

ФЕДОСЕЕВА ЛАРИСА АБРАМОВНА

**ЭКСПРЕССИЯ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ РЕНИН-
АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ У
ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС НИСАГ**

03.02.07 – Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Новосибирск 2014

Работа выполнена в лаборатории структуры генома и лаборатории эволюционной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии и генетики СО РАН г. Новосибирск.

Научные руководители: доктор биологических наук, профессор
Дымшиц Григорий Моисеевич

доктор биологических наук, профессор
Маркель Аркадий Львович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Селяницкая Вера Георгиевна,
руководитель лаборатории эндокринологии, зам.
директора по научной работе,
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр клинической и экспериментальной
медицины» СО РАМН, г.Новосибирск

доктор биологических наук
Колесников Николай Николаевич,
ведущий научный сотрудник лаборатории
молекулярной генетики,
Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки Институт молекулярной и клеточной биологии
СО РАН, г.Новосибирск

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное учреждение
«**Научно-исследовательский институт
молекулярной биологии и биофизики**» СО РАМН,
г.Новосибирск

Защита диссертации состоится _____ 2014 года на заседании диссертационного совета Д 003.011.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в ИЦиГ СО РАН в конференц-зале Института по адресу: 630090, г. Новосибирск, проспект ак. Лаврентьева 10, т/ф (383)363-49-06, Факс (383) 333-12-78, e-mail: dissov@bionet.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН

Автореферат разослан « ____ » _____ 2014 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Хлебодарова Т.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Изучение механизмов артериальной гипертензии актуально ввиду широкого распространения этого заболевания. Гипертоническая болезнь – одна из ведущих причин нетрудоспособности и смертности. 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). Факторы среды и питания, различный стиль жизни также играют роль в патогенезе первичной гипертензии как важные, но поддающиеся модификации факторы риска. Немалую роль в развитии заболевания 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 гипертензией (НИСАГ) – позволяет исследовать механизмы возникновения и развития стресс чувствительной формы артериальной гипертензии.

За годы, прошедшие с момента создания линии НИСАГ, на этих животных были исследованы физиологические функции таких систем ответа на стресс, как гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная (ГГАС) и симпатoadреналовая (САС), а также транскрипционная активность их ключевых генов. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РАС) получила меньше внимания исследователей.

Однако авторы обзоров литературы, посвященных гипертензии, 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 гипертензии.

Экспрессию генов РАС у крыс НИСАГ до сих пор изучали в основном на уровне белковых продуктов (например, определения содержания ренина или ACE), только в работе Амстиславского (2005) методом «end-point» ПЦР показано снижение уровня мРНК ренина в почке взрослых крыс НИСАГ. Но транскрипционную активность иных, чем ренин, генов РАС в почке крыс этой линии, как и в других органах, не исследовали. Более того, не была исследована и экспрессия генов РАС у молодых крыс в период становления гипертензии.

Согласно современным концепциям (Johnson et al., 2008), развитие гипертонической болезни проходит через две фазы. В первой фазе гипертензия соль-резистентна и ренин-зависима, а почки функционируют нормально. Ранняя гипертензия ассоциирована с низким объемом крови, повышенным уровнем ренина плазмы и гиперактивной симпатической нервной системой. Известно, что у крыс других линий с низкорениновой формой гипертензии экспрессия ренина в почке повышена в раннем возрасте (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 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 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. Ранее 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 них присутствуют изменения в цепи биосинтеза катехоламинов.

Высокая симпатическая нервная активность, стимулирующая РАС и ведущая к развитию гипертонии, может иметь причиной особенности формирования симпатической нервной системы. Так, у крыс гипертензивной линии SHR имеется гипериннервация сосудистой стенки, 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 циклооксигеназы (COX)-2. Но система биосинтеза простагландинов у крыс НИСАГ до сих пор оставалась вне поля 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-и 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 (1,5 мес) 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 НИСАГ и WAG в возрасте 1,5 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, кодирующего циклооксигеназу-2, в почке, отделах мозга и надпочечнике у крыс линий НИСАГ и WAG в возрасте 1,5 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 *Agtr1a* в надпочечнике и *Ren* – в гипоталамусе.

Теоретическая и научно-практическая значимость. Работа расширяет имеющиеся представления о роли и механизмах участия локальных (тканевых) РАС, и прежде всего РАС мозга, в становлении стресс-чувствительной формы артериальной гипертензии. 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*. Водная депривация 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 водной депривации.

