

УДК 612.014.4

ТИОРЕДОКСИН-ДОМЕННЫЕ БЕЛКИ ЧЕЛОВЕКА. ЧАСТЬ 2: СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТИОРЕДОКСИНОВАЯ СИСТЕМА ЯИЧЕК

В.К. ЧМЫХАЛО, А.А. БЕЛАНОВА, П.В. ЗОЛОТУХИН, Д.С. СМИРНОВ, С.А. КОРИНФСКАЯ,
И.Ю. ЩЕГЛОВА, А.А. СТЕПАНОВА, М.С. МАКАРЕНКО, А.А. АЛЕКСАНДРОВА

e-mail: vitek.impi@gmail.com

Южный федеральный университет, Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр-т Стачки, 194/1
ГК «Эволюция», Россия, 344013, г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 112
НАО «Наука», Россия, 344034, г. Ростов-на-Дону, ул. Загорская, 23а

Из многочисленных предыдущих исследований и обзоров следует, что тиоредоксин-доменные белки играют значительную роль в редокс-регуляции различных клеточных процессов. Здесь мы представляем еще одну физиологическую роль этого своеобразного белкового семейства. Обзор посвящен тиоредоксин-доменным белкам, участвующим в функционировании яичек и мужской репродукции.

Ключевые слова: тиоредоксин-доменные белки, редокс-регуляция, сперматогенез, мужская репродукция.

HUMAN THIOREDOXIN-DOMAIN PROTEINS. PART 2: SPECIFIC TESTICULAR THIOREDOXIN SYSTEM

V.K. CHMYKHALO, A.A. BELANOVA, P.V. ZOLOTUKHIN, D.S. SMIRNOV, S.A. CORINFSKAYA,
I.Y. SHCHEGLOVA, A.A. STEPANOVA, M.S. MAKARENKO, A.A. ALEXANDROVA

Southern Federal University, Russia, 344090, Rostov-on-Don, Stachki pr 194/1
SC "Evolution", Russia, 344013, Rostov-on-Don, Mechnikova str 112
LLW "Science", Russia, 344034, Rostov-on-Don, Zagorskaya str 23a

As seen from numerous previous studies and reviews, thioredoxin-domain proteins are significant players in redox-regulation of various cellular processes. Here we present their yet another physiological role of this peculiar protein family. The review is dedicated to thioredoxin domain proteins participating in testicular function and human male reproduction.

Key words: thioredoxin-domain proteins, redox-regulation, spermatogenesis, human male reproduction.

doi:10.18522/2218-2268-2015-4-100-105

Введение

Проблема бесплодия в браке приобрела характер не только серьезной медицинской, но и социально-демографической и экономической проблемы. По данным 2014 г. Европейской ассоциации репродукции человека и эмбриологии (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE) доля бесплодных браков в России колеблется от 8 до 17,5 %. Патогенез мужского бесплодия обусловлен широким спектром экзо- и эндогенных факторов [Ташкина и соавт., 2014]. Нарушения окислительного статуса также являются одним из комплексных фак-

торов мужского бесплодия [Agarwal et al., 2015]. Сегодня системы окислительного статуса являются перспективным инструментом для персональной биомедицинской диагностики и лечения [Zolotukhin et al., 2013].

Необходимо отметить, что среди общего числа регуляторов редокс-зависимых компонентов систем окислительного статуса выделяется крупное мультифункциональное семейство тиоредоксин-доменных белков. Тиоредоксин-доменные белки биохимически являются донорами электронов в дитиол-дисульфидном обмене за счет особого эволюционно консервативного аминокислотного мотива – СХХС-. Первоначально тиоредоксин-доменные белки описывались как части антиоксидантных систем, состоящих из соответствующего белка и тиоредоксин-

© Чмыхало В. К., Беланова А. А., Золотухин П. В.,
Смирнов Д. С., Коринфская С.А., Щеглова И. Ю.,
Степанова А. А., Макаренко М. С., Александрова А. А.,
2015.

