

© П.В.Золотухин, А.А.Александрова, А.Д.Довжик, Ю.А.Лебедева, О.Н.Кузьмина, Л.В.Гутникова, 2013
УДК 616.61-02:539.2

*П.В. Золотухин¹, А.А. Александрова¹, А.Д. Довжик², Ю.А. Лебедева²,
О.Н. Кузьмина², Л.В. Гутникова¹*

ИНТЕРАКТОМИКА – АНАЛИТИЧЕСКИЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСНОВ НЕФРОПАТИЙ

*P.V. Zolotukhin, A.A. Aleksandrova, A.D. Dovzhik, U.A. Lebedeva,
O.N. Kuzminova, L.V. Gutnikova*

INTERACTOMICS: A NOVEL ANALYTICAL INSTRUMENT FOR STUDYING THE MOLECULAR BASIS OF NEPHROPATHIES

¹НИИ биологии, ²факультет биологических наук Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия

РЕФЕРАТ

Сегодня появилась возможность изучать клеточные процессы с помощью нового инструмента – интерактомики – области биоинформатики и системной биологии, идея которой заключается в объединении данных молекулярных взаимодействий на уровнях от метаболома и до регуляции эпигенома в единые схемы. Объединение в одной аналитической системе свойств высокоинформативных маркерных клеточных и характеристик интерактомики, как технического воплощения системной биологии, позволило получить очень мощный инструмент для подробного изучения функционирования клеток различных тканей, в том числе и при развитии патологических процессов. С точки зрения нефрологии, интерактомика кажется многообещающим подходом для изучения молекулярных основ нефропатий и нарушений продукции почками эритропоэтина.

Ключевые слова: интерактом, сигнальные каскады, контроль экспрессии, молекулярная физиология клетки, нефропатии.

ABSTRACT

Interactomics emerges today to become a novel tool for molecular and cellular investigations. Interactomics is an area of bioinformatics and systems biology that relies on the fundamental idea of the necessity to bring the cellular levels (from metabolome and up to epigenome) into single analytical dimension. Such an analytical system may become a powerful tool for the precise investigations of the subtle molecular mechanisms underlying the function of various tissues in both normal and pathologic states. In the aspect of nephrology, interactomics is a highly promising approach to treat a wide range of nephropathies and kidney-related erythropoietin secretion disorders.

Key words: interactome, signaling pathway, expression control, molecular physiology of the cell, nephropathy.

Окислительный статус

Окислительный статус – новая категориальная единица молекулярной биологии, описывающая всю сложность взаимоотношений между компонентами про- и антиоксидантных систем (от клеточного и до организменного уровня) [1]. Теория окислительного статуса призвана устранить ограничения понятия окислительного стресса, рассматривающего только один терминальный вариант нарушения регуляторных каскадов как в прооксидантной, так и в антиоксидантной системах.

Если еще недавно активно велся поиск «центрального», «ключевого» продукта свободных

радикалов в клетке, а сама продукция активных форм кислорода и азота понималась как «необходимое зло», то ряд новейших экспериментальных данных позволяют взглянуть на функционирование систем окислительного статуса клетки совершенно иначе [2, 3]. На сегодняшний день показано, что для всех компартментов клетки характерна продукция свободных радикалов. Вклад отдельных компартментов клетки в продукцию активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) может быть различным в зависимости от изучаемого типа свободных радикалов, типа клетки и микро- и макросреды. При этом наблюдается принципиально характерное для клетки сопряжение «невыгодного и ценного», в данном случае – деструктивных свойств химически активных

Золотухин П.В. 344090, г. Ростов-на-Дону, пр-т Стачки, д. 194/1. Южный федеральный университет. Факс: (863) 299-56-61, тел.: (863) 297-50-70, E-mail: p.zolotukhin@icloud.com

соединений с функцией сигнализации. Накоплен большой массив экспериментальных данных о сигнальном влиянии прооксидантных звеньев окислительного статуса (в том числе низкомолекулярных прооксидантов) даже на высшие клеточные регуляторные каскады, включая системы сигналов митоген-активируемых протеин-киназ (МАРК), фосфоинозитид-3-киназы/RAC-серин/треониновых киназ (PI3K/Akt), кальциевого каскада. Показано, что митоген-активируемые протеин-киназы (МАРК) p38 (по крайней мере, часть киназ p38) могут быть активированы целым рядом стресс-воздействий, в том числе, прооксидантным [4, 5]. Активные формы кислорода и/или азота, активируя протеин-киназу C (PKC) [6], RAC-серин/треониновые киназы Akt [7, 8], митоген-активируемые протеин-киназы Jnk [4], регулируют клеточный кальциевый гомеостаз [4] и, таким образом, компоненты окислительного статуса делают весомый вклад в регуляцию высших сигнальных каскадов клетки, включая каскады МАРК, PI3K/Akt, Ca^{2+} . В связи с этим такие клеточные и организменные процессы, как захват глюкозы, глюконеогенез, биогенез митохондрий, апоптоз, пролиферация, ответ на неправильный фолдинг белков (UPR), кальциевая сигнализация, ангиогенез, миграция трофобласта, острая фаза воспаления, не только смежны с окислительным статусом и имеют с ним общие регуляторы, но и в разной степени, прямо или косвенно, зависят от него [5, 9–18].

