення „pClamp 6” („Axon”, США).

Для перфузїї клітин, які знаходилися в чашках Петрі, застосовували базовий

розчин такого складу (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 2, MgCl₂ – 2, CaCl₂ – 2, HEPES – 10, глюкоза – 10; рН доводили до значення 7,35 за допомогою NaOH.

Для ізоляції струмів лише через потенціалкеровані кальцієві канали зовнішньоклітинний розчин був такого складу (ммоль/л): хлорид холіну – 130, TEA-Cl – 25, CaCl₂ – 2, HEPES – 10, глюкоза – 10, MgCl₂ – 2; рН доводили до значення 7,35 за допомогою КОН.

Розчин, яким заповнювали скляні мікропіпетки, мав такий склад (ммоль/л): CsCl – 105, HEPES – 10, EGTA – 10, MgATФ – 2, CaCl₂ – 1, MgCl₂ – 2; рН доводили до значення 7,3 за допомогою CsOH.

Для кальційметрії використовували такі розчини: базовий, який містив (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 2, MgCl₂ – 2, CaCl₂ – 2, HEPES – 10, глюкоза – 10; рН доводили до значення 7,35 за допомогою NaOH; цей розчин застосовували як перфузуючий в експериментальній камері, а також для прикладання досліджуваних речовин; гіперкалієвий розчин містив (ммоль/л): NaCl – 82, KCl – 50, MgCl₂ – 2, CaCl₂ – 2, HEPES – 10, глюкоза – 10; рН доводили до значення 7,35 за допомогою NaOH.

Для визначення концентрації кальцію в нейронах культури гіпокампа використовували мембранопроникну форму флюоресцентного барвника fura-2 (fura-2/AM). Для введення кальційчутливого зонда клітини культури гіпокампа поміщали в базовий розчин з fura-2/AM-ацетоксиметилестером у концентрації 5 мкмоль/л, розчинений у диметилсульфоксиді, з додаванням детергенту плуронік F-127 (0,02 %). Забарвлення проводили 30 хв при 34 °С. Після забарвлення клітини відмивали і додатково залишали в темряві протягом 30 хв для повної деестерефікації зонда fura-2/AM. Концентрацію вільного кальцію в цитоплазмі клітин гіпокампа розраховували за формулою, яку запропонували Grynkiewicz і співавт. [7]. Отримані результати

обробляли за допомогою програм “Clampfit 9.0” (“Axon Instruments, Inc.”, США), “Microsoft Excel 2002” (“Microsoft”, США) та “OriginPro 7.0” (“OriginLab Corporation”, США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ми показали порушення функціонування, зумовлені наявністю β_{1-42} -амілоїду, потенціалкерованих кальцієвих каналів плазматичної мембрани, а також зміни у цитоплазматичній концентрації кальцію.

Вимірювання базального вмісту $[Ca^{2+}]_i$ в культивованих клітинах гіпокампа після 24-годинної інкубації їх з β -амілоїдом показало, що в стані спокою він був достовірно підвищеним. Середній вміст $[Ca^{2+}]_i$ в клітинах в контролі становив 71,7 нмоль/л \pm 5,4 нмоль/л, а після інкубації з β -амілоїдом він був приблизно вдвічі більшим (153,4 нмоль/л \pm 11,5 нмоль/л; $P < 0,05$).

З експериментальних даних відомо, що 48-годинна інкубація кортикальних нейронів і нейронів культури гіпокампа [18], з β_{1-40} -амілоїдом та β_{25-35} -амілоїдом призводила до підвищення базального рівня кальцію, причому в нейронах гіпокампа порівняно з кортикальними нейронами вміст кальцію був вищим. Однією з умов підвищення $[Ca^{2+}]_i$ при наявності β -амілоїду, можливо, міг бути вхід Ca^{2+} з позаклітинного середовища через канали, сформовані самим β -амілоїдом. Адже в експериментах *in vitro* було встановлено, що β_{1-40} -амілоїд може формувати кальційпроникні пори в ліпідних бішарах, які мали здатність пропускати іони кальцію [3]. Також Kawahara та Kuroda [11] показали, що β_{1-40} -амілоїд формує катіонселективні канали в мембрані GT1-7 клітинної лінії з провідністю 50–500 пСм. Активність цих каналів пригнічувалася додаванням 250 мкм цинку в базовий розчин, в той же час о-фенантролін (хелатор цинку) відновлював каналну активність. Подібні результати були одержані на

