

С.В. Гончаров, В.Є. Досенко, М.В. Хайтович, О.О. Мойбенко

## Алельний поліморфізм генів, що кодують субодиниці протеасоми, та ймовірність розвитку артеріальної гіпертензії у підлітків

*Представлены результаты определения частоты аллельного полиморфизма генов, кодирующих большие мультифункциональные протеазы LMP2 (Arg<sub>60</sub>→His-полиморфизм), LMP7 (Lys<sub>145</sub>→Gln-полиморфизм) и α-6 субъединицу коровой части протеасомы, у больных с первичной артериальной гипертензией (АГ). Установлено, что частота аллельных вариантов гена LMP2 была следующей: Arg/Arg – 63,9 %, Arg/His – 28,6 %, His/His – 7,5 % в контрольной группе, а у больных АГ – Arg/Arg – 42,5 %, Arg/His – 46,4 %, His/His – 11,1 % (P=0,001). Аллельные варианты гена PSMA6 распределялись следующим образом: C/C – 69,8 %, C/G – 29,7 %, G/G – 0,5 % (в контрольной группе) и 76,2, 21,1, 2,7 % (P=0,047) у детей с АГ. При этом распределение аллельных вариантов гена LMP7 не отличалось у практически здоровых детей и больных АГ (Lys/Lys – 97,3 %, Lys/Gln – 2,7 %, Gln/Gln – 0 и 92,4, 7,6, 0 % соответственно, P=0,16). Полученные результаты свидетельствуют о значении полиморфизма генов, кодирующих субъединицы протеасомы, в формировании генетической склонности к АГ.*

### ВСТУП

Протеасомний протеоліз – є універсальною внутрішньоклітинною системою деградації пошкоджених і модифікованих білків, що бере участь у регуляції практично всіх елементів функціонування клітини, починаючи від її поділу, диференціації, виконання специфічних функцій та апоптозу [1, 10–12]. Зважаючи на таке велике значення протеасомного розчеплення білків, можна передбачити роль порушень у цьому процесі в патогенезі різних захворювань, у тому числі артеріальної гіпертензії (АГ). Ще в 1998 р. Такаока та співавт. [27] встановили антигіпертензивний ефект інгібітора протеасоми (N-benzyloxycarbonyl-Ile-Glu(O-t-Bu)-Ala-leucinal) при дезоксикортикостерон-ацетат-сольовій моделі АГ у щурів. Було показано, що підвищення артеріального тиску у тварин збігалось з підвищенням активності та вмісту протеасоми в артеріальній стінці, а призначення PSI

протягом чотирьох тижнів експерименту попереджувало зростання артеріального тиску та вказані зміни у протеасомному протеолізі. У подальших дослідженнях цих учених встановлено, що у реалізації антигіпертензивної дії інгібітора протеасоми має значення зниження вмісту потужного вазоконстриктора ендотеліну-1 та пригнічення проліферації гладеньком'язових клітин в аорті [21, 26]. Сучасними клінічними дослідженнями було доведено, що вміст та активність протеасоми в атеросклеротичних бляшках коронарних судин жінок, що отримували в період після менопаузи гормонозамісну терапію значно менше, ніж у тих, що не отримували цього лікування, що збігалось зі стабілізацією артеріального тиску у перших [19].

З іншого боку, відомо, що гени, кодуючі субодиниці протеасоми, мають певні алельні варіанти, що, можливо, впливають на функціональні властивості мультикаталі-

© С.В. Гончаров, В.Є. Досенко, М.В. Хайтович, О.О. Мойбенко

тичного протеїназного комплексу. Зокрема встановлені заміни поодиноких нуклеотидів (SNP) у генах імупротеасоми – LMP2 та LMP7, ( $\text{Arg}_{60} \rightarrow \text{His}$  та  $\text{Lys}_{145} \rightarrow \text{Gln}$  відповідно) [13, 18, 30]. Тривають пошуки асоціації між генетичними варіантами цих генів і ймовірністю розвитку певних захворювань [8, 14, 17, 20, 24]. Зокрема встановлено, що менш розповсюджений алельний варіант гена LMP2 значно частіше зустрічається у хворих на деякі аутоімунні захворювання [8, 17]. Нами раніше показано, що зазначені SNP цих генів не асоціюються з ризиком розвитку гострого коронарного синдрому, хоча впливають на каталітичну активність протеасоми [3].