В связи с тем, что для многих составляющих окислительного статуса продукция или утилизация АФК и АФА – не первичная функция, системы окислительного статуса оказываются глубоко интегрированными в жизнедеятельность клетки в самых разных ее аспектах, как компартментных, так и функциональных. Видимо, это обуславливает чрезвычайно широкий спектр патологий, ассоциированных с нарушениями окислительного статуса разных типов.

В литературе появляется все больше информации о важнейшей роли или ассоциации нарушений окислительного статуса при развитии широкого спектра деструктивных процессов и патологий [1, 19–38]:

- активация мутагенеза;
- активация канцерогенеза;
- артериальная гипертензия;
- различные клинические проявления атеросклероза/артериосклероза;
- ишемически-реперфузионное травмирование;
- острые воспалительные процессы;
- хронические воспалительные заболевания;

- аутоиммунные заболевания (включая ревматоидный артрит, системную красную волчанку и псориатический артрит);

- заболевания ЦНС (конечная форма амиотрофического латерального склероза, глутатионпероксидазозависимая юношеская эпилепсия, болезни Паркинсона и Альцгеймера);

- болезни обмена веществ (сахарный диабет, ожирение);

- старение;

- осложненные варианты течения беременности и нарушения функции репродуктивной системы (вплоть до бесплодия).

Окислительный стресс, как один из вариантов окислительного статуса, пристально изучался в аспекте развития почечных заболеваний, таких как гломерулонефрит, заболевания, вызванные применением нефротоксических препаратов, хронической болезни почек [39]. Типы и причины смещений окислительного статуса при данных патологиях различны. Так, хроническая болезнь почек связана с митохондриальной дисфункцией, которая приводит к дисбалансу между АФК и естественными антиоксидантами, которые в норме устраняют избыток свободных радикалов. Гипертоническая нефропатия и протеинурия непосредственно связаны с соль-индуцированным окислительным стрессом [40, 41]. Ряд патологических состояний, включая фармакологическое токсическое повреждение почек, обусловлены редокс-циклическими реакциями хинонов, сопровождаемых продукцией супероксиданиона [42, 43].

В силу того, что спектр типов химических процессов, катализируемых компонентами окислительного статуса, невелик, система окислительного статуса относительно небольшая, но в то же время она оказывается вовлеченной в развитие чрезвычайно широкого спектра очень разных по клиническому проявлению и (или) локализации патологий. По-видимому, это связано с компартментными особенностями тканей, а также специфичностью экспрессии компонентов каскадов окислительного статуса разных уровней. В связи с этим изучение молекулярных основ функционирования систем окислительного статуса почек – важнейшая задача для понимания патогенеза нефропатий.

Интерактомика как способ системного описания и анализа регуляторных механизмов

Работа всех клеточных систем зависит как от прямых взаимодействий между клеточными компонентами (от низкомолекулярных соединений и до макромолекул), так и от взаимного контроля

экспрессии компонент на разных уровнях – от контроля эпигеномного состояния данного локуса и до модуляции укладки и модификации белка. Первый тип взаимодействий – между зрелыми факторами клеточных систем можно назвать горизонтальным, так как он не описывает их экспрессионную подчиненность, тогда как контроль экспрессии одного фактора на каком-либо уровне со стороны другого фактора можно обозначить вертикальным взаимодействием данных факторов.

Одним из глобальных достижений системной биологии является существование и мощное развитие таких баз горизонтальных взаимодействий и их фенотипического проявления, как Gene Ontology [44] и KEGG [18]. Тем не менее, до недавнего времени не существовало баз или систем, которые детально описывали бы вертикальный уровень взаимодействия. К такого рода базам могли бы быть отнесены базы сайтов связывания транскрипционных вариантов, например JASPAR [45]. Однако экспериментальные данные показывают, что редко предсказанные сайты связывания транскрипционных факторов являются функционально активными.