кортикальних нейронах щурів при використанні β_{25-35} -амілоїду за допомогою методу patch-clamp у конфігурації цілої клітини. β_{25-35} -Амілоїд в концентрації понад 10 нмоль/л призводив до виникнення повільного вхідного струму [6]. Таким чином, ми вважаємо, що однією з причин підвищення базальної концентрації кальцію в нейронах культури гіпокампа щурів після преінкубації з β_{1-42} -амілоїдом може бути кальцієвий струм через канали, сформовані самим β_{1-42} -амілоїдом. Білок β -амілоїд може перебувати в розчинній та агрегованій формах. Вважається, що агрегований нерозчинний амілоїд є проапоптичним і може спричинювати клітинну дегенерацію через порушення кальцієвого гомеостазу. Було представлено низку доказів того, що β -амілоїд може зумовлювати нейротоксичні ефекти, впливаючи на іонні канали плазматичної мембрани.

Після інкубації клітин культури гіпокампа з β -амілоїдом вольт-амперні характеристики кальцієвих каналів зазнали змін (рис. 1). З рисунку видно, що після інкубації з β_{1-42} -амілоїдом амплітуда кальцієвих струмів збільшувалася на 70 %. Усереднене максимальне значення густини струмів переважно через високопорогові каль-

цієві канали в контрольних умовах становить $-5,0$ пА/пФ $0,7$ пА/пФ ($n=6$) при мембранному потенціалі близько -5 мВ; а після впливу β -амілоїду густина струму переважно через високопорогові кальцієві канали становила $-8,5$ пА/пФ $1,0$ пА/пФ ($P < 0,05$, $n=12$) при мембранному потенціалі близько -15 мВ.

Таким чином, інкубація нейронів культури гіпокампа з β -амілоїдом призводила до збільшення амплітуди струму через потенціалкеровані кальцієві канали і до зміщення вольт-амперної характеристики кальцієвих каналів у бік негативних значень мембранного потенціалу.

Криву стаціонарної активації кальцієвих каналів нейронів культури гіпокампа реєстрували в контрольних умовах та після інкубації культури з β -амілоїдом. Слід відмітити, що витримування нейронів гіпокампа з β -амілоїдом призводило до зсуву кривої стаціонарної активації ліворуч поздовж осі мембранних потенціалів у порівнянні з контролем (рис. 2).

Якщо в контрольних умовах потенціал половинної активації був $-14,7$ мВ $1,9$ мВ ($n=5$), то після інкубації з β_{1-42} -амілоїдом він становив $-26,4$ мВ $\pm 2,3$ мВ ($P < 0,01$, $n = 10$).

Таким чином, після впливу β -амілоїду

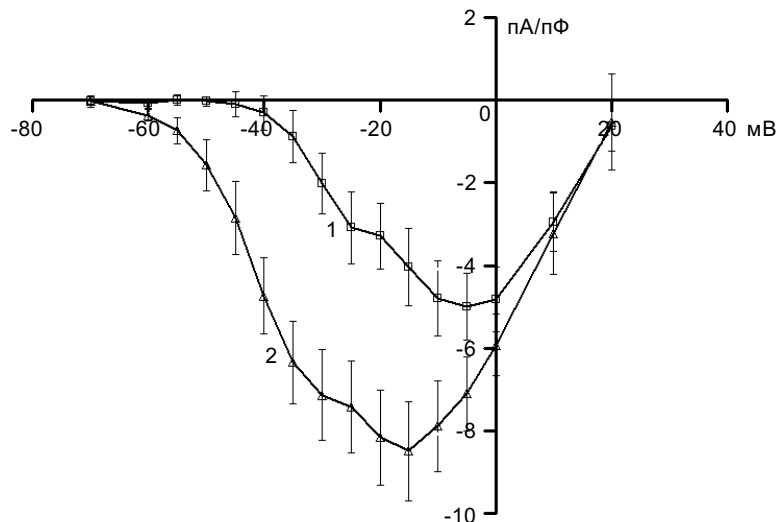


Рис. 1. Усереднені вольт-амперні характеристики густини струмів у клітинах культури гіпокампа в контрольних умовах (1) ($n=6$) та після інкубації з β -амілоїдом (2), ($n=12$)

