

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Федосеева Лариса Абрамовна

Экспрессия ключевых генов ренин-ангиотензиновой системы
у гипертензивных крыс НИСАГ

03.02.07 – генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:
д.б.н., проф. А.Л.Маркель
д.б.н., проф. Г.М.Дымшиц

Новосибирск 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Артериальная гипертензия	14
1.1.1. Моногенные, или менделевские формы гипертензии	15
1.1.2. Полигенные формы артериальной гипертензии. Гипертоническая болезнь, или эссенциальная гипертензия	16
1.1.3. Изучение гипертензии на животных моделях	17
1.1.3.1. Крысы НИСАГ	19
1.1.4. Стресс как фактор, провоцирующий развитие артериальной гипертензии	23
1.2. Физиологические системы и их роль в повышении АД	24
1.2.1. Симпатоадреналовая система и контроль артериального давления	24
1.2.2. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РАС): ее роль в регуляции АД и в формировании гипертензивного статуса	26
1.2.2.1. Регуляция циркулирующей РАС – классические пути	26
1.2.2.2. Основные компоненты РАС	27
1.2.2.2.1. Ренин	27
1.2.2.2.2. Ангиотензиноген	28
1.2.2.2.3. Ангиотензин-превращающий фермент (АСЕ)	29
1.2.2.2.4. Ang II и его рецепторы	31
1.2.2.2.5. «Новые» компоненты РАС	33
1.2.2.3. Локальные тканевые РАС	39
1.2.2.3.1. Почечная РАС	40
1.2.2.3.2. РАС в сердце	43
1.2.2.3.2.1. Функции кардиальной РАС	49
1.2.2.3.3. РАС мозга	54
1.2.2.3.3.1. Функции мозговой РАС	60
1.2.2.3.4. Адренальная РАС	67
1.2.2.3.4.1. Функции РАС в надпочечнике	70
1.2.2.3.5. Сосудистая РАС	73
1.2.2.3.5.1. Функции сосудистой РАС	76
1.2.2.3.6. Другие тканевые РАС	80

1.2.2.4. Значение внутриклеточной РАС	82
1.2.3. Циклооксигеназы и синтез простагландинов	83
1.2.3.1. Структура и клеточный синтез ПГ	84
1.2.3.2. Формы циклооксигеназ	86
1.2.3.3. Рецепторы простаноидов	88
1.2.3.4. Регуляция циклооксигеназ	88
1.2.3.4.1. Регуляция COX на уровне транскрипции	88
1.2.3.4.2. Регуляция циклооксигеназ на пост-транскрипционном пре-трансляционном уровне	90
1.2.3.4.3. Регуляция циклооксигеназ на пост-трансляционном уровне	91
1.2.3.5. Циклооксигеназы и простаноиды в здоровье и болезни	92
1.2.3.5.1. COX-1 и COX-2 в центральной нервной системе	92
1.2.3.5.1.1. Простагландины в ЦНС	94
1.2.3.5.1.2. Простагландины и стресс – связь с ГГАС и СНС	96
1.2.3.5.2. COX-2 и синтез простагландинов в надпочечниках	99
1.2.3.5.3. COX-2 в почках	102
1.2.3.5.3.1. Почечные эффекты простагландинов	104
1.2.3.5.4. Сердечнососудистая система и простагландины	107
1.3. Современные представления о механизмах возникновения гипертонии	111
1.3.1. Гипотеза единого пути развития эссенциальной гипертонии	113
1.4. Заключение	116
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	118
2.1. Материалы	118
2.2. Праймеры	118
2.3. Экспериментальные животные	121
2.3.1. Артериальное давление.	121
2.4. Водная депривация.	122
2.5. Выделение суммарной РНК из тканей	122
2.6. Получение кДНК (обратная транскрипция)	122
2.7. Определение уровней содержания мРНК	123
2.7.1. Построение калибровочных кривых при ПЦР в реальном времени	123
2.7.2. Определение относительных уровней мРНК методом ПЦР в реальном времени с применением красителя SYBR Green I	124
2.7.3. Статистическая обработка результатов	125
2.8. Выделение ДНК из печени крыс	125

2.9. Определение нуклеотидной последовательности 5'-области гена <i>Lngfr</i>	126
2.9.1. Полимеразная цепная реакция	126
2.9.2. Секвенирование	126
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	127
3.1. Экспрессия генов PAC у крыс WAG и НИСАГ	127
3.1.1. Уровень экспрессии генов PAC в почках	127
3.1.1.1. Экспрессия генов PAC в почках молодых (1,5 мес) крыс	127
3.1.1.2. Уровень мРНК генов PAC в почках зрелых (4 мес) крыс в покое и при водной депривации.	130
3.1.2. Экспрессия генов PAC в миокарде	130
3.1.2.1. Уровень мРНК генов PAC у молодых (1,5 мес) крыс	130
3.4.2.2. Уровень мРНК генов PAC у зрелых (4 мес) крыс в покое и при водной депривации.	132
3.1.3. Экспрессия генов PAC в мозговых структурах	133
3.1.3.1. Уровень мРНК генов PAC у молодых (1,5 мес) крыс	133
3.1.3.1.1. Уровень мРНК генов PAC в гипоталамусе	133
3.1.3.1.2. Уровень мРНК генов PAC в продолговатом мозге	134
3.1.3.2. Уровень мРНК генов PAC в мозге зрелых (4 мес) крыс	135
3.1.3.2.1. Уровень мРНК генов PAC в гипоталамусе в покое и при водной депривации.	135
3.4.3.2.2. Уровень мРНК генов PAC в продолговатом мозге	137
3.1.4. Экспрессия генов PAC в надпочечниках	137
3.1.4.1. Уровень мРНК генов PAC у молодых (1,5 мес) крыс	137
3.1.4.2. Уровень мРНК генов PAC у зрелых (4 мес) крыс в покое и при водной депривации.	138
3.1.5. Экспрессия гена <i>Ace</i> в легких	139
3.2. Экспрессия гена <i>Th</i> у крыс линий WAG и НИСАГ в состоянии покоя и стресса водной депривации.	140
3.2.1. Уровень мРНК гена <i>Th</i> в надпочечниках	140
3.2.2. Уровень мРНК гена <i>Th</i> в мозговых структурах	141
3.3. Экспрессия гена <i>Cox-2</i> у крыс линий WAG и НИСАГ в состоянии покоя и стресса водной депривации.	143
3.3.1. Уровень мРНК гена <i>Cox-2</i> в почках	143
3.3.1.1. Уровень мРНК гена <i>Cox-2</i> в почках молодых крыс	143
3.3.1.2. Уровень мРНК гена <i>Cox-2</i> в почках взрослых крыс.	143

3.3.2. Уровень мРНК гена <i>Cox-2</i> в мозге	144
3.3.2.1. Уровень мРНК гена <i>Cox-2</i> в гипоталамусе	144
3.3.2.2. Уровень мРНК гена <i>Cox-2</i> в продолговатом мозге	145
3.3.3. Уровень мРНК гена <i>Cox-2</i> в надпочечниках	146
3.4. Поиск корреляций в экспрессии изучаемых генов у молодых крыс WAG и НИСАГ	
3.4.1. Корреляции в уровнях мРНК одноименных генов в разных органах	147
3.4.2. Корреляции в уровнях мРНК генов, относящихся к разным системам, внутри одного органа	148
3.4.3. Корреляции в уровнях мРНК генов разных органов и систем	149
3.5. Секвенирование кодирующего сигнальный пептид фрагмента гена <i>Ngfr</i> крыс линий НИСАГ и WAG	152
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	153
4.1. Экспрессия генов ренин-ангиотензиновой системы и <i>Cox-2</i> у крыс линии НИСАГ	153
4.1.1. Экспрессия генов РАС в почке	153
4.1.2. Экспрессия генов РАС в миокарде	161
4.1.3. Экспрессия генов РАС в мозге	167
4.1.4. Экспрессия генов РАС в надпочечниках	177
4.2. Экспрессия <i>Th</i> у крыс линии НИСАГ	180
4.3. Секвенирование кодирующего сигнальный пептид фрагмента гена <i>Ngfr</i> ; характеристика локуса этого гена	185
4.4. Заключение	194
ВЫВОДЫ	196
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	198

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГ – артериальная гипертония
- АД – артериальное давление
- АКТГ – адренокортикотропный гормон
- ГГАС – гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система
- КРГ – кортикотропин рилизинг гормон
- ЛПС – липополисахарид
- НИСАГ (ISIAH) – линия крыс с наследственной индуцируемой стрессом артериальной гипертонией
- ПГ – простагландин
- РАС – ренин-ангиотензиновая система
- САС – симпатоадреналовая система
- СНА – симпатическая нервная активность
- СНС – симпатическая нервная система
- ЦНС – центральная нервная система
- ЮГ – юкстагломерулярные (клетки, аппарат)
- АА – арахидоновая кислота
- АСЕ – angiotensin converting enzyme (ангиотензин-превращающий фермент)
- Ace* – ген АСЕ
- АСЕI – ингибитор АСЕ
- Ac-SDKP – гематопозитический фрагмент acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro (субстрат АСЕ)
- Agt – ангиотензиноген
- Agt* – ген ангиотензиногена
- Agtr1a, Agtr2* – гены рецепторов ангиотензина 1А- и 2-го типа
- Ang – ангиотензин
- ARB – блокатор рецептора AT1
- AT1A и AT2 – рецепторы ангиотензина 1А- и 2-го типа
- B2 – рецептор брадикинина
- БК – брадикинин
- СОХ – простагландин-эндопероксид-Н-синтаза, РGH-синтаза, КФ 1.14.99.1
- Cox-2* – ген циклооксигеназы-2
- СВО – циркумвентрикулярные органы
- ДОСА – дезоксикортикостерон ацетат

- DTT – дитиотрейтол
- ENaC – эпителиальный натриевый канал
- GPCR – 7-трансмембранные, сопряженные с G-белком рецепторы
- GR – глюкокортикоидный рецептор
- ICV – интрацеребровентрикулярное (введение)
- IEG – «немедленно-ранние» гены, «гены быстрого реагирования»
- IL – интерлейкин
- JAK – Янус-киназа
- LVH – гипертрофия левого желудочка сердца
- MAPK – митоген-активируемая протеин-киназа
- MD – плотное пятно (в почке)
- MR – минералокортикоидный рецептор
- NOS – NO-синтаза
- NTS – ядро одиночного пути (солитарного тракта)
- PRR – рецептор проренина/ренина
- PVN – паравентрикулярное ядро гипоталамуса
- Ren* – ген ренина
- ROS – активные формы кислорода
- Rpl30* – ген рибосомного белка большой субъединицы 30
- RVLM – ростральная вентролатеральная область мозга
- SDS – додецил-сульфат натрия
- SFO – субфорникальный орган
- SOCS – супрессор сигнальных путей цитокинов
- SON – супраоптическое ядро
- SPGNs – sympathetic postganglionic neurons – симпатические постганглионарные нейроны
- STAT – сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции
- TH – тирозин-гидроксилаза
- Th* – ген тирозин-гидроксилазы
- TNF- β – цитокин фактор некроза опухолей- β
- VP – вазопрессин
- VSMC - клетки гладкой мускулатуры сосудов
- WAG – Wistar Albino Glaxo – нормотензивная линия крыс

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Изучение механизмов артериальной гипертонии актуально ввиду широкого распространения этого заболевания, являющегося одной из главных причин нетрудоспособности и смертности среди населения Земли. Разработанные в последние десятилетия методы позволили перейти от эмпирического описания к выяснению глубоких генетических и биохимических причин, лежащих в основе гипертонической болезни, а также к пониманию того, что спектр этих причин многообразен. Генетические факторы дают существенный вклад в регуляцию артериального давления (АД): считается, что 30-60% наблюдаемых вариаций в АД определяются генотипом. Факторы среды и питания, различный стиль жизни также играют роль в патогенезе первичной гипертонии как важные, но поддающиеся модификации факторы риска, и определяют оставшуюся часть вариации АД. Немалую роль в развитии болезненного состояния играет стресс, в том числе эмоциональный, особенно в тех случаях, когда стрессирующее воздействие падает на почву генетической предрасположенности. Адекватная модель такого состояния – линия крыс с наследственной индуцируемой стрессом артериальной гипертонией (НИСАГ) – позволяет исследовать механизмы возникновения и развития стресс-чувствительной формы артериальной гипертонии.

За годы, прошедшие с момента создания линии НИСАГ, у этих животных были исследованы физиологические функции таких систем ответа на стресс, как гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная (ГГАС) и симпатoadреналовая (САС), а также транскрипционная активность их ключевых генов. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РАС) получила меньше внимания исследователей, хотя в последние годы все более активно изучается функция секреции альдостерона надпочечниками.

Однако авторы обзоров литературы, посвященных гипертонии, сходятся во мнении, что развитие гипертонической болезни, независимо от исходной причины, непременно затрагивает механизмы водно-солевого обмена, а значит, и систему, непосредственно с ним связанную – РАС. Более того, в последние десятилетия усилилось понимание значимости не только системной, но и локальных РАС – в почках, сердце, надпочечниках и едва ли не в первую очередь в мозге, – функции которых могут как влиять на формирование гипертонического статуса, так и меняться под его воздействием. Поэтому анализ активности РАС в органах, связанных с сердечнососудистым гомеостазом, должен быть одним из приоритетных направлений в исследовании природы артериальной гипертонии.

Экспрессию генов РАС у крыс НИСАГ до сих пор изучали в основном на уровне белковых продуктов (например, определения активности ренина или ACE). Но транскрипционную активность генов РАС (за исключением ренина) в почке крыс этой линии,

как и в других органах, связанных с водно-солевым обменом и сердечно-сосудистым гомеостазом, не исследовали. Более того, не была исследована и экспрессия генов РАС у молодых крыс в период становления гипертонии.

Согласно современным концепциям (Johnson et al., 2008), развитие гипертонии проходит через две фазы. Во время первой фазы гипертония соль-резистентна и ренин-зависима, а почки функционируют нормально. Ранняя гипертония ассоциирована с низким объемом крови, повышенным уровнем ренина плазмы и гиперактивной симпатической нервной системой. Спустя время, вазоконстрикторные ответы ведут к развитию прегломерулярной артериопатии и кортикальной почечной ишемии. Последствием этого является как сокращение почечной фильтрации, так и рост тубулярной абсорбции натрия, что ведет к повышению АД.

Известно, что у крыс других линий с низкорениновой формой гипертонии в раннем возрасте экспрессия ренина в почке повышена (Gomez et al., 1988; Sassard et al., 2003), а короткая блокада РАС приводит к долговременному снижению АД и задержке формирования гипертензивного статуса. Показано, что воздействие антигипертензивных средств на крыс НИСАГ в препубертатном возрасте (до 6 нед) также смягчает проявления гипертонии в последующем (Филюшина и др., 2007). Исходя из этих данных, кажется необходимым изучать функционирование РАС не только на взрослых животных, но и на крысах в критическом возрасте формирования гипертензивного статуса.

Невозможно рассматривать действие РАС изолированно, вне связи с другими физиологическими системами. Так, симпатическая нервная система управляет экспрессией ренина в почке и сама, в свою очередь, зависит от уровня Ang II как в циркуляционном русле, так и в структурах мозга. В лаборатории эволюционной генетики ИЦиГ СО РАН было показано, что базальный уровень адреналина в надпочечниках у крыс линии НИСАГ повышен (Маркель и др., 2006; Markel et al., 2007). Это заставляет полагать, что у крыс этой линии присутствуют изменения в цепи биосинтеза катехоламинов. В работе Бузуевой и сотр. (2006) показана повышенная гормон-синтетическая активность хромоаффинных клеток уже у 3-недельных крысят НИСАГ.

Высокая симпатическая нервная активность, стимулирующая РАС и ведущая к развитию гипертонии, может иметь причиной особенности формирования симпатической нервной системы. Так, у крыс широко известной гипертензивной линии SHR выявлены гипериннервация сосудистой ткани и гипертрофия симпатических ганглиев, причиной чего может являться изменение восприимчивости симпатических нервов к фактору роста нервов NGF (Nemoto et al., 1994) из-за точечной мутации в нуклеотидной последовательности, соответствующей сигнальному пептиду, гена *Ngfr* (рецептора NGF низкой аффинности). С

локусом этого гена у крыс SHR ассоциировано высокое АД (Hilbert et al., 1991), а у молодых крыс НИСАГ – повышение АД при стрессе (Редина и др., 2003), поэтому можно предположить наличие сходной мутации у животных этих двух линий. Выявить такую мутацию можно методом секвенирования соответствующего участка.

Ранее была показана повышенная активность ГГАС у крыс линии НИСАГ. Реакция ГГАС на стресс и секреция глюкокортикоидов требуют посредников-простагландинов, чей синтез может модулироваться главным эффектором РАС ангиотензином II и его рецепторами. Секреция ренина в почке также регулируется простагландинами – продуктами действия фермента циклооксигеназы (COX)-2. Но система биосинтеза простагландинов у крыс НИСАГ до сих пор оставалась вне внимания исследователей, за исключением работы Амстиславского и соавт. (Amstislavsky et al., 2005), где иммуногистохимически и методом полуколичественной ПЦР показано снижение уровня мРНК и белка COX-2 в почке крыс НИСАГ.

Учитывая все вышесказанное, для изучения были выбраны, помимо генов РАС, ключевые гены систем биосинтеза катехоламинов (ген тирозин-гидроксилазы *Th*) и простагландинов (ген циклооксигеназы *Cox-2*).

Цель работы:

У генетической модели стресс-индуцируемой гипертонии – крыс НИСАГ определить транскрипционную активность генов ренин-ангиотензиновой системы и связанных с ее функционированием генов тирозин-гидроксилазы и циклооксигеназы-2 в условиях покоя и стресса 17-часовой водной депривации.

В связи с этим были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать транскрипционную активность ключевых генов РАС (*Ren*, *Ace*, *Ace2*, *Agt*, *Agtr1a* и *Agtr2*) в почке, миокарде, отделах мозга (гипоталамус и продолговатый мозг) и надпочечнике у молодых (6 недель) и взрослых (4 мес) крыс линии НИСАГ и контрольной нормотензивной линии WAG.
2. Сравнить уровень экспрессии генов РАС (*Ren*, *Ace*, *Ace2*, *Agt*, *Agtr1a* и *Agtr2*) в почке, миокарде, гипоталамусе и надпочечнике взрослых крыс линий НИСАГ и WAG в условиях покоя и мягкой (17 часов) водной депривации.
3. В качестве показателя активности катехоламинергической системы изучить транскрипционную активность гена *Th*, кодирующего тирозин-гидроксилазу, в отделах мозга и надпочечнике у крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 6 недель и 4 мес. Сравнить уровень экспрессии гена *Th* у взрослых крыс линий НИСАГ и WAG в условиях покоя и водной депривации в гипоталамусе и надпочечнике.

4. Провести у крыс НИСАГ поиск мутации в гене *Ngfr*, аналогичной влияющей на иннервацию сосудистой стенки у крыс SHR.
5. В качестве показателя активности системы биосинтеза простагландинов изучить транскрипционную активность гена *Cox-2*, кодирующего циклооксигеназу-2, в почке, отделах мозга и надпочечнике у крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 6 недель и 4 мес. Сравнить уровень экспрессии гена *Cox-2* в почке, гипоталамусе и надпочечнике взрослых крыс линий НИСАГ и WAG в условиях покоя и водной депривации.

Научная новизна работы. В работе впервые:

- проведено комплексное исследование транскрипционной активности генов локальных (тканевых) РАС у молодых (1,5 мес) и взрослых (4 мес) крыс линий НИСАГ и WAG методом ПЦР в реальном времени. Показана повышенная транскрипционная активность гена *Ren* в почке, а также гена *Agt* в гипоталамусе и продолговатом мозге у молодых крыс НИСАГ. Показан дисбаланс экспрессии генов ангиотензиновых рецепторов в мозге и надпочечниках. У взрослых крыс НИСАГ показано снижение транскрипционной активности почечной РАС, а также рост экспрессии *Ace* в миокарде, характерный для сформировавшейся левожелудочковой гипертрофии.
- Показано повышение экспрессии ключевого гена системы биосинтеза катехоламинов – тирозин-гидроксилазы *Th* у молодых крыс НИСАГ в гипоталамусе и у взрослых – в продолговатом мозге.
- Показано повышенное содержание мРНК *Cox-2* в гипоталамусе, продолговатом мозге и надпочечниках молодых крыс НИСАГ.
- При водной депривации обнаружен рост экспрессии гена *Th* в гипоталамусе, а также рост уровня мРНК *Cox-2* в почках и его снижение – в надпочечнике у крыс НИСАГ, тогда как у крыс WAG реакция на этот стресс проявляется в росте экспрессии гена *Agtr1a* в надпочечнике и *Ren* – в гипоталамусе.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Работа расширяет имеющиеся представления о роли и механизмах участия локальных (тканевых) РАС, и прежде всего РАС мозга, в становлении стресс-чувствительной формы артериальной гипертонии. Данные об особенностях экспрессии генов РАС, а также генов *Th* и *Cox-2*, у гипертензивных животных могут быть использованы при разработке мер профилактики и лечения гипертонической болезни.

Положения, выносимые на защиту:

1. Транскрипционная активность ключевого гена РАС почки, ренина (*Ren*), повышена у молодых и снижена у взрослых крыс НИСАГ.
2. В гипоталамусе и продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ повышена транскрипционная активность генов РАС, что ведет к активации симпатической нервной системы и к росту АД. Дисбаланс экспрессии рецепторов ангиотензина II в гипоталамусе и продолговатом мозге, как и снижение уровня экспрессии *Ace2* в гипоталамусе, также связаны с ростом АД.
3. Экспрессия генов РАС в мозговых структурах интактных взрослых крыс НИСАГ не отличается от таковой у крыс WAG, за исключением гена *Ace2*. Стресс обезвоживания снижает уровень экспрессии *Ren* в гипоталамусе у крыс WAG, но не НИСАГ.
4. В миокарде взрослых крыс НИСАГ повышена экспрессия гена *Ace*, что характерно для левовентрикулярной гипертрофии, и эта экспрессия снижается при стрессе обезвоживания.
5. В надпочечниках молодых крыс НИСАГ снижена экспрессия гена *Agtr2*, что способствует повышению АД. У взрослых интактных крыс различия отсутствуют, но стресс обезвоживания снижает экспрессию *Agtr1a* только у крыс WAG.
6. У крыс НИСАГ повышена транскрипционная активность гена *Th* в структурах мозга. Стресс обезвоживания у взрослых крыс НИСАГ увеличивает уровень экспрессии *Th* в гипоталамусе.
7. У крыс нормотензивной линии WAG и гипертензивной линии НИСАГ последовательность, кодирующая сигнальный пептид рецептора LNGFR, не содержит мутации, найденной у крыс линии SHR.
8. Система биосинтеза простагландинов активирована в мозговых структурах и надпочечниках у молодых, но не у взрослых, крыс НИСАГ. Это может являться одним из начальных этапов активации ГГАС. У интактных взрослых крыс НИСАГ уровень мРНК *Cox-2* понижен в почках, но стресс обезвоживания приводит к его росту.
9. Анализ корреляций экспрессии изучаемых генов у молодых крыс НИСАГ и WAG указывает на значительную разницу между линиями животных в связях между транскрипционной активностью генов различных систем и органов.

Апробация результатов.

Материалы диссертации обсуждены на IV съезде Российского общества биохимиков и молекулярных биологов (г. Новосибирск, 2008), Сибирском физиологическом съезде (г.

Барнаул, 2008), V съезде ВОГИС (г. Москва, 2009), XXII Съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (г. Волгоград, 2013), Школе молодых ученых «Геномика и биология клетки» (г. Москва – Звенигород, 2010), конференциях «Фундаментальные науки – медицине» (г. Новосибирск, 2008, 2010, 2012, 2013), «Медицинская геномика и протеомика» (г. Новосибирск, 2009), «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (г. Санкт-Петербург, 2010, 2011), «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии» (г. Курск 2011), отчетной сессии Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск, 2013).

По результатам исследования опубликовано 8 печатных работ в рецензируемых изданиях, из них 6 – в отечественных, входящих в список ВАК, и 2 – в зарубежных. Кроме того, опубликовано 6 статей в сборниках трудов конференций и 10 тезисов.

Структура и объем диссертации.

Диссертационная работа состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора литературы, описания используемых материалов и методов, результатов, обсуждения, выводов, списка цитируемой литературы. Работа изложена на 262 страницах, содержит 48 рисунков и 3 таблицы. Библиографический указатель литературы включает 993 источника, из них 32 отечественных и 961 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Артериальная гипертензия

Артериальная гипертензия (АГ) – это патология, основным симптомом которой является стойкое повышение артериального давления, которое наблюдается не только во время физической активности, но и в покое, что приводит в конечном итоге к поражениям органов как самой сердечно-сосудистой системы, так и других органов-мишеней (почек, мозга). Термин «высокое артериальное давление» (гипертензия) адекватно описывает временное состояние, вызываемое стрессом или физической нагрузкой, в то время как «гипертония» - это более подходящий термин для постоянного болезненного состояния (Nakayama, 2005). При гипертонии состояние постоянно повышенного артериального давления обусловлено в первую очередь повышенным сосудистым сопротивлением в системной циркуляции.

Гипертония – одна из ведущих причин нетрудоспособности, заболеваемости и смертности среди населения; это наиболее распространенное хроническое заболевание в мире (Рис. 1.1). Она является одной из главных причин появления таких осложнений как мозговой инсульт, инфаркт миокарда и почечная недостаточность (NIH, 2004; WHO, 2012).

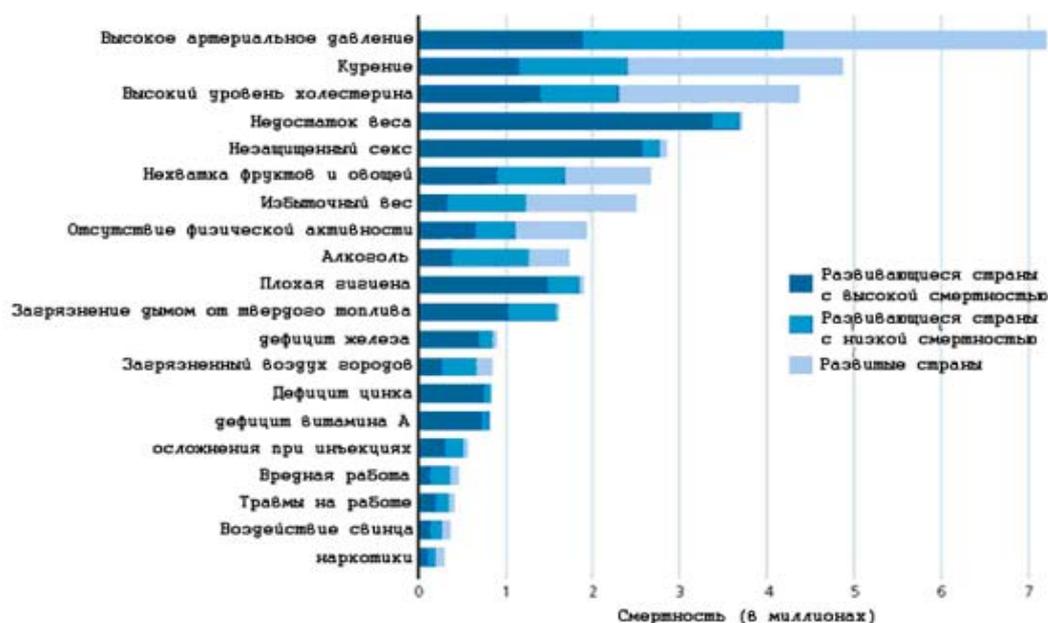


Рис. 1.1. Смертность от 20 лидирующих факторов риска в мире в 2002 году (по AHA, 2007, с модификациями).

Согласно сегодняшнему пониманию, артериальное давление (АД) – это тонко регулируемый физиологический количественный показатель, на который влияет множество регуляторных факторов, действие которых, в конечном счете, интегрируется на уровне целого организма для обеспечения адекватного кровотока во всех тканях и органах, несмотря на широко различающиеся местные метаболические потребности (Roskopf et al., 2007).

Вариабельность АД в человеческой популяции описывается нормальным распределением. Учитывая это непрерывное распределение уровней АД, классификация гипертонии как дискретного свойства требует определения пороговых значений АД, при которых повышается кардиоваскулярный риск или становятся необходимы терапевтические вмешательства. Повышенным считается систолическое давление от 140, а диастолическое – от 90 мм рт.ст. (NCHS, 2011).

Обширные литературные данные показывают, что генетические факторы дают существенный вклад в регуляцию АД. Наблюдается корреляция между значениями АД родителей и потомков, и документально подтверждено, что сходство значений АД внутри семей сильнее, чем между семьями (Longini et al., 1984). Наблюдения за монозиготными близнецами демонстрируют более значительные совпадения, чем у гетерозиготных близнецов. Наблюдения за приемными детьми также показали, что внутрисемейные совпадения уровней АД не являются просто следствием сходных условий жизни, поскольку биологические братья и сестры имели более высокий уровень совпадений, чем приемные (Rice et al., 1989). Факторы среды и питания, различный стиль жизни также дают свой вклад в патогенез первичной гипертонии как важные, но поддающиеся модификации факторы риска. Считается, что 30-60% наблюдаемых вариаций в АД определяются генотипом (Garcia et al., 2003), причем это влияние имеет полигенную основу и определяется действием пяти, десяти или даже большего числа генов, каждый из которых дает только весьма ограниченный вклад. Средовые влияния, включая питание, определяют оставшуюся часть вариации АД (Roszkopf et al., 2007). Таким образом, мы стоим перед сложным взаимодействием повышающих и снижающих АД генов, многие из которых обладают плейотропными эффектами, в сочетании с множеством экзогенных факторов. Кроме того, первичная гипертония тесно связана с множеством других заболеваний, включая метаболический синдром, диабет второго типа, преэклампсию или почечные заболевания.

1.1.1. Моногенные, или менделевские формы гипертонии

Моногенные, или менделевские, формы гипертонии – это крайне редкие нарушения. Подробное описание моногенных форм гипертонии можно найти, например, в обзорной статье Roszkopf и соавт. (Roszkopf et al., 2007). Среди них – излечимый глюкокортикоидами альдостеронизм, кажущийся избыток минералокортикоидов (АМЕ), синдром Лиддла, мутации минералокортикоидного рецептора, синдром Гордона (псевдоальдостеронизм 2 типа) и другие.

Помимо моногенных форм гипертензивного синдрома, для которых гипертония – это лидирующий симптом, существуют и другие сложные генетические синдромы, которые

сопровождается повышением АД, например, семейная феохромоцитома. Интересно, что большинство идентифицированных мутаций, вызывающих гипертонию, так или иначе, затрагивают почечный гомеостаз Na^+ . Повышенная задержка натрия почкой сопровождается ростом реабсорбции воды, приводя к увеличению внутрисосудистого объема. В свою очередь, рост сердечной нагрузки (preload – т.е. объем венозной крови, возвращаемой в сердце) повышает минутный объем крови и АД. Таким образом, большинство описанных генетических отклонений при моногенных формах артериальной гипертонии связаны с почечной регуляцией обмена соли и воды. Это позволяет рассуждать о том, что в полигенной гипертонии генетические отклонения в почечных механизмах могут также иметь ключевое значение.

1.1.2. Полигенные формы артериальной гипертонии. Гипертоническая болезнь, или эссенциальная гипертония

Эссенциальная гипертония составляет около 90-95% всех случаев гипертонии у людей (Rassler, 2010). В отличие от редких случаев моногенной гипертонии, первичная, или эссенциальная гипертония определяется полигенными механизмами, мозаикой нейтральных, гормональных и клеточных отклонений с сильным влиянием условий жизни и факторов среды. У большинства таких пациентов гипертония имеет полигенную основу и проявляет различные свойства. В частности, проявления соль-чувствительности отличаются в широких пределах, подразделяя гипертоников на соль-чувствительных и соль-резистентных. В литературе утверждения, касающиеся процента соль-чувствительных пациентов, колеблются между 30% и 70% (Weinberger, 1996; Frohlich, 2005) Есть свидетельства, что вклад определенных генетических полиморфизмов меняется в зависимости от этнической принадлежности. За последнее десятилетие многие гены были включены в список генов-кандидатов гипертонической болезни.

Невероятное количество денег и человеческих усилий затрачено на изучение генетической базы гипертонии. Два из таких исследований опубликованы как статьи-компаньоны (Newton-Cheh et al., 2009; Levy et al., 2009). Список учреждений, уже не говоря о соавторах, занятых в этих работах, исчисляется десятками и сотнями. Обычным результатом подобных исследований, посвященных геномным ассоциациям, является вывод о том, что не существует такой вещи как «ген или гены гипертонии» в популяции в целом. Также становится ясно, что поиск генетической основы гипертонии, а точнее сказать, регуляции кровяного давления, находится в самом начале пути. Авторы этих статей указывают, что для каждого аллеля, для которого обнаружена ассоциация с изменением кровяного давления, реальный вклад в это изменение составляет не более 0.05–0.5 mm Hg. Даже при сочетании нескольких

аллельных вариантов АД меняется лишь на 4–6 mm Hg и составляет менее 5–10% вариации. Возможно, что при более точном генетическом анализе определенных аллелей эти ассоциации станут несколько сильнее. Тем не менее, конечная цель поиска генетических вариантов – привести к более специфическим или даже к совершенно новым терапевтическим подходам – зачастую остается в области мечты. Прежде всего, гипертония может быть конечным результатом действия множества механизмов, и их проявление может иметь различное количественное значение для каждого пациента. Факторы окружающей среды взаимодействуют с генетическим фоном. Таким образом, генетический подход далеко не всегда способен привести к клинически значимым результатам. Этот путь исследования может объяснить лишь малую долю популяционных рисков, хотя может оказаться значительно полезнее при поиске индивидуального подхода к терапии и мишеней для новых антигипертензивных стратегий лечения (Mann, 2010).

1.1.3. Изучение гипертонии на животных моделях

Использование экспериментальных животных может дать существенный вклад в понимание патогенеза заболевания. Хотя животные модели полностью не могут повторить клиническую картину болезни человека, они позволяют получать информацию о специфических событиях и чертах, а также контролировать происходящие изменения при вмешательствах, часто инвазивных, которые трудно или вообще невозможно применить в клинических исследованиях. Главными преимуществами животных моделей являются использование контрольных групп и возможность задания условий, при которых результаты могут меняться после изменения одного или нескольких факторов. Ограничения же происходят из различий между патологиями человека и животных. Могут оказаться важными анатомические различия между филогенетически далекими видами, они могут отвечать различным патофизиологическим механизмам, а ответ на фармакологическое воздействие может происходить различными путями. Поэтому экстраполяция экспериментальных результатов на человеческую патологию должна приниматься с осторожностью (Chorro et al, 2009).

Первоначально гипертоническую болезнь моделировали путем хирургического вмешательства либо химических воздействий. К таким экспериментальным моделям относится в первую очередь модель почечной ишемии при стенозе почечной артерии у собак, описанная впервые Гольдблаттом еще в 30-е годы прошлого столетия (Bader, 2010). В других экспериментальных моделях повышения АД добиваются введением вазоконстрикторного

пептида ангиотензина (Ang) II, или дезоксикортикостерон ацетата (DOCA) в сочетании с высокосолевой диетой, либо блокадой синтеза NO (Gross, 2009; Bader, 2010).

Однако любая такая экспериментальная модель всегда подразумевает внешнее вмешательство. Для понимания механизмов возникновения и развития гипертонической болезни более адекватными были бы модели, в которых исходно к болезни приводят внутренние (в том числе генетические) причины. Для этого были селектированы линии лабораторных животных, и прежде всего крыс, с исходно высоким АД. К таким линиям относятся крысы SHR, которые были выведены по признаку высокого АД без провокативных стимулов Okamoto и Aoki (Okamoto, Aoki, 1963) в Киото, Япония.

Еще до достижения полного инбридинга, одна сублиния крыс SHR с исключительно высоким АД оказалась предрасположенной к инсультам (SHRSP). Хотя очень высокое АД является несомненным фактором развития инсультов у крыс SHRSP, вероятно, присутствуют и дополнительные генетические факторы, помимо влияющих на АД, что было показано на поколении *F1* и бэкрассах из SHR и SHRSP (Nagaoka et al., 1976). Еще одна линия крыс на основе SHR – SHROB (Spontaneously Hypertensive Obese) – была получена из потомства от скрещивания самки SHR и нормотензивного самца Sprague Dawley (Koletsky et al., 2003). Эта линия характеризуется не только ожирением, но и гипертензией и нефропатией.

Соль-чувствительные (S) и соль-резистентные (R) крысы Dahl были выведены по признаку повышения их АД на фоне высокосолевой (8% NaCl) диеты. Эти крысы обозначаются как DS (Brookhaven) для соль-чувствительных и DR (Brookhaven) для соль-резистентных крыс Dahl. Крысы DS становятся гипертензивными и при нормальном, и даже при низком уровне соли, но только в возрасте нескольких месяцев. В отличие от них, крысы DR остаются нормотензивными даже при высокосолевой диете (Rapp 1982; Bashyam, 2007).

Крысы Sabra, подверженные гипертензии (SBH), и Sabra, устойчивые к гипертензии (SBN), были выведены на основе ответа АД на одностороннюю нефрэктомия, воздействие DOCA и 1% NaCl в питье (Ben-Ishay et al., 1972.).

Лионские линии крыс (Lyon) были селектированы по высокому (LH) или низкому (LL) АД, и третья линия (LN) была отобрана по нормальному давлению, без специальных провоцирующих воздействий (Dupont et al., 1973). По некоторым сообщениям, АД у крыс LL и LN было одинаковым и более низким, чем у крыс LH (Sassard et al., 1997).

На высокое и низкое давление без провоцирующих факторов селектированы миланские линии (MHS и MNS) (Bianchi et al., 1974) и новозеландские (GH) (Rapp, 2000).

В Праге проводили селекцию крыс с целью получения гипертриглицеридемической модели, которая оказалась также гипертензивной, что привело к получению Пражских гипертензивных (PHR) и Пражских нормотензивных крыс (PNR). Обе линии ведут начало от

единственной пары производителей крыс Вистар и проявляют относительно мягкую гипертонию с систолическим давлением около 170 мм рт.ст. (Heller et al., 1993).

Наконец, крысы Цукера – генетическая модель ожирения – также могут развивать индуцированную диетой гипертонию. Диета с умеренно-высоким содержанием жиров, вероятно, индуцирует нарушения в продукции NO, что, в свою очередь, ведет к соль-зависимому росту артериального давления у этих крыс (Morrison et al, 2007).

За последнее десятилетие список генетических моделей гипертонии пополнился новыми линиями (Gross, 2009; Bader, 2010), в том числе за счет трансгенных животных. Наиболее обычные трансгенные модели гипертонии включают манипуляции с ренин-ангиотензиновой системой. И наиболее часто упоминаемые среди них – это трансгенные по мышинному ренину крысы (Gross, 2009). Крысы TGR(mREN2)27 экспрессируют мышинный ренин в экстраренальных тканях, что ведет к повышенному локальному синтезу Ang II и росту концентраций альдостерона (Mullins et al.,1990). Гетерозиготные крысы TGR(mREN2)27 становятся гипертензивными и проявляют все признаки гипертонического повреждения органов, такие как кардиальная гипертрофия и фиброз, а также почечные нарушения (Böhm et al., 1996). Они стали часто используемой моделью гипертонии с систолическим давлением около 240 мм рт.ст. Гомозиготные крысы TGR(mREN2)27 еще более гипертензивны, и часто погибают в возрасте 12 недель (Lee et al.,1996a). Тем не менее, они используются в качестве модели сердечной недостаточности для изучения генетической предрасположенности к этой болезни (Sharma et al., 2004). Хотя данная модель далека от человеческой гипертонии, она делает возможным анализ *in vivo* последствий острой, моногенной активации PAC и позволяет идентифицировать тип гипертензивных нарушений при такой активации (Dornas & Silva, 2011).

Значительно большее количество трансгенных моделей гипертонии получено на мышах. Среди них – животные, конститутивно экспрессирующие рецептор ангиотензина AT1A; со сверхэкспрессией Ang II в сердце, почках или других органах; мыши, нокаутные по eNOS, по отдельным типам рецепторов эндотелина, брадикинина, витамина D, Ang II, адренорецепторам, глюкокортикоидному рецептору и т.д. (Gross, 2009). Существуют дважды- и трижды-нокаутные мыши, как и животные, несущие два, три и более трансгенов. Так, гипертензивные мыши Tsukuba экспрессируют полную PAC человека. Это модель гипертонии и атеросклероза с высокими уровнями циркулирующих Ang II и альдостерона (Tordjman et al., 2007) .

1.1.3.1. Крысы НИСАГ

Сегодня существует немало линий крыс и мышей, моделирующих развитие гипертонии. Однако ни одна из полученных на сегодняшний день линий животных не представляет всех

механизмов развития данного заболевания, поскольку гипертония может иметь разную этиологию. Каждая генетическая модель соответствует какой-либо одной форме артериальной гипертонии. В результате многолетней селекции в Институте цитологии и генетики СО РАН получена линия крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертонией (линия НИСАГ, или ISIAH) (Markel et al., 1999). Крысы линии НИСАГ представляют одну из наиболее удобных моделей для изучения развития гипертонической болезни под влиянием психоэмоционального стресса, который является важнейшим фактором формирования артериальной гипертонии человека.

Известно, что уровень стресса определяется как интенсивностью стимуляции (стрессора), так и чувствительностью или восприимчивостью организма к этой стимуляции, то есть фактически взаимодействием средовых и организменных, в том числе и генетических, факторов. Поэтому для создания экспериментальной модели стресс-чувствительной артериальной гипертонии проводилась работа по генетической селекции линии крыс, отличающихся повышенной чувствительностью к действию эмоциогенных стимулов, которая выражалась бы в увеличении АД (Markel, 1992). Важно отметить, что несмотря на то, что селекция велась на повышение АД при стрессе, результатом ее явилось также увеличение базального АД, которое достигло 160-170 мм рт. ст. Действие эмоционального стресса (рестрикция) приводит у крыс селекционированной линии к повышению АД еще на 35-40 мм рт. ст., в результате чего оно достигает 200 мм рт.ст. Таким образом, полученная линия крыс моделирует такое состояние, при котором имеется выраженная генетическая предрасположенность к развитию артериальной гипертонии при условии действия мягкого эмоционального стресса.

За прошедшие годы были исследованы многие физиологические и биохимические характеристики данной линии. Показано, что крысы НИСАГ характеризуются повышенной поведенческой активностью в незнакомой обстановке (тест открытого поля), что свидетельствует об их повышенной психологической возбудимости (Маркель и др., 2002). Отмечены изменения в концентрации и скорости обмена норадреналина, дофамина (Гордиенко и др., 1993; Маркель и др., 2006) и серотонина в отделах мозга, участвующих в регуляции артериального давления и стресс-реактивности (Маркель и др., 2002). Изменены концентрации и соотношения $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - и β -адренорецепторов в данных отделах мозга (Маркель, Шишкина, 1992). Внутримозговое введение фармакологических агентов, избирательно стимулирующих $\alpha 1$ -адренорецепторы, крысам НИСАГ приводит к повышению артериального давления, в то время как у контрольных крыс такая стимуляция сопровождается его снижением (Маркель и др., 2002). У гипертонических крыс также изменена реакция гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС) на стимуляцию $\alpha 1$ -адренорецепторов головного мозга

(Naumenko et al., 1989). Отсюда было сделано заключение, что изменение норадренергической регуляторной системы головного мозга у крыс НИСАГ может быть ответственно как за повышение АД, так и за изменение стрессовой реактивности. С особенностями функции норадренергической системы мозга связано, вероятно, повышение симпатической нервной активности у крыс НИСАГ. Это находит выражение в увеличении концентрации адреналина в мозговом слое надпочечников и повышении активности основных ферментов его биосинтеза (Маркель и др., 2002; Маркель и др., 2006). Отмечена гиперплазия мозгового вещества надпочечников у взрослых гипертензивных животных с выраженной АГ (Бузуева и др., 2006). Но наиболее характерные структурные изменения в надпочечниках крыс НИСАГ описаны в клубочковой зоне коры, продуцирующей минералокортикоиды (Бузуева и др., 1998; Бузуева и др., 2000). Амстиславский и др. (Amstislavsky et al., 2005) также указывают на увеличение размеров коры надпочечников. Эти гипертрофические изменения предотвращаются превентивным воздействием в препубертатный период эналаприла – ингибитора АСЕ (Бузуева, 2006) либо лозартана – блокатора рецепторов ангиотензина II (Бузуева и др., 2007), что указывает на роль РАС в развитии гипертрофии клубочковой зоны коры надпочечников у гипертензивных крыс НИСАГ. Интересно, что теразозин (α -адреноблокатор), наоборот, оказал на эту зону стимулирующее влияние (Бузуева и др., 2007). Вместе с тем, введение теразозина в раннем онтогенезе снижает реакцию АД взрослых крыс на хронический стресс и оказывает протекторное действие на надпочечник гипертензивных животных, причем в большей степени на хромоаффинные клетки мозгового вещества и в меньшей – на кору (Бузуева и др., 2010). Сетчатая зона коры надпочечников у крыс НИСАГ претерпевает гипотрофические изменения (Бузуева и др., 2008) в период, предшествующий установлению высокого АД, и сопровождает развитие гипертонии у этих животных.

Позднее была исследована секреторная активность коры надпочечника у гипертензивных крыс НИСАГ в сравнении с нормотензивными крысами линии WAG. Получено прямое подтверждение повышения этой активности у крыс линии НИСАГ, в состоянии покоя связанное в основном с усилением биосинтеза глюкокортикоидных гормонов (Антонов и др., 2010). Однако при стрессе отмечается усиленная реакция альдостерона, что позволяет сделать вывод о существенном участии альдостерона в патогенезе стресс-чувствительной артериальной гипертонии (Антонов и др., 2011).

Изменения функции ГГАС у крыс НИСАГ касаются как регуляторных, так и периферических её звеньев (Маркель и др., 2002). Базальная экспрессия гена, кодирующего ключевой регуляторный пептид проопиомеланокортин (ПОМК) в гипофизе, повышена (Хворостова и др., 2001). Эта система может быстро мобилизоваться и при некоторых видах стресса, что выражается в росте уровня мРНК гена КРГ в гипоталамусе и содержания АКТГ в

ткани гипофиза (Хворостова и др., 2003). Гормональный ответ на эмоциональный стресс со стороны коры надпочечников у крыс НИСАГ может значительно превышать таковой у нормотензивных крыс: уровень кортикостерона у животных гипертензивной линии превышает таковой у контрольных крыс WAG, уже начиная с 5-й минуты воздействия (Хворостова и др., 2002; Хворостова и др., 2003).

Со стороны сердечнососудистой системы у крыс НИСАГ были отмечены типичные для гипертонической болезни изменения: гипертрофия миокарда левого желудочка, характерные изменения сосудов (Шмерлинг и др., 1996; Коростышевская и др., 2001). Нарушения функции сердца были зафиксированы на ЭКГ (Маханова и др., 1997). Крысы линии НИСАГ склонны к возникновению инфарктов миокарда, которые легко могут быть спровоцированы инъекцией адреналина (Якобсон и др., 1995).

В работе Антонова и др. (Антонов и др., 2009) проведен анализ содержания альдостерона и глюкокортикоидов при экспериментальном инфаркте миокарда (ЭИМ). В остром периоде ЭИМ у крыс НИСАГ наблюдается резкое увеличение не кортикостерона, как это должно быть при выраженном стрессе, а альдостерона. Авторы считают это фактором экстракардиальной компенсации сердечной недостаточности, более выраженной у гипертензивных крыс. При выраженном кардионекрозе происходит первоначальный сдвиг стероидогенеза в сторону синтеза альдостерона, а не глюкокортикоидов, за счет активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РАС).

У крыс НИСАГ найдены также биохимические изменения на уровне клеточных мембран и связанные с этим нарушения транспортных функций: снижение активности фермента – почечной Na,K-АТФазы, регулирующего транспорт ионов Na^+ и K^+ , и изменения электролитного состава тканей и плазмы крови, что также характерно для гипертонической болезни (Лопина и др., 1991).

Анализ экспрессии генов методом ПЦР (Amstislavsky et al., 2005) показал ее снижение в почках взрослых крыс для генов NO-синтазы 1-го типа, циклооксигеназы COX-2 и ренина, в то время как экспрессия тубулярных генных продуктов, связанных с транспортом натрия, была повышена. Эти данные указывают на тенденцию к сохранению повышенного объема плазмы почкой.

Множественность отмеченных изменений вовсе не означает, что за каждым из них стоит свой генетический дефект (мутация). Многие изменения являются вторичными и возникают вследствие формирования патологического процесса, наподобие цепной реакции, некоторые же являются следствием повышения АД, например, гипертрофия левого желудочка, которая помогает сердцу преодолевать повышенное давление крови в аорте. В связи с этим, поиск первичных причин или генов, детерминирующих развитие артериальной гипертонии,

представляет сложную задачу. Однако сочетание методов классической генетики с использованием экспериментальных моделей животных и современных молекулярно-генетических подходов позволяет выявлять генетические факторы, отвечающие за возникновение и развитие разных форм гипертонической болезни (Lapteva et al., 1998; Кривенко и др., 1998; Редина и др., 2009).

Одним из подходов, использованных для идентификации генов, ответственных за стресс-зависимую артериальную гипертонию, было исследование генов, которые заведомо могут участвовать в регуляции артериального давления (“гены-кандидаты”) (Редина и др., 2003). С этой целью на популяции гибридов, полученных от скрещиваний гипер- и нормотензивных крыс (НИСАГ и WAG), исследовали полиморфизм микросателлитных последовательностей ДНК, маркирующих определенные участки генома. Исследован полиморфизм маркеров, локализованных в различных хромосомах крысы. В частности, сегрегационный анализ показал, что величина прироста АД при стрессе у молодых (3 мес) крыс ассоциирована с полиморфизмом района, включающего ген рецептора фактора роста нервов (*Ngfr*, 10-я хромосома). Известно, что этот фактор может играть существенную роль в онтогенетическом развитии норадренергических нервных структур, принимающих участие в регуляции АД. Кроме того, указанный район включает большое число генов, кодирующих регуляторные белки: цитокины, STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription), SOCS (Suppressor Of Cytokine Signaling), орексин и некоторые другие. Интересно, что по мере взросления крыс в патогенез гипертонической болезни включается уже другой генетический локус, где расположен ген, кодирующий субъединицу фермента Na,K-АТФазы, участвующей в регуляции водно-солевого баланса. Полиморфизм по этому локусу оказался связанным с уровнем АД у взрослых крыс. При этом влияние отличий по локусу гена *Ngfr* ослабевает. Наблюдается своеобразная “эстафета” генетико-физиологических механизмов в процессе формирования патологии (Редина и др., 2003).

Созданная в ИЦиГ СО РАН новая модель артериальной гипертонии – крысы линии НИСАГ – даёт возможность интенсивного исследования этиологии и патогенеза, а также методов профилактики и лечения стресс-чувствительной формы гипертонической болезни, которая развивается при взаимодействии таких факторов как генетическая предрасположенность и эмоциональный стресс.

1.1.4. Стресс как фактор, провоцирующий развитие артериальной гипертонии

Стресс, с одной стороны, – это важная адаптивная функция, которая ведет к повышению вероятности выживания, приспособлявая к чрезвычайным и опасным ситуациям. С другой

стороны, стресс может быть крайне вреден, будучи избыточным (Селье, 1982). В частности, индивидуум, неспособный справиться со стрессом, подвержен множеству заболеваний. Тем не менее, когда ГГАС, симпатoadреналовая и центральная катехоламинергическая системы активируются многократно в течение долгого периода времени, ответ становится не только адаптивным, но также и дезадаптивным (Chrousos & Gold, 1992; McEwen, 1998). Длительный стресс повышает аллостерическую нагрузку (McEwen & Stellar, 1993; Seeman et al., 1997) и дает основной вклад в развитие сердечно-сосудистых нарушений и психических болезней. Стресс также повышает восприимчивость организма к инфекциям, аутоиммунным заболеваниям, синдрому хронического ожирения и раку. Более того, стресс может влиять на развитие хронических заболеваний. Например, стресс неблагоприятно действует на поддержание надлежащего уровня глюкозы в крови при диабете. Предполагается, что около двух третей заболеваний либо являются стресс-индуцированными, либо связаны со стрессом (Sabban, 2007).

Современные концепции рассматривают стресс как осознанно или неосознанно ощущаемую угрозу гомеостазу (McEwen & Stellar, 1993; Goldstein & McEwen, 2002), при которой ответ имеет степень специфичности, зависящую, среди прочего, от специфических (особых) проблем для гомеостаза, от восприятия стрессора организмом, и от осознанной способности бороться с ним (Goldstein & Kopin, 2007). **Стресс определяется как условие, когда ожидания, генетически ли программируемые, установленные предыдущим обучением или выведенные из обстоятельств, не соответствуют текущим или предполагаемым восприятиям внутренней или внешней среды, и это расхождение между наблюдаемым или ощущаемым, с одной стороны, и ожидаемым или запрограммированным, с другой, приводит к соответствующим определенному образцу ответам** (Goldstein & Kopin, 2007)

1.2. Физиологические системы и их роль в повышении АД

1.2.1. Симпатoadреналовая система и контроль артериального давления

Артериальное давление меняется существенно в связи с поведением, но среднее за сутки АД точно и тонко регулируется. Сосудистое сопротивление и сердечный выброс (cardiac output) – две переменные, которые контролируются автономной нервной системой, и именно их производной является АД. Гипертония – это, по определению, хроническое повышение среднесуточного давления, и болезнь многими авторами трактуется как нейрогенная, поскольку это нарушение автономной нервной системы, а не первичный сосудистый или почечный дефект (Guyenet, 2006). Это нарушение может происходить из афферентного плеча системы (например, барорецепторов, хеморецепторов и почечных афферентов) или из ее центрального сегмента. Баросенситивные симпатические эфференты находятся под контролем артериальных

барорецепторов. Эта группа эфферентов играет доминирующую роль как в кратковременной, так и в долговременной регуляции АД. Уровень их активности в покое – наиболее критичный параметр для долговременного контроля. Эта фоновая активность устанавливается основной сетью нейронов, расположенных в ростральной вентро-латеральной медулле (RVLM), спинном мозге, гипоталамусе и ядре одиночного пути (NTS) (Guyenet, 2006). Три центральных области контроля — RVLM, NTS и гипоталамус — регулируют барочувствительные симпатические эфференты, а следовательно, и АД. Лимбические, кортикальные и структуры среднего мозга отвечают за быстрые изменения симпатического тонуса, связанные с поведением. Принято считать, что эти изменения не ассоциированы с долгосрочной регуляцией АД, возможно, за исключением обусловленной стрессом гипертензии.

Многие изменения в мозге (включая хирургическое повреждение, сверхэкспрессию NO-синтазы и специфическую для мозга экспрессию различных компонентов PAC) приводят к долговременным изменениям АД, демонстрируя, что ЦНС в норме дает вклад в долговременную регуляцию АД (Guyenet, 2006). Тот факт, что почечная денервация или специфические повреждения мозга снижают или предотвращают развитие гипертензии (DiBona & Корр, 1997; Jacob et al., 2005), также показывает, что ЦНС через иннервацию почки участвует в гипертензионном процессе. Тем не менее, точная роль ЦНС в долговременном контроле АД еще не до конца понята.

Повышенная симпатическая нервная активность (СНА) присутствует в большинстве форм гипертензии человека (Schlaich et al., 2004), и причинная связь подтверждается хорошо задокументированной антигипертензивной эффективностью симпатолитических лекарств (например, антагонистов адренорецепторов). Тем не менее, повышенная СНА не может быть единственным механизмом, участвующим в нейрогенной гипертензии, и как подъем СНА повышает среднесуточное АД, не установлено. Наиболее часто предполагаемый механизм – это переустановка почечной АД-натрийуретической связи до более высоких уровней АД либо путем роста симпатического тонуса в почке, либо посредством гормонов, продукция которых отчасти контролируется автономной нервной системой (например, Ang II). Рассматриваются и нарушения в нейральном контроле сердца и кровеносных сосудов (Guyton, 1991; DiBona & Корр, 1997; Guyenet, 2006).

1.2.2. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РАС): ее роль в регуляции АД и в формировании гипертензивного статуса

Учитывая ведущую роль РАС в долгосрочной регуляции АД и объема жидкости, а также в качестве мишени при лечении гипертензии, достаточно привычно рассматривать компоненты

РАС как гены-кандидаты при гипертонической болезни. В условиях сниженного почечного перфузионного давления, потери соли или объема жидкости, либо при симпатической активации, ренин выбрасывается из юкстагломерулярных (ЮГ) клеток в почках (Рис. 1.2). Он расщепляет неактивный пептид ангиотензиноген (Agt), синтезируемый в печени, до ангиотензина I, который превращается в Ang II конвертирующим ферментом (АСЕ). Ang II связывается со своими специфическими рецепторами на клетках гладкой мускулатуры сосудов, вызывая вазоконстрикцию, и в клубочковой зоне надпочечников, индуцируя секрецию альдостерона. Вазоконстрикция и опосредованная альдостероном реабсорбция натрия противодействуют начальному падению почечного перфузионного давления.

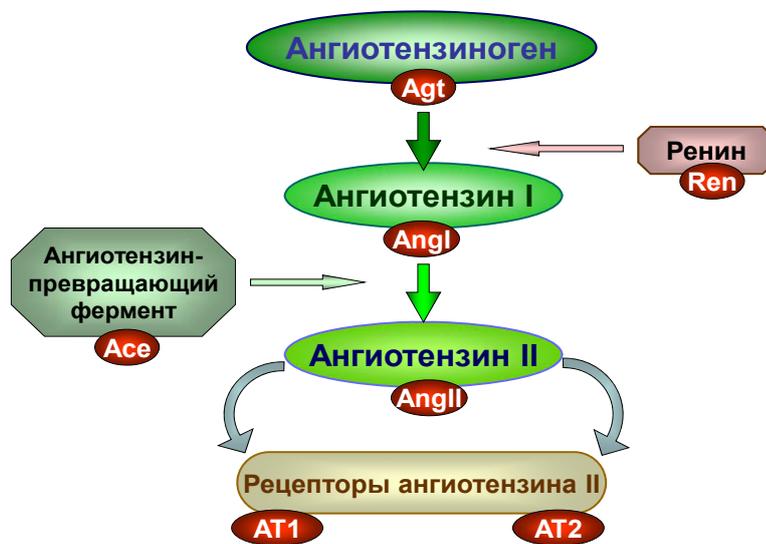


Рис. 1.2. Классические представления о ренин-ангиотензиновой системе.

1.2.2.1. Регуляция циркулирующей РАС – классические пути

В классической РАС Ang II образуется и действует системно (Рис. 1.2). Ренин попадает в плазму в первую очередь из ЮГ клеток на афферентных артериолах почек (Carey & Siragy, 2003a; Schnermann et al., 1997). Хотя циркулирующий активный ренин и проренин высвобождаются в основном из почек, другие ткани также секретируют проренин в циркуляционное русло, и проренин может конвертироваться в ренин ограниченным протеолизом, таким как трипсиновая активация в циркуляции (Sealey et al., 1986). Agt первично образуется и конститутивно секретируется клетками печени в циркуляцию, делая возможным системное образование Ang II по всему циркуляционному руслу (Brasier & Li, 1996). В классическом представлении о РАС ренин не является сигнальной молекулой; он

расщепляет Agt, единственный известный белок-предшественник ангиотензиновых (Ang) пептидов, образуя декапептид Ang I. Ang-превращающий фермент (ACE) гидролизует неактивный Ang I в биологически активный Ang II (Soubrier et al., 1993). В отличие от ренина и Agt, которые имеют относительно долгое время полужизни в плазме, Ang II расщепляется за секунды пептидазами, называемыми ангиотенгиназами, по различным аминокислотным сайтам, образуя фрагменты, в основном дез-аспартил-Ang II (Ang III), Ang (1–7) и Ang (3–8). Подавляющее большинство сердечно-сосудистых, почечных и надпочечниковых эффектов Ang II опосредуется рецепторами 1-го типа (AT1), которые широко распространены в этих тканях, позитивно сопряжены с протеин-киназой C (PKC) и негативно – с аденилат-циклазой (De Gasparo et al., 2000). Рецепторы AT1 опосредуют сокращение гладких мускулов сосудов, секрецию альдостерона, дипсогенный ответ, почечную реабсорбцию натрия, прессорные и тахикардимальные ответы. Ang II также связывается с другим рецептором, 2-го типа (AT2). Еще до недавнего времени клеточные сигнальные механизмы и функции AT2 были неизвестны (De Gasparo et al., 2000).

1.2.2.2. Основные компоненты PAC

1.2.2.2.1. Ренин

У человека и крысы ренин кодируется единственным геном, и рениновая мРНК в ЮГ клетках почечных афферентных артериол транслируется с образованием проренина, состоящего из 401 аминокислотного остатка (Carey & Siragy, 2003a). В эндоплазматическом ретикулюме ЮГ клеток 20-звенный сигнальный пептид отрезается от проренина, который упаковывается в секреторные гранулы в аппарате Гольджи, где происходит дальнейший процессинг в активный ренин путем отделения 46-звенного пептида от N-конца молекулы. Зрелый, активный ренин – это гликозилированная карбоксипептидаза (аспартил-протеаза) с молекулярной массой около 44 kDa. Активный ренин секретируется из ЮГ клеток в процессе экзоцитоза. Неактивный проренин секретируется конститутивно через клеточную мембрану. Проренин превращается в активный ренин при помощи трипсин-подобного активирующего фермента (Hsueh & Baxter, 1991).

Большинство видов имеют только один рениновый ген (*Ren-1c*), хотя некоторые виды мышей имеют два рениновых гена (*Ren-1d* и *Ren-2* гены). Как проренин, так и ангиотензиноген экспрессируются в разных тканях, хотя ренин-продуцирующие клетки в почках – главные сайты конверсии проренина в активный ренин (Campbell, 2003).

У взрослых нестрессированных животных ренин синтезируется и секретируется почечными ЮГ клетками. Однако при нарушении гомеостаза число клеток, которые

экспрессируют и секретируют ренин, возрастает и распространяется за пределы ЮГ области; результатом этого становится увеличение циркулирующего ренина и переустановка гомеостаза. Рост числа рениновых клеток, процесс, называемый «рекрутированием» (recruitment), достигается де-дифференцировкой и ре-экспрессией ренина в клетках, происходящих из рениновой линии. Многие работы указывают на сАМР как на центральный и обычный фактор регуляции ренинового фенотипа клеток (Lopez & Gomez, 2010) не только во время физиологического состояния, но в феномене рекрутирования (Friis et al., 2002; Morris et al., 2004; Sinn et al., 1999). сАМР вовлечен в три главных механизма контроля синтеза и секреции ренина: почечного β 1-адренорецептора (через почечные симпатические нервы и стимуляцию циркулирующих катехоламинов), внутрпочечного барорецептора и механизма macula densa (Lopez & Gomez, 2010).

Повышенное артериальное давление, Ang II и цитокины могут по принципу обратной связи приводить к ингибированию экспрессии гена ренина посредством NF κ B-независимого механизма, включающего рениновый энхансер и ингибирование транскрипции, опосредованной сАМР-отвечающим элементом (сАМР–response element, CRE) (Itani et al., 2009).

Ang II может стимулировать продукцию цитокинов в различных типах клеток, и цитокины числятся среди ингибиторных сигналов, регулирующих транскрипцию ренина (Hoch et al., 2009; Todorov et al., 2004; Liu et al., 2006). Цитокины – мощные модуляторы экспрессии ренина (см. обзор Pan & Gross, 2005).

1.2.2.2.2. Ангиотензиноген

Agt – единственный предшественник ангиотензиновых пептидов и кодируется единственным геном. Agt, синтезируемый в печени, обеспечивает большую часть системно циркулирующих Ang-пептидов, но также синтезируется и конститутивно секретируется в других тканях, включая мозг, сердце, сосуды, почки и жировую ткань. Этот гликопротеин содержит последовательность ангиотензина на своем N-конце. Agt – это альфа-2-глобулин и субстрат для ренина. Он член семейства ингибиторов сериновых протеаз, или серпинов, хотя и неизвестно, чтобы Agt взаимодействовал с каким либо еще ферментом помимо ренина (Doolittle et al., 1983; Cuadra et al., 2010). Поскольку Agt – член семейства серпинов, это приводит к мнению, что как Agt, так и дез-(Ang I)-ангиотензиноген ингибируют ангиогенез (Celerier et al., 2002).

Исследования с ингибиторами ренина показали главную роль ренина в генерации циркулирующих ангиотензиновых пептидов, хотя и другие ферменты могут играть роль в

тканях, особенно в очагах воспаления. Секретированный ренин в циркуляционном русле разрезает Agt с N-конца, образуя декапептид Ang I (Navar et al., 1997). Концентрация Agt в циркуляции высока, более чем в 1000 раз превышая концентрации в плазме Ang I и Ang II (Navar & Nishiyama, 2001). Хотя существуют некоторые видовые вариации, изменения в активности ренина таким образом определяют скорость образования Ang I в плазме из огромных запасов циркулирующего Agt (Ichihara et al., 2004; Paul et al., 2006): у крыс концентрации Agt в плазме измеряются в наномолях на литр; концентрации Ang I и Ang II выражаются в пикомолях на литр, указывая на то, что концентрация активного Ang II в плазме – лишь малая фракция доступного Ang II в форме Agt. Таким образом, даже относительно малые изменения в скоростях образования Ang I и Ang II могут приводить к большим абсолютным различиям в циркулирующих концентрациях (Kobori et al., 2007). Ренин синтезируется и сохраняется в существенных количествах в гранулах ЮГ клеток и секретируется в ответ на различные стимулы (Schweda & Kurtz, 2004; Paul et al., 2006; Kobori et al., 2007). Поэтому заметные изменения в уровнях ренина плазмы могут происходить быстро, приводя к изменениям в образовании Ang I. Концентрации Agt в плазме близки к константе Михаэлиса для протеолитической активности ренина, так что изменения в концентрациях субстрата также могут влиять на скорость образования Ang I; тем не менее, изменения в синтезе Agt происходят медленно, и поэтому в меньшей степени отвечают за динамическую регуляцию Ang I и Ang II в плазме, чем ренин (Deschepper, 1994; Brasier & Li, 1996; Kobori et al., 2007).

1.2.2.2.3. Ангиотензин-превращающий фермент (АСЕ)

Действие АСЕ можно рассматривать как стадию активации в каталитическом каскаде формирования Ang II из Ang I. Хотя доступны свидетельства иных путей для биосинтеза Ang II (Sadjadi et al., 2005; Tokuyama et al., 2002), АСЕ, вероятно, представляет главный, если не единственный фермент, отвечающий за образование Ang II при нормальных физиологических условиях у человека и других видов. Трудно представить, что АСЕ не имеет иных субстратов чем Ang I, но первичная роль АСЕ – это производство Ang II. Несомненно, идентификация АСЕ и характеристика его ферментативных свойств должны рассматриваться как важное достижение в нашем понимании РАС и сердечно-сосудистых заболеваний, поскольку они ведут к успешной разработке ингибиторов АСЕ в лечении гипертонии и почечной болезни (Chappell, 2007). АСЕ – это дипептидил-карбоксипептидаза, мономерный гликопротеин с молекулярной массой в 180 kDa. Фермент отрезает два остатка от карбоксильного конца различных пептидов. АСЕ существует в двух формах: растворимой и связанной с мембранами. Большая часть АСЕ

связана с мембраной и локализована на плазматических мембранах разных клеточных типов, включая сосудистые эндотелиальные клетки, клетки эпителия почечных проксимальных трубочек и нейроэпителиальные клетки.

Ang I легко превращается в Ang II благодаря не только циркулирующей ACE, но также присутствию ACE в эндотелиальных клетках сосудистого русла, включая легкие (Navar et al., 1997; Ichihara et al., 2004; Paul et al., 2006). Хотя другие пути формирования Ang II были идентифицированы в некоторых тканях, циркуляционные уровни Ang II отражают преимущественно следствие действия энзиматического каскада ренина – ACE на Agt (Erdös, 1990; Johnston, 1994; Kobori et al., 2007). Результирующий рост Ang II плазмы приводит к заметным действиям во всем организме через активацию рецепторов (Timmermans et al., 1993; Paul et al., 2006).

ACE участвует в метаболизме многих пептидных гормонов (Skidgel & Erdos, 2004). В случае Ang (1–7), ACE метаболизирует пептид до Ang (1–5), функционально неактивного продукта (Chappell et al., 1998a; Deddish et al., 1998; Rice et al., 2004). ACE может также участвовать в метаболизме других пептидов, включая кинины, вещество P и гематопозитический фрагмент acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro (Ac-SDKP). Так, ACE инактивирует два вазодилаторных пептида, брадикинин (BK) и каллидин (Linz et al., 1995). В общих чертах, BK – мощный вазодилатор и ингибитор клеточного роста, проявляющий натрийуретические свойства в почках (Scicli & Carretero, 1986). BK расслабляет кровеносные сосуды путем стимуляции NO и cGMP, а также высвобождением вазодилаторных простаноидов, простагландина E₂ и простаглицлина (Carey & Siragy, 2003a, Linz et al., 1995). BK (1–9) очень быстро метаболизируется ACE в двуступенчатом процессе до неактивных фрагментов BK (1–7) и BK (1–5). ACE, таким образом, повышает продукцию потенциального вазоконстриктора Ang II, в то же время деградируя вазодилатор BK, NO и вазодилаторные эйкозаноиды – физиологические антагонисты Ang II. Таким образом, когда используют ингибитор ACE (ACEI) для лечения гипертонии, не только ингибируется синтез Ang II, но также проявляется эффект роста содержания BK, NO и простаглицлинов (Carey & Siragy, 2003a). Ингибирование ACE ассоциировано с повышением циркуляционных и тканевых уровней BK (1–9), и его почечное содержание выше в тканях мышечной – нокауты по ACE (Campbell et al., 2004). Сообщалось, что функциональная активность Ang (1–7), при определенных условиях, зависит от повышенной секреции BK (Fernandes et al., 2001). Более того, антагонист его рецептора B2, HOE140, блокирует выброс NO непептидным агонистом Ang (1–7), AVE0991 (Wiemer et al., 2002). Аналогично Ang (1–7), циркуляционные уровни Ac-SDKP заметно возрастают при ингибировании ACE, и фермент разрезает связь Lys-Pro тетрапептида (Azizi et al., 1997; Raoussseau et al., 1995). Хотя в настоящее время нет доказательств роли Ac-SDKP в регуляции

АД, пептид проявляет мощные антифибротические и противовоспалительные свойства (Chappell, 2007).

Ингибиторы АСЕ могут индуцировать клетко-специфичные сигналы, вызывая конформационные изменения в связанном с мембраной АСЕ (Benzing et al., 1999). Две киназы, с-Jun киназа и MAP-киназа-киназа 7, ассоциированы с внутриклеточной частью АСЕ, и ингибиторы АСЕ повышают фосфорилирование и ядерный перенос фосфорилированной с-Jun киназы (Kohlstedt et al., 2002). Кроме того, ингибиторы АСЕ или пептиды Ang (1–9) и Ang (1–7) индуцируют ассоциацию АСЕ и рецептора В2, что предотвращает быстрое снижение содержания комплекса лиганд-рецептор, тем самым потенцируя действие брадикинина (Burckle et al., 2006; Chen et al., 2005).

1.2.2.2.4. Ang II и его рецепторы

Традиционно Ang II рассматривается как главный биоактивный эффектор РАС-индуцированных гемодинамических и воспалительных изменений в различных органах, включая сердце, почки, мозг и сосуды (Burnier & Brunner, 2000; Brown & Vaughan, 2000). Циркулирующий или локально продуцируемый Ang II опосредует стимуляцию синтеза внеклеточного матрикса, гипертрофию, индукцию хемокинов, генерацию активных форм кислорода, апоптоз и пролиферацию клеток гладкой мускулатуры сосудов (VSMC), сопровождаемые ингибированием генерации NO (Рис. 1.3) (Burnier & Brunner, 2000; Ruster & Wolf, 2006). Тем не менее, копятся доказательства того, что и альдостерон *per se*, помимо его влияния на почечный уровень натрия, является важным медиатором кардиоваскулярных и почечных повреждений (Рис. 1.3) (Epstein et al., 2006; Williams & Williams, 2003).

Для Ang II есть два главных рецептора, рецепторы 1 типа (AT1) и 2 типа (AT2), принадлежащие к классу 7-трансмембранных, сопряженных с G-белком рецепторов (GPCR). Мыши и крысы, но не человек, имеют две формы рецептора AT1, обозначаемые как AT1A и AT1B, со сходными свойствами.

Канонические биологические действия Ang II производятся в первую очередь через рецепторы AT1 и AT2 (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008). У человека большая часть биологических функций Ang II опосредована рецепторами AT1, которые повсеместно экспрессируются в сосудах, почках (ЮГ и мезангиальные клетки) и сердце. Рецепторы AT1 отвечают за сокращения гладкой мускулатуры сосудов, секрецию альдостерона, почечную реабсорбцию натрия, прессорный, дипсогенный и тахикардальный ответы (Carey & Siragy, 2003a).

Стимуляция рецептора AT1 активирует фосфолипазы A₂, C, D, приводя к росту содержания внеклеточного Ca²⁺ и ингибированию аденилатциклазы (De Gasparo et al., 2000;

Thomas, 1999). Рецепторы AT1 также активируют внутриклеточные сигнальные пути, традиционно связанные с рецепторами факторов роста и цитокинов (т.е. стимуляцию тирозинкиназной активности, фосфорилирование тирозина и активацию сигнальных путей фосфолипазы C- β 1, MAP-киназы и JAK-STAT), и недавние исследования подтвердили, что эти действия могут быть опосредованы отчасти взаимодействием между AT1 и рецепторами эпидермального фактора роста (EGF) (Thomas et al., 2002; Kagiya et al., 2002).

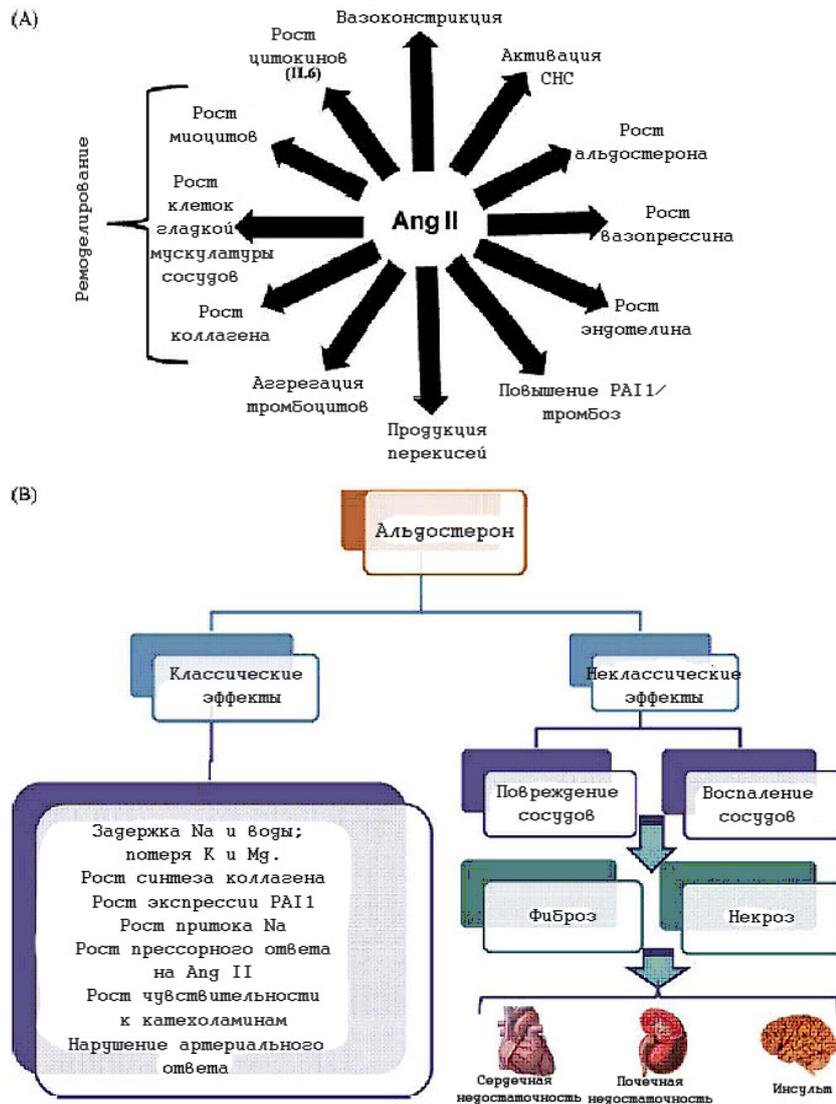


Рис. 1.3. Эффекты Ang II (A) и альдостерона (B) (по Abassi et al., 2009, с модификациями).

Функции рецептора AT2 до наступления последней декады были во многом неясны, но предполагалось, что они во многом противоположны функциям AT1. Большой прогресс в их понимании достигнут в последние годы, что позволяет отнести достаточно давно известный рецептор AT2 к так называемым «новым» членам PAC (см. ниже). Активация рецептора AT2

ведет к возрастанию уровней оксида азота (NO) и BK, и тем самым – к повышению концентрации cGMP и вазодилатации (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008).

Была показана гетеродимеризация рецепторов AT1 и AT2 на фетальных фибробластах и образцах миокардиальных биопсий от беременных и небеременных женщин (AbdAlla et al., 2001b). Рецептор AT2 связывается напрямую с рецептором AT1, тем самым противодействуя сигнальным путям и функциям рецептора AT1. Результаты этих исследований согласуются с концепцией, что рецептор AT2 стабилизирует структурно рецептор AT1 таким образом, что тот больше не подвергается требуемым конформационным изменениям, чтобы активировать G-белки (AbdAlla et al., 2001a). По-видимому, рецептор AT2 может быть прямым и специфическим антагонистом рецептора AT1 в процессе, независимом от активации и сигнальных путей AT2 (AbdAlla et al., 2001b).

1.2.2.2.5. «Новые» компоненты PAC

В последнюю декаду были определены дополнительные члены PAC и их биосинтетические пути, добавив не только сложности, но и возможностей для понимания функций PAC как в норме, так и при патологии (Рис. 1.4). В частности, в дополнение к Ang II, был идентифицирован широкий спектр биоактивных ангиотензиновых пептидов, таких как гептапептид ангиотензин III (Ang III), гексапептид ангиотензин IV (Ang IV) и ангиотензин (1–7) [Ang (1–7)] (Haulica et al., 2005; Carey & Siragy, 2003a). Последний синтезируется с помощью ACE2, нового члена PAC и гомолога ACE, нечувствительного к ингибиторам ACE (ACEi) (Donoghue et al., 2000; Tipnis et al., 2000). По меньшей мере 4 рецептора взаимодействуют с этими ангиотензиновыми пептидами: AT1, AT2, AT4 и Mas (Santos et al., 2003; Moeller et al., 1998). Ang (1–7) – один из важных биологически активных продуктов PAC, уравновешивающий действия Ang II в сердце, кровеносных сосудах и почках, возможно, через свой собственный рецептор. Пептид Ang (1–7) связывается с рецепторами Mas, которые опосредуют вазодилатацию и антипролиферативные функции, вероятно, через NO-зависимый механизм (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008; Santos et al., 2008). Биология Ang IV пока изучена слабо (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008).

Ренин, который прежде считался только ферментом, может быть прямым клеточным медиатором со своим собственным рецептором. Оказалось, что рецептор AT2 также уравновешивает действие Ang II через рецептор AT1 и содействует по меньшей мере некоторым из полезных эффектов блокады рецептора AT1 при помощи опосредованной AT2 продукции BK, NO и cGMP. Наконец, прямое физическое взаимодействие рецептора AT1 с

другими рецепторами на клеточной мембране может приводить к активации или ингибированию функций AT1 (Carey & Siragy, 2003a).

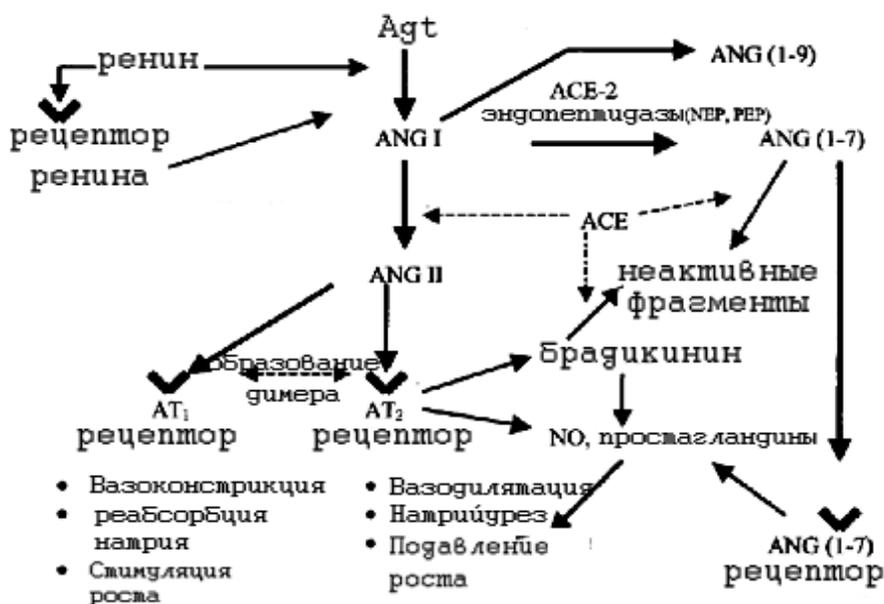


Рис. 1.4. Обновленные представления о РАС (по Carey & Siragy, 2003a, с модификациями).

Интересно, что спектр новых пептидов РАС продолжает расширяться, показывая, что пептид, содержащий на две аминокислоты больше чем Ang I, додекапептид ангиотензин (1–12) [ProAng-12, или Ang (1–12); у крысы: Asp1-Arg2-Val3-Tyr4-Ile5-His6-Pro7-Phe8-His9-Leu10-Leu11-Tyr12], также может быть ключевым игроком в регуляции сердечно-сосудистых функций (Nagata et al., 2006b; Varagic et al., 2008). Додекапептид продуцирует прессорные ответы как в изолированной аорте крысы, так и, причем острые, у интактных крыс Wistar – явление, которое подавляется при совместном воздействии ингибитора ACE и блокатора рецептора AT1 (ARB).

Недавняя идентификация Ang (1–12) в некоторых органах и тканях крысы (Nagata et al., 2006b) поддерживает идею о том, что выражение «ренин-ангиотензиновый каскад» следовало бы заменить на «ангиотензиноген-ангиотензиновый каскад», чтобы отразить факт, что Ang II может быть получен с участием и/или без участия ренина. Химаза может превращать пептид Ang (1–12) в Ang II без участия ренина (Prosser et al., 2009). Этот фермент экспрессируется в клетках мышечной ткани, и его содержание повышается во время терапии ингибиторами ACE (Dell'Italia & Husain, 2002). Chappell и сопр. (Chappell et al., 2007) нашли, что в сыворотке Ang II образуется исключительно из Ang (1–12) с помощью ACE, а почечная активность неприлизина превращает Ang (1–12) в Ang (1–7). Оба этих пути не зависят от рениновой активности. Более того, показано (Trask et al., 2008), что Ang (1–12) может метаболизироваться в Ang I, Ang II и Ang (1–7) в изолированных сердцах из пяти различных нормотензивных и гипертензивных линий крыс. Взятые вместе, эти данные обеспечивают убедительное доказательство того, что

Ang (1–12) может быть альтернативным предшествующим субстратом для образования биоактивных ангиотензиновых пептидов в сердце, почках и циркуляции, что может зависеть от локализации одного из действующих на него ферментов, ACE, но не ренина.

Рецептор AT2. Как было упомянуто выше, вторым важным (и клонированным) рецептором Ang II является рецептор AT2. AT2 – это рецептор класса GPCR, состоящий из 363 аминокислотных остатков. Он имеет некоторую (34%) гомологию аминокислотной последовательности с рецептором AT1 (Mukoyama et al., 1993).

Из обзора в обзор повторяется фраза о том, что «рецептор AT2 высоко экспрессируется в фетальных мезенхимальных тканях как грызунов, так и человека; однако в течение нескольких дней после рождения экспрессия рецептора AT2 быстро падает до очень низких уровней». Тщательный литературный поиск указывает на то, что данное утверждение основывается на нескольких работах 1991 года (см. у Gallinat et al., 2000) и с тех пор кочует по большинству обзорных работ, посвященных экспрессии генов PAC и рецепторов Ang II, в частности.

Недавние исследования (Gao, Zucker, 2011) выявили различные профили изменения содержания рецепторов ангиотензина у крыс и мышей во время развития, что противоречит взглядам, упомянутым выше. Используя Вестерн-блот-анализ, исследователи убедительно показали, что в стволе мозга, печени и почках взрослых крыс и мышей наблюдаются уровни экспрессии белка, значительно большие для AT2, но намного меньшие для AT1, по сравнению с эмбрионами или новорожденными животными (Yu et al., 2010). Был показан постепенный рост экспрессии AT2 в стволе мозга в процессе созревания от плода до взрослого животного.

Причина расхождений в экспрессии белка рецепторов и предшествующих автордиографических данных не до конца ясна. Автордиография – это классический метод определения связывания рецептора и лиганда, который является высокочувствительным, но его точность сильно зависит от специфичности используемых агонистов или антагонистов. В упомянутых исследованиях (Millan et al., 1991; Cook et al., 1991) изучали связывание на уровне целого животного, а не избранных областей мозга. Более того, эти результаты основывались в первую очередь на изменениях в связывании в ответ на антагонисты AT1 или AT2, в то время как в работе Yu и др. (2010) использовали специфические антитела для оценки экспрессии белка в различных областях мозга.

Так или иначе, но белок рецептора ясно определяется Вестерн-блотом в зрелых почках, сердце и кровеносных сосудах. В почке взрослых рецептор AT2 экспрессируется в клубочковых эпителиальных клетках, кортикальных канальцах и интерстициальных клетках (Ozono et al., 1997). В сердце рецептор локализуется в предсердии и вентрикулярном миокарде и в клетках гладкой мускулатуры коронарных артерий (Wang et al., 1998b). В человеческом сердце рецептор AT2 доминирует над рецептором AT1 (Carey & Siragy, 2003a). По-видимому,

следовало бы говорить не о снижении, а скорее о перераспределении рецептора AT₂ в тканях в процессе взросления, поскольку заметные количества его выявляются у взрослых животных также в медулле надпочечников и многих структурах мозга (Lenkei et al., 1996). Экспрессия рецептора AT₂ активируется снижением соли и ингибируется Ang II и такими факторами роста как фактор тромбоцитного происхождения и эпидермальный ростовой (Ozono et al., 1997; Ichiki et al., 1995a). AT₂ также активируется инсулином и IGF-I (Carey & Siragy, 2003b).

Клеточные сигнальные пути, участвующие в активации рецептора AT₂, не до конца ясны, но, вероятно, включают G-белок-зависимые и -независимые пути (Berry et al., 2001). Стимуляция рецептора AT₂ активирует фосфотирозиновые фосфатазы, особенно серин/треонин-фосфатазу 2A, протеинкиназа-фосфатазу и SHP-1-тирозин-фосфатазу, приводя к инактивации MAPK, особенно p42 и p44 MAPK (ERKs) (Horiuchi et al., 1999). Существуют также свидетельства, что рецептор AT₂ активирует фосфолипазу A₂ и генерацию простагландинов и стимулирует продукцию церамидов (De Gasparo et al., 2000; Berry et al., 2001). В отличие от AT₁, рецептор AT₂ не интернализуется в ответ на связывание агониста, подтверждая, что может оставаться доступным на плазматической мембране без десенситизации для долгосрочных биологических ответов (Csikos et al., 1998).

Рецептор AT₂ определяет, по крайней мере частично, некоторые из полезных эффектов блокады AT₁ в кровеносных сосудах, сердце и почках (Carey et al., 2000). Например, гипотензивное действие блокады AT₁ лозартаном полностью блокируется ингибированием рецептора AT₂ у крыс с реноваскулярной гипертензией. Также рецептор AT₂ определяет гипотензивный ответ на блокаду AT₁ вальсартаном у нормальных крыс с ограничением соли в диете. Блокада рецептора AT₁ повышает почечное содержание BK, NO и cGMP, и эти ответы исчезают при конкурентной блокаде рецептора AT₂ (Carey & Siragy, 2003a). Гипотензивный ответ на блокаду AT₁ также полностью блокируется подавлением либо рецептора B₂, либо NO-синтазы (Carey & Siragy, 2003a). В сердце протективные эффекты антагонистов рецептора AT₁ во время острой сердечной недостаточности или инфаркта миокарда по меньшей мере частично опосредуются рецептором AT₂ (Xu et al., 2002). Когда рецептор AT₁ блокирован в почке, петля отрицательной обратной связи, по которой AT₁ ингибирует секрецию ренина из ЮГ клеток, подавляется, приводя к повышению секреции ренина и уровня Ang II (Carey & Siragy, 2003a). Если рецептор AT₁ блокирован, Ang II может связываться только с неблокированным рецептором AT₂. Эти характеристики блокады рецептора AT₁ могут отвечать за параллельный рост стимуляции рецептора AT₂ и, тем самым, за наблюдаемые полезные эффекты. Все вместе взятые, имеющиеся наблюдения подтверждают концепцию, что активация AT₂ определяет по крайней мере некоторые полезные эффекты блокады AT₁ через сигнальные пути BK/NO/cGMP. Во многих случаях экспериментальные свидетельства доказывают, что рецептор

AT2 проявляет протективные свойства только при блокаде рецептора AT1. Эта парадигма открывает возможности для потенциальных синергичных терапевтических эффектов агонистов рецептора AT2 в сочетании с блокаторами AT1.

Ангиотензин превращающий фермент 2. Почти через 50 лет после открытия ACE новый гомолог этого фермента под названием ACE2 был идентифицирован двумя отдельными группами (Donoghue et al., 2000; Tipnis et al., 2000). Активность ACE2 не снижается ингибиторами ACE, и фермент не проявляет тех же каталитических свойств. ACE2 содержит единственный цинк-зависимый каталитический центр, который соответствует С-терминальному домену соматического ACE. ACE2 – это цинк-содержащая металлопротеаза, состоящая из 805 аминокислотных остатков со значительной гомологией с ACE. В отличие от ACE, однако, ACE2 функционирует как карбоксипептидаза, а не дипептидил-карбоксипептидаза, и проявляет активность, отщепляя один аминокислотный остаток на карбоксильном конце различных пептидов. Оригинальные работы рассматривали Ang I как пептидный субстрат для ACE2, исходя из гомологии с ACE и существующих данных о независимых от ACE путях, однако ACE2 превращает Ang I в нонапептид Ang (1–9) (Donoghue et al., 2000). Этот продукт до сих пор не известен своей функциональной активностью, но может служить как субстрат для дальнейшего превращения в Ang II или Ang (1–7) (Li et al., 2004). Кроме того, ACE2 расщепляет Ang II до Ang (1–7), и BK до неактивного метаболита [des-Arg9]-BK (Chappell, 2007). В отличие от ACE, ACE2 не конвертирует Ang I в Ang II, и его ферментативная активность не подавляется ACEI. Поэтому ACE2 эффективен как ингибитор образования Ang II, стимулируя альтернативные пути деградации Ang I. ACE2 локализован на клеточных мембранах кардиомиоцитов, почечных эндотелиальных и тубулярных клеток (Donoghue et al., 2000).

ACE2 высоко эффективен в конверсии Ang II до Ang (1–7), более чем в 400 раз превышая эффективность конверсии Ang I в Ang (1–9). Последующие кинетические исследования более 120 пептидов выявили, что превращение Ang II в Ang (1–7) значительно преобладает над таковым для Ang I. ACE2 проявляет в 500 раз большее соотношение k_{cat}/K_m для Ang II, чем для Ang I, и имеет наивысшую эффективность среди известных Ang (1–7)-образующих ферментов. (Vickers et al., 2002).

Аналогично ACE, ACE2 существует как в растворимой, так и в ассоциированной с мембраной форме с высокой экспрессией в почке, сердце, мозге, легких и яичках (Harmer et al., 2002). Хотя у различных видов наблюдается значительная активность циркулирующего ACE2, уровни ACE2 в плазме довольно низки (Elased et al., 2006; Rice et al., 2006).

Рецептор проренина/ренина. Открытие рецептора ренина добавило интриги в сложную биологию PАС. Если до того считалось, что ренин выполняет единственную функцию

лимитирующего фермента в активации РАС, то теперь он оказался еще и лигандом для белка, названного рецептором проренина/ренина (PRR), который связывает ренин и проренин независимо от их биологической активности. PRR – это 350-аминокислотный белок с одним трансмембранным доменом, который специфически связывается с ренином и проренином. PRR – трансмембранный рецептор, в избытке экспрессирующийся в мезангиальных клетках, сердце, мозге, адипозной ткани и клетках гладкой мускулатуры коронарных и почечных артерий (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008; Nguyen et al., 2002). Проренин составляет 70–90% всего циркулирующего ренина у нормальных субъектов и до 95% – у диабетиков (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008; Nguyen et al., 2002; Nguyen, 2006). Проренин, каталитически неактивный зимоген, связывается с PRR и индуцирует рост каталитической эффективности конверсии Ang I в Ang II, что дает вклад в локальную продукцию Ang II и его системный уровень (Jan Danser et al., 2007). Кроме того, связывание (про)ренина с его рецепторами инициирует внутриклеточный сигнальный путь, ассоциированный с активацией MAPK, и фосфорилирование белка HSP27, ведущие к усилению синтеза ДНК, ингибитора активатора пламиногена 1 (PAI-1), коллагена-1, фибриноектина и трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1), которые стимулируют сосудистый фиброз, т.е. ремоделирование, в различных болезненных состояниях (Nguyen et al., 2002; Nguyen et al., 2003; Fisher & Hollenberg, 2005; Feldt et al., 2008; Ichihara et al., 2006; Batenburg & Jan Danser, 2008). Эти недавние открытия могут иметь значение для фармакологии прямых рениновых ингибиторов (DRIs).

Приведенные данные поддерживают возможность прямой функциональной роли проренина и ренина. Проренин и ренин могут быть не только аспартилпротеазами, но также и гормонами со специфическими клеточными действиями. Прямая функциональная роль рецептора PRR может давать вклад в генерацию клеточных ангиотензинов в сердце, почках и/или периферических кровеносных сосудах и может иметь отношение к патофизиологии повышенной тканевой активности РАС в процессе таких заболеваний как гипертония, преэклампсия и сахарный диабет.

Связывание ренина с PRR повышает его Ang I-генерирующую активность, в то время как связывание проренина позволяет «неактивному» рениновому предшественнику становиться полностью ферментативно активным. Таким образом, система (про)ренинового рецептора может рассматриваться как обладающая двумя функциями: ангиотензин-независимой, связанной с индуцированными PRR внутриклеточными сигнальными путями и их последующими эффектами, и ангиотензин-зависимой, связанной с возросшей каталитической активностью связанного с рецептором (про)ренина (Nguyen & Danser, 2008).

Открытие PRR подтвердило гипотезу Tigerstedt и Bergman, высказанную более века назад, что ренин является гормоном (Tigerstedt & Bergman, 1898, цит. по Nguyen & Danser,

2008). Как упомянуто недавно (Luft & Weinberger, 2008), будущее исследований ренина «явно не выглядит унылым» и не оставит исследователей без дела.

1.2.2.3. Локальные тканевые РАС

До недавнего времени предполагалось, что Ang II, считающийся главным эффектором РАС, проявляет свои свойства только как циркулирующий гормон посредством рецепторов двух подтипов. Однако реальность не столь проста. Постепенно возникает расширенный взгляд на РАС, и представление о РАС как эндокринной системе должно было быть модифицировано с открытием, что уровни Ang II много выше в тканях, чем в плазме, и что воздействие на гипертензивных пациентов ингибиторов АСЕ было эффективным, даже когда концентрации ренина и Ang II в циркуляции были нормальными (Skrbic & Igit, 2009). В результате возникла новая концепция: что РАС оперирует как на системном (эндокринно), так и на тканевом (локально, паракринно/аутокринно) уровнях и что существует множество систем контроля (Dzau, 1988). Так, помимо ее классических и почечных акций, РАС участвует во множестве функций, включая действие на ЦНС (т.е. регуляция потребления воды и соли). Не-сердечнососудистые эффекты РАС включают патофизиологические изменения, ассоциированные с клеточным ростом и дифференцировкой, нормальным развитием органов, репродукцией и апоптозом (Igit & Behnia, 2007).

Сдвиг парадигмы произошел в последние годы от подчеркивания роли системной циркулирующей РАС в регуляции баланса жидкости и электролитов, артериального давления и патофизиологии сердечнососудистых и почечных болезней к фокусированию на локальных тканевых РАС. Исследования продемонстрировали важность тканевых РАС в мозге, сердце, периферических сосудах, надпочечниках и почке (Cuadra et al., 2010; Yim & Yoo, 2008; Rosivall, 2009; Paul et al., 2006; Bader & Ganten, 2008) (Рис. 1.5).

Существенным требованием к тканевой РАС является то, что все компоненты, необходимые для биосинтеза активного пептидного продукта, Ang II, производятся в ткани. Хотя некоторые из компонентов могут захватываться тканью из циркуляции, даже в присутствии локальной системы, тканевая генерация *de novo* Ang II и его взаимодействие с рецепторами на тех же (аутокринно) или соседних (паракринно) клетках определяет локальную систему. Экспрессия различных компонентов РАС была локализована во многих органах и системах (Рис. 1.5).

Интерес недавно был также обращен на возможность полностью внутриклеточной РАС, так называемой интракринной гормональной системы, в которой ни один из компонентов не

секретируется во внеклеточное пространство для выполнения биологического действия (Re, 2003).

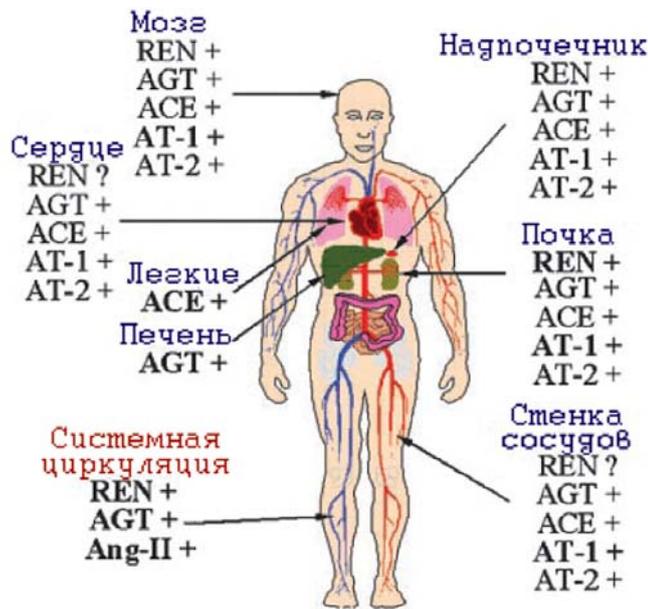


Рис. 1.5. Сайты экспрессии различных компонентов РАС. Классические сайты синтеза для системной РАС выделены (по Lavoie & Sigmund, 2003, с модификациями).