В 1999 году С. Sanches и соавт. [46] предложили системно-биологическую методологическую парадигму интерактомики – области биоинформатики и системной биологии, которая бы объединила базы данных молекулярных взаимодействий и генных сетей, что позволило бы функционально связать все ранее отдельно изучавшиеся уровни клеточных компонент – протеом, геном и транскриптом. Сегодня накоплен необходимый и достаточный массив данных для включения в эту же систему метаболома и эпигенома, а в недалеком будущем – и конформационного уровня регуляции клеточных процессов. Сложность интерактомики обуславливает тот факт, что на настоящий момент развитие качественных, а тем более прикладных, интерактомных систем происходит в отдельных лабораториях, хотя уже сегодня такие коллективы становятся трансконтинентальными.

Интерактомика окислительного статуса как инструмент изучения молекулярных основ нормальной и патологической молекулярной физиологии почек

Объединяя в одной аналитической системе свойства окислительного статуса и характеристик интерактомики как технической реализации системной биологии, можно получить очень мощный инструмент для подробного изучения функционирования клеток различных тканей, в том

числе и при развитии патологических процессов. Учитывая, что многие компоненты окислительного статуса являются секретлируемыми соединениями, использование интерактомной информации открывает перспективы изучения состояния регуляторных каскадов различных органов и тканей малоинвазивными методами. Для этой цели могут быть отобраны и секретлируемые тканеспецифичные почечные маркеры. С другой стороны – использование данных о горизонтальных и вертикальных функциональных связях несекретлирующихся факторов окислительного статуса позволяет, хоть и инвазивно, детально изучать молекулярные основы патогенеза широкого спектра заболеваний. В таком случае могут быть использованы как тканеспецифичные, так и общеклеточные компоненты окислительного статуса, поскольку интерактомный подход предполагает анализ активации смежных сигнальных систем, а не индивидуальных «концентрационных» отличий факторов. Для разработки соответствующих подходов и выбора адекватной технологии (анализ РНК или белков) при этом требуется знание о белковой и РНК-экспрессии в конкретной ткани компонент окислительного статуса. Сегодня эти данные в определенной мере доступны: например, в базе-агрегаторе GeneCards РНК-экспрессия, например, охарактеризована всеми доступными средствами – чиповыми методами, SAGE и RNAseq.

Ранее нами была создана универсальная (общеклеточная) интерактомная схема окислительного статуса [47]. Используя данную аналитическую систему, можно оценить, при каких типах нефропатий, с каким проявлением наблюдаются нарушения функционирования тех или иных систем окислительного статуса. На настоящий момент в интерактивной схеме описаны взаимодействия 340 факторов, 300 из которых имеют макромолекулярную природу. Исходя из положения каждого из факторов (и их функциональных групп) в сети вертикальных взаимодействий, иерархически компоненты схемы окислительного статуса разделены на следующие уровни:

- факторы межклеточной сигнализации;
- высшие, общеклеточные регуляторы (в том числе компоненты сигнальных каскадов MAPK, PI3K/Akt, Wnt);
- внутрисистемные факторы контроля транскрипционных факторов;
- транскрипционные факторы;
- непосредственно ферменты и белки-эффекторы про- и антиоксидантной систем;
- низкомолекулярные соединения.

Как было сказано выше, интерактно-аналитический подход молекулярной физиологии клетки основан на сравнительной оценке состояния смежных сигнальных каскадов. Ниже представлены примеры подхода к анализу информации о горизонтальных и вертикальных функциональных связях компонент основных сигнальных каскадов окислительного статуса при некоторых нефропатиях.

Среди факторов внеклеточной сигнализации контроля окислительного статуса применительно к нефрологии описаны следующие системы: ангиотензина II; эндотелиального фактора роста; инсулина; интерлейкинов и их рецепторов (высокоспецифичны для разных типов клеток в почках); тромбоцитарных факторов роста PDGFA и PDGFB; инсулин-подобного фактора роста 1; трансформирующих факторов роста; эстрогенов. Среди них чрезвычайно важное положение занимает ангиотензиновая система, модулирующая деятельность 13 сигнальных каскадов окислительного статуса (в тех клетках, которые экспрессируют соответствующие рецепторы). Наибольшее влияние в окислительном статусе ангиотензин II оказывает через рецептор первого типа (AGTR1) на сигнализацию PKC (горизонтально) и, в том числе, через PKC, функционирования комплекса NADPH-оксидаз (вертикально и горизонтально), рис. 1.