редуктазы. Однако многочисленные исследования показали невероятную мультифункциональную роль тиоредоксин-доменных белков благодаря их участию в большом числе клеточных процессов, включая общую клеточную сигнализацию, апоптоз, дифференцировку тканей и даже фотосинтез. Все тиоредоксин-доменные белки можно разделить на две крупных группы. В первую группу относят белки с только одним

доменом – тиоредоксиновым. Сюда входят такие представители, как тиоредоксин 1 (TXN), митохондриальный тиоредоксин (TXN2), нуклеоредоксин (NXN). II группу составляют белки с несколькими доменами помимо тиоредоксинового. Данная группа представлена трансмембранными тиоредоксинами (TMXs), тиоредоксин-доменными белками 2, 3 и другими (рис. 1) [Collet, Messens, 2010; Lee et al., 2013].

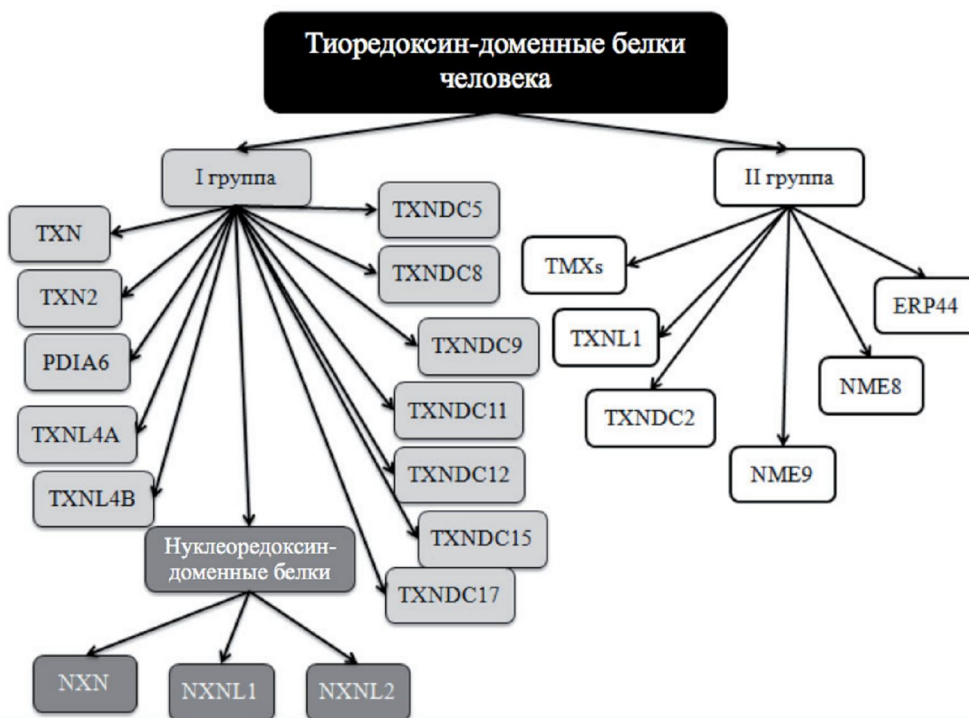


Рис. 1. Классификация тиоредоксин-доменных белков

Один из представителей тиоредоксинного семейства у человека – тиоредоксин 1, регулирующий композитный контур активаторного белка 1 (AP-1) и фактора 2, родственного ядерному эритроидному фактору 2 (NFE2L2) [Беланова и соавт., 2014], – является потенциальным маркером для широкого спектра заболеваний [Maneet V. et al., 2013]. Однако кроме тиоредоксина 1 в состав семейства тиоредоксин-доменных белков у человека входит более 20 представителей, и их роли еще недавно оставались загадкой, а практическая ценность в принципе не рассматривалась – до недавнего времени.

Сегодня в рамках патогенеза мужского бесплодия повышенный интерес представляет одна из наиболее крупных функциональных групп мультисемейства – белки специфической тиоредоксиновой системы яичек. В состав этой ткане-

специфической системы входят: тиоредоксин-доменный белок 2 (TXNDC2), тиоредоксин-доменный белок 3 (NME8), тиоредоксин-подобный белок 2 (NME9) и тиоредоксин-доменный белок 8 (TXNDC8). Данная система уникальна в связи с тем, что только в яичках активно экспрессируется столько специфических тиоредоксин-доменных белков, по сравнению с другими органами человека [Miranda-Vizuet et al., 2004]. В данной работе представлены современные данные о тканеспецифических тиоредоксин-доменных белках яичек.