1.2.2.3.1. Почечная РАС

Ренин. Хотя ренин был идентифицирован в надпочечнике и мозге в конце 60-х – начале 70-х (Ryan, 1967; Ganten et al., 1971), именно внутрипочечная РАС была первой описанной функциональной тканевой РАС. Первые наблюдения были в экспериментах *in vivo*, в которых внутрипочечное подавление блокаторами рецепторов Ang II приводило к сильному росту почечного протока плазмы, скорости гломерулярной фильтрации и экскреции натрия и воды (Kimbrough et al., 1977; Levens et al., 1981). Позднее было показано, что все компоненты РАС присутствуют в почке и, особенно, что мРНК ренина, Agt и ACE локализованы в почке (Gomez et al., 1988; Bruneval et al., 1986). Эти наблюдения, вместе с открытием, что рецепторы Ang II локализованы в почечных артериолах, клубочковых мезангиальных клетках и на базолатеральной и апикальной мембранах клеток проксимальных канальцев, согласовались с первичной ролью Ang II как паракринной субстанции в контроле почечной функции (Terada et al., 1983). Местонахождение мРНК и белков отдельных компонентов РАС подробно описано в многочисленных обзорах (Bader & Ganten, 2008; Braam & Koomans, 2006; Carey & Siragy, 2003a; Ichihara et al., 2004; Kobori et al., 2007; Navar et al., 2011; Rosivall, 2009; Yim & Yoo, 2008). Помимо классических путей РАС, рецепторы (про)ренина и химаза также включены в локальное формирование Ang II в почке (Kobori et al., 2007).

АСЕ. Соматическая АСЕ в почках – в первую очередь мембранный протеин с гликозил-фосфатидил-инозитольным «якорем», и большую часть фермента составляют обе каталитические области, обращенные во внеклеточное пространство. АСЕ локализован во всей почке с высокой концентрацией в сосудистых эндотелиальных клетках, проксимальных канальцах и интерстициальных клетках. АСЕ также секретируется с апикальной поверхности эпителиальных клеток в просвет проксимальных канальцев и, вероятно, дает вклад в уровень фермента в моче (Hattori et al., 2000). Превращение мембранной формы АСЕ в растворимую существенно не меняет ее субстратные предпочтения или каталитические свойства фермента. Хотя значимость этого события еще не до конца понятна, оно может быть необходимо для транспортировки АСЕ к более дистальным областям нефрона, где наблюдается дефицит пептидазной активности для дискретной продукции Ang II (Marques et al., 2003).

Внутрипочечная АСЕ участвует в прямом образовании Ang II из Ang I. Воздействие на почки ингибиторами АСЕ снижает интерстициальные уровни Ang II и уменьшает АД. Более того, в модели нехватки АСЕ в тканях с сохранением уровня фермента в циркуляции, почечный уровень Ang II оказался значительно редуцирован (Modrall et al., 2003). Интересно, что внутрипочечный уровень Ang I был также заметно снижен у мышей с отсутствием АСЕ в тканях, в то время как концентрация Ang (1–7) сохранялась (Modrall et al., 2003).

Ang II. Почечная межклеточная жидкость содержит высокий уровень (нанополи) Ang II, и поскольку уровень Ang II в интерстиции в 1000 раз выше, чем в плазме, принято считать, что большая часть интратенального Ang образуется именно внутри почки (Nishiyama et al., 2002a). Кроме того, циркулирующий Ang II активно захватывается в клетках проксимальных канальцев по АТ1-зависимому механизму. Следовательно, Ang II компартментализуется в почечной интерстициальной жидкости и отделах проксимальных канальцев в куда более высоких концентрациях, чем в те, что существуют в циркуляции (Kobori et al., 2007). Ang II может стимулировать биосинтез почечной мРНК и белка Agt (Kobori et al., 2001). Таким образом, предполагается, что Ang II способен автоамплифицировать активацию почечной РАС.

Рецепторы. Множество прямых внутрипочечных эффектов Ang II, определяемых рецепторами АТ1, включают почечную вазоконстрикцию, тубулярную реабсорбцию натрия, чувствительность к тубулогломерулярной обратной связи и модуляцию давления и натрийуреза (Navar et al., 2002). Основным эффектом почечных сосудистых и канальцевых действий Ang II – это снижение экскреции натрия.

Рецептор АТ2 в почках также влияет на реабсорбцию натрия в проксимальных канальцах либо напрямую, через рецепторы клеточной мембраны, либо косвенно, через интерстициальный сигнальный путь NO-cGMP (Haithcock et al., 1999; Jin et al., 2001). Кроме того, рецептор АТ2 стимулирует конверсию почечного простагландина E₂ в простагландин F_{2α},

и отсутствие заметного повышения АД у мышей, нокаутных по AT2, можно отнести на счет сохранения повышенной продукции вазодилататорных простаноидов (Siragy et al., 1999b). Что касается роли рецептора AT2 в прессорном натрийурезе, оригинальные наблюдения указывали на ингибиторное действие рецептора (Lo et al., 1995). Тем не менее, ряд работ доказывает, что рецептор AT2 усиливает натрийуретический ответ на повышенное почечное перфузионное давление (Tanaka et al., 1999; Gross et al., 1999; Obst et al., 2003). Отсутствие рецептора AT2, который противостоит и уравнивает опосредованные рецептором AT1 действия Ang II, усиливает ответ со стороны почек и АД на ингибирование NO-синтазы (Obst et al., 2003).

Ang (1–7). Почка – главный целевой орган для Ang (1–7) (Chappell et al., 1998b). Пептид может формироваться в почке под действием неприлизина и играть там сложную роль в зависимости от состояния водно-солевого баланса, ренальной нервной активности и активации PAC (Chappell et al., 1998b). Ang (1–7) имеет только умеренное влияние на гемодинамическую функцию почки. Тем не менее, в изолированных почечных канальцах Ang (1–7) ингибирует абсорбцию натрия. Очень низкие концентрации Ang (1–7) (10^{-9} – 10^{-12} М) могут влиять на поток натрия и воды в проксимальных и дистальных канальцах (Chappell et al., 1998b; Handa et al., 1996). Помимо влияния на выброс вазопрессина (VP) из центральных сайтов, Ang (1–7) вызывает независимое от VP антидиуретическое действие благодаря снижению клубочковой фильтрации (Santos et al., 1996).

ACE2. В согласии с апикальной экспрессией ACE2 в почечном эпителии, нашли значительную активность ACE2 в моче овцы, позволяющую превращать Ang II в Ang (1–7), но не Ang I в Ang (1–9) (Shaltout et al., 2007). Гликозилированная форма ACE2 составляет примерно 120 kDa, и фильтрация фермента в тубулярную жидкость весьма маловероятна (Shaltout et al., 2007). Показано, что металлопептидаза ADAM 17 может действовать как секретаза для выброса ACE2 через внеклеточную сторону клеточной мембраны (Lambert et al., 2005). Любопытно, что ADAM 17 не способствует выбросу ACE, подтверждая, что регуляция секреции ACE и ACE2 различна. Локализация ACE2 в эпителии проксимальных канальцев вместе с другими элементами PAC (ACE, Agt, рецепторы Ang) подтверждает роль фермента в метаболизме ангиотензиновых пептидов. Активность ACE2 была выявлена в крысиных канальцах, поскольку конверсия экзогенного Ang I в Ang (1–9) была чувствительна к пептидному ингибитору ACE2, DX-600 (Li et al., 2004). Далее Ang (1–9) последовательно превращался в Ang (1–7) с помощью ACE (Donoghue et al., 2000). В отличие от крыс, в проксимальных канальцах овцы основная активность ACE2 – это превращение Ang II в Ang (1–7) (Shaltout et al., 2007).

Некоторые гипертензивные модели, включая SHR, stroke-prone SHR и Sabra, показывают более низкие уровни мРНК и экспрессии белка для ACE2 в почках, чем нормотензивные

контроли (Crackower et al., 2002), как и предгипертензивные люди (Keidar et al., 2007b). Найдено, что почечная экспрессия ACE2 выше у SHR, чем у WKY, в первый день после рождения, такая же на 42 день и затем заметно снижается у взрослых SHR на 80-й день (Tikellis et al., 2006). Активность ACE, однако, была заметно ниже в почках SHR во все наблюдаемые моменты времени и снижалась у обеих линий к 80-му дню. Помимо интересного паттерна развития ACE2 в почке, эти данные подчеркивают необходимость по меньшей мере сопоставлять изменения ACE и ACE2 при характеристике функциональной активности PAC. Кроме того, экспрессия ACE2 снижена в почках диабетических и беременных крыс, а мыши, мутантные по ACE2, развивают поздно устанавливающийся гломерулонефрит, сходный с диабетической нефропатией. Важно, что ACE2 не только контролирует уровень Ang II, но действует как протеаза на дополнительные молекулярные мишени, что может давать вклад в наблюдаемый *in vivo* фенотип мутантных по ACE2 мышей. Так, ACE2 кажется молекулой, имеющей протективную роль в сердце и почках (Danilczyk & Penninger, 2006).

Не все гипертензивные модели проявляют снижение ACE2 в почках. Исследования на самцах крыс mRen2.Lewis, модели тканевой экспрессии ренина с повышенным почечным Ang II, не выявили разницы в активности ACE2 в коре почки по сравнению с нормотензивной линией Lewis, хотя кардиальная активность была достоверно ниже у гипертензивных крыс (Ferrario et al., 2005b; Ferrario et al., 2005a; Pendergrass et al., 2006).

Почечная PAC – это мощный физиологический регулятор почечной функции. В условиях ограничения/отсутствия натрия нарушения в локальной системе вызывают многократный рост почечного потока плазмы, скорости клубочковой фильтрации и экскреции воды и натрия. С другой стороны, при нормальном содержании натрия, тубулярная реабсорбция натрия высокочувствительна к внутрипочечному уровню Ang II (Carey & Siragy, 2003a). Было показано, что селективная почечная сверхэкспрессия Agt, ведущая к высокой степени формирования внутрипочечного Ang II, вызывает рост системного АД при отсутствии изменений в циркулирующем Ang II (Davisson et al., 1999). Высоковероятно, что уровень стимуляции почечной PAC играет важную роль как в секунду минутной регуляции реабсорбции натрия, так и в патофизиологии состояний натриевой задержки, таких как гипертония и сердечная недостаточность.

1.2.2.3.2. PAC в сердце

Существование и функции специфической кардиальной PAC были предметом дебатов, поскольку трудно разделить эффекты внутрисердечной генерации Ang II от действий Ang II плазматического происхождения. Тем не менее, стало совершенно ясно, что кардиальное

действие лекарств, подавляющих действие Ang II, таких как ингибиторы ACE и блокаторы рецепторов Ang II, частично объясняется локальными эффектами на клеточном уровне, например, влиянием на кардиальное ремоделирование. Доминирующая физиологическая роль кардиальной PАС – это установление и поддержка баланса клеточных стимулов, индуцирующих и ингибирующих клеточный рост и пролиферацию, а также дающих адаптивные ответы на миокардиальный стресс, например, после растяжения миоцитов (Paul et al., 2006).

Ренин. Существование и значимость кардиальной экспрессии ренина были предметом споров, хотя некоторым исследователям удалось обнаружить мРНК ренина в сердце методами Нозерн-блоттинга (Dzau et al., 1987), гибридизации в растворе (Paul et al., 1988) и ОТ-ПЦР (Paul et al., 1993) у разных видов. Во всех этих исследованиях экспрессия рениновой мРНК, тем не менее, была довольно низкой. Другие исследователи заявляли, что эти измерения кардиальной рениновой мРНК основываются на контаминации и артефактах (Von Lutterotti et al., 1994). Это подтверждалось данными, что культуры кардиомиоцитов или фибробластов не синтезируют ренин. Вместе с тем трансгенные крысы, несущие геномный конструкт мышинового гена Ren-2 под контролем их собственного промотора, экспрессировали высокие уровни рениновой мРНК в сердце (Pinto et al., 1997). Это доказывает, что по крайней мере у некоторых видов сердце является сайтом внепочечной продукции ренина. Другие авторы показали, что, в то время как ренин не синтезируется в сердце при физиологических условиях, экспрессия гена ренина может включаться в патофизиологических ситуациях (De Mello & Danser, 2000). Интересно отметить в этом контексте, что в сердце была описана дополнительная укороченная мРНК ренина, у которой отсутствовал префрагмент препроренина (Clausmeyer et al., 2000; Peters & Clausmeyer, 2002). Первоначальная характеристика этой изоформы в адренкортикальных клетках крысы выявила, что этот альтернативный транскрипт кодирует укороченный проренин (экзон 1A-ренин), который импортируется в митохондрии (Clausmeyer et al., 1999). Последующие исследования показали, что в сердце крысы экспрессируется только этот альтернативный рениновый транскрипт, но не полноразмерная изоформа (Clausmeyer et al., 2000; Peters & Clausmeyer, 2002; Peters et al., 2002).

Более противоречиво свидетельство присутствия в сердце белка ренина, относящегося к захвату из циркуляции (Danser et al., 1997) или неспецифическому поступлению (диффузии) в клеточный интерстициум (De Lannoy et al., 1997; Jan Danser & Saris, 2002; Peters et al., 2002), либо же благодаря действию специфических функциональных сайтов связывания или рецепторов для проренина или ренина (Catanzaro, 2005; Nguyen et al., 2004; Peters & Clausmeyer, 2002). Генерация кардиального Ang II циркулирующим ренином происходит в основном на клеточной поверхности (Jan Danser & Saris, 2002; Saris et al., 2002). Кроме того, вновь

идентифицированный PRR, способный активировать сигнальную трансдукцию через MAPK независимо от генерации Ang II, показывает высокие уровни экспрессии в сердце (Nguyen et al., 2002; Nguyen et al., 2004). Все эти данные подтверждают концепцию, что физиологическая роль тканевой PАС в сердце зависит от ансамбля связывающих проренин и ренин рецепторов и рецепторов Ang II (Nguyen et al., 2004; Saris et al., 2002). Это микроокружение может сделать возможной максимальную эффективность локальной генерации Ang II, т.е. немедленное связывание Ang II с его рецепторами, с минимальными потерями во внеклеточном пространстве (Jan Danser & Saris, 2002; Nguyen et al., 2004; Saris et al., 2002).

Кроме того, было показано, что негликозилированный ренин быстро захватывается кардиомиоцитами, и что трансгенные крысы со сверхэкспрессией мышинового гена *Ren-2* (которые имеют высокие уровни проренина в плазме) демонстрируют сильно повышенные внутриклеточные уровни такого ренина в сердце (Peters et al., 2002).

АСЕ. Существование в сердце локальной продукции АСЕ, в отличие от ренина, не является предметом споров. Кардиальная мРНК *Ace* была обнаружена множеством методов у крысы (Hirsch et al., 1991; Kreutz et al., 1995a; Schunkert et al., 1990) и в сердце человека (Paul et al., 1993). Активность АСЕ легко обнаруживается, например, автордиографически (Yamada et al., 1991) или ферментативной оценкой (Hirsch et al., 1992; Kreutz et al., 1995a; Unger et al., 1986). Иммуногистохимию использовали, чтобы локализовать главный источник экспрессии АСЕ в кардиальных кровеносных сосудах и в эндокардии (Falkenhahn et al., 1995), в то время как изучение мРНК в культуре кардиальных клеток также выявило экспрессию АСЕ в кардиомиоцитах (Paul et al., 1996).

АСЕ2. Экспрессия АСЕ2 также была показана в сердце животных (Crackower et al., 2002; Tipnis et al., 2000) и человека (Burrell et al., 2005; Goulter et al., 2004). Некоторые наблюдения и экспериментальные свидетельства доказывают полезную роль АСЕ2 в сердечнососудистых функциях (Santos et al., 2013). Повышенная экспрессия АСЕ2 на начальной стадии некоторых патологий, замедляющая прогресс болезни, может указывать на протективную роль АСЕ2 (Keidar et al., 2007a).

Исследования, использующие линии мышей с делецией гена АСЕ2, обеспечили значительный вклад в понимание роли АСЕ2 в сердечнососудистых функциях. АСЕ2 имеет лишь слабое влияние на базальные сердечнососудистые функции и контроль АД; эти эффекты могут существенно модулироваться генетическими и, возможно, средовыми факторами. И наоборот, активность АСЕ2 может более значительно влиять на восприимчивость к таким патологическим состояниям, как гипертония и сердечная гипертрофия (Gurley & Coffman, 2008). Вклад АСЕ2 в кардиоваскулярную физиологию и болезни, возможно, имеет отношение к его роли в метаболизме и деградации Ang II, вместе с его вкладом в пути синтеза Ang (1–7).

Химаза. Химаза сердца человека превращает Ang I в Ang II, но не подавляется ингибиторами АСЕ и может действовать как активатор альтернативных путей образования Ang II. Используя гомогенаты целого сердца, Urata et al. (Urata et al., 1990) выявили, что до 80 % Ang II-образующей активности в человеческом сердце относится к химазе. При сравнении данных, полученных на человеке и на животных, важно принимать во внимание видовые различия в путях интракардиального синтеза Ang II (Balcells et al., 1997). В этом отношении, химаза доминирует над активностью АСЕ в сердце человека, учитывая значительно более высокий уровень общей генерации Ang II в человеческом сердце по сравнению с сердцем собаки, крысы, кролика и мыши (Balcells et al., 1997). Функциональная важность химазозависимого пути образования Ang II в сердце остается под вопросом благодаря нескольким факторам: 1) клинически, ингибиторы АСЕ крайне эффективны в лечении болезней сердца; 2) в экспериментальных условиях большая часть Ang II, произведенного в неповрежденных кровеносных сосудах сердца, может быть блокирована ингибиторами АСЕ; и 3) экспрессия химазы сердца человека высоко компартментализована и ограничена в основном тучными клетками (Urata et al., 1996).

Так или иначе, пути генерации Ang II в сердце, не зависящие от АСЕ, могут быть отчасти важны в болезненных состояниях, таких как кардиальная гипертрофия (Li et al., 2002) и сердечная недостаточность (Wolny et al., 1997).

Ангиотензиновые пептиды. Детекция мРНК Agt в сердце описана для мыши (Dzau et al., 1987), крысы (Hellmann et al., 1988; Lindpaintner et al., 1993), собаки (Lee et al., 1996b), и человека (Paul et al., 1993). Хотя кардиальные уровни мРНК Agt легче обнаружить, чем таковые для ренина, они низки по сравнению с печенью, главным источником продукции Agt (Dzau et al., 1987). Аргументы против локального синтеза мРНК кардиального Agt исходят из экспериментов на изолированных перфузированных сердцах крыс, где не обнаруживалось выброса эндогенного Agt (De Lannoy et al., 1997). Эти авторы заключили, что основное количество кардиального Agt попадает в сердце путем захвата из плазмы, и представили доказательство, что белок быстро захватывается в кардиальный интерстиций при добавлении в перфузат.

Ангиотензиновые пептиды выявлены в сердце (Danser et al., 1994; Lindpaintner et al., 1988) в более высоких концентрациях, чем найдено в плазме. Показано (Van Kats et al., 1998), что почти 90 % кардиального Ang I синтезируется локально в сердце, и что 75 % кардиального Ang II также синтезируется локально, причем большая часть – с использованием как основы локальной генерации Ang I. Таким образом, локальный синтез ангиотензиновых пептидов является основным механизмом в сердце, и концепция кардиальной РАС не зависит от локального синтеза Agt и ренина.

Есть свидетельства того, что биосинтез Ang II и его выброс из вентрикулярных миоцитов регулируется. Глюкокортикоиды, эстрогены и тиреоидный гормон повышают уровни Agt и его мРНК (Lindpainter et al., 1990). И атриальный натрийуретический пептид, и изопротеренол усиливают экспрессию генов ренина и Agt (Dostal, Baker, 1999). Поскольку Ang II повышает уровень этих транскриптов в кардиомиоцитах (Sadoshima & Izumo, 1993), вероятно, что Ang II может автоамплифицировать активность кардиальной PАС, аналогично ситуации в почках (Henrich et al., 1996; Sibong et al., 1993). Считается, что Янус-киназа (JAK), сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипционных путей (STAT), как и сигнальные пути p53, важны для регуляции PАС в кардиомиоцитах (Dostal & Baker, 1999). Кроме того, механическое растяжение желудочковых миоцитов повышает выброс Ang II (Sadoshima et al., 1993), что может отвечать за усиленную локальную продукцию Ang II при кардиомиопатии.

АСЕ2 эффективно гидролизует Ang II до Ang (1–7), пептида, который проявляет свойства, противоположные Ang II. Ang (1–7) присутствует в здоровом миокарде, и его образование зависит от Ang II как субстрата. Экспрессия этого пептида ассоциирована с кардиальным ремоделированием: он пропадает в области инфаркта и значительно возрастает в пограничной области. Низкие дозы Ang (1–7) улучшают сердечный выход (output) и противодействуют индуцированной Ang II вазоконстрикции. Тип биологической активности Ang (1–7) тканеспецифичен и дозозависим (Keidar et al., 2007a). Эти данные указывают на возможную протективную роль Ang (1–7) в уменьшении индуцированных Ang II действий. Повышенная экспрессия Ang (1–7) в поврежденных тканях сердца происходит параллельно экспрессии продуцирующего его фермента, АСЕ2.

Большая предпочтительность Ang II перед Ang I в качестве субстрата АСЕ2 подчеркивает значение этого фермента в регуляции тканевого баланса Ang II/Ang (1–7) (Rice et al., 2004; Vickers et al., 2002). Повышенный уровень в сердце Ang II, который был ассоциирован с генетической делецией АСЕ2 у мышей, приводил к развитию острой кардиальной дисфункции (Crackower et al., 2002). С другой стороны, локальная сверхэкспрессия АСЕ2 вела к ослаблению сердечного ремоделирования у гипертензивных крыс (Huentelman et al., 2005). Более того, показано, что гипертензивное сердце преимущественно зависит от АСЕ2 для продукции Ang (1–7) (Trask et al., 2007). Вместе со свидетельством повышенной экспрессии АСЕ2 при сердечных нарушениях у человека (Zisman et al., 2003) и крысы (Averill et al., 2005), это свидетельствует о сохранении компенсаторного ответа поврежденного сердца для поддержания уровня Ang (1–7) даже на стадии прогрессирующего заболевания, хотя обычно этого недостаточно для противодействия повреждающим эффектам Ang II.

Рецепторы ангиотензина. И АТ1, и АТ2 экспрессируются в сердце, где они, по видимому, локализованы на кардиомиоцитах (Bader et al., 2001; Booz & Baker, 2002; Urata et al.,

1990). На кардиальных фибробластах популяция рецепторов зависит от наличия или отсутствия заболеваний. Нормальные фибробласты экспрессируют только рецептор AT₁, но могут включать рецептор AT₂ при определенных патологических условиях (Crabos et al., 1994; Ohkubo, 1997; Senbonmatsu et al., 2000). Функции этих двух типов рецепторов в сердце, по мнению некоторых авторов, выглядят разнонаправленными: рецептор AT₁ стимулирует гипертрофию и пролиферацию кардиальных клеток, в то время как AT₂ вызывает противоположные эффекты (Widdop et al., 2003). Исследования на и нокаутных мышах, тем не менее, не подтвердили эту концепцию, поскольку нокауты по AT₂ показали, что этот рецептор также необходим в проведении гипертрофических стимулов (Tasker et al., 1997). Более того, полученные позднее экспериментальные данные, использующие селективные антагонисты AT₂ или генетически модифицированных мышей, вызвали некоторые сомнения относительно полезной роли стимуляции AT₂ как в сердце, так и в сосудах в состоянии болезни (Levy, 2004).

Показано, что в сердце рецептор AT₂ подавляет рост и ремоделирование, индуцирует вазодилатацию и активируется при патологических состояниях (Schneider & Lowell, 2001; Ohkubo et al., 1997). У мышей, экспрессирующих AT₂ селективно в миокарде, после инфаркта повышенная экспрессия AT₂ приводит к сбережению левовентрикулярной функции, указывая на полезную роль рецептора AT₂ в состояниях объемной перегрузки, включая пост-инфарктное ремоделирование (Yang et al., 2002). Сверхэкспрессия AT₂ в кардиомиоцитах снижает индуцированный Ang II интерстициальный фиброз через сигнальный путь BK/NO/cGMP без влияния на гипертрофию кардиомиоцитов (Kurisu et al., 2003).

1.2.2.3.2.1. Функции кардиальной РАС

Инотропные эффекты. Ang II действует как инотропный агент, но только в концентрациях, превышающих физиологические. Этот эффект, по меньшей мере частично, может быть непрямым, например, благодаря действию Ang II на симпатическую нервную систему (Koch-Weser, 1965). Прямой эффект Ang II также был доказан (Dempsey et al., 1971). Исследования на сердце человека *in vitro* показали, что позитивный инотропный эффект Ang II проявляется только на препаратах из предсердий, но не миокарда (Holubarsch et al., 1993).

Гипертрофические эффекты. РАС, важная система контроля кровяного давления и внутрисосудистого объема, также вызывает гипертрофию левого желудочка (LVH) и фиброз. Основным механизмом этого – повышение АД, которое ведет к росту давления на стенку левого желудочка; тем не менее, выброс альдостерона из надпочечников и, по утверждению некоторых исследователей, прямое действие Ang II на кардиомиоциты также играют роль (Cowan & Young, 2009).

LVH может быть определена как рост лево-вентрикулярной миокардиальной массы (LVM) (Cowan & Young, 2009). Наиболее обычной причиной этого является эссенциальная гипертония, но другие состояния повышенного давления, такие как аортальный стеноз и коарктация аорты, также вызывают LVH. В дополнение к перегрузке давления (pressure overload), LVH также вызывается состояниями избыточного объема (volume overload), такими как инфаркт миокарда или регургитантная болезнь клапанов, или может быть результатом генетических дефектов, таких как гипертрофическая кардиомиопатия. Рост LVM, наблюдаемый при усиленных тренировках спортсменов, рассматривается как особый случай «физиологической гипертрофии», которая опосредуется иными сигнальными путями и ведет к повышению сердечной производительности без какого-либо дополнительного риска неблагоприятных исходов (McMullen & Jennings, 2007).

Открытие, что кардиальные миоциты терминально дифференцируются на ранних стадиях развития, объясняет гипертрофический ответ этих клеток в виде добавления волокон актина и миозина, а не гиперпластический ответ с пролиферацией новых клеток. И наоборот, фиброз, который часто сопровождает LVH, ведет к гиперплазии фибробластов (Cowan & Young, 2009).

Ang II оказывает гипертрофическое действие на кардиомиоциты в культуре (Mehta & Griendling, 2007). Более трудно, однако, определить относительную важность этого механизма у интактных животных, где Ang II имеет множество других эффектов, более заметных, чем повышение давления (Reudelhuber et al., 2007). Экспериментальное подтверждение локального эффекта Ang II получено из исследований трансгенных моделей грызунов. В ранних исследованиях Mazzolai et al. (Mazzolai et al., 1998) повышали локальную кардиальную концентрацию Ang II у трансгенных мышей, экспрессирующих крысиный Agt, и показали, что это изменение ведет к гипертрофии (но не фиброзу) у двух линий мышей, гипертензивной и нормотензивной. Хотя уровень Ang II в плазме и в сердце не измеряли, обработка блокатором AT1 приводила к регрессу LVH. Критики методологии этого исследования указывали, что Agt мог просачиваться из сердца и приводить к синтезу Ang II где-то еще, или что мыши были более гипертензивны, чем думали исходно (Reudelhuber et al., 2007).

Есть мнение, что Ang II вызывает гипертрофию миоцитов благодаря активации рецептора AT1 в качестве адаптивного ответа на возросший миокардиальный стресс. Хотя гипертрофия кардиомиоцитов действует первоначально как компенсаторный механизм для сохранения кардиальной функции, она становится главным фактором риска при острой сердечной недостаточности (Dzau et al., 2001). В исследованиях *in vitro* было показано, что этот эффект вторичен по отношению к выбросу таких факторов роста как эндотелин-1 и TGF- β (Gray et al., 1998).

LVH при повышенной продукции Ang II в сердце была описана на трансгенных крысиных моделях с повышенной экспрессией таких компонентов PAC, как мышинный ренин (Pinto et al., 1997), рецептор AT1 человека (Hoffmann, 2005; Hoffmann et al., 2001), человеческий ACE (Pokharel et al., 2004; Tian et al., 2004) и на дважды трансгенных крысах, экспрессирующих ренин и Agt человека (Müller et al., 1998). На некоторых из этих моделей было ясно показано, что эффекты Ang II имели место независимо от влияния на АД, подтверждая функциональную роль локальной кардиальной PAC в этих изменениях.

Гипертрофические изменения, индуцируемые Ang II, вызываются несколькими различными внутриклеточными путями, такими как активация каскадов тирозин-киназы и RhoA, которые включают активацию MAP киназы и пути JAK/STAT (De Gasparo et al., 2000; Marrero et al., 1995; Schieffer et al., 1997; Unger et al., 1996). Важная дезадаптация при LVH связана с диастолической дисфункцией, которая приводит к таким функциональным изменениям, как нарушенный диастолический оборот кальция, и/или структурным изменениям, таким как кардиальный фиброз (Cingolani et al., 2004; Rothermund et al., 2001; Schunkert et al., 1993). Исследования на крысах с LVH показали, что локально производимый Ang II может нарушать релаксацию, т.е. диастолическую функцию, сердца (Schunkert et al., 1993; Rothermund et al., 2000; Rothermund et al., 2001). Более того, диастолическая функция может быть восстановлена воздействием не понижающей давление дозой антагониста рецептора AT1 (Rothermund et al., 2001). Хроническая активация кардиальной PAC может вести также и к прогрессирующей систолической дисфункции, увеличению сердца и к сердечной недостаточности. Независимая роль активации кардиальной PAC в этих последствиях была продемонстрирована на трансгенных мышах TG1306/1R, которые развивают кардиальную гипертрофию в отсутствие повышенного АД (Domenighetti et al., 2005). Эти животные развивают дилатационную кардиомиопатию с возрастом и проявляют значительный рост смертности по сравнению с нормальными мышами. Аналогичные результаты были получены относительно роли рецептора AT2 в кардиальной гипертрофии (Levy, 2004). Хотя рецептор AT2 был первоначально ассоциирован с антигипертрофическими эффектами (Levy, 2004), некоторые работы на AT2-дефицитных мышах показали, что AT2 имеет значительное влияние на кардиальную гипертрофию, индуцированную пережиманием аорты (Senbonmatsu et al., 2000) или инфузией Ang II (Ichihara et al., 2001).

В отличие от этого исследования *in vivo* и других – *in vitro*, демонстрирующих прямую связь между Ang II и гипертрофией, возникают свидетельства, противоречащие взглядам на путь, связанный с прямым действием Ang II. В работе Xiao et al. (Xiao et al., 2004) повышали экспрессию гена *Ace* в мышечных кардиомиоцитах в 100 раз, блокируя при этом экспрессию *Ace* в почках и сосудистом эндотелии; им удалось достичь 4-кратного роста в локальном

содержании кардиального Ang II. Это вело к слегка пониженному АД, заметному атриальному увеличению и частым случаям внезапной смерти, но не к гипертрофии или фиброзу. Van Kats и соавт. (van Kats et al., 2001b) разработали линию трансгенных мышей, экспрессирующих белок, способствующий проникновению Ang II, исключительно в кардиомиоцитах. Результирующий 20-40-кратный рост локального кардиального Ang II приводил к развитию некоторого интерстициального фиброза, но опять-таки не к гипертрофии. Количество Ang II, попадающего из сердца, было недостаточным для влияния на Ang II в плазме или систолическое давление, а экзогенное введение Ang II подтвердило, что эти мыши имеют нормальный гипертрофический ответ на повышение циркуляционного уровня. Когда экспрессировалась устойчивая к деградации форма Ang II, уровень Ang II в сердце достигал 100-кратного превышения над нормальным, и Ang II начинал попадать в циркуляцию, но гипертрофия не наблюдалась, пока АД не начинало расти в ответ на циркулирующий Ang II.

В дополнение к этим экспериментам, организованным так, чтобы повысить концентрацию Ang II в кардиомиоцитах, другие опыты на животных моделях фокусировались на возрастании локальной экспрессии рецептора AT₁, причем с противоречивыми результатами. Paradis et al. (Paradis et al., 2000) показали, что сверхэкспрессия человеческого AT₁ не индуцирует гипертрофию и фиброз, приводя к преждевременной смерти от сердечной недостаточности. И наоборот, исследование на мышах с использованием трансплантированных почек, дефицитных по AT₁, показало, что степень кардиальной гипертрофии коррелировала только с АД, и не было найдено никаких свидетельств прямого влияния рецепторов AT₁ в сердце на развитие LVH (Crowley et al., 2006).

Таким образом, гипертрофический ответ кардиомиоцитов на Ang II в культуре привел к широкому распространению мнения о прямом гипертрофическом эффекте Ang II, что далеко не полностью подтверждается экспериментами на интактных животных. Похоже, что одного Ang II достаточно для того, чтобы стимулировать кардиальные фибробласты продуцировать внеклеточный матрикс и фиброз (Billet et al., 2008), но недостаточно для гипертрофии, которая может требовать взаимодействия с рецептором эпидермального фактора роста (EGFR) (Bader & Ganten, 2008). Рецептор AT₁ может быть лимитирующим фактором в локальном пути, так что более вероятно, что условия, которые повышают экспрессию рецептора AT₁, могут приводить к гипертрофии (Reudelhuber et al., 2007).

Механическое растяжение. Есть свидетельства, указывающие, что пути Ang II могут быть определены как «система быстрого реагирования» при механическом растяжении сердца, которая может участвовать в формировании кардиальной гипертрофии (Cingolani et al., 2005). Растяжение может индуцировать выброс Ang II в среду культуры кардиомиоцитов *in vitro* (Sadoshima et al., 1993) и *in vivo* (Leri et al., 1998), и фактически экспрессию всех компонентов

РАС можно стимулировать растяжением (Malhotra et al., 1999). Перегрузка левого желудочка, представляющая ситуацию, связанную с хроническим растяжением кардиомиоцитов, приводит к аналогичной активации кардиальной РАС (Schunkert et al., 1990). Внутриклеточные пути, активируемые индукцией кардиальной РАС и локальной продукцией Ang II в культуре неонатальных кардиомиоцитов, блокируются антагонистами рецептора AT1 (Kojima et al., 1994). Сигнал опосредуется сигнальными путями как p53, так и JAK/STAT (Leri et al., 1998). В то время как первоначально считали, что эти эффекты выражаются полностью через рецептор AT1, недавние исследования на мышцах-нокаутах по AT2 выявили, что рецептор AT2 также участвует в этих изменениях (Senbonmatsu et al., 2000).

Ремоделирование. Пролиферативное стимулирование кардиальным Ang II, вероятно, наиболее значимо для фибробластной части популяции клеток сердца, как это было показано в работе Schelling и Ganten (Schelling et al., 1991). Во время ремоделирования сердца пролиферация фибробластов является клеточным индикатором патологических изменений. Локальная продукция ACE играет важную роль в этом процессе, поскольку исследования на модели сердечной недостаточности у крыс, индуцированной экспериментальным инфарктом миокарда (который сопровождался повышенным фиброзом), показали активацию кардиальной ACE и рост ее мРНК, хотя активность ACE в плазме не менялась (Hirsch et al., 1991).

Ang II участвует в ремоделировании сердца, индуцируя активацию некоторых сигнальных молекул, включая ERK1/2, Rho-киназу и члены семейства STAT (Giani et al., 2008). Механизмы, приводящие к индуцированному Ang II фиброзу, по меньшей мере частично связаны с путями факторов роста, в частности, TGF- β , индуцированными активацией рецептора AT1 (Pinto et al., 2000; Sun et al., 1997). Работы на трансгенных крысах, экспрессирующих мышинный ген *Ren-2*, показали, что ингибирование синтеза TGF- β специфическим ингибитором фактора роста траниластом не влияет на АД, но приводит к значительному смягчению интерстициального кардиофиброза, видимого в этой модели (Pinto et al., 2000).

Другой медиатор, остеоопонтин, который участвует в процессе ремоделирования клеток гладкой мускулатуры сосудов, показывает повышенные уровни своих мРНК и белка после добавления Ang II к крысиным кардиофибробластам (Ashizawa et al., 1996; Nunohiro et al., 1997). Этот эффект блокируется лозартаном.

Ang (1–7) подавляет пролиферативные действия Ang II, хотя механизмы такого ингибирования не до конца понятны. Было показано двойное действие Ang (1–7): стимулирующий эффект на фосфорилирование STAT3 и 5A/B через рецепторы AT1 и блокирующее действие на стимулированное Ang II фосфорилирование ERK1/2 и Rho-киназы посредством активации рецептора Mas (Giani et al., 2008). Последний эффект указывает на

протективную роль Ang (1–7) в сердце, уравновешивающую действие локально продуцируемого Ang II.

Еще один медиатор ингибирования пролиферации кардиальных фибробластов, недавно описанный, – это альтернативный субстрат ACE, Ac-SDKP, гематопоэтический регулятор стволовых клеток. Воздействие ингибиторов ACE стимулирует уровни Ac-SDKP в плазме почти пятикратно (Azizi et al., 1997), что может быть маркером эффективного ингибирования ACE. Было также показано, что Ac-SDKP дозо-зависимо ингибирует пролиферацию фибробластов (Pokharel et al., 2002), подтверждая, что этот альтернативный субстрат может быть медиатором антипролиферативного эффекта на фибробласты в ремоделировании сердца, видимого после ингибирования ACE.

Апоптоз. Хотя ранние исследования, проведенные на линии клеток PC-12 (клеточная линия крысиной феохромоцитомы) доказывали, что программируемая клеточная смерть определяется рецептором AT₂ (Yamada et al., 1996), сейчас общепринято, что апоптоз кардиомиоцитов опосредован рецептором AT₁ (Cigola et al., 1997). Считается, что процесс участвует в кардиальном ремоделировании, например, после инфаркта миокарда (Anversa et al., 1998), гипертонической кардиомиопатии (Diez et al., 1997) и диабетической кардиомиопатии (Fiordaliso et al., 2000). Он может эффективно блокироваться антагонистами AT₁ (Dier et al., 2002), что подтверждает, что полезные эффекты блокады PАС при сердечной недостаточности могут иметь место благодаря, в частности, этим интракардиальным механизмам.

Таким образом, кардиальная PАС играет важную роль в регуляции сердечной функции благодаря своему влиянию на АД и прямому воздействию ангиотензиновых пептидов на кардиомиоциты.

1.2.2.3.3. PАС мозга

Общепринято, что мозг содержит внутреннюю PАС, и известно, что Ang II имеет свои функции, проявляемые через рецепторы, в мозге; но возникают вопросы о происхождении Ang II в мозге и о PАС в ЦНС вообще. Фактически значение действия PАС в ЦНС вызывало вопрос, поскольку ренин, лимитирующий фермент для PАС, слабо экспрессируется в мозге (Lippoldt et al., 2001; Bader & Ganten, 2002). Тем не менее, существует убедительное доказательство дополнительного механизма мозговой PАС. Исследования показали, что различные ткани и органы могут достигать значительных уровней продукции Ang II внутри локальных областей даже при ограниченной доступности ренина. Эта локальная активность PАС была показана в сердце, почках, кровеносных сосудах и в мозге (Bader et al., 2001; Bader & Ganten, 2002; Kobori et al., 2007). Недавно открытый (про)рениновый рецептор (PRR) быстро получил признание как

важный участник этого процесса. PRR экспрессируется в различных тканях, и было найдено, что он опосредует функции локальных PAC в почке и сердце (Nguyen et al., 2002; Ichihara et al., 2006; Kobori et al., 2007). Поскольку PRR высоко экспрессируется в мозге (Nguyen et al., 2002), возможно, что он смягчает эффект низкого уровня экспрессии ренина и тем самым поддерживает компетентную, опосредуемую центрально, функцию PAC.

AT1 и все компоненты PAC были найдены в различных частях мозга, которые включены в регуляцию как СНА, так и жидкостного и электролитного баланса (Ganten et al., 1971; Dampney, 1994; de Gasparo et al., 2000). Более того, физиологическое значение мозговой PAC подчеркивается усилением чувствительности к Ang II и повышением экспрессии AT1 в областях мозга, регулирующих кардиоваскулярную деятельность, в животных моделях нейрогенной гипертензии (Veerasingham & Raizada, 2003; Guyenet, 2006). Кроме того, было показано, что генетические или фармакологические вмешательства в компоненты мозговой PAC смягчают нейрогенную гипертензию (Morimoto et al., 2002; Veerasingham & Raizada, 2003; Yamazato et al., 2007). Вдобавок, возросшая активность PAC мозга повышает секрецию VP, антидиуретического гормона, и найдено, что это обостряет гипертензию у крыс (Luft, 2007). Аналогичные данные получены и на людях. Популяция мужчин-афроамериканцев имеет повышенную частоту возникновения гипертензии (Cuadra et al., 2010), и эти пациенты проявляют симптомы, которые ассоциируются с повышением секреции VP (Bankir et al., 2007). С другой стороны, дефицит функции PAC в ключевых регионах мозга, таких как магноцеллюлярная область PVN или SON, приводит к нарушению продукции и секреции VP, что является главной причиной центрально опосредованного несахарного диабета (Treschan & Peters, 2006). В согласии с этим находится факт, что пониженная продукция Ang II наблюдается у генетической модели несахарного диабета, крыс Браттлборо (Bundzikova et al., 2008).

Факт, что ренин слабо экспрессируется в мозге (Lippoldt et al., 2001; Bader & Ganten, 2002; Saavedra, 2005) вызывал сомнение относительно значимости функциональных действий центрально производимого Ang II. В результате это привело к альтернативным предположениям об источниках Ang I или Ang II в ЦНС, таких как захват и транспорт из CVO, которые не защищены гематоэнцефалическим барьером (Saavedra, 2005). Тем не менее, существует подтверждение компетентности функций PAC в мозге. Например, ACE- и Ang II-подобная иммунореактивность обнаружена в нейронах различных регионов мозга, включая SFO и NTS (Pickel & Chan, 1995). Исследование мозга при помощи экспрессии GFP, управляемой рениновым промотором у трансгенных мышей и крыс, определило рениновую экспрессию в различных центрах мозга, регулирующих кардиоваскулярные функции (Lavoie et al., 2004a; Lavoie et al., 2004b).

Другие исследования показали, что подавление экспрессии Agt в мозге приводит к значительному снижению АД у крыс SHR (Gyurko et al., 1993). Интрацеребровентрикулярная (ICV) инъекция антагониста AT1 также приводит к снижению давления у билатерально нефрэктомизированных SHR с отсутствием источника ренина на периферии (Phillips et al., 1977). Более того, локализованные функции PAC доказывают существование ренин-связывающего белка или рецептора, который бы способствовал этим действиям. Современные работы многих исследователей показали, что недавно открытый PRR – это интегральный компонент тканевых PAC, который служит для связывания ренина и компартиментализации биосинтеза и функции Ang II. Кроме того, PRR также стимулирует межклеточные сигнальные пути. Во многих отношениях этот сигнальный механизм подобен эффектам, опосредованным AT1, независимо от действия Ang II (Batenburg & Jan Danser, 2008; Nguyen & Contrepas, 2008).

В совокупности, эти и другие исследования дают поддержку гипотезе, что мозг может содержать функционально достаточную PAC. Рост продукции Ang II и повышенная активация AT1 уменьшают чувствительность барорефлекса в NTS (Averill & Diz, 2000; Boscan et al., 2001) и повышают нейрональную активность в RVLM (Li & Guyenet, 1996; Tagawa et al., 2000), что приводит к действиям, которые предположительно способствуют нейрогенной гипертонии. Таким образом, установление механизма повышения продукции Ang II в мозге и демонстрация того, что этот механизм повышает нейрогенную гипертонию, может открывать новые возможности для лечения.

Каждый компонент PAC идентифицирован в мозге. Свидетельства их роли в центральном контроле АД и функции в гипертензии определены как фармакологически, так и путем генетических манипуляций. Данные из многих лабораторий показывают, что компоненты мозговой PAC компартиментализованы внутри специфических мозговых ядер и даже внутри специфических клеток, что может приводить к возрастанию эффективности функции PAC. Эти находки помогают утверждать, что функциональная и компетентная PAC активна в мозге. Более того, патологические инсульты в органах системной циркуляции или в мозге меняют центральные функции PAC, что обостряет гипертензию (Cuadra et al., 2010).

Ангиотензиноген. Если печень – главный источник Agt для системной циркуляции, то астроглия – основное место синтеза Agt в мозге (Lynch et al., 1987.; Stornetta et al., 1988). Тем не менее, исследования показали также, что Agt продуцируется нейронами в первичной культуре (Thomas et al., 1992).

Высокие уровни Agt и его мРНК найдены в гипоталамусе и стволе мозга (Hellmann et al., 1988.; Lynch et al., 1987.; Richoux et al., 1988). В мозге собаки около 95 % Agt расположены внеклеточно (Morris & Reid, 1978.). Есть данные о том, что цереброспинальная жидкость собаки и крысы содержит значительные количества Agt (Moffett, 1987; Schelling et al., 1980).

Различные исследования прояснили роль мозгового Agt в гипертонии. Например, 6-недельные SHR, еще до установления гипертонии, проявляют повышенную экспрессию Agt в гипоталамической области по сравнению с крысами WKY того же возраста (Tamura et al., 1996). Другие исследования показали, что уровень мРНК Agt заметно повышен в гипоталамусе SHR, по сравнению с крысами WKY; однако никакой разницы в уровне транскриптов Agt не наблюдали в печени этих линий (Yongue et al., 1991). Трансгенные крысы со сверх-экспрессией Agt демонстрировали гипертензию. Тем не менее, высокое АД присутствовало только у линий крыс со сверх-экспрессией Agt в печени и специфических областях мозга, которые включены в регуляцию АД (Kimura et al., 1992b). Другая работа, сравнивающая активность генных промоторов в крысином мозге, продемонстрировала, что цис-регуляторные элементы промотора *Agt*, AGF2 и AGF3, были более активны у SHR, по сравнению с крысами WKY (Nishii et al., 1999). Эти исследования показали, что нарушения в регуляции экспрессии Agt в районах мозга, которые опосредуют контроль над кардиоваскулярным тонусом, дают свой вклад в установление гипертонии.

Ингибирование или супрессия экспрессии Agt у гипертензивных животных моделей нормализуют АД. Например, ICV-введение Agt-антисенсорных олигонуклеотидов снижает базальный уровень АД у SHR, не проявляя сравнимого эффекта на мозг крыс WKY (Gyurko et al., 1993). Другие сообщения показывают, что трансгенная супрессия Agt у крыс приводит к полиурии и полидипсии, а моча их имеет пониженную осмолярность, что является симптомами, ассоциированными с центральным несахарным диабетом, или диабетом 2-го типа (Schinke et al., 1999). Таким образом, хотя редукция уровня Agt в мозге имеет некоторое протективное действие на АД, ингибирование экспрессии Agt может приводить к другим патологическим осложнениям.

Ренин. Ренин – ключевой компонент РАС, и катализирует лимитирующую стадию превращения Agt в Ang I. Мозговая активность ренина была впервые обнаружена у собак и крыс (Fischer-Ferraro et al., 1971; Ganten et al., 1971), и существование ренина в мозге к настоящему времени показано множеством исследователей (Bader et al., 2001; Paul et al., 2006). Тем не менее, выделение значительных количеств фермента из мозга оказалось проблематичным из-за низкого уровня экспрессии ренина в ЦНС (Lippoldt et al., 2001).

Компоненты РАС от разных видов, как выясняется, слабо сравнимы между собой (Ganten et al., 1992; Cuadra et al., 2010). Знание этого факта использовалось в исследованиях трансгенных животных, которые выявили специфические аспекты функционирования РАС как в мозге, так и в системной циркуляции (Bader & Ganten, 2002; Morimoto & Sigmund, 2002; Morimoto et al., 2002). Так, человеческий ренин экспрессировали в мозге с использованием специфических нейрональных промоторов у трансгенных мышей, которые были выведены из

мышей, экспрессировавших человеческий *Agt* под управлением мышиногo *Agt*-промотора. Трансгенные мыши демонстрировали *AT1*-зависимый дипсогенный ответ, который блокировался выключением человеческого гена *Agt*, особенно в SFO (Sinnayah et al., 2006; Sakai et al., 2007). Трансгенные мыши не проявляли изменений в циркуляционных уровнях *Ang II*, показывая, что ответ ограничивается мозгом. Эти открытия доказывают, что функциональная активность *PAC* может иметь место в мозге независимо от периферически расположенных компонентов, опосредуя ответы, характерные для SFO.

Высокие уровни экспрессии *PRR* были также обнаружены в мозге (Nguyen et al., 2004; Nguyen et al., 2002). Методом ПЦР показано, что мРНК *PRR* широко экспрессируется в различных районах мозга, с наивысшими уровнями экспрессии, найденными в гипофизе и фронтальных долях. Иммуноцитохимически было продемонстрировано, что *PRR* экспрессируется в *PVN* и *SON* гипоталамуса человека и клетках переднего гипофиза. При этом *PRR* колокализован с *VP* и окситоцином в магноцеллюлярных нейронах *PVN* и *SON* (Takahashi et al., 2010). Полученные данные согласуются с гипотезой, что *PRR* связан с различными функциями мозга, такими как когнитивная и развитие мозга. Колокализация *PRR* с *VP* в гипоталамусе поднимает вопрос о возможности того, что *PRR* может быть связан с центральным контролем водно-электролитного метаболизма и артериального давления.

ACE. *ACE* экспрессируется в различных областях мозга, включая регулирующие АД (Paul et al., 2006). Электронно-микроскопические исследования нейронов показали, что *ACE* находится на мембране нейрональной плазмы, а также колокализован в везикулах как с *Ang II*, так и с ингибиторным нейротрансмиттером γ -аминомасляной кислотой (Pickel & Chan, 1995).

Фармакологическое нарушение активности *ACE* в мозге обеспечило дальнейшее свидетельство мозговой функции *PAC*. Интракаротидное воздействие ингибитора *ACE* каптоприла выявило тоническую роль *Ang II* в переднем мозге, что приводит к возбуждению почечной *СНА*. Этот эффект в норме затушевывается барорефлексом, но эта тоническая активность может играть более значительную роль в случае нарушенного барорефлекса и повышенной функции *PAC* (Wei & Felder, 2002). Более того, найдено, что измененная функция *PAC* в мозге индуцируется патологическими инсультами, такими как инфаркты миокарда, которые усиливают кардиальную гипертрофию у крыс. Искусственное получение инфаркта миокарда лигатурой коронарной артерии стимулирует повышение активности *ACE* и *AT1* в сердце, почках и в мозге. В мозге связывание *AT1* и активность *ACE* возрастают как в различных *CVO*, так и в *PVN* (Tan et al., 2004). Наконец, генетический перенос человеческого *ACE* в гипоталамус крыс приводит к повышенной *СНА* и росту потребления Na^+ , снижению объема мочи и повышению ее концентрированности. Крысы, сверхэкспрессирующие *ACE*,

также проявляют как повышенное АД, так и возросший уровень VP в циркуляции, который блокируется ICV инъекцией ингибиторов ACE (Nakamura et al., 1999).

Другие ферменты, участвующие в образовании Ang II в мозге, – это тонин (Schiller et al., 1976), катепсин G (Klickstein et al., 1982), тканевый активатор плазминогена и химаза (Baltatu et al., 1997). Их функциональная роль в мозге, тем не менее, остается неопределенной (Paul et al., 2006).

ACE2. ACE2 был идентифицирован как негативный регулятор прогипертензивных действий Ang II. Было показано, что инфузия Ang II снижает экспрессию ACE2 в PVN, а повышенная экспрессия ACE2 в PVN противодействует индуцированной Ang II гипертензии (Sriramula et al., 2011). Сверхэкспрессия ACE2 также значительно снижала экспрессию AT1 и ACE и повышала экспрессию AT2 и Mas в PVN. Кроме того, сверхэкспрессия ACE2 в PVN снижала индуцированный Ang II рост экспрессии провоспалительных цитокинов: TNF- α , IL-1 β и IL-6 в PVN. Ослабление провоспалительных цитокинов в PVN в комбинации со сдвигом PAC к анти-гипертензивной оси (ACE2/Ang (1–7)/Mas) может отвечать за протективное влияние повышенной экспрессии ACE2 в PVN на индуцированный Ang II гипертензивный ответ (Sriramula et al., 2011).

Рецепторы ангиотензина. Рецепторы Ang II распространены во многих отделах мозга, которые подробнейшим образом перечислены в обзоре Paul et al. (2006). Сайты сильного связывания Ang II найдены, в частности, в продолговатом мозге, гипоталамусе и CVO крыс. AT1 способствует периферическому прессорному ответу Ang II и найден во всех главных центрах кардиоваскулярного контроля в мозге, как и в областях, регулирующих электролитный и водный баланс. Некоторые из этих областей включают, помимо прочих, PVN, RVLM, NTS и SFO (Cuadra et al., 2010). Рецепторы AT2 были обнаружены иммуногистохимически в PVN и SON гипоталамуса крысы и, более специфически, в нейронах, которые также содержали VP (Shelat et al., 1998). Рецепторы AT4 как лиганды для Ang IV, или Ang (3–8), были локализованы в областях мозга, участвующих в процессах запоминания и поиска, стресса и пространственного обучения (Wright & Harding, 1997). Специфические сайты связывания Ang IV были найдены в переднем мозге, в частности, в коре, в гиппокампе, миндалине, таламусе и гипоталамусе мышей (Von Bohlen und Hahlbach & Albrecht, 2000), а у крыс еще и в периакведуктальном сером веществе, септуме и мозжечке (Roberts et al., 1995). Последние авторы показали, что при ICV-введении Ang IV усиливается Fos-подобная иммунореактивность в гиппокампе и коре, и что этот эффект блокируется специфическим антагонистом рецептора AT4.

Показано, что Ang II повышает образование активных форм кислорода (ROS) в эндотелиальных клетках, клетках гладкой мускулатуры сосудов, а также в нейронах по

механизму, включающему активацию ксантин-оксидазы (Griendling et al., 1994; Sun et al., 2005; Chan et al., 2005). ROS, сами по себе, опосредуют стимуляцию MAP-киназ, в том числе P38 и ERK 1/2 (Ushio-Fukai et al., 1998; Griendling et al., 1994). Найдено, что образование ROS, опосредуемое AT1, стимулирует активности PI3-киназы и АКТ/протеин-киназы В (PKB) (Ushio-Fukai et al., 1999). Есть также много свидетельств того, что Ang II дает PKC-зависимый рост активности NAD(P)H-оксидазы, и что генерируемые ROS служат для повышения скорости нейронального возбуждения (Sun et al., 2002; Sun et al., 2005).

AT1 может потенцировать катехоламинэргические сигнальные пути (Lu et al., 1996a). Это происходит, в частности, посредством сигнального каскада, который включает активацию MAP-киназы (Yang et al., 1996; Lu et al., 1996b). В свою очередь, MAP-киназа активирует транскрипционные факторы, которые связываются с AP1 цис-элементами, найденными в промоторной области генов тирозин-гидроксилазы, дофамин- β -гидроксилазы и транспортера норэпинефрина (Seo et al., 1996).

AT1 включен в контроль СНА при модуляции АД, определяя контроль жидкостного и электролитного гомеостаза и подавляя чувствительность барорефлекса (Merrill et al., 1996; Averill & Diz, 2000; Boscan et al., 2001; McKinley et al., 2001). RVLM крыс SHR имеет повышенную плотность рецепторов по сравнению с крысами WKY (Hu et al., 2002). Более того, билатеральная инъекция антагонистов AT1 приводит к значительному снижению АД у гипертензивных животных моделей, хотя у нормотензивных крыс не наблюдалось значимого эффекта (Allen, 2001; Ito et al., 2003; Ito et al., 2002). То же самое исследование показало, что микроинъекция Ang II в RVLM у SHR приводит к повышенной СНА (Hu et al., 2002).

Трансгенные крысы, сверх-экспрессирующие AT1, особенно в нейронах, показывают преувеличенный ответ на воздействие Ang II при ICV, который купируется предварительным воздействием лозартана. Тем не менее, их базальный уровень АД существенно не отличается от контрольных крыс (Lazartigues et al., 2002). В совокупности эти результаты показывают, что AT1 может играть роль в становлении хронической гипертонии, но сверхэкспрессия рецептора сама по себе недостаточна для возникновения этой патологии, а требует также сопутствующего повышения оборота агониста. В более свежем исследовании, конститутивно активный ген AT1, *Agtr1*, сверхэкспрессировался в основном в глиальных клетках RVLM, что приводило к хроническому повышению АД (Allen et al., 2006). Эта работа подтвердила, что клетки глиии могут играть не только пассивную роль в контроле АД в мозге.

У нормотензивных крыс роль AT1 в модуляции базального АД в мозге менее определена. Пептидные ингибиторы рецептора, сартран и сарил, снижают СНА и АД у нормотензивных крыс (Ito & Sved, 1996; Tagawa et al., 1999). Последующие работы были посвящены вопросу, действительно ли этот ингибиторный эффект определяется AT1. Хотя

микроинъекции Ang II приводили к росту АД, что блокируется лозартаном, на базальный уровень СНА это не влияло (Hirooka et al., 1997). Воздействие селективного ингибитора AT1 у SHR приводило к снижению базальной СНА и АД, чего не наблюдали на крысах WKY (Allen, 2001). В работе Ito и сотр. найдено, что хотя сартран снижает давление у крыс Sprague Dawley, это не повторилось при использовании специфических антагонистов AT1, но подавлялось ингибитором аминопептидазы А (АРА), амастатином (Ito & Sved, 2000). Это подтверждает, что модулятором базального АД у нормотензивных животных может быть Ang III (Reaux et al., 2001), а на медиатор преходящего повышения АД влияют Ang II и AT1.

Что касается экспрессии в мозге рецептора AT2, было показано, что определенные области мозга экспрессируют AT2 во время эмбрионального развития, другие – только после рождения, а в некоторых областях рецептор AT2 присутствует после достижения зрелости (Nuys et al., 1999). Определенно можно сказать, что присутствие высоких уровней рецепторов AT2 в неонатальном мозге поддерживает предположение, что этот рецептор играет роль в развитии (Gallinat et al., 2000).

1.2.2.3.3.1. Функции мозговой PAC

Регуляция артериального давления. PAC мозга играет важнейшую роль в центральной регуляции АД. В некоторых ядрах ствола мозга и нейрогипофизе юных гипертензивных крыс наблюдали повышенную активность ренина по сравнению с нормотензивными контрольными животными соответствующего возраста (Schelling et al., 1982). Повышенные концентрации рениновой мРНК в стволе мозга у SHR по крайней мере частично определяются их генотипом (Shimoike et al., 1997). Уровень мРНК Agt был выше в мозге крыс SHR по сравнению с контрольными (Nishii et al., 1999). У гипертензивных крыс (SHR) также отмечали значительно большее число рецепторов AT1 и AT2 в гипоталамусе по сравнению с контрольными животными (Han & Sim, 1998). Это не вторичный феномен, поскольку трансгенные подходы, ведущие к постоянному снижению Agt в мозге, показывают противоположные приведенным характеристики, и базальное систолическое давление было значительно ниже у трансгенных крыс с постоянным подавлением мозгового синтеза Agt по сравнению с контролем (Baltatu et al., 2000; Schinke et al., 1999). Мыши, у которых отсутствовал ген рецептора AT2, *Agtr2*, имели повышенное АД и возросшую чувствительность к прессорным эффектам Ang II (Ichiki et al., 1995b). Хроническое подкожное введение антагониста рецептора AT1 сдвигало кривую мозговой авторегуляции в сторону более низкого давления у крыс и заметно понижало экспрессию рецепторов AT1 в областях как за пределами гемато-энцефалического барьера (в SFO), так и внутри него (в NTS, PVN) (Nishimura et al., 1998).

Сообщалось, что Ang II может повышать АД при прямом воздействии на мозг (Bickerton & Buckley, 1961). Это может происходить благодаря взаимодействию с симпатической нервной системой. Билатеральные микроинъекции Ang II и Ang III в NTS значительно и дозозависимо подавляют барорефлекс у крыс (Luoh & Chan, 1998). Супрессорный эффект Ang II может быть обратим при одновременном воздействии антагониста рецептора AT1 лозартана.

Хроническая ICV инфузия Ang II повышает центральную чувствительность кардиального симпатического афферентного рефлекса через рецептор AT1. Кроме того, хроническая ICV инфузия Ang II приводит к росту АД (Ma et al., 1999). У мышей рост АД вызывался центральным действием Ang II, наиболее вероятно, благодаря активации рецептора AT1A (Davisson et al., 2000).

Повышенная экспрессия рецептора AT1 считается ранним маркером при развитии гипертонии. Уровень белка AT1 был выше в стволе мозга крыс Цукера с ожирением (Bokil & Porter, 2000), крысиной модели с предрасположенностью к гипертонии. ICV инъекция Ang II у этих крыс вызывала значительно больший подъем АД по сравнению с контрольными животными. Большая плотность связывания для рецептора AT1 была найдена в SFO, PVN и NTS у крыс с хронической сердечной недостаточностью по сравнению с контрольными (Yoshimura et al., 2000). У таких крыс экспрессия AT1 повышена в областях мозга, которые тесно связаны с потреблением воды, выбросом вазопрессина и гемодинамической регуляцией.

Центральный Ang II играет критическую роль в регуляции сердечнососудистой функции и автономной активности, в частности, через рецепторы AT1 в RVLM (Gao et al., 2008b). Но накапливается все больше данных о том, что Ang II может также действовать на рецепторы AT2, вызывая антагонистический эффект. При изучении действия сверхэкспрессии AT2 в RVLM на экскрецию натрия и воды и на АД у находящихся в сознании крыс выяснили, что такая сверхэкспрессия, индуцированная билатеральной микроинъекцией AT(2)R аденовируса в RVLM, индуцирует диурез, и это может регулироваться, в частности, симпатингибированием, поскольку концентрация в моче норадреналина и суточная его экскреция также заметно снижались (Gao et al., 2008a).

РАС мозга тесно связана с действием центрального вазопрессина (VP). Трансгенные крысы с редуцированным на 90 % уровнем мозгового Agt проявляли диабетический синдром, вызываемый повышенным количеством мочи со сниженной осмолярностью (Schinke et al., 1999). У них также наблюдали снижение VP плазмы на 35 %. Kagiya et al. (1999) показали, что Agt у крыс играет важную роль в выбросе VP и СНА, но может и не давать вклада в поддержание АД у гипертензивных крыс. ICV-воздействие Ang II и Ang III у крыс заметно повышает почечный проток плазмы, скорость клубочковой фильтрации, проток мочи, абсолютную и фракционную экскрецию натрия и калия и снижает ренальную афферентную

нервную активность; при высоких уровнях воздействия оно также повышает АД (Chen & Huang, 2000). Ang II вызывает дозозависимый антидиуретический эффект при микроинъекциях в SON и PVN у крыс (Sakamoto et al., 1997). Этот эффект снижается предварительным воздействием антагонистов VP.

PVN и Ang II гипоталамуса играют критическую роль в кардиоваскулярной и нейрогуморальной регуляции, заключающейся, в частности, в высвобождении VP. Действия Ang II в PVN опосредуются в основном рецепторами AT1. Тем не менее, существуют косвенные свидетельства того, что центральный AT2 также является медиатором сигнальных путей Ang II в PVN (Coleman et al., 2009). Рецепторы AT2 в нейронах PVN, экспрессирующих VP и другие нейромодуляторы, стратегически расположены для поверхностной активации с помощью Ang II и/или внутриклеточного переноса. Функциональная роль рецепторов AT2 в PVN доказана экспериментами *in vivo* и *in vitro*, показывающими, что блокада AT2 снижает эффект локально действующего Ang II на возбудимость нейронов (Ambuhl et al., 1992; Li & Ferguson, 1993; Ferguson & Washburn, 1998). Более того, прямая инъекция Ang II в PVN повышает прессорные и дипсогенные эффекты (Jensen et al., 1992; Ferguson & Washburn, 1998), и несколько фармакологических исследований показали, что индуцированные Ang II изменения в АД, потреблении воды и/или выбросе VP частично опосредованы рецептором AT2 (Hohle et al., 1995; Lee et al., 1996c; Li et al., 2003). С учетом этих результатов, рецепторы AT2 могут иметь субклеточную локализацию в PVN, которая делает возможным их активное участие в опосредованных Ang II функциях, особенно в выбросе VP. AT2 имеют сомато-дендритное распределение, согласующееся с их активацией Ang II аксонального и/или глиального происхождения, влияющей на возбудимость нейронов PVN, некоторые из которых содержат VP (Coleman et al., 2009).

Взаимодействие систем Ang II и γ -аминомасляной кислоты (GABA) играет очень важную роль в регуляции АД. Было показано, что Ang II стимулирует экспрессию рецепторов GABA типа GBR в нейронах NTS крыс Sprague-Dawley, и это может способствовать воздействию Ang II на ЦНС, что приводит к затуханию барорефлекса и повышению АД при центральном воздействии Ang II (Yao et al., 2008).

Ang (1–7) присутствует в ткани мозга, и его распределение в гипоталамусе, продолговатом мозге и миндалинах подчеркивает его важность в регуляции АД, баланса жидкости и осморегуляции (Varagic et al., 2008). Хотя действие Ang (1–7) в мозге иногда совпадает с действием Ang II, таким как стимуляция выброса VP, его эффекты в общем являются противоположными. Вовлечение различных рецепторов, сигнальных путей нейротрансмиттеров и сложные интегративные регуляторные механизмы, участвующие в действии этих двух ангиотензинов, подробно обсуждались (Varagic et al., 2008). Коротко

говоря, внутрижелудочковое воздействие антител к Ang (1–7) повышает АД, тогда как эндогенная нейтрализация Ang II имеет противоположный эффект (Moriguchi et al., 1995). Ang (1–7) в ядре одиночного пути вызывает брадикардию и депрессорный ответ (Campagnole-Santos et al., 1989), усиленный барорефлекторный контроль сердечного ритма (Benter et al., 1995; Oliveira et al., 1996), и эти эффекты усилены у гипертензивных животных по сравнению с контрольными (Chaves et al., 2000; Diz & Westwood, 2000). В RVLM Ang (1–7) проявляет прессорные свойства (Fontes et al., 1997); однако в каудальной вентролатеральной медулле Ang (1–7) понижал АД, ингибируя прессорное действие в RVLM (Potts et al., 2000). Менее ожидаемые действия Ang (1–7) включают его способность усиливать долгосрочную потенциацию, процесс, который, как считается, участвует в обучении и памяти (Hellner et al., 2005).

В гипоталамусе крысы наблюдали ингибиторный эффект на норадренергическую нейротрансмиссию, вызываемый Ang (1–7), и было подтверждено, что он опосредован рецептором AT₂ (Gironacci et al., 2000). Более того, подавление NO-синтазы (NOS) предотвращало этот эффект, доказывая участие NOS-связанных механизмов. Крысы, на которых предварительно воздействовали ингибитором NOS (L-NAME), показывали больший прессорный ответ на микроинъекции Ang II в RVLM, чем крысы без предварительной обработки L-NAME (Tsuchihashi et al., 2000). Микроинъекции антагониста рецептора AT₁ в депрессорную область внутри NTS вызвали большее снижение АД, сердечного ритма и ренальной СНА у крыс после воздействия L-NAME, чем у контрольных (Eshima et al., 2000). Кроме того, уровни мРНК ACE в стволе мозга были выше после L-NAME (Eshima et al., 2000).

Потребление воды и пищи. Ang II усиливает питье при центральном введении в мозг крысы (Epstein et al., 1970) и собаки (Ma et al., 1999). ICV-инфузия каптоприла полностью блокирует питьевой ответ, индуцированный системно вводимым Ang I (Robinson et al., 1999) или ренином (Xu & Johnson, 1998). И наоборот, высокое потребление соли повышало мРНК ренина в гипоталамусе крысы, несмотря на снижение почечного уровня мРНК ренина (Nishimura et al., 1997), указывая на независимую регуляцию мозговой PAC этим стимулом. ICV-инфузия лозартана снижала уровень питья после приема пищи у овец, но не изменяла потребления пищи, хотя внутривенное воздействие не влияло на питье (Mathai et al., 1997).

У крупного рогатого скота ICV-инфузия лозартана вызывает дозозависимое подавление высокого уровня потребления воды, вызванного ограничением доступа к воде или инфузией Ang II, но не влияет на солевой аппетит (Blair-West et al., 1997). Воздействие саралазина, неселективного антагониста рецепторов Ang II, на медианную область преоптического ядра мозга крысы вызывало значительно ослабленное потребление соли, но не влияло на потребление воды (Tanaka et al., 1997). Кроме того, прямая инъекция Ang I в SFO крысы

стимулировала питье, что блокировалось предварительным действием лозартана (Xu & Xinghong, 1999). Предварительное введение лозартана в SON крысы снижало потребление воды и соли, индуцированное инъекцией Ang II в медиальную область перегородки (септума) крыс после водной депривации (Antunes et al., 1998). Этот эффект не наблюдался после воздействия PD123319, антагониста рецептора AT₂, введенного непосредственно в SON. Стимуляция рецептора AT₂ подавляла питьевой ответ и выброс VP после центрального введения Ang II у крыс (Hohle et al., 1995).

Дегидратация в различной степени повышает образование мРНК Agt и рецептора AT_{1A} в разных районах SFO крысы (Barth & Gerstberger, 1999). ICV введение лозартана полностью блокирует потребление воды, вызванное ICV воздействием Ang II, а после ограничения в пище ее потребление снижается под действием PD123319 (антагониста AT₂). Интересно, что ни питье после водной депривации, ни потребление соли после ее нехватки не менялись под действием лозартана или PD123319 (Weisinger et al., 1997). Микроинъекции Ang II в OVLT повышали потребление воды, но не индуцировали поглощения гипертонического раствора NaCl. Это эффект, опять же, снимался лозартаном (El Ghissassi et al., 1995). Кривая зависимости ответа от дозы для потребления воды после ICV-инъекций показала более высокую чувствительность к Ang II у трансгенных крыс со специфическим снижением астроглиального синтеза Agt по сравнению с контролем (Monti et al., 2001).

Водная депривация усиливает связывание AT₁ и повышает уровень его мРНК в SFO крыс и переднем гипофизе (Sanvitto et al., 1997). После прямой стимуляции крысиного PVN гиперосмотическими растворами обнаружили зависимый от концентрации рост иммунореактивности Ang II (Qadri et al., 1994). Централно индуцированный натрийурез и ответ АД на гипертонический раствор соли включает рецепторы AT₁ в SFO крыс (Rohmeiss et al., 1995).

Функция гемато-энцефалического барьера (ГЭБ). Считается, что локальная PAC в мозге играет функциональную роль в поддержании ГЭБ. Высказано предположение, что уровень Agt, но не ренина, отвечает за эту функцию, поскольку снижение плотности клеток гранулярного слоя гиппокампа и нарушенная функция ГЭБ наблюдались у мышей, дефицитных по Agt, в то время как ренин-дефицитные мыши не проявляли этого фенотипа (Yanai et al., 2000). Эти данные находятся в противоречии с сообщением Rose (Rose & Audus, 1999), которое подтвердило захват и транспорт Ang II, опосредованный рецептором AT₁, в области ГЭБ быка. Вопрос остается открытым, поскольку нет свидетельств того, что ангиотензины способны пересекать ГЭБ и проникать в нециркумвентрикулярные структуры (Harding et al., 1988; Paul et al., 2006). Monti et al. (Monti et al., 2001) обнаружили функциональную активацию рецепторов AT₁ внутри барьера у трансгенной линии крыс со специфическим понижением

астроглиального синтеза Agt. Авторы обнаружили более высокое связывание рецептора AT1 в большинстве областей внутри ГЭБ у трансгенных крыс по сравнению с контрольными. И наоборот, в CVO связывание рецептора AT1 было значительно ниже у трансгенных крыс.

Индукция транскрипции и трансляции. Стимуляция центральной PAC индуцирует программу транскрипционных факторов, обычно ассоциированных с регуляцией нейропластичности. ICV введение ренина крысам индуцирует иммунореактивность Fos и EGR-1 в SFO и ядрах гипоталамуса (Xu & Johnson, 1998). Сходные данные описаны Lebrun et al. (Lebrun et al., 1995), которые после ICV инфузии Ang II в мозге крысы нашли дозо-зависимую экспрессию c-Fos и Krox-24 в SFO, медианной преоптической области и ядрах гипоталамуса. Более того, экспрессия FosB была индуцирована после ICV инъекции Ang II в медианной преоптической области и PVN, в то время как экспрессия c-Jun была ограничена медианной преоптической областью, SFO и PVN, а JunB индуцировалась только в медианной преоптической области и SFO. Лозартан предотвращал индуцированную Ang II экспрессию белков «немедленно-ранних» генов (IEG). Также прямая инъекция Ang I в SFO крысы индуцировала иммунореактивность Fos в третьем желудочке и в вазопрессиновых нейронах SON и PVN, что блокировалось воздействием лозартана (Xu & Xinghong, 1999). Ang II вызывал рост уровня мРНК *Agtr2* в кортикальных нейронах крысы (Shibata et al., 1997). Также было показано, что гормон роста повышает уровень рецептора AT1A в первичной культуре крысиных астроцитов по транскрипционному механизму (Wyse & Sernia, 1997). Ang II, через рецептор AT2, индуцирует образование нитрита из NO, что отменяется с помощью L-NAME (Cote et al., 1998). Более того, обработка нейрональной клеточной культуры SNAP экзогенным источником NO индуцировала морфологическую дифференциацию. Другие механизмы, которые могут отвечать за связанные с AT2 эффекты, включают стимуляцию серин/треонин-фосфатазы A2 и ингибирование MAP-киназ ERK1 и ERK2 (Huang et al., 1996).

Стимуляция Ang II поглощения воды и NaCl – это классическая модель поведенческих эффектов гормонов. Исследования *in vitro* показали, что рецепторы AT1 стимулируют внутриклеточные сигнальные пути, включающие активацию протеин-киназы C (PKC) и MAP-киназы. Было показано, что PKC участвует в индуцированном Ang II потреблении воды, но не NaCl, а MAP-киназа играет роль в потреблении NaCl, но не воды, после центральной инъекции Ang II (Daniels et al., 2009).

Температурная регуляция. AT2-дефицитные мыши имели более низкую температуру тела по сравнению с контрольными и показывали меньшую гипертермию после интраперитонеальной инъекции IL- β и больший рост температуры тела и физическую активность после неиммунологического стресса (Watanabe et al., 1999), подтверждая роль мозговой PAC в регуляции температуры.

Моторный контроль. Как билатеральная, так и унилатеральная микроинъекции Ang II в область СА1 гиппокампа крысы влияла на локомоторную активность, проявляя U-образной формы зависимость от дозы (Belcheva et al., 1997). Эффект был сильнее выражен, когда Ang II вводили в левую область СА1.

Поведение и эмоции. Belcheva et al. (Belcheva et al., 2000) показали, что Ang II способствует обучению и запоминанию у крыс, особенно при микроинъекции в левую область СА1 гиппокампа. Winnicka (Winnicka, 1998) определил, что билатеральное химическое повреждение центральной миндалины крысы полностью ликвидирует облегчающее влияние ICV-инфузии Ang II на поисковый процесс в ситуации пассивного избегания. Ang II значительно повышает амплитуду полевого потенциала латерального ядра базолатеральной миндалины, индуцированного электростимуляцией, в то время как Ang IV вызывает значительное снижение амплитуды этого потенциала (Von Bohlen und Hahlbach & Albrecht, 1998). Wright и сотр. (Wright et al., 1999) показали, что мозговая система Ang IV-AT4 играет роль в формировании стратегии пространственного поиска и памяти, поскольку рецептор AT4 присутствует в значительных количествах в областях СА1-СА3 гиппокампа, и хроническое ICV-введение агониста AT4 (норлейцин1-Ang IV) способствует быстрому принятию решения пространственно-обучающей задачи. Ang II и Ang (3–7) улучшают распознавание объектов крысами (Winnicka et al., 1997). Авторы этой работы показали, что дофаминергическая проекция на медиальную перегородку (septum mediale) способствует облегчающему влиянию ангиотензинов на память распознавания у крыс (Winnicka et al., 1997).

Мыши с дефицитом Agt демонстрируют снижение «депрессивно-подобного» поведения в тесте вынужденного плавания, и спонтанная локомоторная активность у них понижена; однако они не проявляют тревожности, снижения памяти и изменений в пороге болевой чувствительности (Okuyama et al., 1999). Это подтвердилось в других исследованиях, где мыши с дефицитом Agt не отличались от контрольных в процессах, связанных с тревогой и обучением (Walther et al., 1999). Однако трансгенные крысы с пониженной продукцией Agt проявляют больше признаков тревоги, чем контрольные. Возможно, этот эффект связан с одновременно наблюдаемым снижением уровня мозговых рецепторов 5-НТ, подтверждая связь с серотонинергической системой (Voigt et al., 2005). Sakagawa et al. (Sakagawa et al., 2000) показали, что болевой порог значительно ниже у AT2-дефицитных мышей, по сравнению с мышами дикого типа, и что флуоресценция β -эндорфина в аркуатном ядре гипоталамуса была также значительно ниже у AT2-дефицитных мышей. Более того, авторы показали, что рецептор AT2 не влияет на поведение в обучении и на образование отека мозга.

1.2.2.3.4. Адренальная PAC

Ang II – это главный стимулятор секреции альдостерона, и до середины 1980-х годов считалось, что это происходит под управлением системной PAC. Тем не менее, мРНК ренина и Agt в надпочечниках были идентифицированы, и формирование Ang II было показано на изолированной культуре клеток клубочковой зоны. 90% активности ренина надпочечника локализовано в клубочковой зоне, и значительно меньше – в пучковой и сетчатой зонах и мозговом веществе (Mulrow & Franco-Saenz, 1996; Carey & Siragy, 2003a). Ткани надпочечника содержат высокий уровень Ang II (Campbell et al., 1993), и более 90% адренального Ang II происходит из локальной тканевой системы (van Kats et al., 2005). Все компоненты, требуемые для синтеза Ang II, присутствуют в надпочечнике (Urata et al., 1988; Peters et al., 1996a; Clausmeyer et al., 1999; Atlas, 2007). На трансгенных моделях было показано, что ограничение потребления натрия может повышать уровень адренального ренина и альдостерона независимо от концентраций ренина в плазме или почках (Rubattu et al., 1994; Atlas, 2007). Нефрэктомия понижает уровень ренина плазмы до неопределимых значений в течение 4 – 6 часов (Carey & Siragy, 2003a; van Kats et al., 2005), но адренальный ренин растет с пиком при 24 – 36 ч (Doi et al., 1984). Нефрэктомия повышает адренальный ренин через рост содержания калия в сыворотке (Baba et al., 1986). В клетках клубочковой зоны ингибирование ACE или рецептора AT1 блокирует стимуляцию альдостерона калием или АКТГ (Rubattu et al., 1994; Carey & Siragy, 2003a), причем ингибирование ACE снижает продукцию Ang II и альдостерона (Chiou et al., 1994). Более того, уровень адренального ренина, в отличие от его содержания в плазме, хорошо коррелирует с продукцией альдостерона (Doi et al., 1984; Menachery et al., 1991), тем самым подтверждая концепцию, что локально синтезируемый (в дополнение к циркулирующему) Ang II влияет на синтез альдостерона в надпочечнике. Эти факты поддерживают концепцию независимой от почек продукции ренина (а следовательно, и Ang II) в надпочечниках.

Хотя в адренальном мозговом веществе очень мало ренина, считается, что все компоненты PAC присутствуют в медуллярных хромоаффинных клетках, в которых Ang II был локализован в секреторных гранулах (Wang et al., 2002). Стимулирует ли Ang II, продуцируемый и экспортируемый из хромоаффинных клеток, выброс адреналина, окончательно не установлено (Carey & Siragy, 2003a).

Пока неизвестно, функционирует ли адренальная PAC как паракринная или аутокринная система, и играет ли она роль в патофизиологии; относительная важность системного и локально синтезируемого Ang II в контроле функции надпочечников пока также не определена (Atlas, 2007).

Ренин. Железа начинает экспрессировать ренин на высоком уровне во время эмбриогенеза параллельно почке (Jones et al., 1990). Наличие рениноподобной активности в надпочечнике было показано у различных видов, включая кроликов, собак, человека и мышшь (Ehrhart-Bornstein et al., 1998). То, что фермент локально образуется внутри надпочечника, было показано его повышенной концентрацией у нефрэктомизированных крыс (как у SHR, так и для нормотензивных линий) и фактом, что у людей слаба его корреляция с активностью ренина плазмы (Naruse et al., 1983; Kim et al., 1992; Mizuno, 1991).

Экспрессия ренина в надпочечнике регулируется в соответствии с явными физиологическими потребностями: так, транскрипционная активность прорениновой мРНК и концентрация адренального ренина возрастает у крыс при низконатриевой диете или калиевой нагрузке (Nakamagu et al., 1985; Holmer et al., 1993), которые параллельно повышают продукцию альдостерона (Doi et al., 1984), а высоконатриевая диета снижает ее (Holmer et al., 1993). Аналогично, стимуляция культуры клеток клубочковой зоны калием, АКТГ или Ang II повышает содержание мРНК ренина *in vitro*, а также образование как активного ренина (который остается в основном в клетках), так и проренина, доминирующей секретируемой формы (Wang et al., 1992; Yamaguchi et al., 1990). Вместе с тем сообщалось, что секреция проренина стимулировалась катехоламинами (Gupta et al., 1992).

Хотя ренин считается секреторным белком (производящим Ang I внеклеточно), исследования Clausmeyer и сотр. показали, что ткани надпочечника содержат иной транскрипт ренина, приводящий к синтезу укороченной формы проренина, представляющей цитоплазматическую форму ренина, называемую экзон 1А ренин, или ренин А (Bader & Ganten, 2000; Clausmeyer et al., 1999). Когда изоформа А экспрессируется на повышенном уровне у трансгенных крыс, стимулируется синтез альдостерона (Peters et al., 2008a). Этот укороченный проренин транспортируется в митохондрии надпочечника, где может влиять на синтез альдостерона (Clausmeyer et al., 1999). Другие механизмы появления внутриклеточного ренина включают интернализацию ренина, проренина или их обоих при помощи рецепторов маннозо-6-фосфат/инсулиноподобного фактора роста II – PRR (Peters et al., 2002; Saris et al., 2001; van den Eijnden et al., 2001) и последующую внутриклеточную активацию проренина в ренин. По мнению van Kats и сотр. (van Kats et al., 2005), отсутствие внутриклеточного синтеза Ang II в ткани надпочечника подтверждает, что внутриклеточный митохондриальный ренин (Peters et al., 1996a) может иметь иные, еще не идентифицированные, функции.

Ангиотензиноген. Присутствие мРНК Agt было показано в капсулярных фибробласт-подобных клетках у крыс и в нормальных и измененных клетках клубочковой, пучковой зон и медуллы в надпочечнике человека (Ehrhart-Bornstein et al., 1998). Хотя Agt синтезируется, он

явно не сохраняется, и не обнаружено корреляции между оцениваемым иммунологически Agt и его мРНК (Racz et al., 1992).

АСЕ и продукция Ang II. Фракционирование при помощи HPLC Ang I, II и III показало, что клубочковая зона крысиных надпочечников содержит более высокие их концентрации, чем внутренние зоны. Тканевое содержание ангиотензина не меняется при нефрэктомии, повышается (особенно Ang II) при низконатриевой диете или калиевой нагрузке, но сокращается при ограничении калия, как и рениновая и Ang II-связывающая активности (Ehrhart-Bornstein et al., 1998). Секреция Ang I и II тканями крысы стимулируется повышенной концентрацией ионов калия (Kifor et al., 1991). Показано, что образование Ang II в клубочковой зоне у крыс является внеклеточным (Urata et al., 1988), хотя нет прямых доказательств точной локализации АСЕ. Тем не менее, секреция Ang II, как и альдостерона, капсулами надпочечников крыс (эксплантами клубочковой зоны) снижается при добавлении ингибитора АСЕ в контрольных (без стимуляции) условиях, а также при стимуляции повышенным содержанием ионов калия (Shier et al., 1989). Секреция альдостерона, стимулированная Ang I, также подавляется ингибированием АСЕ, в то время как секреция альдостерона, стимулированная Ang II, – нет (Oda et al., 1991).

Примечательно, что АСЕI снижает не только синтез альдостерона, стимулированный калием, но и выброс альдостерона, стимулированный АКТГ (Yamaguchi et al., 1990), указывая на возможность того, что по меньшей мере часть стимуляторного действия АКТГ на альдостерон может модулироваться тканевой РАС. Это слабо согласуется с литературными данными, которые указывают, что действия экзогенных Ang II и АКТГ могут быть антагонистичными (Carey & Siragy, 2003a).

Urata с соотр. (Urata et al., 1988) в работе по субклеточному фракционированию не смогли со-локализовать ренин, Agt и АСЕ в клетках надпочечника и предположили, что продукция ангиотензина в железе происходит внеклеточно. Однако это исследование не включало фракции высокой плотности, содержащие митохондриальный укороченный проренин. Субклеточное фракционирование также показало, что около 95% адренального Ang II является клеточно-ассоциированным (van Kats et al., 2001a). Хотя это могло бы указывать на внутриклеточный синтез Ang II, факт может объясняться и интернализацией внеклеточно синтезированного Ang II. В поддержку последнего предположения приводится то, что циркулирующий Ang II аккумулируется в ткани путем опосредованного рецептором АТ1 эндоцитоза, при этом достигаются характерные для ткани надпочечника уровни, в 15 – 20 раз превышающие таковые в артериальной плазме (van Kats et al., 2005). Высокая плотность рецепторов АТ1 позволяет уровню адренального Ang II повышаться даже при почти полной

блокаде этих рецепторов. Накопление Ang II наблюдалось также в почках и сердце, хотя на значительно более низком уровне (Zou et al., 1996; van Kats et al., 2005).

Рецепторы ангиотензина. Клетки клубочковой зоны содержат специфические рецепторы, в основном субтипа AT1 (Balla et al., 1991; Ehrhart-Bornstein et al., 1998). У большинства видов концентрации рецепторов Ang значительно ниже в пучковой и сетчатой зонах, чем в клубочковой, и требуются высокие концентрации Ang II, чтобы стимулировать выброс стероидов в клетках пучковой зоны (Ehrhart-Bornstein et al., 1998). Медулла также содержит рецепторы ангиотензина, хотя в основном субтипа AT2 (Balla et al., 1991).

1.2.2.3.4.1. Функции PAC в надпочечнике

В 1958 году Gross (см. у Ehrhart-Bornstein et al., 1998) первым обратил внимание на первостепенное значение PAC в регуляции секреции альдостерона. С этого времени было показано, что снижение баланса натрия приводит к росту активности ренина плазмы, концентраций Ang II и альдостерона, и что рост содержания альдостерона блокируется применением ингибиторов ACE (Aguilera & Catt, 1983). Способность Ang II стимулировать секрецию альдостерона была показана для многих видов, включая человека, крысу, овцу, собаку и кролика, и в общем случае это сопровождается ростом секреции глюкокортикоидов внутренними адренокортикальными зонами (пучковой и сетчатой), хотя существуют и видовые вариации (Hinson et al., 1988; Finn et al., 1988; Ehrhart-Bornstein et al., 1998). Функции адренальной PAC могут включать модуляцию секреции альдостерона в дополнение к действию системного Ang II. Это заключение поддерживается резко измененным стероидогенезом у крыс TGR(mREN2)²⁷ со стимулированной адренальной PAC при нормальном уровне Ang II в плазме (Mullins et al., 1990; Sander et al., 1992). Адренальная PAC может служить как система амплификации влияния циркулирующей PAC на стероидогенез, поскольку Ang II может индуцировать выброс ренина из адренокортикальных клеток (Peters et al., 1993). Помимо острого влияния на секрецию альдостерона, долговременное воздействие Ang II также приводит к пролиферативному эффекту в клубочковой зоне и влияет на функцию альдостерон-синтазы, таким образом воспроизводя хронические эффекты низкосолевой диеты (Aguilera & Catt, 1983; Du et al., 1996; Robba et al., 1988). В клетках надпочечника быка Ang II также подавляет экспрессию 17 α -гидроксилазы и ответ кортизола на стимуляцию АКТГ, другими словами, подавляя функцию пучковой зоны (Bird et al., 1992). Весьма вероятно, что произведенный тканью Ang II может быть более эффективным, чем Ang II плазмы, в повышении секреции альдостерона, например, при низконатриевой диете, и это подтверждается параллельными кинетиками тканевого Ang II и альдостерона плазмы у крыс,

требующими 1 – 2 дней для выхода на плато, в отличие от относительно быстрого достижения пика в активности ренина плазмы, достигаемого через 8 часов после ограничения натрия (Menachery et al., 1991). В культуре клеток клубочковой зоны надпочечника крысы и в диспергированных клетках секреция альдостерона и Ang II сильно коррелировали, и секреция обоих выглядела волнообразно (Kifor et al., 1991).

Ответ секреции альдостерона на стимуляцию другими факторами фактически зависит от адrenalной PАС, поскольку эффект и АКТГ, и ионов калия ослабляются ингибированием ACE и специфическими антагонистами рецептора AT1 (Ehrhart-Bornstein et al., 1998). Возможно, таким образом, что активность тканевой PАС требуется для поддержания адренокортикальных клеток в необходимом функциональном состоянии, чтобы они могли отвечать на острую или хроническую стимуляцию определенными факторами. Можно предположить, что одним из таких действий PАС могло бы быть, например, ее влияние на пополнение пула предшественников стероидов, таких как клеточный холестерин, или запаса кальция в эндоплазматическом ретикулуме (Tamura et al., 1996a).

Представление о том, что локальная тканевая PАС надпочечника может скорее иметь отношение к долгосрочным и чисто трофическим действиям Ang II, а не к острому ответу секреции альдостерона, было поддержано работами на крысах, несущих мышинный ген *Ren-2*, TGR (mRen-2)²⁷ (Tokita et al., 1994a). Здесь наблюдали высокие концентрации ренина не только в клубочковой, но и во внутренних адренокортикальных зонах, в то время как содержание ренина в почке и экспрессия гена ренина были низки (Bader et al., 1992). Продукция альдостерона была также обнаружена во внутренних адренокортикальных зонах, что согласуется с мнением, что одна из ролей адrenalной PАС – поддерживать экспрессию альдостерон-синтазы (Sander et al., 1994; Yamaguchi et al., 1992a). Концепция, что хронические тропные действия, а не острые эффекты, характерны в качестве ответов тканевых PАС, в отличие от системной, согласуется с аналогичной интерпретацией кардиальной PАС. Инфузия Ang II, подобно низконатриевой диете, вызывает деление клеток как в клубочковой зоне, так и в сетчатой (McEwan et al., 1996). Способность Ang II к ремоделированию ткани кажется более сложной с появлением данных о том, что, хотя рецепторы AT1 модулируют митотический ответ, рецептор AT2 может быть специфически связан с апоптозом (Yamada et al., 1996). Точное действие Ang II на структуру ткани может, таким образом, зависеть отчасти от относительной доступности этих двух субтипов рецепторов.

Ang II в ходе развития надпочечника может быть вовлечен в регуляцию ранней эмбриональной экспрессии ренина в этом органе (Sequeira Lopez et al., 2004), и регулирующие рост эффекты локально синтезированного Ang II имеют важное значение для подстройки размера клубочковой зоны для физиологических потребностей (Otis et al., 2007).

Также существует возможность, что Ang II адrenalного происхождения может играть системную роль, по меньшей мере у линий крыс SHR-SP (Kim et al., 1992) и трансгенных TGR (mRen-2)²⁷ (Tokita et al., 1992; Tokita et al., 1994b), путем стимуляции секреции проренина, который в этом случае может производить внутренние эффекты без необходимости превращения в ренин (Peters et al., 1996b). Адrenalная PAC может также играть роль в гипотензивном ответе на ингибирование ACE у нормальных крыс (Tokita et al., 1995). И у трансгенных, и у нормальных крыс базальное содержание адrenalного ренина стимулируется Ang II, подтверждая наличие петли позитивной обратной связи (Yamaguchi et al., 1992b; Peters et al., 1993), но у нормальных крыс стимулированный АКТГ рост ренина блокируется Ang II (Yamaguchi et al., 1992b). Тем не менее, нефрэктомия повышает содержание адrenalного ренина (Tokita et al., 1994a), как и у нетрансгенных животных; таким образом, регуляция продукции адrenalного ренина комплексна.

Другая возможность состоит в том, что адrenalная тканевая PAC связана с регуляцией сосудистой системы. Ясно, что функция внутренних адренокортикальных зон и секреция глюкокортикоидов сильно влияют на сосуды. В частности, повышенный кровоток через эти железы ассоциирован с глюкокортикоидной секрецией, и, несомненно, стимулирует ее, преимущественно через изменения в секреции факторов, происходящих из самих сосудов, таких как оксид азота и эндотелины. Возможно, тканевый Ang II также играет роль здесь, ввиду его вазоактивных свойств и его известного вазоконстрикторного действия на надпочечник крысы (Hinson et al., 1986).

Суммируя, можно сказать, что существует убедительное доказательство того, что, как и в некоторых других тканях, полная PAC присутствует в коре надпочечника, преимущественно в клубочковой зоне. Эта система производит Ang II, действующий паракринно/аутокринно на клетки этой зоны, и отвечает на физиологические потребности, как и циркулирующая система, т.е. ее активность повышается в условиях ограничения натрия в диете. Можно заключить, что эта система связана с различными аспектами функций клубочковой зоны, включая посредничество для действий других стимуляторов, таких как АКТГ или ионы калия, а также тканевую дифференцировку и ремоделирование.

1.2.2.3.5. Сосудистая PAC

Сосудистая стенка – это эффекторный орган для гормональной или плазменной PAC, где рецепторы AT₁, локализованные на сосудистых клетках гладкой мускулатуры, опосредуют вазоконстрикцию. Концепция сосудистой PAC была выработана, когда стало очевидным, что Ang II может дифференцированно воздействовать на рост сосудистых клеток и что компоненты

РАС могут образовываться в сосудах внутриклеточно (Paul et al., 2006). 40 лет назад Ganten et al. (Ganten et al., 1970) смогли показать, что ренин может секретироваться из сосудов брюшной полости. Дальнейшие исследования обнаружили мРНК и белок Agt в сосудистой стенке и задокументировали локальный синтез Ang II (Müller et al., 1995).

Ренин. Вопрос синтеза ренина в кровеносных сосудах на протяжении долгого времени оставался противоречивым (Von Lutterotti et al., 1994; Rosenthal et al., 1990). Лишь проведенные десятилетие назад исследования помогли прояснить возможность наличия сосудистой РАС. Выяснилось, что ренин, вероятно, не синтезируется локально в стенке кровеносных сосудов, поскольку рениновая мРНК не определяется методом RT-PCR с использованием даже 5 мкг сосудистой РНК (Hilgers et al., 2001). В изолированных, перфузированных препаратах задних частей крыс отмечалась спонтанная генерация Ang I, что исключалось билатеральной нефрэктомией. Образование Ang I восстанавливалось после рениновой инфузии и исчезало после эндотелиальной денудации (Hilgers et al., 2001). Эти исследования убедительно доказывают, что эндотелий опосредует сосудистый синтез Ang II через клеточный захват ренина. Принято считать, что локальный синтез ренина ничтожен, если вообще имеет место, в сосудах (Paul et al., 2006). Хотя это может быть верно в физиологических условиях, возможно, что локальная продукция ренина может включаться в состоянии болезни (Iwai et al., 1997).

Помимо локального синтеза, был предложен как соответствующий механизм захват ренина через неспецифические сайты связывания на эндотелиальных клетках или специфические рецепторы проренина/ренина (Catanzaro, 2005; Jan Danser & Saris, 2002; Nguyen et al., 2004; Nguyen et al., 2002). Рецептор М6Р (PRR) связывает ренин и проренин на эндотелиальных клетках человека (Admiraal et al., 1999), что может обуславливать механизм клиренса для проренина (Van den Eijnden et al., 2001). Постулат о том, что PRR отвечает за захват ренина из циркуляции в сосудистую стенку, был подтвержден в экспериментах с использованием модели трансгенных крыс с повышенной экспрессией этого белка в клетках гладкой мускулатуры сосудов. Эти трансгенные по PRR животные показывают рост накопления проренина в сосудах и повышенное АД (Burckle et al., 2006; Batenburg et al., 2007).

АСЕ. В сосудистой стенке АСЕ доступен для обнаружения, и локализован преимущественно на поверхности эндотелиальных клеток (Falkenhahn et al., 1995; Zhuo et al., 1998). Данные относительно распределения экспрессии АСЕ в различных слоях сосудистой клетки противоречивы. Wilson et al. (Wilson et al., 1987) обнаружили преимущественное мечение в эндотелии и адвентиции. Это было подтверждено Rogerson et al. (Rogerson et al., 1992) в артериях человека, собаки, кролика и овцы. Arnal и сотр. (Arnal et al., 1994) показали высокий уровень экспрессии мРНК и белка АСЕ, как и иммунореактивность, в средней оболочке аорты крысы, где уровень экспрессии почти так же высок, как в эндотелии, хотя

экспрессия была низка в адвентиции. Несколько сообщений показали, что клетки гладкой мускулатуры сосудов, которые, вероятно, не экспрессируют ACE, могут делать это в определенных патофизиологических ситуациях (Fernandez-Alfonso et al., 1997). Эндотелиальная дисфункция ассоциирована с ростом содержания локального тканевого ACE, который может участвовать в нарушении баланса вазодилатации и вазоконстрикции (Atlas, 2007). Активация сосудистого ACE может также менять другие функции, включая рост клеток сосудистой гладкой мускулатуры, воспаление и окислительное состояние сосудистой стенки (Pagliaro & Penna, 2005).

ACE2. Экспрессия мРНК ACE2 найдена повсеместно в артериальных и венозных эндотелиальных клетках и клетках гладкой мускулатуры артерий во всех органах, исследованных Hamming et al. (Hamming et al., 2004). ACE2, его продукт Ang (1–7) и Mas были найдены в сосудистой стенке (Alenina et al., 2008). Ang (1–7) производится в сосудистой стенке из Ang II с помощью ACE2 и взаимодействует с Mas на эндотелиальных клетках (Santos et al., 2003; Sampaio et al., 2007a). Как было показано на Mas-дефицитных мышах, это взаимодействие улучшает эндотелиальную функцию и снижает АД (Xu et al., 2008). Таким образом, система ACE2–Ang (1–7)–Mas противодействует классической PAC в сосудистой стенке.

Agt. Субстрат каскада PAC обнаружен в кровеносных сосудах на уровне мРНК (Campbell & Habener, 1986; Hellmann et al., 1988). Работы по гибридизации *in situ* показали, что он в достаточном количестве экспрессируется периадвентициальными жировыми клетками (Campbell & Habener, 1987; Cassis et al., 1988). Это вызвало предположение, что Agt секретируется этими клетками и диффундирует через сосудистую стенку, где входит в контакт с сосудистым ренином.