5. В надпочечниках молодых крыс НИСАГ снижена экспрессия гена *Agtr2*, что способствует повышению АД. У взрослых интактных крыс различия отсутствуют, но водная депривация снижает экспрессию *Agtr1a* только у крыс WAG.

6. У крыс НИСАГ повышено содержание мРНК гена *Th* в структурах мозга. Водная депривация 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 водная депривация 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).

Публикации. 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 работы. 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.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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.

Олигонуклеотиды (праймеры) синтезированы ООО «Биосан» (Новосибирск) с очисткой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии:

для ПЦР в реальном времени с использованием 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 Таблице 1.

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 *Rpl30* проводили при той же температуре, что и отжиг праймеров для целевого гена.

для амплификации и последующего секвенирования гена *Lngfr*:

№1 – 5'– GACTGAGCTAGAAGCGGAGC – 3'

№2 – 5'– TACAACACTCCTGCCTGCAT – 3'

№3 – 5'– GACCTTGACGTCCTATTCTG – 3' (по Nemoto et al., 1996)

Действие 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 выделения РНК хранили при -70°C .

Выделение суммарной РНК из тканей. Суммарную РНК выделяли по методу (Chattopadhyay et al., 1993) с некоторыми модификациями. Примеси геномной ДНК удаляли обработкой ДНКазой I (“Promega”, USA) согласно рекомендациям производителя фермента.

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

Получение кДНК (обратная транскрипция). Смешивали 3 – 5 мкг РНК и 0,5 мкг «случайных» (random N₉) праймеров-нонамеров в 11 мкл H₂O. 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.

Определение уровней содержания мРНК. Для определения уровня экспрессии генов определяли относительное количество их мРНК методом 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). Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала стандартный буфер для ПЦР (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), 0,2 мМ dNTPs, SYBR Green I (1 : 20000), по 150 нМ соответствующих праймеров и 1 ед Taq-полимеразы с антителами. Реакцию проводили в следующих условиях: 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.

По получаемым стандартным калибровочным кривым определяли исходный уровень исследуемых кДНК относительно «стандартной» кДНК (смеси аликвот всех кДНК для данной ткани), и эту величину для целевого гена относили к количеству кДНК гена сравнения, определяя таким образом различия в уровнях экспрессии изучаемых генов между животными разных линий.

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 $p < 0,05$.

Для обработки данных по экспрессии генов у молодых крыс (1,5 мес) использовали также корреляционный анализ. Определяли коэффициент корреляции Пирсона и 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 $p \leq 0,1$.

Выделение ДНК из печени крыс. ДНК выделяли с использованием протеиназы К и фенольной экстракции согласно рекомендациям (Sambrook et al.,

1989). Выделенную ДНК растворяли в ТЕ-буфере. Количество ДНК определяли спектрофотометрически по поглощению при 260 нм.

Определение нуклеотидной последовательности 5'-области гена *Lngr*. Реакционная смесь объемом 50 мкл для амплификации интересующего нас участка ДНК содержала буфер для ПЦР, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, по 0,5 мкМ праймеров №1 и №2, 0,4 ед Taq-полимеразы и 0,5 мкг ДНК. Реакцию проводили в следующих условиях: прогрев при 95°C – 3 мин; затем 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.

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.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспрессия генов РАС и *Cox-2* в почке. Изучение экспрессии генов РАС в почках молодых (1,5 мес) крыс гипертензивной линии НИСАГ методом полуколичественной PCR в реальном времени выявило у них 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. 1а). Снижение уровня мРНК *Cox-2* у крыс НИСАГ не достигало уровня достоверности.

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. 1а). 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.

В почке взрослых (4 мес) крыс линии НИСАГ уровень мРНК генов РАС (*Ren*, *Ace*, *Agtr1a*) в покое достоверно понижен по сравнению с крысами нормотензивной линии WAG. Исключением, как и у молодых животных, являлся ген *Agt*, экспрессия которого не отличалась у крыс линий WAG и НИСАГ (Рис. 1б). В почках крыс обеих линий 17-часовая водная депривация не приводила к изменениям экспрессии изучаемых генов РАС.

Полученные на взрослых животных результаты свидетельствуют об уменьшении активности РАС в почке у крыс линии НИСАГ, что позволяет отнести эту модель к низкорениновой форме артериальной гипертензии. Низкорениновая гипертензия 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.