Японськими дослідниками встановлено наявність цілої низки SNP у гені, що кодує  $\alpha$ -6-субодиницю протеасоми (PSMA6), а один з них (найбільш розповсюджений у популяції) –  $\text{C}^{-8} \rightarrow \text{G}$  – позитивно впливає на транскрипційну активність цього гена [22, 28]. За даними Ozaki та співавт. [22], вказаний поліморфізм має суттєвий ефект на ризик розвитку інфаркту міокарда, проте інші дослідники заперечують такий зв'язок [28]. Експериментів, присвячених впливу всіх вищеперелічених SNP, у патогенезі АГ не проводилося, що і зумовило мету нашого дослідження – визначити частоту алельних варіантів генів LMP2 та LMP7, PSMA6 у дітей з первинною АГ.

## МЕТОДИКА

Матеріалом дослідження була венозна кров або букальний епітелій 147 підлітків, хворих на АГ, що проходили лікування у відділенні ревмокардіології Дитячої клінічної лікарні №6 м.Києва. Венозну кров забирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 ммоль/л) як антикоагулянта ("Sarstedt", Німеччина). Про первинний характер АГ робили висновок, виходячи із даних клінічного дослідження, добового

моніторингу артеріального тиску та досліджень функції нирок і залоз внутрішньої секреції згідно з рекомендаціями Американської робочої групи з контролю підвищеного артеріального тиску у дітей і підлітків (NHBPEP) [29]. Діагноз верифікували за результатами разового вимірювання та добового моніторингу артеріального тиску (ДМАТ) на 5–7-му добу стаціонарного обстеження із застосуванням моніторів тиску «АВРМ-04/М» («Meditech», Угорщина) із плечовою манжеткою. Оцінку результатів ДМАТ проводили за загальноприйнятими методами [25].

Контрольну групу склали 208 школярів м. Києва відповідного віку з нормальним артеріальним тиском за результатами разових його вимірювань за загальноприйнятими рекомендаціями [29].

ДНК виділяли з використанням наборів «Изоген» (Росія). Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначали  $\text{Arg}_{60} \rightarrow \text{His}$ -поліморфізм гена LMP2 за модифікованим методом Vinasco [31]. Для цього ампліфікували ділянку зазначеного гена за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5'-CTTG AACCGGGAGGCGAAGTTTG-3' і зворотного (antisense) – 5'-CAGCTGAACCA-GAGAGTGCATAGT-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містить 5 мкл 5-кратного ПЛР-буфера, 3 ммоль/л сульфату магнію, 200 мкмоль/л суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 пмоль/л кожного з праймерів і 0,5 ОД Таq-полімерази («Амплісенс», Росія), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. ПЛР проводили в термоциклері GeneAmp System 2700" («Applied Biosystems», США). Ампліфікація фрагмента гена LMP2 складалася з 32 циклів: денатурація – 94°C (1 хв), гібридизація праймерів – 63°C (30 с) і елонгація – 72°C (1 хв). Надалі 6 мкл продукту ампліфікації фрагмента гена інкубували при 37°C протягом 18 год з 2 ОД

рестриктази *Hin6I* («Ферментас», Литва) у буфері  $Y^+$  такого складу: 33 ммоль/л тріс-ацетату (рН 7,9), 10 ммоль/л ацетату магнію, 66 ммоль/л ацетату калію, 0,1 мг/мл сироваткового альбуміну бика (BSA) чи із 2 ОД рестриктази *Alw21I* у буфері  $O^+$  такого складу: 50 ммоль/л тріс-ацетату (рН 7,5), 10 ммоль/л хлориду магнію, 100 ммоль/л хлориду натрію, 0,1 мг/мл BSA («Ферментас», Литва). Якщо в положенні гена *LMP2* знаходився гуанідин, то ампліфікат, що складається з 228 пар основ, розщеплювався рестриктазою *Hin6I* на два фрагменти – 199 і 29 пар основ. У разі заміни гуанідину на аденін місце рестрикції для *Hin6I* втрачається, а для рестриктази *Alw21I*, навпаки, з'являється й утворюється два фрагменти зазначеного розміру.