Клетки гладкой мускулатуры сосудов, эндотелия и эндокардия производят Ang I, вероятно, при помощи захваченного из циркуляции ренина (Carey & Siragy, 2003a).

Рецепторы ангиотензина. Рецепторы AT1 и AT2 были идентифицированы в сосудах (Bonnet et al., 2001; Murphy et al., 1991). Первоначально функции этих рецепторов исследовали на культурах клеток. Клетки гладкой мускулатуры сосудов в культуре экспрессируют только рецептор AT1, в то время как культура эндотелиальных клеток экспрессирует и AT1, и AT2 (Stoll et al., 1995). Рецепторы AT1 в сосудах опосредуют «канонические» функции Ang II, то есть сокращения гладкой мускулатуры сосудов, прессорный и тахикардальный ответы (Carey & Siragy, 2003a).

Ang II стимулировал рост клеток гладкой мускулатуры сосудов, но при этом пептид ингибировал рост коронарных эндотелиальных клеток в ответ на стимуляцию базовым фактором роста фибробластов (Stoll et al., 1995). В присутствии антагониста рецептора AT2 этот эффект снимается, подтверждая ингибирующую роль AT2 (Stoll et al., 1995).

Распределение рецептора AT₂ в сосудистой стенке, тем не менее, вызывало дебаты (Batenburg et al., 2005). Функциональные исследования изолированных артерий человека и животных позволили собрать доказательства того, что эндотелий – наиболее важный сайт экспрессии рецептора AT₂ (Batenburg et al., 2004; Batenburg et al., 2005; Bergaya et al., 2004; Paul et al., 2006). Кроме того, поскольку AT₂ может образовывать гетеродимеры с рецепторами AT₁ (AbdAlla et al., 2001a), это может требовать со-локализации обоих рецепторов и тем самым указывает на дополнительную экспрессию AT₂ на клетках гладкой мускулатуры сосудов в сосудистой стенке (Batenburg et al., 2005).

Физиологическая роль рецептора AT₂ в сердечнососудистой системе сначала была выведена из наблюдений, что мышцы с отсутствием AT₂ имеют некоторое повышение базального АД (Hein et al., 1995; Ichiki et al., 1995b). Впоследствии было показано, что AT₂ способствует вазодилатации, стимулируя продукцию BK, NO и cGMP (Siragy & Carey, 1996; Siragy & Carey, 1997), и при отсутствии AT₂ мышцы демонстрируют пониженные тканевые уровни BK, NO и cGMP, ассоциированные с прессорной и натрийуретической гиперчувствительностью к Ang II (Siragy et al., 1999a). Сверхэкспрессия рецептора AT₂ в клетках гладкой мускулатуры сосудов снижает пресорный ответ на Ang II, который восстанавливается при блокаде NO-синтазы или рецептора B₂ (Tsutsumi et al., 1999). Рецептор AT₂ вызывает клеточный ацидоз, вероятно, активацией амилорид-чувствительного эпителиального натриевого канала, тем самым активируя калликреин-кининовую систему, вызывая выброс BK, что запускает образование NO и cGMP (Tsutsumi et al., 1999).

Действие на сосуды рецептора AT₂ может быть усилено блокадой рецептора AT₁, и при этих обстоятельствах Ang II вызывает как острый, так и продолжительный гипотензивный ответ у нормальных животных (Carey et al., 2001a). Активация рецептора AT₂ эндогенным Ang II приводит к дилатации крысиных мезентерических артерий и вызывает гипотензию у гипертензивных крыс (Tamura et al., 2000). Кроме того, Ang II вызывает релаксацию микрососудов через рецептор AT₂ (Dimitropoulou et al., 2001). Особый интерес вызывает сохранение функций AT₂ при длительной стимуляции рецептора без десенситизации (Widdor et al., 2002). Все вместе эти исследования явно доказывают, что рецептор AT₂ проявляет вазодилататорные свойства, которые противоположны действиям Ang II через рецептор AT₁.

В кровеносных сосудах, помимо вазодилататорных функций, AT₂ проявляет антипролиферативные и апоптотические эффекты в клетках гладкой мускулатуры сосудов в ответ на повреждения, противостоя действиям Ang II на рецептор AT₁ (Suzuki et al., 2002). Часть действий рецептора AT₂ в сосудах может быть направлена на подавление экспрессии рецепторов AT₁, а также рецепторов TGF- β через сигнальный путь BK/NO (Su et al., 2002).

Интересно, что рецептор AT₂ не обладает этими свойствами у крыс со спонтанной гипертензией (Su et al., 2002).

1.2.2.3.5.1. Функции сосудистой PАС

Сосудистый тонус и эндотелиальная функция. Тканевая PАС участвует в поддержании кардиоваскулярного гомеостаза, давая двойной вклад в сосудистую функцию, выражаемый противоположными эффектами двух своих рецепторов. В исследованиях *in vivo*, т.е. в ситуации целостного организма, невозможно провести четкую границу между эффектами Ang II, образованного в плазме, и эффектами, относящимися к Ang II, образованному в сосудистой стенке. Тем не менее, исследования показали возможность образования Ang II внутри сосудов. Локальное производство Ang II в сосудах было продемонстрировано в изолированных препаратах задних конечностей крыс (Hilgers et al., 1989). В последующих экспериментах было показано, что сосудистая продукция Ang II опосредована эндотелием, поскольку превращение Ang I в Ang II прекращалась при удалении эндотелия (денудации) (Hilgers et al., 2001).

В ответ на системно или локально производимый Ang II, рецептор AT₁ вызывает сократительный ответ через PLC-зависимый механизм, ведущий к росту внутриклеточного кальция (De Gasparo et al., 2000; Sayeski & Bernstein, 2001). Он также действует непрямым путем, стимулируя синтез других вазоконстрикторов, таких как эндотелин-1 (Rossi et al., 1999; Schiffrin, 2005). И наоборот, активация рецепторов AT₂ приводит к активации протеинфосфатаз, тем самым обращая вспять эффекты связывания Ang II с рецепторами AT₁ (Nouet & Nahmias, 2000). Таким образом, рецептор AT₂ связан с механизмами, которые предотвращают возникновение патологических сосудистых изменений (Carey et al., 2001b; Widdop et al., 2003). Несомненно, большое количество доказательств, полученных на животных, подтверждают роль опосредованной рецептором AT₂ вазодилатации (Batenburg et al., 2005; Gohlke et al., 1998; Walters et al., 2005). Важно, что эта вазодилаторная роль AT₂ была также ясно продемонстрирована на коронарных микроартериях человека (Batenburg et al., 2004; Batenburg et al., 2005), хотя этот эффект в больших коронарных артериях и сосудах сопротивления в человеческой руке не столь значителен (Batenburg et al., 2004; Batenburg et al., 2005).

Суммируя литературные данные (Paul et al., 2006), можно сделать вывод, что вазодилаторный эффект рецепторов AT₂ в первую очередь имеет отношение к прямой активации сигнального пути NO-cGMP, в то время как непрямая активация NO через BK и рецептор B₂ кажется менее вероятной (Batenburg et al., 2005). Тем не менее, экспериментальные работы на гипертензивных крысах продемонстрировали, что опосредованная рецепторами AT₂ вазодилатация *in vivo* зависит от состояния артериального

давления (You et al., 2005). Помимо модуляции сосудистого тонуса Ang II через путь NO-cGMP, недавние исследования ясно показали, что эффектам Ang II в сосудах способствует по меньшей мере частично модификация окислительно-восстановительной среды в клетках-мишенях (Hanna et al., 2002). Показано, что Ang II активирует сосудистые NAD(P)H-оксидазы, приводя в результате к продукции ROS, а именно, перекисных соединений (Cai et al., 2003; Hanna et al., 2002; Mollnau et al., 2002; Touyz & Schiffrin, 2001). Следовательно, Ang II способен повышать биодоступность NO активацией сигнального пути NO-cGMP через AT2 и снижать биодоступность NO, вызывая окислительный стресс через рецептор AT1 (Cai et al., 2003; Hanna et al., 2002; Schulman et al., 2005). В этом отношении, Ang II играет важную роль в модуляции баланса между NO и ROS в эндотелии и тем самым поддерживает гомеостаз сосудистой стенки. Было показано, что окислительный стресс играет критическую роль в развитии эндотелиальной дисфункции, гипертонии и атеросклерозе (Hanna et al., 2002; Schulman et al., 2005). Тем не менее, относительный вклад редокс-независимых гемодинамических механизмов и окислительного стресса в поддержании сосудистой функции и их модуляция Ang II через рецепторы AT1 и AT2 нуждаются в дальнейшем глубоком анализе.

Прямым воздействием на рецепторы AT1 в клетках гладкой мускулатуры сосудов Ang II повышает сосудистый тонус и артериальное давление. Тем не менее, классическая концепция была поколеблена при использовании мышей, дефицитных по T-лимфоцитам, которые не проявляли прессорного ответа на низкодозовую инфузию Ang II. Эти открытия подтвердили, что иммунные клетки могут участвовать в локальном воздействии этого пептида на сосудистый тонус (Guzik et al., 2007). Более того, эти мыши не развивали сосудистой дисфункции и повреждений, в норме наблюдаемых после инфузии Ang II. Когда эти данные будут подтверждены, придется принять тот факт, что действие Ang II на сосудистую стенку частично опосредовано рецепторами AT1 на T-клетках и, возможно, на других иммунных клетках. Утверждается, что в лаборатории Müller-Luft сделаны такие же наблюдения на мышах с отсутствием дендритных клеток (Bader & Ganten, 2008).

Более того, используя модель с повышенной экспрессией рецептора AT1 только в эндотелиальных клетках, Ramchandran и сотр. (Ramchandran et al., 2006) продемонстрировали, что Ang II может также действовать как вазодилататор, когда взаимодействует с AT1 на этих клетках. Такой же эффект был показан для рецепторов AT2 ранее. Таким образом, сетевой кардиоваскулярный эффект метаболизма Ang II в сосудистой стенке зависит от относительного уровня экспрессии классических и «новых» компонентов PAC в клетках эндотелия и гладкой мускулатуры (Bader & Ganten, 2008).

Ремоделирование ткани. Помимо хорошо установленных долгосрочных эффектов PAC на ремоделирование сосудов, возникающее вследствие пролиферативных эффектов на клетки

гладкой мускулатуры сосудов и фибробласты (Alexander & Griendling, 1996; Geisterfer et al., 1988; Gibbons et al., 1992), продукция ROS NAD(P)H-оксидазой в ответ на Ang II была показана как важный механизм, связывающий активацию PAC с такими событиями как воспаление, атеросклероз, гипертрофия, ремоделирование и ангиогенез (Cai et al., 2003; Griendling et al., 1994). Такая продукция ROS в эндотелии и клетках гладкой мускулатуры сосудов активирует сигнальные пути, такие как MAP-киназы, тирозин-киназы и транскрипционные факторы (Cai et al., 2003; Griendling et al., 1994). В процессах, приводимых в действие Ang II/AT1, ведущих к повреждению сосудов и хроническому атеросклерозу из-за повышенной продукции ROS, включаются дополнительные механизмы, такие как окисление и захват липопротеинов низкой плотности (LDL), повышенная экспрессия молекулярных медиаторов воспаления, таких как NFκB, или молекул клеточной адгезии (Cheng et al., 2005; Luft, 2002). Кроме того, активируются хемокины и провоспалительные цитокины (Cheng et al., 2005; Luft, 2002). Более того, были описаны апоптотические изменения в ответ на Ang II в сосудистой стенке (Diep et al., 1999). Это, в дополнение к индуцированной Ang II модуляции компонентов внеклеточного матрикса металлопротеиназами матрикса (MMPs) и их тканевыми ингибиторами (TIMPs), может играть роль в сосудистом ремоделировании (Jacob, 2003), включая такие процессы как нарушение нормального эндотелиального слоя при раннем атеросклерозе или разрывы бляшек при более развитом атеросклерозе (Cipollone et al., 2004). Более того, рецепторы AT1 и AT2 индуцируют противоположное действие на рост клеток гладкой мускулатуры сосудов (Hutchinson et al., 1999). Рецептор AT2 вновь может рассматриваться как механизм балансировки, уравновешивающий многие механизмы, упомянутые выше и действующие через рецептор AT1.

Ангиогенез. Walsh et al. (Walsh et al., 1997) показали, что Ang II может стимулировать ангиогенез, действуя через рецепторы AT1 в модели подкожной гранулемы крысы, и что рецепторы AT1 и AT2 и ACE появляются последовательно во время созревания микрососудов. Это подтверждает более ранние сообщения о том, что Ang II стимулирует ангиогенез в модели куриных эмбрионов (Le Noble et al., 1991). Эти авторы также показали, что эти изменения опосредует альтернативный рецептор Ang II (Le Noble et al., 1993). Неясно, объясняется ли этот альтернативный механизм антиангиогенными действиями Ang (1–7), который может стимулировать выброс NO взаимодействием с рецептором, отличающимся от подтипов AT1 и AT2 (Machado et al., 2001). Изучение AT2-дефицитных мышей и мышей дикого типа с использованием хирургически индуцированной ишемии задних конечностей показало, что AT2 отвечает за антиангиогенный эффект, который ассоциирован с активацией апоптоза (Silvestre et al., 2002). Этот эксперимент ставит под сомнение полезную роль стимуляции AT2 в контексте фармакологической блокады AT1 в ишемических тканях (Levy, 2004).

Возрастные изменения сосудов. Уровень содержания артериальных компонентов сигнального каскада Ang II повышается с возрастом (Najjar et al., 2005). Сигнальный путь Ang II через рецепторы AT1 усиливает продукцию коллагена в стенке артерии, способствует накоплению NAD(P)H-оксидазной активности и росту миграции клеток гладкой мускулатуры сосудов (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008). Повышенное образование ROS ведет к активации металлопротеаз, снижению биодоступности NO и эндотелиальной дисфункции (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008). Продукция ROS, индуцированная Ang II, может давать вклад в старение тканей и связанные со старением сердечно-сосудистые болезни (de Cavanagh et al., 2004). Ang II также вызывает активацию сигнального пути NFκB и провоспалительных цитокинов (Ruiz-Ortega et al., 2006; Savoia & Schiffrin, 2006). Таким образом, исходя из приведенных данных, кажется, что Ang II играет центральную роль во многих стимулах, которые управляют старением артерий и их функциональными ответами.

Таким образом, локальное производство Ang II было продемонстрировано для всех тканей, значимых для кардиоваскулярного контроля. Эти тканевые PAC играют важную роль в функциональной регуляции соответствующих органов, в основном передавая и усиливая эффекты циркулирующего Ang II. Тем самым они модулируют кардиоваскулярные параметры и влияют – в основном ускоряя – на патогенез сердечно-сосудистых болезней. Таким образом, тканевые PAC формируют основу для понимания необычной терапевтической эффективности лекарств, подавляющих PAC, таких как ингибиторы ACE, антагонисты AT1 и вновь открытые ингибиторы ренина (Bader & Ganten, 2008).

1.2.2.3.6. Другие тканевые PAC

Число локальных PAC не ограничивается перечисленными выше. Так, описана PAC в жировой ткани (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008), которая содержит все компоненты PAC, включая рениновый рецептор, со-локализованный с ренином, и может участвовать в регуляции жирового обмена (Achard et al., 2007). Показано, что висцеральная PAC может играть роль в патофизиологии метаболического синдрома, или синдрома X (Ernsberger & Koletsky, 2007). Жировая ткань является важным источником как локального, так и циркулирующего Agt (Engeli et al., 2003) и потому может принимать участие в системной регуляции АД. Так, трансгенные мыши с повышенной экспрессией Agt только в жировой ткани показывали повышенное содержание Agt в плазме и развивали гипертензию (Massiera et al., 2001).

Помимо присутствия в белой жировой ткани, компоненты PAC были также обнаружены в бурой жировой ткани, расположенной вблизи адвентиция кровеносных сосудов, где она

может взаимодействовать с сосудистой РАС. Ang II играет роль в термогенезе, опосредованном СНС. Действие холода индуцирует рост Ang II в межлопаточной бурой жировой ткани крысы без ощутимых изменений в компонентах РАС плазмы и способствует симпатической нейротрансмиссии (Cassis, 1993; Cassis & Dwoskin, 1991).

По-видимому, локальная РАС существует и в репродуктивных органах. Ренин был обнаружен в плаценте животных многих видов (Hagemann et al., 1994), с наибольшей концентрацией в фетальных оболочках (хорионе и амнионе) и в decidua. У человека проренин – основная форма ренина в плаценте (Kalenga et al., 1996). Представлено свидетельство полной локальной тканевой РАС в теле матки небеременных женщин и в плацентарной площадке женщин с нормальной беременностью и преэклампсией (Anton et al., 2009).

В мужской репродуктивной системе тестикулярная ACE (100 kDa), меньшая изоформа ACE, играет важную роль в фертильности, способствуя секреции гликозил-фосфатидил-инозитол(GPI)-связанного белка из клеток спермы. Клетки спермы, нокаутные по ACE, проявляют ослабленное связывание с яйцеклеткой (Kondoh et al., 2005). Правда, отмечается, что воздействие ингибиторов ACE не влияет на мужскую фертильность (Fyhrquist & Saijonmaa, 2008), поскольку существует гемато-тестикулярный барьер, не проницаемый для ингибиторов ACE и блокаторов AT1 (Paul et al., 2006).

Выявлены компоненты РАС и в органах пищеварения.

В подчелюстной слюнной железе роль ренина и других компонентов РАС связывают с реакцией «бегства или борьбы» при стрессе (Paul et al., 2006). Существование локальной РАС обнаружено в различных клетках поджелудочной железы, и экспрессия ее компонентов модулируется в ответ на такие физиологические и патофизиологические стимулы как гипоксия, панкреатит, трансплантация, гипергликемия и диабет. (Leung, 2007).

Показано, что Ang II стимулирует абсорбцию натрия и воды в тонком кишечнике у адреналэктомизированных крыс, но высокая доза пептида ингибирует абсорбцию (Levens et al., 1981a). Jin и сотр. (Jin et al., 1998) обнаружили, что в тонкой кишке крысы абсорбция натрия и воды, стимулированная низкими дозами Ang II, полностью блокируется антагонистом рецептора AT2, тогда как ингибирование абсорбции высокой дозой Ang II блокировалось лозартаном. Сравнение крыс SHR с нормотензивным контролем показало, что SHR обладают повышенной интестинальной абсорбцией воды как у гипертензивных взрослых особей, так и у нормотензивных юных SHR (Dorey et al., 1983). Ang II стимулирует транспорт воды и натрия также в толстом кишечнике крысы (Paul et al., 2006).

Вероятно, свои локальные РАС присутствуют и в некоторых органах чувств, например, в тканях глаза (Paul et al., 2006). Поскольку рецепторы Ang II были выявлены преимущественно в сосудах сетчатки, глазная РАС может участвовать в регуляции сосудистого тонуса глаза.

Помимо этого аспекта, окулярная РАС может участвовать в водном обмене. Окулярная РАС может также быть важна для поддержания нормальной секреторной функции эпителиальных клеток стекловидного тела (Cullinane et al., 2002).

Не до конца ясен вопрос о наличии тканевой РАС в коже. При помощи Нозерн-блота была показана экспрессия мРНК ренина в подкожной клетчатке грызунов, но не в дерме или эпидермисе (Sigmund et al., 1990). Там же показано наличие больших количеств ACE (Sun et al., 1994). ACE может экспрессироваться сосудистыми эндотелиальными клетками или захватываться из циркуляции. С другой стороны, Steckelings и сопр. (Steckelings & Czarnetzki, 1995) указали, что химаза, происходящая из мышечных клеток кожи, может замещать ACE (Galli, 1993; Steckelings & Czarnetzki, 1995). Более того, мышечные клетки являются дополнительным источником синтеза ренина (Silver et al., 2004). Уровень Ang II повышается в коже крысы при повреждениях (Gyurko et al., 1992; Kimura et al., 1992a). Также описаны как пролиферативные, так и антипролиферативные эффекты Ang II в коже, которые, по-видимому, опосредованы как рецепторами AT1 и AT2, так и рецепторами иных субтипов (Paul et al., 2006).

Интересно, что своя локальная РАС обнаружена в таком образовании, как каротидное тельце. Leung и сопр. (Leung et al., 2003) показали функциональную экспрессию РАС в каротидном тельце, где каротидные хеморецепторы играют важную физиологическую роль в регуляции автономных ответов на изменения в артериальном химическом составе. Была продемонстрирована экспрессия и локализация некоторых ключевых компонентов РАС, в частности Agt (Lam & Leung, 2002). Локально производимый Ang II из клеток гломуса затем действует паракринно/аутокринно на рецепторы AT1, локализованные поблизости от этих клеток, прямо модулируя возбудимость хеморецепторов (Leung et al., 2003).

1.2.2.4. Значение внутриклеточной РАС

Некоторые исследователи показали существование функциональной внутриклеточной РАС (De Mello, 2006; Re & Cook, 2006); тем не менее, физиологическую и патофизиологическую роль этой системы еще предстоит определить. Является ли внутриклеточная РАС общим феноменом или ограничена только определенными тканями, клетками или патофизиологическими условиями? Эффекты такой РАС во многих клетках, а именно кардиальных (Baker et al., 2004), почечных (Zhuo et al., 2006), печеночных (Cook et al., 2001) и сосудистых (Cook et al., 2006) клетках, подтверждают широкое значение системы. Внутриклеточная генерация Ang II в кардиомиоцитах, стимулированная гипергликемией, демонстрирует избирательную активацию внутриклеточной РАС (Singh et al., 2007). Вероятно, дополнительные патофизиологические состояния также регулируют внутриклеточную РАС

(Frustaci et al., 2000; Fiordaliso et al., 2000). Обзоры Re и сотр. (Re & Cook, 2006; Re, 2003) подтверждают, что интракринные пути имеют физиологическое и патофизиологическое значение.

Внутриклеточная PАС потенциально имеет важное терапевтическое применение. Внутриклеточная система вообще не ингибируется блокаторами рецепторов (поскольку рецепторы AT1 не участвуют во внутриклеточных эффектах) или ингибиторами ACE (поскольку внутриклеточный синтез Ang II, вероятно, включает альтернативные ферменты, такие как химаза, в таких патологических состояниях как гипергликемия) (Singh et al., 2007; Baker & Kumar, 2006). Наблюдаемые полезные эффекты ARBs и ACEIs в этих условиях могут быть связаны с ингибированием внеклеточных PАС и PАС-независимыми механизмами, такими как действие на PPAR- γ и калликреин-кининовую систему (Yoshiyama et al., 2005; Schupp et al., 2004; Watanabe et al., 2005). Последние наблюдения подтверждают, что ингибирование внутриклеточной PАС может принести дополнительную и значительную клиническую пользу (Kumar et al., 2007).

Локальные PАС производят различные действия во многих органах. В некоторых тканях они регулируются независимо от PАС плазмы, как это можно заключить из экспериментов, где нефрэктомия (снижающая образование Ang II в плазме) приводит к активации или не вызывает никаких изменений в локально синтезируемом Ang II, как это имеет место в надпочечниках или мозге. В системах других органов, по-видимому, существует тесный диалог между локальной и циркулирующей PАС. Компоненты системы, такие как ренин или Agt в сердце, например, могут захватываться из циркуляции и сохраняться локально, чтобы быть доступными для местного синтеза и действия Ang. Если есть единый знаменатель для физиологической роли этих локальных систем, то это поддержка баланса или гомеостаза на тканевом уровне между противоположными эффектами, опосредованными системой, такими как стимуляция или подавление роста, например, в сердце и кровеносных сосудах. Двойственное действие Ang II на его рецепторы может рассматриваться как основа этого баланса. Кроме того, возможность альтернативных путей, включая использование различных субстратов, таких как AC-SDKP (гематопоэтический фактор) для ACE, различных рецепторов, таких как AT4, и различных продуктов, таких как Ang (1–7), может отвечать за регуляторные и контррегуляторные эффекты. Если этот баланс нарушается, например, сверхэкспрессией компонентов PАС или их ингибированием, PАС становится медиатором патофизиологических стимулов. В этих регуляторных процессах циркулирующая PАС играет роль «подразделения быстрого реагирования», в то время как тканевое образование Ang II больше связано с субострой и хронической модуляцией. Концепция локальной, или тканевой, PАС, таким образом, не должна

рассматриваться как противоположная или альтернативная, а скорее как дополняющая или интегрирующая концепция формирования и функции Ang. И здесь нет основы для каких-либо противоречий.

1.2.3. Циклооксигеназы и синтез простагландинов

Перечисляя физиологические системы, связанные с регуляцией АД как в покое, так и при ответе на стресс, невозможно обойти стороной систему биосинтеза простагландинов. Возрастающий в последние десятилетия интерес к простагландинам (ПГ) обусловлен их высокой физиологической активностью и участием во многих физиологических процессах, как в здоровье, так и в болезни (Miller, 2006). Фактически, простагландины – это липидные медиаторы, которые синтезируются во многих типах клеток и тканей. Это аутоактиды, активирующие мембранные рецепторы вблизи от места их образования и включающие целый набор сигнальных событий. Так, ПГ снижают порог стимуляции периферических ноцицепторов, повышают возбудимость спинальных сенсорных нейронов и стимулируют термочувствительные нейроны в преоптической области мозга (Smyth et al., 2009). Их синтез резко повышается в воспаленной ткани, и опосредованный простагландинами сигнальный путь участвует в развитии острого воспаления (Ricciotti & Fitzgerald, 2011). ПГ регулируют множество путей сигнальной трансдукции, клеточную адгезию, рост и дифференцировку. В ЦНС они участвуют в нейрональной активации, в поддержании нормального мозгового гомеостаза и в ответах на повреждения. ПГ влияют на гипертермические ответы. Они необходимы для нейроэндокринного стрессового ответа. Иммунная система, участвующая в ответах на стресс, активирует ГГАС, стимулируя выброс ПГ. В надпочечниках действие ПГ способно вызвать резкий выброс кортикостерона и катехоламинов. В почках они играют роль в регуляции почечной перфузии, так же как и в экскреции соли и воды, и способны повышать секрецию ренина, приводя к солевой задержке и росту АД.

Циклооксигеназы (COX, простагландин-эндопероксид-Н-синтаза, PGH-синтаза, КФ 1.14.99.1), впервые выделенные в 1976 году, – ключевые ферменты в производстве ПГ из арахидоновой кислоты. Циклооксигеназы – это эволюционно высоко консервативные ферменты, существующие в виде отдельных изоформ, COX-1 и COX-2, кодируемых отдельными генами. Оба фермента производят нестабильный эндопероксид простагландин H₂ (PGH₂) из арахидоновой кислоты, выделяемой из клеточных мембран фосфолипазами. Затем PGH₂ используется как субстрат рядом терминальных ПГ- и тромбоксан-синтаз (простагландин-Н-конвертазы), давая целую серию биоактивных простаноидов (Helliwell et al., 2004; Smyth et al., 2009; Grosser et al., 2010) (Рис. 1.6 и 1.7). Класс простаноидов включает

простагландины, простацклины и тромбоксаны. Простаноиды, получаемые таким образом, секретируются вне клеток сразу после синтеза. Поскольку они быстро метаболизируются и инактивируются (Sorokin, 2011), считается, что простаноиды действуют только поблизости от сайта их продукции и работают локально.

1.2.3.1. Структура и клеточный синтез ПГ

Простагландины (ПГ) состоят из циклопентанового кольца с двумя боковыми цепями, называемыми α и ω ; α -цепь имеет карбоксильное окончание. В соответствии с модификацией циклопентанового кольца, физиологически важные ПГ классифицированы в 3 типа: PGD_2 , PGE_2 и $\text{PGF}_{2\alpha}$. J-серия простагландинов, включающая PGJ_2 , $\Delta 12\text{-PGJ}_2$ и 15-деoxy- $\Delta 12,14\text{-PGJ}_2$ (15d- PGJ_2) – это природные метаболиты PGD_2 . PGI_2 некоторые авторы также относят к простагландинам, но поскольку PGI_2 содержит кислородный мостик между углеродами 6 и 9, а TXA_2 характеризуется нестабильным бициклическим кислород-содержащим оксановым кольцом вместо циклопентанового (Yuhki et al., 2011), они структурно отличаются от простагландинов и считаются отдельными группами липидных медиаторов (Рис. 1.6).

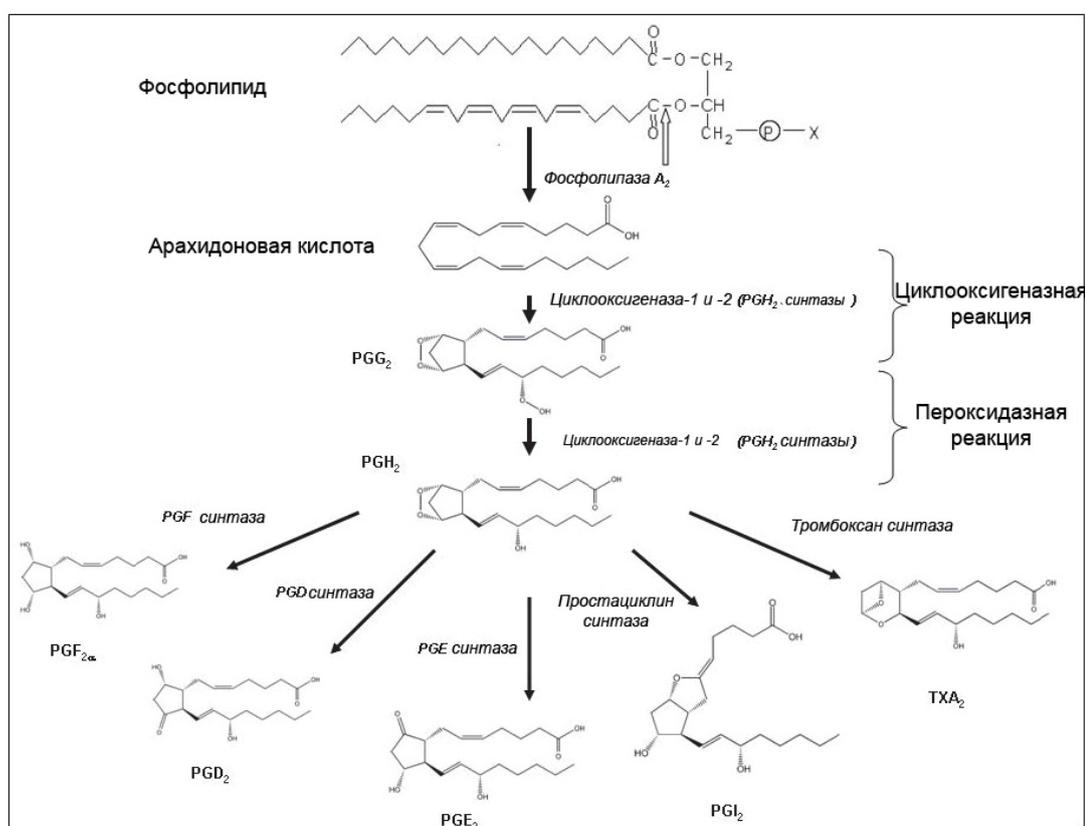


Рис. 1.6. Синтез простаноидов из арахидоновой кислоты. Арахидоновая кислота высвобождается из фосфолипидов фосфолипазой A₂, которая действует в положении глицерофосфолипид, указанном белой стрелкой (по Sorokin, 2011, с модификациями).

Арахидоновая кислота (АА), 20-углеродная ненасыщенная жирная кислота, – это преимущественный предшественник для семейства липидных медиаторов – эйкозаноидов. Биосинтез эйкозаноидов начинается с высвобождения АА под действием фосфолипазы А₂, в частности, цитозольной cPLA₂, и превращается в PGH₂ циклооксигеназой в два этапа.

Сначала при помощи циклоэндопероксидазы получается промежуточный радикал простагландин G₂ (PGG₂), который далее трансформируется в PGH₂ пероксидазной реакцией (Рис. 1.7) (Smyth et al., 2009). Три главных группы ферментов: простагландин G/H синтазы, липоксигеназы, либо эпоксигеназы – катализируют образование простагландинов (ПГ) и тромбоксана А₂ (ТхА₂), лейкотриенов, или эпоксиэйкозатриеновых кислот, соответственно. Параллельное семейство изомеров, катализируемых свободными радикалами, изоэйкозаноиды, образуются неферментативной пероксидацией АА *in situ* (Fam & Morrow, 2003).

Фермент СОХ осуществляет две каталитические реакции – циклооксигеназную и пероксидазную. Показано, что обе ферментативные активности связаны с одной белковой молекулой, и описанные процессы происходят на одном активном центре.

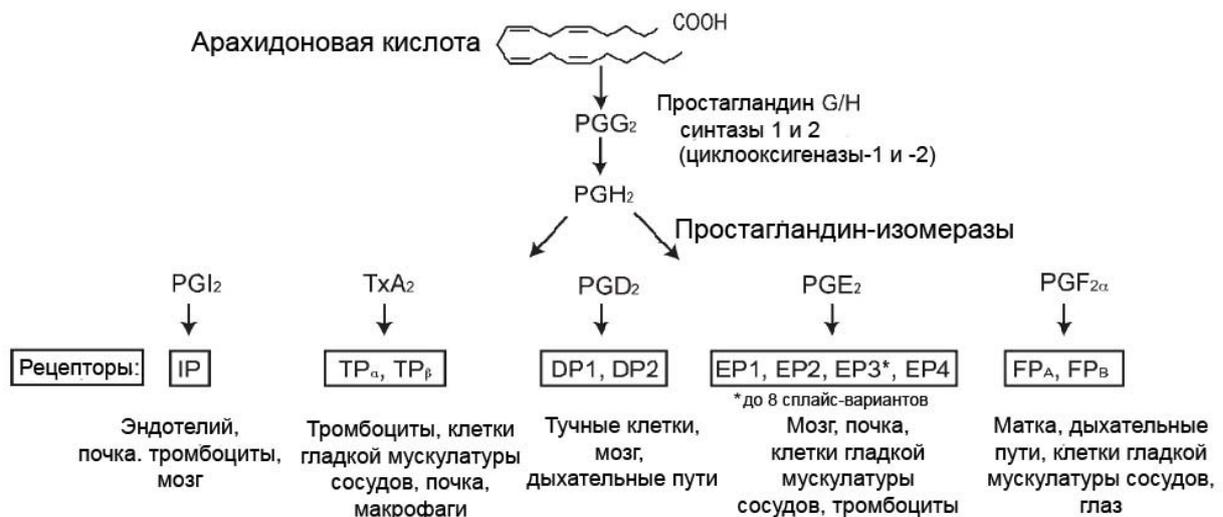


Рис. 1.7. Пути биосинтеза простаноидов и их рецепторы (по Smyth et al., 2009, с модификациями).

Молекула СОХ обладает двумя активными центрами, каждый из которых отвечает за обе стадии (Marnett et al., 1999; Smith et al., 2000). СОХ функционирует как гомодимер, и каждый мономер содержит собственные активные центры. Однако показано, что хотя мономеры, составляющие димер, идентичны в получившемся ферменте, они отличаются один от другого при катализе: нефункционирующая субъединица обеспечивает структурную поддержку, позволяющую ее мономеру-партнеру катализировать циклооксигеназную реакцию (Yuan et al., 2006). Каждый мономер функционального димера СОХ соединен с

эндоплазматической сетью или ядерной мембраной через специальный связывающий домен, который содержит главный маршрут входа субстрата в активный центр COX (Menter et al., 2010; Sorokin, 2011).

1.2.3.2. Формы циклооксигеназ

Две изоформы циклооксигеназ: циклооксигеназа-1 (COX-1) и -2 (COX-2) – почти идентичны по структуре, но имеют значительные различия по субстратной и ингибиторной селективности и по расположению в клетке. Считалось, что протективные простагландины, сохраняющие целостность желудочной стенки и поддерживающие нормальную функцию почки, синтезируются COX-1 (Vane et al., 1998). COX-2 была идентифицирована в 1991 году как изоформа, индуцируемая цитокинами, факторами роста и опухолевыми промоторами и чувствительная к глюкокортикоидам (Marnett & DuBois, 2002). Было сделано заключение, что COX-2 в основном отвечает за образование ПГ при воспалении, боли и, возможно, опухолевом росте (Seibert et al., 1995).

COX-1 и COX-2 очень близки по своей аминокислотной последовательности и кристаллической структуре. При этом две изоформы COX заметно различаются по характеру экспрессии (Smith et al., 2000). COX-1 характеризуется конститутивной экспрессией в большинстве тканей, тогда как COX-2 – это в основном индуцибельная форма фермента, которая экспрессируется после стимуляции широким кругом факторов роста и цитокинов (DuBois et al., 1998; Smith et al., 2000). И COX-1, и COX-2 катализируют одну и ту же ферментативную реакцию, и предполагается, что раздельное применение COX-1 и COX-2 (даже когда они экспрессируются в одной клетке) происходит в различных биосинтетических путях простагландинов (Sorokin, 2011). Хотя экспрессия COX-2 часто является частью сложного биологического ответа (такого как воспаление) на вредоносные стимулы или патогены, в определенных субпопуляциях клеток наблюдается конститутивная экспрессия COX-2 (Harris & Breyer, 2001). Помимо индукции COX-2 при воспалении, она присутствует конститутивно в головном и спинном мозге, где может быть вовлечена в передачу нервного импульса, в частности, при боли и лихорадке. Главная причина обозначения COX-2 как патологической – это факт, что большинство стимулов, индуцирующих COX-2, связаны с воспалением, как, например, бактериальный липополисахарид (ЛПС) или такие цитокины как интерлейкины (IL)-1, -2 и фактор некроза опухолей (TNF)- β . Противовоспалительные цитокины, IL-4, IL-10, и IL-13, снижают индукцию COX-2, как и кортикостероиды.

В то время как COX-1 – основная изоформа, отвечающая за синтез простаноидов в здоровых тканях, конститутивно экспрессирующаяся COX-2 в невоспалительных условиях дает

вклад в продукцию простаноидов в основном в почках (Harris et al., 1994) и мозге (Breder et al., 1995; Héту & Riendeau, 2005). Кроме того, COX-2 конститутивно экспрессируется в легких (Ermert et al., 1998) и репродуктивных органах (Lazarus et al., 2004). В ЦНС COX-2 определяется преимущественно в коре, гипоталамусе, миндалине и спинном мозге (Breder et al., 1995; Veiche et al., 1996). Предполагается, что она играет роль в передаче нервного импульса (nerve transmission), поскольку экспрессия COX-2 возрастает при росте активности нервной системы (Vane et al., 1998; Yamagata et al., 1993). Кроме того, COX-2 дополнительно индуцируется в мозге воспалительными стимулами и участвует в генерации лихорадки и гиперальгезии (Vane et al., 1998).

Показано, что обе изоформы COX локализованы в эндоплазматическом ретикулуме и на ядерной мембране, но для COX-2 более характерна локализация на ядерной мембране (Murakami et al., 1999; 2003). Традиционно простагландины рассматриваются как внутриклеточные и внеклеточные передатчики (мессенджеры), действующие на рецепторы (GPCR) на клеточных мембранах, экспортирующие ПГ из клетки для реализации их функций. Межклеточные функции ПГ, которые много лет считались непрямыми, происходят именно из перинуклеарной локализации COX-2 и были подтверждены демонстрацией того, что производные PGJ₂ являются сильными лигандами для ядерного рецептора PPAR-γ. Этот рецептор принадлежит к семейству гетеродимерных ядерных рецепторов (retinoid X receptor, RXR), включающему ретиноидные и тироидные ядерные рецепторы, действующие как транскрипционные факторы для геномной ДНК. Действие на ядерный рецептор может объяснять цитостатический эффект PGJ₂ в трансформированных клеточных линиях и, в другом контексте, формировать связь между активностью COX-2 и прогрессом предраковых эпителиальных клеток до полностью злокачественного фенотипа (Vane et al., 1998).

Оба белка – COX-1 и COX-2 – имеют сплайс-варианты. Это указывает на существование специфических механизмов регуляции образования соответствующих белков через альтернативный сплайсинг. Было показано существование двух «укороченных» вариантов COX-1 (partial COX-1) – pCOX-1a и pCOX-1b; описана также форма COX-1V₁ (её и называют обычно COX-3), чья мРНК сохраняет в своем составе интрон 1 (Chandrasekharan et al., 2002). Все три новых белка гликозилированы, но каталитическая активность обнаружена только у варианта, названного COX-3, и только у собак, но не у грызунов или человека (Kis et al., 2005). Для COX-2 описаны собственно COX-2, COX-2V₁ и др. Обозначение COX-3 в литературе используют как для сплайс-варианта COX-1, так и для сплайс-варианта COX-2 (Davies et al., 2004). Вместе с тем, некоторые авторы полагают, что это наименование следует оставить («зарезервировать») для продукта третьего, независимого гена циклооксигеназы, который до сих пор не идентифицирован (Davies et al., 2004; Kis et al., 2005).

1.2.3.3. Рецепторы простаноидов

Обычной чертой всех внеклеточных ПГ является то, что они выполняют свою биологическую задачу путем связывания и активации рецепторов (Narumiya et al., 1999). Простаноиды активируют мембранные рецепторы в непосредственной близости от места своего образования. Степень аффинности ПГ-лигандов к этим рецепторам известна, и роли индивидуальных рецепторов установлены с использованием нокаутных мышей (Kobayashi & Narumiya, 2002). Специфические GPCR были клонированы для всех простаноидов (Narumiya et al., 1999; Nata & Breuer, 2004). 8 типов и подтипов простаноидных рецепторов, которые кодируются разными генами, составляют подсемейство в суперсемействе рецепторов родопсинового типа (Coleman et al., 1994; Narumiya et al., 1999). По одному генному продукту идентифицировано для простациклина (IP), PGF_{2α} (FP) и TxA₂ (TP), в то время как для PGE₂ найдено 4 рецептора и два – для PGD₂ (Рис. 1.7). Мышиный рецептор DP связывает PGD₂, но PGD₂ может также взаимодействовать и передавать сигнал через хемоаттрактантный рецептор CRTH2 (chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cells), селективно экспрессируемый в Th2 клетках (Т-клетках цитотоксического типа 2), эозинофилах и базофилах (Satoh et al., 2006). Рецепторы DP и CRTH2 обозначают также как DP₁ и DP₂. Все четыре рецептора EP связывают PGE₂, хотя и с разной аффинностью. Две дополнительных изоформы человеческих TP и FP и восемь вариантов EP₃ получаются путем различного сплайсинга.

1.2.3.4. Регуляция циклооксигеназ

Общепринято, что главный механизм, используемый клетками млекопитающих для регуляции синтеза ПГ, – это контроль экспрессии COX-2. Тем не менее, возможно, что существуют некоторые альтернативные механизмы, регулирующие активность COX-2 (и в конечном счете синтез ПГ) (Sorokin, 2011).

1.2.3.4.1. Регуляция COX на уровне транскрипции

Очевидны три столпа регуляции транскрипции: инициация, альтернативный сплайсинг и стабильность мРНК. Уровень содержания транскрипционных факторов, активирующих экспрессию COX-2, повышается в определенных болезненных состояниях и ответах, таких как инфекция. Эти факторы включают C/EBP-β, phospho-CREB, NF-IL6, AP1, NFκB и TCF-4/LEF-1 (Tsatsanis et al., 2006). Стабильность мРНК явно модулируется стероидами в случае COX-2

(Ramsay et al., 2003). Регуляция COX-2 осуществляется различными стимулами, включая опухолевые промоторы, онкогены и факторы роста. Стимуляция сигнальных путей протеинкиназы C (PKC) или Ras повышает активность MAPK, которая, в свою очередь, активирует транскрипцию гена *Cox-2* (Chun & Surh, 2004). Быстрая и преходящая экспрессия COX-2 ассоциирована с активацией транскрипционных факторов NFκB и NF-IL6 (Yamamoto et al., 1998). Промоторный/энхансерный регион гена *Cox-2* различных видов млекопитающих выявляет множество модулирующих элементов, включая CRE, NF-IL6, NFκB и активаторный белок AP-2 (Kosaka et al., 1994). Три из этих консенсусных последовательностей (CRE, NF-IL6 и NFκB) участвуют в агонист-зависимом росте экспрессии человеческой COX-2 (Kosaka et al., 1994; Inoue & Tanabe, 1998); кроме того, есть данные, что p53 способен негативно регулировать экспрессию COX-2 связыванием с последовательностью TATA (Subbaramaiah et al., 1999). Экспрессия COX-2 индуцируется многими агонистами и митогенами, включая PDGF, EGF, TGFβ1 и эндотелин-1 (Sorokin, 2011).

TNF-α и IL-1β индуцируют COX-2 (Feng et al., 1995). Эти цитокины индуцируют NFκB (Hsu et al., 1995; Barger et al., 1995), и они также индуцируются NFκB, образуя тем самым авторегуляторную петлю обратной связи (Kopp & Ghosh, 1995). Индуцированная экспрессия COX-2 может вести к вредоносной амплификации продукции простаноидов в дополнение к повышенной продукции свободных радикалов благодаря ферментативной активности COX-2 (Feng et al., 1995). С другой стороны, центрально управляемый PGE₂ имеет двунаправленный эффект на сосудистые и ассоциированные с микроглией ответы, индуцируемые инъекцией ЛПС, поскольку PGE₂ повышает ЛПС-индуцированную активность NFκB и транскрипцию COX-2 в сосудистых элементах, но снижает активацию микроглии и экспрессию TNF-α в мозговой паренхиме.

Примечательно, что три основные MAPK, а именно ERK, JNK и p38 MAPK, активируются многими агонистами и стимулами экспрессии COX-2 (Widmann et al., 1999; Sorokin, 2011). Более того, многие MAPK-активируемые факторы транскрипции связываются с областями промотора гена *Cox-2*, которые включены в его транскрипционную активацию (Widmann et al., 1999; Kosaka et al., 1994). При генном переносе с помощью аденовируса конститутивно активных мутантов членов трех главных сигнальных каскадов MAPK усиленная стимуляция любого из них приводит к росту экспрессии COX-2 (McGinty et al., 2000). Похоже, что сигнальные каскады MAPK – это точка конвергенции многих стимулов, повышающих экспрессию COX-2 (Sorokin, 2011).

1.2.3.4.2. Регуляция циклооксигеназ на пост-транскрипционном пре-трансляционном уровне

Регуляция на пост-транскрипционном пре-трансляционном уровне происходит с помощью регуляции стабильности мРНК COX-2 (Tsatsanis et al., 2006). Стабильность мРНК COX-2 позитивно регулируется про-воспалительными стимулами, действующими через MAPK p38 и негативно – противовоспалительными глюкокортикоидами, такими как дексаметазон; дексаметазон же ингибирует собственно p38 (Lasa et al., 2001). Сообщалось, что передача сигнала через путь p38 MAPK, контролирующей стабильность мРНК COX-2, происходит с помощью p38-MAPK-регулируемого связывания стабилизирующего мРНК белка человеческого антигена R (HuR) с AU-богатым регионом 3'-UTR в COX-2 (Subbaramaiah et al., 2003). HuR постоянно экспрессируется и стабилизирует мРНК COX-2 в мезангиальных клетках человека (Doller et al., 2007), клетках трахеальной гладкой мускулатуры (Lin et al., 2011) и кератиноцитах, подвергнутых различным стимулам (Fernau et al., 2010). Участие p38 MAPK и HuR в экспрессии COX-2 было также подтверждено повышением уровнем синтеза PGE₂ (Fernau et al., 2010). Важно, что повышенное связывание HuR с мРНК COX-2 было показано не только на культуре клеток, но и в цитоплазматических фракциях почечных гомогенатов от крыс после воздействия Ang II (Doller et al., 2009).

1.2.3.4.3. Регуляция циклооксигеназ на пост-трансляционном уровне

Кинетика синтеза ПГ в клетках млекопитающих не всегда коррелирует с уровнем экспрессии COX-2. К настоящему времени обнаружено два типа пост-трансляционной регуляции COX-2: S-нитрозилирование и фосфорилирование. Было показано, что iNOS специфически связывается с COX-2 и S-нитрозилирует ее, повышая каталитическую активность COX-2 (Kim et al., 2005). Те же авторы показали, что COX-2 может активироваться путем S-нитрозилирования после селективного связывания nNOS с COX-2 через домен nNOS PDZ (Tian et al., 2008). Следует отметить, что наблюдалась совместная иммунопреципитация COX-2 из миокардиальных гомогенатов с iNOS, но не с eNOS (Atar et al., 2006).

Первое свидетельство, что COX может регулироваться фосфорилированием, получено на церебральных эндотелиальных клетках, где было показано, что белковые ингибиторы тирозин-фосфатазы быстро стимулируют циклооксигеназную активность, приводя к росту продукции ПГ. Белковые тирозин-киназные ингибиторы генистеин и тирфостины ингибировали циклооксигеназную активность (Parfenova et al., 1998). Важно, что в этом исследовании ингибиторы синтеза белка не были способны вернуть к прежнему уровню

активность COX, увеличенную ингибиторами тирозин-фосфатазы, доказывая тем самым пост-трансляционную модификацию. Однако до сих пор не найдено специфических тирозиновых или сериновых киназ, определенно фосфорилирующих циклооксигеназы и регулирующих их активность (Veza et al., 1996; Sorokin, 2011).

Перенос аденовирусом гена COX-2 в почечные клубочковые мезангиальные клетки приводил к образованию ковалентных аддуктов между COX-2 и некоторыми неизвестными белками (определяемыми как высокомолекулярные банды, выявляемые антителами к COX-2 в вестерн-блоте) (Sorokin, 2011). Образование этих ковалентных аддуктов зависело от ферментативной активности COX-2. Возможно, что связывание COX-2 с некоторыми специфическими белками, тесно ко-локализованными с ферментом в его естественном окружении, происходит благодаря спонтанной декомпозиции PGH₂, приводящей к продукции γ -кетто-альдегидов – левугландинов, которые способны ковалентно сшивать различные белки через их остатки лизина (Sorokin, 2011). Один из белков, сшитых с COX-2, был идентифицирован как ELMO1 (Engulfment and cell motility 1) (Yang & Sorokin, 2011). ELMO1 – это двусторонний фактор обмена гуанина (guanine nucleotide exchange factor, GEF) для малой GTPазы Rac1, которая тесно ассоциирована с восприимчивостью к гломерулярной болезни (Shimazaki et al., 2006; Leak et al., 2009; Pezzolesi et al., 2009). ELMO1 служит как пост-трансляционный регулятор активности COX-2 (Yang & Sorokin, 2011). Возможно, взаимодействие с ELMO1 влияет на деградацию COX-2 и тем самым предотвращает продолжительную продукцию ПГ. Есть два пути деградации белка COX-2 *in vivo*: путь, зависимый от N-гликозилирования и ассоциированный с эндоплазматическим ретикуломом, и субстрат-зависимый путь, который не подавляется ингибиторами лизосомальных протеаз или протеасомными ингибиторами (Wada et al., 2009).

1.2.3.5. Циклооксигеназы и простаноиды в здоровье и болезни

1.2.3.5.1. COX-1 и COX-2 в центральной нервной системе

COX-1 распределена в нейронах по всему мозгу (Vane et al., 1998), но наиболее представлена в переднем мозге, где ПГ могут участвовать в сложных интегративных функциях, таких как модуляция автономной нервной системы и сенсорные процессы (Yamagata et al., 1993; Breder et al., 1995). COX-2 экспрессируется конститутивно лишь в некоторых органах, и один из них – это мозг. Эта экспрессия ограничена определенными частями ЦНС, а именно, корой, гиппокампом, гипоталамусом и спинным мозгом (Breder et al., 1995; Breder & Saper, 1996). Это доминирующая изоформа в мозге новорожденных поросят (Jones et al., 1993) и в

спинном мозге крыс (Beiche et al., 1996), тогда как ткани мозга человека содержат примерно равные количества мРНК СОХ-1 и СОХ-2 (O'Neill & Ford-Hutchinson, 1993).

Наиболее интересная черта СОХ-2 в ЦНС – это та, что активность фермента повышается нормальной или ненормальной (конвульсивной) нервной активностью (Yamagata et al., 1993). Белок и мРНК СОХ-2 определяются как в нейронах (в дендритах и телах), так и в ненейрональных клетках ЦНС (Yamagata et al., 1993; Breder et al., 1995; Breder & Saper, 1996), и СОХ-2 участвует в обработке и интеграции висцеральной и сенсорной информации и в выработке автономных, эндокринных и поведенческих ответов (Breder et al., 1995). Вероятно, селективные ингибиторы СОХ-2 могут модулировать функции ЦНС (Vane et al., 1998).

СОХ-2 в незрелом мозге регулируется в соответствии с развитием. У грызунов наблюдается очень слабая экспрессия СОХ-2 сразу после рождения. Затем она растет, достигая пика во время 3-4-й недели после рождения, снижаясь затем до промежуточного уровня в мозге у взрослых животных (Hickey et al., 2007). Профиль экспрессии СОХ-2 во время развития совпадает с критическим периодом для зависимого от активности синаптического ремоделирования созревающей постнатальной ЦНС (Kaufmann et al., 1996). На ранних стадиях развития мозга нейрональные гены и белки индуцируются и играют важную роль в процессах созревания. На более поздних стадиях созревания влияние окружения, представленное как ответы нейронов и синаптическая активность, имеет все большее значение в определении структуры мозга. И именно на этих финальных стадиях развития и моделирования мозга СОХ-2 становится активной в той степени, которая совпадает с запечатленными влияниями среды (Kaufmann et al., 1997). Эта способность нейронов к долговременным изменениям в ответ на нейтральную активность – предпосылка для обучения и памяти, как и для адаптивных ответов на патологические стимулы (Yamagata et al., 1993). Другая конститутивная функция СОХ-2 – это сопряжение синаптической активности в соматосенсорном кортексе и сопровождающего роста кровотока в этой области (Niwa et al., 2000). АД и частота сердечного ритма в ответе на нейрональную активацию в мозге заметно снижалась после ингибирования СОХ-2. При этом нейрональная активность в соматосенсорной области оставалась практически постоянной. Эти результаты подтвердили, что СОХ-2 участвует в регуляции локального церебрального кровотока во время нейрональной активации у крыс (Matsuura et al., 2009).

СОХ-2 участвует в поддержании нормального мозгового гомеостаза, как и в ответах на повреждение. Ее функция как физиологического внутриклеточного модулятора сигнальной трансдукции, ведущей к долговременной потенциации и пластичности (Yamagata et al., 1993; Kaufmann et al., 1996) не противоречит мнению о ней как о вредоносном медиаторе при других условиях (Adams et al., 1996). Экспрессия «немедленно-раннего» гена (IEG) СОХ-2 нейронами с относительно пролонгированной индукцией мРНК, длящейся от 30 мин до 8 – 24 часов

(Adams et al., 1996, Kaufmann et al., 1996), может представлять быстрый и преходящий ответ на повреждение ткани, ведущий к последующей ферментативной активности COX-2 (Adams et al., 1996). Последняя может усиливать эксцитотоксическую гибель клеток и сосуществовать с внеклеточными провоспалительными последствиями активности COX-2 (Yamagata et al., 1993, Breitner et al., 1996). Простаноиды могут усиливать повреждение тканей своими вазоконстрикторными, протромботическими, хемоаттрактантными и прямыми нейротоксическими действиями (Chen et al., 1995). Церебральная активность COX-2 не только генерирует простаноиды, но и заметно усиливает генерацию активных форм кислорода как побочных продуктов реакции (Kontos et al., 1980, Hall et al., 1993). Провоспалительные простаноиды и, вероятно, также ROS, продуцируемые COX-2, действуют как медиаторы нейротоксичности NO в ишемическом повреждении мозга (Graham & Hickey, 2003), поскольку NO, образованный индуцибельной NO-синтазой, усиливает активность COX-2 в преходящей (Nogawa et al., 1998) и постоянной фокальной ишемии (Nagayama et al., 1999). В этих исследованиях преобладала только продукция простагландинов, но не свободные радикалы, однако авторы предположили, что NO – это предпосылка для нейротоксичности COX-2 (Nogawa et al., 1998, Nagayama et al., 1999). Вообще говоря, данные о роли COX-2 и ее производных ПГ при повреждениях мозга, в частности, при ишемии, крайне противоречивы. В литературе можно встретить как свидетельства того, что предварительное воздействие ингибитором COX-2 повышает размер области инфаркта (Park et al., 2008), так и сообщение, что генетическое повреждение COX уменьшает восприимчивость к повреждениям при ишемии мозга (Smyth, 2009), и подтверждение повреждающей роли COX-2 в нейрональной ишемии (Xiang et al., 2007).

1.2.3.5.1.1. Простагландины в ЦНС

Основные ПГ в ЦНС большинства млекопитающих – включая людей, обезьян и крыс – это PGE₂, PGD₂ и PGF_{2α} (Vane et al., 1998). У новорожденных крыс PGD₂-синтаза найдена в нейронах мозга, но у взрослых животных PGD₂-синтаза локализуется в ненеурональных клетках, окружающих ЦНС (в оболочках мозга), а также в церебральном отделе спинного мозга (CSF) (Urade et al., 1993). У взрослых крыс в кортикальных нейронах в определенные фазы сна возрастает экспрессия COX-2 и продукция PGE₂, но дальнейший метаболизм PGD₂ происходит в ненеурональных клетках или во внеклеточном пространстве, и рост экспрессии COX-2 может быть вовлечен в отклонения работы мозга во время сна через продукцию ПГ (Cui et al., 2008).

Простаноиды играют регуляторную роль в некоторых формах нейрональной пластичности, включая долговременное потенцирование, клеточную модель определенных

форм обучения и памяти, и COX-2 – это необходимый биохимический компонент для консолидации гиппокамп-зависимой памяти (Teather et al., 2002). Ингибирование COX-2 заметно блокирует индукцию долговременной потенциации (LTP) при обучении, но не влияет на уже установленную LTP (Cowley et al., 2008). Главный метаболит активности COX-2, PGE₂, был необходим для восстановления индукции LTP и для нормальной передачи сигнала далее, а именно, фосфорилирования ERK и экспрессии c-FOS. Таким образом, эндогенные базальные уровни PGE₂, как следствие активности COX-2, но не COX-1, необходимы для синаптической пластичности и приобретения памяти.

Физиологические роли ПГ и их рецепторов в ЦНС исследовали в основном в связи с патологическими состояниями (Turnbull and Rivier, 1999). Показано, что EP₃ опосредует гипертермические ответы, и EP₁ и EP₃ оба необходимы для нейроэндокринного стрессового ответа (Matsuoka et al., 2003). Выявили, что PGE₂ образуется в ответ на стимуляцию дофаминового рецептора в стриатуме и регулирует сигналы и функции обоих рецепторов PGD₂ (D₁ и D₂) через EP₁ (Kitaoka et al., 2007). Дефицитные по EP₁ мыши демонстрируют повышенную агрессию и нарушения в избегании препятствий, показывая, что сигнальный путь PGE₂–EP₁ контролирует импульсивное поведение при стрессах (Matsuoka et al., 2005).

Berke et al. (1998) нашли, что экспрессия COX-2 индуцируется стимуляцией рецептора D₁ в стриатуме, и доказали, что это часть генетического механизма адаптации, связанного с истощением дофамина. Принимая, что экспрессия COX-2 длится часы и дни (Smith et al., 2000), можно считать, что сигнальный путь PGE₂–EP₁, как физиологический регулятор сигнала дофамина, может действовать также как долговременный адаптивный механизм паракринного типа для умножения дофаминового сигнала в стриатуме при некоторых патологических условиях.

ПГ известны как медиаторы лихорадки, воспалительных реакций в нервной ткани и мозговых функций (DuBoys et al., 1998). Интраперитонеальное введение ЛПС вызывает сильный гипертермический ответ у крыс. Сао с сотр. показали, как индукция COX-2 в эндотелиальных клетках мозга происходит параллельно с лихорадочным ответом (Сао et al., 1995; Сао et al., 1996). Это ведет к синтезу ПГ, которые затем действуют на термочувствительные нейроны в преоптической области. В свою очередь, ингибирование COX-2 селективными НПВП может эффективно блокировать лихорадку. Связь между локальными воспалительными сайтами и эндотелием мозга опосредуется такими цитокинами как IL-1, который секретируется под действием пирогенов, подобных ЛПС, и может прямо индуцировать экспрессию COX-2 в этих клетках.

PGE₂, произведенный в OVLT, генерирует нейрональные сигналы, которые активируют терморегулирующий центр в преоптической области переднего гипоталамуса, расположенного

близко к OVLT (Blatteis & Sehic, 1997). Хотя экспрессия COX-2 в ЦНС растет после действия ЛПС, индукция происходит не в нейронах, а в эндотелии черепных кровеносных сосудов и в микроглие (Cao et al., 1996; Elmquist et al., 1997), и PGE₂, участвующий в фебрильном ответе, происходит от COX-2, индуцированной в ненейронных клетках, вероятно, эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, пронизывающих гипоталамус (Cao et al., 1997).

Отдельный воспалительный сигнальный путь опосредуется микроглиальными клетками, типом ткане-специфических макрофагов, которые остаются дремлющими, пока не потребуется защита или ремоделирование ткани. Клетки микроглии не проявляют индукции COX-2 в ответ на цитокины, и ответ микроглиальной COX-2 ограничен прямым воздействием ЛПС, событием, которое может случиться только при прямой бактериальной инфекции мозга. Таким образом, защитный ответ микроглии отделен от системного воспаления его ограниченным набором индукторов. Такое отграничение мозга от системных воспалительных индукторов важно, поскольку COX-2 также играет центральную роль в нейрональном развитии и адаптации (DuBoys et al., 1998; Kaufmann et al., 1996).

Другой эффект COX-2 и ПГ, вероятно, опосредованный периферически, – это боль, или, аккуратнее говоря, гиперальгезия. Хотя таламус и другие высшие ядра ЦНС, ассоциированные с болью, не богаты конститутивной или индуцируемой COX-2 (Vane et al., 1998), спинной мозг может быть тем местом, где ноцицептивный процесс наиболее подвержен влиянию COX-2. При воспалении ПГ генерируются в периферических окончаниях сенсорных нейронов и вызывают гиперальгезию (Ferreira, 1972; Woolf et al., 1997). Это сопровождается продукцией провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-8 и TNF- α) и наиболее вероятной индукцией COX-2 в клетках, связанных с воспалением, если не в самих нервных окончаниях (Woolf et al., 1997; Cunha et al., 1991; Cunha et al., 1992). Найдено, что COX-2 локализована в отдельных, дискретных слоях крысиного спинного мозга, в нейрональной и ненейрональной ткани (Beiche et al., 1996). Рост содержания мРНК (Gardiner et al., 1997) или иммунореактивного окрашивания (Beiche et al., 1996) COX-2, но не COX-1, в спинном мозге крысы возникает после воспалительного повреждения конечности. Однако рост мРНК COX-2 является преходящим, длясь 6–12 ч, тогда как воспаление и гиперальгезия сохраняются несколько дней (Gardiner et al., 1997).

1.2.3.5.1.2. Простагландины и стресс – связь с ГГАС и СНС

В реакции стресса наиболее демонстративно проявляются взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем. Известно, что эта защитная биологическая реакция развивается в ответ на действие широкого спектра агрессивных факторов внешней среды. При всех этих воздействиях активируется ГГАС.

Ещё Ганс Селье, впервые описавший стресс-синдром, отмечал, что иммунная система остаётся небезразличной к стрессу (Селье, 1982). Позднее было показано, что в ответ на действие патогенных агентов макрофаги и лимфоциты выделяют широкий спектр цитокинов. Эти иммунные пептиды способны проникать в мозг через гематоэнцефалический барьер в тех его участках, где существуют "окна" для подобного рода веществ (Felder, 2009). К таким участкам относится система циркумвентрикулярных органов (срединное возвышение нейрогипофиза, субфорникальный орган, *area postrema*), где существуют специфические механизмы транспорта для цитокинов (Turnbull, Rivier, 1999).

Ограниченный выход IL-1 β в ЦНС привел к гипотезе, что он действует через свои рецепторы, локализованные на эндотелиальных клетках, вызывая выброс ПГ, которые в свою очередь стимулируют ГГАС (Turnbull, Rivier, 1999). PGE₂ может пересекать гематоэнцефалический барьер, однако сам мозг является потенциальным источником PGE₂ в ответ на периферическое введение IL-1 или ЛПС. У крыс концентрация PGE₂ в ядрах гипоталамуса и гиппокампе увеличивается в пределах 20 минут после внутривенного введения IL-1 β или ЛПС (Turnbull, Rivier, 1999). Индуцибельный синтез PGE₂ эндотелиальными и/или периваскулярными (макрофагального происхождения) клетками участвует в действии ГГАС и других ответах ЦНС, благодаря их способности экспрессировать COX-2. Что касается COX-1, ее экспрессия повышена в эндотелиальных клетках крыс. Показано участие COX-1 в двунаправленном взаимодействии между эндотелиальными и периваскулярными клетками в иницировании сосудистого PGE₂ и последующего ответа ГГАС на провоспалительные запросы (García-Bueno et al., 2009).

Было показано (Mélik Parsadaniantz et al., 2001), что воздействие COX-1/COX-2 ингибиторов ведет к полной блокаде секреции АКТГ и кортикостерона и транскрипции гена РОМС. Ингибитор COX-2 приводил к полной блокаде секреции АКТГ и транскрипции РОМС, но не влиял на секрецию кортикостерона. Эти результаты демонстрируют критическую роль сигнальных путей ПГ в стимуляции оси ГГАС, индуцированной IL-1 β . Более того, найдено явное расхождение эффекта блокады COX на АКТГ и на секрецию кортикостерона, подтверждающее, что IL-1 β может действовать как на мозг, так и на НП, стимулируя секрецию кортикостерона (Mélik Parsadaniantz et al., 2001).

Таким образом, в мозге цитокины (и, в первую очередь, IL-1) стимулируют синтез ПОМК и секрецию его производного – центрального нейрого르몬а стресса КРГ в нейросекреторных нейронах PVN гипоталамуса, причем этот процесс зависит от присутствия PGE₂ и окиси азота (Гриневиц и др., 2003; Rorato et al., 2009). Рецепторы типа EP₁, но не типа EP₃, были обнаружены в пределах PVN (Turnbull, Rivier, 1999). В свою очередь, КРГ стимулирует секрецию АКТГ в гипофизе, что приводит к стимуляции секреции

глюкокортикоидных гормонов в коре надпочечников. Последние при повышенной секреции способны тормозить секрецию IL-1 в макрофагах и тем самым угнетать иммунный ответ в случае его избыточности по механизму отрицательной обратной связи (Besedovsky et al., 1986; Turnbull, Rivier, 1999).

Множество данных является доводами в пользу прямой роли PGE₂ как медиатора индуцированной IL-1 активации оси ГГАС (Turnbull, Rivier, 1999). Индукция секреции PGE₂ эндотелиальными и/или периваскулярными клетками, экспрессирующими рецепторы IL-1 в пределах PVN, может быть прямым механизмом такой активации. Однако другие свидетельства также указывают, что CVO и/или катехоламинергические группы клеток – это важные анатомические структуры, которые являются медиаторами влияния IL-1 на ГГАС, и имеются доказательства того, что формирование ПГ (возможно, периваскулярными элементами) происходит в этих областях в ответ на IL-1 (Turnbull, Rivier, 1999; Yamaguchi & Okada, 2009). При изучении экспрессии мозговых COX-изоформ в нейронах со спинальной проекцией после действия КРГ выявили, что КРГ заметно повышает число спинально проектирующихся нейронов PVN, экспрессирующих COX-1 во время всего экспериментального периода, и тех, что экспрессируют COX-2 только в поздней фазе эксперимента. КРГ также повышает число спинально проецированных нейронов LC, экспрессирующих COX-2 во все время периода эксперимента. В других регионах (бледном ядре шва и RVLM) КРГ не влиял на экспрессию COX в нейронах со спинальной проекцией. Это доказывает, что COX-1 и COX-2 в PVN и COX-2 в LC играют роль в индуцированной КРГ симпатической регуляции у крыс (Yamaguchi et al., 2007; Yamaguchi & Okada, 2009). Более того, рестрикционный стресс также повышал экспрессию COX-1 и COX-2 в пресимпатических нейронах PVN, способствуя острой стресс-индуцированной симпатической активации (Yamaguchi et al., 2010).

Известно, что центральные α_1 -адренергические механизмы важны для регуляции гипоталамической секреции КРГ во время стресса (Kiss & Aguilera, 1992). Адренорецепторы α_{1B} субтипа локализованы в PVN и срединном возвышении и могут передавать индуцированную агонистом α_1 -рецептора стимуляцию на гипоталамические структуры, участвующие в нейрокринной стрессовой функции (Acosta-Martinez et al., 1999). α_1 -Адренорецепторы стимулируют высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов активацией фосфолипазы A₂ (Katori & Majima, 2000; Edwards & Ernsberger, 1999). ПГ вовлечены в сложный механизм опосредованной α_1 -адренорецепторами стимуляции мозговых структур, которые регулируют активность ГГАС в базальных и стрессовых условиях (Bugajski et al., 2001a).

Повторяющийся стресс индуцирует рост экспрессии α_2 -адренорецепторов, который связан с повышением уровня кортикостерона (Sallinen et al., 1999). Показано, что ответ ГГАС, индуцированный стимуляцией центральных α_2 -адренорецепторов клонидином, умеренно снижался антагонистами COX-1 и COX-2 у контрольных животных, но не менялся у стрессированных крыс. Таким образом, участие ПГ в α_2 -адренергически индуцированной стимуляции секреции АКТГ и кортикостерона значительно менее важно, чем в α_1 -адренергической стимуляции (Bugajski et al., 2001b).

Повышенный уровень PGE₂ во время стресса может снижать также эффективность β -адренергических агонистов в стимуляции ГГАС (Lye et al., 1998). Таким образом, во время стресса ПГ способны опосредовать индуцированный α_1 -адренергическими агонистами рост секреции АКТГ и кортикостерона, в то время как участие этих медиаторов в изменениях, индуцированных α_2 - и β -адренергическими агонистами, менее существенно (Bugajski et al., 2001a).

1.2.3.5.2. COX-2 и синтез простагландинов в надпочечниках

В надпочечниках действие простагландинов исследуется уже более 25 лет. Еще в 1988 году было установлено, что простагландин E₂ (PGE₂) проявляет свои физиологические и фармакологические эффекты путем связывания со специфическими рецепторами на поверхности клетки и стимуляции аденилат-циклазы (Yokohama et al., 1988). Воздействие на культивированные хромаффинные клетки PGE₂ приводило к резкому росту выброса катехоламинов, в силу чего PGE₂ стимулировал метаболизм фосфоинозитидила и мобилизацию Ca²⁺.

Большая часть работ по изучению роли простагландинов и ферментов их биосинтеза в НП связана с активацией оси ГГАС бактериальным эндотоксином ЛПС.

Простагландины играют ключевую роль в ответе ГГАС на иммунные запросы. Эндотоксин вызывал заметный рост уровня мРНК COX-2 в надпочечнике, что наблюдали через 3 и 6 часов после инъекции и что предотвращалось предварительным воздействием дексаметазона. Он также индуцировал умеренный рост уровня мРНК COX-2 в гипоталамусе, но не в гиппокампе и не в переднем гипофизе. Наоборот, на уровень мРНК COX-1 во всех исследуемых тканях никак не влияло воздействие лекарственных препаратов. *In vitro* селективные и неселективные ингибиторы COX-2 вызывали заметное снижение стимулированного АКТГ выброса кортикостерона. Это подтверждает роль COX-2 в манифестации ответа ГГАС на эндотоксин, в частности, в надпочечнике (Cover et al., 2001).

В другом исследовании выявили, что после системного воздействия ЛПС сигнал мРНК COX-2 резко увеличивался через 1 час в коре железы, где у контрольных интактных животных такая экспрессия практически отсутствовала, и возвращался к контрольным уровням через 24 часа. Уровень мРНК COX-2 в медулле надпочечника возрастал через 6 ч после воздействия. При этом уровни мРНК COX-1 не проявляли заметных изменений. После воздействия ЛПС, изменения в иммунореактивности COX-2 наблюдали в клетках внутренней коры надпочечника. Эти результаты показали, что COX-2 – высокоиндуцибельный фермент, который может регулироваться в специфических клеточных популяциях в надпочечнике в ответ на воспаление, приводя к возрастанию уровня простагландинов, видимому во время лихорадки (Ichitani et al., 2001).

При исследовании механизма действия АКТГ на надпочечник крыс было показано, что и нитропруссид (донор NO), и АКТГ стимулируют выброс кортикостерона (Mohn et al., 2005). NO способствует острому ответу на АКТГ. Нитропруссид стимулировал выброс PGE₂, который, в свою очередь, стимулировал выброс кортикостерона из железы. Ингибиторы COX отменяли выброс кортикостерона. Содержание кортикостерона в надпочечнике после инкубации с АКТГ или нитропруссидом снижалось по сравнению с контролем, показывая, что нет необходимости в синтезе кортикостерона *de novo* во время этого периода. Выброс, индуцированный АКТГ, истощает содержание кортикостерона в надпочечнике на 40%. Механизм быстрого выброса таков: NO, продуцированный активированной АКТГ NO-синтазой, активирует COX, которая генерирует PGE₂, который, в свою очередь, способствует выбросу кортикостерона, запасенного в микровезикулах и других органеллах (Mohn et al., 2005).

Позднее было показано (Vakharia & Hinson, 2005), что ЛПС вызывает дозозависимую стимуляцию базальной секреции кортизола в клеточной линии адренокортикальных клеток человека, не влияя на альдостерон. Показано также, что ЛПС стимулирует выброс PGE₂ этими клетками. Эффект ЛПС на кортизол снижался в присутствии как индометацина, так и специфического ингибитора COX-2, но не COX-1, доказывая роль активации COX-2 и синтеза простагландина в ответе надпочечника на ЛПС (Vakharia & Hinson, 2005).

В отличие от этой работы, в более позднем исследовании Sanchez-Lemus и соавт. (2008), посвященной влиянию блокаторов рецепторов AT1 на надпочечник, было показано, что ЛПС вызывал не только генерализованный воспалительный ответ с увеличенным выбросом TNF- α и IL-6 в циркуляцию и рост экспрессии в надпочечнике генов COX-2, IL-6 и TNF- α , но и повышенный синтез и выброс альдостерона. Также возрастал выброс АКТГ и кортикостерона. Предварительное воздействие кандесартана снижало индуцированные ЛПС выброс цитокинов, синтез и секрецию альдостерона и экспрессию генов COX-2 и IL-6. При этом кандесартан не

предотвращал выброса АКТГ и кортикостерона (Sanchez-Lemus et al., 2008). Таким образом, рецепторы АТ1 важны для развития полных иммунных и стрессовых ответов на бактериальный эндотоксин. Блокаторы АТ1 снижают общий периферический воспалительный ответ на ЛПС, частично снижают воспалительный ответ в надпочечнике, предотвращают выброс провоспалительного гормона альдостерона и защищают противовоспалительные эффекты выброса глюкокортикоидов. Неограниченный иммунный ответ мог бы иметь разрушительное действие на организм, приводя к развитию хронического воспаления (Sanchez-Lemus et al., 2008).

При исследовании влияния провоспалительных посредников на выброс гормона стресса выявили, что системное воспаление у крыс, вызванное инъекцией ЛПС, приводит к динамическим изменениям в популяции иммунных клеток в надпочечнике, включающим быстрое истощение дендритных клеток во внутреннем корковом слое и перемещение незрелых клеток к внешним слоям. Это сопровождается индукцией синтеза ИЛ-1 β и его рецептора 1-го типа, а также СОХ-2 и микросомальной mPGES-1 в этих клетках, то есть локальной, опосредованной цитокином продукцией PGE₂, а также заметной экспрессией его рецепторов E₁ и E₃ в кортексе и медулле. Экспрессия ИЛ-1 β также индуцируется хроническим воздействием ИЛ-1 β и в обоих случаях снижается антагонистом рецептора ИЛ-1, в согласии с моделью аутокринной сигнальной петли. ИЛ-1 β также индуцирует экспрессию СОХ-2, но эта экспрессия, наоборот, повышается антагонистом рецептора ИЛ-1. Эти данные демонстрируют механизм, по которому агенты системного воспаления активируют локальное сигнальное окружение, которое может влиять на ответ надпочечника на иммунный стресс (Engström et al., 2008).

Стимуляция стероидогенеза в надпочечнике включена в ответ ГГАС на экзогенные стимулы. Хотя провоспалительные цитокины могут способствовать запускаемой ЛПС активации ГГАС, прямой эффект ЛПС на выброс глюкокортикоидов также описан. На линии клеток надпочечника показано, что ЛПС стимулирует стероидогенез. NF κ B активность и уровень белка СОХ-2 повышаются в адренокортикальных клетках под действием ЛПС, а фармакологические и молекулярные манипуляции с сигнальным путем NF κ B заметно влияют как на уровень СОХ-2, так и на продукцию стероидов. Фармакологическое ингибирование активности СОХ-2 значительно снижает продукцию стероидов. Таким образом, механизм стимуляции стероидогенеза в клетках надпочечника грызунов включает в себя активацию сигнального пути NF κ B и индукцию СОХ-2 (Martinez Calejman et al., 2011).

Помимо упомянутого выше простагландина E₂, в надпочечниках выявляется простагландин F_{2 α} . Как кортикальная, так и медуллярная зоны продуцируют PGF_{2 α} . В хромоаффинных клетках секреция PGF_{2 α} кажется конститутивной и коррелирует с постоянной экспрессией СОХ-1. В стероидогенных клетках секреция простагландина стимулировалась

АКТГ и коррелировала с АКТГ-зависимой экспрессией COX-2. Рецептор FP обнаружили только в хромоафинных клетках (Wiltbank et al., 1995), что делает медуллу главной мишенью для действия $\text{PGF}_{2\alpha}$. FP рецептор отсутствовал в стероидогенных адренокортикальных клетках. Несомненно, $\text{PGF}_{2\alpha}$ не может напрямую влиять на стероидогенную активность адренокортикальных клеток крысы. Поэтому вероятно, что $\text{PGF}_{2\alpha}$, секретируемый этими клетками, может действовать как паракринный фактор. $\text{PGF}_{2\alpha}$ подавляет секрецию глюкокортикоидов непрямым механизмом, включающим снижение выброса катехоламинов, которое в свою очередь понижает стероидогенез в надпочечнике. Негативный эффект $\text{PGF}_{2\alpha}$ ограничен глюкокортикоидами, поскольку не наблюдали какого-либо эффекта на продукцию альдостерона. $\text{PGF}_{2\alpha}$ можно считать негативным аутокринным/паракринным регулятором в интра-адренальной петле обратной связи, контролирующей выброс кортикостерона (Lambert-Langlais et al., 2009). Кортико-медулярные взаимодействия, опосредованные $\text{PGF}_{2\alpha}$, могут быть включены как в паракринную обратную связь, лимитирующую ответ на стресс, так и в локальный контроль базального стероидогенеза.

Показано, что PGE_2 обеспечивает быстрый выброс глюкокортикоидов из надпочечника при стимуляции АКТГ. Таким образом, $\text{PGF}_{2\alpha}$ / PGE_2 проявляют противоположное действие с кортикостатическим/кортикотрофным эффектами в тонкой регуляции эндокринных функций железы. Глюкокортикоиды – это мощные противовоспалительные стероиды. Подавляя продукцию глюкокортикоидов, $\text{PGF}_{2\alpha}$ в надпочечнике ограничивает противовоспалительные сигналы, в то время как PGE_2 , классический провоспалительный медиатор, повышает противовоспалительные сигналы, способствуя их секреции. Таким образом, совместное действие $\text{PGF}_{2\alpha}$ / PGE_2 может обеспечить тонко действующий механизм для двойственного действия простагландинов в воспалительном процессе (Lambert-Langlais et al., 2009).

1.2.3.5.3. COX-2 в почках

У гипертензивных мышей COX-1 в почках обнаруживается в основном в дистальных канальцах, эндотелии артериол и эпителии капсул Боумана, кортикальных и медулярных собирающих протоках (Radi & Ostroski, 2007). Экспрессия белка COX-2 в почках определяется в плотной области (macula densa, MD) и ассоциирована с толстым восходящим коленом петли Генле, в медулярных интерстициальных клетках и в меньшей степени – в собирающем протоке (collecting duct) внутренней медуллы (Harris et al., 1994; Yang et al., 1998; Nantel et al., 1999). Считается, что COX-2 играет роль в регуляции почечной перфузии, поскольку высокосолевая диета индуцирует кортикальную экспрессию COX-2 в MD (Yang et al., 1998), так же как и в экскреции соли и воды, поскольку низко-солевая диета или диуретики повышают

кортикальную экспрессию COX-2 в MD (Catella-Lawson et al., 1999; Mann et al., 2001). Более того, селективные ингибиторы COX-2 могут вызывать острую задержку соли и воды у здоровых субъектов (Schwartz et al., 2002). Поскольку клетки MD постоянно подвергаются действию солевого люминального раствора с меняющейся концентрацией, а также индуцированным стрессом изменениям осмолярности (Bell et al., 2003), конститутивная активация COX-2 в этих клетках может объясняться стабильной активацией внутриклеточных сигнальных путей, регулирующих экспрессию COX-2 (Sorokin, 2011). Учитывая, что усиленная активация трех главных для млекопитающих MAPK (ERK, SAPK и p38 MAPK) приводит к индукции мРНК и белка COX-2 (McGinty et al., 2000), вероятно, что конститутивная активация любой из этих MAPK в клетках MD является причиной повышения экспрессии COX-2. Регуляция транскрипции COX-2 изучена детально. Экспрессия ее мРНК регулируется несколькими транскрипционными факторами, включая белок, связывающий сAMP-отвечающий элемент (CREB), NFκB и белок, связывающий CCAAT (C/EBP) (Tsatsanis et al., 2006).

Почечные ПГ, особенно PGE₂ и PGI₂, но также PGF_{2α} и TxA₂, обладают сложными и несколько запутанными функциями в почке (Breyer and Breyer, 2000; Nao and Breyer, 2007). Простагландины дают свой вклад в гомеостаз. Есть данные, что продукты COX-2 могут повышать АД (Yu et al., 2009). PGI₂ и PGE₂ – рениновые секретогоги, действующие через рецепторы IP и EP₂ и EP₄, соответственно. Синтез PGI₂ растет при беременности (высокорениновое, но гипотензивное состояние) и подавляется при индуцированной беременностью гипертензии. Делеция его рецептора (IP) снижает АД в моделях высокорениновой гипертензии у грызунов. PGI₂ является вазодилататором, а также способствует экскреции натрия.

Немного известно о роли PGF_{2α} в кардиоваскулярном гомеостазе. Он дозозависимо повышает АД у мышей через активацию своего рецептора FP, ускоряет процесс атеросклероза и ограничивает потребление воды у животных (Yu et al., 2009). Рецептор FP экспрессируется в почках, в частности, в дистальных канальцах и кортикальных собирающих протоках (CCD). Делеция рецептора FP снижает АД одновременно со снижением концентрации ренина в плазме, а также Ang II и альдостерона, несмотря на компенсаторный рост содержания рецепторов AT1 и преувеличенный гипертензивный ответ на инфузию Ang II (Yu et al., 2009). Нарботка почечного PGF_{2α} повышается солью, и активация рецептора модулирует абсорбцию воды в собирающих протоках *in vitro*, ингибируя действие вазопрессина.

Простагландины модулируют вклад симпатoadреналовой активации как в синтез ренина, так и в его экзоцитоз, в частности, в условиях стресса, такого как геморрагия или нехватка соли. Синтез и секреция ренина контролируются на клеточном уровне через умножение вторичных мессенджеров, включая Ca²⁺, сAMP и сGMP (Kurtz & Wagner, 1999). Активация G_s-

сопряженных рецепторов EP₂, EP₄, или IP простагландинами PGE₂ или PGI₂ в ЮГ клетках повышает содержание межклеточного cAMP (Yu et al., 2009).

Ингибирование COX ассоциировано с повышенным риском периферического отека и задержки натрия (Zhang et al., 2006b). Простаноиды – производные COX-2 повышают медулярный кровоток и подавляют тубулярную реабсорбцию натрия. Несомненно, экспрессия медулярных COX-2 и mPGES-1 повышается при высоком потреблении соли, а продукты COX-1 способствуют экскреции в собирающих протоках. Потеря этих эффектов может лежать в основе системной или соль-чувствительной гипертонии, часто ассоциированной с ингибированием COX. Тем не менее, продукты COX-1 и COX-2 могут иметь противоположный почечный эффект; делеция или ингибирование COX-1 снижает гипертензивный ответ на Ang II у грызунов, в то время как делеция или ингибирование COX-2 снижает медулярный кровоток и повышает гипертензивный ответ на Ang II. Таким образом, побочные эффекты в почке от селективных и неселективных НПВП могут быть различны: селективное ингибирование COX-2 повышает АД сильнее, чем неселективное (Aw et al., 2005).

Простаноиды, происходящие из почечного кортекса, модулируют системное АД иначе, чем медулярные. PGE₂ и PGI₂, производные кортикальной COX-2, повышают почечный кровоток и гломерулярную фильтрацию путем локальной вазодилатации – действие, отчасти присущее слабо функционирующим почкам и состояниям ограниченного объема. Экспрессия кортикальной COX-2 повышается при низком потреблении соли, что, через действие PGE₂ и, возможно, PGI₂, повышает секрецию ренина, приводя к солевой задержке и повышенному АД. Соответственно, ингибирование или разрушение COX-2 снижает уровень ренина в плазме после низкосолевого диеты (Breyer and Breyer, 2000a).

1.2.3.5.3.1. Почечные эффекты простагландинов

PGE₂. PGE₂, несомненно, является наиболее широко представленным ПГ в почке, и поскольку, кроме того, передает сигналы через четыре типа рецепторов EP, почечные эффекты его многообразны и сложны. Более того, некоторые из эффектов PGE₂ вне почки подавляются ингибиторами EGF-рецепторной тирозин-киназы, указывая на то, что трансактивация рецептора EGF является частью сложного ответа на PGE₂ (Sorokin, 2011). PGE₂-опосредованная трансактивация рецептора EGF не может проистекать только из почечных эффектов PGE₂. Добавляя дополнительный уровень сложности, была описана гетеродимеризация EP₁ с β-адренергическими рецепторами (McGraw et al., 2006). Возможно, наиболее важная почечная не клубочковая роль PGE₂ – это регуляция процессов тубулярного транспорта в нефроне и регуляция сосудистого тонуса (Nasrallah et al., 2007).

Два класса метаболитов арахидоновой кислоты, продуцируемых ферментами цитохрома P 450 (HETEs и EETs) и циклооксигеназами (ПГ), имеют противоположное влияние на активность ENaC (Wang et al., 2009). 11,12-EET, 8,9-EET и 14,15-EET значительно ингибируют ENaC (вероятно, благодаря прямому и очень быстрому взаимодействию между EETs и ENaC), тогда как PGE₂ производит стимуляторный эффект и действует через вторичные посредники (такие как cAMP) (Wang et al., 2009). Баланс Na⁺ и статус ENaC определяются взаимодействием между образованием и действиями этих двух типов липидных медиаторов. PGE₂ также регулирует (посредством EP₁ и EP₂) экспрессию ионного переносчика Na⁺/K⁺-АТФазы (Nasrallah et al., 2007). На транскрипционном уровне PGE₂ стимулирует экспрессию β-субъединицы Na⁺/K⁺-АТФазы, кодируемой геном ATP1B1.

PGE₂ также стимулирует ряд анти-апоптотических каскадов в различных почечных клетках. Интерстициальные клетки почечной медуллы находятся под значительным осмотическим и механическим давлением *in vivo* и отвечают на стресс экспрессией заметных количеств COX-2, что приводит к продукции PGE₂ (Carlsen et al., 2010). Ингибирование синтеза PGE₂ в этих клетках ассоциировано с их гибелью и является причиной связанного с НПВП повреждения почечной медуллы (Hao et al., 1999). Вероятно, PGE₂ индуцирует экспрессию осмопротекторных генов, включая COX-2, в клетках медуллы, обеспечивая их выживание и адаптацию к повышенному интерстициальному тону (Neuhofe et al., 2007). Эта петля положительной обратной связи PGE₂ через экспрессию COX-2 во время осмотического стресса опосредована связыванием рецепторов EP₂ и приводит к активации сигнального пути cAMP-РКА (Steinert et al., 2009).

PGE₂ проявляет заметное митогенное действие на гломерулярные мезангиальные клетки (Sorokin et al., 2011). Роль PGE₂ в накоплении внеклеточного матрикса и структурных компонентов гломерулярной базальной мембраны в клубочках, наблюдаемом у пациентов с гипертонией беременности, выявлена давно. Мыши, дефицитные по EP₃, не утрачивали способности концентрировать или разбавлять мочу нормально в ответ на физиологические стимулы, но осмолярность мочи заметно возрастала у мышей дикого типа, но не у нокаутных, после ингибирования продукции ПГ индометацином (Fleming et al., 1998). Сигнал PGE₂ через рецепторы EP₄ приводил к повреждению подоцитов и влиял на гломерулярный фильтрационный барьер (Stitt-Cavanagh et al., 2010).

PGE₂ считается важным медиатором воспаления (Ricciotti and Fitzgerald, 2011). Прямое свидетельство участия PGE₂ в воспалении может следовать из анализа экспериментальной модели гломерулонефрита, индуцированного у нокаутных по mPGES-1 (и синтезу PGE₂) животных. Благодаря передаче сигнала через различные рецепторы, PGE₂ может как

способствовать, так и противостоять провоспалительному ответу на различные нарушения (Ricciotti and Fitzgerald, 2011; Milatovic et al., 2011).

Ответ диаметра афферентных артериол на вазоконстрикторный пептид эндотелин-1 повышался у мышей, дефицитных по mPGES-1. У этих мышей семидневная инфузия Ang II индуцировала заметный гипертензивный ответ, которого не наблюдали у мышей дикого типа, доказывая, что PGE₂ ослабляет индуцированную Ang II вазоконстрикцию, возможно, из-за ингибирования образования активных форм кислорода, зависящего от NADPH-оксидазы (Jia et al., 2008).

PGF_{2α}. PGF_{2α} образуется в разных частях тела, но благодаря его быстрой инактивации 15-простагландин-дегидрогеназой время полужизни в циркуляции составляет менее 1 мин. Поскольку PGF_{2α} иногда считается наиболее вероятным сократительным фактором эндотелиального происхождения, отвечающим за зависимые от эндотелия, опосредованные рецепторами тромбоксана сокращения в ответ на ацетилхолин в сосудах (Wong et al., 2009), его быстрая инактивация важна для поддержания нормальной сосудистой функции. PGF_{2α} активирует две сплайсинговые изоформы рецептора FP (Nasrallah et al., 2007). В кортикальном соединительном протоке почки PGF_{2α} повышает уровень кальция и регулирует транспорт воды (Hebert et al. 2005b) и солевой баланс (Breyer and Breyer, 2001). PGF_{2α} значительно повышает способность ENaC открываться (Wang et al., 2009). Латанопроуст, агонист рецептора FP, заметно снижает индуцированную вазопрессином пропускную способность для воды при микроперфузии собирающих протоков кролика (Hebert et al., 2005b). Таким образом, негломерулярные почечные эффекты PGF_{2α} в основном связаны с регуляцией транспорта воды и натрия.

PGF_{2α} участвует во многих связанных с воспалением и окислительным стрессом патологиях (Basu, 2010). Гломерулярный синтез PGF_{2α} (и некоторых других ПГ, включая PGE₂) стимулируется донорами кислородных радикалов, вероятно, благодаря стимуляции гломерулярных фосфолипаз на ранней стадии гломерулонефрита (Sorokin, 2011). PGF_{2α} – это мощный стимулятор клеточного роста в гломерулярном мезангии, и его способность вызывать синтез ДНК в покоящихся мезангиальных клетках опосредована активацией PLC, как это следует из возросшей генерации 1,4,5-инозитол-трифосфата (IP₃) и синтеза диацилглицерина (DAG). PGF_{2α} также быстро повышает уровень свободного кальция в цитозоле, способствуя сокращению мезангиальных клеток (Sorokin, 2011).

С помощью кальций-зависимого механизма PGF_{2α} вызывает цитозольное закисление мезангиальных клеток с последующим восстановлением и защелачиванием, опосредованным повышением обмена Na⁺-H⁺ (Mene et al., 1991). Влияние PGF_{2α} на рост уровня кальция в

клубочковых мезангиальных клетках может модулировать гломерулярное сокращение и воздействовать на клубочковую функцию при гломерулонефрите.

PGD₂. Этот простагландин – один из важнейших продуктов циклооксигеназ в макрофагах и костном мозге и, вероятно, играет роль в иммунных ответах (Padilla et al., 2000). Он может превращаться в простагландин 15-дезоксид- Δ 12,14-PGJ₂ (15d-PGJ₂), который взаимодействует с PPAR γ , способствуя продукции активных форм кислорода и апоптозу в почечных клетках проксимальных канальцев (Padilla et al., 2000; Nasrallah et al., 2007). *PGD₂* подавляет индуцированный TGF β 1 эпителиально-мезенхимальный перенос в клетках MD (Zhang et al., 2006c). В образцах почечной папиллярной ткани *PGD₂* модулирует синтез фосфатидилхолина через активацию ERK и PLD (Fernandez-Tome et al., 2004).

В культивированных мезангиальных клетках 15d-PGJ₂, производный от *PGD₂*, ингибирует стимулированную IFN γ генерацию цитокинов, преимущественно воздействуя на сигнальный путь JAK/STAT (Panzer et al., 2008). Поскольку синтетические лиганды PPAR γ не способны производить такой же эффект, вероятно, в этом случае 15d-PGJ₂ действует независимо от работы PPAR γ . Тем не менее, показано, что PPAR γ , и соответственно 15d-PGJ₂, играют протективную роль в гломерулярных болезнях (Chung et al., 2005).

1.2.3.5.4. Сердечнососудистая система и простагландины

Из-за короткого времени полужизни простаноиды не циркулируют и не дают прямого вклада в системный сосудистый тонус. Тем не менее, они могут модулировать локальный сосудистый тонус в местах своего образования и действовать на системное АД через почки. При инфузии PGE₂, *PGD₂* и PGI₂ приводят к вазодилатации в большинстве сосудов. Вазоконстрикция может быть результатом активации EP₁ или EP₃ простагландином PGE₂. В отличие от нарушения активности COX-2, делеция mPGES-1, которая существенно снижает биосинтез PGE₂, не может изменить АД у мышей, содержащихся на нормальной или высокосолевой диете (Cheng et al., 2006). На гипертензию, индуцированную инфузией Ang II у гиперлипидемических мышей, это также не влияет (Wang et al., 2008), хотя гипертензивный ответ на более интенсивную солевую нагрузку и инфузию Ang II у нормолипидемических мышей был повышен (Jia et al., 2006). Это расхождение может отражать разницу в генетическом фоне разных линий мышей и/или режиме дозирования.

Полиморфизм в PGI₂ и IP ассоциирован с эссенциальной гипертензией (Arehart et al. 2008), хотя в некоторых исследованиях найдены аргументы против роли PGI₂ в гомеостатическом поддержании сосудистого тонуса (Smyth et al., 2009). PGI₂ ограничивает уровень легочной гипертензии, индуцируемой гипоксией, и системной гипертензии,

индуцируемой Ang II. PGI₂ и его стабильные аналоги были успешно использованы для лечения легочной артериальной гипертензии (Steiropoulos et al., 2008).

Локальный подкожный выброс PGD₂ вызывает расширение сосудов кожи, дающий вклад в покраснение лица, ассоциированное с лечением людей ниацином. PGF_{2α} – мощный сократительный агент как для легочных артерий, так и вен у людей, в то время как TxA₂ – вазоконстриктор как на уровне всего организма животного, так и в изолированных сосудах (Smyth et al., 2009).

Селективная делеция COX-2 в кардиомиоцитах приводит к сердечной недостаточности и фиброзу у мышей, демонстрируя прямую роль простаноидов – производных COX-2 в кардиальной функции (Smyth et al., 2009). Действие на IP или EP₃, соответственно, PGI₂ и PGE₂ защищает от оксидативного повреждения в тканях сердца. Полная делеция IP повышает повреждения от ишемии/реперфузии (Xiao et al., 2001), хотя как полная делеция mPGES-1, так и кардиомиоцит-специфическая делеция EP₄ усугубляют спад сердечной функции после инфаркта миокарда (Smyth et al., 2009). В другой модели сердечной недостаточности, TXA₂ – производный COX-2 дает вклад в оксидативный стресс и генерацию изопростанов, повышая апоптоз кардиомиоцитов и фиброз (Zhang et al., 2003). Компенсаторный рост биосинтеза PGI₂ отражает роль этого ПГ в поддержании гомеостатической кардиопротективной функции.

Тромбоциты. Активированные тромбоциты синтезируют TxA₂, приумножая дальнейшую активацию и вовлеченность в процесс тромбоцитов (FitzGerald, 1991). Общий (суммарный) биосинтез TxA₂ возрастает при клинических синдромах активации тромбоцитов, включая нестабильную стенокардию, инфаркт миокарда и инсульт. Зрелые тромбоциты экспрессируют только COX-1, в то время как мегакариоциты и незрелые формы тромбоцитов также экспрессируют COX-2 (Rocca et al., 2002).

PGI₂ – главный простаноид, ингибирующий функции тромбоцитов. Он синтезируется COX-2, и в меньшей степени – COX-1, в сосудистой эндотелии и клетках гладкой мускулатуры. После активации сигнального пути IP-G_s-аденилатциклазы, сАМР активирует РКА, деактивирующую киназу легкой цепи миозина, снижая фосфорилирование миозина и уменьшая агрегацию тромбоцитов (Jin et al., 2005).

Роль PGE₂ в функции тромбоцитов менее ясна. В высоких концентрациях, действуя через IP и, вероятно, EP₂ или EP₄, он ингибирует эти функции (Fabre et al., 2001). Низкие концентрации PGE₂, действуя через EP₃, усиливают стимуляцию тромбоцитов другими агонистами. Мыши, дефицитные по EP₃, имели повышенную склонность к кровотечениям и пониженную восприимчивость к тромбоэмболии (Smyth et al., 2009).

Атеротромбоз. При атеросклерозе воспалительное сердечно-сосудистое заболевание, неустойчивость или отрыв бляшек могут привести к внутрисосудистому тромбозу с тяжелыми

клиническими последствиями. Повышенный атерогенез – главная угроза в развитии кардиоваскулярных рисков у пациентов, хронически принимающих НПВП. При этом ингибиторы COX-2, в зависимости от строения, могут замедлять, ускорять или оставлять неизменным атерогенез у мышей (Linton & Fazio, 2004). Индивидуальные простаноиды ассоциируются с противоположными эффектами в атеротромбозе. Подавление синтеза TxA₂, как и антагонизм или делеция TP, замедляют атерогенез у мышей (Egan et al., 2005; Kobayashi et al., 2004). Наоборот, PGI₂ выглядит атеропротективным (Kobayashi et al., 2004; Egan et al., 2004). Опасность для сердечно-сосудистой системы, связанная с селективным подавлением COX-2, механистически выводится из супрессии кардиопротективных простаноидов – производных COX-2, особенно PGI₂ (Grosser et al., 2006; Arehart et al., 2008). Помимо ограничения активации тромбоцитов и потенциальной роли в задержке атерогенеза, PGI₂ ограничивает сосудистую пролиферацию, ремоделирование и гипертензию (Cheng et al., 2006; Cheng et al., 2002; Kobayashi et al., 2004; Egan et al., 2004).