Система ангиотензин II-AGTR1 косвенно активирует экспрессию HIF1A, который, в свою очередь, активирует экспрессию эритропоэтина [48]. Посредством AGTR1 и (или) AGTR2 [49] ангиотензин II также индуцирует экспрессию эндотелиальной NO-синтазы (NOS3), фенотипическое

проявление нарушений транскрипции которой описано ниже. Методологически интерактная информация о влиянии ангиотензина II на специфические для почек компоненты окислительного статуса позволяет сделать предположение о значительном влиянии данного фактора в эмбриогенезе человека (с учетом эмбриональной экспрессии рецепторов ангиотензина II в почках), и эта идея находит подтверждение в недавних публикациях и может далее быть использована для детального анализа молекулярной патофизиологии врожденных нефропатий [50–52].

Следующий интерактивный иерархический уровень – высший уровень клеточных регуляторов делает значимый вклад в регуляцию окислительного статуса и при этом зависит от него. Этот уровень является общим для всех тканей человека. Однако индивидуальные особенности соотношений экспрессии, специфичные для тканей или физиологического статуса организма, могут делать вклад в функционирование нижестоящих систем. Применение этого уровня для интерактного анализа проиллюстрируем на примере модуляции окислительного статуса со стороны сигнального каскада PI3K/Akt (рис. 2).

AKT1 – один из факторов каскада PI3K/Akt – является активатором работы NOS3, экспрессирующейся в почках на уровне белка. С точки зрения патофизиологии, в экспериментах на мышях (которые в определенной степени могут быть экстраполированы на человека) показано, что недостаточная экспрессия (или активность) NOS3 эндотелиоцитов почек является фактором, ассоциированным с поражением подоцитов [53].

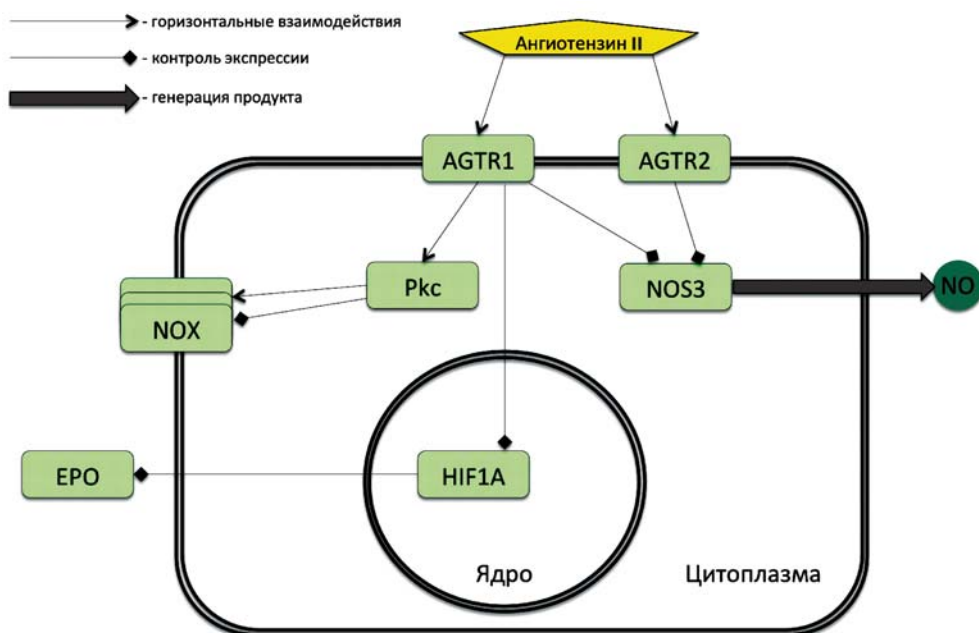


Рис. 1. Часть сигнальных влияний ангиотензина II на окислительный статус. AGTR(1/2) – рецепторы ангиотензина 2; EPO – эритропоэтин; HIF1A – гипоксия-индуцируемый фактор 1-альфа; NO – моноксид азота; NOS3 – эндотелиальная NO-синтаза; NOX – комплекс NADPH-оксидаз.