Алельний поліморфізм гена *LMP7* ( $Lys_{145} \rightarrow Gln$ ) визначали також ампліфікацією фрагмента та наступною рестрикцією [31]. Послідовність нуклеотидів у специфічних праймерах була такою: прямий (sense) – 5'-CGGACAGATCTCTG GGTGCT-3' і зворотний (antisense) – 5'-CTTCCCTACT GCCCAAGCT-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містить 5 мкл 5-кратного ПЛР-буфера, 3 ммоль/л сульфату магнію, 200 мкмоль/л суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 пмоль/л кожного з праймерів і 0,5 ОД *Taq*-полімерази («Амплиценс», Росія). Об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента гена *LMP7* складалася з 44 циклів: денатурація – 94°C, 30 с, гібридизація праймерів – 63°C, 30 с і елонгація – 72°C, 1 хв. Для визначення SNP *LMP7* 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 20 год з 5 ОД рестриктази *HindIII* («Сибэнзим», Росія) у буфері такого складу: 10 ммоль/л тріс-гідрохлориду (рН 8,5), 10 ммоль/л хлориду магнію, 100 ммоль/л хлориду натрію, 0,1 мг/мл BSA, 1 ммоль/л дитіотреїтолу чи із 2 ОД рестриктази *Mva1269I* в буфері  $R^+$ . Більш розповсюджений алельний варіант гена

*LMP7* з аденіном (розмір ампліфікату 193 пар основ) розщеплювався рестриктазою *HindIII* на два фрагменти – 179 і 14 пар основ. У разі заміни аденін на цитозин ампліфікат розщеплюється рестриктазою *Mva1269I* на два фрагменти зазначеного розміру.

Ампліфікати генів *LMP2* і *LMP7* та їх фрагменти, отримані в результаті рестрикції, розділяли в 2%-му агарозному гелі, що містив бромистий етидид. Візуалізацію ДНК після горизонтального електрофорезу (160 В протягом 40 хв) проводили за допомогою транслюмінатора та програмного забезпечення *ViTran* («Биоком», Росія).

Алельний поліморфізм гена *PSMA6* ( $C^{-8} \rightarrow G$ ) визначали із застосуванням *TaqMan*® SNP Assay *C\_11599359\_10* та *7500 Fast Real-time PCR System* («Applied Biosystems», США) [27]. Програма ампліфікації складалася з 50 циклів (денатурація – 92°C, 15 с, гібридизація та елонгація – 60°C, 1 хв), після чого проводили аналіз за дискримінацією алелей (рис. 1).

Отримані результати обробляли статистично з використанням програм *Origin 7.0* та *Excel 2000*. При цьому вірогідність відмінностей визначали за  $\chi^2$ -критерієм. Значення  $P < 0,05$  вважали достовірними.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати вказують на те, що розподіл алельних варіантів субодиниці імунопротеасоми (*LMP2*) та протеасоми (*PSMA6*) суттєво відрізняється в контрольній групі та у дітей з АГ (рис. 2). Так, частота алельних варіантів гена *LMP2* була такою: Arg/Arg – 63,9, Arg/His – 28,6, His/His – 7,5 % у контрольній групі, а у хворих на АГ іншою: Arg/Arg – 42,5, Arg/His – 46,4, His/His – 11,1% ( $P=0,001$ ). Алельні варіанти гена *PSMA6* розподілялися таким чином: C/C – 69,8, C/G – 29,7, G/G – 0,5% (в контрольній групі) та 76,2, 21,1, 2,7 % ( $P=0,047$ ) у дітей з АГ. При цьому розподіл алельних варіантів гена *LMP7* не відрізнявся в прак-

тично здорових і хворих на АГ осіб (Lys/Lys – 97,3, Lys/Gln – 2,7, Gln/Gln – 0 та 92,4, 7,6, 0 % відповідно, P=0,16).