Воздействие PGE₂ на атеротромбоз выглядит более сложным. mPGES-1 колокализована с COX-2, и оба фермента подвергаются регуляции во время воспаления. Делеция или ингибирование mPGES-1 заметно снижает воспалительный ответ, а также сокращает атерогенез у гиперлипидемических мышей на высокожировой диете (Wang et al., 2006). Кроме того, делеция mPGES-1 повышает биосинтез PGI₂, преимущественно за счет превращения PGH₂ в PGI₂.

Роль простаноидов в патогенезе сердечнососудистых болезней широко исследовали с использованием мышей, нокаутных по каждому индивидуальному рецептору или ферменту, участвующему в биосинтезе простаноидов. Эти исследования выявили роль простаноидов в развитии острого инфаркта миокарда, кардиальной гипертрофии, атеросклероза, ремоделирования сосудов, гипертонии и церебрального тромбоза. Роль простаноидов в воспалительной тахикардии и регуляции функции тромбоцитов также прояснилась (Yuhki et al., 2011) (Рис. 1.8).

Важность простаноидов в поддержании кардиоваскулярного гомеостаза выявилась в клиническом опыте применения НПВП. Селективные ингибиторы COX-2 повышают риск инфаркта миокарда, инсульта, системной и легочной гипертонии, тромбоза, застойной сердечной недостаточности и неожиданной остановки сердца (Grosser et al., 2006). Показано, что специфические ингибиторы COX-2 снижают уровень простаглицина (PGI₂), не влияя на продукцию тромбоксана (Tx) A₂ (Francois et al., 2005). Мыши с делецией рецептора PGI₂ развивают соль-чувствительную гипертонию, кардиальную гипертрофию и сильный сердечный фиброз. Одновременная делеция рецептора TxA₂ (TP) не предотвращала развитие гипертонии, но ослабляла гипертрофию и предотвращала фиброз у двойных нокаутных.



Рис. 1.8. Роль простаноидов в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний (по Yuhki et al., 2011, с модификациями).

Эксперименты на мышах показали, что сниженный сигнал простаглицлина (PGI_2) при сохранении действия TxA_2 приводит к атерогенезу (Egan et al., 2004) и сосудистым нарушениям (Cheng et al., 2002). Если основываться на действии PGI_2 как вазодилатора и натрийуретического агента, ингибирование синтеза PGI_2 может играть причинную роль в повышении АД, наблюдаемом под действием ингибиторов COX-2. Однако предыдущие исследования показали, что простаглицлин имеет лишь слабое влияние на АД в состоянии покоя (Cheng et al., 2002; Xiao et al., 2001). Вместе с тем, показали, что отсутствия рецепторов IP достаточно, чтобы вызвать гипертонию с кардиальной гипертрофией и фиброзом, а TxA_2 , действующий через рецептор TP, усиливает интенсивность вызванных гипертонией сердечных нарушений (Francois et al., 2005).

Гипертония. Как связаны простаноиды – производные COX и гипертония? Было показано, что простаглицлин PGI_2 предотвращает гемодинамические изменения, возникающие под воздействием Ang II при гипертонии, атеросклерозе и миокардиальной ишемии (Alvarez et al., 2001). Позже выявили, что в вазоконстрикторном ответе на фенилэфрин в аорте участвуют $PGF_{2\alpha}$ и 8-изопростан, и это участие заметнее у гипертонивных крыс из-за более высокой

эндотелиальной экспрессии COX-2 (Alvarez et al., 2005). Есть мнение, что хотя синтез простаноидов с легочной прессорной и системной депрессорной активностью происходит с помощью COX-1 и COX-2 в русле легочных и системных сосудов, но прессорный ответ на Ang II не регулируется этими путями у крыс (Baber et al., 2003; Baber et al., 2005). Обычно считается, что простаноиды играют важную вазодилататорную роль в сосудах, помогая противостоять действию индуцированной Ang II вазоконстрикции. Однако некоторые исследователи демонстрируют противоположные результаты относительно связи между Ang II и простаноидами – производными COX. Показано, что Ang II повышает уровень простаглицина и PGE₂ в плазме крови (Schuijt et al., 2001), а также стимулирует выброс вазоконстрикторных простаноидов, таких как TxA₂ (Lin & Nasjletti, 1992; Lin & Nasjletti, 1991; Schuijt et al., 2001). При изучении влияния ингибирования COX-1 и COX-2 на АД у трансгенных крыс с индуцируемой злокачественной гипертензией [TGR(Cyp1a1Ren2)] показали, что опосредованный Ang II рост содержания вазоконстрикторных простаноидов дает вклад в повышение АД и почечную дисфункцию при злокачественной гипертензии (Oray et al., 2006).

Три главных уровня клеточного контроля синтеза ПГ – это 1) уровень высвобождения арахидоновой кислоты из глицерофосфолипидов; 2) уровень циклооксигеназ, и 3) уровень терминальных ПГ-синтаз. Как правило, ПГ проявляют свои свойства через специфические G-белок-сопряженные (GPCR) рецепторы, хотя и прямая модификация клеточных белков простагландинами также наблюдалась. Локализация рецепторов ПГ и их сопряжение с отдельными G-белками и, соответственно, со специфическими внутриклеточными сигнальными путями, определяют характер действия отдельных ПГ. ПГ – это важнейшие медиаторы воспаления, и продолжительное воздействие специфическими ингибиторами COX-2 обычно улучшает функциональное и структурное состояние у экспериментальных моделей. Но ПГ имеют также противовоспалительные свойства. Используемые в настоящее время ингибиторы COX-2 несвободны от побочных эффектов, и их действие не всегда объясняется ингибированием циклооксигеназной активности и синтеза ПГ. Таким образом, рост понимания механизмов регуляции продукции ПГ (таких как регуляция COX на пост-трансляционном уровне) заложит основу для разработки нового поколения ингибиторов синтеза ПГ и может открыть новые стратегии борьбы не только с воспалительными, но и сердечнососудистыми заболеваниями.

1.3. Современные представления о механизмах возникновения гипертонии

В природе мы никогда не видим ничего изолированного, но все находится в связи с чем-то еще, что было прежде него, рядом с ним, под ним и над ним.

Иоганн Вольфганг фон Гёте

Практически каждая из известных нам физиологических систем может вносить свой вклад в развитие эссенциальной гипертонии. Более того, невозможно рассматривать действие этих систем изолированно, вне связи с другими, хотя на разных стадиях развития болезни на первый план могут выходить различные процессы, протекающие в различных органах.

Любое обсуждение этиологии гипертонии должно рассматривать роль почек. Модель влияния, разработанная Гайтоном, постулирует, что связь между экскрецией натрия и АД (связь между давлением и натрийурезом) определяет гомеостатическую установочную точку АД (Guyton, 1991). Согласно этой модели, любой рост задержки натрия продуцирует начальное расширение объема крови, заставляя АД расти через рост сердечного выброса. Сверх-перфузия ткани ведет к росту периферического сопротивления (авторегуляция на уровне всего тела), что возвращает кардиальный выход к нормальному уровню. Согласно этой широко принятой теории, переустановка связи давления и натрийуреза с необходимостью ведет к гипертонии, независимо от причины переустановки, была ли она гуморальной, нейральной, дегенеративной или генетической.

При изучении эффекта экзогенного ангиотензина II на структуру почки было показано, что Ang II может индуцировать структурные изменения в почке, нарушающие способность экскретировать натрий, и тем самым предрасполагать к гипертонии. Эти изменения теоретически могут индуцировать рост почечного сосудистого сопротивления (путем экспрессии миофибробластов, окружающих перитубулярные капилляры), индуцировать постоянную почечную ишемию (как последствие утраты перитубулярных капилляров) и нарушать локальную генерацию NO (Giachelli et al., 1994).

Высокий уровень Ang II в циркуляционном русле может приводить к повышенной продукции внутриклеточных ROS, в том числе в структурах мозга, и тем самым к развитию гипертонии (Zimmerman et al., 2004). Ang II может влиять на многие точки сети, контролирующей симпатический тонус (то есть, медианное преоптическое ядро, PVN, NTS, RVLM, SPGNs и, возможно, все норадренергические нейроны), а нерегулируемый рост уровня Ang II в мозге может вести к подъему среднесуточного АД (Morimoto et al., 2001).

Известно, что ранняя гипертония часто ассоциирована с гиперактивной симпатической нервной системой и что такая гипертония часто соль-резистентна, в то время как «соль-

чувствительная» гипертония доминирует с возрастом. Это подтверждает возможность того, что ранняя гипертония может быть опосредована системным действием гиперактивной СНС и являться менее стабильной и поначалу почечно-независимой (Johnson et al., 2005).

Катехоламинэргические сигнальные пути могут быть связаны с рецептором ангиотензина AT1. Этот эффект имеет как острый, так и хронический компоненты, которые зависят от посттранскрипционных и транскрипционных механизмов, соответственно (Lu et al., 1996a). Хронические эффекты определяются возросшей транскрипцией ТН, дофамин- β -гидроксилазы и транспортера норадреналина и включают сигнальный путь MAP-киназы (Lu et al., 1998; Lu et al., 1996b; Lu et al., 1996a).

Во многих исследованиях анализируется связь между СНА, уровнем норадреналина плазмы и гипертонией. Уровни норадреналина плазмы (в первую очередь из симпатических нервных окончаний, но также и из медуллы НП) заметно повышаются с возрастом у людей и экспериментальных животных, и, как предполагается, сочетаются с растущей гипертензией (Goldstein, 1995). Норадреналин, секретируемый из симпатических нервов, ведет к сокращению клеток гладкой мускулатуры, вызывая вазоконстрикцию и сокращения сердца. Системная вазоконстрикция повышает общее периферическое сопротивление кровотока тела, которое в сочетании с сердечной стимуляцией повышает АД. Сверх всего, выяснилось, что симпатические эфферентные нервы играют важную роль в контроле АД во многих ситуациях. Оказалось, что они способствуют установлению гипертонии, даже когда ее первичная причина иная. Со временем ренальная вазоконстрикция и гломерулярная гипертензия, индуцированные гиперактивной СНС, могут вести к тонким почечным изменениям, вызывающим задержку натрия, из-за чего гипертония становится соль-чувствительной, почечно-зависимой и постоянной (Johnson & Schreiner, 1997).

К структурным изменениям в почках, ассоциированным с постоянной соль-чувствительностью, может вести кратковременное воздействие самых различных агентов, вызывающих вазоконстрикцию: Ang II, фенилэфрин, циклоспорин, ингибирование продукции NO под действием L-NAME, использование низко-калиевой диеты и гипобарически индуцированная гипоксия (Johnson et al., 2005). В последние годы к этому списку добавились гиперурикемия (генетическая или вызванная особенностями диеты) (Feig et al., 2013; Turak et al., 2013) и даже диета, богатая фруктозой (Tapia et al., 2013; Kretowicz et al., 2011).

Накапливается все больше свидетельств того, что иммунная система также играет важную роль в патогенезе гипертонии. Показана инфильтрация Т-клеток в почки при гипертонии (Quiroz et al., 2012). Интерстициальное накопление иммунных клеток ассоциировано с ростом окислительного стресса и активностью почечного Ang II, что приводит к нарушению прессорного натрийуреза (Rodríguez-Iturbe et al., 2012).

1.3.1. Гипотеза единого пути развития эссенциальной гипертензии

Вышеупомянутые исследования указали на путь (Рис. 1.9) развития эссенциальной гипертензии, объединяющий многие предшествующие гипотезы. В работах Ричарда Джонсона с соавт. (Johnson et al., 2005; Johnson et al., 2008) последовательно продвигается гипотеза, что в большинстве случаев развитие эссенциальной гипертензии проходит через две фазы. Во время первой фазы гипертензия соль-резистентна и ренин-зависима, а почки нормальны.

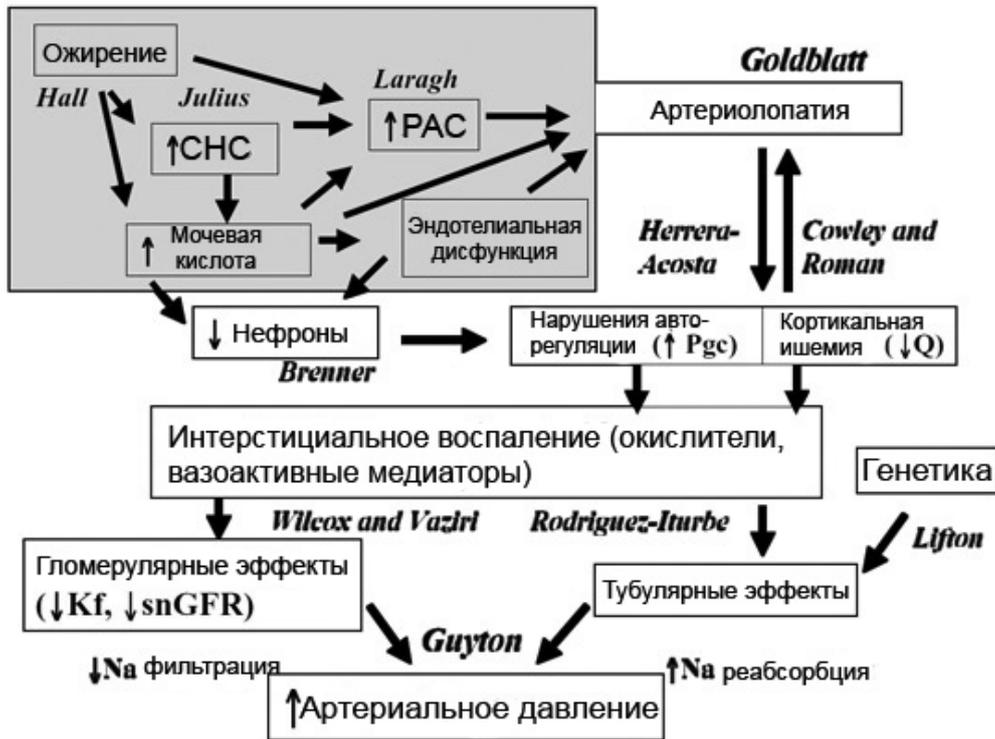


Рис. 1.9. Пути развития эссенциальной гипертензии (по Johnson et al., 2005, с изменениями). (Kf – коэффициент ультрафильтрации; snGFR – скорость гломерулярной фильтрации одного нефрона.)

Было высказано предположение (Johnson et al., 2005), что почечное повреждение инициируется на этой стадии повторяющейся и прерывистой ренальной вазоконстрикцией, индуцируемой различными факторами. Они могут включать гиперактивность СНС, индуцируемую стрессом или генетическими механизмами (Julius, 1996; Mancía, 1997), генетическими изменениями в РАС, приводящими к росту циркулирующего Ang II (Jeunemaitre et al., 1999) или гиперурикемией, индуцированной диетой, генетически или при активации СНС (Johnson & Rideout, 2004). Рост АД в этом случае может быть наиболее выражен при низко-солевой диете, которая должна усиливать активность РАС. Это согласуется с результатами исследований, показывающими, что ранняя гипертензия ассоциирована с низким объемом крови (Lebel et al., 1984; London et al., 1984), повышенным уровнем ренина плазмы (Julius & Nesbitt,

1996), пограничной или лабильной гипертонией (Julius & Nesbitt, 1996), гиперурикемией (Feig & Johnson, 2003) и гиперактивной СНС (Julius & Nesbitt, 1996).

Во время этой фазы гипертония имеет тенденцию к соль-устойчивости, а ишемия часто преходяща (благодаря непостоянству активации СНС или колебаниям уровня мочевой кислоты из-за диеты) и почки относительно не повреждены, так что механизм прессорного натрийуреза остается в основном интактным. Солевая нагрузка у таких субъектов должна, вероятно, повышать АД, почечный кровоток и усиливать натрийурез.

Спустя время, вазоконстрикторные ответы ведут к развитию прегломерулярной артериолопатии, чему способствует не столько повышение давления, сколько действие мочевой кислоты, Ang II, или потеря локального NO. Это может происходить для замещения необходимости вазоконстрикторного ответа, обеспечивая структурный механизм для снижения почечного кровотока, что сдвигает кривую прессорного натрийуреза, приводя к росту солевой чувствительности и повышению АД. В сущности, в почке имитируется ренальная вазоконстрикция, отражающая низкий объем крови, на который почка отвечает удержанием соли, чтобы поддерживать объем и давление. Артериолопатия приводит к прогрессивной кортикальной ишемии; но, кроме того, артериолы демонстрируют неэффективную авторегуляцию (Sánchez-Lozada et al., 2002), таким образом, системное давление передается к клубочкам, несмотря на низкий кровоток и усиление почечного повреждения (Johnson et al., 2005). Характер гипертонии меняется на соль-чувствительный, объем-зависимый и почечно-зависимый.

Этот путь совместим с предполагаемой ролью болезни почечных артериол, вызывающей ишемию и гипертонию, как это постулировано Гольдблаттом (Goldblatt, 1947) и с важностью почечной ишемии ЮГ-области при гипертонии (Cowley & Roman, 1996). Другие исследователи также предположили ключевую роль болезни почечных афферентных артериол и вазоконстрикции в этиологии гипертонии (Skov & Mulvany, 2004; Anderson et al., 2000; Wilcox, 2003). Ишемия привлекает лейкоциты (Т-клетки и макрофаги) с локальной экспрессией оксидантов провоспалительными и, возможно, также резидентными клетками для удаления локального внутрпочечного NO, что вызывает дальнейшую ренальную вазоконстрикцию (Vaziri, 2004; Wilcox, 2003). Микрососудистая болезнь также может приводить к почечной ишемии, вызывая гетерогенность экспрессии ренина (Sealey et al., 1988). Другие изменения в вазоконстрикции и симпатическая активация также имеют место (DiBona, 2002). Последствием может быть задержка натрия благодаря как гломерулярному, так и тубулярному механизмам, приводя к объем-зависимому росту АД по Гайтону (Guyton, 1991).

Однако Гайтон постулировал, что прегломерулярная сосудистая болезнь не меняет наклона кривой прессорного натрийуреза, а скорее вызовет параллельный сдвиг кривой вправо,

приводя к соль-резистентной форме гипертонии (Guyton, 1991). Возникает вопрос: чем тогда вызвана соль-чувствительность? Авторы гипотезы предположили, что рост ренального перфузионного давления приведет к неравномерной перфузии кортекса почки, вызывая в некоторых областях ишемические нарушения, аналогично гипотезе Sealey (Sealey et al., 1988).

Все это еще более вероятно, если имеется фокальная потеря перитубулярных капилляров, как это было показано в различных моделях (Kanellis et al., 2003). Поскольку ренальная ишемия вызывает изменения, усиливающие реабсорбцию натрия, это может объяснить, почему почечный артериосклероз может быть ассоциирован с солевой чувствительностью. Кроме того, имеет место вазоконстрикция с падением K_f (коэффициента ультрафильтрации) (Franco et al., 2001); это также может ограничивать экскрецию натрия и предрасполагать к соль-чувствительности.

Таким образом, было сделано предположение, что гипертония может смещаться от соль-резистентного, ренин-зависимого типа к соль-чувствительной, зависимой от почек и объем-зависимой гипертонии с течением времени. Эта гипотеза согласуется с прогрессирующим ростом соль-чувствительности, который отмечается с возрастом (Weinberger, 1996), и с наблюдениями исследователей, показавших, что при связанной с ожирением гипертонии ранние стадии ассоциированы с низким объемом крови и активацией ренина (возможно, из-за стимуляции СНС и гиперурикемии), тогда как на поздних стадиях болезнь становится объем-зависимой (Egan & Stepniakowski, 1997). Кроме того, некоторые пациенты могут развивать соль-чувствительную гипертонию после приобретенной почечной микроваскулярной болезни без прохождения соль-резистентной фазы, как это обнаружено при циклоспорин-индуцированной гипертонии (Andoh et al., 2001).

Обобщенно схема развития эссенциальной гипертонии по Джонсону представлена на Рис. 1.9. На этой схеме к развитию повреждения афферентных артериол приводят различные взаимодействующие факторы, включая ожирение, гиперактивность СНС, активацию РАС, эндотелиальную дисфункцию и мочевую кислоту. Две последние причины могут играть роль в снижении числа нефронов во время развития. Во время этого периода (выделенного серым) гипертония соль-устойчива, может быть ассоциирована с низким объемом крови, вероятно, ренин-зависима и относительно независима от почки. Повреждение артериол затем может предрасполагать к стойкой почечной вазоконстрикции с ишемией и, в некоторых случаях, с нарушением авторегуляции, что приводит к росту гломерулярного давления. Эти изменения ведут к кортикальной ишемии с инфильтрацией лейкоцитов, которые генерируют окислители, а Ang II в сочетании с локальной генерацией оксидантов и вазоактивных факторов способствует продолжительной почечной вазоконстрикции. Микрососудистая болезнь может также вызывать в различной степени относительную почечную ишемию, ведущую к различным

почечным ответам, как это постулировано Sealey (Sealey et al., 1988). Последствием этого является как сокращение почечной фильтрации, так и рост тубулярной абсорбции натрия, что ведет к повышению артериального давления. Так рост почечного перфузионного давления отчасти решает проблему ишемии, позволяя уровню натрия вернуться к нормальному, но ценой сдвига прессорного натрийуреза и роста системного давления. Этот путь объединяет гипотезы Гольдблатта и Гайтона (Goldblatt, 1947; Guyton, 1991), как и другие упомянутые в этом разделе работы (Julius, 1996; Sealey et al., 1988; Cowley & Roman, 1996; Wilcox, 2003; Vaziri, 2004 и др.).

1.4. Заключение

Как следует из приведенных данных, изучение механизмов артериальной гипертензии актуально ввиду широкого распространения этого заболевания и неразрешенности многих связанных с этим вопросов. Разработанные в последние десятилетия методы позволили перейти от описательных форм изучения к выяснению глубоких биохимических и генетических причин, лежащих в основе болезни, а также к пониманию, что спектр этих причин многообразен. Немалую роль в развитии патологического состояния играет стресс, в том числе эмоциональный, особенно в тех случаях, когда стрессирующее воздействие падает на почву генетической предрасположенности. Адекватная модель – крысы с наследственной индуцируемой стрессом гипертензией – позволяет исследовать механизмы возникновения и развития заболевания.

За годы, прошедшие с момента создания линии НИСАГ, у этих животных были исследованы физиологические функции систем ответа на стресс: как гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, так и симпатoadреналовой. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система получила меньше внимания исследователей, хотя в последние годы все более активно изучается функция секреции альдостерона надпочечниками (в частности, работы Е.В. Антонова). Однако авторы обзоров литературы, посвященных гипертензии, сходятся во мнении, что развитие гипертензионической болезни, независимо от исходной причины, непременно затрагивает почечные механизмы водно-солевого обмена, а значит, и систему, непосредственно с ним связанную – РАС.

Экспрессия генов РАС у крыс НИСАГ до сих пор изучалась в основном на уровне белковых продуктов (например, определения содержания ренина или ACE). Но представляется полезным (и разумным с точки зрения логики) исследовать «первый уровень» экспрессии генов РАС – содержание мРНК генов РАС – в органах, имеющих отношение к регуляции сердечнососудистой системы и водно-солевого обмена.

В свете теории о двустадийном развитии гипертонической болезни (Johnson et al., 2008) кажется необходимым обратить внимание на функционирование РАС не только у взрослых крыс НИСАГ с уже сформировавшейся картиной артериальной гипертонии, но и на более молодых животных, в возрасте до 6 недель. Из литературных данных известно (например, работа Бузуевой и др., 2007), что воздействие антигипертензивных средств в препубертатном возрасте на крыс НИСАГ смягчает проявления гипертонии в последующем. Кроме того, из работ на крысах других линий с низкорениновой формой гипертонии известно, что в этом возрасте экспрессия ренина в почке у них повышена (Gomez et al., 1988; Sassard et al., 2003), а короткая блокада РАС приводит к долговременному снижению АД и задержке формирования гипертензивного статуса. Следовательно, этот возраст можно считать критическим для развития гипертонической болезни у крыс.

Безусловно, невозможно рассматривать действие физиологических систем изолированно, вне связи с другими. Так, симпатическая нервная активность управляет экспрессией ренина в почке и сама, в свою очередь, зависит от уровня Ang II как в циркуляционном русле, так и в структурах мозга. А реакция ГГАС на стресс и секреция глюкокортикоидов требуют посредников-простагландинов, чей синтез также модулируется ангиотензином и его рецепторами. При этом секреция лимитирующего фермента РАС ренина в почке усиливается под влиянием ПГ – продуктов действия COX-2. Поэтому изучение экспрессии генов РАС у крыс гипертензивной линии НИСАГ было бы неполным без сопоставления ее с экспрессией ключевых генов систем биосинтеза катехоламинов (ген тирозин-гидроксилазы *Th*) и простагландинов (ген циклооксигеназы *Cox-2*).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы

Использованные в работе реактивы:

dATP, dGTP, dTTP, dCTP («Медиген», Новосибирск; «Вектор-Бест», Новосибирск); SDS, агароза, DTT, ЭДТА, трис ("Sigma", США); краситель SYBR Green I ("Molecular Probes", США); фенол, хлороформ, этанол, изоамиловый спирт и соли не ниже классификации х.ч. ("Реахим", Россия).

Состав буферных растворов:

Буфер для ревертазы MoMLV	20 mM Трис-НСl (рН 8.3), 10 mM DTT, 100 mM КСl, 5 mM MgCl ₂
Буфер для Таq ДНК-полимеразы	67 mM трис-НСl (рН 8.9), 16 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 1,5 mM MgCl ₂ , 0,01% Tween 20, 10 mM β-меркаптоэтанол
Буфер TE	10 mM трис-НСl (рН 7.5), 1 mM ЭДТА
Буфер ТАЕ	40 mM трис-ацетат (рН 8,0), 2 mM ЭДТА
Буфер ТВЕ	89 mM трис-борат (рН 8,0), 89 mM борная кислота, 1 mM ЭДТА
Буфер TEN/2xSDS	50 mM трис-НСl (рН 8,0), 2,5 mM ЭДТА, 100 mM NaCl, 2% SDS
Смесь CIAA	хлороформ:изоамиловый спирт в соотношении 24:1

Ферменты:

Дезоксирибонуклеаза I ("Promega", USA)

Обратная транскриптаза MoMLV (ЗАО «Биосан», Новосибирск, Россия)

Таq-полимераза (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск)

Таq-полимераза с антителами (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск)

Протеиназа К ("Sigma")

Рибонуклеаза А ("Serva")

2.2. Праймеры

Все праймеры синтезированы ЗАО «Биосан» (Новосибирск, Россия).

Для ПЦР в реальном времени с использованием красителя SYBR Green I:

Праймеры для генов *Th*, *Ren*, *Ace*, *Ace2*, *Agt*, *Agtr1a*, *Agtr2* и *Cox-2* подбирали при помощи программ PrimerQuestSM (Integrated DNA Technologies, Inc, <http://eu.idtdna.com/Scitools/Applications/PrimerQuest/>) и NCBI/Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Нуклеотидные последовательности приведены в Табл. 1. Критерием выбора праймеров было отсутствие неспецифического продукта при ПЦР, в том числе в отрицательном контроле; наличие только продукта заданной длины при электрофоретическом анализе; и, наконец, уникальный и четкий пик плавления продукта ПЦР с температурой плавления не ниже 85°C. Отсутствие неспецифического продукта в ПЦР контролировали электрофоретически и по кривым плавления продукта реакции. Кривые плавления продуктов ПЦР, полученных с помощью подобранных праймеров, приведены на Рис. 2.1. Температуру отжига праймеров уточняли, проводя ПЦР с температурным градиентом.

Таблица 1. Праймеры, используемые в ПЦР с применением SYBR Green I.

Ген	Нуклеотидная последовательность праймеров	T _{отж}	T _{рег}
<i>Th</i>	F: 5'– GCA GCC CTA CCA AGA TCA AA – 3' R: 5'– AAC TTC ACA GAG AAT GGG CG – 3'	61°C	84°C
<i>Cox-2</i>	F: 5' – GAT GTT CGC ATT CTT TGC CC – 3' R: 5' – ATA CAC CTC TCC ACC GAT GA – 3'	63°C	84°C
<i>Ren</i>	F: 5'– CCT GGG AGT CAA AGA GAA GA – 3' R: 5'– ACA GGT CAT CGT TCC TGA AG – 3'	64°C	84°C
<i>Agt</i>	F: 5'– CCT CGC TCT CTG GAC TTA TC – 3' R: 5'– CAG ACA CTG AGG TGC TGT TG – 3'	63°C	87°C
<i>Ace</i>	F: 5'– ATG GTA CAG AAG GGC TGG AA – 3' R: 5'– TTG TAG AAG TCC CAC GCA GA – 3'	62°C	88°C
<i>Ace2</i>	F: 5'– TGC CGA CCA AAG CAT TAA AG – 3' R: 5'– TCT CTC ATG GCA TAG GCA AC – 3'	63°C	84°C
<i>Agtr1a</i>	F: 5'– AAA TGA GCA CGC TTT CTT ACC G – 3' R: 5'– TGA GGC AGG GTG AAT GGT CC – 3'	63°C	86°C
<i>Agtr2</i>	F: 5'– CAA TCT GGC TGT GGC TGA CTT – 3' R: 5'– TGC ACA TCA CAG GTC CAA AGA – 3'	63°C	83°C
<i>Rpl30</i>	F: 5'– CAT CTT GGC GTC TGA TCT TG – 3' R: 5'– TCA GAG TCT GTT TGT ACC CC – 3'	61 – 64°C*	84°C

T_{отж} – температура отжига, T_{рег} - температура регистрации флуоресценции.

* - отжиг праймеров для гена сравнения проводили при той же температуре, что и отжиг праймеров для целевого гена.

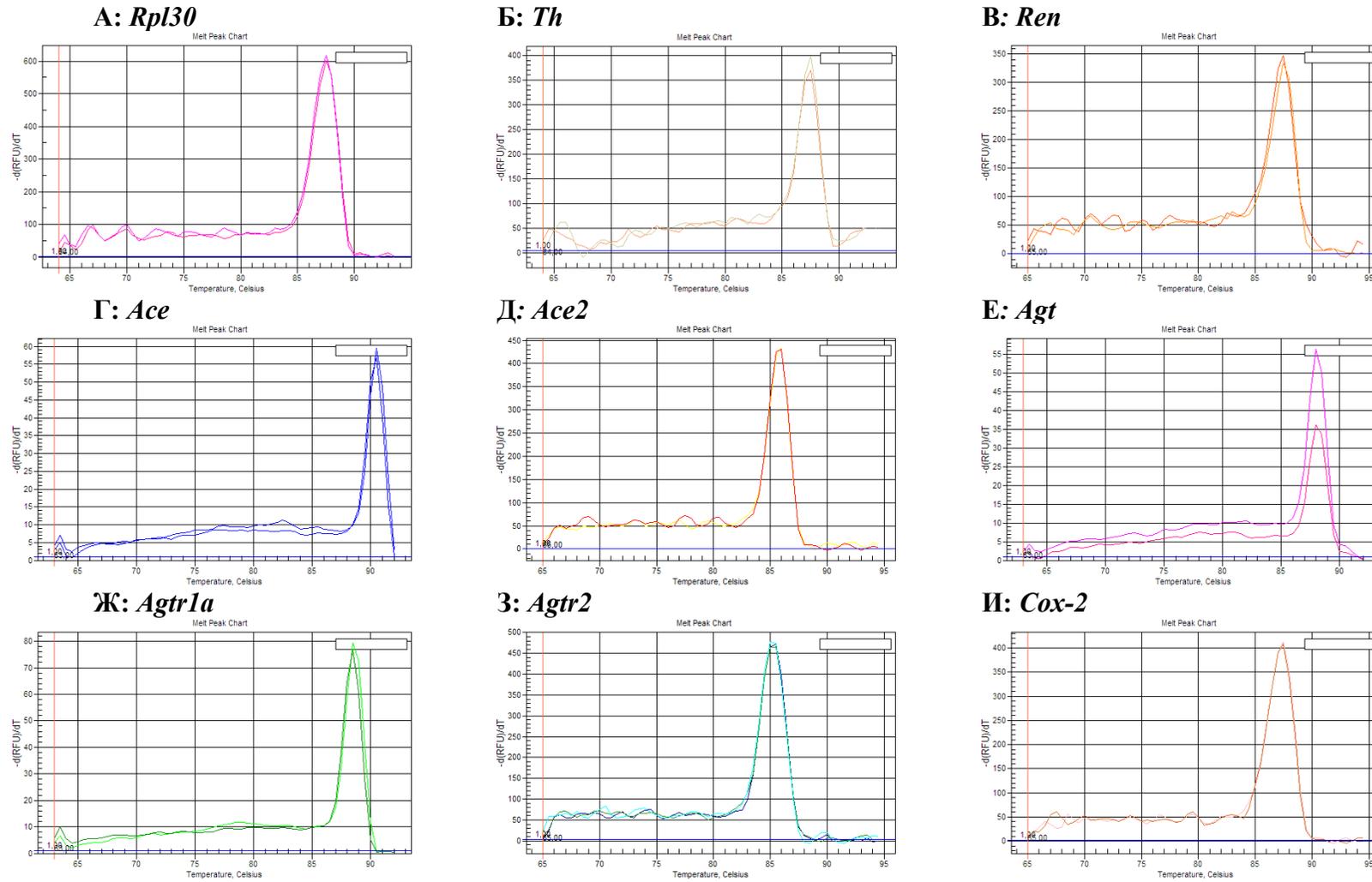


Рис. 2.1. Кривые плавления продуктов ПЦР (ампликонов), полученных с помощью подобранных нами праймеров. Данные представлены в виде $-dRFU/dT$ vs T , где RFU – условные единицы флуоресценции, T – температура. (А – $Rpl30$, Б – Th , В – Ren , Г – Ace , Д – $Ace2$, Е – Agt , Ж – $Agr1a$, З – $Agr2$, И – $Cox-2$).

Для амплификации и последующего секвенирования гена *Lngfr* (по Nemoto et al., 1996):

№1 – 5'– GACTGAGCTAGAAGCGGAGC – 3'

№2 – 5'– TACAACAСТCCTGCCTGCAT – 3'

№3 – 5'– GACСТTGACGTCСТАТТСТG – 3'

2.3. Экспериментальные животные

Эксперименты выполнены на молодых (1,5 мес) и взрослых (4 мес) крысах-самцах двух инбредных линий – гипертензивной линии НИСАГ и нормотензивной линии WAG (Wistar Albino Glaxo), содержащихся в условиях вивария ИЦиГ СО РАН и получавших воду и сбалансированный корм без ограничения.

2.3.1. Артериальное давление

Первичные данные по артериальному давлению у крыс в возрасте 1,5 мес любезно предоставлены к.б.н. М.А.Рязановой (лаборатория эволюционной генетики ИЦиГ СО РАН).

Базальное артериальное давление у крыс линии НИСАГ в возрасте 1,5 мес. было умеренно (не выше 150 мм рт. ст., среднее – 141 мм рт. ст.), но достоверно повышенным при сравнении с крысами линии WAG ($p < 0,05$) (Рис. 2.2).

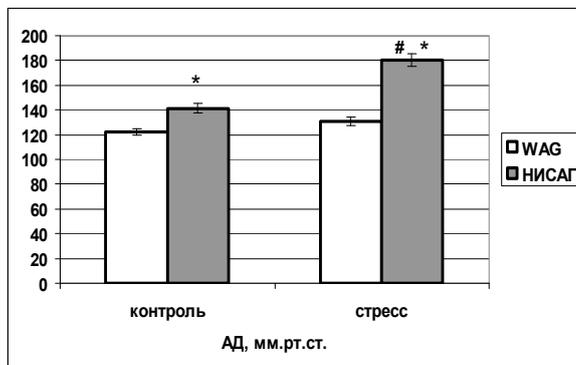


Рис. 2.2. Артериальное давление у молодых крыс НИСАГ и WAG в состоянии покоя и после мягкого эмоционального стресса. * – межлинейная разница, # – достоверное отличие между базальным АД и стрессовым.

После эмоционального стресса, вызванного ограничением подвижности, АД у крыс двух линий различалось как по абсолютному значению ($p < 0,0005$), так и по величине прироста при стрессе ($p < 0,01$) (Рис. 2.2). В этом возрасте прирост АД при стрессе коррелирует с абсолютной величиной АД при стрессе у обеих линий крыс (для WAG $p = 0,03$ и для НИСАГ $p = 0,04$), однако только у крыс WAG наблюдается тенденция к отрицательной корреляции между базальным давлением и приростом АД при стрессе (коэффициент Пирсона $R = -0,738$, $p =$

0,094), что означает: чем выше базальное давление, тем слабее выражено его изменение при стрессе. У крыс НИСАГ эта зависимость значительно менее достоверна.

2.4. Водная депривация

Действие стресса водной депривации изучали на зрелых (4-месячных) животных: декапитацию производили непосредственно после стресса, вызванного временным удалением из клеток поилок с водой с 19 ч до 12 ч следующего дня. Доступ к пище не ограничивался. Для последующего анализа забирали следующие ткани: почки, печень, миокард, надпочечники и такие отделы мозга как гипоталамус и продолговатый мозг.

Ткани замораживали в жидком азоте и до момента анализа хранили при -70°C . В контрольных сериях исследовали интактных животных.

2.5. Выделение суммарной РНК из тканей

Суммарную РНК выделяли по методу (Chattopadhyay et al., 1993) с некоторыми модификациями. Образец ткани гомогенизировали на ледяной бане в смеси водонасыщенного фенола (10V/1V ткани) и 0.5% SDS (5V/1V ткани). Затем добавляли 2M ацетат натрия, pH 4,2 (1/8 от объема смеси) и инкубировали 5 мин при 0°C . Гомогенат переносили в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл и центрифугировали 15 мин (Eppendorf Centrifuge 5414, 12000 об/мин, 9000 g). Водную фазу переносили в чистые пробирки и дважды экстрагировали равным объемом смеси фенол/хлороформ (1V:1V), а затем равным объемом чистого хлороформа. После каждой экстракции водную фазу отделяли центрифугированием в течение 5 мин при 9000 g. РНК осаждали добавлением 2,5 – 3V 96% этанола и последующей инкубацией при -70°C в течение 30 мин. Примеси геномной ДНК удаляли обработкой ДНКазой I согласно рекомендациям производителя фермента, после чего проводили повторную экстракцию смесью фенол/хлороформ и чистым хлороформом, а также осаждение этанолом, как описано выше. После центрифугирования осадок РНК растворяли в деионизованной воде.

Анализ количества выделенной РНК проводили спектрофотометрически по поглощению при 260 нм. Интактность РНК определяли электрофорезом в 1,2% агарозном геле в буфере ТАЕ.

2.6. Получение кДНК (обратная транскрипция)

Смешивали 3 – 5 мкг РНК и 0,5 мкг «случайных» (random N₉) праймеров-нонамеров в 11 мкл воды. После денатурации РНК (65°C , 5 мин) и отжига праймеров (37°C , 5 мин) добавляли 19 мкл смеси с обратной транскриптазой. Конечный раствор содержал буфер для обратной транскрипции, 500 мкМ dNTPs и 40 ед. обратной транскриптазы MoMLV. Синтез кДНК

проводили при 37°C 1 час, 42°C – 30 мин, 50°C – 10 мин. Фермент инактивировали прогревом смеси при 75°C 5 мин. Для последующей ПЦР использовали 0,25 – 0,5 мкл полученной кДНК.

2.7. Определение уровней содержания мРНК

2.7.1. Построение калибровочных кривых при ПЦР в реальном времени

В исследованиях по определению уровня экспрессии генов (абсолютного или относительного) всегда остро стоит вопрос выбора стандарта для построения калибровочных кривых (Pfaffl, 2001). В качестве такового могут выступать клонированные в плазмиде ампликоны исследуемых генов, искусственно синтезированные олигонуклеотиды (Ginzinger, 2002), кДНК, полученная с использованием коммерческих препаратов РНК в качестве матрицы (Nolan et al., 2006). Однако многочисленные литературные данные свидетельствуют, что эффективность амплификации может не только отличаться для разных генов и различных праймеров, но и зависеть как от методов выделения РНК, так и от состава реакционной смеси для обратной транскрипции при получении кДНК. В свою очередь, различия в эффективности амплификации на несколько процентов могут привести к расхождению оценки исходного уровня кДНК в 10 и более раз (Ramakers et al., 2003). Поэтому столь важно было, чтобы указанные факторы не влияли на определяемый результат. Используемый нами метод не требовал ни синтеза специальных стандартов, ни подбора праймеров с одинаковой эффективностью амплификации для целевого гена и гена сравнения, что особенно сложно при исследовании экспрессии сразу семи генов.

В качестве стандартной матрицы ДНК для построения калибровочных кривых мы применяли «усредненный» образец кДНК, при получении которого для каждой из исследуемых тканей из всех экспериментальных образцов кДНК отбирали равный объем смеси после обратной транскрипции и смешивали.

Пусть в единице объема «усредненного» образца содержится M_0 копий кДНК целевого гена и N_0 копий кДНК гена сравнения. Соответствующие количества кДНК в контрольных образцах (от интактных животных) обозначим как M_k и N_k , а в образцах от животных, подвергнутых экспериментальному воздействию, – M_{ex} и N_{ex} . Количество кДНК целевого гена, нормированное на ген сравнения, составит $M^{норм} = M/N$. Калибровочные (стандартные) кривые по ряду последовательных разведений «усредненного» образца строим для каждой пары праймеров (т.е. на целевой ген и ген сравнения). Пользуясь программным обеспечением прибора iCycler (BioRad), мы можем определить по этим кривым относительные количества исследуемых кДНК в образцах: M_k/M_0 , M_{ex}/M_0 , N_k/N_0 и N_{ex}/N_0 . Тогда нормированные на ген сравнения количества кДНК будут определяться выражением $(M_k/M_0)/(N_k/N_0)$ и $(M_{ex}/M_0)/(N_{ex}/N_0)$, или $M_k^{норм}/M_0^{норм}$ и $M_{ex}^{норм}/M_0^{норм}$. Таким образом, если в данном эксперименте $M_0^{норм}$

является константой (т.е. для построения всех калибровочных кривых используется один «усредненный» образец кДНК), то исследуемое изменение уровня мРНК целевого гена в опыте по сравнению с контролем составит $(M_{\text{ex}}^{\text{норм}} / M_0^{\text{норм}}) / (M_{\text{k}}^{\text{норм}} / M_0^{\text{норм}}) = M_{\text{ex}}^{\text{норм}} / M_{\text{k}}^{\text{норм}}$, т.е. будет соответствовать реальному. Аналогичное рассуждение будет верно и для сравнения экспрессии генов у двух линий животных.

Таким образом, для построения калибровочных кривых можно, вообще говоря, использовать практически любую смесь кДНК, содержащую интересующие исследователя последовательности, если выполнено главное условие: эффективность амплификации кДНК изучаемого гена в составе этого «стандарта» и в исследуемых образцах должна совпадать, для чего, в первую очередь, должны быть одинаковыми условия их получения (т.е. способ извлечения ткани, выделения РНК и синтеза кДНК). Использование «усредненного» образца позволяет нивелировать возможные индивидуальные отклонения отдельных образцов кДНК.

2.7.2. Определение относительных уровней мРНК методом ПЦР в реальном времени с применением красителя SYBR Green I

Для определения уровня экспрессии генов проводили ПЦР в реальном времени в присутствии красителя SYBR Green I на амплификаторах iCycler и iQ5 (Bio-Rad laboratories, США). В качестве гена сравнения использовали «ген домашнего хозяйства» *Rpl30* (ген рибосомного белка L30). Последовательность праймеров приведена в Таблице 1. Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала стандартный буфер для ПЦР (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), дополнительно 3,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, SYBR Green I в разведении 1 : 20000, по 150 нМ соответствующих праймеров и 1 ед Taq-полимеразы с антителами. Реакцию проводили в следующих условиях: предварительный прогрев при 94°C – 1 мин; затем 40 основных циклов: денатурация при 94°C – 15 сек, отжиг (см. таблицу 1) – 20 сек, элонгация при 72°C – 20 сек, сбор данных по флуоресценции для *Rpl30* при 83°C – 10 сек, сбор данных по флуоресценции для целевых генов (см. таблицу 1) – 10 сек. После окончания ПЦР снимали кривые плавления продуктов для контроля специфичности реакции.

В каждом эксперименте на один планшет помещали образцы исследуемых кДНК с праймерами на целевой ген (по 4 повтора на образец кДНК); аналогичные образцы с праймерами на ген сравнения (также по 4 повтора); «стандартную» кДНК в разведениях от 1:1 до 1:64 с теми же праймерами (2 повтора). Для каждого образца кДНК ПЦР проводили не менее 2-х раз. По получаемым стандартным калибровочным кривым определяли исходный уровень исследуемых кДНК (относительно «стандартной» кДНК), и эту величину для целевых генов относили к количеству кДНК гена сравнения, определяя таким образом различия в уровнях экспрессии изучаемых генов между животными разных линий.

2.7.3. Статистическая обработка результатов

Все статистические расчеты производили с помощью программного пакета Statistica 5.5 («Statsoft», США). Использовали дисперсионный анализ (ANOVA/MANOVA), а также непараметрические методы статистики: U-критерий Манна – Уитни, критерий Краскела – Уоллиса (многомерное обобщение U-критерия Манна – Уитни) и медианный тест. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Следует отметить, что, как правило, параметрические и непараметрические методы статистики приводили к аналогичным результатам. Немногие случаи расхождения отмечены в разделе «Результаты».

Для обработки данных по экспрессии генов у молодых крыс (1,5 мес) использовали также корреляционный анализ. Определяли коэффициент корреляции Пирсона. Поскольку группы животных состояли всего из 6 особей каждая, для контроля использовали также непараметрический аналог этого анализа – коэффициент корреляции рангов Спирмена. Результаты также считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Во внимание принимали только те результаты, достоверность которых и по Пирсону, и по Спирмену составляла $p \leq 0,1$.

Результаты обработки данных приведены в Табл. 2 и 3 (Стр.128 и 129). Знаками «+» и «-» обозначены, соответственно, положительные и отрицательные корреляции по Пирсону. При этом «++» и «--» означают, что $p < 0,05$, а «+» и «-» – что $0,05 \leq p \leq 0,10$. Случаи, когда и для корреляций Пирсона, и для ранговых корреляций Спирмена $p \leq 0,10$, обозначены восклицательным знаком.

2.8. Выделение ДНК из печени крыс

ДНК выделяли из печени с использованием протеиназы К и фенольной экстракции согласно рекомендациям (Molecular cloning, 1989). Образец ткани гомогенизировали, порциями добавляя тройной объем буфера TEN/2xSDS. Свежеприготовленный раствор протеиназы К (20 мг/мл) добавляли к гомогенату из расчета 0,25 мг/мл TEN-буфера. Смеси инкубировали при 55°C в течение ночи. Закончив инкубацию, добавляли в каждую пробирку фенол (рН 7,2) в количестве 2/3 от объема TEN-буфера и смесь CIAA (1/25 от объема TEN-буфера), встряхивали, после чего центрифугировали 5 мин на центрифуге "Eppendorf 5414" в течение 5 мин при 12000 об/мин, 9000 g. Водный слой отбирали, повторяли экстракцию смесью фенол-CIAA(1:1) и чистым CIAA, после чего добавляли 2V 96%-ного этанола для осаждения. Через 5 мин центрифугировали (5 мин, 9000 g), осадок промывали 70%-ным этанолом и снова центрифугировали. Осадок подсушивали на воздухе, растворяли в TE-буфере и обрабатывали РНКазой А при 56°C в течение часа, затем добавляли ацетат Na до концентрации 100 мМ и 2V 96%-ного этанола, через 5 мин центрифугировали (5 мин, 9000 g), осадок промывали 96%-ным этанолом, снова центрифугировали и осадки сушили на воздухе. Выделенную ДНК растворяли

в ТЕ-буфере. Количество выделенной ДНК определяли спектрофотометрически по поглощению при 260 нм.

2.9. Определение нуклеотидной последовательности 5'-области гена *Lngfr*

2.9.1. Полимеразная цепная реакция

Для амплификации интересующего нас участка ДНК реакционная смесь объемом 50 мкл содержала буфер для ПЦР, 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ dNTPs, по 0,5 мкМ праймеров №1 и №2, 0,4 ед Таq-полимеразы и 0,5 мкг ДНК. Реакцию проводили в следующих условиях: предварительный прогрев при 95°C – 3 мин; после этого следовали 35 циклов амплификации: 95°C – 30 сек, 69°C – 15 сек, 72°C – 30 сек. Полученные продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 1,2% агарозном геле и выявляли окрашиванием бромистым этидием. Участок геля с фрагментом ДНК длиной 345 н.п. вырезали, замораживали на 1 час при –70°C, и после оттаивания центрифугировали 10 мин (Eppendorf Centrifuge 5414, 12000 об/мин, 9000 g) в микроколонках GFX Columns (Amersham Biosciences). Элюаты очищали на колонках Centri-Sep Spin Columns (Applied Biosystems) согласно рекомендациям производителя.

2.9.2. Секвенирование

Секвенирование продуктов ПЦР проводили по методу Сэнгера на автоматическом секвенаторе ABI Prism 310 Genetic Analyzer ("Perkin Elmer", США) с использованием набора BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit ("Perkin Elmer", США) как в прямом направлении с праймером №1, так и в обратном – с «вложенным» праймером №3.

Реакцию Сэнгера проводили на амплификаторе BioMetra в соответствии с программой, рекомендованной для секвенирования посредством указанного набора реагентов. Реакционная смесь (объем 7.5 мкл) содержала 1–1.5 пмоль ДНК, 1 пмоль праймера и 3 мкл смеси из набора BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit, включающего в себя dNTP, MgCl₂, трис-HCl pH 9.0, BigDye-дидезокситерминаторы, а также AmpliTaq FS ДНК-полимеразу.

После амплификации проводили очистку продуктов секвенирующей реакции от непрореагировавших компонентов реакционной смеси. К реакционным смесям добавляли равный объем бидистиллированной воды, растворы переносили в пробирки объемом 1,5 мл, добавляли изопропанол до 60%, после чего проводили инкубацию в течение 20-25 минут при комнатной температуре. ДНК осаждали центрифугированием в течение 25 мин, 16000g, осадок дважды промывали 70% этанолом. Образцы высушивали и анализировали на автоматическом секвенаторе ABI Prism 310 Genetic Analyser.

ГЛАВА 3. Результаты

3.1. Экспрессия генов PAC у крыс WAG и НИСАГ

3.1.1. Уровень экспрессии генов PAC в почках

3.1.1.1. Экспрессия генов PAC в почках молодых (1,5 мес) крыс

Анализ полученных методом ОТ-ПЦР данных показал, что, как видно из Рис. 3.1, уровень содержания мРНК ренинового гена в почках у молодых крыс НИСАГ повышен почти вдвое (на 95 %) по сравнению с крысами WAG.

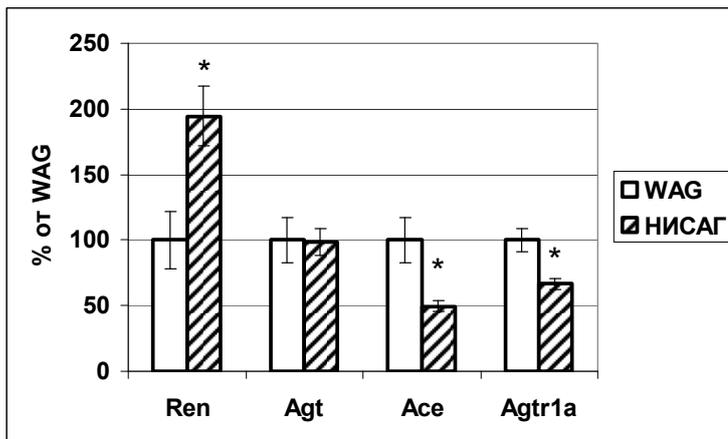


Рис. 3.1. Относительное содержание мРНК генов PAC в почке крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяцев. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

Содержание мРНК генов *Ace* и *Agtr1a*, наоборот, было понижено на 50 и 33 %, соответственно. Экспрессия гена *Agt* у молодых крыс обеих линий практически не различалась.

Поиск корреляций между экспрессией генов PAC в почках молодых крыс WAG и НИСАГ выявил существенную разницу между сравниваемыми линиями животных: если у крыс WAG наблюдается отрицательная корреляция между уровнями мРНК ренина, с одной стороны, и мРНК *Ace* и *Agt*, с другой ($R = -0,883$, $p = 0,020$ и $R = -0,843$, $p = 0,035$, соответственно), то у крыс НИСАГ корреляций между экспрессией генов PAC в почке вообще не выявлено (Табл. 2 и 3). Данные непараметрического корреляционного анализа (корреляция рангов Спирмена) дали отчасти сходные результаты: отсутствие корреляции между содержанием мРНК генов PAC в почках крыс НИСАГ, значимую отрицательную корреляцию между экспрессией *Ren* и *Ace* ($R_s = -0,829$, $p = 0,042$) у крыс WAG; однако корреляция между *Ren* и *Agt* ($R_s = -0,7714$, $p = 0,072$) не достигала в этом тесте статистически значимого уровня.

Таблица 2. Корреляции между содержанием мРНК изучаемых генов у крыс линии WAG (пояснения – в тексте).

	cox	ren	agt	ace	at1	ace	ace2	at1	cox	ren	agt	ace	ace2	at1	at2	th	cox	ren	agt	ace	ace2	at1	at2	th	th	cox	agt	at1	at2	ace2	th	ace			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32			
1		++!	--!	--!			--				+		++			++																			
2	++!		--!	--!		+			-					++		++	+														++				
3	--!	--!		++			++!			-		-!				-																			
4	--!	--!	++						+	-		-				--!																	-		
5										-				++!			++!											+							
6		+						++!			++!		++	+	++					++											--		-!		
7	--		++!								--!		--!																						
8						++!													++	++!			++!	++!					+						
9		-		+												--										++									
10					-						+																	--!				++			
11	+		-	-			--!			+						+		-															++		
12						++!								+		+										++								--	
13	++		-!	-			--!								++													--	--!	+		+			
14		++			++!	++						+				++	++														--		-		
15						+							++							++!											+				
16	++	++	-	--!		++				--	+	+		++			+	--			++!														
17		+			++!									++		+																		--!	
18										-						--				+	+	+		++										-!	
19								++											+	++	+		++!						+						
20						++		++!							++!				+	++		++		++											
21																			+	+	++			++!					++!						
22	--	--							++							--!																			
23								++!											++	++!	++	++!													
24								++!																											
25																	--!																		
26												++																							
27										--!			--																++!		--!	--!			
28					+							--!																++!			-	--!			
29		++						+				+		+					+								++!								
30					--									++														--!	-				+		
31				-					++	++!		+						-!										--!	-!		+				
32						-!						--		-																					

Столбцы и строки: № 1 – 5: почка (1 – Cox-2, 2 – Ren, 3 – Agt, 4 – Ace, 5 – Agtr1a); № 6 – 8: миокард (6 – Ace, 7 – Ace2, 8 – Agtr1a); № 9 – 16: гипоталамус (9 – Cox-2, 10 – Ren, 11 – Agt, 12 – Ace, 13 – Ace2, 14 – Agtr1a, 15 – Agtr2, 16 – Th); № 17 – 24: продолговатый мозг (17 – Cox-2, 18 – Ren, 19 – Agt, 20 – Ace, 21 – Ace2, 22 – Agtr1a, 23 – Agtr2, 24 – Th); № 25: Th в среднем мозге; № 26 – 31: надпочечник (26 – Cox-2, 27 – Agt, 28 – Agtr1a, 29 – Agtr2, 30 – Ace2, 31 – Th); № 32: Ace в легких.

Таблица 3. Корреляции между содержанием мРНК изучаемых генов у крыс линии НИСАГ (пояснения – в тексте).

	cox	ren	agt	ace	at1	ace	ace2	at1	cox	ren	agt	ace	ace2	at1	at2	th	cox	ren	agt	ace	ace2	at1	at2	th	th	cox	agt	at1	at2	ace2	th	ace		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		
1		++!									++!	++	--!		++!			-	++		++!		+				++		+		--	++!		
2	++!										++!	+	--!		++!				+		++		++				++!				-	++!		
3										-							++!									++								
4							+		--!															--		+								
5						--!		--!				+						-	++	++!	+										-			
6					--!			+													--							++!		+				
7				+				++!								++																		
8					--!	+	++!					--!				+			--!													+		
9				--!																					+	-								
10			-													+																		
11	++!	++!																			++			++			++!							
12	++	+			+			--!										--	++!	+		+									--!	-		
13	--!	--!									--							+	-		--						-		-			--!		
14																							--!	--		-				--!				
15	++!	++!										++	--!					--!	+		++!										--!	++!		
16							++	+		+								+																
17			++!																							+								
18	-				-							--	+		--!	+			--		--								-		++!			
19	++	+			++			--!				++!	-		+			--		+	++							+		--!	+			
20					++!	--													+		+							-	++					
21	++!	++			+					++	+				++!			--	++	+							++		++		-	+		
22															--!																+			
23	+	++									+																+				-!	++		
24				--						++				--										++!			++!							
25									+																			++	-					
26			++	+					-								+																	
27	++	++!									++!		-	-						++			+	++!										
28						++!														-						++								
29	+												-					-	+	++	++					-								
30					-	+								--!						-			+											
31	--	-						+				--!			--!			++!	--!		-		-!										--!	
32	++!	++!									+	--!		++!					+		+		++										--!	

Столбцы и строки: № 1 – 5: почка (1 – Cox-2, 2 – Ren, 3 – Agt, 4 – Ace, 5 – Agr1a); № 6 – 8: миокард (6 – Ace, 7 – Ace2, 8 – Agr1a); № 9 – 16: гипоталамус (9 – Cox-2, 10 – Ren, 11 – Agt, 12 – Ace, 13 – Ace2, 14 – Agr1a, 15 – Agr2, 16 – Th); № 17 – 24: продолговатый мозг (17 – Cox-2, 18 – Ren, 19 – Agt, 20 – Ace, 21 – Ace2, 22 – Agr1a, 23 – Agr2, 24 – Th); № 25: Th в среднем мозге; № 26 – 31: надпочечник (26 – Cox-2, 27 – Agt, 28 – Agr1a, 29 – Agr2, 30 – Ace2, 31 – Th); № 32: Ace в легких.

Поиск связи экспрессии генов PAC с артериальным давлением выявил у молодых крыс WAG отрицательную корреляцию базального давления с экспрессией гена *Agt* ($R = -0,9724$, $p = 0,001$). Кроме того, у этих крыс выявлена отрицательная связь экспрессии гена *Agtr1a* как с абсолютным значением АД при стрессе, так и с величиной его прироста ($R = -0,944$, $p = 0,005$ и $R = -0,8305$, $p = 0,041$, соответственно). Следует уточнить, что уровень мРНК измеряли у крыс в состоянии покоя, поэтому речь идет скорее о корреляции со способностью к повышению АД при стрессе. У молодых крыс НИСАГ такой связи не выявили, однако у этих животных наблюдали положительную корреляцию базальной экспрессии гена *Ace* с приростом АД при эмоциональном стрессе ($R = 0,779$, $p = 0,068$; по Спирмену $R_s = 0,886$, $p = 0,019$).

3.1.1.2. Уровень мРНК генов PAC в почках зрелых (4 мес) крыс в покое и при водной депривации

Экспрессию генов PAC у зрелых крыс НИСАГ определяли в рамках изучения влияния на нее водной депривации (Рис. 3.2).

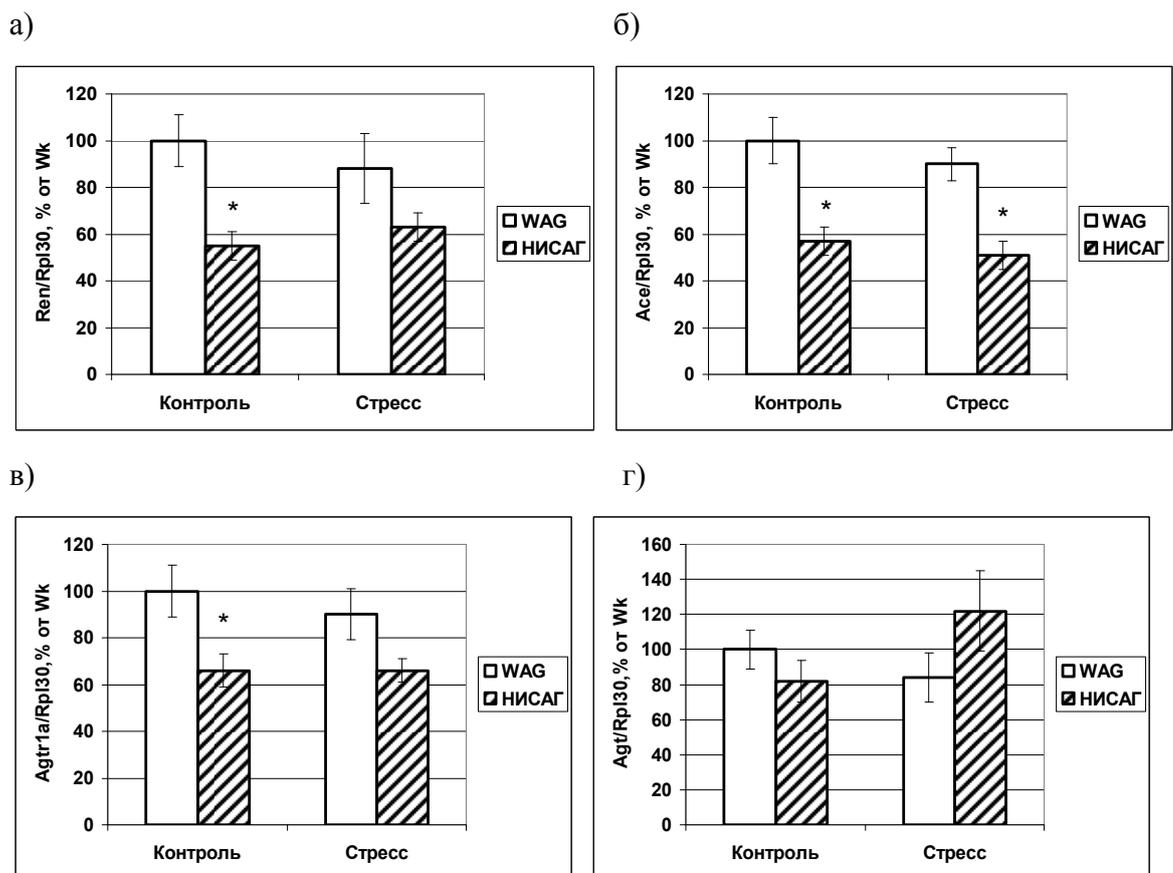


Рис. 3.2. Относительное содержание мРНК генов *Ren* (а), *Ace* (б), *Agtr1a* (в), *Agt* (г) в почке крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при стрессе обезвоживания. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью двухфакторного ANOVA анализа, рассматривая как независимые факторы «генотип» и «воздействие». Дисперсионный анализ показал, что экспрессия гена ренина (Рис. 3.2,а) зависит только от генотипа – у крыс НИСАГ она ниже, чем у WAG: $F_{1,36} = 10,199$, $p = 0,0029$. При парных сравнениях различия были достоверными только у интактных животных ($p < 0,05$).

Содержание мРНК *Ace* также зависит лишь от генотипа ($F_{1,40} = 29,515$, $p = 0,000003$), однако достоверные различия при парных сравнениях наблюдали как у интактных крыс, так и при стрессе (Рис. 3.2,б).

Двухфакторный анализ показал, что экспрессия *Agtr1a* зависит также только от генотипа – у крыс НИСАГ она ниже, чем у WAG: $F_{1,36} = 7,66$, $p = 0,0089$. При парных сравнениях различия были достоверными только у интактных животных ($p < 0,05$), но не при стрессе (Рис. 3.2,в).

Только в случае гена *Agt* не было замечено достоверных различий между крысами WAG и НИСАГ ни в состоянии покоя, ни при стрессе обезвоживания (Рис. 3.2,г).

3.1.2. Экспрессия генов PАС в миокарде

3.1.2.1. Уровень мРНК генов PАС у молодых (1,5 мес) крыс

У молодых крыс в миокарде изучали экспрессию генов *Ace*, *Ace2* и *Agtr1a*. Не было выявлено межлинейной разницы в содержании мРНК этих генов (Рис. 3.3).

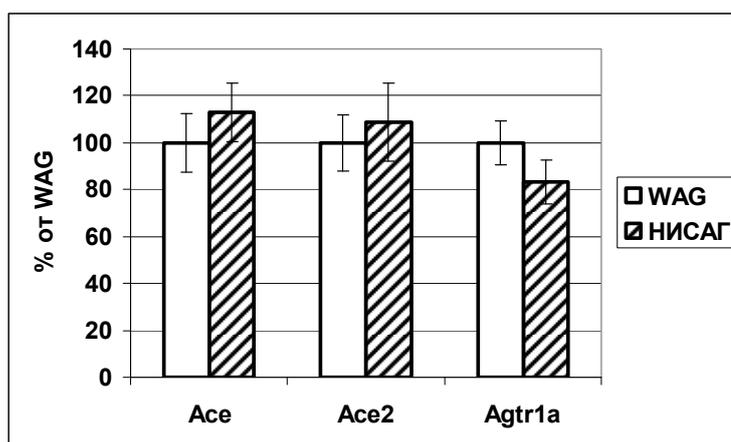


Рис. 3.3. Относительное содержание мРНК генов PАС в миокарде крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяца.

У молодых крыс WAG отмечена положительная корреляция между уровнями мРНК *Ace* и *Agtr1a* в миокарде ($R = 0,896$, $p = 0,016$; $R_s = 0,8286$, $p = 0,042$); у крыс НИСАГ степень этой корреляции ниже, чем у WAG, и не достигает достоверного уровня ($R = 0,809$, $p = 0,051$; $R_s = 0,7143$, $p = 0,111$). При этом в миокарде у молодых НИСАГ наблюдалась достоверная и

положительная корреляция экспрессии генов *Ace2* и *Agtr1a* ($R = 0,843$, $p = 0,035$; $R_s = 0,886$, $p = 0,019$).

Что касается связи АД с экспрессией генов PAC в миокарде, то у крыс WAG наблюдали отрицательную корреляцию базального давления с экспрессией гена *Ace2* ($R = -0,932$, $p = 0,007$; $R_s = -0,986$, $p = 0,0003$). У крыс НИСАГ АД при стрессе коррелирует с содержанием в миокарде мРНК *Agtr1a* ($R = 0,916$, $p = 0,010$; $R_s = 0,941$, $p = 0,005$). При этом у крыс НИСАГ выявляется положительная корреляция прироста АД при стрессе с экспрессией гена *Ace2* ($R = 0,857$, $p = 0,029$; $R_s = 0,943$, $p = 0,005$). С экспрессией этого же гена коррелирует и абсолютное значение АД при стрессе ($R = 0,772$, $p = 0,072$; $R_s = 0,880$, $p = 0,021$).

3.4.2.2. Уровень мРНК генов PAC у зрелых (4 мес) крыс в покое и при водной депривации

В миокарде 4-х месячных крыс линии НИСАГ уровень экспрессии гена *Agtr1a* понижен на 28% в сравнении с крысами линии WAG. (Рис. 3.4) Содержание мРНК *Ace* в миокарде крыс НИСАГ оказалось значительно повышенным – на 80%. Достоверных различий в экспрессии *Ace2* в миокарде крыс двух линий не выявлено.

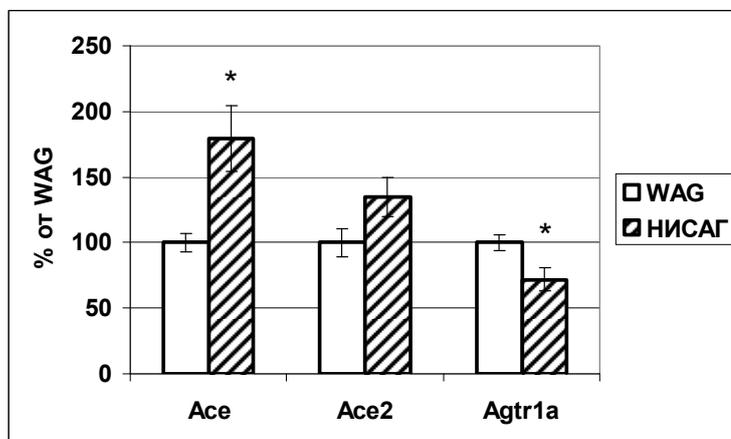


Рис. 3.4. Относительное содержание мРНК генов PAC в миокарде крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

Дисперсионный анализ не выявил влияния на экспрессию *Ace* ни фактора стресса, ни генотипа, но факторы взаимодействовали: $F_{1,28} = 5,55$, $p = 0,023$, что указывает на различную реакцию крыс WAG и НИСАГ на стресс (Рис. 3.5,а). Плановые сравнения показали, что только у крыс НИСАГ уровень мРНК *Ace* при обезвоживании снижался почти вдвое ($p < 0,05$). Кроме того, у интактных животных экспрессия также различалась – у крыс НИСАГ она была повышена почти на 80 % ($p < 0,05$).

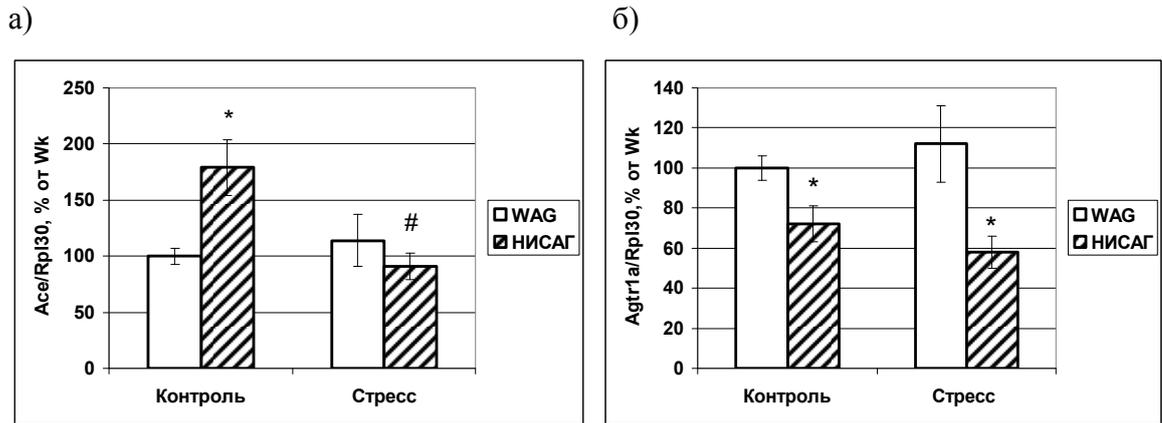


Рис. 3.5. Относительное содержание мРНК генов *Ace* (а) и *Agtr1a* (б) в миокарде крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при водной депривации. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$), # – различие между контролем и опытом ($p < 0,05$).

Двухфакторный анализ показал, что экспрессия *Agtr1a* зависит только от генотипа – у крыс НИСАГ она ниже, чем у WAG: $F_{1,24} = 15,83$, $p = 0,0006$. При парных сравнениях межлинейные различия были статистически значимыми как у интактных животных, так и при стрессе (Рис. 3.5,б).

3.1.3. Экспрессия генов PAC в мозговых структурах

3.1.3.1. Уровень мРНК генов PAC у молодых (1,5 мес) крыс

3.1.3.1.1. Уровень мРНК генов PAC в гипоталамусе

26 %-ное различие в экспрессии ренина в гипоталамусе молодых крыс WAG и НИСАГ не являлось статистически достоверным (Рис. 3.6).

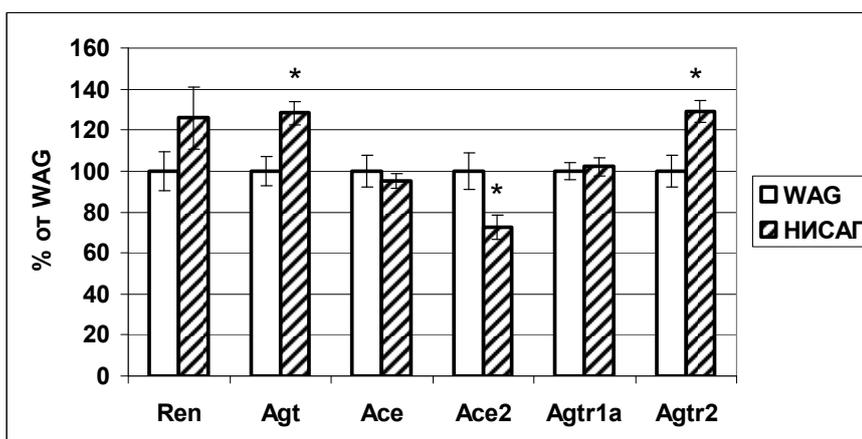


Рис. 3.6. Относительное содержание мРНК генов PAC в гипоталамусе крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяца.

Не различалось у животных разных линий и содержание мРНК *Ace* и *Agtr1a*. Однако экспрессия гена *Agt* у крыс НИСАГ достоверно превышала таковую у крыс WAG на 28 %, а

гена рецептора *Agtr2* – на 29 %. Уровень содержания мРНК *Ace2* у молодых крыс НИСАГ в гипоталамусе был снижен на 28 %.

С базальным АД у крыс WAG в гипоталамусе коррелировала экспрессия гена *Ace2* ($R = 0,810$, $p = 0,051$; $R_S = 0,841$, $p = 0,036$) и на уровне тенденции – *Agt* ($R = 0,751$, $p = 0,085$; $R_S = 0,754$, $p = 0,084$). Отрицательная связь отмечена для *Agtr1a* как с абсолютным значением стрессового АД ($R = -0,824$, $p = 0,044$; $R_S = -0,955$, $p = 0,003$), так и с величиной прироста этого давления ($R = -0,817$, $p = 0,047$; $R_S = -0,783$, $p = 0,066$). У крыс НИСАГ корреляционный анализ не находит в гипоталамусе связей между экспрессией генов PAC и артериальным давлением.

Корреляционный анализ выявил статистически достоверное значение коэффициента Пирсона при сравнении экспрессии *Ace* и *Agtr2* у молодых крыс НИСАГ ($R = 0,923$, $p = 0,025$), однако определение корреляции по Спирмену не подтвердило этого результата ($R_S = 0,700$, $p = 0,188$). Отрицательная корреляция экспрессии *Ace2* с мРНК этого же рецептора по Пирсону ($R = -0,882$, $p = 0,048$) сильнее подтверждается непараметрическими методами ($R_S = -0,771$, $p = 0,072$). Вместе с тем, отрицательная связь в экспрессии *Agt* и *Ace2*, выявленная у крыс НИСАГ по Спирмену ($R_S = -0,900$, $p = 0,037$), не подтверждается анализом по Пирсону. Наибольшая величина коэффициента Пирсона у крыс WAG наблюдалась при сравнении экспрессии *Ace2* и *Agtr2*: $R = 0,829$, $p = 0,041$, при коэффициенте Спирмена $0,657$ ($p = 0,16$). Коэффициент Спирмена R_S у этих крыс при сравнении экспрессии ренина и *Agt* составил $0,771$ ($p = 0,072$), остальные величины были еще менее значимы.

3.1.3.1.2. Уровень мРНК генов PAC в продолговатом мозге

В продолговатом мозге, как и в гипоталамусе, у молодых крыс мы не выявили межлинейных различий в экспрессии генов *Ren*, *Ace*, *Ace2* и *Agtr2* (Рис. 3.7). Содержание мРНК *Agt* у крыс НИСАГ в этом возрасте было повышено на 60 % по сравнению с крысами WAG. Мы наблюдали у крыс НИСАГ также небольшое (24 %), но статистически достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня мРНК *Agtr1a*.

Мы не обнаружили достоверных корреляций между показателями артериального давления и экспрессией генов PAC в продолговатом мозге молодых крыс обеих линий.

Корреляционный анализ данных по экспрессии генов PAC у молодых крыс WAG в продолговатом мозге указывает на положительную связь между экспрессией *Agt* и *Agtr2* ($R = 0,961$, $p = 0,002$; $R_S = 0,943$, $p = 0,005$), а также более слабую – между экспрессией ренина и *Agt* ($R = 0,750$, $p = 0,086$; $R_S = 0,771$, $p = 0,072$). Отмечена также положительная связь экспрессии *Agtr2* и *Ace2* ($R = 0,828$, $p = 0,042$; $R_S = 0,771$, $p = 0,072$) в этом отделе мозга. В продолговатом мозге крыс НИСАГ коэффициент Пирсона для связи *Ren* и *Agt* является отрицательным ($R = -$

0,888, $p = 0,018$), как и для *Ren* и *Ace2* ($R = -0,914$, $p = 0,011$), а для корреляции *Agt* и *Ace2* положительным ($R = 0,869$, $p = 0,025$). Но ни одна из этих связей у крыс НИСАГ не подтверждается анализом по Спирмену.

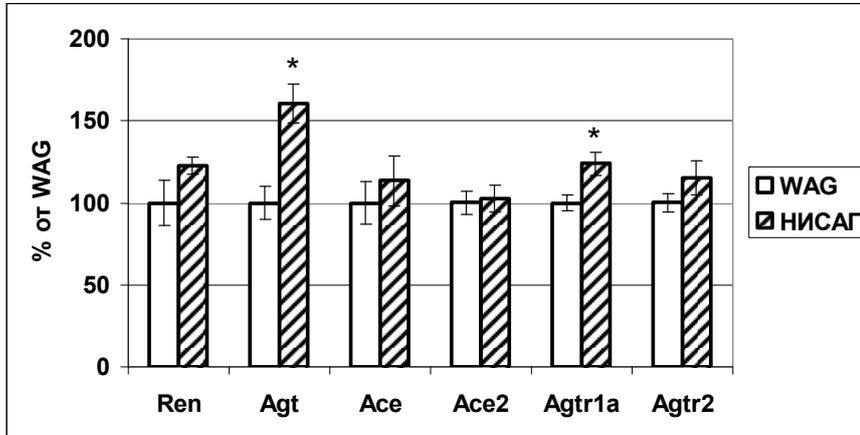


Рис. 3.7. Относительное содержание мРНК генов PAC в продолговатом мозге у крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяца.

3.1.3.2. уровень мРНК генов PAC в мозге зрелых (4 мес) крыс

3.1.3.2.1. уровень мРНК генов PAC в гипоталамусе в покое и при водной депривации

Экспрессию генов *Agtr2* и *Ace2* у взрослых крыс определяли только в состоянии покоя, и различия в уровнях мРНК *Agtr2* между линиями обнаружено не было (Рис. 3.8). Уровень мРНК *Ace2* у взрослых крыс НИСАГ был выше, чем у WAG, на 27%.

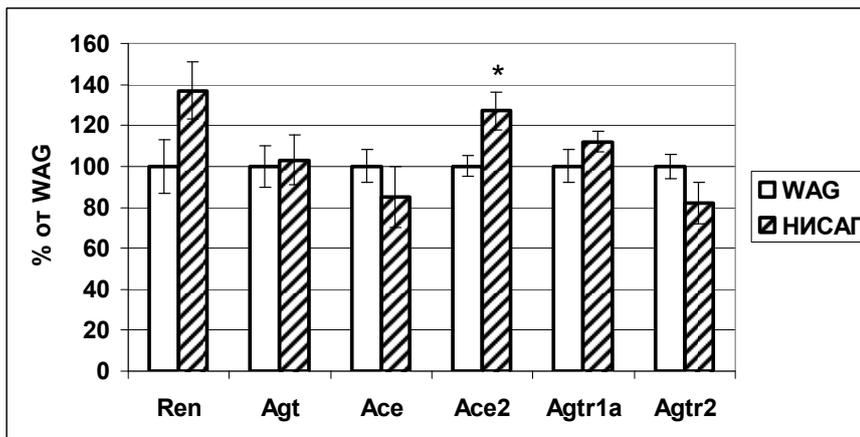


Рис. 3.8. Относительное содержание мРНК генов PAC в гипоталамусе крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

Дисперсионный анализ экспрессии ренина в гипоталамусе крыс линий WAG и НИСАГ в покое и в условиях водной депривации показал, что на результат влияли факторы генотипа ($F_{1,21} = 5,944$, $p = 0,024$) и воздействия ($F_{1,21} = 8,193$, $p = 0,009$). Парные сравнения выявили статистически значимое снижение уровня мРНК ренина при стрессе водной депривации в гипоталамусе крыс линии WAG (Рис. 3.9,а).

Двухфакторный анализ выявил влияние на экспрессию гена *Ace* в гипоталамусе взрослых крыс обоих изучаемых факторов: генотипа ($F_{1,10} = 5,5014$, $p = 0,041$) и воздействия ($F_{1,10} = 6,7682$, $p = 0,0264$). Парные сравнения показали, что достоверными различия между линиями животных становились лишь на фоне стресса (Рис. 3.9,б).

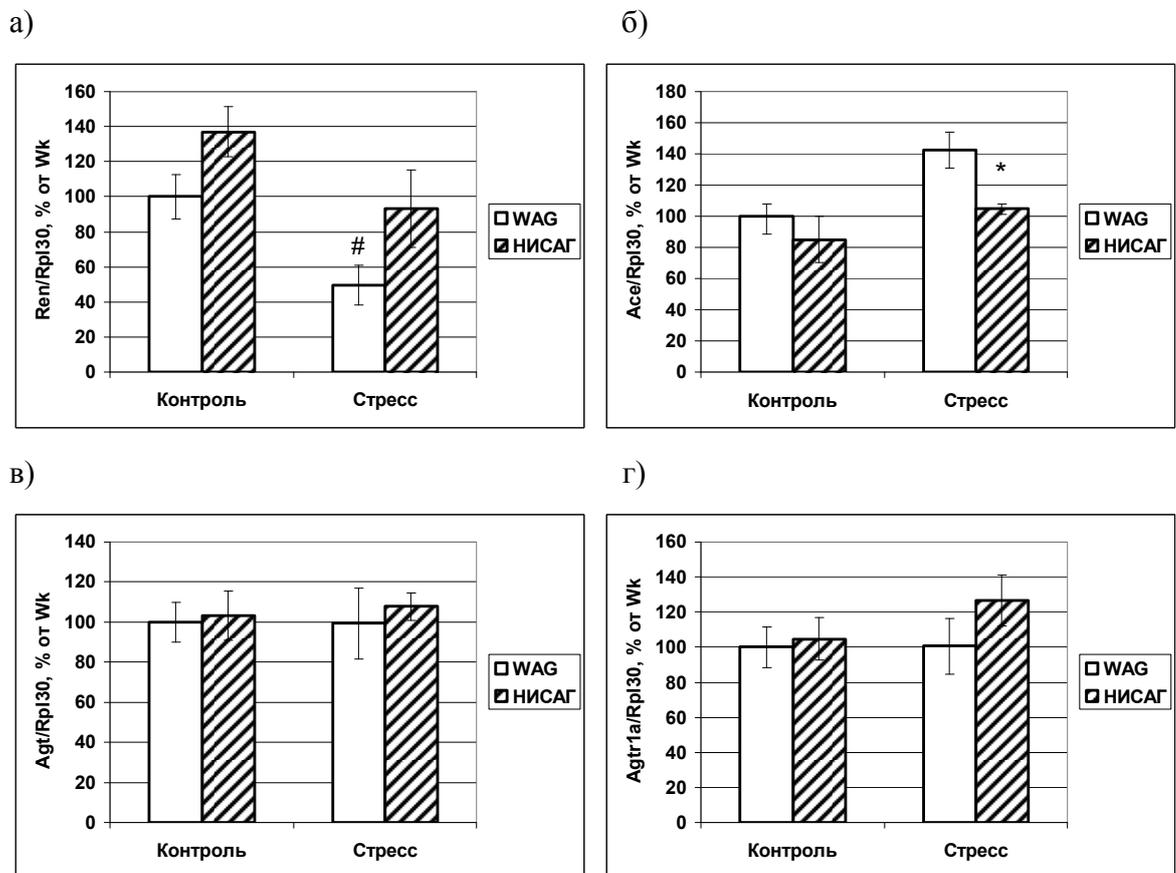


Рис. 3.9. Относительное содержание мРНК ренина (а), *Ace* (б), *Agt* (в), *Agtr1a* (г) в гипоталамусе крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при стрессе обезвоживания. # – достоверное различие между контролем и опытом ($p < 0,05$).

С помощью дисперсионного анализа, равно как и при помощи непараметрических тестов, не удалось выявить различий в уровнях мРНК *Agt* у крыс двух линий ни в состоянии покоя, ни при стрессе (Рис. 3.9, в). То же самое можно сказать и об относительном содержании мРНК *Agtr1a* (Рис. 3.9,г).

3.4.3.2.2. Уровень мРНК генов РАС в продолговатом мозге

Разница в уровнях мРНК *Ren* между крысами WAG и НИСАГ в возрасте 4 мес оказалась статистически недостоверной (Рис. 3.10). То же самое можно сказать об экспрессии генов *Ace* и *Agt*, а также рецепторов ангиотензина. Экспрессия гена *Ace2*, в отличие от гипоталамуса, в продолговатом мозге у крыс НИСАГ была снижена на 34 %.

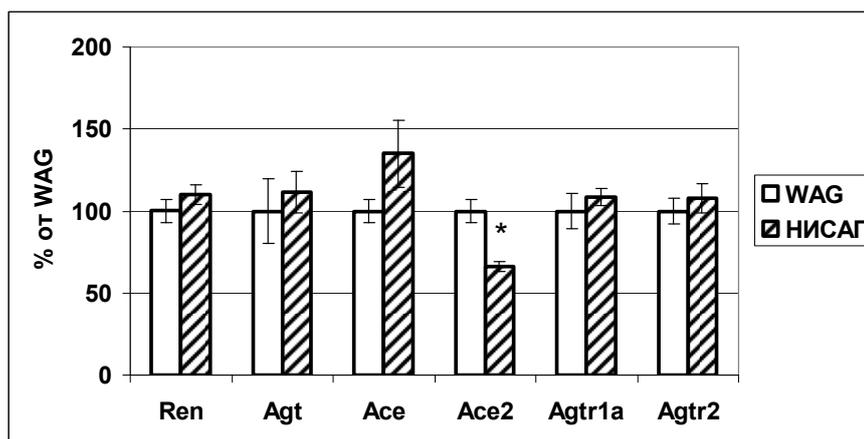


Рис. 3.10. Относительное содержание мРНК генов РАС в продолговатом мозге у крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев.

3.1.4. Экспрессия генов РАС в надпочечниках

3.1.4.1. Уровень мРНК генов РАС у молодых (1,5 мес) крыс

В надпочечниках молодых крыс мы выявили достаточный для полуколичественного определения уровень содержания мРНК генов *Agt*, *Ace2*, *Agtr1a* и *Agtr2*. При этом мы не обнаружили различий в экспрессии генов *Agt*, *Ace2* и *Agtr1a* у крыс НИСАГ и WAG (Рис. 3.11). Уровень мРНК *Agtr2* у крыс НИСАГ был снижен на 37 %.

Корреляций с уровнем АД в покое или при стрессе ни у молодых, ни у взрослых крыс обеих линий выявлено не было.

Анализ корреляции рангов Спирмена выявил положительную связь между уровнем мРНК *Agt* и *Agtr1a* ($R_s = 0,886$, $p = 0,019$) у молодых крыс WAG, хотя корреляция Пирсона составляет $R = 0,792$ ($p = 0,06$), то есть не достигает принятого уровня достоверности. Аналогична ситуация у этих крыс с отрицательной корреляцией экспрессии генов *Ace2* и *Agt* в надпочечнике: она достоверна только при анализе по Спирмену ($R_s = -0,829$, $p = 0,042$), однако анализ по Пирсону выявляет лишь тенденцию, но не достоверный результат ($R = -0,735$, $p = 0,096$). У крыс НИСАГ корреляции между экспрессией генов РАС в надпочечнике не обнаружено.

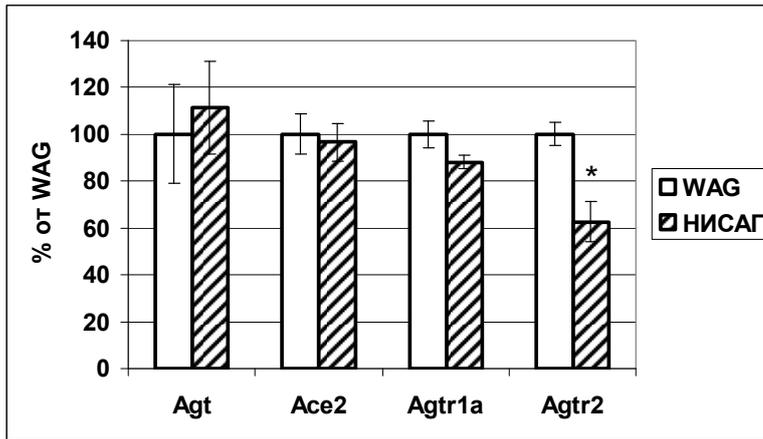


Рис. 3.11. Относительное содержание мРНК генов PAC в надпочечниках крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяца.

3.1.4.2. Уровень мРНК генов PAC у зрелых (4 мес) крыс в покое и при водной депривации

Ни по одному из исследуемых в надпочечниках генов PAC мы не наблюдали различий между взрослыми (4 мес) крысами двух линий в состоянии покоя. При этом, в отличие от молодых крыс, у взрослых животных экспрессия гена *Agt* в надпочечнике происходит на крайне низком (фоновом) уровне, что приводит к существенному разбросу индивидуальных показателей (Рис. 3.12).

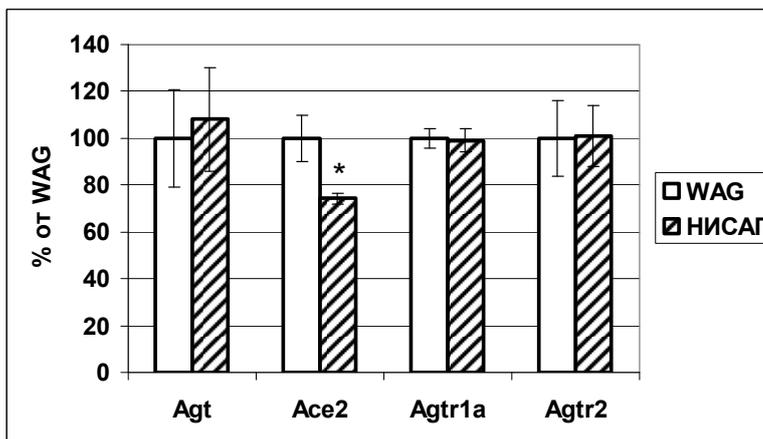


Рис. 3.12. Относительное содержание мРНК генов PAC в надпочечниках взрослых крыс линий WAG и НИСАГ.

Что касается экспрессии *Agtr1a* при стрессе, дисперсионный анализ не показал статистически достоверного влияния факторов генотипа ($F_{1,18} = 4,18$, $p = 0,056$) и стресса ($F_{1,18} = 3,91$, $p = 0,063$), а также взаимодействия этих факторов ($F_{1,18} = 3,83$, $p = 0,066$). Парные сравнения показали, что крысы WAG по уровню мРНК *Agtr1a* на фоне стресса отличались как

от крыс этой линии в состоянии покоя (на 29 %), так и от подвергнутых воздействию крыс НИСАГ (Рис. 3.13,а)). Однако непараметрические методы (тест Краскелла – Уоллиса и медианный тест) не выявили достоверности таких отличий.

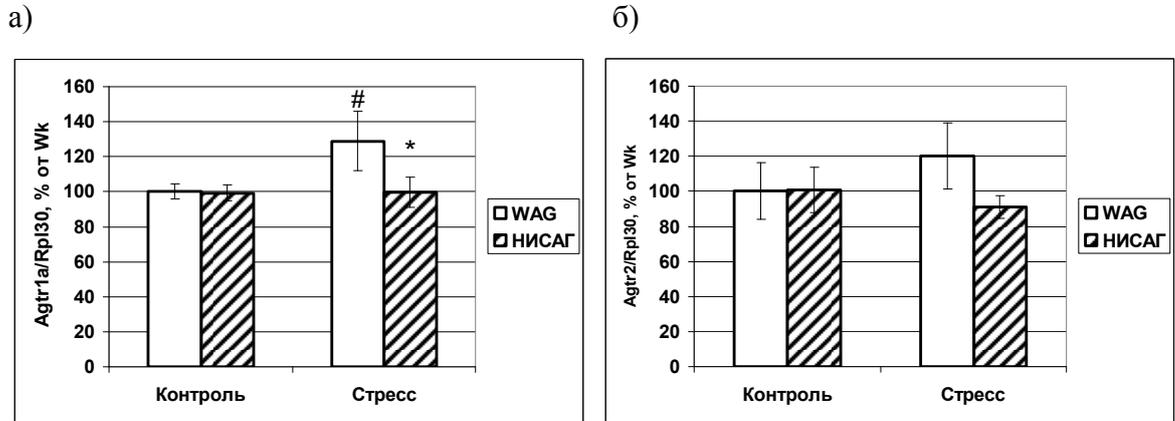


Рис. 3.13. Относительное содержание мРНК генов *Agtr1a* (а) и *Agtr2* (б) в надпочечнике крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при водной депривации. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$). # – различие между контролем и опытом ($p < 0,05$) (только по дисперсионному анализу ANOVA/MANOVA).

Уровень экспрессии гена *Agtr2* достоверно не отличался у крыс НИСАГ и WAG в этом возрасте ни в состоянии покоя, ни после стресса обезвоживания (Рис. 3.13,б).

3.1.5. Экспрессия гена *Ace* в легких

У молодых крыс не выявлено межлинейных различий в уровне мРНК *Ace* в легких (Рис. 3.14).

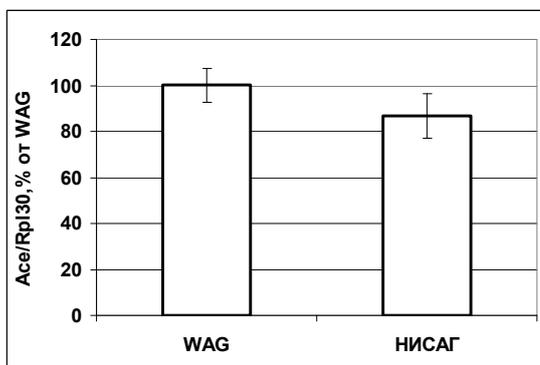


Рис. 3.14. Относительное содержание мРНК гена *Ace* в легких у крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяцев.

При этом как минимум на уровне тенденции наблюдали положительную корреляцию этого показателя у крыс WAG с абсолютной величиной АД при стрессе ($R = -0,737$, $p = 0,095$; R_s

= 0,794, $p = 0,059$), а также с приростом этого давления ($R = 0,798$, $p = 0,057$; $R_s = 0,829$, $p = 0,042$), чего не отмечалось у крыс НИСАГ.

У крыс WAG отмечена отрицательная корреляция уровня мРНК *Ace* в легких и в сердце ($R = 0,776$, $p = 0,070$; $R_s = -0,771$, $p = 0,072$). У крыс НИСАГ экспрессия *Ace* в легких положительно коррелировала с таковой в почках для *Cox-2* ($R = 0,911$, $p = 0,012$; $R_s = 0,829$, $p = 0,042$) и *Ren* ($R = 0,938$, $p = 0,006$; $R_s = 0,943$, $p = 0,005$), а в гипоталамусе – с *Agtr2* ($R = 0,904$, $p = 0,013$; $R_s = 0,943$, $p = 0,005$). Корреляция с экспрессией *Ace2* в гипоталамусе этих крыс была отрицательной ($R = -0,878$, $p = 0,021$; $R_s = 0,886$, $p = 0,019$). При этом корреляция экспрессии *Ace* в легких с *Ace2* в продолговатом мозге крыс НИСАГ, хотя и лишь на уровне тенденции, была положительной ($R = 0,746$, $p = 0,089$; $R_s = 0,771$, $p = 0,072$).

3.2. Экспрессия гена *Th* у крыс линий WAG и НИСАГ в состоянии покоя и стресса водной депривации

3.2.1. Уровень мРНК гена *Th* в надпочечниках

Ни в возрасте 1,5 месяцев, ни в 4 месяца мы не выявили достоверных отличий в экспрессии гена *Th* между двумя линиями животных (Рис. 3.15). Более того, графики получились практически одинаковыми (93% от уровня WAG в 1.5 мес и 94% в 4 мес).

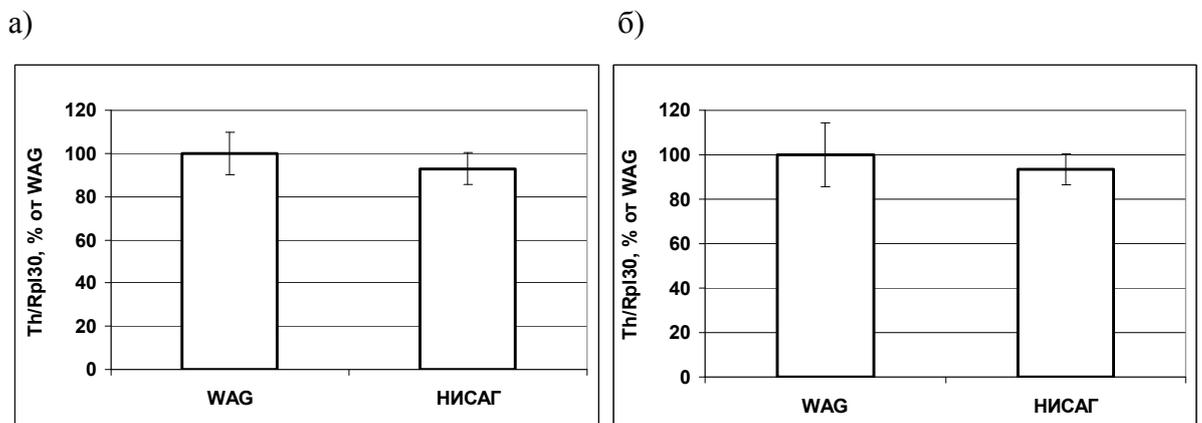


Рис. 3.15. Относительное содержание мРНК гена *Th* в надпочечниках крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяцев (а) и 4 месяцев (б).

При водной депривации также не наблюдали достоверных изменений в уровне мРНК гена *Th* в надпочечниках крыс WAG и НИСАГ (Рис. 3.16).

Ни у молодых, ни у взрослых крыс не выявлено корреляции между АД в покое или при стрессе и содержанием в надпочечнике мРНК *Th*.