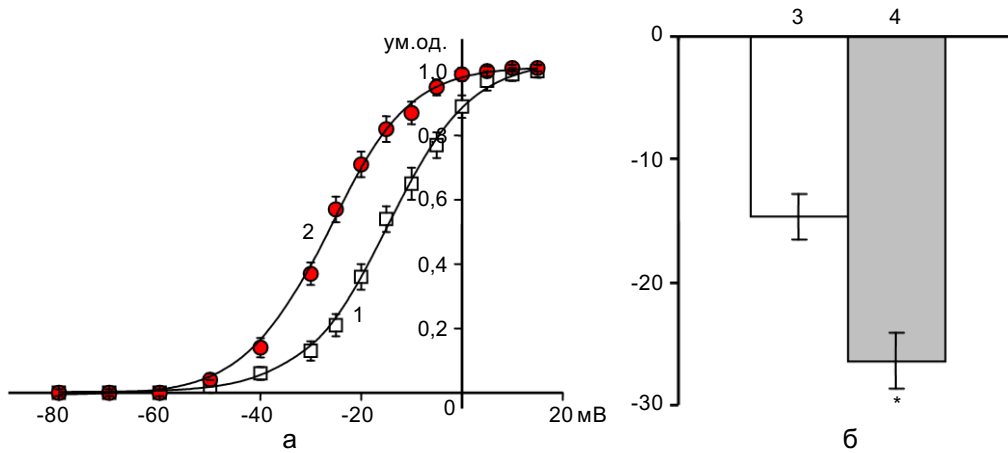


Рис. 2. Криві стаціонарної активації потенціалкерованих кальцевих каналів нейронів культури гіпокампа в контрольних умовах (1) (n=5) та після інкубації з β -амілоїдом (2) (n=10): а – вигляд кривих стаціонарної активації, б – потенціал половинної активації кальцевих каналів нейронів культури гіпокампа в контрольних умовах (3) (n=5) та після інкубації з β -амілоїдом (4) (*P<0,01, n=10)

крива стаціонарної активації зсунулася в гіперполяризаційному напрямку порівняно з контролем приблизно на 13 мВ. Нахил кривої залишився практично незмінним.

У контролі потенціал половинної інактивації кальцевих каналів становив $-42,3 \text{ мВ} \pm 3,0 \text{ мВ}$ (n=5; рис. 3). Після впливу β -амілоїду цей показник майже не змінився ($-44,2 \text{ мВ} \pm 3,2 \text{ мВ}$; n=10). Таким чином інкубація клітин культури гіпокампа з β -амілоїдом не вплинула на показники стаціонарної інактивації.

Наші результати збігаються з експериментальними даними декількох дослідницьких груп, які за допомогою методу фіксації потенціалу продемонстрували здатність амілоїду збільшувати кальцевий струм у нейронах [17], а також на клітинній лінії N1E, 24-годинна інкубація якої з β_{1-42} -амілоїдом призвела до збільшення активності кальцевих каналів [5]. Подібне спостерігалось і в експериментах на центральних гранулярних і кортикальних нейронах, де їх попередньо інкубували з β_{25-35} -амілоїдом. Було висунуто припущення, що в цьому збільшенні задіяні потенціалкеровані кальцеві канали L- та N-типу. Лі та співавт. [14] показали, що β -амілоїд також підсилює бар'єрний струм через

кальцеві канали нейронів гіпокампа, але не призводить до зсуву кривої вольт-амперної характеристики та кінетики активації на відміну від наших результатів. На культурі нейронів спінальних гангліїв було показано, що β_{25-35} -амілоїд збільшує мембранний кальцевий струм [10], причому високопороговий кальцевий струм після інкубації зазнавав більших змін, ніж низькопороговий.