Таким чином, нами вперше отримано результати про значення поліморфізмів генів, що кодують субодиниці протеасоми у формуванні спадкової схильності до первинної АГ, яка є одним з основних факторів ризику атеросклерозу та ішемічної хвороби серця. Як вказано вище, поліморфізм LMP2 розглядався дослідниками як маркер аутоімунних захворювань, проте наші результати чітко вказують на асоціацію між зміне-

ним алелем і ймовірністю розвитку АГ. Найбільше обстежені групи відрізнялися за відсотком гетерозигот. Цей факт особливо цікавий з огляду на наші попередні роботи із визначення функціонального значення алельного поліморфізму LMP2 [4]. Зокрема, нами було показано, що найбільшою активністю протеасоми в ізольованих моноцитах крові характеризувалися саме підлітки з гетерозиготним фенотипом, а найменшою – з фенотипом His/His. З іншого боку, функціональні дослідження C<sup>-8</sup>→G-поліморфізму PSMA6 довели, що актив-

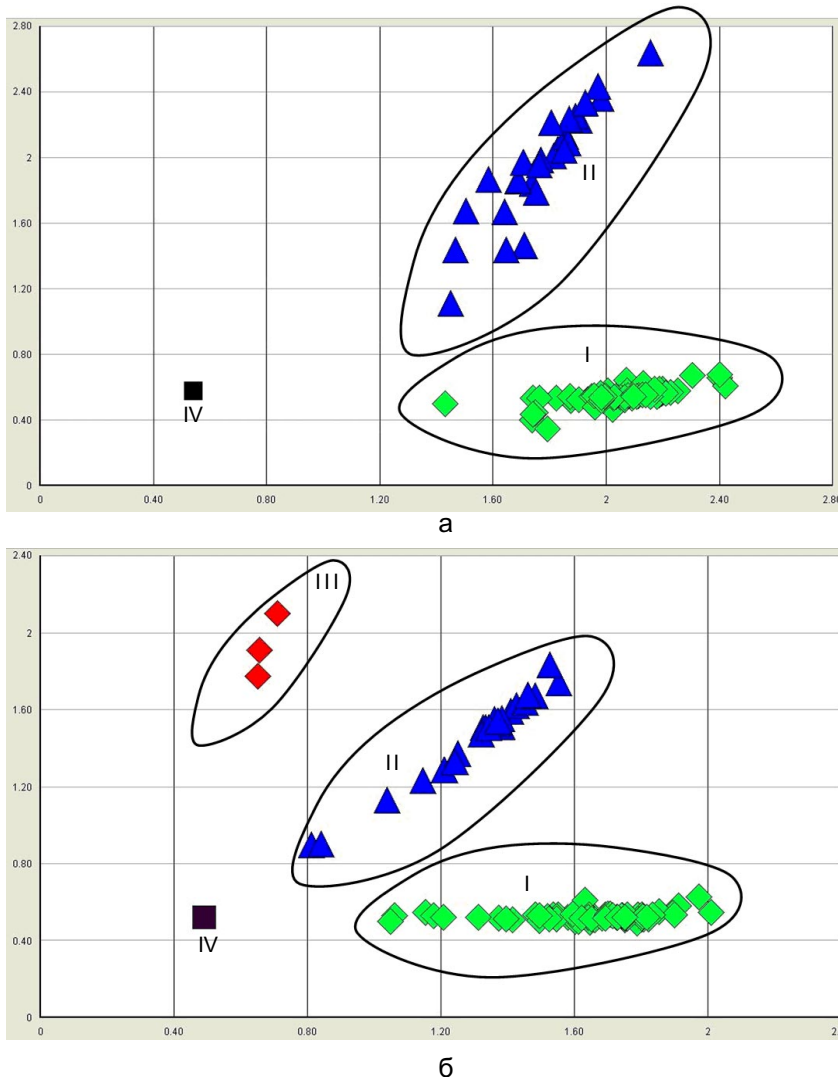


Рис. 1. Результати дискримінації алелей гена PSMA6 із застосування приладу 7500 Fast Real-time PCR System у дітей контрольної групи (а) та у дітей хворих на артеріальну гіпертензію (б): I – гомозиготи C/C, II – гетерозиготи C/G, III – гомозиготи G/G, IV – проба, що не містила ДНК

ність транскрипції цього гена є значно вищою у носіїв G-алеля. Автори вказаного дослідження не визначали активність протеасоми в клітинах людей з різними алельними варіантами, проте отримали опосередковані дані (із застосуванням інтерферуючих РНК до PSMA6) про більшу функціональну активність протеасомного потеолізу, показником якої був вміст інгібітора ядерного фактора κВ, що є

субстратом протеасоми [22]. Слід зазначити, що α-6-субодиниця є обов'язковим компонентом як протеасоми, так і імунопротеасоми, а остання може брати участь не лише у продукції імуногенних пептидів, але й у деградації ендогенних білків [1, 12].