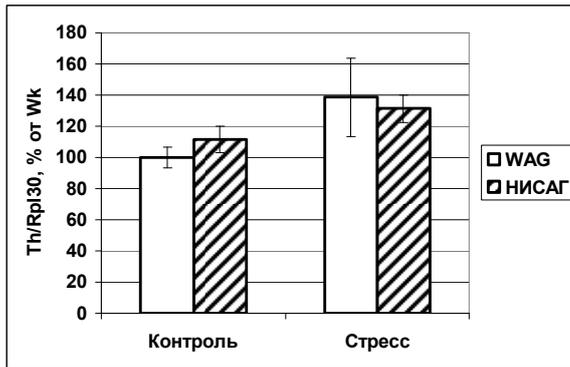


Рис. 3.16. Относительное содержание мРНК гена *Th* в надпочечниках крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в состоянии покоя и при водной депривации.

3.2.2. Уровень мРНК гена *Th* в мозговых структурах

Мы изучали уровень экспрессии гена *Th* в продолговатом мозге и гипоталамусе крыс WAG и НИСАГ двух возрастных групп в состоянии покоя, а также (в возрасте 4 мес.) при стрессе обезвоживания.

У 1,5-месячных крыс в продолговатом мозге отличие в содержании мРНК *Th* между линиями животных не достигало уровня достоверности (Рис. 3.17).

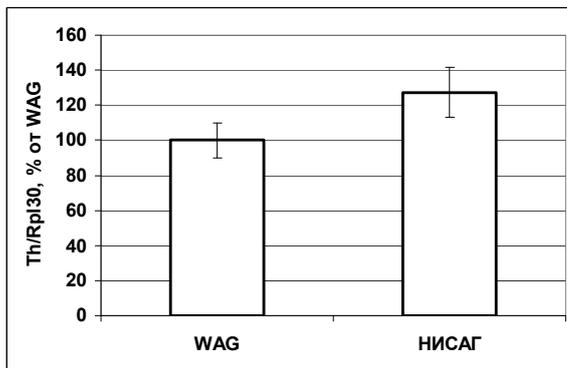


Рис. 3.17. Относительное содержание мРНК гена *Th* в продолговатом мозге крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяцев.

Однако в гипоталамусе молодых крыс НИСАГ уровень мРНК *Th* достоверно превышал таковой у крыс WAG почти втрое (Рис. 3.18).

Не было достоверной разницы и в уровне мРНК *Th* в среднем мозге крыс двух изучаемых линий (Рис. 3.19). Однако именно в среднем мозге молодых крыс WAG наблюдали, хотя и на уровне тенденции, корреляцию между этим показателем и АД при стрессе ($R = 0,737$, $p = 0,095$; $R_S = 0,736$, $p = 0,096$). Корреляция же с величиной прироста АД при стрессе хоть и оставалась за гранью статистической достоверности при анализе по Пирсону ($R = 0,788$, $p = 0,063$), но подтверждалась при анализе ранговых корреляций Спирмена ($R_S = 0,886$, $p = 0,019$).

У крыс НИСАГ такая связь отсутствовала. Ни в гипоталамусе, ни в продолговатом мозге у молодых крыс обеих линий также не найдено корреляций АД и экспрессии *Th*.

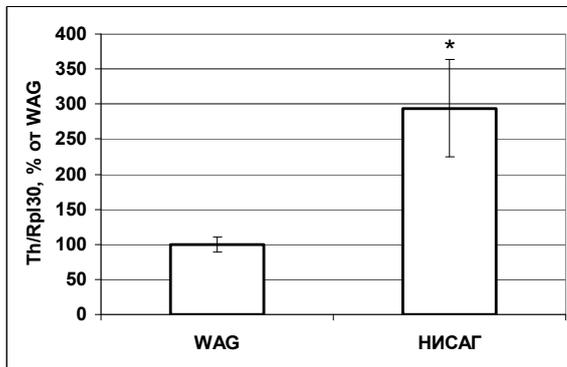


Рис. 3.18. Относительное содержание мРНК гена *Th* в гипоталамусе крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяцев. * – достоверная разница ($p < 0,05$).

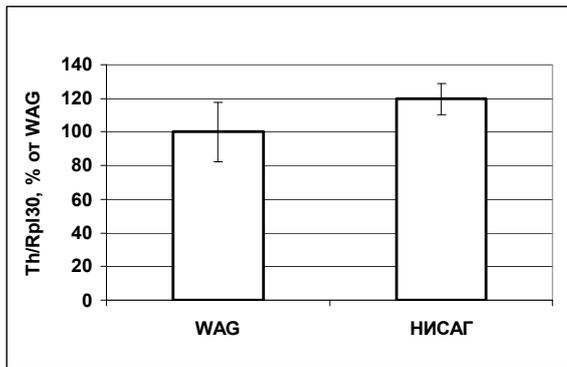


Рис. 3.19. Относительное содержание мРНК гена *Th* в среднем мозге крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 месяцев.

В возрасте 4 месяцев картина транскрипционной активности гена *Th* в мозге меняется: в продолговатом мозге (но не в гипоталамусе) крыс НИСАГ наблюдается двукратный рост уровня мРНК гена *Th* по сравнению с крысами WAG (Рис. 3.20).

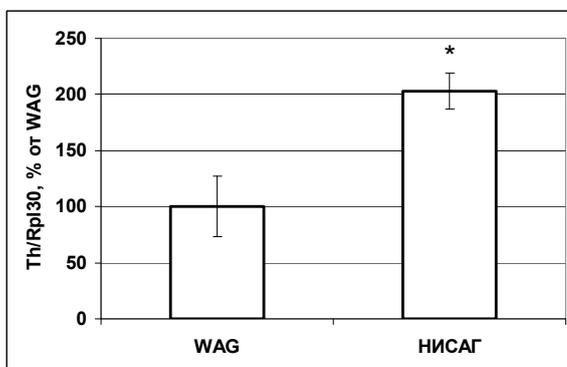


Рис. 3.20. Относительное содержание мРНК гена *Th* в продолговатом мозге крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев. * – достоверная разница ($p < 0,05$).

Вместе с тем, в гипоталамусе разница в уровнях экспрессии гена *Th* в состоянии покоя между линиями крыс к возрасту 4 мес становится незначительной (на 20%) и статистически недостоверной (Рис. 3.21). Однако 17-часовая водная депривация изменяет уровень содержания мРНК *Th* в гипоталамусе крыс НИСАГ в 3,4 раза, в то время как этот показатель у крыс WAG остается неизменным. На результат данного эксперимента влияли оба изучаемых фактора: генотип ($F_{1,11} = 12,60$, $p < 0,005$) и стресс ($F_{1,11} = 9,58$, $p < 0,05$), причем эти факторы взаимодействовали между собой ($F_{1,11} = 8,99$, $p < 0,05$), то есть крысы разных линий по-разному реагировали на водную депривацию.

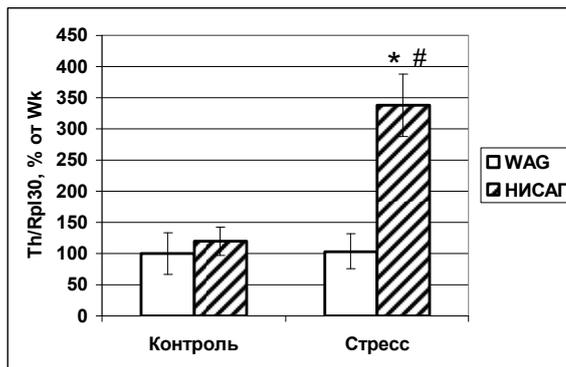


Рис. 3.21. Относительное содержание мРНК гена *Th* в гипоталамусе крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при стрессе обезвоживания. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,005$), # – различие между контролем и опытом ($p < 0,005$).

3.3. Экспрессия гена *Cox-2* у крыс линий WAG и НИСАГ в состоянии покоя и стресса водной депривации

3.3.1. Уровень мРНК гена *Cox-2* в почках

3.3.1.1. Уровень мРНК гена *Cox-2* в почках молодых крыс

В почках молодых крыс не было выявлено отличий в уровнях мРНК *Cox-2* (Рис. 3.22).

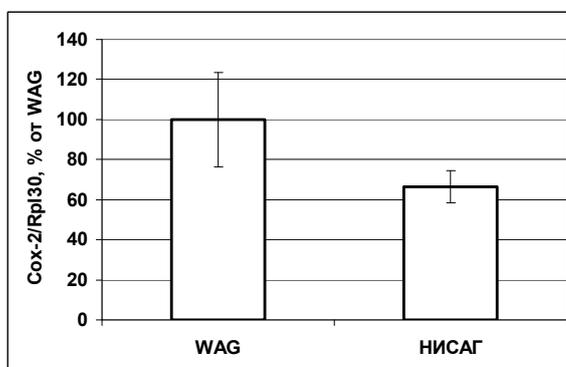


Рис. 3.22. Относительное содержание мРНК гена *Cox-2* в почках молодых крыс линий WAG и НИСАГ.

Корреляционный анализ как по Пирсону, так и по Спирмену указывает на положительную связь базального уровня АД у крыс WAG с экспрессией *Cox-2* ($R = 0,849$, $p = 0,033$; $R_s = 0,928$, $p = 0,008$). У крыс НИСАГ эта связь отсутствует.

3.3.1.2. Уровень мРНК гена *Cox-2* в почках взрослых крыс

Статистическая обработка результатов, полученных на зрелых крысах (4 мес) с помощью двухфакторного ANOVA анализа (рассматривая как независимые факторы «генотип» и «воздействие»), показала, что на экспрессию *Cox-2* влиял стресс ($F_{1,44} = 52,7875$, $p = 5 \cdot 10^{-9}$), и она зависела от генотипа ($F_{1,44} = 9,028$, $p = 0,004$). Плановые сравнения показали, что у крыс обеих линий этот показатель на стресс возрастал, но если у WAG – в 1,8 раза, то у НИСАГ в 3 раза. Кроме того, у интактных животных экспрессия также различалась – у крыс WAG она была вдвое выше (Рис. 3.23).

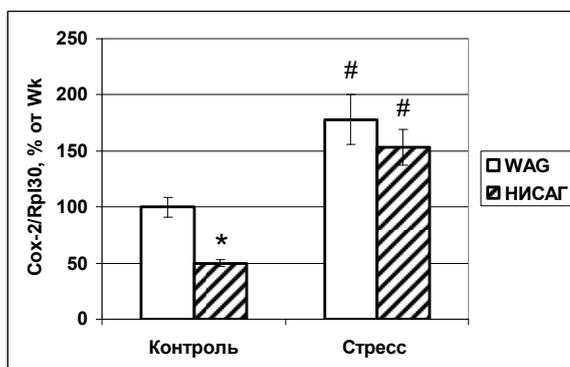


Рис. 3.23. Относительное содержание мРНК *Cox-2* в почках крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при водной депривации. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$), # – различие между контролем и опытом у WAG ($p < 0,05$); ## – различие между контролем и опытом у НИСАГ ($p < 0,0005$).

3.3.2. Уровень мРНК гена *Cox-2* в мозге

3.3.2.1. Уровень мРНК гена *Cox-2* в гипоталамусе

Уровень мРНК *Cox-2* в гипоталамусе у молодых крыс НИСАГ был повышен на 37 % по сравнению с крысами WAG (Рис. 3.24).

У крыс НИСАГ анализ указывает на отрицательную корреляцию между экспрессией *Cox-2* в гипоталамусе и величиной прироста АД при стрессе ($R = -0,938$, $p = 0,018$; $R_s = -0,900$, $p = 0,037$).

У зрелых крыс WAG и НИСАГ в гипоталамусе не выявлено отличий в содержании мРНК *Cox-2* ни в покое, ни при стрессе (Рис. 3.25).

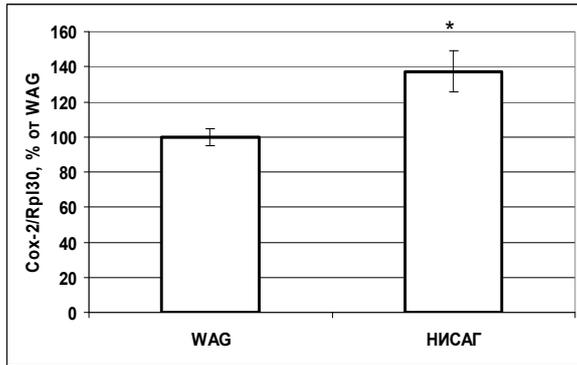


Рис. 3.24. Относительное содержание мРНК гена *Cox-2* в гипоталамусе молодых крыс линий WAG и НИСАГ. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

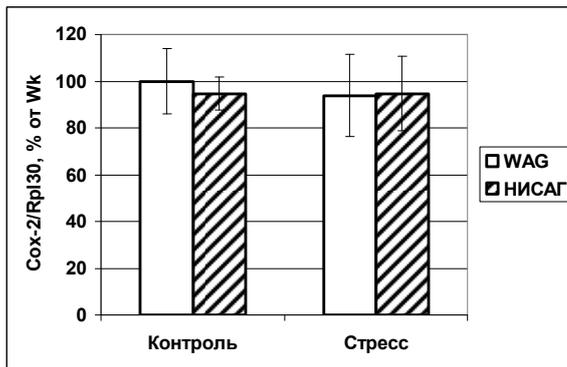


Рис. 3.25. Относительное содержание мРНК *Cox-2* в гипоталамусе крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при стрессе обезвоживания.

3.3.2.2. Уровень мРНК гена *Cox-2* в продолговатом мозге

В продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ относительный уровень мРНК *Cox-2* был повышен почти на 80 % по сравнению с крысами WAG (Рис. 3.26). У обеих линий крыс каких-либо корреляций с уровнями мРНК других генов в этом отделе мозга выявлено не было.

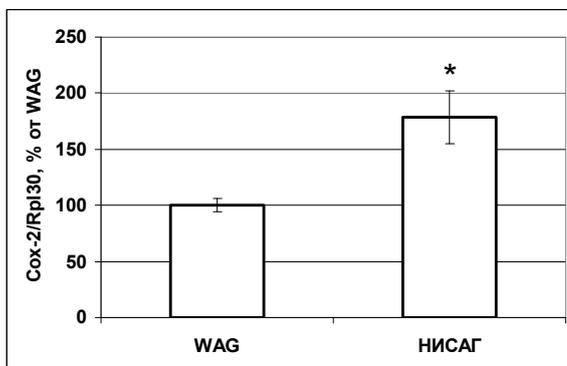


Рис. 3.26. Относительное содержание мРНК гена *Cox-2* в продолговатом мозге молодых крыс линий WAG и НИСАГ. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,01$).

У молодых крыс WAG, но не у НИСАГ, в продолговатом мозге отмечена отрицательная корреляция между экспрессией *Cox-2* и АД при стрессе ($R = -0,873$, $p = 0,023$; $R_S = -0,717$, $p =$

0,10), и более выраженная – с величиной прироста АД при стрессе ($R = -0,928$, $p = 0,008$; $R_s = -0,899$, $p = 0,015$).

У зрелых крыс WAG и НИСАГ в продолговатом мозге не наблюдалось различий в содержании мРНК *Cox-2* (Рис. 3.27).

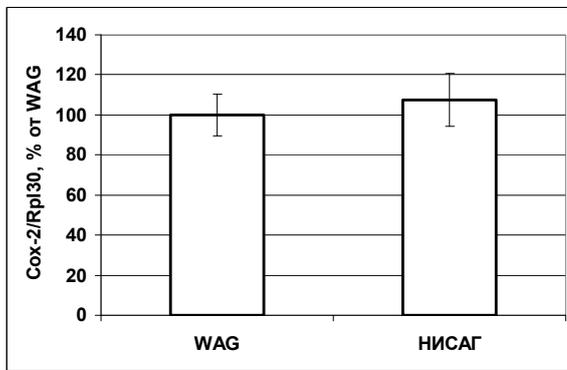


Рис. 3.27. Относительное содержание мРНК гена *Cox-2* в продолговатом мозге зрелых крыс линий WAG и НИСАГ.

3.3.3. Уровень мРНК гена *Cox-2* в надпочечниках

В надпочечниках молодых крыс НИСАГ уровень мРНК *Cox-2* по сравнению с крысами WAG оказался повышен в 2,3 раза (Рис. 3.28).

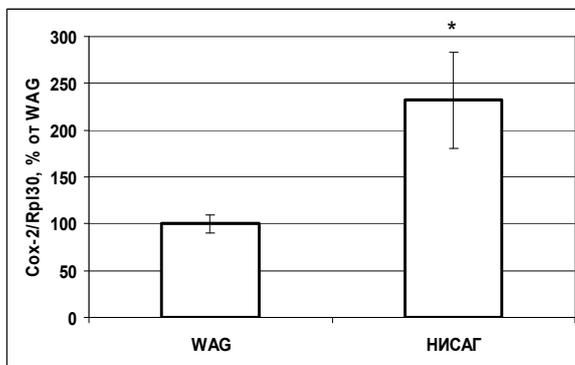


Рис. 3.28. Относительное содержание мРНК гена *Cox-2* в надпочечниках молодых крыс линий WAG и НИСАГ. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

Не выявлено корреляции между содержанием мРНК *Cox-2* и генов РАС в надпочечнике ни у одной из линий крыс. Анализ ранговых корреляций по Спирмену указывает на положительную связь экспрессии *Cox-2* у крыс НИСАГ и прироста АД при стрессе ($R_s = 0,900$, $p = 0,037$), но эти данные не подтверждаются анализом по Пирсону.

У взрослых крыс в покое разница в содержании мРНК *Cox-2* была значительно меньше и не являлась достоверной. Дисперсионный анализ выявил влияние на уровень мРНК *Cox-2* только фактора стресса ($F_{1,9} = 10,02$, $p = 0,011$). Парные сравнения показали, что возникающие

при стрессе изменения, т.е. почти двукратное снижение показателя, являются достоверными только у крыс НИСАГ (Рис. 3.29).

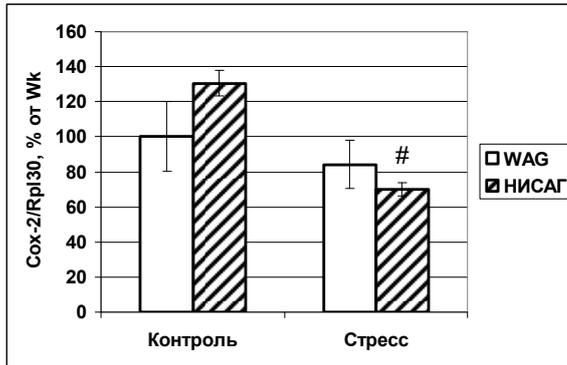


Рис. 3.29. Относительное содержание мРНК *Cox-2* в надпочечниках крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при стрессе обезвоживания. # – различие между контролем и опытом у НИСАГ ($p < 0,05$).

3.4. Поиск корреляций в экспрессии изучаемых генов у молодых крыс WAG и НИСАГ

3.4.1. Корреляции в уровнях мРНК одноименных генов в разных органах

Мы сравнивали относительное содержание мРНК изучаемых генов в разных органах молодых крыс. Корреляционный анализ Пирсона не выявил связи между экспрессией гена *Th* в надпочечниках, гипоталамусе и продолговатом мозге у крыс обеих линий. То же самое можно сказать об экспрессии *Cox-2* в почках, надпочечниках и обоих изучаемых отделах мозга, а также ренина – в почках и мозговых структурах.

Для гена *Ace* показана положительная корреляция ($R = 0,830$, $p = 0,041$) между содержанием его мРНК в миокарде и гипоталамусе у крыс WAG, но не у крыс НИСАГ. Кроме того, у нормотензивных крыс отмечена более слабая и отрицательная корреляция для экспрессии *Ace* в миокарде и легких ($R = -0,737$, $p = 0,095$), а у крыс НИСАГ – также слабая положительная корреляция для мРНК этого гена в легких и гипоталамусе ($R = 0,837$, $p = 0,077$). Анализ ранговых корреляций Спирмена показал сходные результаты только для крыс WAG: для мРНК *Ace* в миокарде и гипоталамусе у этих крыс $R_s = 0,771$, $p = 0,072$; в миокарде и легких также $R_s = -0,771$, $p = 0,072$, что хоть и не достигает статистически значимого уровня, но достаточно близко к нему; кроме того, коэффициент Спирмена для экспрессии *Ace* был статистически значим у крыс WAG для экспрессии *Ace* в легких и гипоталамусе ($R_s = -0,829$, $p = 0,042$), и у обеих линий – в миокарде и продолговатом мозге (причем разнонаправлен: для WAG $R_s = 0,886$, $p = 0,019$; для НИСАГ $R_s = -1,000$, $p = 0,000$), однако это не подтверждалось анализом по Пирсону.

Для гена *Ace2* у молодых крыс WAG показана отрицательная связь между его экспрессией в миокарде и гипоталамусе ($R = -0,819$, $p = 0,046$; $R_S = -0,886$, $p = 0,019$). У крыс НИСАГ более слабая связь между содержанием мРНК *Ace2* в гипоталамусе и продолговатом мозге ($R = -0,866$, $p = 0,058$) не подтверждается анализом по Спирмену ($p = 0,11$).

Для гена *Agt* показана положительная корреляция по Пирсону в надпочечниках и гипоталамусе у крыс НИСАГ ($R = 0,891$, $p = 0,042$), и анализ по Спирмену подтвердил статистическую значимость этой корреляции ($R_S = 0,900$, $p = 0,037$).

У молодых крыс WAG методом корреляционного анализа выявлена связь между экспрессией гена *Agtr1a* в почке и гипоталамусе ($R = 0,846$, $p = 0,034$; $R_S = 0,928$, $p = 0,008$). У крыс НИСАГ наблюдали отрицательную корреляцию между уровнями мРНК *Agtr1a* в почке и миокарде ($R = -0,939$, $p = 0,018$). Кроме того, отрицательная связь между экспрессией *Agtr1a* в гипоталамусе и продолговатом мозге имела место на уровне тенденции ($R = -0,846$, $p = 0,071$). Анализ ранговых корреляций не подтвердил статистической значимости связи между уровнем мРНК *Agtr1a* в почках и миокарде крыс НИСАГ ($R_S = -0,783$, $p = 0,066$), но подтвердил достоверность отрицательной корреляции экспрессии *Agtr1a* в мозговых структурах ($R_S = -0,900$, $p = 0,037$).

Методом Пирсона показана корреляция между экспрессией гена *Agtr2* в гипоталамусе и продолговатом мозге у молодых крыс НИСАГ: $R = 0,915$, $p = 0,030$, а также более слабая связь между уровнями мРНК *Agtr2* в гипоталамусе и надпочечниках крыс WAG: $R = 0,783$, $p = 0,065$. Однако анализ ранговых корреляций по Спирмену не подтвердил ни того, ни другого.

3.4.2. Корреляции в уровнях мРНК генов, относящихся к разным системам, внутри одного органа

Статистический анализ показал в почках молодых животных обеих линий высокий уровень положительной корреляции между экспрессией *Cox-2* и ренина: для WAG $R = 0,948$, $p = 0,004$; $R_S = 0,829$, $p = 0,042$; для НИСАГ $R = 0,940$, $p = 0,005$; $R_S = 0,943$, $p = 0,005$. Кроме того, корреляция была отрицательной в почках молодых крыс WAG – между *Cox-2* и *Ace* ($R = -0,930$, $p = 0,007$; $R_S = -0,886$, $p = 0,019$), а также *Cox-2* и *Agt* ($R = -0,945$, $p = 0,005$; $R_S = -0,943$, $p = 0,005$). Для крыс НИСАГ подобных корреляций выявлено не было даже на уровне тенденции.

В гипоталамусе молодых крыс WAG поиск корреляций привел к неоднозначным результатам: так, анализ по Пирсону указывает на связь между экспрессией *Th* и *Agtr1a* ($R = 0,889$, $p = 0,018$) и более слабую – между *Th* и *Ace* ($R = 0,767$, $p = 0,075$). Анализ Спирмена, однако, не подтверждает этих данных, но, в свою очередь, указывает на отрицательную связь между экспрессией *Th* и *Cox-2* ($R_S = -0,841$, $p = 0,036$) и менее достоверную – между *Th* и *Agt*

($R_s = -0,771$, $p = 0,072$). У крыс НИСАГ слабая связь между экспрессией в гипоталамусе *Th* и *Ren* ($R = 0,809$, $p = 0,097$) не подтверждается анализом по Спирмену.

В продолговатом мозге у молодых крыс WAG корреляция между экспрессией *Th* и *Ace2* генов, относящихся к разным физиологическим системам, не наблюдали. У крыс НИСАГ связь между экспрессией *Agtr2* и *Th* выявляется обоими способами расчетов: $R = 0,857$, $p = 0,029$, $R_s = 0,829$, $p = 0,042$. Слабая связь между экспрессией *Th* и *Agtr1a* выявляется только анализом по Спирмену ($R_s = 0,771$, $p = 0,072$) и, вероятно, является случайным совпадением.

В надпочечниках молодых крыс WAG оба метода корреляционного анализа указывают на достоверную отрицательную связь между экспрессией *Th* и *Agt* ($R = -0,940$, $p = 0,005$; $R_s = -0,943$, $p = 0,005$). Кроме того, анализ по Спирмену позволяет предположить у крыс этой линии, хоть и с меньшей достоверностью, отрицательную связь между *Th* и *Agtr1a*: $R_s = -0,771$, $p = 0,072$. У молодых крыс НИСАГ корреляций между генами, относящимися к разным системам, в надпочечниках не выявлено.

3.4.3. Корреляции в уровнях мРНК генов разных органов и систем

Для широкого поиска корреляций между экспрессией разных генов у молодых крыс WAG и НИСАГ были построены корреляционные матрицы, включающие в себя все рассмотренные выше гены, для каждой из линий экспериментальных животных. Результаты обработки данных приведены в Табл. 2 и 3 (стр.128 и 129).

Из приведенных в таблицах данных можно видеть, что у молодых крыс WAG экспрессия почечных генов связана преимущественно с уровнем мРНК генов в миокарде и гипоталамусе: так, содержание мРНК *Agt* положительно коррелирует с таковым для *Ace2* в миокарде ($R = 0,852$, $p = 0,031$; $R_s = 0,943$, $p = 0,005$) и отрицательно – с уровнем мРНК *Ace2* в гипоталамусе ($R = -0,737$, $p = 0,095$; $R_s = -0,771$, $p = 0,072$). Уровень мРНК *Ace* в почке отрицательно соотносится с экспрессией *Th* в гипоталамусе ($R = -0,841$, $p = 0,036$; $R_s = -0,829$, $p = 0,042$). Экспрессия *Agtr1a* в почке положительно коррелирует с уровнем мРНК этого же гена в гипоталамусе ($R = 0,846$, $p = 0,034$; $R_s = 0,928$, $p = 0,008$), а также с экспрессией *Cox-2* в продолговатом мозге ($R = 0,924$, $p = 0,008$; $R_s = 0,812$, $p = 0,0499$). Наконец, отмечена положительная связь между экспрессией *Cox-2* в почке и *Agt* – в гипоталамусе ($R = 0,789$, $p = 0,062$; $R_s = 0,771$, $p = 0,072$).

В отличие от крыс WAG, у НИСАГ с экспрессией генов PAC в сердце связан почечный ген *Agtr1a*: для него показана отрицательная корреляция с уровнями в миокарде мРНК этого же рецептора ($R = -0,836$, $p = 0,038$; $R_s = -0,783$, $p = 0,066$), а также *Ace* ($R = -0,877$, $p = 0,032$; $R_s = -0,986$, $p = 0,0003$). С экспрессией же *Ace* в продолговатом мозге его связывает столь же

сильная положительная корреляция ($R = 0,860$, $p = 0,028$; $R_S = 0,986$, $p = 0,0003$). Схожи между собой корреляции экспрессии таких генов в почке, как *Ren* и *Cox-2*, с одной стороны, и *Agt*, *Agtr2*, *Ace2* в гипоталамусе – с другой: связи положительны в первых двух случаях (для пары *Ren* в почке – *Agt* в гипоталамусе $R = 0,806$, $p = 0,10$; $R_S = 0,900$, $p = 0,037$; *Ren* в почке – *Agtr2* в гипоталамусе $R = 0,758$, $p = 0,081$; $R_S = 0,886$, $p = 0,019$; для пары *Cox-2* в почке – *Agt* в гипоталамусе $R = 0,795$, $p = 0,10$; $R_S = 1,000$, $p = 0,000$; *Cox-2* в почке – *Agtr2* в гипоталамусе $R = 0,826$, $p = 0,043$; $R_S = 0,771$, $p = 0,072$) и отрицательны – в третьем (для пары *Ren* в почке – *Ace2* в гипоталамусе $R = -0,792$, $p = 0,060$; $R_S = -0,943$, $p = 0,0048$; *Cox-2* в почке – *Ace2* в гипоталамусе $R = -0,884$, $p = 0,019$; $R_S = -0,829$, $p = 0,042$). Сходна и положительная корреляция экспрессии этих двух почечных генов и *Ace* в легких (для пары *Ren* в почке – *Ace* в легких $R = 0,938$, $p = 0,006$; $R_S = 0,943$, $p = 0,0048$; *Cox-2* в почке – *Ace* в легких $R = 0,911$, $p = 0,012$; $R_S = 0,829$, $p = 0,042$). Но есть и различие: для *Cox-2* почки достоверна связь с экспрессией *Ace2* в продолговатом мозге ($R = 0,854$, $p = 0,031$; $R_S = 0,943$, $p = 0,0048$), а для *Ren* – с *Agt* в надпочечнике ($R = 0,887$, $p = 0,045$; $R_S = 0,800$, $p = 0,10$), в то время как «парные» корреляции не достигают степени достоверности. Для содержания мРНК *Agt* в почке выявлена положительная связь с экспрессией *Cox-2* в продолговатом мозге ($R = 0,812$, $p = 0,050$; $R_S = 0,886$, $p = 0,019$), для *Ace* почки – с *Cox-2* в надпочечнике ($R = 0,856$, $p = 0,065$; $R_S = 0,900$, $p = 0,037$). Наконец, уровень мРНК *Ace* в почке отрицательно коррелирует с таковым для *Cox-2* в гипоталамусе ($R = -0,920$, $p = 0,027$; $R_S = -0,900$, $p = 0,037$).

В миокарде молодых крыс WAG экспрессия ангиотензин-превращающих ферментов преимущественно коррелирует с экспрессией некоторых генов в гипоталамусе: так, для *Ace* выявлена положительная связь уровней ее мРНК в этих двух органах ($R = 0,830$, $p = 0,041$; $R_S = 0,771$, $p = 0,072$), тогда как связь экспрессии *Ace2* в миокарде и гипоталамусе является отрицательной ($R = -0,819$, $p = 0,046$; $R_S = -0,886$, $p = 0,019$), как и корреляция уровней мРНК *Ace2* в миокарде и *Agt* в гипоталамусе ($R = -0,825$, $p = 0,043$; $R_S = -0,771$, $p = 0,072$). Отрицательна и менее достоверная корреляция экспрессии *Ace* в миокарде и легких ($R = -0,737$, $p = 0,095$; $R_S = -0,771$, $p = 0,072$). Экспрессия гена *Agtr1a* в миокарде молодых крыс положительно коррелирует с экспрессией сразу нескольких генов в продолговатом мозге: *Ace* ($R = 0,782$, $p = 0,066$; $R_S = 0,886$, $p = 0,019$), *Agtr2* ($R = 0,827$, $p = 0,042$; $R_S = 0,771$, $p = 0,072$) и *Th* ($R = 0,819$, $p = 0,046$; $R_S = 0,886$, $p = 0,019$).

В миокарде молодых крыс НИСАГ картина иная: уровень мРНК *Agtr1a* находится в обратной связи не только с содержанием мРНК *Agt* в продолговатом мозге ($R = -0,743$, $p = 0,090$; $R_S = -0,886$, $p = 0,019$), но и *Ace* в гипоталамусе ($R = -0,818$, $p = 0,091$; $R_S = -0,900$, $p = 0,037$). Экспрессия же *Ace* положительно коррелирует с экспрессией *Agtr1a* в надпочечнике ($R = 0,883$, $p = 0,047$; $R_S = 0,800$, $p = 0,10$).

В гипоталамусе крыс WAG с экспрессией генов в продолговатом мозге коррелирует экспрессия рецептора *Agtr2* (положительная, с *Ace*; $R = 0,840$, $p = 0,036$; $R_S = 0,771$, $p = 0,072$) и *Th* (отрицательная, с *Agtr1a*; $R = -0,837$, $p = 0,038$; $R_S = -0,829$, $p = 0,042$). Кроме того, в гипоталамусе отмечена отрицательная корреляция с экспрессией генов в надпочечнике для *Ren* (с *Agt*: $R = -0,837$, $p = 0,038$; $R_S = -0,886$, $p = 0,019$) и для *Ace2* (с *Agtr1a*: $R = -0,793$, $p = 0,06$; $R_S = -0,886$, $p = 0,019$), а также положительная – для *Agt* (с *Th* надпочечника: $R = 0,876$, $p = 0,022$; $R_S = 0,886$, $p = 0,019$).

У крыс НИСАГ экспрессия генов в гипоталамусе чаще выглядит связанной с экспрессией в продолговатом мозге, и связи эти иные, чем у крыс WAG. Так, для *Agtr2* отмечена положительная корреляция с экспрессией в продолговатом мозге с *Ace2* ($R = 0,884$, $p = 0,047$; $R_S = 0,829$, $p = 0,042$) и отрицательная – с *Ren* в этом же отделе мозга ($R = -0,870$, $p = 0,055$; $R_S = -0,812$, $p = 0,0499$). Отмечена отрицательная корреляция между уровнями мРНК *Agtr1a* в гипоталамусе и продолговатом мозге ($R = -0,846$, $p = 0,071$; $R_S = -0,900$, $p = 0,037$). Уровень мРНК *Ace* в гипоталамусе сильно и положительно связан с уровнем мРНК *Agt* в продолговатом мозге ($R = 0,971$, $p = 0,006$; $R_S = 1,000$, $p = 0,000$). Кроме того, отмечены отрицательные корреляции экспрессии *Ace* и *Agtr2* гипоталамуса НИСАГ с уровнем мРНК *Th* в надпочечнике (для *Ace* $R = -0,985$, $p = 0,002$; $R_S = -0,900$, $p = 0,037$; для *Agtr2* $R = -0,945$, $p = 0,015$; $R_S = -0,900$, $p = 0,037$). Наконец, экспрессия *Agtr2* гипоталамуса положительно коррелировала с экспрессией *Ace* в легких ($R = 0,972$, $p = 0,006$; $R_S = 0,943$, $p = 0,005$), тогда как для *Ace2* гипоталамуса связь с уровнем мРНК *Ace* в легких была отрицательной ($R = -0,879$, $p = 0,050$; $R_S = -0,886$, $p = 0,019$).

Экспрессия изучаемых генов в продолговатом мозге крыс WAG слабо коррелировала с уровнями мРНК этих генов в надпочечнике. Так, наблюдали положительную корреляцию *Ace2* в продолговатом мозге с уровнем мРНК *Agtr2* в надпочечнике ($R = 0,741$, $p = 0,092$; $R_S = 0,827$, $p = 0,042$), а также более слабую и отрицательную корреляцию уровней мРНК *Ren* в продолговатом мозге и *Th* надпочечника ($R = -0,743$, $p = 0,091$; $R_S = -0,771$, $p = 0,072$). Отмечена и отрицательная корреляция между экспрессией *Cox-2* в продолговатом и *Th* – в среднем мозге ($R = -0,767$, $p = 0,075$; $R_S = -0,928$, $p = 0,008$).

У крыс НИСАГ корреляций между экспрессией изучаемых генов в продолговатом мозге и надпочечниках заметно больше, хотя не все из них достигают уровня статистической достоверности. Так, обоими методами расчетов подтверждается положительная связь между уровнями мРНК *Th* в продолговатом мозге и *Agt* в надпочечнике ($R = 0,963$, $p = 0,009$; $R_S = 1,000$, $p = 0,000$), *Agtr1a* в продолговатом мозге и *Ace2* в надпочечнике ($R = 0,848$, $p = 0,070$; $R_S = 0,800$, $p = 0,10$). Обратным соотношением связаны с экспрессией *Th* в надпочечнике уровни мРНК *Agt* ($R = -0,944$, $p = 0,016$; $R_S = -0,900$, $p = 0,037$) и *Agtr2* ($R = -0,825$, $p = 0,086$; $R_S = -$

0,800, $p = 0,10$) в продолговатом мозге. Положительно коррелирует экспрессия *Ace2* в продолговатом мозге с таковой *Ace* в легких ($R = 0,746$, $p = 0,089$; $R_s = 0,771$, $p = 0,072$). Наконец, корреляция экспрессии *Ace* в легких крыс НИСАГ с экспрессией *Th* в надпочечнике оказалась отрицательной ($R = -0,868$, $p = 0,057$; $R_s = -0,900$, $p = 0,037$).

3.5. Секвенирование кодирующего сигнальный пептид фрагмента гена *Ngfr* крыс линий НИСАГ и WAG

С целью выявления мутации, аналогичной имеющейся у крыс линии SHR и ассоциированной с гипертензивным статусом этих животных, у крыс линий НИСАГ и WAG мы секвенировали фрагмент 5'-области гена *Ngfr* размером 345 п.н., который включает последовательность, кодирующую сигнальный пептид предшественника рецептора. На Рис. 3.30 приведена определенная нами нуклеотидная последовательность. Для сравнения приведена нуклеотидная последовательность этой же области гена у крыс SHR и Wistar (Nemoto, 1994; Nemoto, 1996).

```

НИСАГ 1 ATGAGGAGGGCAGGTGCTGCCTGCAGCGCCATGGACCGGCTGCGCCTGCTGCTGCTGCTGATTCTAGGG 69
      |
WAG    1 ATGAGGAGGGCAGGTGCTGCCTGCAGCGCCATGGACCGGCTGCGCCTGCTGCTGCTGCTGATTCTAGGG 69
      |
SHR    1 ATGAGGAGGGCAGGTGCTGCCTGCAGCACCATGGACCGGCTGCGCCTGCTGCTGCTGCTGATTCTAGGG 69
      |
Wistar 1 ATGAGGAGGGCAGGTGCTGCCTGCAGCGCCATGGACCGGCTGCGCCTGCTGCTGCTGCTGATTCTAGGG 69

```

Рис. 3.30. Нуклеотидная последовательность транскрибируемой части амплифицированного фрагмента, кодирующая сигнальный пептид LNGFR, крыс линий НИСАГ, WAG, SHR и Wistar. Жирным выделен нуклеотид 28, замещенный на аденин у крыс SHR. Данные по линиям SHR и Wistar приведены по (Nemoto, 1994; Nemoto, 1996).

Показано, что у нормотензивной линии WAG и у гипертензивной линии НИСАГ секвенированная последовательность одинакова, совпадает с таковой для Wistar и не содержит мутации, свойственной линии крыс со спонтанной гипертензией SHR.

ГЛАВА 4. Обсуждение результатов

4.1. Экспрессия генов ренин-ангиотензиновой системы и *Cox-2* у крыс линии НИСАГ

Мы изучали возрастную динамику экспрессии генов локальных РАС, а также гена, кодирующего ключевой фермент синтеза простагландинов СОХ-2, и влияние на уровень мРНК этих генов относительно непродолжительной (17 часов) водной депривации.

4.1.1. Экспрессия генов РАС в почке

Изучение экспрессии генов РАС, связанных с развитием гипертонии, в почках молодых (1,5 мес) крыс гипертензивной линии НИСАГ методом полуколичественной ПЦР в реальном времени выявило у них достоверно пониженное содержание мРНК генов *Ace* (вдвое) и *Agtr1a* (на 33%) по сравнению с нормотензивным контролем. Экспрессия гена *Agt* в почках молодых крыс двух линий не различалась (Рис. 4.1). Снижение уровня мРНК *Cox-2* у крыс НИСАГ не достигало уровня достоверности.

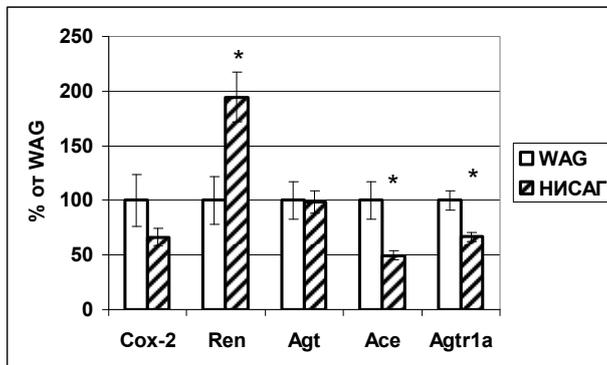


Рис. 4.1. Уровень мРНК генов РАС и *Cox-2* в почках молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG (содержание мРНК у крыс WAG для всех генов принято за 100%). Данные представлены в виде средних значений по группе \pm SEM. * – достоверное отличие от WAG ($p < 0,05$).

Вместе с тем, мы впервые выявили в почках молодых крыс линии НИСАГ почти двукратное превышение содержания мРНК гена фермента ренина (*Ren*), лимитирующего скорость образования Ang II в почках, по сравнению с нормотензивными крысами линии WAG (Рис. 4.1). Этот факт чрезвычайно важен в свете представлений о том, что именно почка является основным источником ренина в циркуляционном русле, и позволяет говорить об активации РАС у молодых крыс НИСАГ. Полученные данные хорошо согласуются с теорией двухфазного формирования гипертонии (Johnson et al., 2005; Johnson et al., 2008). Во время

первой фазы, которая инициируется эпизодами почечной вазоконстрикции, гипертония соль-резистентна и ренин-зависима. Вазоконстрикция в почках, в свою очередь, может индуцироваться гиперактивностью СНС, вызванной стрессом или генетическими причинами (Julius, 1996; Mancía, 1997), или генетическими изменениями в РАС, приводящими к росту циркулирующего Ang II (Jeunemaitre et al., 1999). Литературные данные также подтверждают, что ранняя гипертония ассоциирована с повышенным уровнем ренина плазмы и гиперактивной СНС (Julius & Nesbitt, 1996).

Поиск связи экспрессии генов ренальной РАС с артериальным давлением выявил у молодых крыс WAG отрицательную корреляцию базального давления с экспрессией гена *Agt*. Вероятно, некоторое повышение уровня внутрпочечного *Agt*, а впоследствии и Ang II, может быть призвано компенсировать сниженные почечный кровоток и скорость фильтрации при недостаточном системном АД. Кроме того, у этих крыс выявлена отрицательная связь экспрессии гена *Agtr1a* как с абсолютным значением АД при стрессе, так и с величиной его прироста. Следует уточнить, что уровень мРНК измеряли у крыс в состоянии покоя, поэтому речь идет скорее о корреляции со способностью к повышению АД при стрессе. Столь парадоксальный факт, как обратная связь между количеством мРНК генов рецепторов Ang II и способностью повышать АД при стрессе, возможно, объясняется особенностями посттранскрипционной регуляции этих рецепторов и наличием петли отрицательной обратной связи. У молодых крыс НИСАГ такой корреляции не выявили, однако у этих животных наблюдали положительную корреляцию базальной экспрессии гена *Ace* с приростом АД при эмоциональном стрессе. Исходя из того факта, что средний уровень экспрессии *Ace* в почках у крыс НИСАГ понижен, можно предположить, что такое снижение носит уже у молодых крыс компенсаторный характер, тогда как уровень артериального давления определяется другими причинами. Положительную корреляцию базального АД у крыс WAG с экспрессией *Cox-2* можно объяснить тем, что оба параметра зависят от уровня Ang II в циркуляции. У крыс НИСАГ на эту зависимость, по-видимому, влияют дополнительные факторы.

У молодых крыс НИСАГ по сравнению с WAG мы показали уменьшение содержания мРНК *Ace* и *Agtr1a*, что могло бы свидетельствовать о согласованной регуляции компонентов РАС в почке. Вместе с тем, поиск корреляций между экспрессией генов РАС, а также *Cox-2*, в почках молодых крыс WAG и НИСАГ выявил существенную разницу между линиями животных: если у крыс WAG наблюдается положительная корреляция между уровнями мРНК *Ren* и *Cox-2*, а также отрицательная – между мРНК этих генов, с одной стороны, и мРНК *Ace* и *Agt*, с другой, то у крыс НИСАГ сохраняется лишь положительная связь между экспрессией *Cox-2* и *Ren*. Поскольку корреляция не обязательно означает причинно-следственную связь, данное наблюдение может указывать на общий фактор, односторонне влияющий на

экспрессию этих двух генов (например, уровень Ang II в циркуляции). Повышение экспрессии ренина в почке, наблюдаемое у крыс НИСАГ в этом возрасте, по-видимому, регулируется независимо от других компонентов почечной РАС, поскольку их экспрессия снижена либо не отличается от контрольной. Вероятно, таким регулятором является повышенная симпатическая нервная активность.

Интересно, что только у крыс НИСАГ экспрессия ренина в почке коррелировала с уровнем мРНК *Ace* в легких, отражающим уровень экспрессии ACE в циркуляторном русле. Возможно, повышенное содержание в крови Ang I вследствие увеличенной почти вдвое экспрессии ренина может стимулировать рост экспрессии ACE в сосудистом русле, хотя и не достаточно для выявления этого роста нашими методами: как видно из сравнения уровней мРНК генов РАС в почках молодых и зрелых животных, в возрасте 1,5 мес изменение уровня экспрессии генов РАС у гипертензивных крыс по сравнению с контрольной линией еще не вполне сформировалось и не достигло уровня, наблюдаемого у взрослых животных. Поэтому вероятно, что поиск корреляций между экспрессией генов в почке у зрелых крыс может привести к более предсказуемым результатам.

Только у крыс НИСАГ, но не WAG, отмечена положительная корреляция между уровнями мРНК *Ren* и *Cox-2* в почке, с одной стороны, и таковым для *Agt* как в обеих изучаемых структурах мозга (гипоталамусе и продолговатом мозге), так и в надпочечниках, хотя и не везде она достигает статистически достоверного уровня. У крыс Wag из всего вышеперечисленного достоверно отмечали только положительную корреляцию в экспрессии *Cox-2* почки и *Agt* в гипоталамусе. Положительной была и связь экспрессии *Ren* и *Cox-2* в почке НИСАГ с уровнем мРНК *Agtr2* в обоих отделах мозга (с большей вероятностью в гипоталамусе, где его экспрессия повышена). Такая корреляция указывает на согласованное функционирование локальных тканевых РАС. Вместе с тем, корреляции экспрессии этих почечных генов с уровнем мРНК *Ace2* в отделах мозга крыс НИСАГ оказались разнонаправленными: положительные в продолговатом мозге и отрицательные – в гипоталамусе (где уровень мРНК *Ace2* снижен), что может отражать различные роли *Ace2* в этих отделах мозга.

У крыс WAG, в отличие от НИСАГ, выявляется, хотя и не всегда достигая уровня достоверности, корреляция экспрессии почечных генов с уровнем мРНК *Th* в гипоталамусе: положительная – с *Ren* и *Cox-2* и отрицательная – с *Agt* и *Ace*. Это еще раз указывает на тесную взаимосвязь между СНС и РАС почки, а также на изменения в этой связи у крыс НИСАГ уже в молодом возрасте. Наконец, у этих же животных отмечена положительная корреляция уровней мРНК *Agtr1a* в почке и гипоталамусе.

В почке зрелых (4 мес) крыс линии НИСАГ уровень экспрессии мРНК генов PAC (*Ren*, *Ace*, *Agtr1a*) в покое достоверно понижен по сравнению с крысами нормотензивной линии WAG. Исключением, как и у молодых животных, являлся только ген *Agt*, экспрессия которого не отличалась у крыс линий WAG и НИСАГ (Рис. 4.2). В почках крыс обеих линий стресс водной депривации за 17 часов фактически не приводил к изменениям экспрессии изучаемых генов PAC (Рис. 3.2).

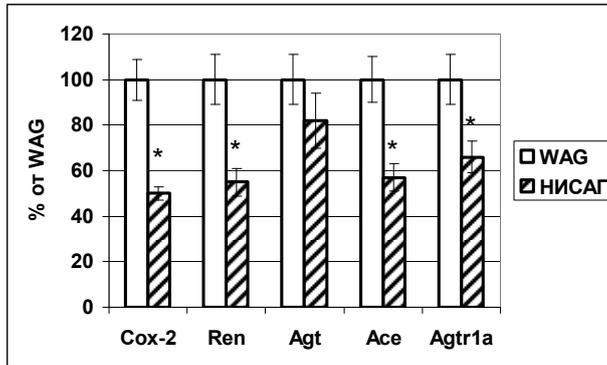


Рис. 4.2. Уровень мРНК генов PAC и *Cox-2* в почках взрослых (4 мес) крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG (содержание мРНК у крыс WAG для всех генов принято за 100%). Данные представлены в виде средних значений по группе \pm SEM. * – достоверное отличие от WAG ($p < 0,05$).

Полученные на взрослых животных результаты свидетельствуют об уменьшении базальной активности PAC в почке у гипертензивных крыс линии НИСАГ, что, очевидно, надо рассматривать в контексте представлений о низкорениновой форме артериальной гипертензии. Низкорениновая гипертензия составляет примерно треть случаев гипертонической болезни человека. Она характеризуется, помимо снижения активности ренина, некоторыми специфическими особенностями, такими как повышение чувствительности АД к соли, увеличением объема внеклеточной жидкости, в том числе плазмы крови, и накоплением в организме натрия. Кроме того, низкорениновая соль-чувствительная гипертензия связана со сниженным уровнем синтеза NO и с дефектом зависимой от эндотелия вазодилатации (Duffy et al., 2005; Yugar-Toledo et al., 2005), подтверждая тем самым, что нарушения системы NO также включены в развитие гипертензии.

В литературе описано несколько моделей низкорениновой формы гипертензии. К ним относятся гипертензивные крысы линии Lyon (LH), у которых уровень ренина и проренина как в плазме, так и в почке значительно ниже по сравнению с контролем. Экскреция альдостерона у них также заметно снижена. Помимо низкого базового значения, синтез ренина в почке у крыс LH слабо реагирует на такие физиологические стимулы, как снижение почечного перфузионного давления и β -адренергическую стимуляцию. Наконец, как это часто

наблюдается у пациентов с низкорениновой формой АГ, крысы LH оказались соль-чувствительными (Sassard et al., 2003).

Низким уровнем ренина характеризуется и другая соль-чувствительная линия – крысы Dahl SS (DS). Не только активность ренина плазмы, но и концентрация альдостерона плазмы значительно понижены у крыс DS, находившихся на высокосолевого диете с возраста 7 недель, хотя уровень кортикостерона плазмы не отличался от контроля (Nagata et al., 2006a). Исследования на крысах DS показали, что, как и у человека, низкорениновая соль-чувствительная гипертония – это специфическое состояние, которое характеризуется пониженной биодоступностью NO, что проявляется в нарушении NO-зависимой сосудистой релаксации и повышении чувствительности сосудов к действию Ang II. Блокада рецептора AT1 нормализовала состояние таких подопытных животных (Zhou et al., 2006).

Несмотря на некоторую противоречивость литературных данных, большинство исследователей, работающих с крысами SHR, также относят их к нормо- или низкорениновой форме гипертонии (Nakamura, Johns, 1995). Однако в раннем возрасте у этих крыс отмечен период, когда активность ренина в плазме повышена (Gomez et al., 1988). Поскольку аналогичный ранний всплеск активности PAC наблюдался и у крыс LH, и в наших экспериментах на крысах НИСАГ, то можно полагать, что повышение функциональной активности рениновой системы почки в раннем онтогенезе является необходимым этапом формирования гипертензивного статуса, после чего артериальное давление может поддерживаться на высоком уровне и без увеличенной продукции ренина почкой. По мере взросления и формирования гипертензивного статуса происходит понижение активности почечного ренина, причем у крыс SHR это зафиксировано как на уровне транскрипции ренинового гена, так и при измерении активности фермента (Samani et al., 1989; Nakamura, Johns, 1995). В периоде высокой экспрессии ренина короткая блокада PAC у крысят SHR индуцирует снижение кровяного давления, которое остается заметным в течение нескольких недель после снятия блокады (Narpar et al., 1990). Очевидно, такое же состояние характерно и для крыс линии НИСАГ, так как было показано, что блокада PAC в раннем онтогенезе крыс этой линии сопровождается последующей задержкой формирования гипертензивного состояния и менее выраженным повышением артериального давления по мере взросления крыс (Филюшина и др., 2007; Коростышевская и др., 2007).

Проведенные ранее исследования линии крыс НИСАГ показали, что активность ренина и уровень альдостерона плазмы не превышают соответствующие показатели у нормотензивной линии крыс WAG (Amstislavsky et al., 2005; Черкасова, Федоров, 2006). Был показан и сниженный уровень экспрессии NO-синтазы (NOS)1 в почке (Amstislavsky et al., 2005). Приведенные данные, несомненно, позволяют отнести линию крыс НИСАГ к группе моделей

низкорениновой формы гипертонии. Данные Е.В.Антонова о достоверном повышении концентрации натрия в плазме крови крыс НИСАГ и значительно большем росте концентрации натрия в соединительной ткани, которая является естественным депо натрия в организме, также свидетельствуют в пользу наличия классической картины низкорениновой гипертонии у этих крыс (Fedoseeva et al., 2011).

Известно, что между рениновой системой почки и уровнем натрия в организме существуют реципрокные отношения: с одной стороны, ренин-альдостероновая система призвана задерживать натрий, с другой стороны, задержка натрия приводит к угнетению почечной рениновой системы, что мы и наблюдаем. Однако в таком случае к задержке натрия должны приводить другие причины. В литературе описаны некоторые формы артериальной гипертонии, которые сопровождаются накоплением натрия на фоне снижения функции рениновой системы почки. В частности, это – так называемый синдром «кажущегося избытка минералокортикоидов» (apparent mineralocorticoid excess) (Wilson et al., 1998). Синдром развивается по причине ослабления функции 11β -гидростероид дегидрогеназы (11β -HSD2), фермента, который у человека переводит кортизол в кортизон, а у крыс – кортикостерон в 11 -дегидрокортикостерон, и тем самым защищает минералокортикоидные рецепторы от избыточной стимуляции глюкокортикоидами, которых секретируется на два порядка больше, чем альдостерона. При этом задержка натрия происходит фактически без участия альдостерона, секреция которого может даже снижаться вследствие подавления рениновой системы почки. Однако, что касается крыс НИСАГ, было показано, что соотношение кортикостерон-дегидрокортикостерон в плазме крови, оттекающей от надпочечника, плазме периферической крови и в ткани надпочечника не различалось у крыс линий WAG и НИСАГ, что позволяет исключить предположение об усилении минералокортикоидной функции за счет избытка кортикостерона у крыс НИСАГ (Антонов и др., 2010). Второй вариант усиленной задержки натрия при угнетенной функции рениновой системы может быть объяснен нарушением функции самих транспортных ионных каналов почки, которые являются мишенью альдостерона. Это характерно для так называемого синдрома Лиддла, когда находят мутации генов, кодирующих синтез субъединиц эпителиального натриевого канала ENaC. В работе Amstislavsky et al. (2005) было показано, что экспрессия мРНК ENaC, как, впрочем, и других ион-транспортирующих каналов, в почке крыс НИСАГ повышена. Эта особенность, очевидно, нуждается в дальнейшем исследовании, однако с большой вероятностью можно предположить, что изменение функции ионных каналов почки дает вклад в формирование низкорениновой артериальной гипертонии у крыс НИСАГ.

Наши эксперименты на модели стресс-индуцируемой артериальной гипертензии показали, что эта форма артериальной гипертонии сопровождается значительной

функциональной активацией симпатoadреналовой системы (Markel et al., 2007). Такая активация, помимо усиления симпатической нервной активности в почке и связанной с ней ренальной вазоконстрикции, может вызывать рост артериального давления путем прямой вазоконстрикции и увеличения силы и частоты сердечных сокращений.

Изменения в функции артериального и почечного барорефлекса также вовлечены в развитие гипертонии. Барорефлекс отвечает на изменения АД, поддерживая давление близким к установочной точке. В ответ на его статическое повышение, барорефлекс быстро переустанавливается в сторону более высокого давления (Andresen, Yang, 1989). Таким образом, в гипертензивных условиях переустановка барорефлекса может давать свой вклад в поддержание высокого АД. У крыс линий SHR, LH и DS чувствительность артериального барорефлекса снижена по сравнению с нормотензивным контролем, приводя к ослабленному барорефлекторному контролю над частотой сердцебиений и активностью симпатической системы (Veerasingham, Raizada, 2003). Существуют данные о том, что барорецепторный механизм в почке играет доминирующую роль в регуляции продукции ренина (Crowley et al., 2005). Можно полагать, что частые эпизоды повышения АД у юных крыс НИСАГ, как следствие повышенной чувствительности их симпатoadреналовой системы к мягкому эмоциональному стрессу и «стрессу жизни» (Markel et al., 2007), также могут приводить к переустановке барорефлекса, влияя на уровень активности PAC в последующем периоде.

COX-2 играет роль в регуляции почечной перфузии (Yang et al., 1998), так же как и в экскреции соли и воды (Mann et al., 2001), и селективные ингибиторы COX-2 могут вызывать острую задержку соли и воды даже у здоровых субъектов (Schwartz et al., 2002). Почечные простагландины дают свой вклад в гомеостаз. Простагландины модулируют вклад симпатoadреналовой активации как в синтез ренина, так и в его экзоцитоз, в частности, в условиях стресса, такого как геморрагия или нехватка соли (Yu et al., 2009).

Многие экспериментальные данные подтверждают роль COX-2 как медиатора выброса ренина (Cheng, Harris, 2004). Ингибирование COX-2 приводит к уменьшению стимулированной Ang II (через экспрессию фосфолипазы A₂) почечной продукции рениновых секретогогов – простагландинов PGE₂ и PGI₂. Почечный медулярный кровоток, объем мочи, экскреция натрия снижаются, а гипертензивный ответ на Ang II растет при ингибировании COX-2 (Qi et al., 2002; Aw et al., 2005). Вместе с тем, Ang II может ингибировать экспрессию COX-2 в кортексе почки через стимуляцию своего рецептора AT₁ в условиях низкой солевой нагрузки или воздействия диуретиков (Zhang et al., 2006a). И, наоборот, показано, что ингибирование COX-2 повышает и продлевает прессорный эффект Ang II (Cheng, Harris, 2004; Qi et al., 2002). Ингибирование COX-2 рофекоксибом значительно повышает систолическое давление у крыс SHR и WKY при нормальной и высокосолевого диеты, но не у крыс на низкосолевого диеты, что

подтверждает мнение, что гипертензия, индуцированная ингибированием COX-2, может иметь место независимо от генетической предрасположенности и может быть предотвращена снижением потребления соли (Cheng, Harris, 2004). Кроме того, существуют и другие пути регуляции экспрессии COX-2. Так, воздействие DOCA снижает эту экспрессию, повышенную после адреналэктомии (Cheng et al., 1999).

Мы показали, что уровень экспрессии мРНК гена *Cox-2* в почке зрелых (4 мес) крыс гипертензивной линии НИСАГ в покое достоверно понижен по сравнению с крысами нормотензивной линии WAG (Рис. 4.3). При стрессе водной депривации отмечено достоверное усиление экспрессии гена *Cox-2*: у крыс НИСАГ – в 3 раза, а у крыс WAG – только на 80% по сравнению с контрольным уровнем. В результате при стрессе уровень мРНК *Cox-2* у крыс НИСАГ становился близким к таковому у крыс WAG, хотя в покое он был в 2 раза ниже, чем у крыс WAG (Рис. 3.23).

Известно, что после 24-х часовой водной депривации в плазме крови у крыс НИСАГ наблюдается повышение активности ренина (Черкасова, Федоров, 2006). С другой стороны, показано, что экспрессия COX-2 в ткани почки активируется при снижении объемов внеклеточной жидкости (и *vice versa*) и нарушении водно-электролитного баланса организма (Yang et al., 1998). Сниженный в покое уровень экспрессии гена *Cox-2* в почке крыс НИСАГ может быть результатом повышенной концентрации в плазме Ang II (Zhang et al., 2006a) либо кортикостерона, поскольку содержание COX-2 регулируется стероидами надпочечников (Zhang et al., 1999), и это, в свою очередь, может вести к уменьшению содержания ренина в почке, которое находится под влиянием локально высвобождаемых простагландинов (Schnermann, 1998). Вместе с тем, работы других исследователей свидетельствуют, что простаноиды – производные COX-2 играют роль в регуляции секреции ренина, но не экспрессии гена ренина (Kammerl et al., 2001). Поэтому можно предположить, что при относительно непродолжительном лишении крыс воды повышение активности ренина в плазме крови происходит исключительно за счет стимулированного COX-2 выброса его запасов из клеток юкстагломерулярного аппарата почки.

Таким образом, можно полагать, что усиление активности гипофизарно-адренкортикальной и симпатoadреналовой систем, наряду с изменением функции ионных каналов почки, может быть важным фактором формирования низкорениновой артериальной гипертонии у крыс НИСАГ. Пониженный уровень активности ренина – лимитирующего звена центральной РАС – в почках взрослых крыс линии НИСАГ может быть обусловлен пониженной (благодаря высокому уровню кортикостерона) активностью COX-2, либо регуляцией через чувствительный к давлению почечный барорецептор (Nakamura et al., 1995; Crowley et al., 2005). В то же время можно предположить связь пониженной экспрессии гена

ренина с уменьшением активности NOS1, отмеченным у этих животных (Amstislavsky et al., 2005), поскольку известно, что ингибитор активности NOS1, в отличие от рофекоксиба, способен снижать уровень рениновой мРНК, указывая на роль NOS1 в регуляции экспрессии гена ренина (Castrop et al., 2000).

Ранее (Markel et al., 2007) уже отмечалось как сходство, так и отличие линии крыс НИСАГ от более широко распространенной гипертензивной линии SHR в функционировании симпатической адреномедуллярной и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем. Что касается ренин-ангиотензиновой системы, то здесь также можно наблюдать как общие черты, так и различия изучаемой линии и других моделей низкорениновой формы гипертензии. Как явствует из общего названия этой группы модельных линий, все они отличаются низким уровнем активности ренина плазмы и экспрессии его гена в почках. Однако, если у крыс линии SHR уровень экспрессии гена *Agt* в почках понижен (Nakamura et al., 1995), то у крыс линии DS высокосолевого питания (условие формирования гипертензивного статуса) вызывает резкое увеличение содержания интратенального *Agt* (Kobori et al., 2003), не изменяя при этом экспрессии гена рецептора AT1 (Nishiyama et al., 2002b). У юных, но не у взрослых крыс SHR отмечалась повышенная экспрессия рецептора AT1A в почках (Cheng et al., 1998). Только в юном возрасте у SHR выявили пониженное содержание в почке ACE по сравнению с контрольной линией, у взрослых же крыс разница исчезает (Correa et al., 1995). У крыс линии НИСАГ мы не наблюдали достоверного отличия экспрессии гена *Agt* в почках по сравнению с нормотензивным контролем, в то время как содержание мРНК *Ace* и *Agtr1a* было снижено как у молодых, так и у зрелых животных. Общей чертой этих линий является высокий уровень почечного ренина в юном возрасте, сменяющийся позднее его снижением по сравнению с нормотензивным контролем.

4.1.2. Экспрессия генов PAC в миокарде

Мы показали, что в миокарде 4-месячных крыс линии НИСАГ в сравнении с крысами линии WAG уровень экспрессии гена *Agtr1a* понижен на 28%, а содержание мРНК *Ace* в миокарде крыс НИСАГ значительно повышено – на 80%. Однако в возрасте 1,5 мес достоверных различий в экспрессии этих генов между изучаемыми линиями не наблюдалось (Рис. 3.4 и 3.3, соответственно).

Что касается связи АД с экспрессией генов PAC в миокарде, у молодых крыс WAG наблюдали отрицательную корреляцию базального давления с экспрессией гена *Ace2*. ACE2, гомолог ACE, расщепляет Ang II до Ang (1–7) (Chappell et al., 2008a) и, в отличие от ACE, не

конвертирует Ang I в Ang II. Поэтому ACE2 может быть эффективен как ингибитор образования Ang II, стимулируя альтернативные пути деградации Ang I.

У молодых крыс НИСАГ АД при стрессе коррелирует с содержанием в миокарде мРНК *Agtr1a*. При этом у крыс НИСАГ выявляется положительная корреляция прироста АД при стрессе с экспрессией гена *Ace2*. С экспрессией этого же гена коррелирует и абсолютное значение АД при стрессе. Это, казалось бы, противоречит сказанному в предыдущем абзаце. Но, с другой стороны, ACE2 способен не только метаболизировать Ang II до Ang (1–7), но и расщеплять вазодилататор брадикинин (BK) до [des-Arg9]-BK (неактивный метаболит) (Chappell et al., 2008a). Кроме того, рост экспрессии ACE2 у крыс НИСАГ может носить компенсаторный характер, нивелируя вазоконстрикторное действие факторов, повышающих АД у этих животных. Повышенная экспрессия Ang (1–7) в тканях сердца происходит параллельно экспрессии продуцирующего его фермента, ACE2. Ang (1–7) улучшает сердечный выход (output) и противодействует индуцированной Ang II вазоконстрикции, что указывает на возможную протективную роль Ang (1–7) и, соответственно, ACE2 в уменьшении индуцированных Ang II действий (Keidar et al., 2007a).

У молодых крыс WAG отмечена положительная корреляция между уровнями мРНК *Ace* и *Agtr1a* в миокарде; у крыс НИСАГ степень этой корреляции ниже, чем у WAG, выявляется только при анализе по Пирсону и не достигает достоверного уровня. Зато отмечена положительная связь экспрессии генов *Ace2* и *Agtr1a*, что опять таки может указывать на компенсаторное (протекторное) действие ACE2 (и его метаболита Ang (1–7)) в миокарде по отношению к вазоконстрикторным эффектам Ang II. В отличие от крыс WAG, у гипертензивных животных наблюдали отрицательную корреляцию между уровнями мРНК генов *Ace* и *Agtr1a* в сердце, с одной стороны, и содержанием мРНК *Agtr1a* в почке, с другой.

Интересно, что у крыс WAG уровень мРНК *Ace* и *Ace2* в миокарде связан с экспрессией изучаемых генов в гипоталамусе: для *Ace* миокарда выявили положительную корреляцию с уровнем мРНК *Ace* в гипоталамусе и менее явную – с экспрессией рецепторов ангиотензина и с *Th*; при этом корреляция с уровнем мРНК *Ace* в легких была отрицательной. Для *Ace2* миокарда показали отрицательную корреляцию с экспрессией *Agt*, а также *Ace2* в том же отделе мозга. А для содержания мРНК *Agtr1a* в миокарде показана положительная связь с экспрессией генов PAC (*Ace*, *Agtr2* и, с меньшей вероятностью, *Agt*) и с *Th* в продолговатом мозге. Вероятно, это является свидетельством различной и до некоторой степени независимой регуляции экспрессии генов *Ace* и рецептора *Agtr1a* в миокарде. Следует также отметить, что все эти корреляции отсутствуют у молодых крыс НИСАГ. Более того, у крыс НИСАГ корреляция уровня мРНК рецептора *Agtr1a* в миокарде с таковым для *Ace* в гипоталамусе и *Agt* в продолговатом мозге оказалась отрицательной. Только у гипертензивных животных показана и положительная связь

экспрессии *Ace* миокарда и рецептора *Agtr1a* в надпочечниках. Эти межлинейные различия, несомненно, указывают на измененную регуляцию экспрессии генов РАС в миокарде крыс НИСАГ, хотя изменения в содержании мРНК этих генов еще не достигли статистически значимого уровня у молодых животных. Тем не менее, к возрасту 4 мес изменения в экспрессии генов *Ace* и *Agtr1a* становятся значительны и заметны.

Многочисленные исследования указывают на связь кардиальной гипертрофии с измененной экспрессией компонентов сердечной РАС. Данные *in vitro* и *in vivo* подтверждают, что как локальные механические стимулы, так и повышенная солевая нагрузка служат важными регуляторами активности кардиальной РАС. На сердце собаки с экспериментально вызванной гипертрофией желудочков методом ПЦР показано (Lee et al., 1996b), что такая гипертрофия ассоциирована с ростом уровня мРНК *Ace* и *Agtr2* и с падением экспрессии химазы и *Agtr1a*, в то время как уровни экспрессии генов *Agt* и *Ren* остаются неизменными. Тем самым подтверждается, что компоненты кардиальной РАС регулируются независимо и различно, и противоположные изменения в их экспрессии могут выражать различные роли этих компонентов РАС в гипертрофии сердца.

Исследования Н. Schunkert с сотр. как на крысах Wistar с гипертрофией левого желудочка, вызванной аортальным стенозом (Schunkert et al., 1990), так и на людях (Schunkert et al., 1997) также показали связь ACE с формированием миокардиальной гипертрофии. В гипертрофированном миокарде крыс конверсия ангиотензина I (Ang I) в Ang II была увеличена. Содержание мРНК *Ace* в левом желудочке гипертрофированного сердца было повышено в 4 раза по сравнению с контролем (Schunkert et al., 1990). У людей индекс массы левого желудочка также коррелирует с АД и с активностью ACE в сыворотке крови. При этом не наблюдается заметной связи индекса массы левого желудочка с ангиотензиногеном, ренином или проренином (Schunkert et al., 1997).

У гипертензивных крыс соль-чувствительной линии Даля (DS) при высокой солевой нагрузке развивается гипертрофия миокарда, которая, однако, непропорциональна уровню гипертензии. У таких крыс миокардиальные показатели ACE (экспрессия гена и активность фермента) левого желудочка повышались по сравнению с крысами DS, находящимися на нормальной диете, и с крысами линии DR (соль-резистентная линия), получавшими как высокосолевой, так и нормальный корм. Блокада симпатической активности предотвращала гипертонию, но не изменения экспрессии и активности ACE и массы сердца. При нормальной диете, у крыс линии DS был снижен уровень Ang I и II в сердце, а также активность ренина и содержание Ang I и II в плазме. Высокая солевая нагрузка не повышала уровень Ang II в миокарде крыс DS, подтверждая наблюдения о том, что рост ACE может быть связан с

неангиотензинергическими механизмами, участвующими в миокардиальной гипертрофии (Zhao et al., 2000).

Другие авторы нашли, что содержание мРНК не только *Ace*, но и *Agtr1a* в миокарде повышается у крыс DS на высокосолевого диете по сравнению с контролем. Показано, что в этой модели низкорениновой и низкоальдостероновой гипертензии в развитии гипертрофии и фиброза миокарда, как и в гипертрофии стенок коронарных сосудов, может участвовать активация минералокортикоидного рецептора глюкокортикоидами (Nagata et al., 2006a).

Много работ посвящено исследованию PAC сердца у крыс линии SHR. Некоторые данные показывают повышенное содержание мРНК *Agt*, *Ace* и *Agtr1a* в сердце у крыс SHR по сравнению с WKY (нормотензивный контроль), хотя другие авторы этого не находят (см. ссылки у Naito et al., 2002). В работе Naito et al. (2002) было показано, что различия в полученных данных могут быть связаны с циркадными отклонениями в экспрессии генов PAC (*Ren*, *Agt*, *Ace*, *Agtr1a* и *Agtr2*) на протяжении суток. Вместе с тем, циркадные отклонения в уровне мРНК не обязательно соответствуют циркадным колебаниям уровня белка – активность ACE была почти одинакова во время пика и минимума экспрессии мРНК. Кроме того, активность ACE в сердце была выше у крыс линии WKY, чем у крыс SHR. Таким образом, показаны одновременно повышенный уровень мРНК, но пониженная ферментативная активность ACE в сердце SHR, что свидетельствует о наличии механизма посттранскрипционной регуляции ACE в этом органе. Следует отметить и то, что суточные вариации кардиальной PAC свойственны крысам линии SHR по сравнению с WKY. Регуляция мРНК *Ace* и *Agtr1a* ангиотензином II наблюдалась также только у крыс SHR, но не у контрольной линии крыс WKY (Naito et al., 2002).

Ряд исследователей полагает, что гипертрофию сердечной мышцы вызывает повышенный уровень Ang II через AT1A-зависимый механизм (Herzig et al., 1997). Промотор гена *Agtr1a* активен в сердечной мышце, и экспрессия этого гена индуцируется повышением давления. Было высказано предположение, что Ang II индуцирует сердечную и сосудистую клеточную гипертрофию прямой активацией рецептора AT1 и косвенно – стимуляцией выброса некоторых факторов роста и цитокинов (Opafil et al., 2003). Переустановка барорефлексного контроля сердца ангиотензином II также опосредована рецепторами AT1, и базальный уровень эндогенного Ang II воздействует на кардиальный барорефлекс, повышая установочную точку, вокруг которой барорефлекс регулирует уровень сердечных сокращений (Wong et al., 1993). Вместе с тем, данные, полученные на незрелых кардиомиоцитах овцы, показывают, что Ang II вызывает не гипертрофию, а гиперплазию в изучаемой культуре клеток (Sundgren et al., 2003).

Существует и немало экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что нет прямой связи между гипертрофией сердца и рецепторами AT1. Так, трансгенные крысы (mRen-

2) с повышенной экспрессией ренина характеризуются гипертензией и сердечной гипертрофией. У этих животных имеется снижение рецепторов АТ1 в аорте, предсердии и желудочке по сравнению с контрольными крысами Sprague-Dawley на 40 – 50%, что ведет к заметному снижению ответа сердца и аортальной стенки на стимуляцию Ang II (Nickenig et al., 1997). С другой стороны, у мышей с мутацией гена *Agtr1a*, при которой наблюдается повышенная постоянная активация рецептора, не наблюдалось заметной гипертрофии миокарда. При этом отмечалось умеренное (на 20 мм рт. ст.) и стойкое повышение АД, а также повышенный прессорный ответ на Ang II. Другие показатели (низкий уровень продукции ренина и нормальный – альдостерона) были сходны с таковыми при низкорениновой гипертензии (Billet et al., 2007). Изучение мышей, нокаутных по рецептору АТ1, показало, что гипертрофия в ответ на гемодинамическую нагрузку может формироваться независимо от АТ1 (Wollert & Drexler, 1999). Не было отмечено и изменений в экспрессии гена рецептора АТ1 в измененном сердце человека (Urata et al., 1989). Наконец, показано, что для развития Ang II-зависимой гипертензии и кардиальной гипертрофии абсолютно необходимы почечные рецепторы АТ1. Когда они элиминированы из почек, оставшихся, экстраренальных рецепторов недостаточно, чтобы вызвать гипертензию и гипертрофию сердца (Crowley et al., 2006).

Изучение сигнальных путей, приводящих к формированию кардиальной гипертрофии, показало, что истина лежит посередине, и существуют как АТ1-зависимые, так и не зависящие от этого рецептора пути – через стимуляцию α 1-адренорецепторов или ET – рецепторов эндотелина-1 (Dorn II & Force, 2005).

В то же время ACE2 имеет лишь слабое влияние на базальные сердечно-сосудистые функции и контроль АД. Однако, активность ACE2 может влиять на восприимчивость к таким патологическим состояниям, как гипертензия и сердечная гипертрофия (Gurley & Coffman, 2008), что, возможно, связано с его ролью в метаболизме и деградации Ang II, вместе с его вкладом в пути синтеза Ang (1–7). Ang (1–7) играет протективную роль в уменьшении индуцированных Ang II действий (Keidar et al., 2007a). В частности, Ang (1–7) подавляет пролиферативные действия Ang II (Giani et al., 2008).

В отличие от крыс гипертензивных линий SHR и DS, у взрослых крыс линии НИСАГ в миокарде мы наблюдаем значительное повышение экспрессии гена *Ace* и менее выраженное понижение – для *Agtr1a*. Молодые (1,5 мес) крысы линии НИСАГ по этим показателям не отличаются от нормотензивного контроля, хотя признаки гипертрофии сердечной мышцы у них выявляются даже в еще более раннем возрасте (Markel et al., 1999). Правда, меньшая степень корреляции между уровнями мРНК генов *Ace* и *Agtr1a* у молодых крыс НИСАГ по сравнению с WAG может указывать на возникающие уже в этом возрасте отличия в экспрессии генов локальной РАС, на которую влияет уровень Ang II в крови, повышенный у крыс НИСАГ

благодаря высокому уровню ренина, продуцируемого почкой в этом возрасте. Уровень экспрессии *Agtr1a* в почке молодых НИСАГ понижен, вероятно, по механизму отрицательной обратной связи, возможно, с участием почечного или атриального барорефлекса. Поскольку в сердце молодых крыс НИСАГ рецептор АТ1А активируется ангиотензином плазмы (Orapil et al., 2003), то именно общим эффектором (действие которого разнонаправлено в разных органах) может объясняться отрицательная корреляция между экспрессией генов элементов кардиальной РАС и *Agtr1a* почки. Морфологические изменения в сердце взрослеющих крыс НИСАГ возникают, по-видимому, вне связи с функцией локальной РАС, в ответ на возросший уровень АД, который уже в 4-х недельном возрасте достоверно превышает контрольный. Экспрессия же *Ace* в сердце заметно усиливается позднее, для поддержания необходимого уровня эндогенного Ang II в условиях пониженной экспрессии и активности ренина плазмы крови. Однако на возникающие изменения в экспрессии кардиального *Ace* может указывать отсутствие у молодых крыс НИСАГ отрицательной корреляции, наблюдаемой у WAG, между уровнями мРНК *Ace* в миокарде и в ткани легких (последнее соответствует уровню экспрессии *Ace* в циркуляторном русле).

17-часовая водная депривация не изменяла уровень экспрессии гена *Agtr1a* в миокарде у крыс обеих линий, также как и экспрессию гена *Ace* у крыс контрольной линии WAG. Однако повышенный уровень мРНК *Ace* в сердечной мышце крыс линии НИСАГ снижался до величин, близких к таковым у нормотензивных крыс (Рис. 3.5). Если повышение активности РАС сердца связывается с увеличением его функциональной нагрузки и последующими процессами гипертрофии миокарда, то снижение активности *Ace* после водной депривации может быть обусловлено противоположным явлением – снижением нагрузки на сердце в результате уменьшения объема жидкости (в том числе и плазмы) и уменьшения объема притекающей к сердцу крови (preload). Из литературы известно, что водная депривация примерно такой же продолжительности, как в нашей работе, приводит к снижению объема циркулирующей плазмы на 6% (De Luca et al., 2002). При этом неизбежно уменьшается работа, необходимая для переборки сниженного объема крови из венозной в артериальную систему.

Кроме того, мы показали, что в почках крыс НИСАГ в условиях стресса водной депривации происходит резкое увеличение экспрессии гена *Cox-2*, чей продукт является ключевым ферментом синтеза простагландинов, стимулирующих секрецию ренина из клеток юстагломерулярного аппарата. Можно предположить, что рост активности ренина плазмы – ключевого фермента циркуляционной РАС, выявленный при таком обезвоживании (Черкасова, Федоров, 2006), уменьшает потребность в повышенной активности локальной РАС сердца и тем самым также может приводить к наблюдаемому снижению экспрессии АСЕ в миокарде.

4.1.3. Экспрессия генов PAC в мозге

Ранее было показано, что крысы со спонтанной гипертензией SHR характеризуются изменением уровня экспрессии генов PAC непосредственно в мозговых структурах (Tamura et al., 1996b). Содержание и обновление Ang II в гипоталамусе были увеличены у взрослых SHR по сравнению с нормотензивным контролем. Крысы SHR также характеризовались увеличением числа сайтов связывания Ang II в некоторых ядрах гипоталамуса и продолговатого мозга и повышением содержания мРНК *Agtr1a* в переднем отделе гипоталамуса. В дополнение к этому показано увеличение концентрации ангиотензинового рецептора AT1A в стволе мозга у крыс SHR по сравнению с крысами WKY (Komatsu et al., 1996). Начиная с 4-недельного возраста, у крыс SHR отмечался повышенный уровень мРНК *Agt*, особенно в area preoptica гипоталамуса, и далее рос по мере взросления гипертензивных крыс (Shibata et al., 1993). Ренин-подобная активность в переднем отделе гипоталамуса и некоторых ядрах продолговатого мозга в процессе развития гипертензии также была выше у крыс SHR по сравнению с контрольной нормотензивной линией WKY (Phillips et al., 1997). Все эти данные позволяют предполагать, что PAC мозга может активно участвовать в механизме повышения артериального давления не только у гипертензивных крыс линии SHR, но и у других модельных линий. Однако до сих пор на крысах линии НИСАГ работы по изучению экспрессии мРНК генов PAC в мозговых структурах не проводились.

Как в гипоталамусе, так и в продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ мы показали повышенное содержание мРНК *Agt* (Рис. 4.3 и 4.4). Кроме того, в продолговатом мозге оказался повышен уровень содержания мРНК *Agtr1a*, а в гипоталамусе – *Agtr2*. Уровень экспрессии *Ace2* оказался снижен в гипоталамусе. При этом уровень мРНК *Cox-2* был повышен в обоих отделах мозга, а *Th* – только в гипоталамусе.

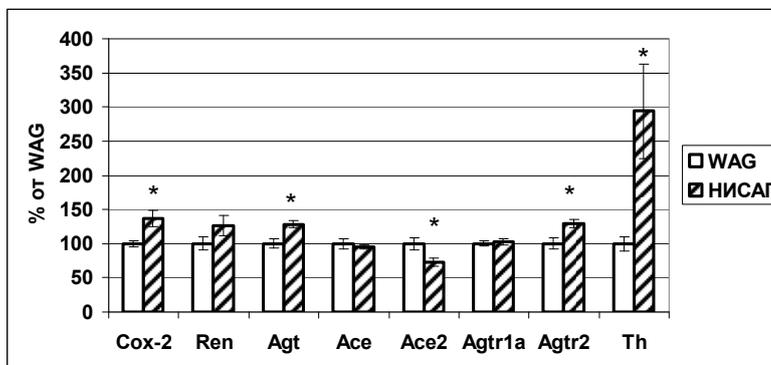


Рис. 4.3. Уровень мРНК изучаемых генов в гипоталамусе молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG. Данные представлены в виде средних значений по группе \pm SEM. * – $p < 0,05$.

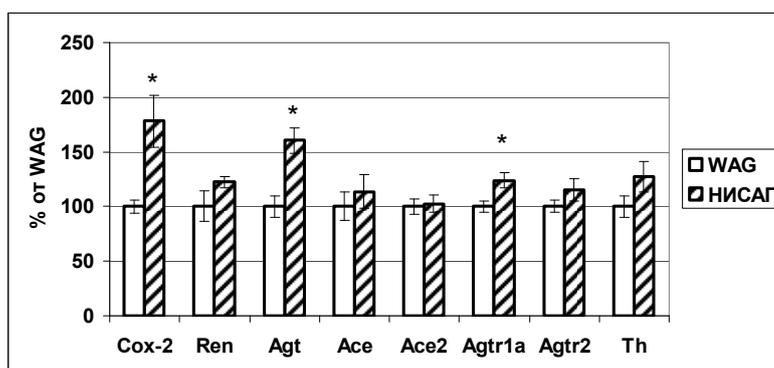


Рис. 4.4. Уровень мРНК изучаемых генов в продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG. Данные представлены в виде средних значений по группе \pm SEM. * – $p < 0,05$.

У молодых крыс НИСАГ, подобно крысам SHR (Shibata et al., 1993), повышено содержание мРНК гена предшественника ангиотензина II *Agt* в обеих исследуемых мозговых структурах, связанных с регуляцией артериального давления. Несмотря на отсутствие достоверных различий между линиями крыс WAG и НИСАГ в уровнях мРНК ренина в этих структурах, можно предположить, что рост экспрессии *Agt* – первый шаг к повышению содержания Ang II в гипоталамусе и продолговатом мозге у молодых крыс НИСАГ.

Ангиотензиноген – это единственный субстрат для ренина, и синтезируется он в организме не только в печени, но и во многих других органах, в которых присутствует локальная тканевая РАС. Расщепление *Agt* ренином – лимитирующая стадия каскада ферментативных реакций, свойственных РАС. *Agt*, чья концентрация в плазме крови в 1000 раз превышает концентрацию ренина (Corvol & Jeunemaitre, 1997), традиционно рассматривался как «резервуар» для действия ренина. Однако кинетические расчеты показали, что для того, чтобы кинетика превращения *Agt* в Ang I ренином соответствовала реакции нулевого порядка, т.е. не зависела от изменений концентрации *Agt*, это соотношение концентраций должно быть по крайней мере в 10 раз выше. Следовательно, *Agt* наряду с ренином может играть лимитирующую роль в работе РАС, и тому есть экспериментальные подтверждения (Corvol & Jeunemaitre, 1997). Те же рассуждения можно отнести и к локальным РАС, где скорость продукции Ang I также может контролироваться концентрацией *Agt*. Таким образом, локальное увеличение концентрации *Agt* может приводить к росту локальной концентрации ангиотензина даже при постоянном уровне содержания ренина в данной области (Campbell, 1987). Ang II, продуцируемый локально тканевыми РАС, может играть паракринную или аутокринную роль в соответствующих тканях, и эти тканевые системы могут регулироваться локально и независимо от центральной системы циркуляции. Так, было показано, что *Agt*, синтезируемый глиальными клетками мозга, затем секретруется и захватывается нейронами, формируя паракринную РАС (Deschepper et al., 1986). Показан и синтез *Agt* в астроцитах, причем наибольшие скопления *Agt*-

содержащих астроцитов обнаружены в ядрах гипоталамуса, среднего мозга и ствола мозга. Более того, ядра, наиболее активные в синтезе *Agt* (т.е. накоплении его мРНК), оказались теми же, которые проявляют и высокоаффинное связывание ангиотензина (Lynch, Peach, 1991). Уровень мРНК ангиотензиногена не только в печени, но и в тканях мозга (но не в почке) повышается глюкокортикоидами (Kalinyak, Perlman, 1987; Lynch, Peach, 1991). Показано, что ген *Agt* является «белком ответа острой фазы» (an acute-phase response protein), т.е. его транскрипция активируется цитокинами, но только в присутствии глюкокортикоидов (Lynch, Peach, 1991).

Суммируя вышесказанное, можно сделать вывод, что повышенная экспрессия *Agt* в гипоталамусе и продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ приводит к росту содержания в этих отделах Ang II, что влияет на активность симпатической нервной системы.

Известно, что существует тесная связь между Ang II и симпатической нервной активностью (СНА) (Malpas, 2010). Ангиотензин (Ang II) оказывает сильное влияние на центральную нервную систему, регулируя и модулируя ощущение жажды, солевой аппетит, выброс вазопрессина и симпатическую нервную активность. Благодаря этому, активация центральной РАС может давать свой вклад в патогенез гипертонии. Рецепторы Ang II найдены в областях ствола мозга, включенных в контроль СНА. В частности, связывание Ang II обнаружено в ядре солитарного тракта, а также ростральных и каудальных регионах вентролатеральной медуллы, и микроинъекции ангиотензина в эти отделы повышало СНА. Эти сайты связывания – ядра, участвующие в сигнальных путях артериального барорефлекса.

Считается, что многообразные физиологические действия Ang II, включая вазоконстрикцию и клеточный рост, опосредованы рецептором 1-го типа, или AT1. Субтип А рецептора AT1 (AT1A) локализован на поверхности клеток гладкой мускулатуры сосудов, и его активация приводит к повышению уровня внутриклеточного кальция, генерации активных форм кислорода и сокращению клеток (Mattson & Maudsley, 2009). Роль же рецептора 2-го типа (AT2) долго оставалась неизвестной. Предполагалось, что она во многом противоположна роли рецептора AT1. Данные, полученные на мышах, дефицитных по гену рецептора AT2, *Agtr2*, подтвердили участие этого рецептора в симпатическом ингибировании. В то время как AT1 в центральной нервной системе твердо связывают с процессами симпатического возбуждения, активация AT2 приводит к противоположному влиянию на симпатический тонус (Gao & Zucker, 2011).

Только в последние годы стало понятно, что рецепторы AT2 экспрессируются не только в сосудистой стенке, но и в таламических отделах, гипоталамусе и специфических ядрах ствола мозга (Nogiuchi et al., 2010). Стимуляция AT2 включена в аксональную регенерацию, процессы памяти и управление поведением. Показан протективный эффект стимуляции *Agtr2* при

ишемических повреждениях мозга, в частности, благодаря модуляции церебрального кровотока. Ang II индуцирует дифференцировку нейронов и рост нейритов, опосредованные MAPK или NO, через активацию рецептора AT₂, который тем самым включен в процесс развития мозга.

Нами показана повышенная экспрессия гена *Agtr1a* у молодых крыс НИСАГ в продолговатом мозге, что может приводить к стойкому повышению симпатического тонуса у этих животных, ведущему в конечном счете к росту артериального давления. Известно, что нарушение баланса уровней рецепторов AT_{1A} и AT₂ в ростральной вентролатеральной области (RVLM) вызывает у экспериментальных животных гипертензию и симпатическое возбуждение (Gao et al., 2008b). Что же касается повышенного уровня мРНК *Agtr2* в гипоталамусе, то можно предположить компенсаторный характер этого роста, исходя из литературных данных о том, что агонист рецептора AT₂ эффективно понижал экскрецию норадреналина и артериальное давление у крыс через сигнальные пути NO-синтазы в PVN гипоталамуса (Gao & Zucker, 2011). Поскольку AT₂ повышает выброс оксида азота и снижает ток калия в нейронах, активация этого рецептора должна вызывать подавление симпатического тонуса.

Что касается пониженной в гипоталамусе молодых НИСАГ экспрессии *Ace2*, то было постулировано, что образование основного продукта этого фермента, Ang (1–7), в частности, при продолжительной активации PAC, уравнивает или снижает констрикторные и пролиферативные действия Ang II (Chappell & Ferrario, 1999; Chappell, 2007). Ang (1–7) в основном противостоит действию Ang II, стимулируя NO и вазодилататорные простагландины (Samraio et al., 2007b), и существует свидетельство, что Ang (1–7) может потенцировать действие брадикинина на его рецептор B₂ связыванием активного сайта (с-домена) ACE (Paula et al., 1995; Broshinan et al., 1996). Помимо потенциации BK, Ang (1–7) опосредует высвобождение NO (Li et al., 1997), вазодилатацию, ингибирование клеточного роста в сосудах и снижение индуцированной Ang II вазоконстрикции (Ueda et al., 2000; Carey & Siragy, 2003a). Поэтому дефицит ACE2 может приводить к усилению действия Ang II в этом отделе мозга. Вместе с тем, было показано, что инфузия Ang II снижает экспрессию *Ace2* в PVN (Sriramula et al., 2011). Таким образом, нехватка ACE2 может, с одной стороны, быть обусловлена избытком Ang II в ткани гипоталамуса, а с другой, сама давать вклад в формирование повышенного содержания и усиления влияния Ang II в мозговых структурах и активацию симпатической нервной системы.

Наши данные указывают и на повышенную экспрессию гена *Cox-2* как в гипоталамусе, так и в еще большей степени – в продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ. COX-2 – это фермент, содержащийся в дендритных отростках и играющий прямую роль в синаптической физиологии. мРНК и белок COX-2 быстро индуцируются при физиологической синаптической

активности, и высокая базальная экспрессия в коре мозга поддерживается обычной синаптической активностью (Kaufmann et al., 1997). Простагландины – производные СОХ-2 – важные физиологические регуляторы ряда активностей, включая локальный церебральный кровоток и обучение. Распределение СОХ-2-содержащих нейронов в ЦНС показывает, что СОХ-2 может быть включена в обработку и интеграцию висцеральных и специальных сенсорных потоков, а также выработку автономных, эндокринных и поведенческих ответов (Breder et al., 1995).

Физиологическая роль простагландинов (ПГ) изучается давно и успешно. Это семейство липидных медиаторов, которые образуются широко по всему телу и выполняют многообразные функции во многих процессах, включая сосудистый гомеостаз, воспаление и репродукцию. Многообразие функций обеспечивается 8 типами и субтипами рецепторов. Благодаря специфической локализации и межклеточным сигнальным путям, каждый рецептор может опосредовать уникальный профиль действий в организме. Так, EP₃ опосредует гипертермические ответы; EP₁ и EP₃ оба необходимы для нейроэндокринного стрессового ответа. Дефицитные по EP₁ мыши демонстрируют повышенную агрессию и нарушения в избегании препятствий, показывая, что PGE₂-EP₁ сигнальный путь контролирует импульсивное поведение при стрессах (Kitaoka et al., 2007). Известно, что крысы НИСАГ проявляют повышенную агрессию по отношению к своим собратьям, и можно предположить, что эта особенность их поведения связана с каким-то дефектом рецептора EP₁. В таком случае повышенная экспрессия СОХ-2 может носить компенсаторный характер.

Повышенная экспрессия СОХ-2 может быть вредна. При патологических условиях, включая травму, ишемию и хронические нейродегенеративные изменения, активность СОХ-2 повышена, продуцируя активные формы кислорода и токсичные метаболиты простагландинов, усиливающие повреждения (Hickey et al., 2007). С другой стороны, существуют и свидетельства протективной роли СОХ-2 при нарушениях мозгового кровообращения, поскольку ингибиторы СОХ увеличивают размер инфаркта при окклюзии мозговой артерии (Park et al., 2008).

Недавние исследования нейроваскулярного сопряжения, т.е. регуляции локального церебрального кровотока в ответ на нейрональную активацию в мозге, показали прямое влияние СОХ-2 мозга на АД (Matsuura et al., 2009). Это исследование выявило, что АД и частота сердечного ритма заметно снижались после ингибирования СОХ-2. Результаты японских ученых подтвердили, что СОХ-2 участвует в регуляции локального церебрального кровотока во время нейрональной активации у крыс. Можно предположить, что повышенная экспрессия СОХ-2 в мозге молодых крыс НИСАГ вносит свой вклад в повышение АД у этих животных.

COX-2 в незрелом мозге регулируется в соответствии с развитием. У крыс наблюдается очень слабая экспрессия COX-2 сразу после рождения. Затем она растет, достигая пика во время 3-4-й недели после рождения, снижаясь затем до промежуточного уровня в мозге у взрослых животных. Аналогичный паттерн экспрессии найден для NO-синтазы. NOS, подобно COX, – важный модулятор нейрональной функции в физиологических условиях и парадоксально токсичная молекула в патологических условиях. Изменение экспрессии COX и NOS, с пиком примерно в возрасте 1 месяца, происходит параллельно созреванию коры и синаптогенезу, подтверждая, что эти ферменты – потенциально важные регуляторы нормального нейронального развития (Hickey et al., 2007).

Возбудительная синаптическая активность и стрессовые стимулы могут индуцировать экспрессию COX-2. Простагландины стимулируют секрецию АКТГ из гипофиза напрямую либо путем выброса в гипоталамусе КРГ и/или вазопрессина. Простагландины опосредуют нейрогормональные ответы на психологический стресс, включая ответ АКТГ, и могут стимулировать стероидогенез непосредственно в надпочечниках крысы. Таким образом, они могут взаимодействовать с ГГАС на уровне гипоталамуса, гипофиза или надпочечников. ПГ участвуют в развитии гипертермии и ответе АКТГ, индуцированном у крыс психологическим стрессом (Bugajski et al., 2001). Методом ОТ-ПЦР была показана повышенная активность генов ГГАС у крыс линии НИСАГ по сравнению с нормотензивными крысами (Markel et al., 2007). Повышенная экспрессия ключевого фермента синтеза простагландинов может являться одним из начальных этапов активирования ГГАС, наблюдаемого у крыс НИСАГ.

Экспрессия COX-2 и ее связь со стимуляцией ГГАС достаточно подробно описана (Turnbull, Rivier, 1999), и работы на эту тему продолжают выходить. Значительно меньше известно о роли COX-2 в других областях мозга и, в частности, в продолговатом мозге, где расположены центры, контролирующие работу сердечнососудистой системы, наиболее важным из которых, по-видимому, является RVLM. Область RVLM является конечным общим путем для множества нисходящих проекций активности симпатической нервной системы в ответ на стресс, кровотечение, артериальную гипотензию (рефлекторная вагусная афферентация), физические нагрузки, боль, гиперкапнию и гипоксию. Известно, что профиль экспрессии COX-2 во время развития совпадает с изменениями в синаптическом ремоделировании созревающей постнатальной ЦНС, зависящим от ее активности (Kaufmann et al., 1996). Эта способность нейронов к долговременным изменениям в ответ на нейтральную активность – предпосылка для обучения и памяти, как и для адаптивных ответов на патологические стимулы. Интересно, что отрицательная корреляция базальной экспрессии *Cox-2* с приростом АД при стрессе отмечена у молодых крыс WAG в продолговатом мозге, тогда как у НИСАГ – в гипоталамусе, что может свидетельствовать как о протективной роли COX-2 в развивающемся мозге, так и о разных

паттернах этого развития у крыс разных линий. Изменения в экспрессии *Cox-2*, таким образом, могут быть следствием изменений в состоянии симпатической нервной системы.

Поиск связей между уровнями мРНК изучаемых генов в мозговых структурах молодых крыс выявил негативную корреляцию между содержанием мРНК *Agtr2* и *Ace2* в гипоталамусе крыс НИСАГ. Можно полагать, что пониженный уровень содержания фермента АСЕ2 в этой структуре вследствие низкой его экспрессии способствует накоплению субстрата, Ang II. Вместе с тем, отрицательная корреляция уровней мРНК *Agt* и *Ace2*, выявленная анализом по Спирмену, может указывать на подавление экспрессии *Ace2* избытком Ang II, который, в свою очередь, положительно регулирует экспрессию своего рецептора АТ2. У крыс WAG ни одна из связей внутри гипоталамуса не подтверждается сразу двумя методами определения корреляций. Но при этом оба использованных метода поиска корреляций указывают на положительную связь экспрессии *Agt* в гипоталамусе крыс WAG с уровнем мРНК *Cox-2* в почках этих крыс. Следовательно, можно полагать, что Ang II мозгового происхождения способен прямо или опосредованно стимулировать экспрессию *Cox-2* в почках. Положительно коррелирует между собой и экспрессия *Agtr1a* в гипоталамусе и в почках крыс WAG. У крыс НИСАГ связь между экспрессией генов в гипоталамусе и почках проявляется еще заметнее: уровень мРНК не только *Cox-2*, но и *Ren* положительно связан с уровнем мРНК *Agt*, а также *Agtr2* в гипоталамусе. Кроме того, экспрессия той же пары генов в почке НИСАГ связана обратной корреляцией с экспрессией *Ace2* в гипоталамусе. Можно предположить, что активация СНС повышенным уровнем Ang II в гипоталамусе приводит к росту экспрессии ренина в почке. Увеличение экспрессии гена *Agtr2* в гипоталамусе также стимулируется ростом содержания Ang II, поэтому связь между уровнями мРНК *Agtr2* в гипоталамусе и ренина в почке не является причинно-следственной, а отражает последствия одного явления (высокого уровня экспрессии *Agt* и, возможно, низкого – *Ace2* в гипоталамусе, что способствует высокому уровню Ang II).