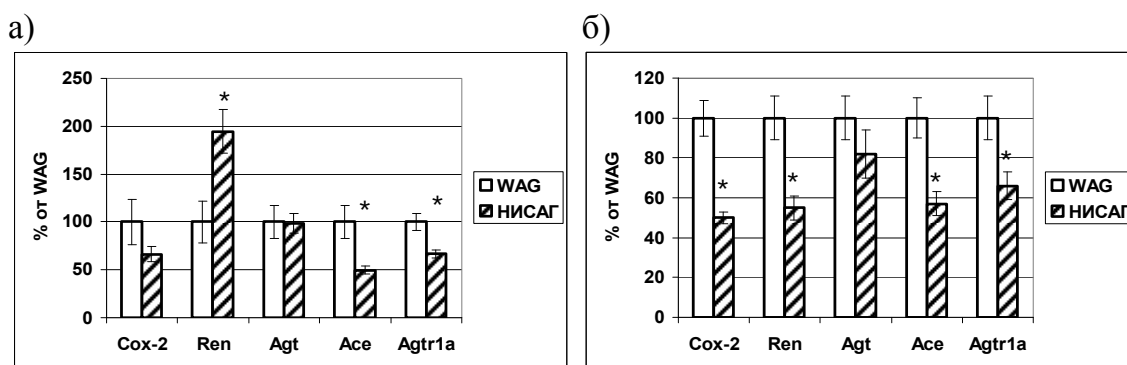


Рис. 1. Уровень мРНК генов РАС и *Cox-2* в почках а) молодых и б) взрослых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG (содержание мРНК у крыс WAG для всех генов принято за 100%). Данные представлены в виде средних значений по группе $\pm$ SEM. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

В литературе описано несколько моделей низкорениновой формы гипертонии. К ним, среди прочих, относятся гипертензивные крысы линий Lyon (LH) и SHR. В раннем возрасте у этих крыс отмечен период, когда активность ренина в плазме повышена (Gomez et al., 1988). Поскольку аналогичный ранний всплеск активности РАС наблюдался 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. По мере взросления и формирования гипертензивного статуса происходит понижение активности почечного ренина.

Уровень мРНК гена *Cox-2* в почке взрослых крыс гипертензивной линии НИСАГ в покое понижен по сравнению с крысами нормотензивной линии WAG (Рис. 1б). При 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 исходном состоянии он был в 2 раза ниже, чем у крыс WAG (Рис. 2).

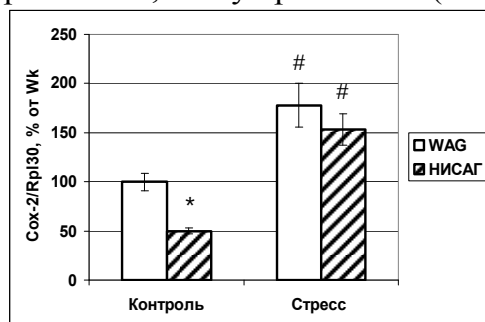


Рис. 2. Относительное содержание мРНК *Cox-2* в почках крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при стрессе обезвоживания. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$), # – различие между контролем и опытом.

Известно, что после 24-х часовой водной депривации у крыс НИСАГ наблюдается повышение активности ренина в плазме крови (Черкасова и др., 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). При этом простаноиды – производные COX-2 играют роль в регуляции секреции ренина, но не экспрессии его гена (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.

Экспрессия генов РАС в миокарде. В миокарде 4-месячных крыс линии НИСАГ в сравнении с крысами линии WAG уровень экспрессии гена *Agtr1a* понижен на 28%, а содержание мРНК *Ace* значительно повышено – на 80%. Однако в возрасте 1,5 мес. достоверных различий в экспрессии этих генов между изучаемыми линиями не наблюдалось (Рис. 3).