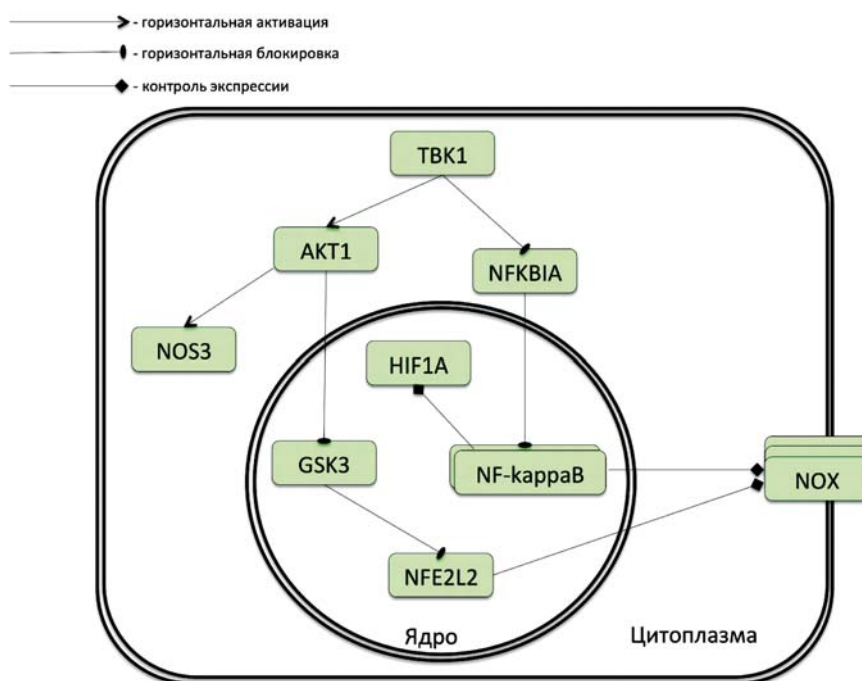


Рис. 2. Некоторые эффекты сигнального каскада PI3K/Akt на работу компонент про- и антиоксидантной систем клетки. AKT1 – RAC-серин/треониновая киназа 1; GSK3 – гликоген-синтаза-киназа 3-бета; HIF1A – гипоксия-индуцируемый фактор 1 альфа; NFE2L2 – ядерный фактор эритроид 2 родственный фактор 2; NF-каппаВ – ядерный фактор каппа-В; NFKBIA – альфа-ингибитор NF-каппаВ; NOS3 – эндотелиальная NO-синтаза; NOX – комплекс NADPH-оксидаз (включая NOX4); TBK1 – серин/треониновая протеинкиназа TBK1.

По-видимому, именно этот патофизиологический механизм обуславливает то, что у человека генетические варианты NOS3 взаимосвязаны с развитием патологии почек при метаболическом синдроме [54]. АКТ1-зависимая регуляция активности NOS3 (отслеживаемой биохимическими методами) и экспрессии факторов, подчиненных одновременно активности GSK3 и транскрипционной активности NFE2L2, оказывается смежной с контролем системы NF- κ B, обеспечивающей экспрессию HIF1A. TBK1 – киназа, регулирующая активность АКТ1 – также регулирует деградацию I- κ B-фактора NFKBIA. Таким образом, анализируя смежные прямые и АКТ1-зависимые эффекты TBK1, можно оценить, в какой именно системе и под действием каких сигналов происходят изменения при нефропатиях.

Эффекты разных смещений сигналов в этих системах будут отличны. Помимо уже охарактеризованного проявления недостаточной активности NOS3, в литературе уже имеются данные об ассоциации функциональности NFKBIA и развития нефропатии при диабете второго типа [55]. Нарушения работы собственно киназы TBK1 отражаются в манифестации эндотелий-зависимой геморрагической лихорадки с почечным синдромом с вовлечением дисфункции системы NF- κ B [56]. Таким образом, даже высшие клеточные регуляторы, такие как TBK1, AKT1 и другие изоформы Akt, неспецифичные для почек, специфическим образом вовлечены в развитие целого спектра нефропатий, причем тип нефропатии характеризует

нижестоящую систему, в которой происходят нарушения.

Наряду с уже упомянутыми факторами NFE2L2 и NF-κарраВ, HIF1A, такие транскрипционные факторы, как NFE2L1, NFE2L3, PPARGC1A и AP1, составляют ядро транскрипционного уровня контроля антиоксидантной системы и целевых генераторов свободных радикалов (NADPH-оксидаз). Большое количество горизонтальных и вертикальных взаимоотношений между самими этими факторами, а также появившаяся возможность оценки паттерна экспрессии микроРНК (например, получена информация об отсутствии экспрессии в клетках 293 MIR200A – одного из важнейших модуляторов системы NFE2L2 [57]) делают данную систему очень полезной и высокоинформативной для изучения чрезвычайно широкого спектра нефропатий.

Например, экспрессия HIF1A контролируется NF-карраВ, функциональная активность которого зависит от AP1 и NFE2L-факторов. При этом белок р65 (RELA), один из компонентов транскрипционного фактора-комплекса NF-карраВ, является ингибитором работы NFE2L-факторов и, в определенной степени, компонент белка-активатора 1 (AP1).