Патофізіологічне тлумачення отриманих результатів є досить складним завданням внаслідок надзвичайно великого, універсального значення протеасомного потеолізу в регуляції майже всіх внутрішньоклітинних процесів, але в нашому випадку слід проаналізувати можливість впливу змін активності протеасоми на судинний тонус. Одним з ключових регуляторів останнього є ендотеліальна NO-синтаза, що за нашими даними [2] підлягає деградації через протеасомний потеоліз, а, отже, гіпотетичне збільшення потеолізу у хворих на АГ може спричинити прискорення деградації NO-синтази та зменшення продукції найбільш потужного вазодилатора – монооксиду азоту. Однак насправді ситуація є набагато складнішою, бо більшою чутливістю до убіквітинзалежної деградації мають інгібітори NO-синтази [2]. Крім того, доведено, що низькі дози інгібіторів протеасоми збільшують активність транскрипції гена ендотеліальної NO-синтази та активність цього ферменту в культурі ендотеліальних клітин [25]. Останніми роками було показано, що протеасома забезпечує деградацію молекул стромальної взаємодії (STIM1), що є ключовими факторами реалізації брадикінініндукованого виходу кальцію з ендоплазматичного ретикулула, що забезпечує активацію ендотеліальної NO-синтази як кальційзалежного ферменту [32]. Отже, зміни активності протеасоми внаслідок генетичних варіацій можуть суттєво модулювати ефект брадикініну на гладенькі м'язи опосередковано через швидкість деградації STIM1. Фізіологічний антагоніст брадикініну – ангіотензин II, зі свого боку, впливає на регуляцію виходу кальцію з ендоплазматичного ретикулу-

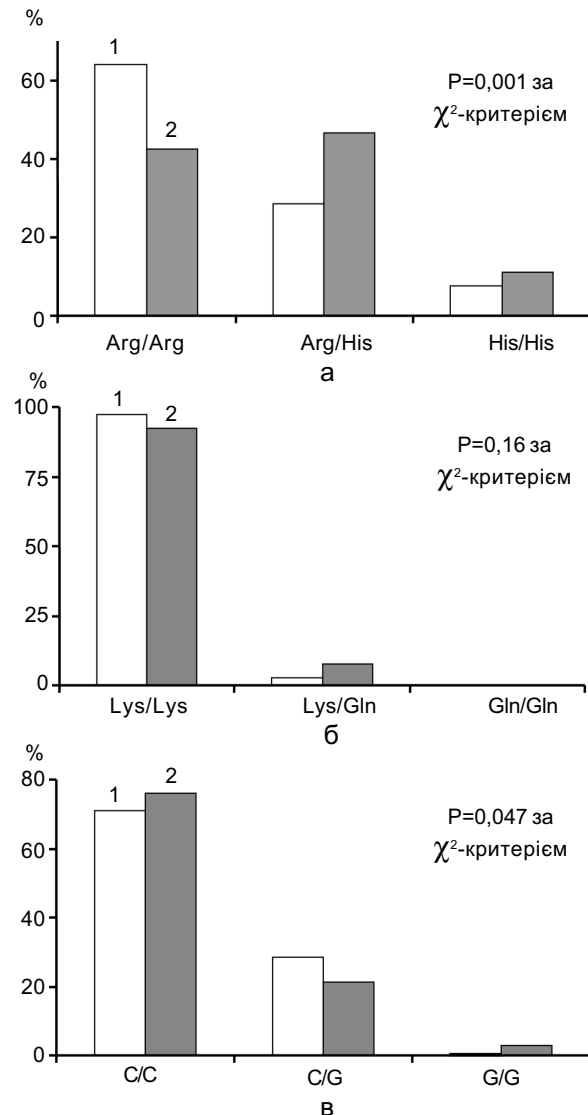


Рис. 2. Частота алельних варіантів генів LMP2 (Arg<sub>60</sub>→His-поліморфізм, а), LMP7 (Lys<sub>145</sub>→Gln-поліморфізм, б) та PSMA6 (C<sup>-8</sup>→G, в) у практично здорових осіб (1) і дітей, хворих на артеріальну гіпертензію (2)