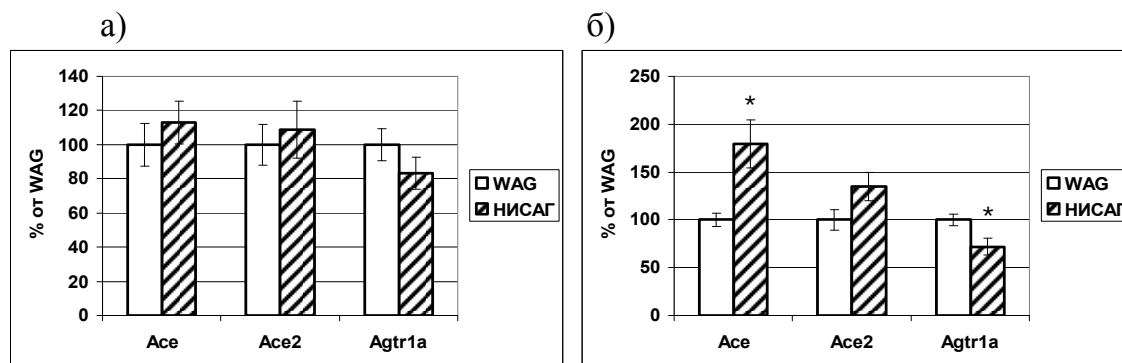


Рис. 3. Уровень мРНК генов РАС в миокарде а) молодых и б) зрелых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG (содержание мРНК у крыс WAG для всех генов принято за 100%). Данные представлены в виде средних значений по группе $\pm$ SEM. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$).

Многочисленные исследования указывают на связь кардиальной гипертрофии с измененной экспрессией компонентов сердечной РАС. Исследования как на людях, так и на крысах Wistar с гипертрофией левого желудочка (Schunkert et al., 1990; 1997), а также на крысах гипертензивных линий показали связь ACE с формированием миокардиальной гипертрофии. В гипертрофированном миокарде крыс конверсия Ang I в Ang II была увеличена, а содержание мРНК *Ace* повышено. Вместе с тем, уровень экспрессии гена рецептора AT1A (*Agtr1a*) в миокарде может быть как повышен, так и снижен. Существует немало экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что нет прямой связи между гипертрофией сердца и рецепторами AT1 (Crowley et al., 2006).

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. 4). Снижение активности *Ace* после водной депривации может быть обусловлено снижением нагрузки на сердце в результате уменьшения объема жидкости (в том числе и плазмы) и уменьшения объема притекающей к сердцу крови (preload).

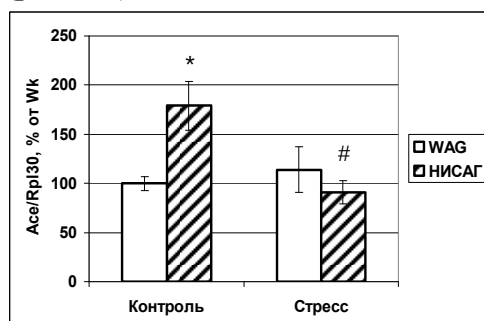


Рис. 4. Относительное содержание мРНК гена *Ace* в миокарде крыс линий WAG и НИСАГ в возрасте 4 месяцев в покое и при стрессе обезвоживания. * – достоверное различие между линиями ($p < 0,05$), # – различие между контролем и опытом ($p < 0,05$).

Экспрессия генов РАС и *Cox-2* в мозге. Как в гипоталамусе, так и в продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ мы показали повышенное содержание мРНК *Agt* (Рис. 5). 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.

Несмотря на отсутствие достоверных различий между линиями крыс WAG и НИСАГ в уровнях мРНК ренина в этих структурах, можно предположить, что рост экспрессии гена *Agt* – первый шаг к повышению содержания Ang II в гипоталамусе и продолговатом мозге у молодых крыс НИСАГ. *Agt* наряду с ренином может играть лимитирующую роль в работе РАС (Corvol & Jeunemaitre, 1997), и скорость продукции Ang I может контролироваться концентрацией *Agt*. Таким образом, 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 (Malpas, 2010). Благодаря этому, активация центральной РАС может давать свой вклад в патогенез гипертонии.