Интересно, что именно для почек характерна важнейшая роль очень необычного в смысле контроля экспрессии члена семейства NADPH-оксидаз – NOX4. NOX4 считается почечным «сенсором кислорода», т.е. тем фактором, который, генерируя свободные радикалы кислорода, регу-

лирует активность и стабильность HIF1A. NOX4, что нехарактерно для NADPH-оксидаз, зависит от NFE2L2 [58]. Исходя из этого, при вовлечении нарушений данной системы в развитие патологии почек принципиально возможно оценить, какого рода сигналы из какого каскада приводят к наблюдаемой дисфункции данной системы. В то же время, другой механизм регуляции работы системы HIF1A является зависимым от PI3K, через посредство Akt (пока неизвестно, каких изоформ) [59].

Эффекторный и метаболомный уровень окислительного статуса – это вспомогательные информационные системы, которые в основном используются для оценки состояния вышестоящих систем. В отдельных случаях, как, например, при фармакологическом токсическом повреждении почек, индивидуальные факторы могут практически полностью обуславливать развитие патологий. Например, дисфункции NADPH-хинон-дегидрогеназы 1 (NQO1), практически единственного обезвреживающего редокс-циклирующие хиноны фермента, могут лежать в основе патогенеза фармакологического повреждения почек. В норме в подоцитах обнаруживаются достаточно высокие уровни экспрессии NQO1, и сигнальные нарушения экспрессии данного фактора либо патологические варианты его структуры являются мощным рисковым фактором токсического хинового повреждения почек [42, 43].

Отметим, что применение интерактивной информации не ограничивается планированием будущих экспериментов, направленных на изучение конкретных молекулярных патологических процессов. Приведенные нами примеры подхода к использованию интерактомики окислительного статуса также иллюстрируют, что с помощью соответствующих аналитических схем значительно упрощается анализ разрозненных данных узконаправленных исследований с малым количеством изучаемых факторов. Получаемая информация позволяет, в том числе, достаточно точно предсказывать, с какого рода дисфункцией исследователи имели дело.

Таким образом, собранная к настоящему времени экспериментальная информация, мощное развитие биоинформатики и междисциплинарных исследований сделали возможным появление нового поколения аналитических систем – интерактивных схем. Окислительный статус, изучаемый (хоть и в ограниченных аспектах) уже продолжительное время, является не только одной из клеточных систем, наиболее часто вовлекаемых в патогенез социально-значимых заболеваний, но и очень удобной индикаторной системой, которая по-

зволяет эффективно отслеживать нарушения в сопряженных метаболических процессах или функциях органелл. Разработка интерактивных схем окислительного статуса, которая ведется отдельными лабораториями, по нашему мнению, заметно ускорит изучение молекулярных основ клеточной дисфункции во всех областях биомедицины.

Источники финансирования

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы (соглашение 14.132.21.1315), а также при поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых и ведущих научных школ (проект 194.2012.4).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2010; 25 (3): 287-299
2. Bayir H, Kagan VE. Bench-to-bedside review: Mitochondrial injury, oxidative stress and apoptosis – there is nothing more practical than a good theory. *Crit Care* 2008; (12): 206 – 211
3. Freinbichler W, Colivicchi MA, Stefanini C et al. Highly reactive oxygen species: detection, formation, and possible functions. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68 (12): 2067-2079
4. Ushio-Fukai M, Alexander RW, Akers M, Griendling KK. p38 Mitogen-activated protein kinase is a critical component of the redox-sensitive signaling pathways activated by angiotensin II. Role in vascular smooth muscle cell hypertrophy. *J Biol Chem* 1998; 273 (24): 15022-15029
5. Uniprot (база данных) – электронный ресурс: www.uniprot.org
6. Jaiswal A.K. Nrf2 signaling in coordinated activation of antioxidant gene expression. *Free Radic Biol Med* 2004; 36 (10): 1199-1207
7. Suliman HB, Carraway MS, Tatro LG, Piantadosi CA. A new activating role for CO in cardiac mitochondrial biogenesis. *J Cell Sci* 2007; 120: 299-308
8. Zhang Q, Pi J, Woods CG, Andersen ME. A systems biology perspective on Nrf2-mediated antioxidant response. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010; 244 (1): 84-97
9. Muto A, Tashiro S, Tsuchiya H et al. Activation of Maf/AP-1 repressor Bach2 by oxidative stress promotes apoptosis and its interaction with promyelocytic leukemia nuclear bodies. *J Biol Chem* 2002; 277 (23): 20724-20733
10. Scarpulla RC. Nuclear control of respiratory gene expression in mammalian cells. *J Cell Biochem* 2006; 97 (4): 673-683
11. Klinge CM. Estrogenic control of mitochondrial function and biogenesis. *J Cell Biochem* 2008; 105 (6): 1342-1351
12. Kortylewski M, Feld F, Krüger KD et al. Akt modulates STAT3-mediated gene expression through a FKHR (FOXO1a)-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2003; 278 (7): 5242-5249
13. Gao L, Mann GE. Vascular NAD(P)H oxidase activation in diabetes: a double-edged sword in redox signaling. *Cardiovasc Res* 2009; 82 (1): 9-20
14. Patel N, Kalra VK. Placenta growth factor-induced early growth response 1 (Egr-1) regulates hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) in endothelial cells. *J Biol Chem* 2010; 285 (27): 20570-20579
15. Pendyala S, Natarajan V. Redox regulation of Nox proteins. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 174 (3): 265-271
16. Shao J, Arany Z. Regulation of hypoxia-inducible genes by PGC-1 alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30 (4): 662-666