У крыс WAG мы наблюдали положительную корреляцию между экспрессией *Ace* в гипоталамусе и сердце. Эта связь отсутствует у молодых крыс НИСАГ. По-видимому, у этих крыс более значимыми становятся изменения в экспрессии кардиального *Ace*, продиктованные гипертрофическим ремоделированием миокарда, даже несмотря на то, что статистически достоверного изменения этой экспрессии у молодых НИСАГ еще не выявляется. При этом отрицательная корреляция между экспрессией *Agtr1a* в сердце и *Ace* в гипоталамусе наблюдается только у молодых крыс НИСАГ, хотя в среднем по группе отличий в экспрессии этих генов между линиями крыс в возрасте 1,5 мес не выявлено. У крыс WAG выявляются отрицательные связи между экспрессией *Ace2* в миокарде, с одной стороны, и уровнями мРНК того же гена и гена *Agt* в гипоталамусе, с другой. Объяснение этому нелегко найти, учитывая, что изменения в экспрессии *Ace2* и *Agt* в гипоталамусе должны носить разнонаправленный

характер (поскольку первая подавляется избытком Ang II). Рост экспрессии *Agt* в конечном счете может вести к повышению уровня Ang II в циркуляции (благодаря росту экспрессии ренина в почке) и снижению экспрессии *Ace2* в миокарде из-за ингибирования ангиотензиновым пептидом. С другой стороны, рост экспрессии *Ace2* в гипоталамусе ведет к большему расщеплению Ang I и Ang II, снижению СНА и АД, что делает менее актуальной протективную роль ACE2 в миокарде. Вопрос, какое из этих двух объяснений является более соответствующим истине, еще требует уточнения в дальнейших экспериментах.

У крыс WAG практически не наблюдается корреляций между экспрессией изучаемых генов в гипоталамусе и продолговатом мозге. Исключением является только положительная связь между уровнями мРНК *Agtr2* в гипоталамусе и *Ace* в продолговатом мозге, а также отрицательная – между *Th* в НТ и *Agtr1a* в продолговатом мозге, отсутствующие у крыс НИСАГ. Что касается связи между отделами мозга у крыс НИСАГ, только у этих животных наблюдается положительная связь между уровнями мРНК *Ace* в гипоталамусе и *Agt* в продолговатом мозге, а также *Agtr2* в гипоталамусе и *Ace2* в продолговатом мозге; отрицательная корреляция между экспрессией *Agtr2* в гипоталамусе и ренина в продолговатом мозге, а также между экспрессией *Agtr1a* в этих двух отделах мозга.

В продолговатом мозге у крыс WAG экспрессия ренина и *Agt* коррелирует между собой, что выглядит логично для компонентов одной реакции. В рамках той же логики находится позитивная связь между экспрессией *Agt* и *Agtr2*, поскольку последний регулируется своим лигандом, Ang II. Отмечена положительная связь экспрессии *Ace2* и *Agtr2* в этом отделе мозга крыс WAG, и эта связь является причинно-следственной (Sriramula et al., 2011). Ни одна из этих корреляций не выявляется в продолговатом мозге крыс НИСАГ. Очевидно, у крыс НИСАГ эти связи нарушены, что свидетельствует об отдельной и различной регуляции данных компонентов мозговой РАС.

Положительная корреляция не только *Ace* и *Agtr2*, но и *Th* продолговатого мозга с уровнем экспрессии *Agtr1a* в миокарде, наблюдаемая у молодых крыс WAG, у крыс НИСАГ также отсутствует, а корреляция экспрессии этого гена рецептора с уровнем мРНК *Agt* в продолговатом мозге у них является отрицательной. При этом у крыс НИСАГ заметнее связь между экспрессией генов продолговатого мозга и почки, поскольку только у них выявляется корреляция между уровнями мРНК *Ace* в этом отделе мозга и *Agtr1a* в почке. Обращает на себя внимание и положительная корреляция экспрессии *Agt*, *Ace2* и *Agtr2* в продолговатом мозге НИСАГ, с одной стороны, и таких генов в почке, как *Cox-2*, *Ren* и *Agtr1a*, с другой, хотя эти связи выявляются только одним статистическим методом из двух. При этом уровень мРНК *Cox-2* в продолговатом мозге у WAG коррелирует с экспрессией в почке *Agtr1a* (как известно, то и другое зависит от уровня Ang II), а у НИСАГ – с почечным уровнем мРНК *Agt* (как и *Cox-2*

из НП у этих крыс). Наконец, уровень мРНК *Cox-2* в продолговатом мозге – единственный показатель, для которого отмечена корреляция (отрицательная) с экспрессией *Th* в среднем мозге у крыс WAG, но не у НИСАГ.

Отметим, что в полученных данных по экспрессии мРНК генов PAC и *Cox-2* в мозговых структурах крыс разница между исследуемой гипертензивной линией НИСАГ и контрольными нормотензивными животными найдена только у молодых, 1,5-месячных животных. У взрослых животных в покое отличия в экспрессии исследуемых генов отсутствуют. Исключением является только ген *Ace2*, экспрессия которого у взрослых крыс НИСАГ оказалась повышена в гипоталамусе (Рис. 3.8) и снижена в продолговатом мозге (Рис. 3.10).

Фермент ACE2 был идентифицирован как негативный регулятор прогипертензивных действий Ang II. Показано, что повышенная экспрессия ACE2 в PVN гипоталамуса противодействует индуцированной Ang II гипертензии (Sriramula et al., 2011). Сверхэкспрессия ACE2 в работе этих авторов также значительно снижала экспрессию AT1 и ACE и повышала экспрессию AT2 и Mas (рецептора Ang (1–7)) в PVN. Кроме того, сверхэкспрессия ACE2 в PVN снижала индуцированный Ang II рост экспрессии провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1b и IL-6 в PVN. Ослабление провоспалительных цитокинов в PVN в комбинации со сдвигом PAC к анти-гипертензивной оси (ACE2/Ang (1–7)/Mas) может отвечать за протективное влияние повышенной экспрессии ACE2 в PVN на индуцированный Ang II гипертензивный ответ.

В продолговатом мозге у взрослых крыс НИСАГ, однако, экспрессия гена *Ace2*, в отличие от молодых животных, ослаблена. Известно, что пониженная экспрессия *Ace2* в продолговатом мозге приводит к нарушению чувствительности барорефлекса и росту АД (Xia et al., 2009).

В условиях мягкого стресса, каким является относительно непродолжительное (17 часов) лишение воды, у крыс НИСАГ, в отличие от WAG, практически отсутствуют изменения в экспрессии генов PAC в гипоталамусе (Рис. 3.9). У крыс WAG в этих условиях наблюдали снижение уровня мРНК *Ren* в гипоталамусе, вероятно, связанное с повышенной активностью ренина в циркуляторном русле (хотя непроницаемость гемато-энцефалического барьера для ренина свидетельствует против такого предположения). Снижение экспрессии ренина у НИСАГ при этом не достигало уровня статистической достоверности, в частности, из-за больших индивидуальных различий внутри группы экспериментальных животных. Поскольку уровень мРНК *Agt* оставался практически неизменным в этом эксперименте у крыс обеих линий, можно предполагать, что и содержание Ang I в гипоталамусе не изменялось значительно.

На основе полученных нами ранее данных было сделано заключение о наличии у крыс линии НИСАГ низкорениновой формы гипертензии. Однако, несмотря на то, что в почках

взрослых крыс НИСАГ экспрессия мРНК ренина понижена, в гипоталамусе она находится на уровне, по крайней мере, не ниже наблюдаемого у контрольной линии WAG. Это согласуется с данными, полученными другими исследователями, о том, что регуляция деятельности мозговой РАС происходит автономным образом, независимо от регуляции РАС в других органах (Ruiz et al., 1990). Рассматриваемые нами мозговые структуры изолированы от общего кровотока гематоэнцефалическим барьером, который препятствует действию Ang II плазмы крови на рецепторы, расположенные в ЦНС. Локальная РАС мозга оказывает автономное влияние на регуляцию артериального давления посредством усиления секреции вазопрессина и гормонов надпочечников, а также участвуя в центральной активации симпатической нервной системы (Schinke et al., 1999). Так, показано, что введение фармакологических блокаторов мозговой РАС может оказывать значительное влияние на уровень артериального давления экспериментальных животных вне зависимости от уровня активности периферической РАС. Микроинъекции крысам гипертензивных линий SHR и TGR(mRen2) каптоприла (ингибитора ACE) непосредственно в желудочки мозга приводили к понижению артериального давления и при этом не влияли на активность ACE на периферии. Аналогичное введение лозартана – блокатора ангиотензинового рецептора AT1A – также приводило к понижению артериального давления у данных гипертензивных животных. Введение же названных препаратов в мозговые структуры нормотензивных крыс не сопровождалось изменением артериального давления (Park, Leenen, 2001).

Из литературных данных известно, что у взрослых крыс наиболее изученной гипертензивной линии SHR высокий уровень мРНК генов *Agt* и *Agtr1a* в мозговых структурах сохраняется или даже может еще больше отличаться от контрольной линии, чем в молодом возрасте. Необходимо понимать, что повышенный уровень экспрессии рецептора AT1A вообще характерен для крыс SHR во многих тканях (в частности, в миокарде), тогда как у взрослых крыс НИСАГ в миокарде и почках он, напротив, понижен. На основе полученных результатов можно полагать о существовании различий в возрастной динамике экспрессии мРНК генов РАС между крысами SHR и НИСАГ, а также, несмотря на формирование гипертензивного статуса, о снижении с возрастом активности РАС не только в почках, но и в таких структурах мозга, как гипоталамус и продолговатый мозг. Отличия в экспрессии *Agt* и *Agtr1a* между взрослыми животными гипертензивных линий SHR и НИСАГ дают возможность говорить о том, что у крыс НИСАГ в процессе взросления роли систем контроля артериального давления могут меняться, и за поддержание гипертензивного статуса у взрослых животных SHR и НИСАГ отвечают разные системы. У взрослых крыс НИСАГ центральную роль в поддержании гипертензивного статуса играет повышение активности симпатoadренальной и адренкортикальной гормональных систем, непосредственно отвечающих также за повышение

стресс-реактивности (Markel et al., 2007). Мы полагаем, что одним из инициальных механизмов формирования такого гормонального фона у взрослых крыс НИСАГ может являться изменение уровня активности генов РАС (*Agt*, *Ace2*, *Agtr1a* и *Agtr2*) в структурах мозга в раннем возрасте у этих животных. Изменение экспрессии COX-2 в этом возрасте скорее является следствием изменений в состоянии симпатической нервной системы.

4.1.4. Экспрессия генов РАС в надпочечниках

В надпочечниках крыс мРНК не всех компонентов РАС присутствуют на уровне, достаточном для изучения их экспрессии методом ПЦР. В данном органе у крыс WAG и НИСАГ мы сравнивали экспрессию генов *Agt*, *Ace2*, *Agtr1a* и *Agtr2*, а также гена *Cox-2*. На Рис. 4.5 видно, что уровни мРНК генов *Agt*, *Ace2* и *Agtr1a* в надпочечниках молодых крыс обеих линий достоверно не отличались. Однако содержание мРНК гена *Cox-2* у молодых крыс НИСАГ было повышено в 2,3 раза по сравнению с нормотензивным контролем, а уровень мРНК *Agtr2* снижен на треть.

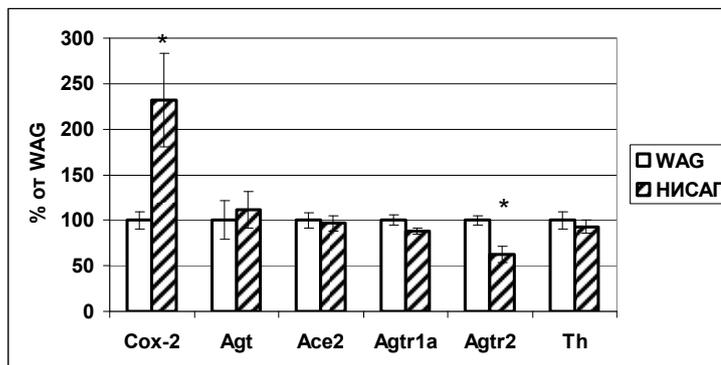


Рис. 4.5. Уровень мРНК изучаемых генов в надпочечниках молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG. Данные представлены в виде средних значений по группе \pm SEM. * – $p < 0,05$.

В надпочечниках молодых крыс НИСАГ, как и в мозговых структурах, мы наблюдаем дисбаланс экспрессии генов рецепторов Ang II: пониженную экспрессию *Agtr2* при практически неизменной для *Agtr1a*. Из литературных данных известно, что выключения экспрессии *Agtr2* при помощи введения нормотензивным крысам антисенс-последовательности к этому гену оказалось достаточно для стойкого эффекта повышения систолического АД и прессорного ответа на Ang II (Wang et al., 2004).

Нельзя не признать, что мы пока очень далеки от полного понимания роли рецептора AT2. Вероятно, главная причина этого – факт, что наука привыкла иметь дело с «активными» рецепторами, которые проявляют себя прямым действием, но не с ингибирующими или модулирующими рецепторами, каким во многих случаях выглядит AT2. Однако модуляция –

это важное свойство для тонкой настройки широкого спектра действий, которые в случае AT2 охватывают натрийурез, регуляцию температуры тела, артериальное давление, репродукцию, эмбриональное развитие, клеточную дифференцировку, восстановление поврежденной ткани и программируемую клеточную смерть (Steckelings et al., 2005). Для выяснения роли этого рецептора в развитии гипертонии у крыс линии НИСАГ необходимо исследовать его экспрессию не только в мозге и надпочечниках, но также в почках и сердце этих крыс.

Экспрессия AT2 может подавляться глюкокортикоидами (Matsubara, 1998). Есть данные и о снижении плотности рецептора AT2 в надпочечниках при повышенной концентрации альдостерона (Wang et al., 1998a). У взрослых (5-6 мес) крыс НИСАГ отмечается повышение глюкокортикоидной функции коры надпочечников и тенденция к росту секреции альдостерона (Антонов и др., 2010), что могло бы являться причиной наблюдаемого снижения экспрессии рецептора AT2, однако мы пока не располагаем сведениями о повышенной секреции кортикостерона или альдостерона у крыс НИСАГ в более раннем возрасте. С другой стороны, COX-2, чья экспрессия значительно повышена в надпочечниках молодых крыс НИСАГ, может стимулировать секрецию кортикостерона в ответ на АКТГ (Mohn et al., 2005). Показано, что фармакологическое ингибирование активности COX-2 значительно снижает продукцию стероидов, а механизм стимуляции стероидогенеза в клетках надпочечников грызунов включает в себя активацию индукции COX-2 (Martinez Calejman et al., 2011).

Экспрессия COX-2 в надпочечнике модулируется через рецептор ангиотензина AT1, поскольку показано, что блокада этого рецептора кандесартаном способна снижать не только индуцированные ЛПС синтез и секрецию альдостерона, но и экспрессию гена *Cox-2* (Sanchez-Lemus et al., 2008). Однако экспрессия гена этого рецептора в надпочечнике крыс НИСАГ не отличается от таковой у нормотензивной контрольной линии.

Мы наблюдали повышенную более чем вдвое экспрессию мРНК *Cox-2* в надпочечниках молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем. Вероятно, это отражает повышенную активность ГГАС, характерную для крыс этой линии, и высокий уровень АКТГ. Активность ГГАС, в свою очередь, может быть следствием модуляции простагландинами соответствующих мозговых структур (напомним, что уровень мРНК *Cox-2* в гипоталамусе у молодых крыс НИСАГ повышен на 37 % по сравнению с крысами WAG). Кроме того, высокий уровень экспрессии COX-2 может стимулироваться высоким уровнем Ang II и связанным с ним воспалением сосудистых стенок, которое сопровождает гипертонию (Cheng et al., 2005). Этот процесс воспаления может усиливаться и наблюдаемым дисбалансом в уровне экспрессии рецепторов ангиотензина, то есть снижением экспрессии *Agtr2* при не измененном уровне мРНК *Agtr1a* в надпочечниках молодых крыс НИСАГ (таким образом, формируется

положительная обратная связь). Не исключен и другой механизм стимуляции экспрессии *COX-2* в этом органе.

В надпочечниках молодых крыс WAG мы наблюдали положительную корреляцию между содержанием мРНК *Agt* и *Agtr1a*, что может указывать на аутокринные или паракринные функции ангиотензиновых пептидов в этом органе (Табл. 2). Однако у крыс НИСАГ такая корреляция не выявлена, как и отмеченная у WAG отрицательная корреляция между уровнями мРНК *Agt* и *Ace2* (которая объясняется ингибированием экспрессии фермента его субстратом), а также *Agt* и *Th*, что объяснить сложнее, поскольку связь между Ang II, продуцируемым и экспортируемым из хромаффинных клеток, и секрецией адреналина полностью не установлена и нуждается в изучении (см. у Carey & Siragy, 2003a); однако известно, что в мозговом веществе надпочечника среди рецепторов Ang II преобладают AT₂, чье действие во многом противоположно действию катехоламинов. Характер корреляции экспрессии генов надпочечников с генами других органов также не совпадает у крыс WAG и НИСАГ. Так, для крыс WAG показана положительная связь между уровнями мРНК *Th* в надпочечнике и *Agt* в гипоталамусе; это выглядит особенно логичным, если вспомнить, что именно уровень экспрессии *Agt* отражает содержание Ang II в данной ткани, и что изменение содержания Ang II в гипоталамусе может влиять на активность всей САС. Наблюдали также отрицательную (и менее значимую) корреляцию между экспрессией *Th* в надпочечнике и ренина в продолговатом мозге. У крыс НИСАГ ни одна из этих корреляций не выявлена даже на уровне тенденции, что свидетельствует о значительных изменениях в регуляции экспрессии изучаемых генов у гипертензивных животных. Более того, корреляция уровней мРНК *Th* в надпочечнике и ренина в продолговатом мозге у них оказалась положительной и статистически достоверной, что может указывать на связь РАС продолговатого мозга НИСАГ с активностью САС. Отрицательная корреляция для экспрессии *Th* в надпочечнике молодых НИСАГ отмечена с *Agtr2* в гипоталамусе и продолговатом мозге, *Ace* в гипоталамусе и легких и, что кажется удивительным, с *Agt* в продолговатом мозге. Содержание мРНК *Agt* в надпочечнике молодых НИСАГ положительно коррелирует с таковым в гипоталамусе и с уровнем мРНК ренина почки, а также с *Th* в продолговатом мозге (вероятно, все эти показатели могут быть связаны с повышенной СНА). Уровень экспрессии *Agtr1a* в надпочечниках показывает положительную корреляцию с уровнем мРНК *Ace* в сердце. В свою очередь, уровень мРНК *Coх-2* в надпочечниках молодых НИСАГ коррелирует с ее содержанием для *Ace* в почках.

В процессе созревания животных картина генной экспрессии меняется, и ни по одному из исследуемых в надпочечниках генов РАС, кроме *Ace2*, мы не наблюдали различий между взрослыми крысами двух линий в состоянии покоя. Разница в уровнях мРНК *Coх-2* также не достигала достоверного уровня (Рис. 4.6).

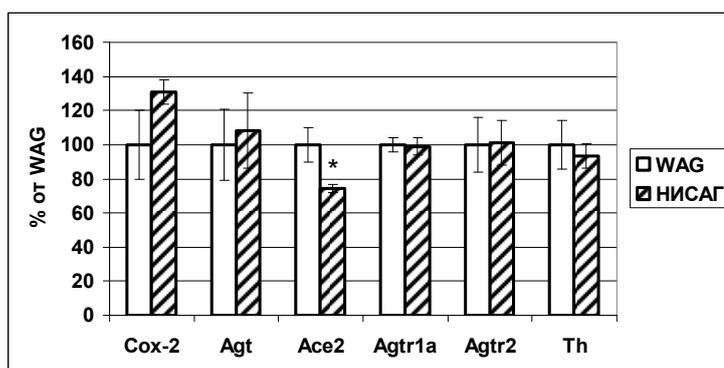


Рис. 4.6. Уровень мРНК изучаемых генов в надпочечниках взрослых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG.

Однако при стрессе обезвоживания возрастало содержание мРНК *Agtr1a* у зрелых крыс контрольной линии WAG, в то время как у крыс НИСАГ оно оставалось практически неизменным (Рис. 3.13,а). Уровень же экспрессии гена *Cox-2* при стрессе водной депривации достоверно снижался у крыс НИСАГ, но не у контрольных животных линии WAG (Рис. 3.29). При этом стресс обезвоживания не влиял на уровни мРНК генов *Agt* и *Agtr2*.

Можно предположить, что у крыс WAG рост экспрессии гена рецептора АТ1А направлен на увеличение секреции альдостерона. У гипертензивных крыс НИСАГ этот механизм оказывается подавлен. Постоянство экспрессии *Agtr1a* у крыс НИСАГ снова наводит на мысль об ином, не связанном с уровнем Ang II или его рецепторов, возможном механизме регуляции уровня экспрессии *Cox-2*. Для объяснения же факта снижения уровня мРНК *Cox-2* в надпочечниках при водной депривации у крыс НИСАГ, видимо, требуется анализ спектра содержания простагландинов в надпочечниках этих крыс, поскольку разные продукты COX-2 (PGF_{2α} и PGE₂) обладают различными и противоположными функциями в надпочечниках (Lambert-Langlais et al., 2009). Однако из результатов данного эксперимента можно сделать вывод, что реакция крыс как нормотензивной, так и гипертензивной линий на стресс водной депривации является стресс-специфичной и отличается от описанной в литературе реакции как на иммунный (Engström et al., 2008), так и на эмоциональный (Vane et al., 1998) стресс: нет не только достоверного повышения уровня мРНК *Th*, но и экспрессия *Cox-2*, чей продукт PGE₂ способен вызывать выброс катехоламинов, снижается у НИСАГ и остается неизменной у WAG.

4.2. Экспрессия *Th* у крыс линии НИСАГ

Ни одна из физиологических систем не функционирует изолированно от других, и в исследовании необходимо учитывать такие взаимодействия. Ренин-ангиотензиновая система тесно связана с работой симпатoadреналовой системы.

Гипертония – это, по определению, хроническое повышение среднесуточного давления, и болезнь многими авторами трактуется как нейрогенная, поскольку это зачастую нарушение в работе автономной нервной системы, а не первичный сосудистый или почечный дефект (Guyenet, 2006). Повышенная симпатическая нервная активность (СНА) присутствует в большинстве форм гипертонии человека (Schlaich et al., 2004), и причинная связь подтверждается хорошо задокументированной антигипертензивной эффективностью симпатолитических лекарств (например, антагонистов адренорецепторов).

Рост СНА окончательно определяется активацией регулирующих АД нейронов RVLM (Brooks et al., 2005; Stocker et al., 2006). Симпато-возбудительные эффекты, вызванные ростом концентрации натрия в мозге, могут быть важны для соль-индуцированной гипертонии (Brooks et al., 2005). Поскольку симпато-возбудительный эффект соли амплифицируется ангиотензином и альдостероном, соответствующая супрессия этих гормонов высоким уровнем потребления соли может быть синергична с легким подъемом осмолярности, вызываемым ростом потребления соли, и вести к гипертонии (Brooks et al., 2005). Эту концепцию поддерживают данные по DOCA-солевой модели гипертонии (O'Donoghuy & Brooks, 2006). Альдостерон может вызывать ответ через дискретную группу нейронов NTS, которые селективно отвечают на этот гормон в силу того, что они экспрессируют высокие концентрации минералокортикоидных рецепторов и инактивирующего глюкокортикоида фермента 11 β -HSD2 (HSD11B2; cortisol 11- β -reductase) (Geerling et al., 2006). Активность этих нейронов коррелирует с натриевым аппетитом, который регулируется Ang II.

В случае Ang II, повышенная продукция внутриклеточных ROS, особенно в SFO, кажется критичной для развития гипертонии, вызываемой ненормально высокими уровнями циркулирующего Ang II (Zimmerman et al., 2004). Ang II может влиять на многие точки сети, контролирующей симпатический тонус (то есть, медианное преоптическое ядро, PVN, NTS, RVLM, SPGNs и, возможно, все норадренергические нейроны). Нерегулируемый рост мозгового Ang II может вести к подъему среднесуточного АД (Morimoto et al., 2001). Тем не менее, ключевой, и до сих пор остающийся без ответа, вопрос – чем регулируется активность центральной PAC (Guyenet, 2006).

Гиперактивность барочувствительных нейронов RVLM в некоторых моделях гипертонии (например, SHR, соль-чувствительные крысы Dahl и крысы с почечной формой гипертонии) связана отчасти с повышенным уровнем возбуждения парвоцеллюлярных автономных нейронов гипоталамуса (Allen, 2002; Ito et al., 2003). Инъекция антагонистов как ангиотензиновых рецепторов, так и глутаматных в RVLM снижает АД в большей степени у специфических гипертензивных линий крыс (Sved et al., 2003; Ito et al., 2003). Предварительно этот эффект приписывается повышенному выбросу глутамата и ангиотензина нейронами PVN с

проекцией на RVLM, хотя другие объяснения также возможны, включая повышенную локальную продукцию Ang II клетками-резидентами в RVLM, повышенное число рецепторов Ang II или более эффективный механизм взаимодействия рецептор-эффектор в RVLM (Guyenet, 2006).

Базальная активность барочувствительных симпатических эфферентов происходит из сложной, но все более понятной сети нейронов, локализованных в гипоталамусе и продолговатом мозге. RVLM, вероятно, – наиболее важный узел этой сети (Guyenet, 2006). Несмотря на ее возможное значение для контроля АД, RVLM – только узловая точка сети ЦНС, имеющей необыкновенную сложность. На активность барочувствительных ганглионарных нейронов также несомненно влияют входящие сигналы из многих других областей помимо RVLM. Эти сигналы тонко подстраивают эффекты доминирующего возбуждения RVLM. Сеть ЦНС, контролирующая циркуляцию, также регулируется множеством веществ, поступающих из кровеносного русла, таких как натрий, O₂, CO₂, гормоны (например, минералокортикоиды и Ang II) и цитокины, которые достигают ЦНС напрямую или через циркумвентрикулярные органы, или влияют на мозг, способствуя выбросу способных к диффузии медиаторов (Ang II и IL-1) из сосудистого эндотелия. Повышенная симпатическая активность и гипертония часто коррелируют с активацией эндогенной PAC мозга и повышенным окислительным стрессом в субкортикальных структурах. Учитывая, что практически любой компонент субкортикальной симпатической сети, который был исследован, отвечает на Ang II, понимание механизмов, ответственных за активацию мозговой PAC, остается приоритетным. У гипертензивных людей и животных рост активности барочувствительных симпатических эфферентов не ограничивается почечными нервами, а более генерализован (Esler & Kaye, 2000). Тем не менее, корневая причина этого роста еще нуждается в объяснении, и, вероятно, вторична по отношению к повышенному симпатическому возбуждению от других мозговых структур, таких как PVN (Guyenet, 2006). Соответственно, также вероятно, что нейрогенная гипертония может происходить из схемы работы ЦНС, которая широко влияет на все барочувствительные симпатические эфференты или, возможно, даже на большой набор симпатических эфферентов (Reja et al., 2002).

Показано, что при некоторых видах стресса, затрагивающих PAC, в частности, геморрагическом, Ang II усиливает норадренергическую систему в мозге и активирует пресинаптические возбуждающие рецепторы на симпатических постганглионарных нервных окончаниях выбросом норадреналина. В мозге индуцированной геморрагией рост уровня циркулирующего Ang II действует на рецепторы в SFO и *area postrema*. Эти два циркумвентрикулярных органа экспрессируют рецепторы Ang II на высочайшем уровне в центральной нервной системе. Ang II, как и гипотензивная геморрагия, ведет к экспрессии Fos в

их нейронах (Pasak & Palkovits, 2001). Сигналы от этих областей достигают вазопрессин-синтезирующих нейронов в магноцеллюлярном PVN и супраоптическом ядре (Kvetnansky et al., 2009).

Симпатоадреналовая система участвует в регуляции АД, и эта же система является одним из основных нейроэндокринных звеньев стресса. В ответ на различные воздействия в организме происходит быстрое возбуждение симпатической нервной системы и усиление секреторной деятельности мозгового слоя надпочечников. Именно САС отвечает за активацию ферментов биосинтеза катехоламинов и резкое увеличение концентрации норадреналина и адреналина в плазме крови в ответ на стресс. Во многих исследованиях было показано, что в ответ на различные физиологические и фармакологические стимулы, такие как холодовой или иммобилизационный стресс, никотин, резерпин, форсколин, факторы роста и др., происходит рост уровня мРНК гена тирозин-гидроксилазы (*Th*) в мозговом веществе надпочечников – основном месте синтеза адреналина, а также голубом пятне (*Locus coeruleus*) – области расположения тел норадренергических нейронов головного мозга (Kvetnansky et al., 2009).

В лаборатории эволюционной генетики ИЦиГ СО РАН для линии крыс с наследственной индуцируемой стрессом артериальной гипертонией (НИСАГ) было показано, что базальный уровень адреналина в надпочечниках у них повышен по сравнению с контрольной линией WAG, которая, так же как и линия НИСАГ, селективирована из популяции аутбредных крыс Wistar (Маркель и др., 2006; Markel et al., 2007). Это свидетельствует о том, что, вероятно, у крыс этой линии присутствуют изменения в цепи биосинтеза катехоламинов.

В наших экспериментах мы не выявили различий в базальном уровне мРНК *Th* в надпочечниках крыс WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 и 4 месяца. Действие водной депривации хотя и выявило тенденцию к повышению экспрессии гена *Th* в этом органе у обеих линий крыс, но изменения не достигали статистически достоверного уровня.

В работе Бузуевой и сотр. (2006), посвященной возрастным особенностям структуры мозгового вещества надпочечника у крыс НИСАГ, было показано, что хромаффинные клетки 3-недельных крысят НИСАГ содержали больше плотных хромаффинных гранул, накапливающих секрет, чем у контрольных животных Вистар, указывая на более высокую гормон-синтетическую активность. Но этот же факт может свидетельствовать о том, что выброс катехоламинов при стрессе не требует их усиленного синтеза *de novo*, ограничиваясь накопленным в гранулах запасом. У крыс следующего возраста (6 мес) повышенная секреторная активность медуллы надпочечника обеспечивалась за счет гипертрофии этой ткани, а не усиления процессов биосинтеза на единицу объема, поскольку относительный объем шероховатой эндоплазматической сети и численная плотность свободных рибосом были на уровне контрольных значений. Как отмечено в недавней работе Антонова и др. (2010), «мы

имеем практически законченную картину гипертрофии железы, в результате которой «интенсивность функционирования структур», то есть «количество функции» на единицу массы органа у сравниваемых линий одинаково, однако общая продукция гормонов повышается за счет увеличения массы ткани, секретирующей гормон».

Нельзя не отметить и тот факт, что регуляция экспрессии гена *Th* может происходить как на уровне синтеза мРНК *de novo* или ее стабильности, так и на посттранскрипционном уровне. На долговременном уровне активность ТН может регулироваться модуляцией транскрипции, стабильностью РНК, альтернативным сплайсингом РНК (у приматов), трансляционной активностью и стабильностью фермента (Kvetnansky et al., 2009). Поэтому уровень содержания мРНК может не отражать в полной мере уровень биосинтеза катехоламинов у экспериментальных животных.

Наконец, говоря о незначительном и статистически недостоверном изменении уровня мРНК *Th* после водной депривации у крыс обеих линий, нельзя не учитывать стрессор-специфичность ответа катехоламинэргических систем (Goldstein & Kopin, 2007; Kvetnansky et al., 2009). Очевидно, при данном виде стресса адреномедуллярная система задействована в значительно меньшей степени, чем центральные катехоламинэргические системы, что подтверждается резким ростом экспрессии *Th* в гипоталамусе у крыс НИСАГ при этом воздействии.

Возрастную динамику экспрессии гена *Th* в мозге изучали в отделах, связанных с регуляцией артериального давления, то есть в гипоталамусе и продолговатом мозге. У молодых крыс НИСАГ уровень мРНК *Th* был значительно (втрое) повышен по сравнению с крысами WAG в гипоталамусе, но не в продолговатом мозге. Рост экспрессии ТН в дофаминэргических нейронах гипоталамуса может вести к торможению дофамином секреции гипофизотропных гормонов, либо непосредственно влиять на активность автономной нервной системы (Левин, 2008). В первом варианте деятельность дофаминэргической системы гипоталамуса может ограничивать активность ГГАС, повышенную, судя по росту экспрессии *Sox-2* в этом отделе. Второй вариант (взаимодействие между сегментами вегетативной нервной системы, либо между передними и задними отделами гипоталамуса) требует дополнительного изучения. Однако, поскольку известно (Левин, 2008), что дофаминэргическая и норадреналинэргическая системы действуют однонаправленно, можно предполагать рост симпатического тонуса у животных с повышенной экспрессией *Th* в гипоталамусе. К возрасту 4 мес паттерн экспрессии изменился, и повышенный вдвое уровень мРНК *Th* мы наблюдали в продолговатом мозге, но не в гипоталамусе. Возможно, это явление отражает хроническую гиперактивность барочувствительных нейронов RVLМ, которые контролируют почечную СНА (Madden & Sved,

2003; Dampney et al., 2005). Полученные данные согласуются с повышением уровня экспрессии катехоламинергических генов, наблюдаемым в RVLM у крыс SHR (Reja et al., 2002).

Водная депривация вызвала повышение содержания мРНК *Th* в гипоталамусе крыс НИСАГ втрое, в то время как у крыс WAG оно вообще не изменилось. Это наблюдение указывает на повышенную реактивность катехоламинергической системы крыс НИСАГ, в том числе и на такие воздействия, которые не оказывают влияния на крыс нормотензивной контрольной линии. При этом практически отсутствующая в надпочечниках реакция *Th* на лишение воды у крыс обеих линий согласуется не только с мнением о стресс-специфичности ответов разных звеньев симпато-адреналовой системы, но и с тем, что ответы этих звеньев, по крайней мере в отношении ТН, регулируются до определенной степени независимо друг от друга (Kvetnansky et al., 2009).

Общий образ изменений нейроэндокринного профиля крыс НИСАГ отличается от широко распространенной линии SHR. У обеих линий наблюдается значительное повышение адреномедуллярной активности (по SHR, см. Korner et al. 1993, O'Connor et al. 1999, Reja et al. 2002, Kuo et al. 2004). Однако следует отметить некоторые расхождения. Moura et al. (2005) показали, что, в противоположность повышенному содержанию норадреналина как в плазме, так и в стенке хвостовой артерии, которое соответствует более высокой периферической симпатической активности, базальная активность ТН и содержание катехоламинов в надпочечнике у SHR заметно понижены до, во время и после формирования гипертензии. У крыс НИСАГ выявлено повышенное по сравнению с контрольной линией крыс содержание адреналина в надпочечнике (Маркель и др., 2006; Markel et al., 2007).

4.3. Секвенирование кодирующего сигнальный пептид фрагмента гена *Ngfr*; характеристика локуса этого гена.

Симпатическая нервная система является одним из основных нейроэндокринных звеньев стресса. Особенности формирования СНС могут оказывать существенное влияние на становление гипертензивного статуса. Так, у крыс линии SHR, широко используемой при изучении гипертензии, выявлены гипериннервация сосудистой ткани и гипертрофия симпатических ганглиев, и причиной может являться повышенное содержание фактора роста нервов NGF в тканях кровеносной системы молодых крыс линии SHR по сравнению с нормотензивными крысами линии Wistar-Kyoto (WKY) того же возраста (Falkh et al., 1992; Zettler, Rush, 1993). Как известно, фактор роста нервов NGF служит нейротрофным агентом для периферических симпатических нейронов (Thoenen et al., 1987). Нейротрофины – белки, контролируемые выживание и рост нейронов в процессе развития нервной системы

позвоночных. Их функции опосредованы действием рецепторов. Роль LNGFR – трансмембранного гликопротеинового рецептора нейротрофинов, не имеющего собственного каталитического домена, – заключается во взаимодействии с другими рецепторами, обладающими тирозинкиназной активностью (Trk), что ведет к их активации и повышению специфичности при связывании нейротрофинов (Barker, 1998; Bibel et al., 1999). Вместе с тем, в некоторых случаях LNGFR индуцирует апоптоз клеток, не экспрессирующих Trk (Banji et al., 1998; Bibel et al., 2000), и этот процесс блокируется как снижением уровня LNGFR, так и связыванием рецептора с фактором роста нервов NGF (Bredesen et al., 2005) или его предшественником – proNGF (Barker, 2004).

Скрещивание крыс линий SHRSP и WKY позволило установить ассоциацию локуса гена *Ngfr*, расположенного на хромосоме 10 и кодирующего LNGFR, с повышенным АД (Hilbert et al., 1991). Исследователи предположили, что отклонения в формировании симпатической нервной системы у крыс SHR могут быть вызваны изменением восприимчивости симпатических нервов к NGF (Nemoto et al., 1994).

У крыс гипертензивных линий SHR и SHRSP, но не у нормотензивных крыс Donqu и Wistar, в нуклеотидной последовательности гена *Ngfr* была выявлена точечная мутация (замена G на A), ведущая к замене Ala на Thr в районе сигнального пептида LNGFR (Nemoto et al., 1994). Эта замена приводит к изменению конформации полипептида (β -петля вместо α -спирали). Нарушение структуры сигнального пептида влияет на перенос LNGFR и его встраивание в клеточную мембрану симпатических нейронов. Исходя из этого, авторы предположили, что мутация *Ngfr* может вести к изменениям в формировании и функционировании симпатических нейронов, влияя на нейротрофное воздействие NGF на нейроны. Вместе с тем, учитывая данные о роли LNGFR в апоптозе в процессе роста и развития нервных клеток, нельзя исключить и того, что механизм нарушений формирования симпатической нервной системы у крыс SHR обусловлен именно этой ролью рецептора.

В дальнейшем было показано (Nemoto et al., 1996), что эта мутация ассоциирована с гипертензивным статусом крыс линии SHR и производной от нее линии WKHT. Кроме того, у крыс WKHT эта мутация вызывает те же морфологические изменения, что и у SHR: гипериннервацию сосудистой ткани и гипертрофию симпатических ганглиев.

О.Е.Рединой был проведен поиск генетических локусов, ответственных за формирование гипертензивного статуса в условиях эмоционального стресса, у крыс линии НИСАГ и выявлена ассоциация локуса гена *Ngfr* с повышением АД при стрессе у молодых (3 мес) крыс НИСАГ (Редина и др., 2003). Однако экспрессия этого гена происходит в эмбриональном и раннем постнатальном периоде, быстро угасая к возрасту 2 недель. Ее изучение методами ПЦР в период интенсивного формирования всех органов и систем

сопряжено с серьезными трудностями, и главным препятствием является невозможность использования в качестве внутреннего стандарта общепринятых «генов домашнего хозяйства», экспрессия которых в возрасте от рождения до, по крайней мере, 1 месяца изменяется разнонаправленно у животных разных линий.

Учитывая приведенные данные и соображения, мы предприняли прямой поиск мутации, аналогичной упомянутой выше для SHR, у крыс линии НИСАГ, полученной, как и SHR, из линии Wistar. У крыс линий НИСАГ и WAG мы секвенировали фрагмент 5'-области гена *Ngfr* размером 345 п.н., который включает последовательность, кодирующую сигнальный пептид предшественника рецептора (Рис. 3.30).

Мы обнаружили, что у нормотензивной линии WAG и у гипертензивной линии НИСАГ секвенированная последовательность одинакова и не содержит мутации, свойственной линии крыс со спонтанной гипертонией SHR. Однако это не исключает возможности иного, чем у крыс SHR, механизма участия гена *Ngfr* в формировании гипертензивного статуса у крыс линии НИСАГ. Предполагаемые отличия могут касаться как изменений в нуклеотидной последовательности, кодирующей зрелый белок-рецептор, так и нарушений в регуляции транскрипции гена *Ngfr* и требуют дальнейшего изучения.

С другой стороны, не секрет, что метод поиска генов-кандидатов с использованием микросателлитных ДНК-маркеров не является высокоточным, и выявленный этим методом локус может включать в себя большое количество генов. Группа исследователей, изучавших район 10-й хромосомы BP/SP-1 протяженностью 35 сМ, ассоциированный с высоким давлением у крыс SHR, сумела выделить внутри него два сублокуса BP/SP-1a и 1b (Рис. 4.7) (Kreutz et al., 1995b). Первый из них, размером в 6 сМ, простирающийся от локуса гена тяжелой цепи миозина до генов альдолазы и индуцируемой NOS, ассоциирован с высоким базальным давлением и включает в себя локусы таких генов как *Vamp2*, связанный с проницаемостью мембраны клетки при нейрональном экзоцитозе, и ген $\beta 2$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы. Второй, картируемый внутри интервала в 20 сМ, включает участок хромосомы от локуса гена *Ngfr* до гена гормона роста. Данный локус BP/SP-1b, помимо генов *Ngfr*, гормона роста и *Ace*, включает в себя, как теперь известно, гены альфа-субъединицы потенциал-зависимого быстрого натриевого канала, рецептора тиреоидного гормона, факторов транскрипции, нейропептида орексина и других регуляторных белков. Было показано, что у крыс SHR этот сублокус ассоциируется с ростом давления при повышенной солевой нагрузке, но не с высоким базальным давлением, что может свидетельствовать о разных механизмах формирования гипертензивного статуса у животных линий SHR и НИСАГ. Но также вероятно, что в формирование стресс-индуцированной гипертонии вовлечены иные, чем *Ngfr*, гены данного локуса.

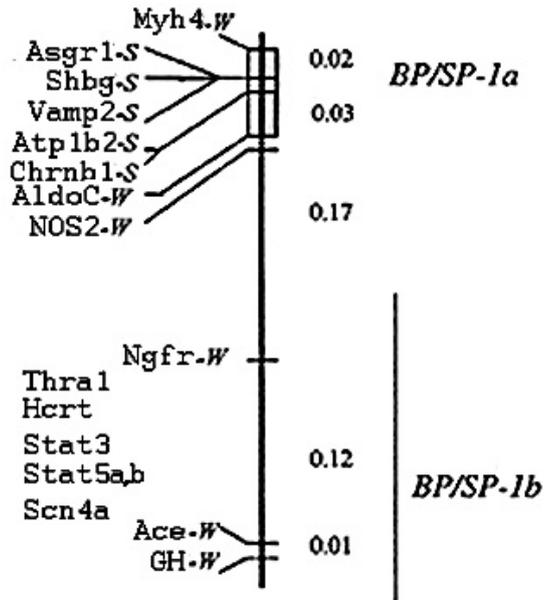


Рис. 4.7. Районы 10-й хромосомы BP/SP-1a и BP/SP-1b (по *Kreutz et al., 1995*, с дополнениями). *Myh4* – тяжелая цепь миозина, *Asgr1* – асиалогликопротеиновый рецептор, *Shbg* – андроген-связывающий протеин, *Vamp2* – синаптобrevин (проницаемость мембран в нейрональном экзоцитозе), *Atp1b2* – β 2-субъединица Na^+/K^+ -транспортирующей АТФ-азы, *Chrnbl* – β -субъединица рецептора ацетилхолина, *AldoC* – альдолаза, *NOS2* – индуцибельная NO-синтаза, *Ngfr* – рецептор фактора роста нервов низкой аффинности, *Ace* – ангиотензин-превращающий фермент, *GH* – гормон роста. В рисунок дополнительно включены: *Thra1* – α 1-рецептор тиреоидного гормона, *Hcrt* – нейропептид орексин, *Stat3*, *Stat5* – активаторы транскрипции, *Scn4a* – альфа-субъединица быстрого натриевого канала.

Продукты некоторых генов, входящих в данный локус, потенциально могут влиять на артериальное давление. Так, локус BP/SP-1a наряду с другими генами включает в себя *Atp1b2*, ген β 2-субъединицы Na^+/K^+ -транспортирующей АТФ-азы, изменения в работе которой могут приводить к нарушению водно-солевого обмена в почках. Интересно, что для локуса α -субъединицы этой АТФ-азы в упомянутой выше работе Рединой показана ассоциация с признаком повышения АД при стрессе у 6-месячных крыс НИСАГ. С другой стороны, в работе Лопиной и сотр. (1991) было показано, что Na^+/K^+ -АТФ-аза по своим биохимическим параметрам не отличалась у крыс НИСАГ и Вистар (а по приведенным в статье литературным данным – и у крыс линий DS и SHR от соответствующих контрольных линий). Изменение же активности фермента при стрессе отражало изменение не свойств самого фермента, а физико-химических свойств мембран микросом, в частности, их липидной части.

Поскольку в приведенной выше работе Рединой с сотр. было показано отсутствие ассоциации с повышением АД при стрессе маркера, расположенного в 10 сМ от гена *Ngfr* и в 3 сМ от гена *AldoC*, можно полагать, что расположенный за этим маркером сублокус BP/SP-1a, связанный с высоким базальным систолическим давлением у крыс SHR, не влияет на повышение АД при стрессе у крыс НИСАГ. Сублокус BP/SP-1b, связанный у крыс SHR с ростом АД при солевой нагрузке, включает в себя несколько генов, потенциально способных

(прямо или косвенно) влиять на формирование гипертензивного статуса или изменение АД у крыс. Так, показано участие гормона роста в формировании кардиальной гипертрофии в ответ на повышенную нагрузку (Dorn II, Force, 2005). Гормон роста через свой рецептор ведет к фосфорилированию янус-киназы (JAK-2), которая, в свою очередь, активирует транскрипцию ряда генов через белки STAT (Sonntag et al., 1999); гены некоторых из них (а именно, STAT3, STAT5a и 5b) также присутствуют в рассматриваемом локусе.

STAT – транскрипционные факторы из семейства сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции. Сигнальная трансдукция через сигнальный путь JAK/STAT – это важнейший медиатор провоспалительных и иммунных ответов в ЦНС (Campbell, 2005). Активация пути JAK/STAT достигается связыванием цитокинов с их рецепторами на поверхности клеток, ведущим в конечном счете к фосфорилированию факторов STAT. Активированные STATs обеспечивают экспрессию иммунных молекул связыванием цис-элементов в промоторах целевых генов и активацией транскрипции. Два члена этого семейства, STAT5A и STAT5B (вместе называемые STAT5), имеют особое значение, поскольку активируются широким кругом цитокинов, таких как интерлейкины, эритропоэтин, гормон роста, пролактин. Нарушение сигнальных путей цитокинов через STAT5 приводит к ряду клеточно-специфических эффектов, от дефектов иммунной системы и нарушенного эритропоэза до изменения печеночных функций. На молекулярном уровне STAT5 связаны с клеточной специализацией, пролиферацией, дифференцировкой и выживанием (Hennighausen & Robinson, 2008).

STAT5 вовлечены в широкий круг сигнальных событий, в первую очередь, в иммунной системе, эпителиальных клетках молочных желез и гепатоцитах. STAT5A – преобладающий белок STAT5 в ткани молочной железы, STAT5B чаще встречается в мышцах и печени. Другие ткани, такие как сердце и слюнные железы, имеют равные количества STAT5A и STAT5B.

Было показано (Engblom et al., 2007), что для многих функций, проявляющихся с помощью факторов транскрипции, требуется физическое взаимодействие STAT5 и глюкокортикоидного рецептора (GR). Исследования *in vitro* показали связывание GR со STAT5A (Stocklin et al., 1996). Делеция GR в гепатоцитах приводит к задержке роста тела подобно тому, который наблюдали у мышей с отсутствием STAT5B в печени (Tronche et al., 2004), подтверждая функциональное взаимодействие между двумя транскрипционными факторами. Более 40% генов, чья экспрессия редуцируется в отсутствие GR, показывают такое же снижение экспрессии при отсутствии STAT5 в печени мышей. Набор генов, который требует взаимодействия GR–STAT5, включает и те, которые контролируют рост тела и созревание (взреление), а также метаболизм жирных кислот (Engblom et al., 2007).

Гормон роста GH контролирует в большой степени физиологию гепатоцитов. Большая часть сигналов GH опосредована фактором транскрипции STAT5B. Аналогично, глюкокортикоидный рецептор (GR) контролирует многие физиологические параметры гепатоцитов (Tronche et al., 2004), которые во многом перекрываются с теми, которые контролирует GH. Роль STAT5 в гепатоцитах сводится к модулированию клеточного метаболизма и продукции IGF-1, ключевого регулятора постнатального роста тела. Задержка роста у индивидуумов, несущих мутации STAT5B или GHR, сходна по проявлению (Engblom et al., 2007).

Зависимый от другого активатора транскрипции, STAT3, сигнальный путь играет роль в развитии гипертрофии, индуцированной ингибиторным фактором лейкемии (leukemia inhibitory factor, LIF), членом семейства IL-6-связанных цитокинов. Кроме того, активация сигнального пути JAK/STAT в сердце крысы ассоциирована с кардиальной гипертрофией, стимулированной кардиотрофином-1, другим членом семейства IL-6-связанных цитокинов, с кардиальной дисфункцией во время ишемии и реперфузии, миокардиальной ишемии и острого инфаркта миокарда (Yu et al., 2003). IL-6R действует в основном через STAT3 (Cui et al. 2007). Активированный STAT3 переносится в ядро и активирует экспрессию многих генов в ответ на цитокины (Yu et al., 2003). Например, исследования гепатоцитов и нервных клеток показали, что IL-6 индуцирует фосфорилирование Tyr705 в STAT3 через активацию JAK2 (Niehof et al., 2001). В зрелых кардиомиоцитах стимуляция IL-6 быстро повышала фосфорилирование STAT3 (по Tyr705) и ERK1/2 (по Tyr204). Более того, IL-6 усиливал синтез *de novo* белка iNOS, повышающего продукцию NO, и снижал сократительную способность сердца после 2 часов инкубации. Был сделан вывод, что IL-6 активирует независимо сигнальные пути JAK2/STAT3 и ERK1/2, но только путь JAK2/STAT3 опосредует связанное с NO снижение сердечных сокращений (Yu et al., 2003).

С сигнальными путями цитокинов связан еще один ген локуса BP/SP-1b – ген супрессора сигнальных путей цитокинов 7 (*Socs7*). Супрессоры сигнальных путей цитокинов (Suppressor of cytokine signaling, SOCS) – это внутриклеточные белки, индуцируемые цитокинами и подавляющие сигнальные пути цитокинов в клетках множества типов, включая клетки иммунной и центральной нервной систем (Baker et al., 2009). При стимуляции цитокинов, семейство белков SOCS быстро индуцируется. Основная функция этих белков – заблокировать генерацию сигналов STAT от цитокиновых рецепторов (Alexander & Hilton, 2004; Yoshimura et al., 2007). Важно, что гены, кодирующие белки SOCS, являются прямыми мишенями белков STAT; каскады JAK-STAT, таким образом, контролируют свой собственный сигнальный выход ингибированием через обратную связь.

Показано, что SOCS7 высоко экспрессируется в мозге (Yoshimura et al., 2005). В описанном эксперименте мыши SOCS7^{-/-} были от 7 до 10% мельче, чем их ровесники дикого типа, и к возрасту 15 недель около 50% SOCS7-дефицитных мышей погибали в результате гидроцефалии, что характеризовалось краниальной дисторсией, снижением толщины коры мозга и нарушениями в субкомиссуральном органе и желудочковой системе (Krebs et al., 2004). Таким образом, SOCS7 важен для функционирования нервной ткани.

В локусе BP/SP-1b присутствуют и гены транскрипционных факторов *Sp2* и *6*, необходимых при экспрессии генов клеточного цикла и развития (Xie et al., 2010). *Sp2* – относительно слабо охарактеризованный член семейства *Sp*, поскольку, несмотря на широкую экспрессию, проявляет крайне слабое связывание ДНК или транскрипционную активность в клетках человека и мышей. Показано, что *Sp2* транскрибируется в эмбриональных и зрелых тканях и требуется для завершения гаструляции. *Sp2* необходим для определенных функций в раннем эмбриональном развитии, которые не могут быть замещены другими членами семейства *Sp* или не связанными с ним транскрипционными факторами (Xie et al., 2010). *Sp6*, также называемый эпипрофин, специфически экспрессируется в зубных зачатках, волосяных фолликулах и зачатках конечностей. Методом микроаггау-анализа было показано, что *Sp6* меняет экспрессию почти 1000 генов (Ruspita et al., 2008). Нокаутные по *Sp6* мыши мельче, чем их ровесники дикого типа, и 20% их погибает до 2-месячного возраста от неизвестных причин (Nakamura et al., 2008; Hertveldt et al., 2008).

Следующий кандидат на внимательное рассмотрение – нейропептид орексин (гипокретин), найденный первоначально в гипоталамусе, а впоследствии – в различных отделах желудочно-кишечного тракта, репродуктивной системе и коре надпочечников, где он (независимо от центральных механизмов) стимулирует выделение кортикостероидов (Thannickal, 2009; Ohno, Sakurai, 2008). Проекции орексинных аксонов и орексинные рецепторы находятся в голубом пятне, дорзальных ядрах шва, аркуатном (дугообразном) ядре, гиппокампе, а также паравентрикулярном ядре и латеральной области гипоталамуса. Основной функцией орексинов является поддержание состояния бодрствования. Эндогенная нехватка орексинов приводит к нарколепсии — заболеванию, характеризующемуся нарушениями циклов сна-бодрствования (Thannickal, 2009; Ohno, Sakurai, 2008).

Орексины (от *греч.* орекисис — аппетит) представляют собой олигопептиды, которые образуются в результате расщепления одного белка-предшественника — препроорексина (Sakurai et al., 1998). Основной пул орексин-содержащих нейронов локализован в латеральной области гипоталамуса (Шаинидзе и др., 2008). Известно, что разрушение латерального гипоталамуса ведет к снижению потребления пищи, двигательной активности, угнетению эмоций, ослаблению устойчивости к стрессорным воздействиям. С другой стороны, показано

влияние нейропептида орексина на большинство вышеперечисленных процессов (Hervieu et al., 2001). Небольшая часть их также представлена в паравентрикулярном ядре гипоталамуса (PVN), дорзомедиальном ядре и заднем поле гипоталамуса. Внутривентрикулярное введение орексина ведет к активации ГГАС и повышению уровня кортикостерона в плазме крови (Kugu et al., 2000), а также секреции адренкортикотропного гормона (АКТГ) из клеток гипофиза и увеличению количества *c-Fos*-позитивных нейронов в мелкоклеточной части PVN, на мембранах которых, как и на мембранах клеток гипофиза, были обнаружены рецепторы к орексинам (Spinazzi et al., 2006).

В настоящее время есть основания полагать, что нейромедиаторы орексин А и орексин В могут принимать участие в реализации реакции мозга на стрессорные воздействия. При воздействиях, связанных с пищевым поведением, сном и процессом восприятия боли, а также при охлаждении и ограничении подвижности молодых крыс, т.е. при стрессе, показано увеличение количества *c-Fos*-позитивных орексин-содержащих клеток гипоталамуса, сопровождающееся усилением экспрессии м-РНК препроорексина в нейронах гипоталамуса (Ida et al., 2000). Участие системы орексин-содержащих нейронов в развитии стрессорных реакций подтверждают и данные о том, что увеличение экспрессии гена *c-Fos* в орексин-позитивных клетках совпадает со временем выхода АКТГ из клеток гипофиза в ответ на внутривентрикулярное введение орексина А (Шаинидзе и др., 2008). Орексиновые рецепторы первого типа (OXR1) представлены в соматотрофных клетках аденогипофиза, где синтезируется гормон роста, а орексиновые рецепторы второго типа (OXR2) располагаются в промежуточной доле на мембране кортиколипотрофных клеток аденогипофиза, в которых синтезируется АКТГ. На мембранах мелких клеток паравентрикулярного ядра, продуцирующих кортикотропин-рилизинг гормон, были обнаружены OXR2 (Kugu et al., 2000). По-видимому, орексины в качестве нейромедиаторов участвуют в процессе реализации реакций мозга на стрессорные воздействия. Это положение подтверждается данными о том, что орексины А и Б при внутривентрикулярном введении инициируют активацию нейромедиаторных систем — дофаминергической, серотонинергической и норадренергической (Spinazzi et al., 2006; Шаинидзе и др., 2008).

Среди генов локуса BP/SP-1b некоторый интерес вызывает и ген альфа-субъединицы быстрого натриевого канала *Scn4a*, поскольку известно, что его мутации могут приводить к нарушениям калиевого обмена, а также не отмеченные на Рис. 4.7 гены субъединиц $\beta 1$, $\gamma 1$, $\gamma 4$ и $\gamma 5$ потенциал-зависимого кальциевого канала, рецепторов хемокинов *ccr7* и *10* и еще несколько генов регуляторных белков, каждый из которых может быть связан с изменениями АД при стрессе.

Хемокины играют фундаментальную роль в развитии, гомеостазе, функциях иммунной системы и воздействуют на клетки центральной нервной системы, как и на эндотелиальные клетки, участвующие в ангиогенезе и ангиостазе. Рецептор хемокинов CCR7 экспрессируется в лимфоидных тканях и активирует В и Т-лимфоциты. Он контролирует миграцию «Т-клеток памяти» к вторичным лимфатическим органам, таким как лимфоузлы, а также стимулирует созревание дендритных клеток (Escribano et al., 2009; Sánchez-Sánchez et al., 2004). CCR10, впрочем, вряд ли связан с регуляцией АД, поскольку является рецептором хемокина, участвующего в опосредованных Т-клетками кожных воспалениях (Eksteen et al., 2006).

Наконец, была описана малая ГТФаза кВ-Ras, чей ген *Nkiras2* также найден в локусе BP/SP-1b. кВ-Ras был идентифицирован как взаимодействующая с IкВ малая ГТФаза, и сообщалось, что он нарушает индуцированную цитокинами активацию NFκB (NFκB – важный транскрипционный фактор, участвующий в различных биологических ответах, включая воспаление, клеточную дифференцировку и канцерогенез). Показано, что кВ-Ras – это новый тип ядерно-цитоплазматической малой ГТФазы, которая в основном связывается с ГТФ, и ее локализация регулируется ее состоянием связывания ГТФ/ГДФ (Tago et al., 2010).

Таким образом, локус *Ngfr* оказывается богат на гены регуляторных белков, связанных с важнейшими процессами в организме, в том числе с развитием, ростом, клеточной дифференцировкой и т.д. Поскольку эти процессы наиболее интенсивно происходят в молодом возрасте, легко можно объяснить связь факторов, влияющих на них, с изменениями в АД при стрессе именно у молодых животных. Но чтобы точно определить, какие из этих факторов на самом деле экспрессируются с отклонениями у крыс НИСАГ, требуется отдельная, кропотливая и объемная работа.

С другой стороны, локус BP/SP-1b содержит ген ангиотензин-превращающего фермента *Ace*, что снова возвращает нас к рассуждениям о роли ренин-ангиотензиновой системы в становлении стресс-чувствительной гипертензии у крыс линии НИСАГ.

4.4. Заключение

Изучение экспрессии генов PАС, а также тирозин-гидроксилазы и циклооксигеназы-2 показало, что развитие гипертензивного статуса у крыс НИСАГ проходит в два этапа, в полном согласии с теорией Джонсона. На первом этапе, у молодых животных, мы наблюдали повышенную экспрессию ренина в почке, а также активацию мозговой PАС, что выражалось в увеличенном содержании мРНК *Agt* и в дисбалансе рецепторов ангиотензина. В мозговых структурах и в надпочечнике был высок уровень экспрессии *Cox-2*, а уровень мРНК *Th* повышен в гипоталамусе, свидетельствуя о высокой активности центрального звена симпатической нервной системы. На втором этапе, к 4 месяцам, PАС почки и мозговых структур демонстрируют сниженную активность, а высокая экспрессия *Th* теперь наблюдается в продолговатом мозге, где локализованы барорецепторные нейроны. В миокарде выявляются изменения, характерные для сопутствующей гипертонии левовентрикулярной гипертрофии: высокая экспрессия *Ace*, которая нормализуется снижением потребления воды.

Что же является причиной наблюдаемых изменений? Экспрессия ренина в почке стимулируется симпатической нервной активностью, и высокая активность как симпатической нервной системы, так и ГГАС у крыс НИСАГ показана во многих работах. Но чем определяется эта активность? Мы показали высокий уровень экспрессии *Agt* в гипоталамусе и продолговатом мозге у молодых животных, следствием которого может быть рост содержания Ang II в этих структурах. Ang II оказывает сильное влияние на ЦНС, регулируя и модулируя ощущение жажды, солевой аппетит, выброс вазопрессина и симпатическую нервную активность. Он может активировать синтез катехоламинов мозга, а также, через рост активности COX-2, вести к активации ГГАС. Кроме того, дисбаланс рецепторов ангиотензина как в мозге, так и в надпочечниках способен сам по себе стать причиной стойкого повышения АД. Повышенная экспрессия COX-2 в мозге молодых крыс НИСАГ также может вносить свой вклад в рост АД у этих животных. Наконец, ранее выявлена ассоциация роста АД при стрессе у молодых крыс НИСАГ с локусом *Ngfr* на 10-й хромосоме, содержащим не только ген *Ace*, но и регуляторные гены, способные прямо или косвенно влиять на этот показатель. Возможно, решение вопроса о первопричине может быть найдено среди генов этого локуса, хотя стресс-индуцируемая гипертония, безусловно, не является моногенным заболеванием.

Анализ корреляций между уровнями мРНК изучаемых генов показал существенное различие между двумя линиями животных. Не все эти корреляции легко объяснить, и некоторые из них, возможно, являются случайными совпадениями. Однако совершенно определенно можно сделать вывод о том, что регуляция транскрипции генов PАС, PАС и системы синтеза простагландинов значительно изменена у крыс линии НИСАГ. Это следует в

первую очередь из практически полного исчезновения корреляций между экспрессией изучаемых генов внутри одного органа, что наблюдается в почках и надпочечниках крыс НИСАГ, а также изменения соответствий между экспрессией генов в разных органах: утраты связи экспрессии генов в миокарде с таковой в мозговых структурах; появления многочисленных корреляций между экспрессией ренальных *Cox-2* и *Ren*, с одной стороны, и уровнями мРНК генов РАС в мозге и надпочечнике, с другой, а также корреляций между экспрессией генов в мозговых структурах и надпочечнике. Вместе с тем, у крыс НИСАГ более явно проступает взаимосвязь экспрессии генов на уровне организма: повышенный уровень мРНК *Agt* в гипоталамусе, свидетельствующий о росте содержания Ang II в этой структуре, коррелирует с повышенным уровнем мРНК ренина в почке, откуда тот поступает в циркуляторное русло. В свою очередь, экспрессия почечного гена ренина (и *Cox-2*) связана с уровнем ACE в этом русле, о чем свидетельствует положительная корреляция рениновой мРНК с мРНК *Ace* в легких у крыс НИСАГ.

В любом случае, артериальная гипертензия у крыс НИСАГ затрагивает функции множества генов из разных физиологических систем, и ренин-ангиотензиновая система, наряду с ГГАС, симпатoadреналовой и системой биосинтеза простагландинов, играет далеко не последнюю роль в формировании гипертензивного статуса у крыс линии НИСАГ.

ВЫВОДЫ

1. Получен профиль уровней мРНК генов ренин-ангиотензиновой системы, из которого следует:

а) В почках молодых (1,5 мес) крыс линии НИСАГ повышена активность ренинового гена. У взрослых крыс НИСАГ транскрипционная активность генов почечной РАС снижена как в покое, так и при водной депривации.

б) В гипоталамусе и продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ повышена активность РАС, что выражается в росте экспрессии гена *Agt* и дисбалансе экспрессии генов ангиотензиновых рецепторов: в гипоталамусе повышен уровень экспрессии *Agtr2*, а в продолговатом мозге – *Agtr1a*. В гипоталамусе снижен уровень экспрессии *Ace2*. Водная депривация снижала уровень экспрессии *Ren* в гипоталамусе у крыс WAG, но не НИСАГ.

в) В миокарде взрослых крыс НИСАГ снижена экспрессия гена *Agtr1a*, но повышена – *Ace*, что характерно для гипертрофии левого желудочка. Водная депривация снижала содержание мРНК *Ace* до уровня WAG.

г) в надпочечниках молодых крыс НИСАГ снижена экспрессия гена *Agtr2*. У взрослых интактных крыс различия в экспрессии генов РАС отсутствуют. Стресс обезвоживания усиливает экспрессию *Agtr1a* только у крыс WAG, но не НИСАГ.

2. Показано, что система биосинтеза простагландинов активирована у молодых, но не у взрослых, крыс НИСАГ, что выражается в повышенном уровне мРНК циклооксигеназы-2 в мозговых структурах и надпочечниках. У интактных взрослых крыс НИСАГ уровень мРНК *Cox-2* в почках понижен, но при водной депривации, требующей роста секреции ренина, повышается уровень мРНК *Cox-2* у НИСАГ втрое, а у WAG – менее чем вдвое. При этом экспрессия *Cox-2* в надпочечнике снижается.

3. Выявлено повышенное содержание мРНК *Th* в гипоталамусе у молодых и в продолговатом мозге – у взрослых крыс НИСАГ. В гипоталамусе взрослых крыс уровень мРНК *Th* возрастал при мягком обезвоживании у крыс НИСАГ, но не WAG. В надпочечниках не выявлено межлинейных различий в экспрессии *Th* ни в состоянии покоя, ни при стрессе.

4. Гипертонический статус у крыс НИСАГ формируется в два этапа, что следует из разницы в транскрипционной активности изучаемых генов РАС, а также *Th* и *Cox-2* между молодыми (1,5 мес) и взрослыми (4 мес) крысами.

5. Секвенирование фрагмента 5'-области гена *Ngfr*, который включает последовательность, кодирующую сигнальный пептид предшественника рецептора фактора роста нервов низкой аффинности, показало, что у крыс нормотензивной линии WAG и

гипертензивной линии НИСАГ данная последовательность одинакова и не содержит мутации, свойственной линии крыс SHR со спонтанной гипертонией.

6. Существенные изменения корреляционных связей между уровнями мРНК изучаемых генов у молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем позволяют говорить о системном изменении полигенной структуры регуляции АД у гипертензивных крыс линии НИСАГ.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТРАТУРЫ

1. Антонов Е.В., Морева Т.А., Черкасова О.П., Гишинский М.А., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Изучение секреторной активности коры надпочечника у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Бюлл. СО РАМН. 2010. Т. 30, № 4. С. 68-75.
2. Антонов Е.В., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Альдостерон и стрессзависимая артериальная гипертензия // Бюлл. exper. биол. мед. 2011. № 8. С.148-151.
3. Антонов Е.В., Хидирова Л.Д., Маркель А.Л., Летягина В.В., Якобсон Г.С. Изменения глюко- и минералокортикоидной функции надпочечников у крыс в динамике экспериментального инфаркта миокарда // Успехи совр. естествознания. 2009. № 9. С.190.
4. Бузуева И.И. Влияние введения эналаприла в раннем периоде постнатального онтогенеза на структуру надпочечников у взрослых крыс гипертензивной линии НИСАГ// Бюлл. exper. биол. мед. 2006. Т.141, № 2. С.133-136.
5. Бузуева И.И., Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Возрастные особенности структурной организации мозгового вещества надпочечника у крыс гипертензивной линии НИСАГ // Бюлл. exper. биол. мед. 2006. Т.142, № 12. С.604-606.
6. Бузуева И.И., Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д., Кудряшова Д.Р., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Отсроченный эффект ведения лозартана и теразозина в препубертатном периоде онтогенеза на структуру клубочковой зоны коры надпочечника у крыс линии НИСАГ // Бюлл.СО РАМН. 2007. №3(125). С.98-102.
7. Бузуева И.И., Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Структурные особенности сетчатой зоны коры надпочечников у крыс гипертензивной линии НИСАГ// Бюлл. exper. биол. мед. 2008. Т.146, № 11. С.594-596.
8. Бузуева И.И., Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Влияние хронического стресса на структуру надпочечника крыс гипертензивной линии НИСАГ после превентивного лечения теразозином // Бюлл. СО РАМН. 2010. Т.30, № 4. С.56-61.
9. Бузуева И.И., Шмерлинг М.Д., Филюшина Е.Е., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Структурные особенности коры надпочечника крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией в раннем периоде постнатального онтогенеза // Морфология. 1998. № 2. С.84-88.
10. Бузуева И.И., Шмерлинг М.Д., Филюшина Е.Е., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Структурная характеристика коры надпочечника крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией в позднем периоде постнатального онтогенеза // Морфология. 2000. № 6. С.61-65.
11. Гордиенко Н.И., Маслова Л.Н., Маркель А.Л., Науменко Е.В. Метаболизм катехоламинов в головном мозге взрослых крыс с наследственной индуцируемой стрессом артериальной гипертензией // Патол. физиол. exper. тер. 1993. №1. С. 3-4.
12. Гриневиц В.В., Волкова О.В., Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в системе: гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников при воспалении // Успехи совр. естествознания. 2003. № 5. С. 10-14.

13. Коростышевская И.М., Максимов В.Ф., Маркель А.Л., Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д., Якобсон Г.С. Особенности строения миокарда у крыс с наследственной гипертензией, вскормленных нормотензивными самками // Бюлл. эксп. биол. и мед. 2001. Т. 132, №9. С. 330–332.
14. Коростышевская И.М., Максимов В.Ф., Маркель А.Л., Бузуева И.И., Филюшина Е.Е., Якобсон Г.С. Состояние сердечно-сосудистой системы у гипертензивных крыс линии НИСАГ после применения в ювенильном возрасте антигипертензивных препаратов // Физиол. журнал им. Н.М. Сеченова. 2007. №2. С. 169-179.
15. Кривенко А.А., Филипенко М.Л., Маслова Л.Н., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Поиск молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с артериальной гипертонией, методом полимеразной цепной реакции с произвольными праймерами // Генетика. 1998. Т.359, №1. С.139-142.
16. Левин Я.И. Нейрохимическая медицина. Часть 1. Церебральные дофаминергические системы // Совр. терапия психических расстройств. 2008. № 1. С.4-8.
17. Лопина О.Д., Котлобай А.А., Камерницкий А.В., Павлова-Гришина Н.С., Маркель А.Л., Болдырев А.А. Na,K-АТР-аза почек крыс с наследственной гипертонией, индуцируемой стрессом // Укр. биохим. журнал. 1991. Т. 63, № 3. С. 45-52.
18. Маркель А.Л., Дымшиц Г.М., Шмерлинг М.Д., Якобсон Г.С. Гены, стресс, гипертония // Бюлл. СО РАМН. 2002. № 2(104). С. 35-40.
19. Маркель А.Л., Калашникова Е.В., Горякин С.В., Сахаров Д.Г., Морева Т.А., Дымшиц Г.М., Гишинский М.А., Якобсон Г.С. Характеристика функциональной активности симпатoadреналовой системы у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2006. Т. 141, № 3. С. 244-247.
20. Маркель А.Л., Шишкина Г.Т. Генетическая корреляция реакции артериального давления при эмоциональном стрессе с концентрацией $\alpha 1$ -адренорецепторов в отделах мозга. // Генетика. 1992. Т. 28, №11. С. 130-134.
21. Маханова Н.А., Антонов А.Р., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Онтогенетическая динамика артериального давления и характеристик ЭКГ у крыс линии НИСАГ с наследственной артериальной гипертензией. // Бюлл. эксп. биол. мед. 1997. Т.123, №6. С.709-713.
22. Редина О.Е., Смоленская С.Э., Якобсон Г.С., Маркель А.Л. Уровень норадреналина в гипоталамусе и продолговатом мозге крыс линии НИСАГ контролируется несколькими генетическими локусами // Бюлл. эксп. биол. мед. 2009. Vol. 148, № 8. С. 191-194.
23. Редина О.Е., Хворостова Ю.В., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Поиск генетических локусов, ответственных за повышение артериального давления у крыс линии НИСАГ в условиях эмоционального стресса // Генетика. 2003. Т.39. С. 813-818.
24. Селье Г. Стресс без дистресса / Пер. с англ. М.: Прогресс, 1982. 128 с.
25. Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д., Лазарев В.А., Бузуева И.И., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Отсроченное влияние гипотензивных препаратов на структурные характеристики клубочкового аппарата почек крыс гипертензивной линии НИСАГ // Бюлл. эксперим. биол. мед. 2007. Т.143, № 6. 695-699.
26. Хворостова Ю.В., Горякин С.В., Петрова Г.В., Филипенко М.Л., Шихевич С.Г., Редина О.Е., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Характеристика функций гипоталамо-гипофизарно-

- адренкортикальной системы у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Росс. физиол. журнал. 2002. Т.88, № 11. С.1423-1432.
27. Хворостова Ю.В., Калашникова Е.В., Черкасова О.П., Федосеева Л.А., Редина О.Е., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Особенности экспрессии гена глюкокортикоидного рецептора у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Росс. физиол. журнал. 2003.Т.89, № 12. С.1523-1528.
28. Хворостова Ю.В., Филиппенко М.Л., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия гена проопиомеланокортина в гипофизе крыс гипертензивной линии НИСАГ // Генетика. 2001. Т. 37, № 5. С. 643–648.
29. Черкасова О.П., Федоров В.И. Активность ренина почки и плазмы крови при наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензии // Вестник ТГУ. 2006. № 21. С.167-168.
30. Шаинидзе К. З., Новикова Н. С., Корнева Е. А. Иммунореактивность орексин-содержащих нейронов гипоталамуса при ограничении подвижности у крыс // Вестник Санкт-Петербургского ун-та. Сер. 11. 2008. Вып. 3. С. 145-153.
31. Шмерлинг М.Д., Антонов А.Р., Коростышевская И.М., Маркель А.Л., Максимов В.Ф., Филюшина Е.Е., Якобсон Г.С. Состояние миокарда у крыс новой гипертензивной линии // Бюлл. эксп. биол. мед. 1996. Т.122, № 9. С.271-273.
32. Якобсон Г.С., Антонов А.Р., Летягина В.В., Сахаров Д.Г., Маркель А.Л. Изменения функции сердца в ответ на введение адреналина у крыс с наследственно обусловленной артериальной гипертензией (ЭКГ-исследование) // Бюлл. эксп. биол. мед. 1995. №10. С.3372-375.
33. Abassi Z., Winaver J., Feuerstein G.Z. The biochemical pharmacology of renin inhibitors: Implications for translational medicine in hypertension, diabetic nephropathy and heart failure: Expectations and reality // Biochem. Pharmacol. 2009. V. 78. P. 933–940.
34. AbdAlla S., Lothar H., Abdel-tawab A.M., Quitterer U. The angiotensin II AT2 receptor is an AT1 receptor antagonist // J. Biol. Chem. 2001a. V.276. P. 39721–39726.
35. AbdAlla S., Lothar H., el Massiery A., Quitterer U. Increased AT1 receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness // Nat. Med. 2001b. V. 7. P. 1003–1009.
36. Achard V., Boullu-Ciocca S., Desbriere R., Nguyen G., Grino M. Renin receptor expression in human adipose tissue // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2007. V. 292. P. R274–82.
37. Acosta-Martinez M, Fiber JM, Brown RD, Etgen AM. Localization of α_{1B} -adrenergic receptor in female rat brain regions involved in stress and neuroendocrine function // Neurochem. Int. 1999. V. 35. P. 383—391.
38. Adams J, Collazo-Moraes Y, de Bellerocche J. Cyclooxygenase-2 induction in cerebral cortex: An intracellular response to synaptic excitation // J. Neurochem. 1996. V.66, P. 6-13.
39. Admiraal P.J., van Kesteren C.A., Danser A.H., Derkx F.H., Sluiter W., Schalekamp M.A. Uptake and proteolytic activation of prorenin by cultured human endothelial cells // J. Hypertens. 1999. V.17. P. 621–629,
40. Aguilera G., Catt K.J. Regulation of aldosterone secretion during altered sodium intake // J. Steroid Biochem. 1983. V.19. P.525–530.

41. Alexander R.W., Griendling K.K. Signal transduction in vascular smooth muscle // *J. Hypertens.* 1996. Suppl 14. P. S51–S54.
42. Alexander W.S., Hilton D.J. The role of suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins in regulation of the immune response // *Annu. Rev. Immunol.* 2004. V.22. P.503–529.
43. Allen A.M. Blockade of angiotensin AT1-receptors in the rostral ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats reduces blood pressure and sympathetic nerve discharge// *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2001. V.2. P. s120–s124.
44. Allen A.M. Inhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus in spontaneously hypertensive rats dramatically reduces sympathetic vasomotor tone // *Hypertension.* 2002. V.39. P. 275–280.
45. Allen A.M., Dosanjh J.K., Erac M., Dassanayake S., Hannan R.D., Thomas W.G. Expression of constitutively active angiotensin receptors in the rostral ventrolateral medulla increases blood pressure // *Hypertension.* 2006. V.47. P. 1054–1061.
46. Alvarez A., Piqueras L., Bello R., Canet A., Moreno L., Kubes P., Sanz M.-J. Angiotensin II is involved in nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase inhibition-induced leukocyte-endothelial cell interactions in vivo // *Br. J. Pharmacol.* 2001. V.132. P. 677 - 684.
47. Alvarez Y., Briones A.M., Balfagón G., Alonso M.J., Salaices M. Hypertension increases the participation of vasoconstrictor prostanoids from cyclooxygenase-2 in phenylephrine responses // *J. Hypertens.* 2005. V.23, No.4. P.767-77.
48. Ambuhl P., Felix D., Imboden H., Khosla M.C., Ferrario C.M. Effects of angiotensin analogues and angiotensin receptor antagonists on paraventricular neurones // *Regul. Pept.* 1992. V.38. P.111–120.
49. Amstislavsky S., Welker P., Fruhauf J.H., Maslova L., Ivanova L., Jensen B., Markel A.L., Bachmann S. Renal and endocrine changes in rats with inherited stress-induced arterial hypertension (ISIAH) // *Histochem. Cell Biol.* 2005. V. 8. P. 1-9.
50. Anderson W.P., Kett M.M., Stevenson K.M., Edgley A.J., Denton K.M., Fitzgerald S.M. Renovascular hypertension: structural changes in the renal vasculature // *Hypertension.* 2000. V.36. P.648–652.
51. Andoh T.F., Johnson R.J., Lam T., Bennett W.M. Subclinical renal injury induced by transient cyclosporine exposure is associated with salt-sensitive hypertension // *Am. J. Transpl.* 2001. V.1. P.222–227.
52. Andresen M.C., Yang M. Arterial baroreceptor resetting: contributions of chronic and acute processes // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1989. V. 15(Suppl). P. 19–30.
53. Anton L., Merrill D.C., Neves L.A., Diz D.I., Corthorn J., Valdes G., Stovall K., Gallagher P.E., Moorefield C., Gruver C., Brosnihan K.B. The uterine placental bed Renin-Angiotensin system in normal and preeclamptic pregnancy // *Endocrinology.* 2009. V.150, No.9. P.4316-25.
54. Antunes V.R., Camargo G.M., Saad R., Saad W.A., Luiz A.C., Camargo L.A. Role of angiotensin II and vasopressin receptors within the supraoptic nucleus in water and sodium intake induced by the injection of angiotensin II into the medial septal area // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1998. V. 31. P. 1597–1600.
55. Anversa P., Cheng W., Liu Y., Leri A., Redaelli G., Kajstura J. Apoptosis and myocardial infarction // *Basic Res. Cardiol.* 1998. V.93, Suppl 3.P. 8–12.

56. Arehart E., Stitham J., Asselbergs F.W., Douville K., MacKenzie T., Fetalvero K.M., Gleim S., Kasza Z., Rao Y., Martel L., Segel S., Robb J., Kaplan A., Simons M., Powell R.J., Moore J.H., Rimm E.B., Martin K.A., Hwa J. Acceleration of cardiovascular disease by a dysfunctional prostacyclin receptor mutation: potential implications for cyclooxygenase-2 inhibition // *Circ. Res.* 2008. V.102. P. 986–993.
57. Arnal J.F., Battle T., Rasetti C., Challah M., Costerousse O., Vicaut E., Michel J.B., Heng-Gelas F. ACE in three tunicae of rat aorta: expression in smooth muscle and effect of renovascular hypertension // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1994. V.267. P. H1777–H1784.
58. ASH: The American Society of Hypertension. Reference List in Clinical Hypertension. 2007. URL: <http://www.ash-us.org/documents/ASHreviewClinicalHTN2007.pdf>.
59. Ashizawa N., Graf K., Do Y.S., Nunohiro T., Giachelli C.M., Meehan W.P., Tuan T.L., Hsueh W.A. Osteopontin is produced by rat cardiac fibroblasts and mediates A(II)-induced DNA synthesis and collagen gel contraction // *J. Clin. Invest.* 1996. V.98. P. 2218–2227.
60. Atar S., Ye Y., Lin Y., Freeberg S.Y., Nishi S.P., Rosanio S., Huang M.H., Uretsky B.F., Perez-Polo J.R., Birnbaum Y. () Atorvastatin-induced cardioprotection is mediated by increasing inducible nitric oxide synthase and consequent S-nitrosylation of cyclooxygenase-2 // *Am.J.Physiol. Heart Circ.Physiol.* 2006. V. 290. P. H1960-H1968.
61. Atlas S.A. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition // *J. Manag. Care Pharm.* 2007. V.13, No.8 (suppl S-b). P.S9-S20.
62. Averill D.B., Diz D.I. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata. *Brain Res. Bull.* 2000. V.51. P. 119–128.
63. Averill D.B., Jessup J.A., Ishiyama Y., Ferrario C.M. Augmented ACE2 expression in ischemic cardiomyopathy // *Am. J. Hypertens.* 2005. V.18. P.118A–118A.
64. Aw T. J., Haas S. J., Liew D., Krum H. Meta-analysis of cyclooxygenase-2 inhibitors and their effects on blood pressure // *Arch. Intern. Med.* 2005. V.165. P. 490–496.
65. Azizi M., Ezan E., Nicolet L., Grognet J.-M., Menard J. High plasma level of N-Acetyl-Seryl-Aspartyl-Lysyl-Proline: A new marker of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition // *Hypertension.* 1997. V. 30. P. 1015–1019.
66. Baba K., Doi Y., Franco-Saenz R., Mulrow P.J. Mechanisms by which nephrectomy stimulates adrenal renin // *Hypertension.* 1986. V. 8. P.997–1002.
67. Baber S.R., Deng W., Rodriguez J., Master R.G., Bivalacqua T.J., Hyman A.L., Kadowitz. P.J. Vasoactive prostanoids are generated from arachidonic acid by COX-1 and COX-2 in the mouse // *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. V.289. P. H1476–H1487.
68. Baber S.R., Hyman A.L., Kadowitz P.J. Role of COX-1 and -2 in prostanoid generation and modulation of angiotensin II responses // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003. V.285. P. H2399–H2410.
69. Bader M. Rat models of cardiovascular diseases. In: *Rat genomics: methods and protocols, Methods in molecular biology*, vol. 597 / I. Anegon (ed.). Humana Press, a part of Springer Science+Business Media, 2010. P. 403-414.
70. Bader M., Ganten D. Regulation of renin: new evidence from cultured cells and genetically modified mice // *J. Mol. Med.* 2000. V.78. P.130–139.

71. Bader M., Ganten D. It's renin in the brain: transgenic animals elucidate the brain renin-angiotensin system // *Circ. Res.* 2002. V. 90. P. 8–10.
72. Bader M., Ganten D. Update on tissue renin-angiotensin systems // *J. Mol. Med.* 2008. V. 86. P.615–621.
73. Bader M., Peters J., Baltatu O., Muller D.N., Luft F.C., Ganten D. Tissue renin-angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research // *J. Mol. Med.* 2001. V.79. P. 76–102.
74. Bader M., Zhao Y., Sander M., Lee M.A., Bachmann J., Bohm M., Djavidani B., Peters J., Mullins J.J., Ganten D. Role of tissue renin in the pathophysiology of hypertension in TGR(mREN2)27 rats // *Hypertension.* 1992. V.19. P.681–686.
75. Baker B.J., Akhtar L.N. Benveniste E.N. SOCS1 and SOCS3 in the control of CNS immunity // *Trends Immunol.* 2009. V. 30, No.8. P. 392–400.
76. Baker K.M., Chernin M.I., Schreiber T., Sanghi S., Haiderzaidi S., Booz G.W., Dostal D.E., Kumar R. Evidence of a novel intracrine mechanism in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy // *Regul. Pept.* 2004. V.120. P. 5–13.
77. Baker K.M., Kumar R. Intracellular angiotensin II induces cell proliferation independent of AT1 receptor // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2006. V.291. P. C995–C1001.
78. Balcells E., Meng Q.C., Johnson W.H. Jr, Oparil S., Dell'Italia L.J. Angiotensin II formation from ACE and chymase in human and animal hearts: methods and species considerations // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1997. V. 273. P. H1769–H1774.
79. Balla T., Baukal A.J., Eng S., Catt K.J. Angiotensin II receptor subtypes and biological responses in the adrenal cortex and medulla // *Mol. Pharmacol.* 1991. V. 40. P.401–406.
80. Baltatu O., Nishimura H., Hoffmann S., Stoltenburg G., Haulica I.D., Lippoldt A., Ganten D., Urata H. High levels of human chymase expression in the pineal and pituitary glands // *Brain Res.* 1997. V. 752. P. 269–278.
81. Bamji S.X., Majdan M., Pozniak C.D., Belliveau D.J., Aloyz R., Kohn J., Causing C.G., Miller F.D. The p75 neurotrophin receptor mediates neuronal apoptosis and is essential for naturally occurring sympathetic neuron death // *J. Cell Biol.* 1998. V.140. P. 911–923.
82. Bankir L., Perucca J., Weinberger M.H. Ethnic differences in urine concentration: possible relationship to blood pressure // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. V. 2. P. 304–312.
83. Barger S.W., Hurster D., Furukawa K., Goodman Y., Kriegelstein J., Mattson M.P. Tumor necrosis factors α and β protect neurons against amyloid β -peptide toxicity. Evidence for involvement of a κ B-binding factor and attenuation of peroxide and Ca^{2+} accumulation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V.92. P.9328-9332.
84. Barker P.A. p75^{NTR}: A study in contrasts // *Cell Death Diff.* 1998. V.5. P. 346–356.
85. Barker P.A. p75^{NTR} is positively promiscuous: novel partners and new insights // *Neuron.* 2004. V.42. P. 529–533.
86. Barth S.W., Gerstberger R. Differential regulation of angiotensinogen and AT1A receptor mRNA within the rat subfornical organ during dehydration // *Brain Res.* 1999. V.64. P. 151–164.

87. Bashyam H. Lewis Dahl and the genetics of salt-induced hypertension // *J. Exp. Med.* 2007. V.204. P. 1507.
88. Basso N., Terragno N.A. History about the discovery of the renin-angiotensin system // *Hypertension.* 2001. V.38. P.1246-1249.
89. Basu S. Bioactive eicosanoids: role of prostaglandin F(2alpha) and F-isoprostanes in inflammation and oxidative stress related pathology // *Mol.Cells.* 2010. V.30. P. 383-391.
90. Batenburg W.W., Garrelds I.M., Bernasconi C.C., Juillerat-Jeanneret L., van Kats J.P., Saxena P.R., Danser A.H. Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilation in human coronary microarteries // *Circulation.* 2004. V.109. P. 2296–2301.
91. Batenburg W.W., Jan Danser A.H. The (pro)renin receptor: a new addition to the renin-angiotensin system? // *Eur. J. Pharmacol.* 2008. V.585. P.320–324.
92. Batenburg W.W., Krop M., Garrelds I.M., de Vries R., de Bruin R.J.A., Burckle C., Mueller D.N., Bader M., Nguyen G., Danser A.H.J. () Prorenin is the endogenous agonist of the (pro)renin receptor. Binding kinetics of renin and prorenin in rat vascular smooth muscle cells overexpressing the human (pro)renin receptor // *J. Hypertens.* 2007. V.25. P.2441–2453.
93. Batenburg W.W., Tom B., Schuijt M.P., Danser A.H. Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilation. Focus on bradykinin, NO and endothelium-derived hyperpolarizing factor(s) // *Vasc. Pharmacol.* 2005. V.42. P. 109–118.
94. Beiche F., Scheuerer S., Brune K., Geisslinger G. Goppelt-Struebe M. Up-regulation of cyclooxygenase-2 mRNA in the rat spinal cord following peripheral inflammation // *FEBS Lett.* 1996. V.390. P. 165–169.
95. Belcheva I., Georgiev V., Chobanova M., Hadjiivanova C. Behavioral effects of angiotensin II microinjected into CA1 hippocampal area // *Neuropeptides.* 1997. V.31. P. 60–64.
96. Belcheva I., Ternianov A., Georgiev V. Lateralized learning and memory effects of angiotensin II microinjected into the rat CA1 hippocampal area // *Peptides.* 2000. V.21. P. 407–411.
97. Bell P.D., Lapointe J.Y., Peti-Peterdi J. Macula densa cell signaling // *Annu.Rev.Physiol.* 2003. V. 65. P. 481-500.
98. Ben-Ishay D., Saliternik R., Welner A. Separation of two strains of rats with inbred dissimilar sensitivity to DOCA-salt hypertension // *Experientia.* 1972. V.28. P. 1321–1322.
99. Benter I.F., Diz D.I., Ferrario C.M. Pressor and reflex sensitivity is altered in spontaneously hypertensive rats treated with angiotensin-(1–7) // *Hypertension.* 1995. V.26. P.1138–1144.
100. Benzing T., Fleming I., Blaukat A., Muller-Esterl W., Busse R. Angiotensin-converting enzyme inhibitor ramiprilat interferes with the sequestration of the B2 kinin receptor within the plasma membrane of native endothelial cells // *Circulation.* 1999. V.99. P. 2034–2040.
101. Bergaya S., Hilgers R.H., Meneton P., Dong Y., Bloch-Faure M., Inagami T., henc-Gelas F., Levy B.I., Boulanger C.M. Flowdependent dilation mediated by endogenous kinins requires angiotensin AT2 receptors // *Circ. Res.* 2004. V.94. P. 1623–1629.
102. Berke J.D., Paletzki R.F., Aronson G.J., Hyman S.E., Gerfen C.R. A complex program of striatal gene expression induced by dopaminergic stimulation // *J. Neurosci.* 1998. V.18. P.5301–5310.

103. Berry C., Touyz R., Dominiczak A.F., Webb R.C., Johns D.G. Angiotensin receptors: signaling, vascular pathophysiology and interactions with ceramide // *Am. J. Physiol.* 2001. V.281. P.H2332–H2365.
104. Besedovsky H., del Rey A., Sorkin E., Dinarello C.A. Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones // *Science.* 1986. V. 233. P. 652-654.
105. Bianchi G., Fox U., Impasciati E. The development of a new strain of spontaneously hypertensive rats // *Life Sci.* 1974. V.14. P. 339–347.
106. Bibel M., Barde Y.-A. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system // *Genes Dev.* 2000. V.14. P. 2919–2937.
107. Bibel M., Hoppe E., Barde Y.-A. Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors *trk* and $p75^{\text{NTR}}$ // *EMBO J.* 1999. V.18. P. 616–622.
108. Bickerton R.K., Buckley J.P. Evidence for a central mechanism in angiotensin induced hypertension // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1961. V.106. P. 834–837.
109. Billet S., Aguilar F., Baudry C., Clauser E. Role of angiotensin II AT1 receptor activation in cardiovascular disease // *Kidney Int.* 2008. V.74. P.1379–1384.
110. Billet S., Bardin S., Verp S., Baudrie V., Michaud A., Conchon S., Muffat-Joly M., Escoubet B., Souil E., Hamard G., Bernstein K.E., Gasc J.M., Elghozi J.L., Corvol P., Clauser E. Gain-of-function mutant of angiotensin II receptor, type 1A, causes hypertension and cardiovascular fibrosis in mice. // *J. Clin. Invest.* 2007. V.117, No.7. P.1914–1925.
111. Bird I.M., Magness R.R., Mason J.I., Rainey W.E. Angiotensin-II acts via the type 1 receptor to inhibit 17 α -hydroxylase cytochrome P450 expression in ovine adrenocortical cells // *Endocrinology* 1992. V.130. P. 3113–3121.
112. Blair-West J.R., Denton D.A., McKinley M.J., Weisinger R.S. Central infusion of the AT1 receptor antagonist losartan inhibits thirst but not sodium appetite in cattle // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1997. V.272. P. R1940–R1945.
113. Blatteis C.M., Sehic E. Fever: How may circulating pyrogens signal the brain? // *News Physiol. Sci.* 1997. V.12 P.1–8.
114. Böhm M., Lippoldt A., Wienen W., Ganten D., Bader M. Reduction of cardiac hypertrophy in TGR(mREN2)27 by angiotensin II receptor blockade // *Mol. Cell Biochem.* 1996. V.163–164. P.217–221.
115. Bokil H.S., Porter J.P. Brain angiotensin type 1 receptor expression and function in the Zucker obese rat // *Neurosci. Lett.* 2000. V.281. P. 139–142.
116. Bonnet F., Cooper M.E., Carey R.M., Casley D., Cao Z. Vascular expression of angiotensin type 2 receptor in the adult rat: influence of angiotensin II infusion // *J. Hypertens.* 2001. V.19. P. 1075–1081.
117. Booz G., Baker K. Role of the type 1 and type 2 angiotensin receptors in angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy // *Hypertension.* 2002. V.28. P. 635–640.
118. Boscan P., Allen A.M., Paton, J.F. Baroreflex inhibition of cardiac sympathetic outflow is attenuated by angiotensin II in the nucleus of the solitary tract // *Neuroscience.* 2001. V.103. P.153–160.

119. Braam B., Koomans H.A. Dogmas and surprises about the renin–angiotensin system and sodium reabsorption // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006. V.21. P. 3048–3051.
120. Brasier A.R., Li J. Mechanisms for inducible control of angiotensinogen gene transcription // *Hypertension.* 1996. V.27. P.465–475.
121. Breder C.D., Dewitt D., Kraig R.P. Characterization of inducible cyclooxygenase in rat brain // *J. Comp. Neurol.* 1995. V. 355, No.2. P. 296–315.
122. Breder C.D., Saper C.B. Expression of inducible cyclooxygenase mRNA in the mouse brain after systemic administration of bacterial lipopolysaccharide // *Brain Res.* 1996. V.713. P.64–69.
123. Bredesen D.E., Mehlen P., Rabizadeh S. Receptors that mediate cellular dependence // *Cell Death Diff.* 2005. V.12. P. 1031–1043.
124. Breitner J.C.S. Inflammatory processes and antiinflammatory drugs in Alzheimer’s disease: A current appraisal // *Neurobiol. Aging.* 1996. V.17. P.789-794.
125. Breyer M.D., Breyer R.M. Prostaglandin receptors: their role in regulating renal function // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2000. V.9. P. 23–29.
126. Breyer M.D., Breyer R.M. G Protein-coupled prostanoid receptors and the kidney // *Annu. Rev. Physiol.* 2001. V.63. P.579–605.
127. Brooks V. L., Haywood J. R., Johnson A. K. Translation of salt retention to central activation of the sympathetic nervous system in hypertension // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2005. V.32. P. 426–432.
128. Broshinan K.B., Li P., Ferrario C.M. Angiotensin (1–7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide // *Hypertension.* 1996. V.27. P.523–528.
129. Brown N.J., Vaughan D.E. Prothrombotic effects of angiotensin // *Adv. Intern. Med.* 2000. V.45. P.419–429.
130. Bruneval P., Hinglais N., Alhenc-Gelas F., Tricottet V., Corvol P., Menard J., Camilleri J.P., Bariety J. Angiotensin I converting enzyme in human intestine and kidney. Ultra-structural and immunohistochemical localization // *Histochemistry.* 1986. V.85. P.73–80.
131. Buckley P.F., Mahadik S., Pillai A., Terry A. Jr. Neurotrophins and schizophrenia // *Schizophrenia Research.* 2007. V.94. P.1–11.
132. Bugajski J., Gadek-Michalska A., Glód R., Bugajski A.J. Effect of social stress on COX-1 and COX-2-induced alterations in the adrenergic agonists-evoked hypothalamic-pituitary-adrenal responses // *J. Physiol. Pharmacol.* 2001a. V.52, No.4. P. 811—822.
133. Bugajski J., Glód R, Gadek-Michalska A, Bugajski AJ. Involvement of constitutive (COX-1) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in the adrenergic-induced ACTH and corticosterone secretion // *J. Physiol. Pharmacol.* 2001b. V.52, No.4. P.795—809.
134. Bundzikova J., Pirnik Z., Zelena D., Mikkelsen J.D., Kiss A. Response of substances co-expressed in hypothalamic magnocellular neurons to osmotic challenges in normal and Brattleboro rats // *Cell Mol. Neurobiol.* 2008. V.28. P. 1033–1047.
135. Burckle C.A., Danser A.H.J., Muller D., Garrelds I.M., Gasc J.M., Popova E., Pleham R., Peters J., Bader M., Nguyen G. Elevated blood pressure and heart rate in human renin receptor transgenic rats // *Hypertension.* 2006. V.47. P. 552–556.

136. Burnier M., Brunner H.R. Angiotensin II receptor antagonists // *Lancet*. 2000. V.355. P.637–45.
137. Burrell L.M., Risvanis J., Kubota E., Dean R.G., MacDonald P.S., Lu S., Tikellis C., Grant S.L., Lew R.A., Smith A.I., Cooper M.E., Johnston C.I. Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans // *Eur. Heart J*. 2005. V. 26. P. 369–375.
138. Cai H., Griendling K.K., Harrison D.G. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases // *Trends Pharmacol. Sci*. 2003. V.24. P. 471–478.
139. Campagnole-Santos M.J., Diz D.I., Santos R.A.S., Khosla M.C., Brosnihan K.B., Ferrario C.M. Cardiovascular effects of angiotensin-(1–7) injected into the dorsal medulla of rats // *Am. J. Physiol*. 1989. V.257. P.H324–H329.
140. Campbell D.J. Circulating and tissue angiotensin systems // *J. Clin. Invest*. 1987. V.79. P.1–6.
141. Campbell D.J. The renin–angiotensin and the kallikrein–kinin systems // *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2003. V.35, No.6. P.784–91.
142. Campbell D.J., Alexiou T., Xiao H.D., Fuchs S., McKinley M.J., Corvol P., Bernstein K.E. Effect of reduced angiotensin-converting enzyme gene expression and angiotensin-converting enzyme inhibition on angiotensin and bradykinin peptide levels in mice // *Hypertension*. 2004. V.43. P.854–859.
143. Campbell D.J., Habener J.F. Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat // *J. Clin. Invest*. 1986. V.78. P. 31–39.
144. Campbell D.J., Habener J.F. Cellular localization of angiotensinogen gene expression in brown and adipose tissue and mesentery: quantification of messenger ribonucleic acid abundance using hybridization *in situ* // *Endocrinology*. 1987. V.121. P. 1616–1626.
145. Campbell D.J., Kladis A., Duncan A.M. Nephrectomy, converting enzyme inhibition, and angiotensin peptides // *Hypertension*. 1993. V.22. P. 513–522.
146. Campbell I.L. Cytokine-mediated inflammation, tumorigenesis, and disease-associated JAK/STAT/SOCS signaling circuits in the CNS // *Brain Res. Brain Res. Rev*. 2005. V.48. P.166–177.
147. Cao C., Matsumura K., Yamagata K., Watanabe Y. Induction by lipopolysaccharide of cyclooxygenase-2 mRNA in rat brain: its possible role in the febrile response // *Brain Res*. 1995. V.697. P.187–196.
148. Cao C., Matsumura K., Yamagata K., Watanabe Y. Endothelial cells of the brain vasculature express cyclooxygenase-2 mRNA in response to systemic interleukin-1 β : a possible site of prostaglandin synthesis responsible for fever // *Brain Res*. 1996. V.733. P.263–272.
149. Cao C., Matsumura K., Yamagata K., Watanabe Y. Involvement of cyclooxygenase-2 in LPS-induced fever and regulation of its mRNA by LPS in rat brain // *Am. J. Physiol*. 1997. V.272 P.R1712–1725.
150. Carey R.M., Howell N.L., Jin X.-O., Siragy H.M. Angiotensin type 2 receptor-mediated hypotension in angiotensin type-1 receptorblocked rats // *Hypertension*. 2001a. V.38. P.1272–1277.
151. Carey R.M., Jin X.H., Siragy H.M. Role of the angiotensin AT2 receptor in blood pressure regulation and therapeutic implications // *Am J Hypertens*. 2001b. V.14. P. 98S–102S.