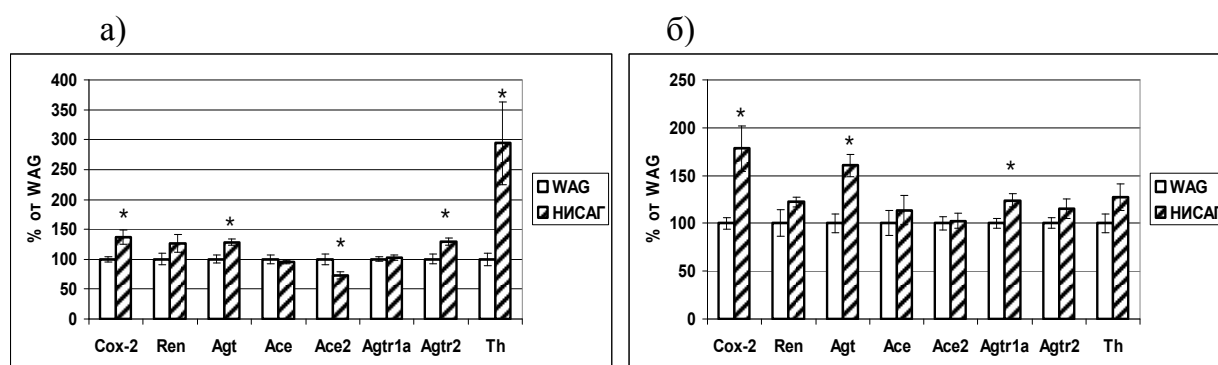


Рис. 5. Уровень мРНК изучаемых генов а) в гипоталамусе и б) в продолговатом мозге молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG. Данные представлены в виде средних значений по группе $\pm$ SEM. * – $p < 0,05$.

Повышенная экспрессия гена *Agtr1a* у молодых крыс НИСАГ в продолговатом мозге может приводить к стойкому повышению симпатического тонуса, ведущему к подъему артериального давления. Известно, что нарушение в соотношении рецепторов AT1A и AT2 в RVLM (ростральной вентро-латеральной области) продолговатого мозга вызывает у экспериментальных животных гипертензию и симпатическое возбуждение (Gao et al., 2008).

Что касается понижения экспрессии *Ace2* в гипоталамусе молодых НИСАГ, то 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 паравентрикулярном ядре (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. Недавние исследования нейроваскулярного сопряжения, т.е. регуляции локального церебрального кровотока в ответ на активацию мозга, показали прямое влияние COX-2 мозга на АД (Matsuura et al., 2009): АД и частота сердечного ритма

заметно снижались после ингибирования СОХ-2. Таким образом, СОХ-2 участвует в регуляции локального церебрального кровотока во время активации мозга у крыс, и можно предположить, что повышенная экспрессия СОХ-2 в мозге молодых крыс НИСАГ вносит свой вклад в повышение АД у этих животных.

Повышенная синаптическая активность и стрессовые стимулы могут индуцировать экспрессию СОХ-2. Простагландины стимулируют секрецию АКТГ гипофизом напрямую либо путем стимуляции КРГ (кортикотропин релизинг гормона) 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 (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). Рост экспрессии ключевого фермента синтеза простагландинов может являться одним из начальных этапов активации ГГАС, наблюдаемой у крыс НИСАГ.

В мозге интактных взрослых животных различия в экспрессии исследуемых генов отсутствуют. Исключением является только ген *Ace2*, экспрессия которого у взрослых крыс НИСАГ, в отличие от молодых, оказалась повышена в гипоталамусе и снижена в продолговатом мозге. Снижение экспрессии гена *Ace2* в продолговатом мозге может вести к нарушению чувствительности барорефлекса и росту АД (Xia et al., 2009). Повышенная экспрессия *Ace2* в PVN гипоталамуса противодействует индуцированной Ang II гипертензии (Sriramula et al., 2011), то есть носит протективный и компенсаторный характер.

В условиях мягкого обезвоживания у крыс НИСАГ, в отличие от WAG, практически отсутствуют изменения в экспрессии генов PAC в гипоталамусе. У крыс WAG в этих условиях наблюдали снижение уровня мРНК *Ren* в гипоталамусе, вероятно, связанное по механизму обратной связи с повышенной активностью ренина в циркуляторном русле.

Экспрессия генов PAC и *Cox-2* в надпочечниках. В данном органе у крыс WAG и НИСАГ мы сравнивали экспрессию генов *Agt*, *Agtr1a*, *Agtr2*, а также гена *Cox-2*. На Рис. 6 видно, что уровни мРНК генов *Agt* 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 гена *Agtr2* снижен на треть. Из литературных данных известно, что выключения экспрессии *Agtr2* при помощи введения нормотензивным крысам антисенс-последовательности оказалось достаточно для стойкого эффекта повышения систолического АД и прессорного ответа на Ang II (Wang et al., 2004).