17. Sonderegger S, Haslinger P, Sabri A et al. Wingless (Wnt)-3A induces trophoblast migration and matrix metalloproteinase-2 secretion through canonical Wnt signaling and protein kinase B/AKT activation. *Endocrinology* 2010; 151 (1): 211-220
18. KEGG (база данных) – электронный ресурс: www.kegg.jp
19. Reuter S, Gupta S, Chaturvedi M, Aggarwal B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med* 2010; 49 (11): 1603–1616
20. McCance DR, Holmes VA, Maresh MJ et al. Vitamins C and E for prevention of pre-eclampsia in women with type 1 diabetes (DAPIT): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2010; 376 (9737): 259-266
21. Poljsak B, Milisav I. The neglected significance of «antioxidative stress». *Oxid Med Cell Longev* 2012; 2012: 1-12
22. Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, Matsuoka T. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm* 2010; 2010: 1-11
23. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud* 2010; 7 (1): 15–25
24. Touyz MR. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension* 2004; 44: 248-252
25. Kishi T, Hirooka Y. Oxidative stress in the brain causes hypertension via sympathoexcitation. *Front Physiol* 2012; 3: 1-8
26. Sugamura K, Keaney Jr J. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med* 2011; 51 (5): 978–992
27. Lee R, Margaritis M, Channon KM, Antoniadou C. Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations. *Curr Med Chem* 2012; 19: 2504-2520
28. Cullinan SB, Diehl JA. Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK/Nrf2 signaling pathway. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38 (3): 317-332
29. Chose O, Sansilvestri-Morel P, Badier-Commander C et al. Distinct role of nox1, nox2, and p47phox in unstimulated versus angiotensin II-induced NADPH oxidase activity in human venous smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 51 (2): 131-139
30. Chandel NS. Mitochondrial regulation of oxygen sensing. *Adv Exp Med Biol* 2010; 661: 339-354
31. Hahn S, Rusterholz C, Hösl I, Lapaire O. Cell-free nucleic acids as potential markers for preeclampsia. *Placenta* 2011; 32 (Suppl): 17-20
32. Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni S. What an andrologist/urologist should know about free radicals and why. *Urology* 2006; 67: 2–8
33. Athayde KS, Cocuzza M, Agarwal A et al. Development of normal reference values for seminal reactive oxygen species and their correlation with leukocytes and semen parameters in a fertile population. *J Androl* 2007; 28: 613–620
34. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 2008; 14 (3): 243–258
35. Zini A, Al-Hathal N. Antioxidant therapy in male infertility: fact or fiction? *Asian J Androl* 2011; 13 (3): 374–381
36. Lombardo F, Sansone A, Romanelli F et al. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: an overview. *Asian J Androl* 2011; 13 (5): 690-697
37. Fujii J, Tsunoda S. Redox regulation of fertilisation and the spermatogenic process. *Asian J Androl* 2011; 13 (3): 420–423
38. Коваленко КА, Сеина СО, Нгуен Тхи Чанг, Машкина ЕВ, Шкурят ТП. Исследование частот полиморфных аллелей генов ангиотензиногена и интегрин β -3 в трех возрастных группах жителей Ростова-на-Дону. *Валеология* 2010; (3): 49-54 [Kovalenko KA, Seina SO, Nguen Thi Chang, Mashkina EV, Shkurat TP. Issledovanie chastot polimorfnykh allelej genov angiotenzinogena i integrina β -3 v trekh vozrastnykh gruppakh zhitelej Rostova-na-Donu. *Valeologija* 2010; (3): 49-54]
39. Тугушева ФА, Зубина ИМ. Оксидативный стресс и его участие в неиммунных механизмах прогрессирования хронической болезни почек. *Нефрология* 2009; 13 (3): 42-48 [Tugusheva FA, Zubina IM. Oksidativnyj stress i ego uchastie v neimmunnykh mehanizmah progressirovaniya hronicheskoy bolezni почек. *Nefrologija* 2009; 13 (3): 42-48]