152. Carey R.M., Siragy H.M. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation // *Endocrine Reviews*. 2003a. V.24. P. 261–271.
153. Carey R.M., Siragy H.M. The intrarenal renin-angiotensin system and diabetic nephropathy // *Trends Endocrinol. Metab.* 2003b. V.14. P. 274–281.
154. Carey R.M., Wang Z.-Q., Siragy H.M. Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function // *Hypertension*. 2000. V.35. P.155–163.
155. Carlsen I., Donohue K.E., Jensen A.M., Selzer A.L., Chen J., Poppas D.P., Felsen D., Frokiaer J., Norregaard R. Increased cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in pressurized renal medullary interstitial cells // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010. V.299. P.R823-R831.
156. Cassis L.A. Role of angiotensin II in brown adipose thermogenesis during cold acclimation // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 1993. V.265. P. E860–E865.
157. Cassis L.A., Dwoskin L.P. Presynaptic modulation of neurotransmitter release by endogenous angiotensin II in brown adipose tissue // *J. Neural. Transm.* 1991. Suppl 34. P. 129–137.
158. Cassis L.A., Lynch K.R., Peach M.J. Localization of angiotensinogen messenger RNA in rat aorta // *Circ. Res.* 1988. V.62. P. 1259–1262.
159. Castrop H., Kammerl M., Mann B., Jensen B.L., Krämer B.K., Kurtz A. Cyclooxygenase 2 and neuronal nitric oxide synthase expression in the renal cortex are not interdependent in states of salt deficiency // *Pflugers Arch.* 2000. V.441, No.2-3. P.235-240.
160. Catanzaro D.F. Physiological relevance of renin/prorenin binding and uptake // *Hypertens. Res.* 2005. V.28. P. 97–105.
161. Catella-Lawson F., McAdam B., Morrison B.W., Kapoor S., Kujubu D., Antes L., Lasseter K.C., Quan H., Gertz B.J., FitzGerald G.A. Effects of specific inhibition of cyclooxygenase-2 on sodium balance, hemodynamics, and vasoactive eicosanoids // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999 V.289. P. 735–741.
162. Celerier J., Cruz A., Lamand N., Gasc J.M., Corvol P. Angiotensinogen and its cleaved derivatives inhibit angiogenesis // *Hypertension*. 2002. V.39. P.224–228.
163. Chan S.H., Hsu K.S., Huang C.C., Wang L.L., Ou C.C., Chan J.Y. NADPH oxidase derived superoxide anion mediates angiotensin II-induced pressor effect via activation of p38 mitogen-activated protein kinase in the rostral ventrolateral medulla // *Circ. Res.* 2005. V.97. P. 772–780.
164. Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos K.L.T., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V.99, No.21. P. 13926–13931.
165. Chappell M.C. Role of ACE, ACE2 and neprilysin in the kidney. In: *Frontiers in Research of the Renin-Angiotensin System on Human Disease* / Po Sing Leung (ed.). Springer, 2007. P.1–20.
166. Chappell M.C., Diz D.I., Yunis C., Ferrario C.M. Differential actions of angiotensin (1–7) in the kidney // *Kidney Int.* 1998b. Suppl 68. P. S3–S6.
167. Chappell M.C., Ferrario C.M. Angiotensin-(1-7) in hypertension // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1999. V.88. P. 231–235.

168. Chappell M.C., Pirro N.T., Sykes A., Ferrario C.M. Metabolism of angiotensin (1–7) by angiotensin converting enzyme // *Hypertension*. 1998a. V.31. P.362–367.
169. Chappell M.C., Westwood B.M., Pendergrass K.D., Jessup J.A., Ferrario C.M. Distinct processing pathways for the novel peptide angiotensin-(1–12) in the serum and kidney of the hypertensive mRen2 Lewis Rat // *Hypertension*. 2007. V.50. P.e139.
170. Chattopadhyay N., Kher R., Godbole M. Inexpensive SDS/phenol method for RNA extraction from tissues // *Biotechniques*. 1993. V.15. No1. P.24-26.
171. Chaves G.Z., Caligiorme S.M., Santos R.A.S., Khosla M.C., Campagnole-Santos M.J. Modulation of the baroreflex control of heart rate by angiotensin-(1–7) at the nucleus tractus solitarii of normotensive and spontaneously hypertensive rats // *J. Hypertens*. 2000. V.18. P.1841–1848.
172. Chen C.Y., Huang W.C. Pressor and renal effects of intracerebroventricularly administered angiotensins II and III in rats // *Kidney Blood Press. Res*. 2000. V.23.P. 95–105.
173. Chen J., Weinstein P.R., Graham S.H. Attenuation of post-ischemic brain hypoperfusion and reperfusion injury by the cyclooxygenase-lipoxygenase inhibitor BW755C // *J. Neurosurg*. 1995. V.83. P.99-104.
174. Chen Z., Tan F., Erdos E.G., Deddish P.A. Hydrolysis of angiotensin peptides by human angiotensin I-converting enzyme and the resensitization of B2 kinin receptors // *Hypertension*. 2005. V.46. P. 1368–1373.
175. Cheng H.-F., Harris R.C. Cyclooxygenases, the kidney, and hypertension // *Hypertension*. 2004. V.43. P. 525-530.
176. Cheng H.-F., Wang J.-L., Zhang M.-Z., Miyazaki Y., Ichikawa I., McKanna J.A., Harris R.C. Angiotensin II attenuates renal cortical cyclooxygenase-2 expression // *J. Clin. Invest*. 1999. V.103. P.953–961.
177. Cheng Z. J., Vapaatalo H., Mervaala E. Angiotensin II and vascular inflammation // *Med. Sci. Monit*. 2005. V.11, No.6. P. RA194-205.
178. Cheng H.-F., Wang J.-L., Vinson G. P., Harris R.C. Young SHR express increased type 1 angiotensin II receptors in renal proximal tubule // *Am. J. Physiol*. 1998. V.274 (Renal Physiol. 43). P. F10–F17.
179. Cheng Y., Austin S.C., Rocca B., Koller B.H., Coffman T.M., Grosser T., Lawson J.A., FitzGerald G.A. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A2 // *Science*. 2002. V. 296. P. 539–541.
180. Cheng Y., Wang M., Yu Y., Lawson J., Funk C.D., Fitzgerald G.A. Cyclooxygenases, microsomal prostaglandin E synthase-1, and cardiovascular function // *J. Clin. Invest*. 2006. V.116. P. 1391–1399.
181. Chiou C.Y., Kifor I., Moore T.J., Williams G.H. The effect of losartan on potassium-stimulated aldosterone secretion in vitro // *Endocrinology*. 1994. V.134. P.2371–2375.
182. Chorro F.J., Such-Belenguer L., López-Merino V. Animal Models of Cardiovascular Disease // *Rev. Esp. Cardiol*. 2009. V.62, No.1. P.69-84.
183. Chrousos G.P., Gold P.W. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis // *JAMA*. 1992. V.267. P. 1244–1252,

184. Chun K.S., Surh Y.J. Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention // *Biochem. Pharmacol.* 2004. V.68, No.6. P.1089-100.
185. Chung B.H., Lim S.W., Ahn K.O., Sugawara A., Ito S., Choi B.S., Kim Y.S., Bang B.K., Yang C.W. Protective effect of peroxisome proliferator activated receptor gamma agonists on diabetic and non-diabetic renal diseases // *Nephrology (Carlton)*. 2005. V.10 Suppl. P. S40-S43.
186. Cigola E., Kajstura J., Li B., Meggs L.G., Anversa P. Angiotensin II activates programmed myocyte cell death in vitro // *Exp. Cell Res.* 1997. V.231. P. 363–371.
187. Cingolani H.E., Perez N.G., Aiello E.A., de Hurtado M.C. Intracellular signaling following myocardial stretch: an autocrine/paracrine loop // *Regul. Pept.* 2005. V.128. P. 211–220.
188. Cingolani O.H., Yang X.P., Liu Y.H., Villanueva M., Rhaleb N.E., Carretero O.A. Reduction of cardiac fibrosis decreases systolic performance without affecting diastolic function in hypertensive rats // *Hypertension*. 2004. V.43. P. 1067–1073.
189. Cipollone F., Fazia M., Iezzi A., Pini B., Cuccurullo C., Zucchelli M., de Cesare D., Uchino S., Spigonardo F., De Luca M., Muraro R., Bei R., Bucci M., Cuccurullo F., Mezzetti A. Blockade of the angiotensin II type 1 receptor stabilizes atherosclerotic plaques in humans by inhibiting prostaglandin E2-dependent matrix metalloproteinase activity // *Circulation*. 2004. V.109. P.1482–1488.
190. Clausmeyer S., Reinecke A., Farrenkopf R., Unger T., and Peters J. Tissue-specific expression of a rat-renin transcript lacking the coding sequence for the prefragment and its stimulation by myocardial infarction // *Endocrinology*. 2000. V.141. P. 2963–2970.
191. Clausmeyer S., Sturzebecher R., Peters J. An alternative transcript of the rat renin gene can result in a truncated prorenin that is transported into adrenal mitochondria // *Circ. Res.* 1999. V.84. P. 337–344.
192. Coleman C.G., Anrather J., Iadecola C., Pickel V.M. Angiotensin II type 2 receptors have a major somatodendritic distribution in vasopressin-containing neurons in the mouse hypothalamic paraventricular nucleus // *Neuroscience*. 2009. V.163, No.1. P.129-142.
193. Coleman R.A., Grix S.P., Head S.A., Louttit J.B., Mallett A., Sheldrick R.L.G. A novel inhibitory receptor in piglet saphenous vein // *Prostaglandins*. 1994. V.47. P. 51–168.
194. Cook J.L., Mills S.J., Naquin R., Alam J., Re R.N. Nuclear accumulation of the AT1 receptor in a rat vascular smooth muscle cell line: effects upon signal transduction and cellular proliferation // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2006. V.40. P. 696–707.
195. Cook J.L., Zhang Z., Re R.N. In vitro evidence for an intracellular site of angiotensin action // *Circ. Res.* 2001. V.89. P. 1138–1146.
196. Cook V.I., Grove K.L., McMenamin K.M., Carter M.R., Harding J.W., Speth R.C. The AT2 angiotensin receptor subtype predominates in the 18 day gestation fetal rat brain // *Brain Res.* 1991. V.560. P.334-336.
197. Correa F.M., Viswanathan M., Ciuffo G.M., Tsutsumi K., Saavedra J.M. Kidney angiotensin II receptors and converting enzyme in neonatal and adult Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats // *Peptides*. 1995. V.16, No.1. P.19-24.
198. Corvol P., Jeunemaitre X. Molecular Genetics of Human Hypertension: Role of angiotensinogen // *Endocrine Reviews*. 1997. V.18, No.5. P. 662–677.

199. Cote F., Laflamme L., Payet M.D., Gallo-Payet N. Nitric oxide, a new second messenger involved in the action of angiotensin II on neuronal differentiation of NG108–15 cells // *Endocr. Res.* 1998. V.24. P. 403–407.
200. Cover P.O., Slater D., Buckingham J.C. Expression of cyclooxygenase enzymes in rat hypothalamo-pituitary-adrenal axis: effects of endotoxin and glucocorticoids. *Endocrine*. 2001. V.16, No.2. P.123-131.
201. Cowan B.R., Young A.A. Left Ventricular Hypertrophy and Renin-Angiotensin System Blockade // *Current Hypertension Reports*. 2009. V.11. P.167–172.
202. Cowley A.W. Jr., Roman R.J. The role of the kidney in hypertension // *J. Am. Med. Assoc.* 1996. V.275. P.1581–1589.
203. Cowley T.R., Fahey B., O'Mara S.M. COX-2, but not COX-1, activity is necessary for the induction of perforant path long-term potentiation and spatial learning in vivo // *Eur. J. Neurosci.* 2008. V.27, No.11. P.2999-3008.
204. Crabos M., Roth M., Hahn A., Erne P. Characterization of angiotensin II receptors in cultured adult rat cardiac fibroblasts. Coupling to signaling systems and gene expression // *J. Clin. Invest.* 1994. V.93, No.6. P. 2372–2378.
205. Crackower M.A., Sarao R., Oudit G.Y., Yagil C., Koziaradzki I., Scanga S.E., Oliveira-dos-Santos A.J., da Costa J., Zhang L., Pel Y., Scholey J., Ferrario C.M., Manoukian A.S., Chappell M.C., Backx P.M., Yagil Y., Penninger J.M. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function // *Nature*. 2002. V.417. P.822–828.
206. Crowley S.D., Gurley S.B., Oliverio M.I., Pazmino A.K., Griffiths R., Flannery P.J., Spurney R.F., Kim H.-S., Smithies O., Le T.H., Coffman T.M. Distinct roles for the kidney and systemic tissues in blood pressure regulation by the renin-angiotensin system // *J. Clin. Invest.* 2005. V.115. P. 1092–1099.
207. Crowley S.D., Gurley S.B., Herrera M.J., Ruiz P., Griffiths R., Kumar A.P., Kim H.-S., Smithies O., Le T.H., Coffman T.M. Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V.103, No. 47. P. 17985–17990.
208. Csikos T., Balmforth A., Grojek M., Gohlke P., Culam J., Unger T. Angiotensin AT2 degradation is prevented by ligand occupation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. V.243. P.142–147.
209. Cuadra A.E., Shan Z., Sumners C., Raizada M.K. A current view of brain renin-angiotensin system: Is the (pro)renin receptor the missing link? // *Pharmacol. Ther.* 2010. V.125, No.1. P.27-38.
210. Cui Y., Hosui A., Sun R., Shen K., Gavriloova O., Chen W., Cam M.C., Gao B., Robinson G.W., Hennighausen L. Loss of signal transducer and activator of transcription 5 leads to hepatosteatosis and impaired liver regeneration // *Hepatology*. 2007. V.46. P. 504–513.
211. Cui Y., Kataoka Y., Inui T., Mochizuki T., Onoe H., Matsumura K., Urade Y., Yamada H., Watanabe Y. Up-regulated neuronal COX-2 expression after cortical spreading depression is involved in non-REM sleep induction in rats // *J. Neurosci. Res.* 2008. V.86, No.4. P.929-36.
212. Cullinane A.B., Leung P.S., Ortego J., Coca-Prados M., Harvey B.J. Renin-angiotensin system expression and secretory function in cultured human ciliary body non-pigmented epithelium // *Br. J. Ophthalmol.* 2002. V.86. P.676–683.

213. Cunha F.Q., Lorenzetti B.B., Poole S., Ferreira S.H. Interleukin 8 as a mediator of sympathetic pain // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V.104. P.765–67.
214. Cunha F.Q., Poole S., Lorenzetti B.B., Ferreira S.H. The pivotal role of tumour necrosis factor α in the development of inflammatory hyperalgesia // *Br. J. Pharmacol.* 1992. V.107. P.660–64.
215. Dampney R.A. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system // *Physiol. Rev.* 1994. V.74. P. 323–364.
216. Daniels D., Mietlicki E.G., Nowak E.L., Fluharty S.J. AngiotensinII stimulates water and NaCl intake through separate cell signalling pathways in rats // *Exp. Physiol.* 2009. V.94.1. P.130–137.
217. Danilczyk U., Penninger J.M. Angiotensin-Converting Enzyme II in the Heart and the Kidney // *Circ. Res.* 2006. V.98. P.463-471.
218. Danser A.H., van Kats J.P., Admiraal P.J., Derkx F.H., Lamers J.M., Verdouw P.D., Saxena P.R., Schalekamp M.A. Cardiac renin and angiotensins: uptake from plasma versus in situ synthesis // *Hypertension.* 1994. V. 24, No.1. P.37-48.
219. Danser A.H., van Kesteren C.A., Bax W.A., Tavenier M., Derkx F.H., Saxena P.R., Schalekamp M.A. Prorenin, renin, angiotensinogen and ACE in normal or failing hearts: evidence for renin binding // *Circulation.* 1997. V.96. P. 220–226.
220. Davies N.M., Good R.L., Roupe K.A., Yáñez J.A. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error? - not as easy as 1, 2, 3 // *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 2004. V.7, No.2. P.217-226.
221. Davisson R.L., Ding Y., Stec D.E., Catterall J.F., Sigmund C.D. Novel mechanism of hypertension revealed by cell-specific targeting of human angiotensinogen in transgenic mice // *Physiol. Genomics.* 1999. V.1. P.3–9.
222. Davisson R.L., Oliverio M.I., Coffman T.M., Sigmund C.D. Divergent functions of angiotensin II receptor isoforms in the brain // *J. Clin. Invest.* 2000. V.106. P. 103–106.
223. de Cavanagh E.M., Piotrkowski B., Fraga C.G. Concerted action of the renin-angiotensin system, mitochondria, and antioxidant defenses in aging // *Mol. Aspects Med.* 2004. V.25. P. 27–36.
224. Deddish P.A., Marcic B., Jackman H.L., Wang H.-Z., Skidgel R.A., Erdos E.G. N-domain specific substrate and C-domain inhibitors of angiotensin converting enzyme // *Hypertension.* 1998. V. 31. P. 912–917.
225. De Gasparo M., Catt K.J., Inagami T., Wright J.W., Unger T.H. International Union of Pharmacology. XXIII. The angiotensin receptors // *Pharmacol. Rev.* 2000. V.52. P.415–472.
226. De Lannoy L.M., Danser A.H., van Kats J.P., Schoemaker R.G., Saxena P.R., Schalekamp M.A. Renin-angiotensin system components in the interstitial fluid of the isolated perfused rat heart: local production of angiotensin I // *Hypertension.* 1997. V.29. P. 1111–1117.
227. Dell'Italia L.J., Husain A. Dissecting the role of chymase in angiotensin II formation and heart and blood vessels diseases // *Curr. Opin. Cardiol.* 2002. V.17. P. 374–379.
228. De Luca L.A., Xu Z., Schoorlemmer G.H.M., Thunhorst R.L., Beltz T.G., Menani J.V., Johnson A.K. Water deprivation-induced sodium appetite: humoral and cardiovascular mediators and immediate early genes // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2002. V.282. P. R552–R559.

229. De Mello W.C. Cardiac intracrine renin angiotensin system. Part of genetic reprogramming? // *Regul. Pept.* 2006. V.133. P. 10–12.
230. De Mello W.C., Danser A.H. Angiotensin II and the heart // *Hypertension.* 2000. V.35. P. 1183–1188.
231. Dempsey P.J., McCallum Z.T., Kent K.M., Cooper T. Direct myocardial effects of angiotensin II // *Am. J. Physiol.* 1971. V.220. P. 477–481.
232. Deschepper C.F. Angiotensinogen: hormonal regulation and relative importance in the generation of angiotensin II // *Kidney Int.* 1994. V.46. P.1561–1563.
233. Deschepper C.F., Bouhnik J., Ganong W.F. Colocalization of angiotensinogen and glial fibrillary acidic protein in astrocytes in rat brain // *Brain Res.* 1986. V.374. P.195–198.
234. DiBona G.F. Sympathetic nervous system and the kidney in hypertension // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2002. V.11. P.197–200.
235. DiBona G.F., Kopp U.C. Neural control of renal function // *Physiol. Rev.* 1997. V.77. P.75–197.
236. Diep Q.N., El Mabrouk M., Yue P., Schiffrin E.L. Effect of AT(1) receptor blockade on cardiac apoptosis in angiotensin II-induced hypertension // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002. V.282. P.H1635–H1641.
237. Diep Q.N., Li J.S., Schiffrin E.L. In vivo study of AT(1) and AT(2) angiotensin receptors in apoptosis in rat blood vessels // *Hypertension.* 1999. V.34. P.617–624.
238. Diez J., Panizo A., Hernandez M., Vega F., Sola I., Fortuno M.A., Pardo J. Cardiomyocyte apoptosis and cardiac angiotensin-converting enzyme in spontaneously hypertensive rats // *Hypertension.* 1997. V.30. P.1029–1034.
239. Dimitropoulou C., White R.E., Fuchs L., Zhang H., Catravas J.D., Carrier G.O. Angiotensin II relaxes microvessels via the AT2 receptor and Ca²⁺-activated (Bkca) channels // *Hypertension.* 2001. V.37. P. 301–307.
240. Diz D.I., Westwood B.M. Deficiency of endogenous angiotensin-(1–7) in the nucleus tractus solitarius of (mREN2)27 transgenic rats may account for diminished baroreceptor reflex function // *Hypertension.* 2000. V.36. P.681.
241. Doi Y., Atarashi K., Franco-Saenz R., Mulrow P.J. Effects of changes in sodium or potassium balance, and nephrectomy, on adrenal renin and aldosterone concentrations // *Hypertension.* 1984. V.6. P.1124–1129.
242. Doller A., Gauer S., Sobkowiak E., Geiger H., Pfeilschifter J., Eberhardt W. Angiotensin II induces renal plasminogen activator inhibitor-1 and cyclooxygenase-2 expression post-transcriptionally via activation of the mRNA-stabilizing factor human-antigen R // *Am. J. Pathol.* 2009. V.174. P. 1252–1263.
243. Doller A., Huwiler A., Muller R., Radeke H.H., Pfeilschifter J., Eberhardt W. Protein kinase C alpha-dependent phosphorylation of the mRNA-stabilizing factor HuR: implications for posttranscriptional regulation of cyclooxygenase-2 // *Mol. Biol. Cell.* 2007. V.18. P.2137–2148.
244. Domenighetti A.A., Wang Q., Egger M., Richards S.M., Pedrazzini T., Delbridge L.M. Angiotensin II-mediated phenotypic cardiomyocyte remodeling leads to age-dependent cardiac dysfunction and failure // *Hypertension.* 2005. V.46. P.426–432.

245. Donoghue M., Hsieh F., Baronas E., Godbout K., Gosselin M., Stagliano N., Donovan M., Woolf B., Robinson K., Jeyaseelan R., Breitbart R.E., Acton S. A novel angiotensin-converting enzymelated carboxypeptidase (ACE 2) converts angiotensin I to angiotensin (1–9) // *Circ. Res.* 2000. V.87. P.1–9.
246. Doolittle R.F. Angiotensinogen is related to the antitrypsin–antithrombin–ovalbumin family // *Science.* 1983. V.222. P.417–419.
247. Dorey P.G., King J., Munday K.A., Parsons B.J., Poat J. Intestinal fluid absorption in spontaneously hypertensive rats. *J. Physiol.* 1983. V.344. P. 1–9.
248. Dorn II G.W., Force T. Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy // *J. Clin. Invest.* 2005. V.115. P.527–537.
249. Dornas W.C., Silva M.E. Animal models for the study of arterial hypertension // *J. Biosci.* 2011. V.36. P.731–737.
250. Dostal D.E., Baker K.M. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function? // *Circ. Res.* 1999. V.85. P.643–650.
251. Du Y., Guo D.F., Inagami T., Speth R.C., Wang D.H. Regulation of Ang-II-receptor subtype and its gene expression in adrenal gland // *Am. J. Physiol.* 1996. V.271, No.2 Pt 2. P.H440-446.
252. DuBois R.N., Abramson S.B., Crofford L., Gupta R.A., Simon L.S., Van De Putte L.B., Lipsky P.E. Cyclooxygenase in biology and disease // *FASEB J.* 1998. V.12, No.12. P.1063-1073.
253. Duffy S.J., Biegelsen E.S., Eberhardt R.T., Kahn D.F., Kingwell B.A., Vita J.A. Low-renin hypertension with relative aldosterone excess is associated with impaired NO-mediated vasodilation // *Hypertension.* 2005. V.46. P. 707-713.
254. Dupont J., Dupont J.C., Froment A., Milon H., Vincent M. Selection of three strains with spontaneously different levels of blood pressure // *Biomedicine.* 1973. V.19. P. 36–41.
255. Dzau V.J. Molecular and physiological aspects of tissue renin–angiotensin system // *J. Hypertens.* 1988. V.6(Suppl. 3). P.7–12.
256. Dzau V.J., Bernstein K., Celermajer D., Cohen J., Dahlof B., Deanfield J., Diez J., Drexler H., Ferrari R., Van G.W., Hansson L., Hornig B., Husain A., Johnston C., Lazar H., Lonn E., Luscher T., Mancini J., Mimran A., Pepine C., Rabelink T., Remme W., Ruilope L., Ruzicka M., Schunkert H., Swedberg K., Unger T., Vaughan D., Weber M. The relevance of tissue angiotensin converting enzyme: manifestations in mechanistic and endpoint data // *Am. J. Cardiol.* 2001. V.88. P.1L–20L.
257. Dzau V.J., Ellison K.E., Brody T., Ingelfinger J., Pratt R.E. A comparative study of the distributions of renin and angiotensinogen messenger ribonucleic acids in rat and mouse tissues // *Endocrinology.* V.120. P.2334–2338.
258. Edwards L., Ernsberger P. Assay of arachidonic acid release coupled to α_1 - and α_2 -adrenergic receptors // *Methods in Molecular Biology.* 1999. V.126. P. 375—390.
259. Egan B.M., Stepniakowski K.T. Adverse effects of short-term, verylow-salt diets in subjects with risk-factor clustering // *Am. J. Clin. Nutr.* 1997. V.65(2 suppl). P.671S– 677S.
260. Egan K.M., Lawson J.A., Fries S., Koller B., Rader D.J., Smyth E.M., Fitzgerald G.A. COX-2 derived prostacyclin confers atheroprotection on female mice // *Science.* 2004. V.306. P. 1954–1957.

261. Egan K.M., Wang M., Lucitt M.B., Zukas A.M., Pure E., Lawson J.A., FitzGerald G.A. Cyclooxygenases, thromboxane, and atherosclerosis: plaque destabilization by cyclooxygenase-2 inhibition combined with thromboxane receptor antagonism // *Circulation*. 2005. V.111. P.334–342.
262. Ehrhart-Bornstein M., Hinson J.P., Bornstein S.R., Scherbaum W.A., Vinson G.P. Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis // *Endocr. Rev.* 1998. V.19, No.2. P.101-143.
263. Eksteen B., Miles A., Curbishley S.M., Tselepis C., Grant A.J., Walker L.S., Adams D.H. Epithelial inflammation is associated with CCL28 production and the recruitment of regulatory T cells expressing CCR10 // *J. Immunol.* 2006. V.177, No. 1. P. 593–603.
264. Elased K.M., Cunha T.S., Gurley S.B., Coffman T.M., Morris M. New mass spectrometric assay for angiotensin-converting enzyme 2 activity // *Hypertension*. 2006. V.47. P. 1010–1017.
265. El Ghissassi M., Thornton S.N., Nicolaidis S. Angiotensin II-induced thirst, but not sodium appetite, via AT1 receptors in organum cavum prelamina terminalis // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1995. V.268. P.R1401–R1405.
266. Elmquist J.K., Breder C.D., Sherin J.E., Scammell T.E., Hickey W.F., Dewitt D., Saper C.B. Intravenous lipopolysaccharide induces cyclooxygenase 2-like immunoreactivity in rat brain perivascular microglia and meningeal macrophages // *J. Comp. Neurol.* 1997. V.382. P.119–129.
267. Engblom D., Kornfeld J.W., Schwake L., Tronche F., Reimann A., Beug H., Hennighausen L., Moriggl R., Schutz G. Direct glucocorticoid receptor–Stat5 interaction in hepatocytes controls body size and maturation-related gene expression // *Genes & Dev.* 2007. V.21. P.1157–1162.
268. Engeli S., Schling P., Gorzelniak K., Boschmann M., Janke J., Ailhaud G., Teboul M., Massiéra F., Sharma A.M. The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003. V.35. P. 807–825.
269. Engström L., Rosén K., Angel A., Fyrberg A., Mackerlova L., Konsman J.P., Engblom D., Blomqvist A. Systemic immune challenge activates an intrinsically regulated local inflammatory circuit in the adrenal gland // *Endocrinology*. 2008. V.149, No.4. P.1436-1450.
270. Epstein A.N., Fitzsimons J.T., Rolls B.J. Drinking induced by injection of angiotensin into the brain of the rat // *J. Physiol.* 1970. V.210. P.457–474.
271. Epstein M., Williams G.H., Weinberger M., Lewin A., Krause S., Mukherjee R., Patni R., Beckerman B. Selective aldosterone blockade with eplerenone reduces albuminuria in patients with type 2 diabetes // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2006. V.1. P.940–951.
272. Erdős E.G. Angiotensin I converting enzyme and the changes in our concepts through the years: Lewis K. Dahl Memorial Lecture // *Hypertension*. 1990. V.16. P.363–370.
273. Ermert L., Ermert M., Goppelt-Struebe M., Walmrath D., Grimminger F., Steudel W., Ghofrani H.A., Homberger C., Duncker H. Seeger W. Cyclooxygenase isoenzyme localization and mRNA expression in rat lungs // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998. V.18. P.479–488.
274. Ernsberger P., Koletsky R.J. Metabolic actions of angiotensin receptor antagonists: PPAR-gamma agonist actions or a class effect? // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007. V.7. P. 140–145.
275. Escribano C., Delgado-Martín C., Rodríguez-Fernández J.L. CCR7-dependent stimulation of survival in dendritic cells involves inhibition of GSK3beta // *J. Immunol.* 2009. V.183, No.10. P.6282–6295.

276. Eshima K., Hirooka Y., Shigematsu H., Matsuo I., Koike G., Sakai K., Takeshita A. Angiotensin in the nucleus tractus solitarius contributes to neurogenic hypertension caused by chronic nitric oxide synthase inhibition // *Hypertension*. 2000. V.36. P.259–263.
277. Esler M., Kaye D. Sympathetic nervous system activation in essential hypertension, cardiac failure and psychosomatic heart disease // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000. V.35. P.S1–S7.
278. Fabre J.E., Nguyen M., Athirakul K., Coggins K., McNeish J.D., Austin S., Parise L.K., FitzGerald G.A., Coffman T.M., Koller B.H. Activation of the murine EP3 receptor for PGE2 inhibits cAMP production and promotes platelet aggregation // *J. Clin. Invest.* 2001. V.107. P. 603–610.
279. Falkenhahn M.F.F., Bohle R.M., Zhou Y., Stauss H.M., Bachmann S., Danilov S.M., Unger T. Cellular distribution of angiotensin-converting enzyme after myocardial infarction // *Hypertension*. 1995. V.25. P.219–226.
280. Falkh P.H., Harkin L.A., Head R.J. Resistance vessel gene expression of nerve growth factor is elevated in young spontaneously hypertensive rats // *J. Hypertension*. 1992. V.10. P.913–918.
281. Fam S.S., Morrow J.D. The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation—a review // *Curr.Med. Chem.* 2003. V.10. P.1723–1740.
282. Fedoseeva L.A., Ryazanova M.A., Antonov E.V., Dymshits G.M., Markel A.L. Expression of the renin-angiotensin system genes in the kidney and heart of ISIAH hypertensive rats // *Biochemistry (Moscow) Suppl. Series B: Biomedical Chemistry*. 2011. V. 5, No. 1. P. 37–43.
283. Feig D.I., Johnson R.J. Hyperuricemia in childhood essential hypertension // *Hypertension*. 2003. V.42. P.247–252.
284. Feig D.I., Madero M., Jalal D.I., Sanchez-Lozada L.G., Johnson R.J. Uric Acid and the Origins of Hypertension // *J. Pediatr.* 2013. V.162, No.5. P.896–902.
285. Felder R.B. Mineralocorticoid receptors, inflammation and sympathetic drive in a rat model of systolic heart failure // *Exp. Physiol.* 2009. V.95.1. P. 19–25.
286. Feldt S., Batenburg W.W., Mazak I., Maschke U., Wellner M., Kvakan H., Dechend R., Fiebeler A., Burckle C., Contrepas A., Jan Danser A.H., Bader M., Nguyen G., Luft F.C., Muller D.N. Prorenin and renin-induced extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in monocytes is not blocked by aliskiren or the handle-region peptide // *Hypertension*. 2008. V.51. 682–688.
287. Feng L., Xia Y., Garcia G.E., Hwang D., Wilson C. Involvement of reactive oxygen intermediates in cyclooxygenase-2 expression induced by interleukin-1, tumor necrosis factor- α , and lipopolysaccharide // *J. Clin. Invest.* 1995. V.95. P.1669–1675.
288. Ferguson A.V., Washburn D.L. Angiotensin II: a peptidergic neurotransmitter in central autonomic pathways // *Prog. Neurobiol.* 1998. V.54. P.169–192.
289. Fernandes L., Fortes Z.B., Nigro D., Tostes R.C., Santos R.A., Carvalho M.H.C. Potentiation of bradykinin by angiotensin-(1-7) on arterioles of spontaneously hypertensive rats studied in vivo // *Hypertension*. 2001. V.37. P.703–709.
290. Fernandez-Alfonso M., Martorana P., Licka I., van Even P., Trobisch D., Schölkens B., Paul M. Early induction of angiotensin-I-converting enzyme in rat carotid artery after balloon injury // *Hypertension*. 1997. V.30. P.272–277.

291. Fernandez-Tome M., Favale N., Kraemer L., Gabriela M.M., Speziale E., Sterin-Speziale N. p44/42(ERK1/2) MAPK and PLD activation by PGD2 preserves papillary phosphatidylcholine homeostasis // *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 2004. V.320. P.1055-1062.
292. Fernau N.S., Fugmann D., Leyendecker M., Reimann K., Grether-Beck S., Galban S., Ale-Agha N., Krutmann J., Klotz L.O. Role of HuR and p38MAPK in ultraviolet B-induced post-transcriptional regulation of COX-2 expression in the human keratinocyte cell line HaCaT // *J.Biol.Chem.* 2010. V.285. P.3896-3904.
293. Ferrario C.M., Jessup J.A., Chappell M.C., Averill D.B., Brosnihan K.B., Gallagher P.E. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin converting enzyme 2 // *Circulation.* 2005a. V.111. P.2605–2610.
294. Ferrario C.M., Jessup J.A., Gallagher P.E., Averill D.B., Brosnihan K.B., Chappell M.C. Effects of renin angiotensin system blockade on renal angiotensin-(1-7) forming enzymes and receptors // *Kidney Int.* 2005b. V.68. P.2189–2196.
295. Ferreira S.H. Prostaglandins, aspirin-like drugs and hyperalgesia // *Nature.* 1972. V.240. P.200–203.
296. Finn F.M., Stehle C., Ricci P., Hofmann K. Angiotensin stimulation of adrenal fasciculata cells // *Arch. Biochem. Biophys.* 1988. V.264. P.160–167.
297. Fiordaliso F., Li B., Latini R., Sonnenblick E.H., Anversa P., Leri A., Kajstura J. Myocyte death in streptozotocin-induced diabetes in rats is angiotensin II-dependent // *Lab. Invest.* 2000. V.80. P.513–527.
298. Fischer-Ferraro C., Nahmod V.E., Goldstein D.J., Finkielman S. Angiotensin and renin in rat and dog brain // *J. Exp. Med.* 1971. V.133. P.353–361.
299. Fisher N.D., Hollenberg N.K. Renin inhibition: what are the therapeutic opportunities? // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005. V.16. 592–599.
300. FitzGerald G.A. Mechanisms of platelet activation: thromboxane A₂ as an amplifying signal for other agonists // *Am. J. Cardiol.* 1991. V.68. P.11B–15B.
301. Fleming E.F., Athirakul K., Oliverio M.I., Key M., Goulet J., Koller B.H., Coffman T.M. Urinary concentrating function in mice lacking EP₃ receptors for prostaglandin E₂ // *Am. J. Physiol.* 1998. V.275. P. F955-F961.
302. Fontes M.A., Pinge M.C., Naves V., Campagnole-Santos M.J., Lopes O.U., Khosla M.C., Santos R.A. Cardiovascular effects produced by microinjection of angiotensins and angiotensin antagonists into the ventrolateral medulla of freely moving rats // *Brain Res.* 1997. V.750. P.305–310.
303. Franco M., Tapia E., Santamaria J., Zafra I., Garcia-Torres R., Gordon K.L., Pons H., Rodriguez-Iturbe B., Johnson R.J., Herrera-Acosta J. Renal cortical vasoconstriction contributes to development of salt-sensitive hypertension after angiotensin II exposure // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001. V.12. P.2263–2271.
304. Francois H., Athirakul K., Howell D., Dash R., Mao L., Kim H.-S., Rockman H.A., FitzGerald G.A., Koller B.H., Coffman T.M. Prostacyclin protects against elevated blood pressure and cardiac fibrosis // *Cell Metabolism.* 2005. V. 2. P.201-207.
305. Friis U.G., Jensen B.L., Sethi S., Andreasen D., Hansen P.B., Skøtt O. Control of renin secretion from rat juxtaglomerular cells by cAMP-specific phosphodiesterases // *Circ. Res.* 2002. V.90. P.996–1003.

306. Frohlich E.D., Varagic J. Sodium directly impairs target organ function in hypertension // *Curr.Opin. Cardiol.* **2005.** V.20. P.424–429.
307. Frustaci A., Kajstura J., Chimenti C., Jakoniuk I., Leri A., Maseri A., Nadal-Ginard B., Anversa P. Myocardial cell death in human diabetes // *Circ. Res.* 2000. V.87. P.1123–1132.
308. Fyhrquist F., Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited // *J. Intern. Med.* 2008. V.264. P.224–236.
309. Galli S.J. New concepts about the mast cell // *N. Engl. J. Med.* 1993. V.328. P.257–265.
310. Gallinat S., Busche S., Raizada M.K., Summers C. The angiotensin II type 2 receptor: an enigma with multiple variations // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2000. V.278. P.E357–E374.
311. Ganten D., Hayduk K., Brecht H.M., Boucher R., Genest J. Evidence of renin release or production in splanchnic territory // *Nature.* 1970. V. 226. P.551–552.
312. Ganten D., Minnich J.L., Granger P., Hayduk K., Brecht H.M., Barbeau A., Boucher R., Genest J. Angiotensin-forming enzyme in brain tissue // *Science.* 1971. V.173. P.64–65.
313. Ganten D., Wagner J., Zeh K., Bader M., Michel J.-B., Paul M., Zimmermann F., Ruf P., Hilgenfeldt U., Ganten U., Kaling M., Bachmann S., Fukamizu A., Mullins J.J., Murakami K. Species specificity of renin kinetics in transgenic rats harboring the human renin and angiotensinogen genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. P.7806–7810.
314. Gao L., Wang W., Wang W., Li H., Summers C., Zucker I.H. Effects of Angiotensin Type 2 Receptor Overexpression in the Rostral Ventrolateral Medulla on Blood Pressure and Urine Excretion in Normal Rats // *Hypertension.* 2008a. V.51. P.521–527.
315. Gao L., Wang W.-Z., Wang W., Zucker I.H. Imbalance of AT1R and AT2R in the RVLM: potential mechanism for sympathetic overactivity in heart failure // *Hypertension.* 2008b. V. 52, No.4. P. 708–714.
316. Gao L., Zucker I.H. AT2 receptor signaling and sympathetic regulation // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2011. V.11. P.124–130.
317. Garcia E.A., Newhouse S., Caulfield M.J., Munroe P.B. Genes and hypertension // *Curr. Pharm. Des.* 2003. V.9. P.1679–1689.
318. García-Bueno B., Serrats J., Sawchenko. P.E. Cerebrovascular cyclooxygenase-1 expression, regulation, and role in hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation by inflammatory stimuli // *J. Neurosci.* 2009. V.29, No.41. P.12970–12981.
319. Gardiner N.J., Giblett S., Grubb B.D. Cyclooxygenases in rat spinal cord: selective induction of COX-2 during peripheral inflammation // *Br. J. Pharmacol.* 1997. V.120. P.71P.
320. Geerling J.C., Engeland W.C., Kawata M., Loewy A.D. Aldosterone target neurons in the nucleus tractus solitarius drive sodium appetite // *J. Neurosci.* 2006. V.26. P. 411–417.
321. Geisterfer A.A., Peach M.J., Owens G.K. Angiotensin II induces hypertrophy, not hyperplasia, of cultured rat aortic smooth muscle cells // *Circ. Res.* 1988. V.62. P.749–756.
322. Giachelli C.M., Pichler R., Lombardi D., Denhardt D.T., Alpers C.E., Schwartz S.M., Johnson R.J. Osteopontin expression in angiotensin II-induced tubulointerstitial nephritis // *Kidney Int.* 1994. V.45. P.515–524.

323. Giani J.F., Gironacci M.M., Muñoz M.C., Turyn D., Dominici F.P. Angiotensin-(1–7) has a dual role on growth-promoting signalling pathways in rat heart in vivo by stimulating STAT3 and STAT5a/b phosphorylation and inhibiting angiotensinII-stimulated ERK1/2 and Rho kinase activity // *Exp. Physiol.* 2008. V.93.5. P. 570–578.
324. Gibbons G.H., Pratt R.E., Dzau V.J. Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs. hyperplasia. Autocrine transforming growth factor-beta 1 expression determines growth response to angiotensin II // *J. Clin. Invest.* 1992. V.90. P.456–461.
325. Ginzinger D.G. Gene quantification using real-time quantitative PCR: An emerging technology hits the mainstream // *Exp. Hematol.* 2002. V.30. P.503–512.
326. Gironacci M.M., Vatta M., Rodriguez F., Fernandez B.E., Pena C. Angiotensin-(1–7) reduces norepinephrine release through a nitric oxide mechanism in rat hypothalamus // *Hypertension.* 2000. V.35. P.1248–1252.
327. Gohlke P., Pees C., Unger T. AT2 receptor stimulation increases aortic cyclic GMP in SHRSP by a kinin-dependent mechanism // *Hypertension.* 1998. V.31. P.349–355.
328. Goldblatt H. The renal origin of hypertension // *Physiol. Rev.* 1947. V.27. P.120–165.
329. Goldstein D.S. Stress as a scientific idea: A homeostatic theory of stress and distress // *Homeostasis.* 1995. V.4. P.177–215.
330. Goldstein D.S., Kopin I.J. Evolution of concepts of stress // *Stress.* 2007. V.10, No.2. P.109–120.
331. Goldstein D.S., McEwen B. Allostasis, homeostats, and the nature of stress // *Stress.* 2002. V. 5. P.55–58.
332. Gomez R.A., Lynch K.R., Chevalier R.L., Wilfong N., Everett A., Carey R.M., Peach M.J. Renin and angiotensinogen gene expression in maturing rat kidney // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 1988. V.254. P.F582-F587.
333. Goulter A.B., Goddard M.J., Allen J.C., Clark K.L. ACE2 gene expression is up-regulated in the human failing heart // *BMC Med.* 2004. V.2. P.19.
334. Graham S.H., Hickey R.W. Cyclooxygenases in central nervous system diseases: a special role for cyclooxygenase 2 in neuronal cell death // *Arch. Neurol.* 2003. V.60. P.628–630.
335. Gray M.O., Long C.S., Kalinyak J.E., Li H.T., Karlner J.S. Angiotensin II stimulates cardiac myocyte hypertrophy via paracrine release of TGF-beta 1 and endothelin-1 from fibroblasts // *Cardiovasc. Res.* 1998. V.40. P.352–363.
336. Griendling K.K., Minieri C.A., Ollerenshaw J.D., Alexander R.W. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells // *Circ. Res.* 1994. V.74 P. 1141–1148.
337. Gross D.R. Iatrogenic, congenic, and transgenic models of hypertension / In: *Animal Models in Cardiovascular Research.* Springer, 2009. P. 259-305.
338. Gross V., Schunck W.H., Honeck H., Milia A.F., Kargel E., Walther T., Bader M., Schneider W., Luft F.C. 1999 Inhibition of pressure natriuresis in mice lacking the AT2 receptor // *Kidney Int.* 1999. V.57. P.191–202.

339. Grosser T., Fries S., Fitzgerald G.A. Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities // *J. Clin. Invest.* 2006. V.116. P. 4–15.
340. Grosser T., Yu Y., Fitzgerald G.A. Emotion Recollected in Tranquility: Lessons Learned from the COX-2 Saga // *Annu. Rev. Med.* 2010. V.61. P.17-33.
341. Gupta P., Franco-Saenz R., Mulrow P.J. Regulation of the adrenal renin angiotensin system in cultured bovine zona glomerulosa cells: effect of catecholamines // *Endocrinology.* 1992. V.130. P.2129–2134.
342. Gurley S.B., Coffman T.M. Angiotensin-converting enzyme2 gene targeting studies in mice: mixed messages // *Exp. Physiol.* 2008. V.93.5. P.538–542.
343. Guyenet P.G. The sympathetic control of blood pressure // *Nat. Rev. Neurosci.* 2006. V.7. P.335–346.
344. Guyton, A.C. Blood pressure control — special role of the kidneys and body fluids // *Science.* 1991. V.252. P.1813–1816.
345. Guzik T.J., Hoch N.E., Brown K.A., McCann L.A., Rahman A., Dikalov S., Goronzy J., Weyand C., Harrison D.G. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction // *J. Exp. Med.* 2007. V.204. P.2449–2460.
346. Gyurko R., Kimura B., Kurian P., Crews F.T., Phillips M.I. Angiotensin II receptor subtypes play opposite roles regulating phosphatidylinositol hydrolysis in rat skin slices // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992. V.186. P.285–292.
347. Gyurko R., Wielbo D., Phillips M.I. Antisense inhibition of AT1 receptor mRNA and angiotensinogen mRNA in the brain of spontaneously hypertensive rats reduces hypertension of neurogenic origin // *Regul. Pept.* 1993. V.49. P.167–174.
348. Hagemann A., Nielsen A.H., Poulsen K. The uteroplacental renin-angiotensin system: a review // *Exp. Clin. Endocrinol.* 1994. V.102. P. 252–261,
349. Haithcock D., Jiao H., Cui X.-L., Hopfer U., Douglas J.G. Renal proximal tubular AT2 receptor: signaling and transport // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999. V.10 (Suppl 11). P.S69–S74.
350. Hall E.D., Andrus P.K., Althaus J.S., VonVoigtlander P.F. Hydroxyl radical production and lipid peroxidation parallels selective post-ischemic vulnerability in gerbil brain // *J. Neurosci. Res.* 1993. V34. P.107-112.
351. Hamming I., Timens W., Bulthuis M.L., Lely A.T., Navis G.J., Van G.H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis // *J. Pathol.* 2004. V.203. P.631–637.
352. Han N.L., Sim M.K. Hypothalamic angiotensin receptor subtypes in normotensive and hypertensive rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1998. V.275. P.H703–H709.
353. Handa R.K., Ferrario C.M., Strandhoy J.W. Renal actions of angiotensin (1–7): in vivo and in vitro studies // *Am. J. Physiol.* 1996. V.270. V.F141–F147.
354. Hanna I.R., Taniyama Y., Szocs K., Rocic P., Griendling K.K. NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species as mediators of angiotensin II signaling // *Antioxid. Redox. Signal.* 2002. V.4. P. 899–914.

355. Hao C.M., Breyer M.D. Physiologic and pathophysiologic roles of lipid mediators in the kidney // *Kidney Int.* 2007. V.71. P.1105–1115.
356. Hao C.M., Komhoff M., Guan Y., Redha R., Breyer M.D. Selective targeting of cyclooxygenase-2 reveals its role in renal medullary interstitial cell survival // *Am. J. Physiol.* 1999. V.277. P.F352-F359.
357. Harding J.W., Sullivan M.J., Hanesworth J.M., Cushing L.L., Wright J.W. Inability of [¹²⁵I]Sar1, Ile8-angiotensin II to move between the blood and cerebrospinal fluid compartments // *J. Neurochem.* 1988. V.50. P.554–557.
358. Harmer D., Gilbert M., Borman R., Clark K.L. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme // *FEBS Lett.* 2002. V.532, P. 107–110.
359. Harrap S.B., Van der Merwe W.M., Griffin S.A., Macpherson F., Lever A.F. Brief angiotensin converting enzyme inhibitor treatment in young spontaneously hypertensive rats reduces blood pressure long-term . *Hypertension.* 1990. V.16, No 6. P.603-614.
360. Harris R.C., Breyer M.D. Physiological regulation of cyclooxygenase-2 in the kidney // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2001. V.281. P.F1-11.
361. Harris R.C., McKanna J.A., Akai Y., Jacobson H.R., Dubois R.N., Breyer M.D. Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction // *J. Clin. Invest.* 1994. V.94. P.2504–2510.
362. Hata A.N., Breyer R.M. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: Multiple roles in inflammation and immune modulation // *Pharmacol. Ther.* 2004. V.103. P.147–166.
363. Hattori M.A., Del Ben G.L., Carmona A.K., Casarini D.E. Angiotensin I-converting enzyme isoforms (high and low molecular weight) in urine of premature and full-term infants // *Hypertension.* 2000. V.35. P.1284–1290.
364. Haulica I., Bild W., Serban D.N. Angiotensin peptides and their pleiotropic actions // *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2005. V.6. P.121–131.
365. Hebert R.L., Carmosino M., Saito O., Yang G., Jackson C.A., Qi Z., Breyer R.M., Natarajan C., Hata A.N., Zhang Y., Guan Y., Breyer M.D. Characterization of a rabbit kidney prostaglandin F(2{alpha}) receptor exhibiting G(i)-restricted signaling that inhibits water absorption in the collecting duct // *J. Biol. Chem.* 2005b. V.280. P.35028-35037.
366. Hein L., Barsh G.S., Pratt R.E., Dzau V.J., Kobika B.K. Behavioral and cardiovascular actions of disrupting the angiotensin II type II receptor gene in mice // *Nature.* 1995. V.377. P.744–747.
367. Heller J., Hellerova S., Dobesova Z., Kunes J., Zicha J. The Prague Hypertensive Rat: a new model of genetic hypertension // *Clin. Exp. Hypertens.* 1993. V.15. P.807–818.
368. Helliwell R.J., Adams L.F., Mitchell M.D. Prostaglandin synthases: recent developments and a novel hypothesis // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2004. V.70. P.101-113.
369. Hellmann W., Suzuki F., Ohkubo H., Nakanishi S., Ludwig G., Ganten D. Angiotensinogen gene expression in extrahepatic rat tissues: application of a solution hybridization assay // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1988. V.338. P.327–331.
370. Hellner K., Walther T., Schubert M., Albrecht D. Angiotensin-(1–7) enhances LTP in the hippocampus through the G-proteincoupled receptor Mas // *Mol. Cell Neurosci.* 2005. V.29. P.427–435.

371. Hennighausen L., Robinson G.W. Interpretation of cytokine signaling through the transcription factors STAT5A and STAT5B // *Genes & Development*. 2008. V.22. P.711–721.
372. Henrich W.L., McAllister E.A., Eskue A., Miller T., Moe O.W. Renin regulation in cultural proximal tubule cells // *Hypertension*. 1996. V.27. P.1337–1340.
373. Hertveldt V., Louryan S., van Reeth T., Drèze P., van Vooren P., Szpirer J., Szpirer C. The development of several organs and appendages is impaired in mice lacking Sp6 // *Dev. Dyn*. 2008. V.237. P.883–892.
374. Hervieu G.J., Cluderay J.E., Harrison D.C., Roberts J.C., Leslie R.A. Gene expression and protein distribution of the orexin-1 receptor in the rat brain and spinal cord // *Neuroscience*. 2001. V. 103. P. 777–797.
375. Herzig T.C., Jobe S.M., Aoki H., Molkentin J.D., Cowley A.W., Izumo S., Markham B.E. Angiotensin II type1a receptor gene expression in the heart: AP-1 and GATA-4 participate in the response to pressure overload (hypertrophy DNA injection) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 7543–7548.
376. Héту P.-O., Riendeau D. Cyclo-oxygenase-2 contributes to constitutive prostanoid production in rat kidney and brain // *Biochem. J*. 2005. V.391. P.561–566.
377. Hickey R.W., Adelson P.D., Johnides M.J., Davis D.S., Yu Z., Rose M.E., Chang Y.-F., Graham S.H. Cyclooxygenase-2 activity following traumatic brain injury in the developing rat // *Pediatr Res*. 2007. V. 62. p. 271–276.
378. Hilbert P., Lindpainter K., Beckmann J.S., Serikawa T., Soubrier F., Dubay C., Cartwright P., De Gouyon B., Julier C., Takahasi S., Vincent M., Ganten D., Georges M., Lathrop G.M. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats // *Nature*. 1991. V.353. P.521–529.
379. Hilgers K.F., Kuczera M., Wilhelm M.J., Wiecek A., Ritz E., Ganten D., Mann J.F. Angiotensin formation in the isolated rat hindlimb // *J. Hypertens*. 1989. V.7. P.789–798.
380. Hilgers K.F., Veelken R., Muller D.N., Kohler H., Hartner A., Botkin S., Stumpf C., Schmieder R.E., Gomez R.A. Renin uptake by the endothelium mediates vascular angiotensin formation // *Hypertension*. 2001. V.38. P.243–248.
381. Hinson J.P., Vinson G.P., Whitehouse B.J. Effects of dietary sodium restriction on peptide stimulation of aldosterone secretion by isolated perfused rat adrenal gland in situ: a report of exceptional sensitivity to angiotensin II amide // *J. Endocrinol*. 1988. V.119. P.83–88.
382. Hinson J.P., Vinson G.P., Whitehouse B.J., Price G.M. Effects of stimulation on steroid output and perfusion medium flow-rate in the isolated perfused rat adrenal-gland in situ // *J. Endocrinol*. 1986. V.109. P.279–285.
383. Hirooka Y., Potts P. D., Dampney R.A.L. Role of angiotensin II receptor subtypes in mediating the sympathoexcitatory effects of exogenous and endogenous angiotensin peptides in the rostral ventrolateral medulla of the rabbit // *Brain Res*. 1997. V.772. P.107.
384. Hirsch A.T., Talsness C.E., Schunkert H., Paul M., Dzau V.J. Tissue-specific activation of cardiac angiotensin converting enzyme in experimental heart failure // *Circ. Res*. 1991. V.69. P.475–482.
385. Hirsch A.T., Talsness C.E., Smith A.D., Schunkert H., Ingelfinger J.R., Dzau V.J. Differential effects of captopril and enalapril on tissue renin-angiotensin systems in experimental heart failure // *Circulation*. 1992. V.86. P.1566–1574.

386. Hoch N.E., Guzik T.J., Chen W., Deans T., Maalouf S.A., Gratze P., Weyand C., Harrison D.G. Regulation of T cell function by endogenously produced angiotensin II // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2009. V.296. P.R208–R216.
387. Hoffmann S. Cardiac-specific overexpression of angiotensin II type 1 receptor in transgenic rats // *Methods Mol. Med.* 2005. V.112. P.389–403.
388. Hoffmann S., Krause T., van Geel P.P., Willenbrock R., Pagel I., Pinto Y., Buikema H., van Gilst W.H., Lindschau C., Paul M., Inagami T., Ganten D., Urata H. Overexpression of the human angiotensin II type 1 receptor in the rat heart augments load induced cardiac hypertrophy // *J. Mol. Med.* 2001. V.79. P.601–608.
389. Hohle S., Spitznagel H., Rascher W., Culman J., Unger T. Angiotensin AT1 receptor-mediated vasopressin release and drinking are potentiated by an AT2 receptor antagonist // *Eur. J. Pharmacol.* 1995. V.275. P.277–282.
390. Holmer S., Eckardt K., Lehir M., Schricker K., Riegger G., Kurtz A. Influence of dietary NaCl intake on renin gene-expression in the kidneys and adrenal-glands of rats // *Pflugers Arch.* 1993. V.425. P.62–67.
391. Holubarsch C., Hasenfuss G., Schmidt-Schweda S., Knorr A., Pieske B., Ruf T., Fasol R., Just H. Angiotensin I and II exert inotropic effects in atrial but not in ventricular human myocardium. An in vitro study under physiological experimental conditions // *Circulation.* 1993. V.88. P.1228–1237.
392. Horiuchi M., Akishita M., Dzau V.J. Recent progress in angiotensin II type-2 receptor research in the cardiovascular system // *Hypertension.* 1999. V.33. P.613–621.
393. Horiuchi M., Mogi M., Iwai M. The angiotensin II type 2 receptor in the brain // *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2010. V.11. P. 1-6.
394. Hsu H., Xiong J., Goeddel D.V. The TNF receptor-1 associated protein TRADD signals cell death and NF-kappa B activation // *Cell.* 1995. V.81. P.495-504.
395. Hsueh W.A., Baxter J.D. Human prorenin // *Hypertension.* 1991. V.17. P.469–477.
396. Hu L., Zhu D.-N., Yu Z., Wang J.Q., Sun Z.-J., Yao T. Expression of angiotensin II type 1 (AT1) receptor in the rostral ventrolateral medulla in rats // *J. Appl. Physiol.* 2002. V.92. P.2153–2161.
397. Huang X.C., Richards E.M., Sumners C. Mitogen-activated protein kinases in rat brain neuronal cultures are activated by angiotensin II type 1 receptors and inhibited by angiotensin II type 2 receptors // *J. Biol. Chem.* 1996. V.271. P.15635–15641.
398. Huentelman M.J., Grobe J., Vazquez J., Stewart J.M., Mecca A.P., Katovich M.J., Ferrario C.M., Raizada M.K. Protection from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats // *Exp. Physiol.* 2005. V.90. P.783–790.
399. Hutchinson H.G., Hein L., Fujinaga M., Pratt R.E. Modulation of vascular development and injury by angiotensin II // *Cardiovasc. Res.* 1999. V.41. P.689–700.
400. Ichihara A., Kaneshiro Y., Takemitsu T., Sakoda M., Suzuki F., Nakagawa T., Nishiyama A., Inagami T., Hayashi M. Nonproteolytic activation of prorenin contributes to development of cardiac fibrosis in genetic hypertension // *Hypertension.* 2006. V.47. P.894–900.
401. Ichihara A., Kobori H., Nishiyama A., Navar L.G. Renal renin-angiotensin system // *Contrib. Nephrol.* 2004. V.143. P.117–130.

402. Ichihara S., Senbonmatsu T., Price E. Jr, Ichiki T., Gaffney F.A., Inagami T. Angiotensin II type 2 receptor is essential for left ventricular hypertrophy and cardiac fibrosis in chronic angiotensin II-induced hypertension // *Circulation*. 2001. V.104. P.346–351.
403. Ichiki T., Kambayashi Y., Inagami T. Multiple growth factors modulate messenger RNA expression of angiotensin II type-2 receptor in R3T3 cells // *Circ. Res.* 1995a. V.77. P.1070–1076.
404. Ichiki T., Labosky P.A., Shiota C., Okuyama S., Imagara Y., Fogo A., Niimura F., Ichikawa I., Hogan B.L., Inagami T. Effects on blood pressure and exploratory behavior of mice lacking the angiotensin type 2 receptor // *Nature*. 1995b. V.377. P.748–750.
405. Ichitani Y., Holmberg K., Maunsbach A.B., Haeggström J.Z., Samuelsson B., De Witt D., Hökfelt T. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 expression in rat kidney and adrenal gland after stimulation with systemic lipopolysaccharide: in situ hybridization and immunocytochemical studies // *Cell Tissue Res.* 2001. V.303, No.2. P.235-252.
406. Ida T., Nakahara K., Murakami T., Hanada R., Nakazato M., Murakami N. Possible involvement of orexin in the stress reaction in rats // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. V. 270. No.1. P. 318–323.
407. Igie R., Behnia R. Pharmacological, immunological, and gene targeting of the renin–angiotensin system for treatment of cardiovascular disease // *Curr. Pharm. Des.* 2007. V.13. P.1199–1214.
408. Inoue H., Tanabe T. Transcriptional role of the nuclear factor kappa B site in the induction by lipopolysaccharide and suppression by dexamethasone of cyclooxygenase-2 in U937 cells // *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 1998. V.244. P.143-148.
409. Itani H., Liu X., Sarsour E.H., Goswami P.C., Born E., Keen H.L., Sigmund C.D. Regulation of Renin Gene Expression by Oxidative Stress // *Hypertension*. 2009. V.53. P.1070-1076.
410. Ito, S., Hiratsuka M., Komatsu K., Tsukamoto K., Kanmatsuse K., Sved A.F. Ventrolateral medulla AT1 receptors support arterial pressure in Dahl salt-sensitive rats // *Hypertension*. 2003. V.41. P.744–750.
411. Ito S., Komatsu K., Tsukamoto K., Kanmatsuse K., Sved A.F. Ventrolateral medulla AT1 receptors support blood pressure in hypertensive rats // *Hypertension*. 2002. V.40. P.552–559.
412. Ito S., Sved A.F. Blockade of angiotensin receptors in rat rostral ventrolateral medulla removes excitatory vasomotor tone // *Am. J. Physiol.* 1996. V.270. P.R1317–1323.
413. Ito S., Sved A.F. Pharmacological profile of depressor response elicited by sarthran in rat ventrolateral medulla // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000. V.279. P.H2961–2966.
414. Iwai N., Izumi M., Inagami T., Kinoshita A. Induction of renin in medial smooth muscle cells by balloon injury // *Hypertension*. 1997. V.29. P.1044–1050.
415. Jacob F., Clark L. A., Guzman P. A. Osborn J. W. Role of renal nerves in development of hypertension in DOCA-salt model in rats: a telemetric approach // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. V.289. P.H1519–H1529.
416. Jacob M.P. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions // *Biomed. Pharmacother.* 2003. V.57. P.195–202.
417. Jan Danser A.H., Batenburg W.W., van Esch J.H. Prorenin and the (pro)renin receptor—an update // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007. V.22. P.1288–92.

418. Jan Danser A.H., Saris J.J. Prorenin uptake in the heart: a prerequisite for local angiotensin generation? // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2002. V.34. P.1463–1472.
419. Jensen L.L., Harding J.W., Wright J.W. Role of paraventricular nucleus in control of blood pressure and drinking in rats // *Am. J. Physiol.* 1992. V.262. P.F1068–1075.
420. Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP, Celerier J, Corvol P: Angiotensinogen variants and human hypertension // *Curr. Hypertens. Rep.* 1999. V.1. P.31–41.
421. Jia Z., Guo X., Zhang H., Wang M.H., Dong Z., Yang T. Microsomal prostaglandin synthase-1-derived prostaglandin E2 protects against angiotensin II-induced hypertension via inhibition of oxidative stress // *Hypertension.* 2008. V.52. P.952-959.
422. Jia Z., Zhang A., Zhang H., Dong Z., Yang T. Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 increases sensitivity to salt loading and angiotensin II infusion // *Circ. Res.* 2006. V.99. P.1243–1251.
423. Jin R.C., Voetsch B., Loscalzo J. Endogenous mechanisms of inhibition of platelet function // *Microcirculation.* 2005. V.12. P.247–258.
424. Jin X.-H., Siragy H.M., Carey R.M. Renal interstitial guanosine cyclic 3', 5' monophosphate induces natriuresis by a direct tubule mechanism // *Hypertension.* 2001. V.38. P.309–316.
425. Jin X.-H., Wang Z.Q., Siragy H.M., Guerrant R.L, Carey R.M. Regulation of jejunal sodium and water absorption by angiotensin subtype receptors // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1998. V.275. P.R515–R523.
426. Johnson R.J., Feig D.I., Nakagawa T., Sanchez-Lozada L.G., Rodriguez-Iturbe B. Pathogenesis of essential hypertension: historical paradigms and modern insights // *J. Hypertens.* 2008. V.26, No.3. P. 381-391.
427. Johnson R.J., Rideout B.A. Uric acid and diet: insights into the epidemic of cardiovascular disease (editorial) // *N. Engl. J. Med.* 2004. V.350. P.1071–1074.
428. Johnson R.J., Rodriguez-Iturbe B., Kang D.-H., Feig D.I., Herrera-Acosta J. A Unifying Pathway for Essential Hypertension // *Am. J. Hypertens.* 2005. V.18. P.431–440.
429. Johnson R.J., Schreiner G.F. Hypothesis: the role of acquired tubulointerstitial disease in the pathogenesis of salt-dependent hypertension // *Kidney Int.* 1997. V.52. P.1169 –1179.
430. Johnston C.I. Tissue angiotensin converting enzyme in cardiac and vascular hypertrophy, repair, and remodeling // *Hypertension.* 1994. V.23. P.258–268.
431. Jones C.A., Sigmund C.D., McGowan R.A., Kane-Haas C.M., Gross K.W. Expression of murine renin genes during fetal development // *Mol. Endocrinol.* 1990. V.4. P.375–383.
432. Jones S.A., Adamson S.L., Bishai I., Lees J., Engelberts D., Cocceani F. Eicosanoids in third ventricular cerebrospinal fluid of fetal and newborn sheep // *Am. J. Physiol.* 1993. V.264. P.R135–142.
433. Julius S. The evidence for a pathophysiologic significance of sympathetic overactivity in hypertension // *Clin. Exp. Hypertens.* 1996. V.18. P.305–321.
434. Julius S., Nesbitt S. Sympathetic overactivity in hypertension. A moving target // *Am J Hypertens.* 1996. V.9. P.S113–S120.

435. Kagiya S., Eguchi S., Frank G.D., Inagami T., Zhang Y.C., Phillips M.I. Angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and hypertension are attenuated by epidermal growth factor receptor antisense // *Circulation*. 2002. V.106. P.909–912.
436. Kagiya S., Tsuchihashi T., Abe I., Matsumura K., Fujishima M. Antisense inhibition of angiotensinogen attenuates vasopressin release in the paraventricular hypothalamic nucleus of spontaneously hypertensive rats // *Brain Res*. 1999. V.829. P.120–124.
437. Kalenga M.K., Thomas K., de Gasparo M., De Hertogh R. Determination of renin, angiotensin converting enzyme and angiotensin II levels in human placenta, chorion and amnion from women with pregnancy induced hypertension // *Clin. Endocrinol*. 1996. V.44, No.4. P.429-433.
438. Kalinyak J.E., Perlman A.J. Tissue-specific regulation of angiotensinogen mRNA accumulation by dexamethasone // *Biol. Chem*. 1987. V.262. P.460-464.
439. Kammerl M.C., Nüsing R.M., Seyberth H.W., Riegger G.A.J., Kurtz A., Krämer B.K. Inhibition of cyclooxygenase-2 attenuates urinary prostanoid excretion without affecting renal renin expression // *Pflügers Arch*. 2001. V.442. P.842–847.
440. Kanellis J., Nakagawa T., Herrera-Acosta J., Schreiner G.F., Rodriguiz-Iturbe B., Johnson R.J. A single pathway for the development of essential hypertension // *Cardiol. Rev*. 2003. V.11. P.180–96.
441. Katori M., Majima M. Cyclooxygenase-2: its rich diversity of roles and possible application of its selective inhibitors // *Inflamm. Res*. 2000. V.49. P.367—392.
442. Kaufmann W.E., Worley P.F., Pegg J., Bremer M., Isakson P. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Pharmacology*. 1996. V.93. P. 2317-2321.
443. Kaufmann W.E., Worley P.F., Taylor C.V., Bremer M., Isakson P.C. Cyclooxygenase-2 expression during rat neocortical development and in Rett syndrome // *Brain Dev*. 1997. V.19, No.1. P.25-34.
444. Keidar S., Kaplan M., Gamliel-Lazarovich A. ACE2 of the heart: From angiotensin I to angiotensin (1–7) // *Cardiovasc. Res*. 2007a. V.73. P.463–469.
445. Keidar S., Strizevsky A., Raz A., Gamliel-Lazarovich A. ACE2 activity is increased in monocyte-derived macrophages from prehypertensive subjects // *Nephrol. Dial. Transplant*. 2007b. V.22, No.2. P.597-601.
446. Kifor I., Moore T.J., Fallo F., Sperling E., Chiou C.Y., Menachery A., Williams G.H. Potassium-stimulated angiotensin release from superfused adrenal capsules and enzymatically dispersed cells of the zona glomerulosa // *Endocrinology*. 1991. V.129. P.823–831.
447. Kim S., Tokuyama M., Hosoi M., Yamamoto K. Adrenal and circulating renin-angiotensin system in stroke-prone hypertensive rats // *Hypertension*. 1992. V.20. P.280–291.
448. Kim S.F., Huri D.A., Snyder S.H. Inducible nitric oxide synthase binds, S-nitrosylates, and activates cyclooxygenase-2 // *Science*. 2005. V.310. P.1966-1970.
449. Kimbrough H.M., Vaughan Jr. E.D., Carey R.M., Ayers C.R. Effect of intrarenal angiotensin II on renal function in conscious dogs // *Circ. Res*. 1977. V.40. P.174–178.
450. Kimura B., Summers C., Phillips M.I. Changes in skin angiotensin II receptors in rats during wound healing // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1992a. V.187. P.1083–1090.

451. Kimura S., Mullins J.J., Bunnemann B., Metzger R., Hilgenfeldt U., Zimmermann F., Jacob H., Fuxe K., Ganten D., Kaling M. High blood pressure in transgenic mice carrying the rat angiotensinogen gene // *EMBO J.* 1992. V.11, No.3. P.821-827.
452. Kis B., Snipes J.A., Busija D.W. Acetaminophen and the Cyclooxygenase-3 Puzzle: Sorting out Facts, Fictions, and Uncertainties // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005. V.315. P.1-7.
453. Kiss A., Aguilera G. Participation of α_1 -adrenergic receptors in the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing hormone during stress // *Neuroendocrinology.* 1992. V.56. P.153-160.
454. Kitaoka S., Furuyashiki T., Nishi A., Shuto T., Koyasu S., Matsuoka T., Miyasaka M., Greengard P., Narumiya S. Prostaglandin E₂ acts on EP₁ receptor and amplifies both dopamine D₁ and D₂ receptor signaling in the striatum // *J. Neurosci.* 2007. V.27, No.47. P.12900-12907.
455. Klickstein L.B., Kaempfer C.E., Wintroub B.U. The granulocyte-angiotensin system. Angiotensin I-converting activity of cathepsin G // *J. Biol. Chem.* 1982. V.257. P.15042-15046.
456. Kobayashi T., Narumiya S. Function of prostanoid receptors: studies on knockout mice // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002. V.68-69. P.557-573.
457. Kobayashi T., Tahara Y., Matsumoto M., Iguchi M., Sano H., Murayama T., Arai H., Oida H., Yurugi-Kobayashi T., Yamashita J.K., Katagiri H., Majima M., Yokode M., Kita T., Narumiya S. Roles of thromboxane A₂ and prostacyclin in the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice // *J. Clin. Invest.* 2004. V.114. P.784-794.
458. Kobori H., Harrison-Bernard L.M., Navar L.G. Enhancement of angiotensinogen expression in angiotensin II-dependent hypertension // *Hypertension.* 2001. V.37. P.1329-1335.
459. Kobori H., Nangaku M., Navar L.G., Nishiyama A. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease // *Pharmacol. Rev.* 2007. V.59, No.3. P.251-287.
460. Kobori H., Nishiyama A., Abe Y., Navar L.G. Enhancement of intrarenal angiotensinogen in Dahl salt-sensitive rats on high salt diet // *Hypertension.* 2003. V.41, No.3. P.592-597.
461. Koch-Weser J. Nature of the inotropic action of angiotensin on ventricular myocardium // *Circ. Res.* 1965. V.16. P. 230-237.
462. Kohlstedt K., Shoghi F., Muller-Esterl W., Busse R., Fleming I. CK2 phosphorylates the angiotensin-converting enzyme and regulates its retention in the endothelial cell plasma membrane // *Circ. Res.* 2002. V.91. P.749-756.
463. Kojima M., Shiojima I., Yamazaki T., Komuro I., Zou Z., Wang Y., Mizuno T., Ueki K., Tobe K., Kadowaki T. Angiotensin II receptor antagonist TCV-116 induces regression of hypertensive left ventricular hypertrophy in vivo and inhibits the intracellular signaling pathway of stretch-mediated cardiomyocyte hypertrophy in vitro // *Circulation.* 1994. V.89. P.2204-2211.
464. Koletsky R.J., Velliquette R.A., Ernsberger P. The role of I(1)-imidazole receptors and alpha(2)-adrenergic receptors in the modulation of glucose and lipid metabolism in the SHROB model of metabolic syndrome X // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003. V.1009. P.251-261.
465. Komatsu C., Shibata K., Furukawa T. The developmental increase of the AT1A, but not the AT1B, receptor mRNA level at the preoptic area in spontaneously hypertensive rats // *Life Sci.* 1996. V. 58. P. 1109 - 1121.

466. Kondoh G., Tojo H., Nakatani Y., Komazawa N., Murata C., Yamagata K., Maeda Y., Kinoshita T., Okabe M., Taguchi R., Takeda J. Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein releasing factor crucial for fertilization // *Nat. Med.* 2005. V.11. P.160–166.
467. Kontos H.A., Wei E.P., Povlishock J.T., Dietrich W.D., Magiera C.J., Ellis E.F. Cerebral arteriolar damage by arachidonic acid and prostaglandin G2 // *Science*. 1980. V.209. P.1242-1245.
468. Kopp E.B., Ghosh S. NF- κ B and Rel proteins in innate immunity // *Adv. Immunol.* 1995. V.58. P.1-27.
469. Korner P., Bobik A., Oddie C., Friberg P. Sympathoadrenal system is critical for structural changes in genetic hypertension // *Hypertension*. 1993. V.22. P.243–252.
470. Kosaka T., Miyata A., Ihara H., Hara S., Sugimoto T., Takeda O., Takahashi E., Tanabe T. Characterization of the human gene (PTGS2) encoding prostaglandinendoperoxide synthase 2 // *Eur. J. Biochem.* 1994. V.221. P.889-897.
471. Krebs D.L., Metcalf D., Merson T.D., Voss A.K., Thomas T., Zhang J.G., Rakar S., O'Bryan M.K., Willson T.A., Viney E.M., Mielke L.A., Nicola N.A., Hilton D.J., Alexander W.S. Development of hydrocephalus in mice lacking SOCS7 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. V.101.1P.5446-15451.
472. Kretowicz M., Johnson R.J., Ishimoto T., Nakagawa T., Manitius J. The impact of fructose on renal function and blood pressure // *Int. J. Nephrol.* 2011. V.2011. P.315879.
473. Kreutz R., Fernandez-Alfonso M.S., Liu Y., Ganten D., Paul M. Induction of cardiac angiotensin I-converting enzyme with dietary NaCl-loading in genetically hypertensive and normotensive rats // *J. Mol. Med.* 1995a. V.73. P.243–248.
474. Kreutz R., Hübner N., James M.R., Bihoreau M.-T., Gauguier D., Lathrop G.M., Ganten D., Lindpaintner K. Dissection of a quantitative trait locus for genetic hypertension on rat chromosome 10 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995b. V. 92. P. 8778-8782.
475. Kumar R., Singh V.P., Baker K.M. The intracellular renin–angiotensin system: a new paradigm // *Trends Endocrinol. Metab.* 2007. V.18, No.5. P.208-214.
476. Kuo T.B.J., Lai C.J., Shaw F.-Z., Lai C.-W., Yang C.C.H. Sleep-related sympathovagal imbalance in SHR // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004. V.286. P.H1170–H1176.
477. Kurisu S., Ozono R., Oshima T., Kambe M., Ishida T., Sugino H., Matsuura H. Cardiac angiotensin II type 2 receptor activates the kinin/NO system and inhibits fibrosis // *Hypertension*. 2003. V.41. P.99–107.
478. Kurtz A., Wagner C. Cellular control of renin secretion // *J. Exp. Biol.* 1999. V.202. P.219–225.
479. Kuru M., Ueta Y., Serino R., Nakazato M., Yamamoto Y., Shibuya I., Yamashita H. Centrally administered orexin/hypocretin activates HPA axis in rats // *Neuroreport*. 2000. V.11. P.1977-1980.
480. Kvetnansky R., Sabban E.L., Palkovits M. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches // *Physiol. Rev.* 2009. V.89. P.535-606.
481. Lam S.Y., Leung P.S. A locally generated angiotensin system in rat carotid body // *Regul. Pept.* 2002. V.107. P.97–103.
482. Lambert D.W., Yarski M., Warner F.J., Thornhill P., Parkin E.T., Smith A.I., Hooper N.M., Turner A.J. Tumor necrosis factor- α convertase (ADAM17) mediates regulated ectodomain shedding

- of the severe-acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-Co-V) receptor, angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2) // *J. Biol. Chem.* 2005. V.280. P.30113–30119.
483. Lambert-Langlais S., Pointud J.-C., Lefrançois-Martinez A.-M., Volat F., Manin M., Coudoré F., Val P., Sahut-Barnola I., Ragazzon B., Louiset E., Delarue C., Lefebvre H., Urade Y., Martinez A. Aldo keto reductase 1B7 and prostaglandin $F_{2\alpha}$ are regulators of adrenal endocrine functions // *PLoS ONE*. 2009. V.4(10). P. e7309.
484. Lapteva N., Krivenko A., Dymshits G., Markel A. Search for the genes responsible for hypertension development in stress-sensitive ISIAH rat strain // *Physiol. Res.* 1998. V. 47, № 5. P. 51.
485. Lasa M., Brook M., Saklatvala J., Clark A.R. Dexamethasone destabilizes cyclooxygenase 2 mRNA by inhibiting mitogen-activated protein kinase p38 // *Mol. Cell Biol.* 2001. V.21, No.3. P.771-780.
486. Lavoie J.L., Cassell M.D., Gross K.W., Sigmund C. D. Adjacent expression of renin and angiotensinogen in the rostral ventrolateral medulla using a dualreporter transgenic model // *Hypertension*. 2004a. V.43. P.1116–1119.
487. Lavoie J.L., Cassell M.D., Gross K.W., Sigmund C.D. Localization of renin expressing cells in the brain, by use of a REN-eGFP transgenic model // *Physiol. Genomics*. 2004b. V.16. P.240–246.
488. Lavoie J.L., Sigmund C.D. Minireview: Overview of the renin-angiotensin system—an endocrine and paracrine system // *Endocrinology*. 2003. V.144. P.2179–2183.
489. Lazartigues E., Dunlay S.M., Loihl A.K., Sinnayah P., Lang J.A., Espelund J.J., Sigmund C.D., Davisson R.L. Brain-selective overexpression of angiotensin (AT1) receptors causes enhanced cardiovascular sensitivity in transgenic mice // *Circ. Res.* 2002. V.90. P.617–624.
490. Lazarus M., Eguchi N., Matsumoto S., Nagata N., Yano T., Killian G.J. Urade Y. Species-specific expression of microsomal prostaglandin E synthase-1 and cyclooxygenases in male monkey reproductive organs // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*. 2004. V.71. P.233–240.
491. Leak T.S., Perlegas P.S., Smith S.G., Keene K.L., Hicks P.J., Langefeld C.D., Mychaleckyj J.C., Rich S.S., Kirk J.K., Freedman B.I., Bowden D.W., Sale M.M. Variants in intron 13 of the ELMO1 gene are associated with diabetic nephropathy in African Americans // *Ann. Hum. Genet.* 2009. V.73. P.152-159.
492. Lebel M., Grose J.H., Blais R. Abnormal relation of extracellular fluid volume and exchangeable sodium with systemic arterial pressure in early borderline essential hypertension // *Am J Cardiol*. 1984. V.54. P.1267–1271.
493. Lebrun C.J., Blume A., Herdegen T., Seifert K., Bravo R., Unger T. Angiotensin II induces a complex activation of transcription factors in the rat brain: expression of Fos, Jun and Krox proteins // *Neuroscience*. 1995. V.65. P.93–99.
494. Lee M.A., Böhm M., Paul M., Bader M., Ganten U., Ganten D. Physiological characterization of the hypertensive transgenic rat TGR(mREN2)27 // *Am J Physiol*. 1996a V.270. P.E919–E929.
495. Lee W.J., Kim K.S., Yang E.K., Lee J.H., Lee E.J., Park J.S., Kim H.J. Effect of brain angiotensin II AT1, AT2, and cholinergic receptor antagonism on drinking in water-deprived rats // *Regul Pept*. 1996c. V.66. P.41–46.
496. Lee Y.-A., Liang C.-S., Lee M.-A., Lindpainter K. Local stress, not systemic factors, regulate gene expression of the cardiac renin-angiotensin system *in vivo*: a comprehensive study of all its components in the dog // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996b. V.93(20). P.11035-11040.

497. Lenkei Z., Palkovits M., Corvol P., Llorens-Cortes C. Distribution of angiotensin II type-2 receptor (AT₂) mRNA expression in the adult rat brain // *J. Comp. Neurol.* 1996. V.373. P.322–339.
498. Le Noble F.A.C., Hekking J.W.M., Van Straaten H.W.M., Slaaf D.W., Struyker-Boudier H.A. Angiotensin II stimulates angiogenesis in the chorio-allantoic membrane of the chick embryo // *Eur. J. Pharmacol.* 1991. V.195. P.305–306.
499. Le Noble F.A., Schreurs N.H., van Straaten H.W., Slaaf D.W., Smits J.F., Rogg H., Struijker-Boudier H.A. Evidence for a novel angiotensin II receptor involved in angiogenesis in chick embryo chorioallantoic membrane // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1993. V.264. P.R460–R465.
500. Leri A., Claudio P.P., Li Q., Wang X., Reiss K., Wang S., Malhotra A., Kajstura J., Anversa P. Stretch-mediated release of angiotensin II induces myocyte apoptosis by activating p53 that enhances the local renin-angiotensin system and decreases the Bcl-2-to-Bax protein ratio in the cell // *J. Clin. Invest.* 1998. V.101. P.1326–1342.
501. Leung P.S. The physiology of a local renin–angiotensin system in the pancreas // *J. Physiol.* 2007. V.580.1. P. 31–37.
502. Leung P.S., Fung M.L., Tam M.S.C. Renin–angiotensin system in the carotid body // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003. V.35. P.847–854.
503. Levens N.R., Peach M.J., Carey R.M. Role of the intrarenal renin-angiotensin system in the control of renal function // *Circ. Res.* 1981b. V.48. P.157–167.
504. Levens N.R., Peach M.J., Carey R.M. Interactions between angiotensin peptides and the sympathetic nervous system mediating intestinal sodium and water absorption in the rat // *J. Clin. Invest.* 1981a. V.67. P. 1197–1207.
505. Levy B.I. Can angiotensin II type 2 receptors have deleterious effects in cardiovascular disease? Implications for therapeutic blockade of the renin-angiotensin system // *Circulation.* 2004. V.000.0P.9: 8–13.
506. Levy D., Ehret G.B., Rice K. et al. (44 authors) Genome-wide association study of blood pressure and hypertension // *Nat. Genet.* 2009. V.41. P.677 – 687.
507. Li N., Zimpelmann J., Cheng K., Wilkins J.A., Burns K.D. The role of angiotensin converting enzyme 2 in the generation of angiotensin 1-7 by rat proximal tubules // *Am. J. Physiol.* 2004. V.288. P. F353–F362.
508. Li P., Chappell M.C., Ferrario C.M., Broshinan K.B. Angiotensin (1–7) augments bradykinin-induced vasodilation by competing with ACE and releasing nitric oxide // *Hypertension.* 1997. V.29. P.394–400.
509. Li P., Chen P.M., Wang S.W., Chen L.Y. Time-dependent expression of chymase and angiotensin converting enzyme in the hamster heart under pressure overload // *Hypertens. Res.* 2002. V.25. P. 757–762.
510. Li Y.W., Guyenet P.G. Angiotensin II decreases a resting K⁺ conductance in rat bulbospinal neurons of the C1 area // *Circ. Res.* 1996. V.78.P. 274–282.
511. Li Z., Ferguson A.V. Angiotensin II responsiveness of rat paraventricular and subfornical organ neurons in vitro // *Neuroscience.* 1993. V.55. P.197–207.

512. Li Z., Iwai M., Wu L., Shiuchi T., Jinno T., Cui T.X., Horiuchi M. Role of AT₂ receptor in the brain in regulation of blood pressure and water intake // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003. V.284. P.H116–121.
513. Lin L., Nasjletti A. Prostanoid-mediated vascular contraction in normotensive and hypertensive rats // *Eur. J. Pharmacol.* 1992. V.220. P.49–53.
514. Lin L., Nasjletti A. Role of endothelium-derived prostanoid in angiotensin-induced vasoconstriction // *Hypertension.* 1991. V.18. P.158–164.
515. Lin W.N., Lin C.C., Cheng H.Y., Yang C.M. Regulation of cyclooxygenase-2 and cytosolic phospholipase A₂ gene expression by lipopolysaccharide through the RNA-binding protein HuR: involvement of NADPH oxidase, reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinases // *Br. J. Pharmacol.* 2011. V.163, No.8. P.1691-706.
516. Lindpainter K., Jin M., Niedermajer N., Wilhelm M.J., Ganten D. Cardiac angiotensinogen and its local activation in the isolated perfused beating heart // *Circ. Res.* 1990. V.67. P.564–573.
517. Lindpaintner K., Jin M., Wilhelm M.J., Suzuki F., Linz W., Schoelkens B.A., Ganten D. Intracardiac generation of angiotensin and its physiologic role // *Circulation.* 1988. V.77 Suppl 1. P.I-18 –I-23.
518. Lindpaintner K., Lu W., Neidermayer N., Schieffer B., Just H., Ganten D., Drexler H. Selective activation of cardiac angiotensinogen gene expression in post-infarction ventricular remodeling in the rat // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1993. V.25. P.133–143.
519. Linton, M. F., and S. Fazio. Cyclooxygenase-2 and inflammation in atherosclerosis // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2004. V.4. P.116–123.
520. Linz W., Weirner G., Gohlke P., Unger T., Scholkens B.A. Contribution of kinases to the cardiovascular actions of angiotensin converting enzyme inhibitors // *Pharmacol. Rev.* 1995. V.47. P.25–49.
521. Lippoldt A., Fuxe K., Luft F.C. A view of renin in the brain // *J. Mol. Med.* 2001. V.79. P.71–73.
522. Liu X., Shi Q., Sigmund C.D. Interleukin-1 β attenuates renin gene expression via a mitogen-activated protein kinase kinase-extracellular signal-regulated kinase and signal transducer and activator of transcription 3-dependent mechanism in As4.1 cells // *Endocrinology.* 2006. V.147. P.6011– 6018.
523. Lo M., Liu K.L., Lantelme P., Sassard J. Subtype-2 of angiotensin receptors controls pressure natriuresis in rats // *J. Clin. Invest.* 1995. V.95, No.3. P.1394-1397.
524. London G.M., Levenson J.A., London A.M., Simon A.C., Safar M.E. Systemic compliance, renal hemodynamics, and sodium excretion in hypertension // *Kidney Int.* 1984. V.26. P.342–350.
525. Longini I.M., Higgins M.W., Hinton P.C., Moll P.C., Keller J.B. Environmental and genetic sources of familial aggregation of blood pressure in Tecumseh, Michigan // *Am. J. Epidemiol.* 1984. V.120. P.131–144.
526. Lopez M.L.S.S., Gomez R.A. Novel mechanisms for the control of renin synthesis and release // *Curr. Hypertens. Rep.* 2010. V.12. P.26–32.
527. Lu D., Yang H., Lenox R.H., Raizada M.K. Regulation of angiotensin II induced neuromodulation by MARCKS in brain neurons // *J. Cell Biol.* 1998. V.142. P.217–227.

528. Lu D., Yang H., Raizada M.K. Angiotensin II regulation of neuromodulation: downstream signaling mechanism from activation of mitogen-activated protein kinase // *J. Cell Biol.* 1996b. V.135. P.1609–1617.
529. Lu D., Yu K., Paddy M.R., Rowland N.E., Raizada M.K. Regulation of norepinephrine transport system by angiotensin II in neuronal cultures of normotensive and spontaneously hypertensive rat brains // *Endocrinology.* 1996a. V.137. P.763–772.
530. Luft F.C. Proinflammatory effects of angiotensin II and endothelin: targets for progression of cardiovascular and renal diseases // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2002. V.11. P.59–66.
531. Luft F.C. Vasopressin, urine concentration, and hypertension: a new perspective on an old story // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. V.2. P.196–197.
532. Luft F.C., Weinberger M.H. Antihypertensive therapy with aliskiren // *Kidney Int.* 2008. V.73. P.679–683.
533. Luoh H.F., Chan S.H. Participation of AT1 and AT2 receptor subtypes in the tonic inhibitory modulation of baroreceptor reflex response by endogenous angiotensins at the nucleus tractus solitarius in the rat // *Brain Res.* 1998. V.782. P.73–82.
534. Lye S.J., Bernstein P., Oskamp M. Is the attenuation of beta-adrenergic agonist efficacy during labor caused by elevated prostaglandin E levels? // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998. V.179. P.1168–1174.
535. Lynch K.R., Hawelu-Johnson C.L., Guyenet P.G. Localization of brain angiotensinogen mRNA by hybridization histochemistry // *Mol. Brain Res.* 1987. V.2. P.149–158.
536. Lynch K.R., Peach M.J. Molecular biology of angiotensinogen // *Hypertension.* 1991. V.17. P.263-269.
537. Ma R., Schultz H.D., Wang W. Chronic central infusion of ANG II potentiates cardiac sympathetic afferent reflex in dogs // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1999. V.277. P.H15–H22.
538. Machado R.D., Santos R.A., Andrade S.P. Mechanisms of angiotensin (1–7)-induced inhibition of angiogenesis // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001. V.280. P.R994–R1000.
539. Malhotra R., Sadoshima J., Brosius F., Izumo S. Mechanical stretch and angiotensin II differentially upregulate the renin-angiotensin-system in cardiac myocytes in vitro // *Circ. Res.* 1999. V.85. P.137–146.
540. Malpas S.C. Sympathetic nervous system overactivity and its role in the development of cardiovascular disease // *Physiol. Rev.* 2010. V.90. P.513–557.
541. Mancia G. Bjorn Folkow Award Lecture: The sympathetic nervous system in hypertension // *J. Hypertens.* 1997. V.15. P.1553–1565.
542. Mann B., Hartner A., Jensen B.L., Kammerl M., Kramer B.K. Kurtz A. Furosemide stimulates macula densa cyclooxygenase-2 expression in rats // *Kidney Int.* 2001. V.59. P.62–68.
543. Mann J.F.E. What's new in hypertension 2009? // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. V.25. P.37–41.
544. Markel A.L. Development of a new strain of rats with inherited stress-induced arterial hypertension. In: *Genetic Hypertension* / Ed. J. Sassard. Colloque INSERM, John Libbey Eurotext Ltd, 1992. V.28. P. 405–407.

545. Markel A.L., Redina O.E., Gilinsky M.A., Dymshits G.M., Kalashnikova E.V., Khvorostova Yu.V., Fedoseeva L.A., Jacobson G.S. Neuroendocrine profiling in inherited stress-induced arterial hypertension rat strain with stress-sensitive arterial hypertension // *J. Endocrinol.* 2007. V.195. P.439–450.
546. Markel A.L., Maslova L.N., Shishkina G.T., Bulygina V.V., Machanova N.A., Jacobson G.S. Developmental influences on blood pressure regulation in ISIAH rats. In: *Development of the hypertensive phenotype: basic and clinical studies. Handbook of hypertension. V.19* / Eds. R.McCarty, D.A.Blizard, R.L.Chevalier. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV., 1999. P. 493-526.
547. Marnett L.J., DuBois R.N. COX-2: a target for colon cancer prevention // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2002. V.42. P.55–80.
548. Marnett L.J., Rowlinson S.W., Goodwin D.C., Kalgutkar A.S., Lanzo C.A. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition // *J. Biol. Chem.* 1999. V.274. P.22903-22906.
549. Marques G.D.M., Quinto B.M.R., Plavinik F.L., Krieger J.E., Marson O., Casarini D.E. N-domain angiotensin-I-converting enzyme with 80 kDa as a possible genetic marker of hypertension // *Hypertension.* 2003. V.42. P.693–701.
550. Marrero M.B., Schieffer B., Paxton W.G., Heerdt L., Berk B.C., Delafontaine P., Bernstein K.E. Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor // *Nature.* 1995. V.375. P.247–250.
551. Martinez Calejman C., Astort F., Di Gruccio J.M., Repetto E.M., Mercau M., Giordanino E., Sanchez R., Pignataro O., Arias P., Cymeryng C.B. Lipopolysaccharide stimulates adrenal steroidogenesis in rodent cells by a NFκB-dependent mechanism involving COX-2 activation // *Mol. Cell Endocrinol.* 2011. V.337, No.1-2. P.1-6.
552. Massiera F., Bloch-Faure M., Ceiler D., Murakami K., Fukamizu A., Gasc J.M., Quignard-Boulange A., Negrel R., Ailhaud G., Seydoux J., Meneton P., Teboul M. Adipose angiotensinogen is involved in adipose tissue growth and blood pressure regulation // *FASEB J.* 2001. V.15. P.2727–2729.
553. Mathai M., Evered M.D., McKinley M.J. Intracerebroventricular losartan inhibits postprandial drinking in sheep // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1997. V.272. P.R1055–R1059.
554. Matsubara H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases.// *Circ. Res.* 1998. V.83. P.1182-1191.
555. Matsuoka Y., Furuyashiki T., Bito H., Ushikubi F., Tanaka Y., Kobayashi T., Muro S., Satoh N., Kayahara T., Higashi M., Mizoguchi A., Shichi H., Fukuda Y., Nakao K., Narumiya S. Impaired adrenocorticotrophic hormone response to bacterial endotoxin in mice deficient in prostaglandin E receptor EP1 and EP3 subtypes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V.100, No.7. P.4132-4137.
556. Matsuoka Y., Furuyashiki T., Yamada K., Nagai T., Bito H., Tanaka Y., Kitaoka S., Ushikubi F., Nabeshima T., Narumiya S. Prostaglandin E receptor EP1 controls impulsive behavior under stress // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V.102, No.44. P.16066-16071.
557. Matsuura T., Takuwa H., Bakalova R., Obata T., Kanno I. Effect of cyclooxygenase-2 on the regulation of cerebral blood flow during neuronal activation in the rat // *Neurosci. Res.* 2009. V.65, No.1. P.64-70.
558. Mattson M.P., Maudsley S. Live longer sans the AT1A receptor // *Cell Metab.* 2009. V.9, No.5. P. 403–405.

559. Mazzolai L., Nussberger J., Aubert J., Brunner D.B., Gabbiani G., Brunner H.R., Pedrazzini T. Blood pressure-independent cardiac hypertrophy induced by locally activated renin-angiotensin system // *Hypertension*. 1998. V.31. P.1324–1330.
560. McEwan P.E., Lindop G.B., Kenyon C.J. Control of cell-proliferation in the rat adrenal-gland in-vivo by the renin-angiotensin system // *Am. J. Physiol.* 1996. V.34. P.E192–E198.
561. McEwen B.S. Protective and damaging effects of stress mediators // *N. Engl. J. Med.* 1998. V.338. P.171-179.
562. McEwen B., Stellar E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease // *Arch. Int. Med.* 1993. V.153. P.2093–2101.
563. McGinty A., Foschi M., Chang Y.W., Han J., Dunn M.J., Sorokin A. Induction of prostaglandin endoperoxide synthase 2 by mitogen-activated protein kinase cascades // *Biochem. J.* 2000. V.352, Pt 2. P.419-424.
564. McGraw D.W., Mihlbachler K.A., Schwarb M.R., Rahman F.F., Small K.M., Almoosa K.F., Liggett S.B. Airway smooth muscle prostaglandin-EP1 receptors directly modulate beta2-adrenergic receptors within a unique heterodimeric complex // *J. Clin. Invest.* 2006. V.116. P.1400-1409.
565. McKinley M.J., Allen A.M., Mathai M.L., May C., McAllen R.M., Oldfield B.J., Weisinger R.S. Brain angiotensin and body fluid homeostasis // *Jpn. J. Physiol.* 2001. V.51. P.281–289.
566. McMullen J., Jennings G. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure // *Clin. Exp. Pharm. Physiol.* 2007. V.34. P.255–262.
567. Mehta P., Griendling K. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2007. V.292. P.C82–C97.
568. Mélik Parsadaniantz S., Lebeau A., Duval P., Grimaldi B., Terlain B., Kerdelhué B. Effects of the inhibition of cyclo-oxygenase 1 or 2 or 5-lipoxygenase on the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis induced by interleukin-1 β in the male rat // *J. Neuroendocrinol.* 2001. V.12, No.8. P.766–773.
569. Menachery A., Braley L.M., Kifor I., Gleason R., Williams G.H. Dissociation in plasma renin and adrenal ANG II and aldosterone responses to sodium restriction in rats // *Am. J. Physiol.* 1991. V.261. P.E487–E494.
570. Mene P., Dubyak G.R., Scarpa A., Dunn M.J. Regulation of cytosolic pH of cultured mesangial cells by prostaglandin F2 alpha and thromboxane A2 // *Am. J. Physiol.* 1991 V.260. P.C159-C166.
571. Menter D.G., Schilsky R.L., DuBois R.N. Cyclooxygenase-2 and cancer treatment: understanding the risk should be worth the reward // *Clin. Cancer Res.* 2010. V.16. P.1384-1390.
572. Merrill D.C., Thompson M.W., Carney C.L., Granwehr B.P., Schlager G., Robillard J.E., Sigmund C.D. Chronic hypertension and altered baroreflex responses in transgenic mice containing the human renin and human angiotensinogen genes // *J. Clin. Invest.* 1996. V.97. P.1047–1055.
573. Milatovic D., Montine T.J., Aschner M. Prostanoid signaling: Dual role for prostaglandin E(2) in neurotoxicity // *Neurotoxicology*. 2011. V.32. P.312-319.
574. Millan M.A., Jacobowitz D.M., Aguilera G., Catt K.J. Differential distribution of AT1 and AT2 angiotensin II receptor subtypes in the rat brain during development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991. V.88. P.11440-11444.