Экспрессия *Agtr2* может подавляться глюкокортикоидами (Matsubara, 1998) и повышенной концентрацией альдостерона (Wang et al., 1998), однако мы пока не располагаем сведениями о повышенной секреции кортикостерона или альдостерона у крыс НИСАГ в этом возрасте. С другой стороны, СОХ-2, чья экспрессия более чем вдвое повышена в надпочечниках молодых крыс НИСАГ, может стимулировать секрецию кортикостерона в ответ на АКТГ (Mohn et al., 2005). Повышенная экспрессия гена *Cox-2*, вероятно, 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. Кроме того, высокий уровень экспрессии *Cox-2*

может стимулироваться высоким уровнем Ang II и связанным с ним ремоделированием сосудистых стенок, которое сопровождается гипертонией (Cheng et al., 2005). Этот процесс может усиливаться при наблюдаемом дисбалансе в уровне экспрессии генов рецепторов Ang II, то есть снижением экспрессии *Agtr2* при не измененном уровне мРНК *Agtr1a* в надпочечниках молодых крыс НИСАГ (таким образом, формируется положительная обратная связь).

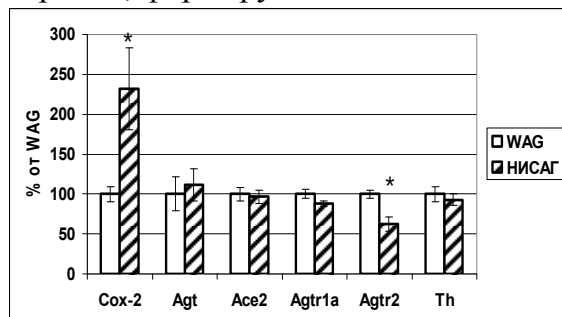


Рис. 6. Уровень мРНК изучаемых генов в надпочечниках молодых крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивным контролем WAG. Данные представлены в виде средних значений по группе $\pm$ SEM. * – $p < 0,05$.

В процессе созревания животных картина генной экспрессии меняется, и ни по одному из исследуемых в надпочечниках генов PAC, как и *Cox-2*, мы не наблюдали различий между взрослыми крысами двух линий в состоянии покоя. 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. Уровень же экспрессии гена *Cox-2* при водной депривации достоверно снижался у крыс НИСАГ, но не у WAG. Можно предположить, что у крыс WAG рост экспрессии гена рецептора AT1A направлен на увеличение секреции альдостерона. У гипертензивных крыс НИСАГ этот механизм оказывается подавлен. Однако у них повышен ответ секреции альдостерона на действие АКТГ (Антонов, 2011). Для объяснения же факта снижения уровня мРНК *Cox-2* в надпочечниках при водной депривации у крыс НИСАГ, видимо, требуется анализ спектра содержания простагландинов, поскольку разные продукты COX-2 ($\text{PGF}_{2\alpha}$ и PGE_2) обладают различными и противоположными функциями в надпочечниках (Lambert-Langlais et al., 2009).

Экспрессия *Th* у крыс линии НИСАГ. В этих экспериментах мы не выявили различий в базальном уровне мРНК *Th* в надпочечниках крыс WAG и НИСАГ в возрасте 1,5 (Рис. 6) и 4 месяца.

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 втрое повышен по сравнению с крысами WAG в гипоталамусе, но не в продолговатом мозге (Рис. 5). 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 RVLM, которые контролируют почечную симпатическую нервную активность (Dampney et al., 2005). Полученные данные согласуются с повышением уровня экспрессии генов в симпатических нейронах в RVLM крыс SHR (Reja et al., 2002).

Стресс водной депривации вызвал повышение содержания мРНК *Th* в гипоталамусе крыс НИСАГ втрое, в то время как у крыс WAG оно не изменилось. Это наблюдение указывает на повышенную реактивность центральной катехоламинергической системы крыс НИСАГ, в том числе и на такие воздействия, которые не оказывают влияния на крыс нормотензивной контрольной линии.

Какова взаимосвязь наблюдаемых изменений? Экспрессия ренина в почке стимулируется симпатической нервной активностью, и ее высокая активность, как 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 чего может быть рост содержания Ang II в этих структурах. Ang II оказывает сильное влияние на ЦНС и СНС, модулируя, среди прочего, симпатическую нервную активность. Он может активировать синтез катехоламинов мозга, а также, через рост экспрессии COX-2, вести к активации ГГАС. Кроме того, дисбаланс рецепторов ангиотензина с преобладанием AT1A как в мозге, так и в надпочечниках способен сам по себе стать причиной стойкого повышения АД. Повышенная экспрессия COX-2 в мозге и надпочечниках молодых крыс НИСАГ также вносит свой вклад в повышение АД у этих животных.