TXNDC2

Тиоредоксин-доменный белок 2 – TXNDC2 (SPTRX, SPTRX1) – тканеспецифический представитель II группы семейства тиоредоксин-

доменных белков, экспрессирующийся в яичках. TXNDC2 – двудоменный белок: на N-участке расположено 23 повтора мотива из 15 аминокислот, а на C-концевом участке находится тиоредоксиновый домен. N-концевой участок TXNDC2 содержит много заряженных аминокислотных радикалов, а также возможные участки для фосфорилирования киназами. Имеются и две последовательности PEST, участвующие в быстрой деградации по 26S-протеасомному пути. Белок имеет 4 дополнительных цистеиновых радикала. TXNDC2 фосфорилируется протеинкиназой 2 и убиквитинируется *in vitro* [Miranda-Vizuete et al., 2004].

Как и тиоредоксин 1, *in vitro* TXNDC2 является субстратом цитоплазматической тиоредоксин-редуктазы 1 (TXNRD1) [Gasdaska et al., 1995; Arnér, Holmgren, 2000; Miranda-Vizuete et al., 2004; Collet, Messens, 2010].

Исходя из высокого уровня экспрессии мРНК, TXNDC2 активно синтезируется во время образования и роста жгутика сперматозоида. Зрелый белок обнаруживается в фиброзной оболочке (рис. 2) [Yu et al., 2002]. Обладая окислительно-восстановительной активностью *in vitro*, TXNDC2 может являться важным компонентом сборки и созревания фиброзной оболочки, формируя и редактируя дисульфидные связи структурных белков оболочки. Вероятно, восстановление дисульфидных связей в жгутиках аномальных сперматозоидов – своеобразный сигнал качества для маркировки их и дальнейшего устранения нарушений в течении эпидимальной стадии развития [Miranda-Vizuete et al., 2004]. Отмечено также, что нарушение

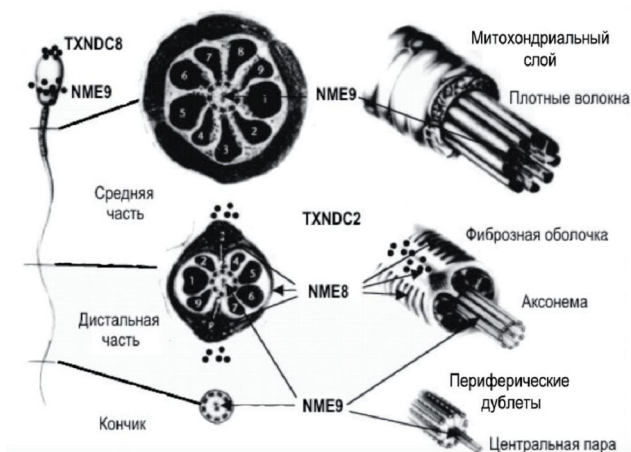


Рис. 2. Локализация тканеспецифических тиоредоксин-доменных белков в сперматозоиде [Miranda-Vizuete et al., 2004]

экспрессии TXNDC2 и другого тиоредоксин-доменного белка NME8 (рассматривается ниже) может вести к дисплазии фиброзной оболочки сперматозоида [Rawe et al., 2001]. Эти два белка являются хорошими кандидатами в диагностические маркеры данной патологии [Miranda-Vizuete et al., 2004].

NME8

Тиоредоксин-доменный белок 3 (NME8, TXNDC3, SPTRX2) – тканеспецифический представитель II группы семейства тиоредоксин-доменных белков, кодируемый геном NME8 и экспрессирующийся в яичках [Sadek et al., 2001] и в выстилающем эпителии дыхательных путей [Duriez et al., 2007]. Этот белок также относят к семейству nm23-нуклеотиддифосфаткиназ [Desvignes et al., 2009; Lacombe et al., 2000]. Это многодоменный белок, включающий в свою структуру на N-концевом участке тиоредоксиновый домен, за которым расположены 3 NADP-киназные домена [Sadek et al., 2001], причем первый из них – неполный по аминокислотному составу [Duriez et al., 2007]. NADP-киназы (также известные как nm23) переносят γ -фосфат между нуклеотидами и дезоксинуклеотид-ди- и трифосфатами, играя основную роль в поддержании сбалансированного пула нуклеотидов [Sadek et al., 2001; Miranda-Vizuete et al., 2004; Lacombe et al., 2000].