ма, стимулюючи протеасомзалежну деградацію рецептора інозитол-трифосфату [6]. Ефекти ангіотензину II на судинну стінку також обмежуються за участі протеасомного протеолізу – активація антигіпертензивного рецептора допаміну п'ятого типу спричинює убіквітин залежну деградацію рецептора ангіотензину II [15]. Інший важливий механізм впливу ангіотензину II на судинний тонус пов'язаний зі стабілізацією фактора, що індукується гіпоксією (HIF), який за нормоксичних умов розщеплюється протеасомою. З'ясувалося, що ангіотензин II може запобігати деградації HIF протеасомою [23], а цей транскрипційний фактор відповідає за експресію «антигіпертензивних» генів, бо його нокдаун сприяє розвитку експериментальної АГ [16]. Отже, за реалізації цього сценарію генетично зумовлене збільшення активності протеасоми буде сприяти підвищенню артеріального тиску.

Досить заплутана ситуація із роллю протеасоми в регуляції судинного тиску ускладнюється ще більше, якщо врахувати дані, отримані останнім часом бразильськими вченими. Cunha та співавт. [7] довели, що пептиди, які утворюються при протеасомній деградації білків, мають біологічну активність та значною мірою підсилюють вплив агоністів рецептора ангіотензину II першого типу та  $\beta$ -адренорецепторів на експресію генів у двох різних лініях клітин. Гіперекспресія в клітинах олігопептидази, що забезпечує деградацію вказаних пептидів після протеасоми, суттєво зменшує експресію генів, індуковану ангіотензином II або ізопротеренолом. Подальшими дослідженнями в цьому напрямку можна довести, що підвищення активності протеасоми із відповідним збільшенням вмісту внутрішньоклітинних пептидів забезпечує більшу ефективність впливу потужних вазоконстрикторів на судинну стінку.

Абсолютно неподіваними виглядають дані групи німецьких дослідників, що доводять наявність протеасом з особливим суб-

одиничним складом у плазмі крові [9, 33]. Недостатнє вивчення цієї проблеми нині не дає можливості впевнено говорити про активність циркулюючих протеасом, механізми регуляції їх активності, необхідність убіквітинізації тощо, однак дає змогу припустити, що ця популяція протеасом бере участь у деградації вазоактивних пептидів. Більше того, доведено наявність індукбельних субодиниць протеасоми, а саме LMP2 та LMP7, у складі циркулюючих протеасом плазми [33]. А, отже, встановлене нами підвищення активності LMP2 у гетерозигот за поліморфізмом цього гена цілком імовірно прискорює деградацію певних пептидів у плазмі крові, а кінцевий результат визначається здатністю протеасоми розщеплювати переважно вазоконстрикторні або вазодилаторні речовини.

Завершуючи аналіз цієї проблеми, слід визнати, що ми залишили без уваги механізми центральної регуляції судинного тиску та значення протеасоми в роботі судинно-рухового центру, бо ці питання повністю невивчені та відсутні будь-які літературні джерела.

Таким чином, отримані нами результати вперше вказують на значення поліморфізмів генів, що кодують субодиниці протеасоми, у спадковій схильності до первинної АГ і мають стимулювати подальші дослідження із з'ясування тонких механізмів реалізації зміненої генетичної інформації у згаданих генах і визначення ролі протеасомного протеолізу в патогенезі АГ загалом.

**S.V. Goncharov, V.E. Dosenko, N.V. Haitovich, A.A. Moibenko**

#### **POLYMORPHISM OF PROTEASOME GENES IS ASSOCIATED WITH AN ENHANCED RISK FOR ARTERIAL HYPERTENSION IN ADOLESCENTS**

Large multifunctional protease LMP2 (Arg<sub>60</sub>→His), LMP7 (Lys<sub>145</sub>→Gln) and PSMA6 (C<sup>-8</sup>→G) gene allelic polymorphisms in 147 young patients with essential hypertension and