575. Miller S.B. Prostaglandins in health and disease: an overview // *Semin. Arthritis Rheum.* 2006. V.36. P.37-49.
576. Mizuno K. Renin in adrenal: an overview of its synthesis, subcellular localization, and functions // *Fukushima J. Med. Sci.* 1991. V.37. P.41–57.
577. Modrall J.G., Sadjadi J., Brosnihan K.B., Gallagher P.E., Ya C.-H., Bernstein K.E., Chappell M.C. Depletion of tissue ace differentially influences the intrarenal and urinary expression of angiotensins // *Hypertension.* 2003. V.43. P.4849–4853.
578. Moeller I., Chai S.Y., Smith I., Lew R., Mendelsohn F.A. Haemorphin peptides may be endogenous ligands for brain angiotensin AT4 receptors // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.* 1998. V.25. P.S68–71.
579. Moffett R.B. Angiotensinogen in cerebrospinal fluid corresponds chromatographically to the gamma-form of plasma angiotensinogen // *J. Neurochem.* 1987. V.49. P.841–845.
580. Mohn C.E., Fernandez-Solari J., De Laurentiis A., Prestifilippo J.P., de la Cal C., Funk R., Bornstein S.R., McCann S.M., Rettori V. The rapid release of corticosterone from the adrenal induced by ACTH is mediated by nitric oxide acting by prostaglandin E₂. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V.102, No.17. P.6213-6218.
581. *Molecular cloning: a laboratory manual* / J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, 2nd ed. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 545 pp.
582. Mollnau H., Wendt M., Szocs K., Lassegue B., Schulz E., Oelze M., Li H., Bodenschatz M., August M., Kleschyov A.L., Tsilimingas N., Walter U., Forstermann U., Meinertz T., Griendling K., Munzel T. Effects of angiotensin II infusion on the expression and function of NAD(P)H oxidase and components of nitric oxide/cGMP signaling // *Circ. Res.* 2002. V.90. P.E58–E65.
583. Monti J., Schinke M., Bohm M., Ganten D., Bader M., Bricca G. Glial angiotensinogen regulates brain angiotensin II receptors in transgenic rats TGR(ASrAOGEN) // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001. V.280. P.R233–R240.
584. Moriguchi A., Tallant E.A., Matsumura K., Reilly T.M., Walton H., Ganten D., Ferrario C.M. Opposing actions of Angiotensin-(1–7) and Angiotensin II in the brain of transgenic hypertensive rats // *Hypertension.* 1995. V.25. P.1260–1265.
585. Morimoto S., Cassell M.D., Beltz T.G., Johnson A.K., Davisson R.L., Sigmund C.D. Elevated blood pressure in transgenic mice with brain-specific expression of human angiotensinogen driven by the glial fibrillary acidic protein promoter // *Circ. Res.* 2001. V.89. P.365–372.
586. Morimoto S., Cassell M.D., Sigmund C.D. The brain renin–angiotensin system in transgenic mice carrying a highly regulated human renin transgene. *Circ. Res.* (2002). V.90. P.80–86.
587. Morimoto S., Sigmund C.D. Angiotensin mutant mice: a focus on the brain renin–angiotensin system // *Neuropeptides.* 2002. V.36. P.194–200.
588. Morris B.J., Adams D.J., Beveridge D.J., van der Weyden L., Mangs H., Leedman P.J. cAMP controls human renin mRNA stability via specific RNA-binding proteins // *Acta Physiol. Scand.* 2004. V.181. P.369–373.
589. Morris B.J., Reid I.A. The distribution of angiotensinogen in dog brain studied by cell fractionation // *Endocrinology.* 1978. V.103. P.492–500.

590. Morrison R.G., Mills C., Moran A.L., Walton C.E., Sadek M.H., Mangiarua E.I., Wehner P.S., McCumbee W.D. A moderately high fat diet promotes salt-sensitive hypertension in obese Zucker rats by impairing nitric oxide production // *Clin. Exp. Hypertens.* 2007. V.29. P.369 – 381.
591. Moura E., Costa P., Moura D., Guimaraes S., Vieira-Coelho M.A. Decreased tyrosine hydroxylase activity in the adrenals of spontaneously hypertensive rats // *Life Sciences.* 2005. V.76. P.2953–2964.
592. Mukoyama M., Nakajima M., Horiuchi M., Sasamura H., Pratt R.E., Dzau V.J. Expression cloning of type-2 angiotensin II receptor reveals a unique class of 7-transmembrane receptors // *J. Biol. Chem.* 1993. V.268. P.24539–24542.
593. Müller D.N., Fischli W., Clozel J., Hilgers K.F., Bohlender J., Menard J., Busjahn A., Ganten D., Luft F.C. Local angiotensin II generation in the rat heart. Role of renin uptake // *Circ. Res.* 1998. V.82. P.13–20.
594. Müller D.N., Hilgers K.F., Bohlender J., Lippoldt A., Wagner J., Fischli W., Ganten D., Mann J.F.E., Luft F.C. Effects of human renin in the vasculature of rats transgenic for human angiotensinogen // *Hypertension.* 1995. (1995).26. P.272–278.
595. Mullins J.J., Peters J., Ganten D. Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene // *Nature.* 1990. V. P.541–544.
596. Mulrow P.J., Franco-Saenz R. The adrenal renin-angiotensin system: a local hormonal regulator of aldosterone production // *J. Hypertens.* 1996. V.4. P.173–176.
597. Murakami M., Das S., Kim Y.J., Cho W., Kudo I. Perinuclear localization of cytosolic phospholipase A(2)alpha is important but not obligatory for coupling with cyclooxygenases // *FEBS Lett.* 2003. V.546, No.2-3. P.251-256.
598. Murakami M., Kambe T., Shimbara S., Kudo I. Functional coupling between various phospholipase A2s and cyclooxygenases in immediate and delayed prostanoid biosynthetic pathways // *J. Biol. Chem.* 1999. V.274. P.3103–3115.
599. Murphy T.J., Alexander R.W., Griendling K.K., Runge M.S., Bernstein K.E. Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor // *Nature.* 1991. V.351. P.233–236.
600. Nagaoka A., Iwatsuka H., Suzuoki Z., Okamoto K. Genetic predisposition to stroke in spontaneously hypertensive rats // *Am. J. Physiol.* 1976. V.230. P.1354–1359.
601. Nagata K., Obata K., Xu J., Ichihara S., Noda A., Kimata H., Kato T., Izawa H., Murohara T., Yokota M. Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and failure in low-aldosterone hypertensive rats // *Hypertension.* 2006a. V. 47. P. 656-664.
602. Nagata S., Kato J., Sasaki K., Minamino N., Eto T., Kitamura K. Isolation and identification of proangiotensin-12, a possible component of the renin–angiotensin system // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006b. V.350. P.1026–1031.
603. Nagayama M., Niwa K., Nagayama T., Ross M.E., Iadecola C. The cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398 ameliorates ischemic brain injury in wild-type mice but not in mice with deletion of the inducible nitric oxide synthase gene // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1999. V.19. P.1213-1219.
604. Naito Y., Tsujino T., Fujioka Y., Ohyanagi M., Iwasaki T. Augmented diurnal variations of the cardiac renin-angiotensin system in hypertensive rats // *Hypertension.* 2002. V.40. P.827-833.

605. Najjar S.S., Scuteri A., Lakatta E.G. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? // *Hypertension*. 2005. V.46. P.454–462.
606. Nakamaru M., Misono K.S., Naruse M., Workman R.J., Inagami T. A role for the adrenal renin-angiotensin system in the regulation of potassium-stimulated aldosterone production // *Endocrinology*. 1985. V.117. P.1772–1778.
607. Nakamura A., Johns E.J. Renal nerves, renin, and angiotensinogen gene expression in spontaneously hypertensive rats // *Hypertension*. 1995. V.25. P.581-586.
608. Nakamura S., Moriguchi A., Morishita R., Yamada K., Nishii T., Tomita N., Ohishi M., Kaneda Y., Higaki J., Ogihara T. Activation of the brain angiotensin system by in vivo human angiotensin-converting enzyme gene transfer in rats // *Hypertension*. 1999. V.34. P.302–308.
609. Nakamura T., de Vega S., Fukumoto S., Jimenez L., Unda F., Yamada Y. Transcription factor epiprofin is essential for tooth morphogenesis by regulating epithelial cell fate and tooth number // *J. Biol. Chem.* 2008. V.283. P.4825–4833.
610. Nakayama T. Issues and Progress in Isolation of Susceptibility Genes of Essential Hypertension // *Curr. Hypertension Rev.* 2005. V. 1. P. 77-87.
611. Nantel F., Meadows E., Denis D., Connolly B., Metters K.M., Giaid A. Immunolocalization of cyclooxygenase-2 in the macula densa of human elderly // *FEBS Lett.* 1999. V.457. P.475–477.
612. Narumiya Sh., Sugimoto Yu., Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions // *Physiol. Rev.* 1999. V.79. P.1193–1226.
613. Naruse M., Sussman C.R., Naruse K., Jackson R.V. Renin exists in human adrenal tissue // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983. V.57. P.482–487.
614. Nasrallah R., Clark J., Hebert R.L. Prostaglandins in the kidney: developments since Y2K // *Clin. Sci. (Lond)*. 2007. V.113. P.297-311.
615. Naumenko E.V., Markel A.L., Amstyslavski S.Ya., Dygalo N.N. Stress: The Role of Catecholamines and Other Neurotransmitters / Eds. Usdin E., Kvetnansky R., Axelrod J. N.Y.: Gordon and Breach Sci. Publ, 1989. P. 453–460.
616. Navar L.G., Harrison-Bernard L.M., Nishiyama A., Kobori H. Regulation of intrarenal angiotensin II in hypertension // *Hypertension*. 2002. V.39. P.316–322.
617. Navar L.G., Imig J.D., Zou L., Wang C.T. Intrarenal production of angiotensin II // *Semin. Nephrol.* 1997. V.17. P.412–422.
618. Navar L.G., Kobori H., Prieto M.C., Gonzalez-Villalobos R.A. Intratubular renin-angiotensin system in hypertension // *Hypertension*. 2011. V.57. P.355-362.
619. Navar L.G., Nishiyama A. Intrarenal formation of angiotensin II // *Contrib. Nephrol.* 2001. V.135. P.1–15.
620. NCHS: National Center for Health Statistics. Health, United States, 2010: With Special Feature on Death and Dying. Hyattsville, MD. 2011. 547 p.
621. Nemoto K., Kageyama H., Hagiwara T., Tashiro F., Tomita T., Tomita I., Hano T., Nishio I., Ueyama T. Mutation of low affinity nerve growth factor receptor gene in spontaneously hypertensive and stroke-prone spontaneously hypertensive rats: one of the promising candidate genes for hypertension // *Brain Res.* 1994. V.655. P.267-270.

622. Nemoto K., Kageyama H., Ueyama T., Fukamachi K., Sekimoto M., Tomita I., Senba E., Forehand C.J., Hendley E.D. Mutation of low affinity nerve growth factor receptor gene is associated with the hypertensive phenotype in spontaneously hypertensive inbred rat strains // *Neurosci. Lett.* 1996. V.210. P.69-72.
623. Neuhofer W., Steinert D., Fraek M.L., Beck F.X. Prostaglandin E2 stimulates expression of osmoprotective genes in MDCK cells and promotes survival under hypertonic conditions // *J.Physiol.* 2007. V.583. P.287-297.
624. Newton-Cheh C., Johnson T., Gateva V. et al. (159 names) Genome-wide association study identifies eight loci associated with blood pressure // *Nat. Genet.* 2009. V.41. P.666 – 676.
625. Nguyen G. Renin/prorenin receptors // *Kidney Int.* 2006. V.69. P.1503–1506.
626. Nguyen G., Burckle C., Sraer J.D. The renin receptor: the facts, the promise and the hope // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2003. V.12. P.51–55.
627. Nguyen G., Burckle C.A., Sraer J.D. Renin/prorenin-receptor biochemistry and functional significance // *Curr. Hypertens. Rep.* 2004. V.6. P.129–132.
628. Nguyen G., Contrepas A. The (pro)renin receptors // *J. Mol. Med.* 2008. V.86. P.643–646.
629. Nguyen G., Danser A. H. J. Prorenin and (pro)renin receptor: a review of available data from in vitro studies and experimental models in rodents // *Exp. Physiol.* 2008. V.93, No.5. P.557-563.
630. Nguyen G., Delarue F., Burckle C., Bouzahir L., Giller T., Sraer J.D. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin // *J. Clin. Invest.* 2002. V.109. P.1417–1427.
631. Nickenig G., Laufs U., Schnabel P., Knorr A., Paul M., Boehm M. Down-regulation of aortic and cardiac AT1 receptor gene expression in transgenic (mRen-2) 27 rats // *Br. J. Pharmacol.* 1997. V.121. P.134-140.
632. Niehof M., Streetz K., Rakemann T., Bischoff S.C., Manns M.P., Horn F., Trautwein C. Interleukin-6-induced tethering of STAT3 to the LAP/C/EBPbeta promoter suggests a new mechanism of transcriptional regulation by STAT3 // *J. Biol. Chem.* 2001. V.276, No.12. P.9016–9027.
633. NIH: National High Blood Pressure Education Program. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: Complete report. NIH pub no 04–5230. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health; 2004. URL: <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/hypertension/jnc7full.htm>
634. Nishii T., Moriguchi A., Morishita R., Yamada K., Nakamura S., Tomita N., Kaneda Y., Fukamizu A., Mikami H., Higaki J., Ogihara T. Angiotensinogen gene-activating elements regulate blood pressure in the brain // *Circ. Res.* 1999. V.85. P.257–263.
635. Nishimura M., Nanbu A., Ohtsuka K., Takahashi H., Iwai N., Kinoshita M., Yoshimura M. Sodium intake regulates rennin gene expression differently in the hypothalamus and kidney of rats // *J. Hypertens.* 1997. V.15. P.509–516.
636. Nishimura Y., Xu T., Jöhren O., Hauser W., Saavedra J.M. The angiotensin AT1 receptor antagonist CV-11974 regulates cerebral blood flow and brain angiotensin AT1 receptor expression // *Basic Res. Cardiol.* 1998. V93, Suppl 2. P.63–68.
637. Nishiyama A., Seth D.M., Navar L.G. Renal interstitial fluid concentrations of angiotensins I and II in anesthetized rats // *Hypertension.* 2002a. V.39. P.129–134.

638. Nishiyama A., Yoshizumi M., Rahman M., Tamaki T., Kobori H., Abe Y. Effects of AT1 receptor blockade on MAPK activities and renal injury in Dahl salt-sensitive rats // *FASEB J.* 2002b, V.16. P.A418–A419.
639. Niwa K., Araki E., Morham S.G., Ross M.E., Iadecola C. Cyclooxygenase-2 contributes to functional hyperemia in whisker-barrel cortex // *J. Neurosci.* 2000. V.20.7P.63-770.
640. Nogawa S., Forster C., Zhanf F., Magayama M., Ross M.E., Iadecola C. Interaction between inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 after cerebral ischemia // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V.95. P.10966-10971.
641. Nolan T., Hands R.E., Bustin S.A. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR // *Nature Protocols.* 2006. V.1, No.3. P.1559-1582.
642. Nouet S., Nahmias C. Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor // *Trends Endocrinol. Metab.* 2000. V.11. P.1–6.
643. Nunohiro T., Ashizawa N., Graf K., Do Y.S., Hsueh W.A., Yano K. Angiotensin II promotes remodelling-related events in cardiac fibroblasts // *Heart Vessels.* 1997. Suppl 12. P.201–204.
644. Nuyt A.M., Lenkei Z., Palkovits M., Corvol P., Llorens-Cortes C. Ontogeny of angiotensin II type 2 receptor mRNA expression in fetal and neonatal rat brain // *J. Comp. Neurol.* 1999. V.407. P.193–206.
645. Obst M., Gross V., Janke J., Wellner M., Schneider W., Luft F.C. Pressure natriuresis in AT2 receptor-deficient mice with L-NAME hypertension // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003. V.14. P.303–310.
646. O'Connor D.T., Takiyyuddin M.A., Printz M.P., Dinh T.Q., Barbosa J.A., Rozansky D.J., Mahata S.K., Wu H., Kennedy B.P., Ziegler M.G., Wright F.A., Schlager G., Parmer R.J. Catecholamine storage vesicle protein expression in genetic hypertension // *Blood Press.* 1999. V.8, No.5-6. P.285-295.
647. Oda H., Lotshaw D.P., Franco Saenz R., Mulrow P.J. Local generation of angiotensin II as a mechanism of aldosterone secretion in rat adrenal capsules // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1991. V.196. P.175–177.
648. O'Donoghue T.L., Brooks V.L. Deoxycorticosterone acetate-salt rats. Hypertension and sympathoexcitation driven by increased NaCl levels // *Hypertension.* 2006. V.47. P. 680–685.
649. Ohkubo N., Matsubara H., Nozawa Y., Mori Y., Murasawa S., Kijijama K., Maruyama K., Masaki K., Tsutumi Y., Shibazaki Y., Iwasaka T., Inada M. Angiotensin type 2 receptors are reexpressed in cardiac fibroblasts from failing myopathic hamster hearts and inhibit cell growth and fibrillar collagen metabolism // *Circulation.* 1997. V.96. P.3954–3962.
650. Ohno K., Sakurai T. Orexin neuronal circuitry: role in the regulation of sleep and wakefulness // *Front. Neuroendocrinol.* 2008. V.29, No 1. P. 70-87.
651. Okamoto K., Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats // *Jpn. Circ. J.* 1963. V.27. P. 282–293.
652. Okuyama S., Sakagawa T., Sugiyama F., Fukamizu A., Murakami K. Reduction of depressive-like behavior in mice lacking angiotensinogen // *Neurosci. Lett.* 1999. V.261. P.167–170.
653. Oliveira D.R., Santos R.A.S., Santos G.F.P., Khosla M.C., Campagnole-Santos M.J. Changes in the baroreflex control of heart rate produced by central infusion of selective angiotensin antagonists in hypertensive rats // *Hypertension.* 1996. V.27. P.1284–1290.

654. O'Neill G.P., Ford-Hutchinson A.W. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues // *FEBS Lett.* 1993. V.330. P.156–160.
655. Oparil S., Zaman M.A., Calhoun D.A. Pathogenesis of hypertension // *Ann. Intern. Med.* 2003. V.139. P.761-776.
656. Opay A.L., Mouton C.R., Mullins J.J., Mitchell K.D. Cyclooxygenase-2 inhibition normalizes arterial blood pressure in CYP1A1-REN2 transgenic rats with inducible ANG II-dependent malignant hypertension // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2006. V.291. P.F612–F618.
657. Otis M., Campbell S., Payet M.D., Gallo-Payet N. The growth-promoting effects of angiotensin II in adrenal glomerulosa cells: an interactive tale // *Mol. Cell Endocrinol.* 2007. V.273. P.1–5.
658. Ozono R., Wang Z.Q., Moore A.F., Inagami T., Siragy H.M., Carey R.M. Expression of the subtype-2 angiotensin II (AT2) receptor protein in the rat kidney // *Hypertension.* 1997. V.30. P.1238–1246.
659. Pacak K., Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders // *Endocr. Rev.* 2001. V.22. P.502–548.
660. Padilla J., Kaur K., Harris S.G., Phipps R.P. PPAR-gamma-mediated regulation of normal and malignant B lineage cells // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000. V.905. P.97-109.
661. Pagliaro P., Penna C. Rethinking the renin-angiotensin system and its role in cardiovascular regulation // *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2005. V.19. P.77-87.
662. Pan L., Gross K.W. Transcriptional regulation of renin: an update // *Hypertension.* 2005. V.45. P.3–8.
663. Panzer U., Zahner G., Wienberg U., Steinmetz O.M., Peters A., Turner J.E., Paust H.J., Wolf G., Stahl R.A., Schneider A. 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 inhibits INFgamma-induced JAK/STAT1 signalling pathway activation and IP-10/CXCL10 expression in mesangial cells // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008. V.23. P.3776-3785.
664. Paradis P., Dali-Youcef N., Paradis F.W., Thibault G., Nemer M. Overexpression of angiotensin II type I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V.97. P.931–936.
665. Parfenova H., Balabanova L., Leffler C.W. Posttranslational regulation of cyclooxygenase by tyrosine phosphorylation in cerebral endothelial cells // *Am. J. Physiol.* 1998. V.274. P. C72-C81.
666. Park M.K., Kang Y.J., Lee H.S., Kim H.J., Seo H.G., Lee J.H., Chang K.C. The obligatory role of COX-2 expression for induction of HO-1 in ischemic preconditioned rat brain // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. V.377, No.4. P.1191-1194.
667. Park C.G., Leenen F.H. Effects of centrally administered losartan on deoxycorticosterone-salt hypertension rats // *J. Korean Med. Sci.* 2001. V. 5. P. 553 – 537.
668. Paul M., Mehr A.P., Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems // *Physiol. Rev.* 2006. V.86. P.747–803.
669. Paul M., Stoll M., Falkenhahn M., Kreutz R. Cellular localization of angiotensin converting enzyme gene expression in the heart // *Basic Res. Cardiol.* 1996. V.91. P.57–65.

670. Paul M., Wagner J., Dzau V.J. Gene expression of the components of the renin-angiotensin system in human tissues: quantitative analysis by the polymerase chain reaction // *J. Clin. Invest.* 1993. V.91. P.2058–2064.
671. Paul M., Wagner D., Metzger R., Ganten D., Lang R.E., Suzuki F., Murakami K., Burbach J.H.P., Ludwig G. Quantification of renin mRNA in various mouse tissues by a novel solution hybridization assay // *J. Hypertens.* 1988. V.6. P.247–252.
672. Paula R.D., Lima C.V., Khosla M.C. Angiotensin (1–7) potentiates hypotensive effect of bradykinin in conscious rats // *Hypertension.* 1995. V.26. P.1154–1159.
673. Pendergrass K.D., Averill D.B., Ferrario C.M., Diz D.I., Chappell M.C. Differential expression of nuclear AT1 receptors and angiotensin II within the kidney of the male congenic mRen2.Lewis rat // *Am. J. Physiol.* 2006. V.290. P.F1497–F1506.
674. Peters J., Clausmeyer S. Intracellular sorting of renin: cell type specific differences and their consequences // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2002. V.34. P.1561–1568.
675. Peters J., Farrenkopf R., Clausmeyer S., Zimmer J., Kantachuvesiri S., Sharp M.G., Mullins J.J. Functional significance of prorenin internalization in the rat heart // *Circ. Res.* 2002. V.90. P.1135–1141.
676. Peters J., Hilgers K.F., Masergluth C., Kreutz R. Role of the circulating renin-angiotensin system in the pathogenesis of hypertension in transgenic rats, *tgr(mren2)27* // *Clin. Exp. Hypertens.* 1996b. V.18. P.933–948.
677. Peters J., Kranzlin B., Schaeffer S., Zimmer J., Resch S., Bachmann S., Gretz N., Hackenthal E. Presence of renin within intramitochondrial dense bodies of the rat adrenal cortex // *Am. J. Physiol.* 1996a. V.271. P.E439–E450.
678. Peters J., Munter K., Bader M., Hackenthal E., Mullins J.J., Ganten D. Increased adrenal renin in transgenic hypertensive rats, *tgr(mren2)27*, and its regulation by cAMP, angiotensin-II, and calcium // *J. Clin. Invest.* 1993. V.91. P.742–747.
679. Peters J., Wanka H., Peters B., Hoffmann S. A renin transcript lacking exon 1 encodes for a non secretory intracellular renin that increases aldosterone production in transgenic rats // *J. Cell Mol. Med.* 2008. V.12, No.4. P.1229–1237.
680. Pezzolesi M.G., Katavetin P., Kure M., Poznik G.D., Skupien J., Mychaleckyj J.C., Rich S.S., Warram J.H., Krolewski A.S. Confirmation of genetic associations at ELMO1 in the GoKinD collection supports its role as a susceptibility gene in diabetic nephropathy // *Diabetes.* 2009. V.58. P.2698–2702.
681. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR // *Nucl. Acids Res.* 2001. V. 29, No. 9. P.2002–2007.
682. Phillips M.I., Mann J.F., Haebara H., Hoffman W.E., Dietz R., Schelling P., Ganten D. Lowering of hypertension by central saralasin in the absence of plasma renin // *Nature.* 1977. V.270. P.445–447.
683. Phillips M.I., Mohuczy-Dominiak D., Coffey M., Galli S.M., Kimura B., Wu P., Zelles T. Prolonged reduction of high blood pressure with an in vivo, nonpathogenic, adeno-associated viral vector delivery of AT1-R mRNA antisense // *Hypertension.* 1997. V. 29. P. 374 – 380.
684. Pickel V.M., Chan J. Co-localization of angiotensin II and gamma-aminobutyric acid in axon terminals in the rat subfornical organ // *Neurosci. Lett.* 1995. V.193. P.89–92.

685. Pinto Y.M., Buikema H., van Gilst W.H., Scholtens E., van Geel P.P., de Graeff P.A., Wagner J., Paul M. Cardiovascular endorgan damage in Ren-2 transgenic rat compared to spontaneously hypertensive rats // *J. Mol. Med.* 1997. V.75. P.371–377.
686. Pinto Y.M., Pinto-Sietsma S.J., Philipp T., Engler S., Kossamehl P., Hocher B., Marquardt H., Sethmann S., Lauster R., Merker H.J., Paul M. Reduction in left ventricular messenger RNA for transforming growth factor beta(1) attenuates left ventricular fibrosis and improves survival without lowering blood pressure in the hypertensive TGR(mRen2)27 Rat // *Hypertension.* 2000. V.36. P.747–754.
687. Pokharel S., Rasoul S., Roks A.J., van Leeuwen R.E., van Luyn M.J., Deelman L.E., Smits J.F., Carretero O., van Gilst W.H., Pinto Y.M. N-acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro inhibits phosphorylation of Smad2 in cardiac fibroblasts // *Hypertension.* 2002. V.40. P.155–161.
688. Pokharel S., van Geel P.P., Sharma U.C., Cleutjens J.P., Bohnemeier H., Tian X.L., Schunkert H., Crijns H.J., Paul M., Pinto Y.M. Increased myocardial collagen content in transgenic rats overexpressing cardiac angiotensin-converting enzyme is related to enhanced breakdown of N-acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro and increased phosphorylation of Smad2/3 // *Circulation.* 2004. V.110. P.3129–3135.
689. Potts P.D., Horiuchi J., Coleman M.J., Dampney R.A. The cardiovascular effects of angiotensin-(1–7) in the rostral and caudal ventrolateral medulla of the rabbit // *Brain Res.* 2000. V.877. P.58–64.
690. Prosser H.C., Forster M.F., Richards A.M., Pemberton C.J. Cardiac chymase converts rat proangiotensin-12 (PA12) to angiotensin II: effects of PA12 upon cardiac haemodynamics // *Cardiovasc. Res.* 2009. V.82. P.40–50.
691. Qadri F., Edling O., Wolf A., Gohlke P., Culman J., Unger T. Release of angiotensin in the paraventricular nucleus in response to hyperosmotic stimulation in conscious rats: a microdialysis study // *Brain Res.* 1994. V.637. P.45–49.
692. Qi Z., Hao C.-M., Langenbach R.I., Breyer R.M., Redha R., Morrow J.D., Breyer M.D. Opposite effects of cyclooxygenase-1 and -2 activity on the pressor response to angiotensin II // *J. Clin. Invest.* 2002. V.110. P.61–69.
693. Quiroz Y., Johnson R.J., Rodríguez-Iturbe B. The role of T cells in the pathogenesis of primary hypertension // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012. V.27, Suppl.4. P.iv2–5.
694. Racz K., Pinet F., Gasc J.M., Guyene T.T., Corvol P. Coexpression of renin, angiotensinogen, and their messenger ribonucleic acids in adrenal tissues // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992. V.75. P.730–737.
695. Radi Z.A., Ostroski R. Pulmonary and cardiorenal cyclooxygenase-1 (COX-1), -2 (COX-2), and microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) and -2 (mPGES-2) expression in a hypertension model // *Mediators Inflamm.* 2007. V.2007. P.85091.
696. Ramakers C., Ruijter J. M., Depreza R.H.L., Moorman A.F.M. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data // *Neurosci. Lett.* 2003. V.339. P.62–66.
697. Ramchandran R., Takezako T., Saad Y., Stull L., Fink B., Yamada H., Dikalov S., Harrison D.G., Moravec C., Karnik S.S. Angiotensinergic stimulation of vascular endothelium in mice causes hypotension, bradycardia, and attenuated angiotensin response // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V.103. P.19087–19092.

698. Ramsay R.G., Ciznadija D., Vanevski M., Mantamadiotis T. Transcriptional regulation of cyclo-oxygenase expression: three pillars of control // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2003. V.16, No.2 Suppl. P.59-67.
699. Raousseau A., Michaud A., Chauvet M.-T., Lenfant M., Corvol P. The hemoregulatory peptide N-acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro is a natural and specific substrate of the N-terminal active site of human angiotensin-converting enzyme // *J. Biol. Chem.* 1995. V.270. P.3656–3661.
700. Rapp J.P. Dahl salt-susceptible and saltresistant rats. A review // *Hypertension.* 1982. V.4. P.753–763.
701. Rapp J.P. Genetic Analysis of Inherited Hypertension in the Rat // *Physiol. Rev.* 2000. V.80. P.135-172.
702. Ressler B. The Renin-Angiotensin System in the Development of Salt-Sensitive Hypertension in Animal Models and Humans // *Pharmaceuticals.* 2010. V.3. P.940-960.
703. Re R.N. Implications of intracrine hormone action for physiology and medicine // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003. V.284. P.H751–H757.
704. Re R.N., Cook J.L. The intracrine hypothesis: an update // *Regul. Pept.* 2006. V.133. P.1–9.
705. Reaux A., Fournie-Zaluski M. C., Llorens-Cortes C. Angiotensin III: a central regulator of vasopressin release and blood pressure // *Trends Endocrinol. Metab.* 2001. V.12. P.157–162.
706. Reja V., Goodchild A.K., Pilowsky P.M. Catecholamine-related gene expression correlates with blood pressures in SHR // *Hypertension.* 2002. V.40. P.342-347.
707. Reudelhuber T., Bernstein K., Delafontaine P. Is angiotensin II a direct mediator of left ventricular hypertrophy? Time for another look // *Hypertension.* 2007. V.49. P.1196–1201.
708. Ricciotti E., Fitzgerald G.A. Prostaglandins and inflammation // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011. V.31. P.986-1000.
709. Rice G.I., Jones A.L., Grant P.J., Carter A.M., Turner A.J., Hooper N.M. Circulating activities of angiotensin-converting enzyme, its homolog, angiotensin-converting enzyme 2, and neprilysin in a family study // *Hypertension.* 2006. V.48. P.914–920.
710. Rice G.I., Thomas D.A., Grant P.J., Turner A.J., Hooper N.M. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism // *Biochem. J.* 2004. V.383. P.45–51.
711. Rice T., Vogler G.P., Perusse L., Bouchard C., Rao D.C. Cardiovascular risk factors in a French Canadian population: resolution of genetic and familial environmental effects on blood pressure using twin, adoptees, and extensive information on environmental correlates // *Genet. Epidemiol.* 1989. V.6. P.571–588.
712. Richoux J.P., Bouhnik J., Clauser E., Corvol P. The reninangiotensin system in the rat brain. Immunocytochemical localization of angiotensinogen in glial cells and neurons // *Histochemistry.* 1988. V.89. P.323–331.
713. Robba C., Rebuffat P., Mazzocchi G., Nussdorfer G.G. Longterm trophic effect of sodium restriction on the rat adrenal zona glomerulosa. I. Its partial independence of the renin-angiotensin system // *Exp. Clin. Endocrinol.* 1988. V.91. P.43–50.

714. Roberts K.A., Krebs L.T., Kramar E.A., Shaffer M.J., Harding J.W., Wright J.W. Autoradiographic identification of brain angiotensin IV binding sites and differential c-Fos expression following intracerebroventricular injection of angiotensin II and IV in rats // *Brain Res.* 1995. V.682. P. 13–21.
715. Robinson M.M., McLennan G.P., Thunhorst R.L., Johnson A.K. Interactions of the systemic and brain renin-angiotensin systems in the control of drinking and the central mediation of pressor responses // *Brain Res.* 1999. V.842. P.55–61.
716. Rocca B., Secchiero P., Ciabattini G., Ranelletti F.O., Catani L., Guidotti L., Melloni E., Maggiano N., Zauli G., Patrono C. Cyclooxygenase-2 expression is induced during human megakaryopoiesis and characterizes newly formed platelets // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V.99. P.7634–7639.
717. Rodríguez-Iturbe B., Franco M., Tapia E., Quiroz Y., Johnson R.J. Renal inflammation, autoimmunity and salt-sensitive hypertension // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2012. V.39, No.1. P.96-103.
718. Rogerson F.M., Chai S.Y., Schlawe I., Murray W.K., Marley P.D., Mendelsohn F.A.O. Presence of angiotensin converting enzyme in the adventitia of large blood vessels. *J. Hypertens.* 10: 615–620, 1992.
719. Rohmeiss P., Beyer C., Hocher B., Qadri F., Gretz N., Strauch M., Unger T. Osmotically induced natriuresis and blood pressure response involves angiotensin AT1 receptors in the subfornical organ // *J. Hypertens.* 1995. V.13. P.1399–1404.
720. Rorato R., Menezes A.M., Giusti-Paiva A., de Castro M., Antunes-Rodrigues J., Elias L.L. Prostaglandin mediates endotoxaemia-induced hypophagia by activation of pro-opiomelanocortin and corticotrophin-releasing factor neurons in rats // *Exp. Physiol.* 2009. V.94, No.3. P.371-379.
721. Rose J.M., Audus K.L. AT1 receptors mediate angiotensin II uptake and transport by bovine brain microvessel endothelial cells in primary culture // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1999. V.33. P.30–35.
722. Rosenthal J., Thurnreiter M., Plaschke M., Geyer M., Reiter W., Dahlheim H. Reninlike enzymes in human vasculature // *Hypertension.* 1990. V.15. P.848–853.
723. Rosivall L. Intrarenal renin–angiotensin system // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2009. V.302, No.2. P. 185-192.
724. Rossi G.P., Sacchetto A., Cesari M., Pessina A.C. Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system // *Cardiovasc. Res.* 1999. V.43. P.300–307.
725. Roskopf D., Schürks M., Rimmbach C., Schäfers R. Genetics of arterial hypertension and hypotension // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2007. V.374. P.429–469.
726. Rothermund L., Pinto Y.M., Hocher B., Vetter R., Leggewie S., Kobetamehl P., Orzechowski H.D., Kreutz R., Paul M. Cardiac endothelin system impairs left ventricular function in renindependent hypertension via decreased sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ uptake // *Circulation.* 2000. V.102. P.1582–1588.
727. Rothermund L., Pinto Y.M., Vetter R., Herfort N., Kossmehl P., Neumayer H.H., Paul M., Kreutz R. Effects of angiotensin II subtype 1 receptor blockade on cardiac fibrosis and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ handling in hypertensive transgenic rats overexpressing the *Ren2* gene // *J. Hypertens.* 2001. V.19. P.1465–1472.

728. Rubattu S., Enea I., Ganten D., Salvatore D., Condorelli G., Russo R., Romano M., Gigante B., Trimarco B. Enhanced adrenal renin and aldosterone biosynthesis during sodium restriction in TGR (mRen) 27 // *Am. J. Physiol.* 1994. V.267. P.E515–E520.
729. Ruiz P., Basso N., Cannata M.A. Tauquini A.C. The renin-angiotensin system in different stages of spontaneous hypertension in the rat (SHR) // *Clin. Exp. Hypertens. A.* 1990. V.12. P. 63 – 81.
730. Ruiz-Ortega M., Esteban V., Rupérez M., Sánchez-López E., Rodríguez-Vita J., Carvajal G., Egido J. Renal and vascular hypertension-induced inflammation: role of angiotensin II // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2006. V.15. P.159–166.
731. Ruspita I., Miyoshi K., Muto T., Abe K., Horiguchi T., Noma T. Sp6 downregulation of follistatin gene expression in ameloblasts // *J. Med. Invest.* 2008. V.55. P.87-98.
732. Ruster C., Wolf G. Renin–angiotensin–aldosterone system and progression of renal disease // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006. V.17. P.2985–2991.
733. Ryan J.W. Renin-like enzyme in the adrenal gland // *Science.* 1967. V.158. P.1589–1590.
734. Saavedra J.M. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2005. V.25. P.485–512.
735. Sabban E.L. Catecholamines in stress: molecular mechanisms of gene expression // *Endocrine Regul.* 2007. V.41. 61–73.
736. Sadjadi J., Kramer G.L., Yu C., Welborn M.B., Chappell M.C., Modrall J.G. Angiotensin converting enzyme-independent angiotensin II production by chymase is up-regulated in the ischemic kidney in renovascular hypertension // *J. Surg. Res.* 2005. V.127. P.65–69.
737. Sadoshima J., Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts // *Circ. Res.* 1993. V.73. P.413–423.
738. Sadoshima J., Xu Y., Slayter H., Izumo S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro // *Cell.* 1993. V.75. P.977–984.
739. Sakagawa T., Okuyama S., Kawashima N., Hozumi S., Nakagawasai O., Tadano T., Kisara K., Ichiki T., Inagami T. Pain threshold, learning and formation of brain edema in mice lacking the angiotensin II type 2 receptor // *Life Sci.* 2000. V.67. P.2577–2585.
740. Sakai K., Agassandian K., Morimoto S., Sinnayah P., Cassell M.D., Davisson R.L., Sigmund C.D. Local production of angiotensin II in the subfornical organ causes elevated drinking // *J. Clin. Invest.* 2007. V.117. P.1088–1095.
741. Sakamoto S., Obayashi S., Aso T., Sato J., Hamasaki H., Azuma H. The mechanism of myometrial contractions induced by endothelin-1 in rat // *Mol. Hum. Reprod.* 1997. V.3. P.1029–1035.
742. Sakurai T., Amemiya A., Ishii M., Matsuzaki I., Chemelli R.M., Tanaka H., Williams S.C., Richardson J.A., Kozlowski G.P., Wilson S., Arch J.R., Buckingham R.E., Haynes A.C., Carr S.A., Annan R.S., McNulty D.E., Liu W.S., Terrett J.A., Elshourbagy N.A., Bergsma D.J., Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior // *Cell.* 1998. V. 92, No.4. P. 573–585.
743. Sallinen J, Haapalinna A, MacDonald E, Viitamaa T, Lahdesmaki J, Rybnikova E, Pelto-Huikko M, Kobilka BK, Scheinin M. Genetic alteration of the α_2 -adrenoceptor subtype c in mice affects the development of behavioral despair and stress-induced increases in plasma corticosterone levels // *Molecular Psychiatry.* 1999. V.4. P.443—452.

744. Samani N.J., Swales J.D., Brammar W.J. A widespread abnormality of renin gene expression in the spontaneously hypertensive rat: modulation in some tissues with the development of hypertension // *Clin. Sci.* 1989. V.77. P.629–636.
745. Sampaio W.O., Henrique de Castro C., Santos R.A., Schiffrin E.L., Touyz R.M. Angiotensin-(1–7) counterregulates angiotensin II signaling in human endothelial cells // *Hypertension*. 2007a. V.50. P.1093–1098.
746. Sampaio W.O., dos Santos R.A., Faria-Silva R., de Mata Machado L.T., Schiffrin E.L., Touyz R.M. Angiotensin-(1-7) through receptor mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways // *Hypertension*. 2007b. V.49. P.185–192.
747. Sanchez-Lemus E., Murakami Y., Larrayoz-Roldan I.M., Moughamian A.J., Pavel J., Nishioku T., Saavedra J.M. Angiotensin II AT1 receptor blockade decreases lipopolysaccharide-induced inflammation in the rat adrenal gland // *Endocrinology*. 2008. V. 149, No.10. P. 5177–5188.
748. Sánchez-Lozada L.G., Tapia E., Avila-Casado C., Soto V., Franco M., Santamaria J., Nakagawa T., Rodriguez-Iturbe B., Johnson R.J., Herrera-Acosta J. Mild hyperuricemia induces glomerular hypertension in normal rats // *J. Physiol. Renal Physiol.* 2002. V.283. P.F1105–F1110.
749. Sánchez-Sánchez N., Riol-Blanco L., de la Rosa G., Puig-Kröger A., García-Bordas J., Martín D., Longo N., Cuadrado A., Cabañas C., Corbí A.L., Sánchez-Mateos P., Rodríguez-Fernández J.L. Chemokine receptor CCR7 induces intracellular signaling that inhibits apoptosis of mature dendritic cells // *Blood*. 2004. V.104, No.6. P.619–625.
750. Sander M., Bader M., Djavidani B., Maser-Gluth C., Vecsei P., Mullins J., Ganten D., Peters J. The role of the adrenal gland in hypertensive transgenic rat TGR(mREN2)27 // *Endocrinology*. 1992. V.131. P.807–814.
751. Sander M., Ganten D., Mellon S.H. Role of adrenal renin in the regulation of adrenal steroidogenesis by corticotropin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994. V.91. P.148–152.
752. Santos R.A., Ferreira A.J., Simões E Silva A.C. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin(1-7)-Mas axis // *Exp. Physiol.* 2008. V.93. P.519–527.
753. Santos R.A.S., Ferreira A.J., Verano-Braga T., Bader M. Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1–7) and Mas: new players of the renin–angiotensin system // *Endocrinol.* 2013. V.216. P.R1–R17.
754. Santos R.A.S., Simões e Silva A.C., Khosla M.C., Magaldi A.J., Passaglio K.T., Cesar K.R., Baracho N.C.V. Evidence for a physiological role of angiotensin (1–7) in the control of hydroelectrolyte balance // *Hypertension*. 1996. V.27. P.875–884.
755. Santos R.A., Simões e Silva A.C., Maric C., Silva D.M., Machado R.P., de Buhr I., Heringer-Walther S., Pinheiro S.V., Lopes M.T., Bader M., Mendes E.P., Lemos V.S., Campagnole-Santos M.J., Schultheiss H.P., Speth R., Walther T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V.100, No.14. P.8258-8263.
756. Sanvitto G.L., Jöhren O., Hauser W., Saavedra J.M. Water deprivation upregulates ANG II AT1 binding and mRNA in rat subfornical organ and anterior pituitary // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 1997. V.273. P.E156–E163.
757. Saris J.J., Derkx F.H.M., de Bruin R.J.A., Dekkers D.H.W., Lamers J.M.J., Saxena P.R., Schalekamp M.A.D.H., Danser A.H.J. High-affinity prorenin binding to cardiac man-6-P/IGF-II receptors precedes proteolytic activation to renin // *Am. J. Physiol.* 2001. V.280. P.H1706–H1715.

758. Saris J.J., van den Eijnden M.M., Lamers J.M., Saxena P.R., Schalekamp M.A., Danser A.H. Prorenin-induced myocyte proliferation: no role for intracellular angiotensin II // *Hypertension*. 2002. V.39. P.573–577.
759. Sassard J., Lo M., Liu K-L. Lyon genetically hypertensive rats: an animal model of “low renin hypertension” // *Acta Pharmacol. Sin.* 2003. V.24, No.1. P.1-6.
760. Satoh T., Moroi R., Aritake K., Urade Y., Kanai Y., Sumi K., Yokozeki H., Hirai H., Nagata K., Hara T., Utsuyama M., Hirokawa K., Sugamura K., Nishioka K., Nakamura M. Prostaglandin D2 plays an essential role in chronic allergic inflammation of the skin via CRTH2 receptor // *J. Immunol.* 2006. V.177. P.2621-2629.
761. Savoia C., Schiffrin E.L. Inflammation in hypertension // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2006. V.15. P.152–158.
762. Sayeski P.P., Bernstein K.E. Signal transduction mechanisms of the angiotensin II type AT(1)-receptor: looking beyond the heterotrimeric G protein paradigm // *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2001. V.2. P.4–10.
763. Schelling P., Fischer H., Ganten D. Angiotensin and cell growth: a link to cardiovascular hypertrophy? // *J. Hypertens.* 1991. V.9. P.3–15.
764. Schelling P., Ganten U., Sponer G., Unger Th., Ganten D. Components of the renin-angiotensin system in the cerebrospinal fluid of rats and dogs with special consideration of the origin and the fate of angiotensin II // *Neuroendocrinology*. 1980. V.31. P.297–308.
765. Schelling P., Meyer D., Loos H.E., Speck G., Phillips M.I., Johnson A.K., Ganten D. A micromethod for the measurement of rennin in brain nuclei: its application in spontaneously hypertensive rats // *Neuropharmacology*. 1982. V.21. P.435–463.
766. Schieffer B., Drexler H., Ling B.N., Marrero M.B. G protein-coupled receptors control vascular smooth muscle cell proliferation via pp60c-src and p21ras // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1997. V.272. P.C2019–C2030.
767. Schiffrin E.L. Vascular endothelin in hypertension // *Vasc. Pharmacol.* 2005. V.43. P.19–29.
768. Schiller P.W., Demassieux S., Boucher R. Substrate specificity of tonin from rat submaxillary gland // *Circ. Res.* 1976. V.39. P.629–632.
769. Schinke M., Baltatu O., Bohm M., Peters J., Rasher W., Bricca G., Lippoldt A., Ganten D., Bader M. Blood pressure reduction and diabetes insipidus in transgenic rats deficient in brain angiotensinogen // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V.96. P. 3975 – 3980.
770. Schlaich, M. P., Lambert E., Kaye D.M., Krozowski Z., Campbell D.J., Lambert G., Hastings J., Aggarwal A., Esler M.D. Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and angiotensin neuromodulation // *Hypertension*. 2004. V.43. P.169–175.
771. Schneider M., Lowell B. Judgment day: which angiotensin receptor is the culprit in cardiac hypertrophy? // *Circulation*. 2001. V.104. P.247–248.
772. Schnermann J. Juxtaglomerular cell complex in the regulation of renal salt excretion // *Am. J. Physiol.* 1998. V.274. P.R263–R279.
773. Schnermann J.B., Traynor T., Yang T., Huang Y.G., Oliverio M.I., Coffman T., Briggs J.P. Absence of tubuloglomerular feedback responses in AT1A receptor-deficient mice // *Am. J. Physiol.* 1997. V.273. P.F315–F320.

774. Schuijt M.P., de Vries R., Saxena P.R., and Jan Danser A.H. Prostanoids, but not nitric oxide, counterregulate angiotensin II mediated vasoconstriction in vivo // *Eur. J. Pharmacol.* 2001. V.428. P.331–336.
775. Schulman I.H., Zhou M.S., Raji L. Nitric oxide, angiotensin II, and reactive oxygen species in hypertension and atherogenesis // *Curr. Hypertens. Rep.* 2005. V.7. P.61–67.
776. Schunkert H., Dzau V.J., Tang S.S., Hirsch A.T., Apstein C.S., Lorell B.H. Increased rat cardiac angiotensin converting enzyme activity and mRNA expression in pressure overload left ventricular hypertrophy effects on coronary resistance, contractility, and relaxation // *J. Clin. Invest.* 1990. V.86. P.1913-1920.
777. Schunkert H., Jackson B., Tang S.S., Schoen F.J., Smits J.F.M., Apstein C.S., Lorell B.H. Distribution and functional relevance of cardiac angiotensin converting enzyme in hypertrophied rat hearts // *Circulation.* 1993. V.87. P.1328–1339.
778. Schunkert H., Hense H.W., Muscholl M., Luchner A., Kurzinger S., Jan Danser A.H., Riegger G. Associations between circulating components of the renin-angiotensin-aldosterone system and left ventricular mass // *Heart.* 1997. V.77. P.24-31.
779. Schupp M., Janke J., Clasen R., Unger T., Kintscher U. Angiotensin type 1 receptor blockers induce peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity // *Circulation.* 2004. V.109. P.2054–2057.
780. Schwartz J. I., Vandormael K., Malice M.P., Kalyani R.N., Lasseter K.C., Holmes G.B., Gertz B.J., Gottesdiener K.M., Laurenzi M., Redfern K.J., Brune K. Comparison of rofecoxib, celecoxib, and naproxen on renal function in elderly subjects receiving a normal-salt diet // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2002. V.72. P.50–61.
781. Schweda F., Kurtz A. Cellular mechanism of renin release // *Acta Physiol. Scand.* 2004. V.181. P.383–390.
782. Scicli A.G., Carretero O.A. Renal kallikrein-kinin system // *Kidney Int.* 1986. V.29. P.120–130.
783. Sealey J.E., Blumenfeld J.D., Bell G.M., Pecker M.S., Sommers S.C., Laragh J.H. On the renal basis for essential hypertension: nephron heterogeneity with discordant renin secretion and sodium excretion causing a hypertensive vasoconstriction–volume relationship // *J. Hypertens.* 1988. V.6. P.763–777.
784. Sealey J.E., Glorioso N., Itskovitz J., Laragh J.H. Prorenin as a reproductive hormone. New form of the renin system // *Am. J. Med.* 1986. V.81. P.1041–1046.
785. Seeman T.E., Singer B.H., Rowe J.W., Horwitz R.I., McEwen B.S. Price of adaptation – allostatic load and its health consequences. MacArthur studies of successful aging // *Arch. Intern. Med.* 1997. V.157. P.2259-2268.
786. Seibert K., Masferrer J., Zhang Y., Gregory S., Olson G., Hauser S., Leahy K., Perkins W., Isakson P. Mediation of inflammation by cyclooxygenase-2 // *Agents Actions.* 1995. Suppl. 46. P.41–50.
787. Senbonmatsu T., Ichihara S., Price E. Jr, Gaffney F.A., Inagami T. Evidence for angiotensin II type 2 receptor-mediated cardiac myocyte enlargement during in vivo pressure overload // *J. Clin. Invest.* 2000. V.106. P.R25–R29.

788. Seo H., Yang C., Kim H.S., Kim K.S. Multiple protein factors interact with the cisregulatory elements of the proximal promoter in a cell-specific manner and regulate transcription of the dopamine beta-hydroxylase gene // *J. Neurosci.* 1996. V.16. P.4102–4112.
789. Sequeira Lopez M.L., Pentz E.S., Nomasa T., Smithies O., Gomez R.A. Renin cells are precursors for multiple cell types that switch to the renin phenotype when homeostasis is threatened // *Dev. Cell.* 2004. V.6. P.719–728.
790. Shaltout H.A., Westwood B., Averill D.B., Ferrario C.M., Figueroa J., Diz D.I., Rose J., Chappell M.C. Angiotensin metabolism in renal proximal tubules, urine and serum of sheep: evidence for ACE2-dependent processing of angiotensin II // *Am. J. Physiol.* 2007. V.292. P.F82–F91.
791. Sharma U.C., Pokharel S., van Brakel T.J., van Berlo J.H., Cleutjens J.P., Schroen B., Andre S., Crijns H.J., Gabius H.J., Maessen J., Pinto Y.M. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction // *Circulation.* 2004. V. 110. P.3121–3128.
792. Shelat S.G., Reagan L.P., King J.L., Fluharty S.J., Flanagan-Cato L.M. Analysis of angiotensin type 2 receptors in vasopressinergic neurons and pituitary in the rat // *Regul. Pept.* 1998. V.73. P.103–112.
793. Shibata K., Komatsu C., Misumi Y., Furukawa T. Developmental differences of angiotensinogen mRNA in the preoptic area between spontaneously hypertensive and age-matched Wistar – Kyoto rats. // *Mol. Brain Res.* 1993. V.19 P. 115 – 120.
794. Shibata K., Makino I., Shibaguchi H., Niwa M., Katsuragi T., Furukawa T. Up-regulation of angiotensin type 2 receptor mRNA by angiotensin II in rat cortical cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997. V.239. P.633–637.
795. Shier D.N., Kusano E., Stoner G.D., Franco-Saenz R., Mulrow P.J. Production of renin, angiotensin II, and aldosterone by adrenal explant cultures: response to potassium and converting enzyme inhibition // *Endocrinology.* 1989. V.125. P.486–491.
796. Shimazaki A., Tanaka Y., Shinosaki T., Ikeda M., Watada H., Hirose T., Kawamori R., Maeda S. ELMO1 increases expression of extracellular matrix proteins and inhibits cell adhesion to ECMs // *Kidney Int.* 2006. V.70. P.1769-1776.
797. Shimoike H., Iwai N., Kinoshita M. Genetic analysis of renin gene expression in the central nervous system of spontaneously hypertensive rats // *Neurosci. Lett.* 1997. V.221. P.133–136.
798. Sibong M., Gase J.-M., Soubrier F., Alhenc-Gelas F., Corovol P. Gene expression and tissue localization of the two isoforms of angiotensin I converting enzyme // *Hypertension.* 1993. V.21. P.827–835.
799. Sigmund C.D., Jones C.A., Mullins J.J., Kim U., Gross K.W. Expression of murine renin genes in subcutaneous connective tissue // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. V.87. P.7993–7997.
800. Silver R.B., Reid A.C., Mackins C.J., Askwith T., Schaefer U., Herzlinger D., Levi R. Mast cells: a unique source of renin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V.101. P.13607–13612.
801. Silvestre J.S., Tamarat R., Senbonmatsu T., Icchiki T., Ebrahimian T., Iglarz M., Besnard S., Duriez M., Inagami T., Levy B.I. Antiangiogenic effect of angiotensin II type 2 receptor in ischemia-induced angiogenesis in mice hindlimb // *Circ. Res.* 2002. V.90. P.1072–1079.

802. Singh V.P., Le B., Bhat V.B., Baker K.M., Kumar R. High glucose induced regulation of intracellular angiotensin II synthesis and nuclear redistribution in cardiac myocytes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007. V.293, No.2. P.H939-948.
803. Sinn P.L., Sigmund C.D. Human renin mRNA stability is increased in response to cAMP in Calu-6 cells // *Hypertension.* 1999. V.33. P.900–905.
804. Sinnayah P., Lazartigues E., Sakai K., Sharma R.V., Sigmund C. D., Davisson R.L. Genetic ablation of angiotensinogen in the subfornical organ of the brain prevents the central angiotensinergic pressor response // *Circ. Res.* 2006. V.99. P.1125–1131.
805. Siragy H.M., Carey R.M. The subtype-2 (AT₂) angiotensin II receptor regulates renal guanosine cyclic 3', 5' monophosphate and AT₁ receptor-mediated prostaglandin E₂ production in conscious rats // *J. Clin. Invest.* 1996. V.97. P.1978–1982.
806. Siragy H.M., Carey R.M. The subtype-2 (AT₂) angiotensin II receptor mediates renal production of nitric oxide in conscious rats // *J. Clin. Invest.* 1997. V.100. P.264–269.
807. Siragy H.M., Inagami T., Ichiki T., Carey R.M. Sustained hypersensitivity to angiotensin II and its mechanism in mice lacking the subtype-2 (AT₂) angiotensin II receptor // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999a. V.96. P.6506–6510.
808. Siragy H.M., Senbonmatsu T., Ichiki T., Inagami T., Carey R.M. Increased renal vasodilator prostanoids prevent hypertension in mice lacking the subtype-2 (AT₂) receptor // *J. Clin. Invest.* 1999b. V.104. P.181–188.
809. Skidgel R.A., Erdos E.G. Angiotensin converting enzyme (ACE) and neprilysin hydrolyze neuropeptides: a brief history, the beginning and follow-ups to early studies // *Peptides.* 2004. V.25. P. 521–525.
810. Skov K., Mulvany M.J. Structure of renal afferent arterioles in the pathogenesis of hypertension // *Acta Physiol. Scand.* 2004. V.181. P.397–405.
811. Skrbic R., Igc R. Seven decades of angiotensin (1939–2009) // *Peptides.* 2009. V30. P.1945–1950.
812. Smith W.L., DeWitt D.L., Garavito R.M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology // *Annu. Rev. Biochem.* 2000. V.69. P.145-182.
813. Smyth E.M., Grosser T., Wang M., Yu Y., FitzGerald G.A. Prostanoids in health and disease // *J. Lipid Res.* 2009. V.50. P.S423–S428.
814. Sonntag W.E., Lynch C.D., Cefalu W.T., Ingram R.L., Bennett S.A., Thornton P.L., Khan A.S. Pleiotropic effects of growth hormone and insulin-like growth factor (IGF)-1 on biological aging: inferences from moderate caloric-restricted animals // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 1999. V.54, No.12. P.B521-538.
815. Sorokin A. Glomerulonephritis and Cellular Regulation of Prostaglandin Synthesis. In: An update on glomerulopathies – etiology and pathogenesis / Ed. Sharma Prabhakar. ISBN: 978-953-307-388-0, InTech, 2011. 276 pp. DOI: 10.5772/21899. Available from: URL: <http://www.intechopen.com/books/an-update-on-glomerulopathies-etiology-and-pathogenesis/glomerulonephritis-and-cellular-regulation-of-prostaglandin-synthesis>
816. Soubrier F., Wei L., Hubert C., Clauser E., Alhenc-Gelas F., Corvol P. Molecular biology of the angiotensin I-converting enzyme: II. Structure-function. Gene polymorphism and clinical implications // *J. Hypertens.* 1993. V.11. P.599–604.

817. Spinazzi R., Andreis P.G., Rossi G.P., Nussdorfer G.G. Orexins in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis // *Pharmacol. Rev.* 2006. V. 58, No. 1. P.46–57.
818. Sriramula S., Cardinale J.P., Lazartigues E., Francis J. ACE2 overexpression in the paraventricular nucleus attenuates angiotensin II-induced hypertension // *Cardiovasc. Res.* 2011. V.92, No.3. P.401-408.
819. Steckelings U.M., Czarnetzki B.M. The renin-angiotensin-system in the skin. Evidence for its presence and possible functional implications // *Exp. Dermatol.* 1995. V.4. P.329–334.
820. Steckelings U.M., Kaschina E., Unger T. The AT2 receptor—a matter of love and hate // *Peptides.* 2005. V. 26. P. 1401–1409.
821. Steinert D., Kuper C., Bartels H., Beck F.X., Neuhofer W. PGE2 potentiates tonic-induced COX-2 expression in renal medullary cells in a positive feedback loop involving EP2-cAMP-PKA signaling // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009. V.296. P.C75-C87.
822. Steiropoulos P., Trakada G., Bouros D. Current pharmacological treatment of pulmonary arterial hypertension // *Curr. Clin. Pharmacol.* 2008. V.3. P.11–19.
823. Stitt-Cavanagh E.M., Faour W.H., Takami K., Carter A., Vanderhyden B., Guan Y., Schneider A., Breyer M.D., Kennedy C.R. A maladaptive role for EP4 receptors in podocytes // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010. V.21. P.1678-1690.
824. Stocker S.D., Simmons J.R., Stornetta R.L., Toney G.M., Guyenet, P.G. Water deprivation activates a glutamatergic projection from the hypothalamic paraventricular nucleus to the rostral ventrolateral medulla // *J. Comp. Neurol.* 2006. V.494. P.673–685.
825. Stocklin E., Wissler M., Gouilleux F., Groner B. Functional interactions between Stat5 and the glucocorticoid receptor // *Nature.* 1996. V.383. P.726–728.
826. Stoll M., Steckelings U.M., Paul M., Bottari S.P., Metzger R., Unger T. The angiotensin AT2-receptor mediates inhibition of cell proliferation in coronary endothelial cells // *J. Clin. Invest.* 1995. V.95. P.651–657.
827. Stornetta R.L., Hawelu-Johnson C.L., Guyenet P.G., Lynch K.R. Astrocytes synthesize angiotensinogen in brain // *Science.* 1988. V.242. P.1444–1446.
828. Su J.-Z., Fukuda N., Jin X.-Q., Lai Y.-M., Suzuki R., Tahira Y., Takagi H., Ikeda Y., Kanmatsuse K., Miyazaki H. Effect of AT2 receptor on expression of AT1 and TGF- β receptors in VSMC's from SHR // *Hypertension.* 2002. V.40. P.853–858.
829. Subbaramaiah K., Altorki N., Chung W.J., Mestre J.R., Sampat A., Dannenberg A.J. Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53 // *J. Biol. Chem.* 1999. V.274. P.10911-10915.
830. Subbaramaiah K., Marmo T.P., Dixon D.A., Dannenberg A.J. Regulation of cyclooxygenase-2 mRNA stability by taxanes: evidence for involvement of p38, MAPKAPK-2, and HuR // *J. Biol. Chem.* 2003. V.278. P.37637-37647.
831. Sun C., Sumners C., Raizada M.K. Chronotropic action of angiotensin II in neurons via protein kinase C and CaMKII // *Hypertension.* 2002. V.39. P.562–566.
832. Sun C., Sellers K.W., Sumners C., Raizada M.K. NAD(P)H oxidase inhibition attenuates neuronal chronotropic actions of angiotensin II // *Circ. Res.* 2005. V.96. P.659–666.

833. Sun Y., Diaz-Arias A.A., Weber K.T. Angiotensin-converting enzyme, bradykinin, and angiotensin II receptor binding in rat skin, tendon, and heart valves: an in vitro, quantitative autoradiographic study // *J. Lab. Clin. Med.* 1994. V.123. P.372–377.
834. Sun Y., Ramires F.J., Zhou G., Ganjam V.K., Weber K.T. Fibrous tissue and angiotensin II // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1997. V.29. P.2001–2012.
835. Sundgren N.C., Giraud G.D., Stork P.J.S., Maylie J.G., Thornburg K.L. Angiotensin II stimulates hyperplasia but not hypertrophy in immature ovine cardiomyocytes // *J. Physiol.* 2003. V.548.3. P. 881–891.
836. Suzuki J., Iwai M., Nakagami H., Wu L., Chen R., Sugaya T., Harnada M., Hiwada K., Horiuchi M. Role of angiotensin II-regulated apoptosis through distinct AT1 and AT2 receptors in neointimal formation // *Circulation.* 2002. V.106. P.847–853.
837. Sved A.F., Ito S., Sved J.C. Brainstem mechanisms of hypertension: role of the rostral ventrolateral medulla // *Curr. Hypertens. Rep.* 2003. V.5. P.262–268.
838. Tagawa T., Fontes M.A., Potts P.D., Allen A.M., Dampney R.A. The physiological role of AT1 receptors in the ventrolateral medulla // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2000. V.33. P.643–652.
839. Tagawa T., Horiuchi J., Potts P.D., Dampney R.A. Sympathoinhibition after angiotensin receptor blockade in the rostral ventrolateral medulla is independent of glutamate and gamma-aminobutyric acid receptors // *J. Auton. Nerv. Syst.* 1999. V.77. P.21–30.
840. Tago K., Funakoshi-Tago M., Sakinawa M., Mizuno N., Itoh H. KappaB-Ras is a nuclear-cytoplasmic small GTPase that inhibits NF-kappaB activation through the suppression of transcriptional activation of p65/RelA // *J. Biol. Chem.* 2010. V.285, No.40. P.30622-30633.
841. Takahashi K., Hiraishi K., Hirose T., Kato I., Yamamoto H., Shoji I., Shibasaki A., Kaneko K., Satoh F., Totsune K. Expression of (pro)renin receptor in the human brain and pituitary, and co-localisation with arginine vasopressin and oxytocin in the hypothalamus // *J. Neuroendocrinol.* 2010. V.22. P.453–459.
842. Tamura K., Umemura S., Nyui N., Yamakawa T., Yamaguchi S., Ishigami T., Tanaka S., Tanimoto K., Takagi N., Sekihara H., Murakami K., Ishii M. Tissue specific regulation of angiotensinogen gene expression in spontaneously hypertensive rats // *Hypertension.* 1996b. V. 27 P. 1216 – 1223.
843. Tamura M., Piston D.W., Tani M., Naruse M., Landon E.J., Inagami T. Ouabain increases aldosterone release from bovine adrenal glomerulosa cells—role of renin-angiotensin system // *Am. J. Physiol.* 1996a. V.33. P.E27–E35.
844. Tamura M., Tukagi T., Howard E.F., Landon E.J., Steimle A., Tanner M., Meyers P.R. Induction of angiotensin II subtype-2 receptor-mediated blood pressure regulation in synthetic diet-fed rats // *J. Hypertens.* 2000. V.18. P.1239–1246.
845. Tan J., Wang H., Leenen F.H. Increases in brain and cardiac AT1 receptor and ACE densities after myocardial infarct in rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004. V.286. P.H1665–1671.
846. Tanaka J., Hori K., Nomura M. Diminished salt appetite in spontaneously hypertensive rats following local administration of the angiotensin II antagonist saralasin in the median preoptic area // *Behav. Pharmacol.* 1997. V.8. P.752–756.

847. Tanaka M., Tsuchida S., Imai T., Fujii N., Miyazaki H., Ichiki T., Naruse M., Inagami T. Vascular response to angiotensin II is exaggerated through an upregulation of the AT1 receptor in AT2 knockout mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999. V.258. P.194–198.
848. Tapia E., Cristóbal M., García-Arroyo F.E., Soto V., Monroy-Sánchez F., Pacheco U., Lanasa M.A., Roncal-Jiménez C.A., Cruz-Robles D., Ishimoto T., Madero M., Johnson R.J., Sánchez-Lozada L.G. Synergistic effect of uricase blockade plus physiological amounts of fructose-glucose on glomerular hypertension and oxidative stress in rats // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2013. V.304, No.6. P.F727-736.
849. Tasker A.S., Sorensen B.K., Jae H.S., Winn M., von Geldern T.W., Dixon D.B., Chiou W.J., Dayton B.D., Calzadilla S., Hernandez L., Marsh K.C., WuWong J.R., Opgenorth T.J. Potent and selective non-benzodioxole-containing endothelin-A receptor antagonists // *J. Med. Chem.* 1997. V.40. P.322–330.
850. Teather L.A., Packard M.G., Bazan N.G. Post-Training Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibition Impairs Memory Consolidation // *Learn. Mem.* 2002. V.9. P.41-47.
851. Terada Y., Tomita K., Nonoguchi H., Marumo F. PCR localization of angiotensin II receptor and angiotensinogen mRNA in rat kidney // *Kidney Int.* 1983. V.43. P.1251–1259.
852. Thannickal T.C. A decade of hypocretin/orexin: Accomplishments in sleep medicine // *Sleep Medicine Reviews.* 2009. V.13, No 1. P. 5-8.
853. Thoenen H., Bandtlow C., Heumann R. The physiological function of nerve growth factor in the central nervous system: comparison with the periphery // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 1987. V.109. P.145–178.
854. Thomas W.G. Regulation of angiotensin II type 1 (AT1) receptor function // *Regul. Pept.* 1999. V.79. P.9–23.
855. Thomas W.G., Brandenburger Y., Autelitano D.J., Pham T., Qian H., Hannan R.D. Adenoviral-directed expression of the type 1A angiotensin receptor promotes cardiomyocyte hypertrophy via transactivation of the epidermal growth factor receptor // *Circ. Res.* 2002. V.90. P.135–142.
856. Thomas W.G., Greenland K.J., Shinkel T.A., Sernia C. Angiotensinogen is secreted by pure rat neuronal cell cultures // *Brain Res.* 1992. V.588. P.191–200.
857. Tian J., Kim S.F., Hester L., Snyder S.H. S-nitrosylation/activation of COX-2 mediates NMDA neurotoxicity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V.105. P.10537-10540.
858. Tian X.L., Pinto Y.M., Costerousse O., Franz W.M., Lippoldt A., Hoffmann S., Unger T., Paul M. Over-expression of angiotensin converting enzyme-1 augments cardiac hypertrophy in transgenic rats // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V.13. P.1441–1450.
859. Tikellis C., Cooper M.E., Bialkowski K., Johnston C.I., Burns W.C., Lew R.A., Smith A.I., Thomas M.C. Developmental expression of ACE2 in the SHR kidney: A role in hypertension? // *Kidney Int.* 2006. V.70. P.34–41.
860. Timmermans P.B., Wong P.C., Chiu A.T., Herblin W.F., Benfield P., Carini D.J., Lee R.J., Wexler R.R., Saye J.A., Smith R.D. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists // *Pharmacol. Rev.* 1993. V.45. P.205–251.
861. Tipnis S.R., Hooper N.M., Hyde R., Karran E., Christie G., Turner A.J. A human homolog of angiotensin-converting enzyme: cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase // *J. Biol. Chem.* 2000. V.275. P.33238–33243.

862. Todorov V.T., Volkl S., Muller M., Bohla A., Klar J., Kunz-Schughart L.A., Hehlhans T., Kurtz A. Tumor necrosis factor- α activates NF κ B to inhibit renin transcription by targeting cAMP-responsive element // *J. Biol. Chem.* 2004. V.279. P.1458–1467.
863. Tokita Y., Franco-Saenz R., Mulrow P.J., Ganten D. Effects of nephrectomy and adrenalectomy on the renin-angiotensin system of transgenic rats TGR(mRen2)27 // *Endocrinology*. 1994a. V.134. P.253–257.
864. Tokita Y., Franco-Saenz R., Reimann E.M., Mulrow P.J. Hypertension in the transgenic rat TGR(mRen-2)27 may be due to enhanced kinetics of the reaction between mouse renin and rat angiotensinogen // *Hypertension*. 1994b. V.23. P.422–427.
865. Tokita Y., Oda H., Franco-Saenz R., Mulrow P.J. Role of the tissue renin-angiotensin system in the action of angiotensin-converting enzyme-inhibitors // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1995. V.208. P.391–396.
866. Tokita Y., Yamaguchi T., Franco-Saenz R., Mulrow P.J., Ganten D. Adrenal renin is released into the circulation of the hypertensive transgenic rat TGR (mRen-2)27 // *Trans. Assoc. Am. Physicians*. 1992. V.105. P.123–132.
867. Tokuyama H., Hayashi K., Matsuda H., Kubota E., Honda M., Okubo K., Takamatsu I., Tatematsu S., Ozawa Y., Wakino S., Saruta T. Differential regulation of elevated renal angiotensin II in chronic renal ischemia // *Hypertension*. 2002. V.40. P.34–40.
868. Tordjman K.M., Semenkovich C.F., Coleman T., Yudovich R., Bak S., Osher E., Vechoropoulos M., Stern N. Absence of peroxisome proliferator-activated receptor- α abolishes hypertension and attenuates atherosclerosis in the Tsukuba hypertensive mouse // *Hypertension*. 2007. V.50. P.945–951.
869. Touyz R.M., Schiffrin E.L. Increased generation of superoxide by angiotensin II in smooth muscle cells from resistance arteries of hypertensive patients: role of phospholipase D-dependent NAD(P)H oxidase-sensitive pathways // *J. Hypertens.* 2001. V.19. P.1245–1254.
870. Trask A.J., Averill D.B., Ganten D., Chappell M.C., Ferrario C.M. Primary role of angiotensin-converting enzyme-2 in cardiac production of angiotensin-(1–7) in transgenic Ren-2 hypertensive rats // *Am. J. Physiol.* 2007. V.292. P.H3019–H3024.
871. Trask A.J., Jessup J.A., Chappell M.C., Ferrario C.M. Angiotensin-(1–12) is an alternate substrate for angiotensin peptide production in the heart // *Am. J. Physiol. – Heart*. 2008. V. 294, No. 5. P.H2242–H2247.
872. Treschan T.A., Peters J. The vasopressin system: physiology and clinical strategies // *Anesthesiology*. 2006. V.105. P.599–612, quiz 639–540.
873. Tronche F., Opherck C., Moriggl R., Kellendonk C., Reimann A., Schwake L., Reichardt H.M., Stangl K., Gau D., Hoefflich A., Beug H., Schmid W., Schütz G. Glucocorticoid receptor function in hepatocytes is essential to promote postnatal body growth // *Genes & Dev*. 2004. V.18. P.492–497.
874. Tsatsanis C., Androulidaki A., Venihaki M., Margioris A.N. Signalling networks regulating cyclooxygenase-2 // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2006. V.38. P.1654–1661.
875. Tsuchihashi T., Kagiya S., Matsumura K., Lin Y., Abe I., Fujishima M. Cardiovascular responses to glutamate and angiotensin II in ventrolateral medulla of hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide // *Hypertens. Res.* 2000. V.23. P.359–364.

876. Tsutsumi Y., Matsubara H., Masaki H., Kurihara H., Murasawa S., Takai S., Miyazaki M., Nozawa Y., Ozono R., Nakagawa K., Miwa T., Kawada N., Mori Y., Shibasaki Y., Tanaka Y., Fujiyama S., Koyama Y., Fujiyama A., Takahashi H., Iwasaka T. Angiotensin II type 2 receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vaso-dilation // *J. Clin. Invest.* 1999. V.104. P.925–935.
877. Turak O., Ozcan F., Tok D., İşleyen A., Sökmen E., Taşoğlu I., Aydoğdu S., Sen N., McFann K., Johnson R.J., Kanbay M. Serum uric acid, inflammation, and nondipping circadian pattern in essential hypertension // *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)*. 2013. V.15, No.1. P.7-13.
878. Turnbull A.V., Rivier C.L. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action // *Physiol. Rev.* 1999. V. 79. P.1-71.
879. Ueda S., Masumori-Maemoto S., Ashino K., Nagahara T., Gotoh E., Umemura S., Ishii M. Angiotensin (1–7) attenuates vasoconstriction evoked by angiotensin II but not by noradrenaline in man // *Hypertension*. 2000. V.35. P.998–1001.
880. Unger T., Chung O., Csikos T., Culman J., Gallinat S., Gohlke P., Hohle S., Meffert S., Stoll M., Stroth U., Zhu Y.Z. Angiotensin receptors // *J. Hypertens.* 1996. Suppl 14. P.S95–S103.
881. Unger T., Ganten D., Lang R.E. Tissue converting enzyme and cardiovascular actions of converting enzyme inhibitors // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1986. V.8, Suppl 10. P.S75–S81,
882. Urade Y., Kitahama K., Ohishi H., Kaneko T., Mizuno N., Hayaishi O. Dominant expression of mRNA for prostaglandin D synthase in leptomeninges, choroid plexus, and oligodendrocytes of the adult rat brain // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. V.90. P.9070– 9074.
883. Urata H., Healy B., Stewart R.W., Bumpus F.M., Husain A. Angiotensin II receptors in normal and failing human hearts // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1989. V.69. P.54-66.
884. Urata H., Healy B., Stewart R.W., Bumpus F.M., Husain A. Angiotensin II-forming pathways in normal and failing human hearts // *Circ. Res.* 1990. V.66. P.883–890.
885. Urata H., Khosla M.C., Bumpus F.M., Husain A. Evidence for extracellular, but not intracellular, generation of angiotensin II in the rat adrenal zona glomerulosa // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1988. V.85. P.8251–8255.
886. Urata H., Nishimura H., Ganten D. Chymase-dependent angiotensin II forming systems in humans // *J. Hypertens.* 1996. V.9. P.277–284.
887. Ushio-Fukai M., Alexander R.W., Akers M., Griending K.K. p38 Mitogenactivated 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. V.273. P.15022–15029.
888. Ushio-Fukai M., Alexander R.W., Akers M., Yin Q., Fujio Y., Walsh K., Griending K.K. Reactive oxygen species mediate the activation of Akt/protein kinase B by angiotensin II in vascular smooth muscle cells // *J. Biol. Chem.* 1999. V.274. P.22699–22704.
889. Vakharia K., Hinson J.P. Lipopolysaccharide directly stimulates cortisol secretion by human adrenal cells by a cyclooxygenase-dependent mechanism // *Endocrinology*. 2005. V. 146. P. 1398–1402.
890. Vane J.R., Bakhle Y.S., Botting, R.M. Cyclooxygenases 1 and 2 // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1998. V.38. P.97–120.

891. Van den Eijnden M.M.E.D., Saris J.J., de Bruin R.J.A., de Wit E., Sluiter W., Reudelhuber T.L., Schalekamp M.A.D.H., Derkx F.H.M., Danser A.H.J. Prorenin accumulation and activation in human endothelial cells. Importance of mannose 6-phosphate receptors // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. V.21. P.911–916.
892. Van Kats J.P., Chai W., Duncker D.J., Schalekamp M.A.D.H., Danser A.H.J. Adrenal angiotensin: origin and site of generation // *Am. J. Hypertens.* 2005. V.18. P.1104–1111.
893. Van Kats J.P., Danser A.H., van Meegen J., Verdouw P.D., Schalekamp M.A. Angiotensin production by the heart: a quantitative study in pigs with the use of radiolabeled angiotensin infusions // *Circulation.* 1998. V.98. P.73–81.
894. Van Kats J.P., van Meegen J.R., Verdouw P.D., Duncker D.J., Schalekamp M.A.D.H., Danser A.H.J. Subcellular localization of angiotensin II in kidney and adrenal // *J. Hypertens.* 2001a. V.19. P.583–589.
895. Van Kats J., Methot D., Paradis P., Silversides D.W., Reudelhuber T.L. Use of a biological peptide pump to study chronic peptide hormone action in transgenic mice: direct and indirect effects of angiotensin II on the heart // *J. Biol. Chem.* 2001b. V.276. P.44012–44017.
896. Varagic J., Trask A.J., Jessup J.A., Chappell M.C., Ferrario C.M. New angiotensins // *J. Mol. Med.* 2008. V.86, No.6. P.663–671.
897. Vaziri N.D. Roles of oxidative stress and antioxidant therapy in chronic kidney disease and hypertension // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2004. V.13. P.93–99.
898. Veerasingham S.J., Raizada M.K. Brain renin–angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives // *Brit. J. Pharmacol.* 2003. V.139. P.191–202.
899. Vezza R., Habib A., Li H., Lawson J.A., Fitzgerald G.A. Regulation of cyclooxygenases by protein kinase C. Evidence against the importance of direct enzyme phosphorylation // *J. Biol. Chem.* 1996. V.271. P.30028–30033.
900. Vickers C., Hales P., Kaushik V., Dick L., Gavin J., Tang J., Godbout K., Parsons T., Baronas E., Hsieh F., Acton S., Patane M., Nichols A., Tummino P. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase // *J. Biol. Chem.* 2002. V.277. P.14838–14843.
901. Voigt J.P., Hortnagl H., Rex A., van Hove L., Bader M., Fink H. Brain angiotensin and anxiety-related behavior: the transgenic rat TGR (ASrAOGEN)680 // *Brain Res.* 2005. V.1046. P.145–156.
902. Von Bohlen und Hahlbach O., Albrecht D. Opposite effects of angiotensin II and IV in the lateral nucleus of the amygdala // *Brain Res. Bull.* 1998. V.47. P.311–315.
903. Von Bohlen und Hahlbach O., Albrecht D. Identification of angiotensin IV binding sites in the mouse brain by a fluorescent binding study. *Neuroendocrinology.* 2000. V.72. P.218–223.
904. Von Lutterotti N., Catanzaro D.F., Sealey J.E., Laragh J.H. Renin is not synthesized by cardiac and extrarenal vascular tissues. A review of experimental evidence // *Circulation.* 1994. V.89, No.1. P.458–470.
905. Wada M., Saunders T.L., Morrow J., Milne G.L., Walker K.P., Dey S.K., Brock T.G., Opp M.R., Aronoff D.M., Smith W.L. Two pathways for cyclooxygenase-2 protein degradation in vivo // *J. Biol. Chem.* 2009. V.284. P.30742–30753.

906. Walsh D.A., Hu D.E., Wharton J., Catravas J.D., Blake D.R., Fan T.P. Sequential development of angiotensin receptors and angiotensin I converting enzyme during angiogenesis in the rat subcutaneous sponge granuloma // *Br. J. Pharmacol.* 1997. V.120. P.1302–1311.
907. Walters P.E., Gaspari T.A., Widdop R.E. Angiotensin-(1–7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats // *Hypertension.* 2005. V.45. P.960–966.
908. Walther T., Voigt J.P., Fukamizu A., Fink H., Bader M. Learning and anxiety in angiotensin-deficient mice // *Behav. Brain Res.* 1999. V.100. P.1–4.
909. Wang D.H., Qiu J., Hu Z. Differential regulation of angiotensin II receptor subtypes in the adrenal gland. Role of aldosterone // *Hypertension.* 1998a. V.32. P.65-70.
910. Wang H.W., Gallinat S., Li H., Summers C., Raizada M.K., Katovich M.J. Elevated blood pressure in normotensive rats produced by ‘knockdown’ of the angiotensin type2 receptor // *Exp. Physiol.* 2004. V. 89. P. 313–322.
911. Wang J.M., Slembrouck D., Tan J., Archens L., Leenen F.H.H., Courtoy P.J, Depotter W.P. Presence of cellular renin-angiotensin system in chromaffin cells of bovine adrenal medulla // *Am. J. Physiol.* 2002. V.283. P.H1811–H1818.
912. Wang M., Lee E., Song W., Ricciotti E., Rader D.J., Lawson J.A., Puré E., Fitzgerald G.A. Microsomal prostaglandin E synthase-1 deletion suppresses oxidative stress and angiotensin II–induced abdominal aortic aneurysm formation // *Circulation.* 2008. V.117. P.1302–1309.
913. Wang M., Zukas A.M., Hui Y., Ricciotti E., Pure E., FitzGerald G.A. Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 augments prostacyclin and retards atherogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V.103. P.14507–14512.
914. Wang S., Meng F., Xu J., Gu Y. Effects of lipids on ENaC activity in cultured mouse cortical collecting duct cells // *J. Membr. Biol.* 2009. V.227. P.77-85.
915. Wang Z.Q., Moore A.F., Ozono R., Siragy H.M., Carey R.M. Immunolocalization of subtype 2 angiotensin II (AT2) receptor protein in rat heart // *Hypertension.* 1998b. V.32. P.78–83.
916. Watanabe T., Hashimoto M., Okuyama S., Inagami T., Nakamura S. Effects of targeted disruption of the mouse angiotensin II type 2 receptor gene on stress-induced hyperthermia // *J. Physiol.* 1999. V.515. P.881–885.
917. Watanabe T., Suzuki J., Yamawaki H., Sharma V.K., Sheu S.S., Berk B.C. Losartan metabolite EXP3179 activates Akt and endothelial nitric oxide synthase via vascular endothelial growth factor receptor-2 in endothelial cells: angiotensin II type 1 receptorindependent effects of EXP3179 // *Circulation.* 2005. V.112. P.1798–1805.
918. Wei S.G., Felder R.B. Forebrain renin–angiotensin systemhas a tonic excitatory influence on renal sympathetic nerve activity // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002. V.282. P.H890–895.
919. Weinberger M.H. Salt sensitivity of blood pressure in humans // *Hypertension.* 1996. V.27. P.481–490.
920. Weisinger R.S., Blair-West J.R., Burns P., Denton D.A., Tarjan E. Role of brain angiotensin in thirst and sodium appetite of rats // *Peptides.* 1997. V18. P.977–984.
921. WHO: World Health Organization (WHO) [homepage on the Internet]. Geneva: The World Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. 2012 [updated 2012 Mar 10; cited 2012 Oct 02] Available from: URL: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/.

922. Widdop R.E., Jones E.S., Hannan R.E., Gaspari T.A. Angiotensin AT2 receptors: cardiovascular hope or hype? // *Br. J. Pharmacol.* 2003. V.140. P.809–824.
923. Widdop R.E., Matrougui K., Levy B.I., Henrion D. AT2 receptormediated relaxation is preserved after long-term AT1 receptor blockade // *Hypertension.* 2002. V.40. P.516–520.
924. Widmann C., Gibson S., Jarpe M.B., Johnson G.L. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human // *Physiol. Rev.* 1999. V.79. P.143-180.
925. Wiemer G., Dobrucki L.W., Louka F.R., Malinski T., Heitsch H. AVE 0991, a nonpeptide mimic of the effects of angiotensin-(1-7) on the endothelium // *Hypertension.* 2002. V.40. P.847–852.
926. Wilcox C.S. Redox regulation of the afferent arteriole and tubuloglomerular feedback // *Acta Physiol. Scand.* 2003. V.179. P.217–223.
927. Williams J.S., Williams G.H. 50th anniversary of aldosterone // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003. V.88. P.2364–2372.
928. Wilson R.C., Dave-Sharma S., Wei J.-Q., Obeyesekere V.R., Li K., Ferrari P., Krozowski Z.S., Shackleton C.H.L., Bradlow L., Wiens T., New M.I. A genetic defect resulting in mild low-renin hypertension // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V.95. P.10200–10205.
929. Wilson S.K., Lynch D.R., Snyder S.H. Angiotensin-converting enzyme labeled with [3H]captopril. Tissue localizations and changes in different models of hypertension in the rat // *J. Clin. Invest.* 1987. V.80. P.841–851.
930. Wiltbank M.C., Shiao T.F., Bergfelt D.R., Ginther O.J. Prostaglandin F2 alpha receptors in the early bovine corpus luteum // *Biol. Reprod.* 1995. V.52. P.74–78.
931. Winnicka M.M. 6-OHDA bilateral lesions to the amygdala abolish the memory enhancing effect of angiotensin II in rats // *Pharmacol. Res.* 1998. V.38. P.53–58.
932. Winnicka M.M., Braszko J.J., Wisniewski K. Dopaminergic projection to the septum mediates facilitatory effect of angiotensins on recognition memory in rats // *Pharmacol. Res.* 1997. V.36. P.387–394.
933. Wollert K.C., Drexler H. The renin-angiotensin system and experimental heart failure // *Cardiovasc. Res.* 1999. V. 43, No 4. P. 838-849.
934. Wolny A., Clozel J.P., Rein J., Mory P., Vogt P., Turino M., Kiowski W., Fischli W. Functional and biochemical analysis of angiotensin II-forming pathways in the human heart // *Circ. Res.* 1997. V.80. P.219–227.
935. Wong J., Chou L., Reid I.A. Role of AT1 receptors in the resetting of the baroreflex control of heart rate by angiotensin II in the rabbit // *J. Clin. Invest.* 1993. V.91. P.1516-1520.
936. Wong S.L., Leung F.P., Lau C.W., Au C.L., Yung L.M., Yao X., Chen Z.Y., Vanhoutte P.M., Gollasch M., Huang Y. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin F2alpha mediates endothelium-dependent contractions in the aortae of hamsters with increased impact during aging // *Circ. Res.* 2009. V.104. P.228-235.
937. Woolf C.J., Allchorne A., Safieh-Garabedian B., Poole S. Cytokines, nerve growth factor and inflammatory hyperalgesia: the contribution of tumour necrosis factor α // *Br. J. Pharmacol.* 1997. V.121. P.417–424.

938. Wright J.W., Harding J.W. Important role for angiotensin III and IV in the brain renin-angiotensin system // *Brain Res.* 1997. V.25. P.96–124.
939. Wright J.W., Stublely L., Pederson E.S., Kramar E.A., Hanesworth J.M., Harding J.W. Contributions of the brain angiotensin IV-AT4 receptor subtype system to spatial learning // *J. Neurosci.* 1999. V.19. P.3952–3961.
940. Wyse B., Sernia C. Growth hormone regulates AT-1a angiotensin receptors in astrocytes // *Endocrinology.* 1997. V.138. P.4176–4180.
941. Xia H., Feng Y., Obr T.D., Hickman P.J., Lazartigues E. Angiotensin II Type 1 Receptor-mediated reduction of angiotensin-converting enzyme 2 activity in the brain impairs baroreflex function in hypertensive mice. *Hypertension.* 2009. V.53. P/210-216.
942. Xiang Z., Thomas S., Pasinetti G. Increased neuronal injury in transgenic mice with neuronal overexpression of human cyclooxygenase-2 is reversed by hypothermia and rofecoxib treatment // *Curr. Neurovasc. Res.* 2007. V.4. P.274-279.
943. Xiao C.Y., Hara A., Yuhki K., Fujino T., Ma H., Okada Y., Takahata O., Yamada T., Murata T., Narumiya S., Ushikubi F. Roles of prostaglandin I₂ and thromboxane A₂ in cardiac ischemiareperfusion injury: a study using mice lacking their respective receptors // *Circulation.* 2001. V.104. P.2210–2215.
944. Xiao H., Fuchs S., Campbell D., Lewis W., Dudley S.C. Jr, Kasi V.S., Hoit B.D., Keshelava G., Zhao H., Capecchi M.R., Bernstein K.E. Mice with cardiacrestricted angiotensin-converting enzyme (ACE) have atrial enlargement, cardiac arrhythmia, and sudden death // *Am. J. Pathol.* 2004. V.165. P.1019–1032.
945. Xie J., Yin H., Nichols T.D., Yoder J.A., Horowitz J.M. Sp2 is a maternally inherited transcription factor required for embryonic development // *J. Biol. Chem.* 2010. V.285, No.6. P.4153–4164.
946. Xu J., Carretero O.A., Liu Y.-H., Shesely E.G., Yang F., Kapke A., Yang X.P. Role of AT2 receptor in the cardioprotective effects of AT1 antagonists in mice // *Hypertension.* 2002. V.40. P.244–250.
947. Xu P., Goncalves A.C.C., Todiras M., Rabelo L.A., Sampaio W.O., Moura M.M., Santos S.S., Luft F.C., Bader M., Gross V., Alenina N., Santos R.A. Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in Mas gene-deleted mice // *Hypertension.* 2008. V.51. P.574–580.
948. Xu Z., Johnson A.K. Central renin injections: effects on drinking and expression of immediate early genes // *Brain Res.* 1998. V.782. P.24–35.
949. Xu Z., Xinghong J. Drinking and Fos-immunoreactivity in rat brain induced by local injection of angiotensin I into the subfornical organ // *Brain Res.* 1999. V.817. P.67–74.
950. Yamada T., Horiuchi M., Dzau V.J. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V.93. P.156–160.
951. Yamagata K., Andreasson K.I., Kaufmann W.E., Barnes C.A., Worley P.F. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids // *Neuron.* 1993. V.11. P.371–386.
952. Yamaguchi N., Ogawa S., Okada S. Cyclooxygenase and nitric oxide synthase in the presympathetic neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus are involved in restraint stress-induced sympathetic activation in rats // *Neuroscience.* 2010. V.170, No. 3. P. 773-781.

953. Yamaguchi N., Okada S. Cyclooxygenase-1 and -2 in spinally projecting neurons are involved in CRF-induced sympathetic activation // *Auton. Neurosci.* 2009. V.151, No.2. P.82-89.
954. Yamaguchi N., Okada S., Shimizu T., Usui D, Yokotani K. Activation of COX isozymes in spinally projecting neurons in the PVN and LC by centrally administered CRF in rats // *Neurosci. Res.* 2007. V.58, Suppl.1. P. S106.
955. Yamaguchi T., Franco Saenz R., Mulrow P.J. Effect of angiotensin II on renin production by rat adrenal glomerulosa cells in culture // *Hypertension.* 1992b. V.19. P.263–269.
956. Yamaguchi T., Naito Z., Stoner G.D., Franco Saenz R., Mulrow P.J. Role of the adrenal renin-angiotensin system on adrenocorticotrophic hormone- and potassium-stimulated aldosterone production by rat adrenal glomerulosa cells in monolayer culture // *Hypertension.* 1990. V.16. P.635–641.
957. Yamaguchi T., Tokita Y., Franco Saenz R., Mulrow P.J., Peters J., Ganten D. Zonal distribution and regulation of adrenal renin in a transgenic model of hypertension in the rat // *Endocrinology.* 1992a. V.131. P.1955–1962.
958. Yamamoto S., Yamamoto K., Kurobe H., Yamashita R., Yamaguchi H., Ueda N. Transcriptional regulation of fatty acid cyclooxygenases-1 and -2 // *Int. J. Tissue React.* 1998. V.20. P.17-22.
959. Yamazato M., Yamazato Y., Sun C., Diez-Freire C., Raizada M.K. Overexpression of angiotensin-converting enzyme 2 in the rostral ventrolateral medulla causes long-term decrease in blood pressure in the spontaneously hypertensive rats // *Hypertension.* 2007. V.49. P.926–931.
960. Yanai K., Saito T., Kakinuma Y., Kon Y., Hirota K., Taniguchi-Yanai K., Nishijo N., Shigematsu Y., Horiguchi H., Kasuya Y., Sugiyama F., Yagami K., Murakami K., Fukamizu A. Renin-independent cardiovascular functions and renin-independent bloodbrain barrier functions revealed by renin-deficient mice. *J. Biol. Chem* 275: 5–8,
961. Yang C, Sorokin A (2011) Upregulation of fibronectin expression by COX-2 is mediated by interaction with ELMO1 // *Cell Signal.* 2000. V.23. P.99-104.
962. Yang C.L., Angell J., Mitchell R., Ellison D.H. WNK kinases regulate thiazide-sensitive Na-Cl cotransport // *J Clin Invest.* 2003. V.111. P.1039–1045.
963. Yang H., Lu D., Yu K., Raizada M.K. Regulation of neuromodulatory actions of angiotensin II in the brain neurons by the Ras-dependent mitogen-activated protein kinase pathway // *J. Neurosci.* 1996. V.16. P.4047–4058.
964. Yang T., Singh I., Pham H., Sun D., Smart A., Schnermann J.B., Briggs J.P. Regulation of cyclooxygenase expression in the kidney by dietary salt intake // *Am. J. Physiol.* 1998. V. 274. P. F481–F489.
965. Yang Z., Bove C.M., French B.A., Epstein F.H., Berr S., DiMaria J.M., Gibson J.J., Carey R.M., Kramer C.M. Angiotensin II type 2 receptor over-expression preserves left ventricular function after myocardial infarction // *Circulation.* 2002. V.106. P.106–111.
966. Yao F., Sumners C., O'Rourke S.T., Sun C. Angiotensin II increases GABAB receptor expression in nucleus tractus solitarii of rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2008. V.294. P.H2712–H2720.
967. Yim H.E., Yoo K.H. Renin-angiotensin system – considerations for hypertension and kidney // *Electrolyte & Blood Pressure.* 2008. V.6. P.42-50.

968. Yokohama H., Negishi M., Sugama K., Hayashi H., Ito S., Hayaishi O. Inhibition of prostaglandin E2-induced phosphoinositide metabolism by phorbol ester in bovine adrenal chromaffin cells // *Biochem. J.* 1988. V.255, No.3. P.957-962.
969. Yongue B.G., Angulo J.A., McEwen B.S., Myers M.M. Brain and liver angiotensinogen messenger RNA in genetic hypertensive and normotensive rats // *Hypertension.* 1991. V.17. P.485-491.
970. Yoshimura A., Nishinakamura H., Matsumura Y., Hanada T. Negative regulation of cytokine signaling and immune responses by SOCS proteins // *Arthritis Res. Ther.* 2005. V.7, No 3. P.100-110.
971. Yoshimura A., Naka T., Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation // *Nat. Rev. Immunol.* 2007. V.7. P.454-465.
972. Yoshimura R., Sato T., Kawada T., Shishido T., Inagaki M., Miyano H., Nakahara T., Miyashita H., Takaki H., Tatewaki T., Yanagiya Y., Sugimachi M., Sunagawa K. Increased brain angiotensin receptor in rats with chronic high-output heart failure // *J. Card. Fail.* 2000. V.6. P.66-72.
973. Yoshiyama M., Nakamura Y., Omura T., Izumi Y., Matsumoto R., Oda S., Takeuchi K., Kim S., Iwao H., Yoshikawa J. Angiotensin converting enzyme inhibitor prevents left ventricular remodelling after myocardial infarction in angiotensin II type 1 receptor knockout mice // *Heart.* 2005. V.91. P.1080-1085.
974. You D., Loufrani L., Baron C., Levy B.I., Widdop R.E., Henrion D. High blood pressure reduction reverses angiotensin II type 2 receptor-mediated vasoconstriction into vasodilation in spontaneously hypertensive rats // *Circulation.* 2005. V.111. P.1006-1011.
975. Yu L., Zheng M., Wang W., Rozanski G.J., Zucker I.H., Gao L. Developmental changes in AT1 and AT2 receptor-protein expression in rats // *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2010. V.11. P.214-221.
976. Yu X.W., Kennedy R.H., Liu S.J. JAK2/STAT3, not ERK1/2, mediates interleukin-6-induced activation of inducible nitric-oxide synthase and decrease in contractility of fdukt ventricular myocytes. *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278, No. 18. P. 16304-16309.
977. Yu Y., Lucitt M.B., Stubbe J., Cheng Y., Friis U.G., Hansen P.B., Jensen B.L., Smyth E.M., FitzGerald G.A. Prostaglandin F2alpha elevates blood pressure and promotes atherosclerosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V.106, No.19. P.7985-7990.
978. Yuan C., Rieke C.J., Rimon G., Wingerd B.A., Smith W.L. Partnering between monomers of cyclooxygenase-2 homodimers // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V.103. P.6142-6147.
979. Yugar-Toledo J.C., Tacito L.H.B., Ferreira-Melo S.E., Sousa W., Consolin-Colombo F., Irigoyen M.C., Franchini K., Coelho O.R., Moreno H., Jr. Low-renin (volume dependent) mild-hypertensive patients have impaired flow-mediated and glyceryl-trinitrate stimulated vascular reactivity // *Circ. J.* 2005. V.69. P.1380-1385.
980. Yuhki K., Kojima F., Kashiwagi H., Kawabe J., Fujino T., Narumiya S., Ushikubi F. Roles of prostanoids in the pathogenesis of cardiovascular diseases: Novel insights from knockout mouse studies // *Pharmacol. Ther.* 2011. V.129, No.2. P.195-205.
981. Zettler C., Rush R.A. Elevated concentrations of nerve growth factor in heart and mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats // *Brain Res.* 1993. V.614. P.15-20.

982. Zhang A., Dong Z., Yang T. Prostaglandin D2 inhibits TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in MDCK cells // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2006c. V.291. P.F1332-F1342.
983. Zhang J., Ding E.L., Song Y. Adverse effects of cyclooxygenase 2 inhibitors on renal and arrhythmia events: meta-analysis of randomized trials // *JAMA.* 2006b. V.296. P.1619–1632.
984. Zhang M.-Z., Yao B., Cheng H.-F., Wang S.-W., Inagami T., Harris R.C. Renal cortical cyclooxygenase 2 expression is differentially regulated by angiotensin II AT1 and AT2 receptors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006a. V.103, No.43. P.16045–16050.
985. Zhang M.-Z., Harris R.C., McKanna J.A. Regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) in rat renal cortex by adrenal glucocorticoids and mineralocorticoids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V.96, No.26. P.15280–15285.
986. Zhang Z., Vezza R., Plappert T., McNamara P., Lawson J.A., Austin S., Pratico D., Sutton M.S., FitzGerald G.A. COX-2-dependent cardiac failure in Gh/tTG transgenic mice // *Circ. Res.* 2003. V.92. P.1153–1161.
987. Zhao X., White R., Van Huysse J., Leenen, F. Cardiac hypertrophy and cardiac renin-angiotensin system in Dahl rats on high salt intake // *J. Hypertens.* 2000. V.18, No 9. P.1319-1326.
988. Zhou M.-S., Schulman I.H., Pagano P.J., Jaimes E.A., Raij L. Reduced NAD(P)H oxidase in low renin hypertension: link among angiotensin II, atherogenesis, and blood pressure // *Hypertension.* 2006. V.47. P.81-86.
989. Zhuo J., Moeller I., Jenkins T., Chai S.Y., Allen A.M., Ohishi M., Mendelsohn F.A. Mapping tissue angiotensin-converting enzyme and angiotensin AT1, AT2 and AT4 receptors // *J. Hypertens.* 1998. V.16. P.2027–2037.
990. Zhuo J.L., Li X.C., Garvin J.L., Navar L.G., Carretero O.A. Intracellular angiotensin II induces cytosolic Ca²⁺ mobilization by stimulating intracellular AT1 receptors in proximal tubule cells // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2006. V.290. P.F1382–F1390.
991. Zimmerman M.C., Lazartigues E., Sharma R.V., Davisson R.L. Hypertension caused by angiotensin II infusion involves increased superoxide production in the central nervous system // *Circ. Res.* 2004. V.95. P.210–216.
992. Zisman L.S., Keller R.S., Weaver B., Lin Q., Speth R., Bristow M.R., Canver C.C. Increased angiotensin-(1–7)-forming activity in failing human heart ventricles: evidence for upregulation of the angiotensin-converting enzyme homologue ACE2 // *Circulation.* 2003. V.108. P.1707–1712.
993. Zou L.X., Imig J.D., von Thun A.M., Hymel A., Ono H., Navar L.G. Receptor-mediated intrarenal angiotensin II augmentation in angiotensin II-infused rats // *Hypertension.* 1996. V.28. P.669–677.