Анализ корреляций между уровнями мРНК изучаемых генов показал существенное различие между двумя линиями животных. Не все корреляции легко объяснить, и некоторые из них, возможно, являются случайными. Однако совершенно определенно можно сделать вывод о том, что регуляция транскрипции генов САС, РАС и системы синтеза простагландинов у крыс линии НИСАГ значительно изменена в сравнении с линией WAG.

Можно с определенностью утверждать, что 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 первостепенную 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 НИСАГ.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. 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 // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2003. Том 89. №12. С. 1523 – 1528.
2. 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 ISIAH rat strain with stress-sensitive arterial hypertension // J. Endocrinol. 2007. V. 195. № 3. P. 439-450.
3. **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Секвенирование 5'-области гена *Ngfr*, ассоциированного с повышением артериального давления при стрессе у крыс линии НИСАГ // Молекулярная биология. 2008, Том 42, №1, с. 184-186.
4. **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Якобсон Г.С., Маркель А.Л. Характеристика рениновой системы почки у крыс линии НИСАГ со стресс-чувствительной артериальной гипертонией. Бюлл. эксп. биол. мед. 2009. Том 147. № 2. С. 134-138.
5. **Федосеева Л.А.**, Рязанова М.А., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Характеристика экспрессии генов рениновой системы в миокарде гипертензивных крыс линии НИСАГ // Бюлл. эксп. биол. мед. 2009. Том 147. № 10. С. 430-433.
6. **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) Supplement Series B: Biomedical Chemistry. 2011. Vol. 5. No. 1. P. 37–43. // **Федосеева Л.А.**, Рязанова М.А., Антонов Е.В., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия генов рениновой системы почки и сердца у гипертензивных крыс линии НИСАГ // Биомедицинская химия: научно-практический журнал. 2011. Том 57. Вып. 4. С. 410-419.
7. Климов Л.О., **Федосеева Л.А.**, Рязанова М.А., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия генов ренин-ангиотензиновой системы в структурах мозга крыс линии НИСАГ

со стрессчувствительной артериальной гипертензией // Бюлл. эксп. биол. мед. 2012. Том 154. № 9. С. 342-345.

8. **Fedosееva L.A.**, Antonov E.V., Klimov L.O., Dymshits G.M., Markel A.L. Function of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System in the ISIAH Rats with Stress-Sensitive Arterial Hypertension / In: Renin-Angiotensin System: Physiology, Role in Disease and Health Implications; A. Himura, T. Sato, eds. NY: Nova Science Publishers, 2013. 216 p. (p.1-44).

Сборники трудов конференций:

9. Маркель А.Л., Редина О.Е., Смоленская С.Э., **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Иванова Л.Н. Стресс и артериальная гипертензия. Генетико-физиологические механизмы. Сборник трудов конференции «Фундаментальные науки – медицине». 2-5 сентября 2008 г. Новосибирск: Изд-во «Арта». С. 67-75.

10. Климов Л.О., **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Изучение профиля экспрессии генов ренин-ангиотензиновой системы мозга у молодых и зрелых крыс гипертензивной линии НИСАГ. Сборник трудов Первой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». 23-26 11.2010, Санкт-Петербург, Россия / под ред. А.П.Кудинова, Б.В.Крылова. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2010. Т.4. С.248-249.

11. **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия генов ренин-ангиотензиновой системы в почках и сердце молодых и зрелых крыс гипертензивной линии НИСАГ. Сборник трудов Первой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». 23-26 11.2010, Санкт-Петербург, Россия / под ред. А.П.Кудинова, Б.В.Крылова. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2010. Т.1. С.232-233.

12. **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия гена тирозин-гидроксилазы в мозге и надпочечниках крыс гипертензивной линии НИСАГ. Сборник статей Второй международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». 26–28 10.2011, Санкт-Петербург, Россия / под ред. А.П. Кудинова, Б.В. Крылова. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2011. Т. 2. С. 330-332.

13. **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия гена циклооксигеназы-2 в мозге крыс гипертензивной линии НИСАГ. Сборник статей Второй международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». 26–28 10.2011, Санкт-Петербург, Россия / под ред. А.П. Кудинова, Б.В. Крылова. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2011. Т. 2. С.332-334.