Вероятно, NME8 является компонентом архитектуры аксономы сперматозоида, обуславливающим его подвижность. Нарушения структуры и функции NME8 могут являться причиной ряда фенотипов мужского бесплодия [Sadek et al., 2001].

Помимо динеиновых ручек, NME8 обнаружен и в фиброзной оболочке жгутика сперматозоида (рис. 2) [Miranda-Vizuete et al., 2004].

Ген NME8 входит в состав субрегиона DAD (Dynein arm deficiency), который входит в состав региона PCD (Primary ciliary dyskinesia) [OMIM]. PCD-регион содержит гены, нарушения в которых вызывают синдром Картагенера – заболевания группы цилиопатий [OMIM; Gutierrez-Roelens et al., 2006].

Тканеспецифичная экспрессия в яичках и хромосомное картирование в совокупности свидетельствуют о том, что NME8 обеспечивает формирование особого фенотипа динеино-

вых ручек, а также связан с причинами мужского бесплодия по фенотипу цилиопатии шестого типа [Sadek et al., 2001; Duriez et al., 2007]. Предполагается также, что NME8 необходим для таких процессов, как эпидимальное созревание, гиперактивация, капацитация и даже оплодотворение и развитие зиготы [Miranda-Vizuete et al., 2004]. Отмечена необходимость дисульфидного восстановления компонентов сперматозоидного пронуклеуса и вспомогательных структур для успешного оплодотворения у млекопитающих, и NME8, возможно, вовлечен в эти процессы как переносчик фосфатов для белков фиброзной оболочки [Miranda-Vizuete et al., 2004].

TXNDC8

Тиоредоксин-доменный белок 8 – TXNDC8 (SPTRX3) – тканеспецифический представитель I группы семейства тиоредоксин-доменных белков, экспрессирующийся в яичках. TXNDC8 обладает высокой степенью гомологии с TXN. Данные белки различны только по пятому экзону, который у TXNDC8 характеризует его тканеспецифичность и несет дополнительные цистеиновые аминокислотные остатки. TXNDC8 имеет 5 изоформ – благодаря альтернативному сплайсингу [Jiménez et al. 2004; Miranda-Vizuete et al., 2004].

TXNDC8 локализован в комплексе Гольджи и акросоме сперматозоида (рис. 2) [Miranda-Vizuete et al., 2004]. В сперматозоидах, находящихся на эпидимальной стадии дифференцировки, TXNDC8 находится в цитоплазматической капле. У аномальных сперматоцитов и сперматозоидов TXNDC8 накапливается и обнаруживается в ядерных вакуолях и цитоплазме.

Вероятно, TXNDC8 необходим для биогенеза акросомы [Ramalho-Santos et al., 2001], но не для непосредственного ее формирования, а для осуществления посттрансляционной модификации акросомальных белков в комплексе Гольджи [Donaldson and Lippincott-Schwartz, 2000]. TXNDC8 – возможный восстановитель перокси-редоксина 4 (PRDX4), вовлеченного в биогенез акросомы [Sasagawa et al., 2001]. TXNDC8, также как и NME8, может являться аутоантигеном в эякуляте у грызунов [Flickinger et al., 1999, 2001].

NME9

Тиоредоксин-подобный белок 2 – (TXL2, TXNDC6) – представитель II группы семей-

ства тиоредоксин-доменных белков, кодируемый геном NME9 и имеющий высокий уровень экспрессии в яичках и в выстилающем эпителии дыхательных путей [Sadek et al., 2003]. Также относят к семейству nm23 – нуклеозид дифосфат киназ [Desvignes et al., 2009; Lacombe et al., 2000]. Это двудоменный белок, включающий в свою структуру на N-концевом участке тиоредоксиновый домен, а на С-конце – NADP-киназный домен [Sadek et al., 2001], очень схожий по строению с доменами NME8 [Duriez et al., 2007].