Таким чином, у нашій роботі отримано підтвердження деструктивної ролі надлишку β -амілоїду, котрий є характерним для

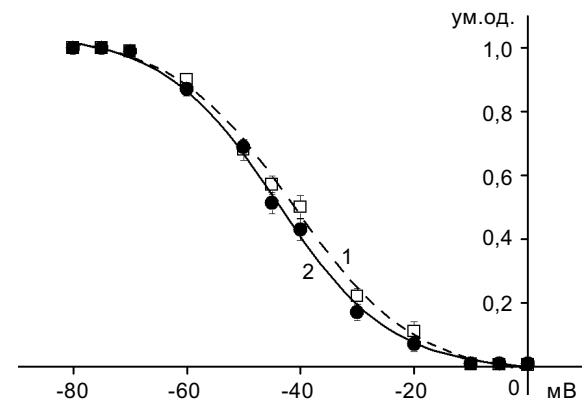


Рис. 3. Криві стаціонарної інактивації потенціалкерованих кальцевих каналів нейронів культури гіпокампа в контрольних умовах (1) (n = 5) та після інкубації з β -амілоїдом (2), (n = 10)

хвороби Альцгеймера, щодо клітин гіпокампа. Аналіз механізмів такої патогенної ролі β -амілоїду вказує на їх складну природу, що очевидно пов'язано з розладами кальційсигнальної функції в цих клітинах. Такі порушення виражаються як у змінах активності потенціалкерованих кальцієвих каналів плазматичної мембрани, так, вірогідно, і процесів, котрі забезпечують виведення кальцію з клітини.

Т. Ю. Король, Е. П. Костюк, П. Г. Костюк

ВЛИЯНИЕ БЕЛКА β -АМИЛОИДА НА Кальциевые каналы ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ НЕЙРОНОВ ГИПОКАМПА

Аномальное накопление белка β -амилоида в нейронах головного мозга играет центральную роль в патогенезе болезни Альцгеймера. Одним из существенных патогенетических факторов при этом есть нарушения кальциевого гомеостаза в клетках центральной нервной системы. В данной работе установлено, что 24-часовая инкубация нейронов культуры гиппокампа с белком β -амилоидом обуславливала более чем двукратное повышение базовой концентрации кальция в сравнении с контролем ($153,4 \pm 11,5$ и $71,7 \text{ нмоль/л} \pm 5,4 \text{ нмоль/л}$ соответственно; $P < 0,05$). С помощью метода фиксации потенциала в конфигурации „целая клетка” показано увеличение плотности кальциевых токов сравнительно с контрольными значениями на 70 % ($P < 0,05$, $n=12$) при условии добавления β -амилоида к культуральной среде. Полученные результаты расширяют понимание нарушения молекулярных механизмов кальциевого гомеостаза нейронов при болезни Альцгеймера, в частности, механизмов повышения базовой концентрации кальция посредством увеличения его входа через потенциалуправляемые кальциевые каналы плазматической мембраны.

Ключевые слова: β -амилоид, болезнь Альцгеймера, культура нейронов гиппокампа, потенциалуправляемые кальциевые каналы, кальциевый гомеостаз.

T. Yu. Korol, E. P. Kostyuk, P. G. Kostyuk

INFLUENCE OF β -AMYLOID PEPTIDE ON PLASMALEMMAL CALCIUM CHANNELS OF HIPPOCAMPAL CELL CULTURE

Anomalous accumulation of β -amyloid peptide in cerebral neurons plays central role in pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). One of the essential pathogenetic factors at AD is disturbance of calcium homeostasis in neurons of central nervous system. It was determined in this work that 24-hour

incubation of hippocampal cell culture with β -amyloid peptide caused more than twofold elevation of basal calcium concentration relatively to control value ($153,4 \pm 11,5$ and $71,7 \pm 5,4 \text{ nM}$ respectively; $P < 0,05$, $n=7$). Using whole cell patch-clamp technique it was detected that calcium current density in β -amyloid-treated cells was 70 % higher ($P < 0,05$, $n=12$) than in control ones. Obtained data broaden our comprehension of disturbance of molecular mechanisms of calcium homeostasis in neurons in AD, particularly mechanisms of elevation of basal calcium concentration by means of enhancement of calcium influx through plasmalemmal voltage-gated calcium channels.