in 208 practically healthy people were determined. It was shown that interrelation of genotypes Arg/Arg, Arg/His and His/His in LMP2 gene polymorphisms account 42,5%, 46,4% and 11,1% correspondingly (in control – 63,9%, 28,6%, 7,5%;  $P=0.001$  by  $\chi^2$ -test). Allelic variants of PSMA6 dispense the next manner: C/C – 76,2%, C/G – 21,1%, G/G – 2,7% in adolescents with EH (in control – 69,8%, 29,7% and 0,5% correspondingly,  $P=0.047$ ). Analysis of LMP7 gene polymorphism showed identical frequency of different genotypes in patients (Lys/Lys – 92,4%, Lys/Gln – 7,6%, Gln/Gln – 0%) and practically healthy people (97,3%, 2,7%, 0% correspondingly;  $P=0.16$ ). Obtained data suggest the LMP2 and PSMA6 gene polymorphisms significance as the risk factors of essential hypertension in adolescents.

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

*O.O. Bogomoletz National Medical University,*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гольдберг А., Еледж С., Гарпер Дж.В. Механізми клітинної смерті // Світ науки. – 2001, № 2. – С.32–37.
2. Досенко В.Е., Загорий В.Ю., Мойбенко А.А. Влияние протеасомного протеолиза на активность НО-синтазы в изолированных тромбоцитах // Укр. биохим. журн. – 2005. – 77. – С.39–42.
3. Досенко В.С., Михальчук Д.В., Загорий В.Ю. и др. Частота аллельного полиморфизма генов, кодирующих каталитические субъединицы иммунопротеасомы, у больных с острым коронарным синдромом // Цитология и генетика. – 2005. – 39, №6. – С.50–54.
4. Досенко В.С., Михальчук Д.В., Загорий В.Ю. та ін. Функціональне значення аллельного поліморфізму генів, що кодують каталітичні субоддиниці імуні-протеасом // Фізіол. журн. – 2005. – 51, №6. – С.3–10.
5. Майданник В.Г., Хайтович М.В., Місюра Л.І. та ін. Порушення добового профілю артеріального тиску у дітей з вегетативними дисфункціями // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2003. – №6. – С.23–28.
6. Bokkala S., Joseph S.K. Angiotensin II-induced down-regulation of inositol trisphosphate receptors in WB rat liver epithelial cells. Evidence for involvement of the proteasome pathway // J. Biol. Chem. – 1997. – 272, №19. – P.12454 – 12461.
7. Cunha F.M., Berti D.A., Ferreira Z.S. et al. Intracellular peptides as natural regulators of cell signaling // Ibid. – 2008. – 283, №36. – P.24448–24459.
8. Deng G.Y., Muir A., Maclaren N.K., She J.X. Association of LMP2 and LMP7 genes within the major histocompatibility complex with insulin-dependent diabetes mellitus: population and family studies // Amer. J. Hum. Genet. – 1995. – 56. – P.528–534.
9. Egerer K., Kuckelkorn U., Rudolph P.E. et al. Circulating proteasomes are markers of cell damage and immunologic activity in autoimmune diseases // J. Rheumatol. – 2002. – 29, №10. – P.2045–2052.
10. Gaczynska M., Goldberg A.L., Tanaka K. et al. Proteasome subunits X and Y alter peptidase activities in opposite ways to the interferon-gamma-induced subunits LMP2 and LMP7 // J. Biol. Chem. – 1996. – 271, №29. – P.17275–17280.
11. Goldberg A.L., Cascio P., Saric T., Rock K.L. The importance of the proteasome and subsequent proteolytic steps in the generation of antigenic peptides // Mol. Immunol. – 2002. – 39, №3 – 4. – P.147–164.
12. Goldberg AL. Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins // Nature. 2003. – 426. – P.895–899.
13. Kawaguchi Y., Ikegami H., Fukuda M. et al. Absence of association of TAP and LMP genes with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus // Life Sci. – 1994. – 54, №26. – P.2049–2053.
14. Kuzushita N., Sugimoto Y., Sasaki Y., Hayashi N. Involvement of TAP2 and LMP7 gene polymorphisms in HCV infection // Nippon Rinsho. – 2001. – 59. – P.1248–1253.
15. Li H., Armando I., Yu P. et al. Dopamine 5 receptor mediates Ang II type 1 receptor degradation via a ubiquitin-proteasome pathway in mice and human cells // J. Clin. Invest. – 2008. – 118, №6. – P.2180–2189.
16. Li N., Chen L., Yi F. et al. Salt-sensitive hypertension induced by decoy of transcription factor hypoxia-inducible factor-1alpha in the renal medulla // Circulat. Res. – 2008. – 102, №9. – P.1101–1108.
17. Maksymowych W.P., Russell A.S. Polymorphism in the LMP2 gene influences the relative risk for acute anterior uveitis in unselected patients with ankylosing spondylitis // Clin. Invest. Med. – 1995. – 18. – P.42–46.
18. Maksymowych W.P., Wessler A., Schmitt-Egenolf M. Et al. Polymorphism in an HLA linked proteasome gene influences phenotypic expression of disease in HLA-B27 positive individuals // J. Rheumatol. – 1994. – 21, №4. – P.665–669.
19. Marfella R., Di Filippo C., Portoghese M. et al. Proteasome activity as a target of hormone replacement therapy-dependent plaque stabilization in postmenopausal women // Hypertension. – 2008. – 51, №4. – P.1135–1141.
20. Nagata N., Oshida T., Yoshida N.L. et al. Analysis of highly expressed genes in monocytes from atopic dermatitis patients // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2003. – 132, №2. – P.156–167.
21. Okamoto H., Takaoka M., Ohkita M. et al. A proteasome inhibitor lessens the increased aortic endothelin-1 content in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats // Eur. J. Pharmacol. – 1998. – 350, №1. – P.11–12.
22. Ozaki K, Sato H, Iida A. A functional SNP in PSMA6 confers risk of myocardial infarction in the Japanese population // Nat/ Genet. – 2006. – 38, №8. – P.921–925.
23. Page E.L., Chan D.A., Giaccia A.J. et al. Hypoxia-inducible factor-1 {alpha} stabilization in nonhypoxic conditions: role of oxidation and intracellular ascorbate