NME9 имеет две изоформы, отличающиеся наличием и отсутствием пятого экзона (NME9 и Δ5NME9, соответственно). NME9 – первый описанный представитель семейства тиоредоксин-доменных белков, способный связываться с микротрубочками цитоскелета. Он ассоциирован с микротрубочками аксонемы жгутика сперматозоида (рис. 2) и ресничек эпителия дыхательных путей. Цистеиновые остатки в структуре полипептидной цепи тубулина играют значительную роль в сборке микротрубочек, образуя дисульфидные связи для полимеризации. Поэтому такие белки дисульфид-дителиольного обмена, как NME9, могут регулировать физиологию микротрубочек [Sadek et al., 2003].

NADP-киназный домен NME9 имеет уникальный мотив RCC1, который не встречается в семействе nm23. RCC1 является ядерным фактором взаимодействия хроматина с маленькой ядерной ГТФазой Rap из семейства Ras-связывающих белков. Одна из функций Rap – осуществление ядерно-цитоплазматического транспорта [UniProt]. NME9, вероятно, может связываться с Rap посредством RCC1-мотива, чтобы связываться с микротрубочками [Sadek et al., 2003].

Также как и NME8 [Sadek et al., 2001; Duriez et al., 2007], NME9 может являться одним из факторов синдрома Картагенера, так как они обладают схожими структурой и локализацией [Sadek et al., 2003].

Заключение

Специфическая тиоредоксиновая система яичек – важный объект для изучения влияния регуляторов дисульфид-дителиольного обмена на репродуктивную функцию мужчин. Данная система также представляет широкие перспективы в персональной генетической диагностике мужского бесплодия. В будущем, возможно, окажет-

ся эффективным диагностировать синдром Картангера по наличию мутаций в генах NME8 [Miranda-Vizuet et al., 2004] и NME9 [Sadek et al., 2003], а также по нарушению их экспрессии. Каждый из белков тиоредоксиновой системы яичек вовлечен в важные процессы сперматогенеза. TXNDC2 обеспечивает нормальное созревание фиброзной оболочки жгутика сперматозоида. NME8 вовлечен в регуляцию физиологии динеиновых ручек жгутиков. TXNDC8 вовлечен в биогенез акросомы, а NME9 – регулятор физиологии цитоскелета [Uniprot]. В совокупности данные белки обеспечивают нормальное функционирование сперматозоида и тем самым делают возможным осуществление мужской репродуктивной функции.

Стоит отметить, что данные тиоредоксин-доменные белки, имея описанную широкую функциональность, также могут быть маркерами заболеваний, не связанных с репродуктивной сферой. И в литературе есть этому подтверждения [Sadek et al., 2003; Shi et al., 2008; Zintzaras et al., 2010; Lu et al., 2012; Ishii et al., 2013; Lu et al., 2013; Maneet B. et al., 2013].

Все вышесказанное показывает, что необходимо и дальше продолжать исследования в области тиоредоксин-доменных белков. Открытие новых функций и молекул партнеров белков данного мультисемейства создадут фундамент для прикладных методов биомедицинской диагностики мужского бесплодия, а также широкого ряда других заболеваний.

Источник финансирования и конфликты интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи. Исследования выполнены в рамках базовой части государственного задания Министерства образования и науки НИР № 1878 «Разработка фундаментальных аспектов молекулярной диагностики и митохондриальной фармакологии».

Литература

Беланова АА, Лебедева ЮА, Кузьминова ОН, Золотухин ПВ, Чмыхало ВК, Коринфская СА, Макаренко МС, Александрова АА. Активаторный белок 1: структура, функционирование и роль в окислительном статусе человека. Валеология. 2014;3(2): 11–20.

Ташкина ЕА, Айзикович ИВ, Кожин АЮ, Мотырева ПЮ. Выявление генетических нарушений в сперматозоидах с помощью FISH-диагностики. Вестн. Новосиб. гос. ун-та. Серия: Биология, клиническая медицина. 2014; 12(4):11–16.