Key words: β -amyloid, Alzheimer's disease, hippocampal cell culture, voltage-gated calcium channels, calcium homeostasis.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Костюк П.Г., Зима В.Л., Магура І.С. та ін. Біофізика. – К.: Обереги, 2001. – 544 с.
2. Alzheimer's disease: advances in etiology, pathogenesis and therapeutics / Edited by K. Iqbal, S.S. Sisodia, B. Winblad. – Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2001. – 841 p.
3. Arispe N., Rojas E., Pollard H.B. Alzheimer disease amyloid в protein forms calcium channels in bilayer membranes: blockade by tromethamine and aluminium // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 1993. – **90**. – P. 567–571.
4. Cowburn R.F., Wiehager B., Sundstrom E. β -Amyloid peptides enhance binding of the calium mobilising second messengers, inisutol(1,4,5)trisphosphate and inositol-(1,3,4,5)tetrakisphosphate to their receptor sites in rat cortical membranes // Neurosci. Lett. – 1995. – **191**. – P. 31–34.
5. Davidson R.M., Shajenko L., Donta T.S. Amyloid β -peptide potentiates a nimodipine-sensitive L-type barium conductance in N1E-115 neuroblastoma cells // Brain Res. – 1994. – **643**. – P. 324–327.
6. Furukawa K., Abe Y., Akaike N. Amyloid в protein-induced irreversible current in rat cortical neurons // Neuroreport. – 1994. – **5**. – P. 2016–2018.
7. Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R.Y. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties // J. Biol. Chem. – 1985. – **260**. – P. 3440–3450.
8. Hardy J., Selkoe D.J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics // Science. – 2002. – **297**. – P. 353–356.
9. Hardy L. A hundred years of Alzheimer's disease research // Neuron. – 2006. – **52**. – P. 3–13.
10. He L.M., Chen L.Y., Lou X.L. et al. Evaluation of β -amyloid peptide 25–35 on calcium homeostasis in cultured rat dorsal root ganglion neurons // Brain Res. – 2002. – **939**. – P. 65–75.
11. Kawahara M., Kuroda Y. Molecular mechanism of

- neurodegeneration induced by Alzheimer's beta-amyloid protein: channel formation and disruption of calcium homeostasis // Brain Res. Bull. – 2000. – **53**, № 4. – P. 389–397.
12. LaFerla F.M. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease // Nature. – 2002. – **3**. – P. 861–872.
13. Leissring M.A., Paul B.A., Parker I. et al. Alzheimer's presenilin-1 mutation potentiates inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated calcium signaling in *Xenopus* oocytes // J. Neurochem. – 1999. – **72**, №. **3**. – P. 1061–1068.
14. Li W.Y., Butler J.P., Hale J.E et al. Suppression of an amyloid β peptide-mediated calcium channels response by a secreted β -amyloid precursor protein // Neuroscience. – 2000. – **95**. – P. 1–4.
15. Mattson M. Cellular actions of β -amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives // Physiol. Rev. – 1997. – **77**. – P. 1081 – 1132.
16. Pierrot N., Ghisidal P., Caumont A., Octave J. Intra-neuronal amyloid- β 1-42 production triggered by sustained increase of cytosolic calcium concentration induces neuronal death // J. Neurochem. – 2003. – **88**. – P. 1140–1150.
17. Ramsden M., Henderson Z., Pearsson H.A. Modulation of Ca^{2+} channel currents in primary cultures of rat cortical neurons by amyloid β protein (1-40) is dependent on solubility status // Brain Res. – 2002. – **956**. – P. 254–261.
18. Resende R., Pereira C., Agostinho P. et al. Susceptibility of hippocampal neurons to $\text{A}\beta$ peptide toxicity is associates with perturbation of Ca^{2+} homeostasis // Ibid. – 2007. – **1143**. – P. 11–12.
19. Rossini P.M., Del Percio C., Pasqualetti P. et al. Conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease is predicted by sources and coherence of brain electroencephalography rhythms // Neuroscience. – 2006. – **147**. – P. 793–803.
20. Webster S., Bradt B., Rogers J., Cooper N. Aggregation state-dependent activation of the classical complement pathway by the amyloid β peptide // J. Neurochem. – 1997. – **69** – P. 388–398.
21. Zerovnik E. Amyloid-fibril formation: proposed mechanisms and relevance to conformational disease // Eur. J. Biochem. – 2002. – **269**. – P. 3362–3371.

Ин-т фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: koroltanya@gmail.com; mtanyushka@ukr.net

Матеріал надійшов до редакції 06.04.2009