14. Климов Л.О., **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Изучение экспрессии генов рецепторов ангиотензина в мозге и надпочечниках молодых и зрелых крыс гипертензивной линии НИСАГ. Сборник статей Второй международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». 26–28 10.2011, Санкт-Петербург, Россия / под ред. А.П. Кудинова, Б.В. Крылова. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2011. Т. 2. С. 203-205.

Тезисы докладов:

15. **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Рязанова М.В., Маркель А.Л. Экспрессия генов рениновой системы почки у крыс гипертензивной линии НИСАГ при стрессе обезвоживания

/ IV съезд Российского общества биохимиков и молекулярных биологов, 11-15 мая 2008 г., Новосибирск. С.112.

16. **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия генов рениновой системы почки у крыс линии НИСАГ в условиях стресса водной депривации / VI Сибирский физиологический съезд, 25-27 июня 2008 г., г.Барнаул. Тезисы докладов. Т.1. С.136-137.

17. Дымшиц Г.М., Редина О.Е., **Федосеева Л.А.**, Смоленская С.Э., Антонов Е.В., Маркель А.Л. Генетика артериальной гипертензии: экспериментальное исследование. Съезд генетиков и селекционеров, посвященный 200-летию со дня рождения Чарльза Дарвина. V съезд ВОГИС. Москва, 21-28 июня 2009 г. Ч. I. С.418.

18. Маркель А.Л., Рязанова М.А., **Федосеева Л.А.**, Редина О.Е., Смоленская С.Э., Пыльник Т.О., Т.А. Алехина, Л.Н. Иванова. Особенности функции катехоламиновой нейромедиаторной системы мозга у гипертензивных крыс линии НИСАГ. Научн. конф. «Медицинская геномика и протеомика», 9-13 сентября, 2009 г., Новосибирск. С. 89.

19. Маркель А.Л., **Федосеева Л.А.**, Антонов Е.В., Рязанова М.А., Пыльник Т.О., Смоленская С.Э., Редина О.Е., Иванова Л.Н.. Характеристика функций симпатoadреналовой системы в генетической модели стресс чувствительной артериальной гипертензии. Конференция «Фундаментальные науки – медицине», Сентябрь 7-10, 2010, Новосибирск, Россия. Сборник тезисов. С.43.

20. Климов Л.О., **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М. Изучение экспрессии ключевых генов ренин-ангиотензиновой системы у крыс гипертензивной линии НИСАГ. IV Международная Школа молодых ученых по молекулярной генетике «Геномика и биология клетки». 29 ноября-3 декабря 2010 г. Москва – Звенигород. Сборник тезисов. С.108-109.

21. Климов Л.О., **Федосеева Л.А.**, Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. Экспрессия генов ренин-ангиотензиновой системы почек, надпочечников, миокарда и мозговых структур у крыс гипертензивной линии НИСАГ. Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии. Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 17-19 мая 2011 г. Курск: КГМУ, 2011. 428 с. С.63-64.

22. Маркель А.Л., Антонов Е.В., Пыльник Т.О., Климов Л.О., Смоленская С.Э., **Федосеева Л.А.**, Редина О.Е., Иванова Л.Н. Генетико-эволюционные механизмы гипертензивных состояний. Конференция «Фундаментальные науки – медицине», Сентябрь 11-15, 2012, Новосибирск, Россия. Сборник тезисов. С.37.

23. Маркель А.Л., Дубинина А.Д., Климов Л.О., Антонов Е.В., Абрамова Т.О., Редина О.Е., Рязанова М.А., **Федосеева Л.А.**, Низомов С.А., Иванова Л.Н. Состояние эффекторных звеньев ренин-ангиотензин-альдостероновой системы при стресс-чувствительной артериальной гипертензии. Конференция «Фундаментальные науки – медицине», Сентябрь 16-20, 2013, Новосибирск, Россия. Сборник тезисов. С.18-19.

24. Рязанова М.А., **Федосеева Л.А.** Экспрессия генов бета2-адренорецептора и тирозингидроксилазы у крыс линии НИСАГ и ГК. XXII Съезд физиологического общества им. И.П. Павлова. г. Волгоград, 16-20 сентября 2013 года.

Подписано к печати2014г.
Формат бумаги 60 х 90 1\16 Печ.л.1. Уч.изд.л.0,7
Тираж 110 экз. Заказ № ...

Отпечатано на полиграфической базе ИЦиГ СО РАН
630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10