Agarwal A, Ayaz A, Samanta L, Sharma R, Assidi M, Abuzenadah AM, Sabanegh E. Comparative proteomic network signatures in seminal plasma of infertile men as a function of reactive oxygen species. Clin Proteomics. 2015;12(1):23 PMID:26321892.

Arnér ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. Eur J Biochem. 2000;267(20):6102–9. PMID:11012661.

Collet JF, Messens J. Structure, function, and mechanism of thioredoxin proteins. Antioxid Redox Signal. 2010;13(8):1205–16. PMID: 20136512

Desvignes T, Pontarotti P, Fauvel C, Bobe J. Nme protein family evolutionary history, a vertebrate perspective. BMC Evol Biol. 2009;23;9:256. PMID: 19852809.

Donaldson JG, Lippincott-Schwartz J. Sorting and signaling at the Golgi complex. Cell. 2000;101(7):693–6. PMID: 10892740.

Duriez B, Duquesnoy P, Escudier E, Bridoux AM, Escalier D, Rayet I, Marcos E, Vojtek AM, Bercher JF, Amselem S. A common variant in combination with a nonsense mutation in a member of the thioredoxin family causes primary ciliary dyskinesia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(9):3336–41. PMID: 17360648.

Flickinger CJ, Rao J, Bush LA, Sherman NE, Oko RJ, Jayes FC, Herr JC. Outer dense fiber proteins are dominant postobstruction autoantigens in adult Lewis rats. Biol Reprod. 2001;64(5):1451–9. PMID:11319151

Flickinger CJ, Bush LA, Williams MV, Naaby-Hansen S, Howards SS, Herr JC. Post-obstruction rat sperm autoantigens identified by two-dimensional gel electrophoresis and western blotting. J Reprod Immunol. 1999;43(1):35–53. PMID: 10392780.

Gasdaska PY, Gasdaska JR, Cochran S, Powis G. Cloning and sequencing of a human thioredoxin reductase. FEBS Lett. 1995;373(1):5–9. PMID:7589432.

Gutierrez-Roelens I, Sluysmans T, Jorissen M, Amyere M, Vikkula M. Localization of candidate regions for a novel gene for Kartagener syndrome. Eur J Hum Genet. 2006;14(7):809–15. PMID: 16639409.

Ishii T, Funato Y, Miki H. Thioredoxin-related protein 32 (TRP32) specifically reduces oxidized phosphatase of regenerating liver (PRL). J Biol Chem. 2013;288(10):7263–70. PMID: 23362275.

Jiménez A, Zu W, Rawe VY, Pelto-Huikko M, Flickinger CJ, Sutovsky P, Gustafsson JA, Oko R, Miranda-Vizuet A. Spermatoocyte/spermatid-specific thioredoxin-3, a novel Golgi apparatus-associated thioredoxin, is a specific marker of aberrant spermatogenesis. J Biol Chem. 2004;279(33):34971–82. PMID: 15181017.

Lacombe ML, Milon L, Munier A, Mehus JG, Lambeth DO. The human Nm23/nucleoside diphosphate kinases. *J Bioenerg Biomembr.* 2000;32(3):247–58. PMID 11768308.

Lee S, Kim S, Lee R. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance. *Antioxid Redox Signal.* 2013 Apr 1;18(10):1165–207 PMID: 22607099.

Lu A, Wangpu X, Han D, Feng H, Zhao J, Ma J, Qu S, Chen X, Liu B, Zheng M. TXNDC9 expression in colorectal cancer cells and its influence on colorectal cancer prognosis. *Cancer Invest.* 2012;30(10):721–6. PMID: 23210642.

Lu Y, Zhao X, Li K, Luo G, Nie Y, Shi Y, Zhou Y, Ren G, Feng B, Liu Z, Pan Y, Li T, Guo X, Wu K, Miranda-Vizuete A, Wang X, Fan D. Thioredoxin-like protein 2 is overexpressed in colon cancer and promotes cancer cell metastasis by interaction with ran. *Antioxid Redox Signal.* 2013;19(9):899–911. PMID:23311631.