- depletion // Mol. Biol. Cell. – 2008. – **19**, №1. – P.86–94.
24. Pryhuber K.G., Murray K.J., Donnelly P. et al. Polymorphism in the LMP2 gene influences disease susceptibility and severity in HLA-B27 associated juvenile rheumatoid arthritis // J. Rheumatol. – 1996. – №23. – P.747–752.
25. Stangl V., Lorenz M., Meiners S. et al. Long-term up-regulation of eNOS and improvement of endothelial function by inhibition of the ubiquitin-proteasome pathway // FASEB J. – 2004. – **18**, №2. – P.272–279.
26. Takaoka M., Ohkita M., Itoh M. et al. A proteasome inhibitor prevents vascular hypertrophy in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2001. – **5**, №6. – P.466–468.
27. Takaoka M., Okamoto H., Ito M. et al. Antihypertensive effect of a proteasome inhibitor in DOCA – salt hypertensive rats // Life Sci. – 1998. – **63**, №4. – P.65–70.
28. Takashima N., Shioji K., Kokubo Y. et al. Validation of the association between the gene encoding proteasome subunit alpha type 6 and myocardial infarction in a Japanese population // Circulat. J. – 2007. – **71**, №4. – P.495–498.
29. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents // Pediatrics. – 2004. – **114**, №2. – P.555–574.
30. van Endert P.M., Liblau R.S., Patel S.D. et al. Major histocompatibility complex-encoded antigen processing gene polymorphism in IDDM // Diabetes. – 1994. – **43**, №1. – P.110–117.
31. Vinasco J., Fraile A., Nieto A. et al. Analysis of LMP and TAP polymorphisms by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism in rheumatoid arthritis // Ann. Rheum. Dis. – 1998. – **57**. – P.33–37.
32. Zhang W., Meng H., Li Z.H. et al. Regulation of STIM1, store-operated Ca<sup>2+</sup> influx, and nitric oxide generation by retinoic acid in rat mesangial cells // Amer. J. Physiol. Renal. Physiol. – 2007. – **292**, №3. – F1054–1064.
33. Zoeger A., Blau M., Egerer K. et al. Circulating proteasomes are functional and have a subtype pattern distinct from 20S proteasomes in major blood cells // Clin. Chem. – 2006. – **52**, №11. – P.2079–2086.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;  
Нац. мед. ун-т ім. О.О.Богомольця, Київ*

*Матеріал надійшов до  
редакції 20.10.2008*