40. Nagase M, Matsui H, Shibata S. Salt-induced nephropathy in obese spontaneously hypertensive rats via paradoxical activation of the mineralocorticoid receptor: role of oxidative stress. *Hypertension* 2007; 50: 877–883
41. Varagic J, Ahmad S, Brosnihan KB. Salt-induced renal injury in spontaneously hypertensive rats: effects of nebivolol. *Am J Nephrol* 2010; 32: 557–566
42. Tamura Y, Tanabe K, Kitagawa W. Nicorandil, a K_{ATP} channel opener, alleviates chronic renal injury by targeting podocytes and macrophages. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 303: F339–F349
43. Marshall CB, Pippin JW, Krofft RD. Puromycin aminonucleoside induces oxidant-dependent DNA damage in podocytes in vitro and in vivo. *Kidney Int* 2006; 70: 1962–1973
44. Gene Ontology (база данных) – электронный ресурс: www.geneontology.org
45. JASPAR (база данных) – электронный ресурс: www.jaspar.genereg.net
46. Sanchez C, Lachaize C, Janody F et al. Grasping at molecular interactions and genetic networks in Drosophila melanogaster using FlyNets, an Internet database. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 89-94
47. Zolotukhin P, Kozlova Y, Dovzhik A et al. Oxidative status interactome map: towards novel approaches in experiment planning, data analysis, diagnostics and therapy. *Mol BioSyst* 2013; [Epub ahead of print]: DOI: 10.1039/C3MB70096H
48. Stiehl DP, Jelkmann W, Wenger RH, Hellwig-Bürgel T. Normoxic induction of the hypoxia-inducible factor 1 α by insulin and interleukin-1 β involves the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *FEBS Lett* 2002; 512 (1-3): 157-162
49. Presta I, Tassone EJ, Andreozzi F et al. Angiotensin II type 1 receptor, but no type 2 receptor, interferes with the insulin-induced nitric oxide production in HUVECs. *Atherosclerosis* 2011; 219 (2): 463-467
50. Chevalier RL. Mechanisms of fetal and neonatal renal impairment by pharmacologic inhibition of angiotensin. *Curr Med Chem* 2012; 19 (27): 4572-4580
51. Crowley SD, Coffman TM. Recent advances involving the renin-angiotensin system. *Exp Cell Res* 2012; 318 (9): 1049-1056
52. Sungkaworn T, Jaitipinitum C, Chaiyakunvat P, Chatsudthipong W. Bivalent angiotensin II suppresses oxidative stress-induced hyper-responsiveness of angiotensin II receptor type I. *Eur J Med Chem* 2013; 14 (63): 629-634
53. Yuen DA, Stead BE, Zhang Y et al. eNOS deficiency predisposes podocytes to injury in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23 (11): 1810-1823
54. Saginova EA, Galliamov MG, Balatskii AV et al. Remodeling of the cardiovascular system and development of chronic kidney disease in patients with metabolic syndrome and obesity: role of eNOS, subunit p22-phox of NADPH-oxidase and MTHFR genes. *Ter Arkh* 2012; 84 (6): 26-31
55. Romzova M, Hohenadel D, Kolostova K et al. NF κ B and its inhibitor I κ B in relation to type 2 diabetes and its microvascular and atherosclerotic complications. *Hum Immunol* 2006; 67 (9): 706-713
56. Alff PJ, Sen N, Gorbunova E et al. The NY-1 hantavirus Gn cytoplasmic tail coprecipitates TRAF3 and inhibits cellular interferon responses by disrupting TBK1-TRAF3 complex formation. *J Virol* 2008; 82 (18): 9115-9122
57. Eades G, Yang M, Yao Y et al. MiR-200a regulates Nrf2 activation by targeting Keap1 mRNA in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2011; 286 (47): 40725-40733
58. Geiszt M, Leto TL. The Nox family of NAD(P)H oxidases: host defense and beyond. *J Biol Chem* 2004; 279 (50): 51715-51718
59. Zhou J, Schmid T, Frank R, Brüne B. PI3K/Akt is required for heat shock proteins to protect hypoxia-inducible factor 1 α from pVHL-independent degradation. *J Biol Chem* 2004; 279 (14): 13506-13513

Поступила в редакцию 21.06.2013 г.

Принята в печать 04.09.2013 г.