Maneet B, Therese C, Giovanna DT, Tonissen KF. The Interaction Between Redox and Hypoxic Signaling Pathways in the Dynamic Oxygen Environment of Cancer Cells. *Carcinogenesis.* Edited by Tonissen K. Brisbane. InTech, 2013.

Miranda-Vizuete A, Sadek CM, Jiménez A, Krause WJ, Sutovsky P, Oko R. The mammalian testis-specific thioredoxin system. *Antioxid Redox Signal.* 2004;6(1):25–40. PMID 14713334.

Miranda-Vizuete A, Ljung J, Damdimopoulos AE, Gustafsson JA, Oko R, Pelto-Huikko M, Spyrou G. Characterization of Sptx, a novel member of the thioredoxin family specifically expressed in human spermatozoa. *J Biol Chem.* 2001;276(34):31567–74. PMID 11399755.

Ogawa K, Takai H, Ogiwara A, Yokota E, Shimizu T, Inaba K, Mohri H. Is outer arm dynein intermediate chain 1 multifunctional? *Mol Biol Cell.* 1996;7(12):1895–907 PMID: 8970153.

OMIM database: <http://omim.org> Retrieved 1 September 2015.

Ramalho-Santos J, Moreno RD, Wessel GM, Chan EK, Schatten G. Membrane trafficking machinery components associated with the mammalian acrosome during spermiogenesis. *Exp Cell Res.* 2001;267(1):45–60. PMID:11412037.

Rawe VY, Galaverna GD, Acosta AA, Olmedo SB, Chemes HE. Incidence of tail structure distortions as-

sociated with dysplasia of the fibrous sheath in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 2001;16(5):879–86. PMID:11331633.

Sadek CM, Jiménez A, Damdimopoulos AE, Kieselbach T, Nord M, Gustafsson JA, Spyrou G, Davis EC, Oko R, van der Hoorn FA, Miranda-Vizuete A. Characterization of human thioredoxin-like 2. A novel microtubule-binding thioredoxin expressed predominantly in the cilia of lung airway epithelium and spermatid manchette and axoneme. *J Biol Chem.* 2003;278(15):13133–42. PMID: 12569107.

Sadek CM, Damdimopoulos AE, Pelto-Huikko M, Gustafsson JA, Spyrou G, Miranda-Vizuete A. Sptx-2, a fusion protein composed of one thioredoxin and three tandemly repeated NDP-kinase domains is expressed in human testis germ cells. *Genes Cells.* 2001;6(12):1077–90. PMID: 11737268.

Sasagawa I, Matsuki S, Suzuki Y, Iuchi Y, Tohya K, Kimura M, Nakada T, Fujii J. Possible involvement of the membrane-bound form of peroxiredoxin 4 in acrosome formation during spermiogenesis of rats. *Eur J Biochem.* 2001;268(10):3053–61. PMID:11358524.

Shi D, Nakamura T, Nakajima M, Dai J, Qin J, Ni H, Xu Y, Yao C, Wei J, Liu B, Ikegawa S, Jiang Q. Association of single-nucleotide polymorphisms in RHOB and TXNDC3 with knee osteoarthritis susceptibility: two case-control studies in East Asian populations and a meta-analysis. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(3):R54. PMID:18471322.

Uniprot protein database: <http://www.uniprot.org> Retrieved 1 September 2015.

Yu Y, Oko R, Miranda-Vizuete A. Developmental expression of spermatid-specific thioredoxin-1 protein: transient association to the longitudinal columns of the fibrous sheath during sperm tail formation. *Biol Reprod.* 2002;67(5):1546–54. PMID:12390887.

Zintzaras E, Kitsios GD, Ziogas DC, Rodopoulou P, Karachalios T. Field synopsis and synthesis of genetic association studies in osteoarthritis: the CUMAGAS-OSTEO information system. *Am J Epidemiol.* 2010 Apr 15;171(8):851–8. PMID: 20237151.

Zolotukhin P, Kozlova Y, Dovzhik A, Kovalenko K, Kutsyn K, Aleksandrova A, Shkurat T. Oxidative status interactome map: towards novel approaches in experimental planning, data analysis, diagnostics and therapy. *Mol Biosyst.* 2013;9(8):2085–96. PMID: 23698602.