

ГЕНОМИКА.  
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 575.117.2:612.821.34:616.12-008.333.1

ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ мРНК ГЕНА *Ephx2* В ПОЧКАХ  
ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ЛИНИИ НИСАГ (ISIAH)

© 2013 г. Т. О. Абрамова<sup>1\*</sup>, О. Е. Редина<sup>1,2</sup>, С. Э. Смоленская<sup>1</sup>, А. Л. Маркель<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090

<sup>2</sup>Институт физиологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Новосибирск, 630090

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090

Поступила в редакцию 11.03.2013 г.

Принята к печати 26.06.2013 г.

Эпоксидэйкозатриеновые кислоты (EETs) являются регуляторами артериального давления и почечной гемодинамики, действуя как вазодилататоры и модулируя работу ионных каналов. Ген *Ephx2* кодирует эпоксидгидролазу-2 – ключевой фермент в метаболизме EETs. В работе исследовали содержание мРНК гена *Ephx2* в корковом и мозговом веществе почки в покое и после воздействия эмоционального стресса у крыс линии НИСАГ (с наследуемой артериальной гипертензией, индуцируемой стрессом) и у нормотензивной линии WAG. Уровень экспрессии мРНК этого гена в покое и после воздействия эмоционального стресса достоверно выше у крыс гипертензивной линии НИСАГ, чем у крыс нормотензивной линии WAG, по данным измерений как на микрочипах, так и методом ПЦР в реальном времени. Результаты позволяют предположить, что ген *Ephx2* принимает участие в механизмах контроля и модулирования тонуса сосудов в почках гипертензивных крыс линии НИСАГ и нормотензивных крыс линии WAG.

**Ключевые слова:** мРНК гена *Ephx2*, эмоциональный стресс, артериальная гипертензия, почка, крысы линии НИСАГ.

ENHANCED EXPRESSION OF *EPHX2* GENE IN THE KIDNEY OF THE HYPERTENSIVE ISIAH RATS, by T. O. Abramova<sup>1\*</sup>, O. E. Redina<sup>1,2</sup>, S. E. Smolenskaya<sup>1</sup>, A. L. Markel<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 63009 Russia, \*e-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru; <sup>2</sup>State Research Institute of Physiology and Fundamental Medicine, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk, 630117 Russia; <sup>3</sup>Novosibirsk State University Novosibirsk, 630090 Russia). Epoxyeicosatrienoic acids (EETs) have antihypertensive properties and play a part in the maintenance of renal microvascular function. EETs mediate vasodilation of rat preglomerular microvessels and activate ion channels. *Ephx2* is coding for the soluble epoxide hydrolase (sEH) which catalyze the degradation of EETs. Renal cortex and renal medulla were tested for *Ephx2* mRNA level in hypertensive ISIAH and normotensive WAG rats at rest and emotional stress conditions. The microarray analysis and real-time PCR were used to assess the transcriptional activity of *Ephx2*. Enhanced transcriptional activity of *Ephx2* in both renal structures of ISIAH rats was found at rest and stress conditions. The emotional stress caused elevation of *Ephx2* mRNA level in renal medulla of ISIAH rats and opposite response – a decrease in *Ephx2* expression in the renal medulla and cortex of WAG rats. The results suggest *Ephx2* participation in the control of the vascular tone changes in kidney promoting the hypertensive state in the ISIAH rats.

**Keywords:** *Ephx2* mRNA expression, kidney, ISIAH rats, emotional stress, hypertension.

DOI: 10.7868/S0026898413060025

Принятые сокращения: АД – артериальное давление; АТ-II – ангиотензин II; НИСАГ – наследуемая индуцируемая стрессом артериальная гипертензия (линия крыс); *Ephx2* (Epoxide hydrolase 2) – ген эпоксидгидролазы-2; EETs (EpoxyEicosatrienoic acids) – эпоксидэйкозатриеновые кислоты; WAG (Wistar Albino Glaxo) – линия крыс; sEH (soluble Epoxide Hydrolase 2) – растворимая эпоксидгидролаза-2; DHETs (DeHydroEpoxyeicosatrienoic acids) – дегидроэпоксидэйкозатриеновые кислоты; *Ppia* (Peptidylprolyl isomerase A) – ген пептидоприлизомеразы альфа; QTL (Quantitative Trait Locus) – локусы количественных признаков; RGD (Rat Genome Database) – база данных геномов крысы; PPARγ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma) – рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами; Egfr (Epidermal growth factor receptor) – рецептор эпидермального фактора роста; *HNF4* (Hepatocyte Nuclear Factor 4) – ген гепатоцитарного ядерного фактора; ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени.

\*Эл. почта: smallynx@ngs.ru

Гипертоническая болезнь – широко распространенное и, в подавляющем большинстве случаев, полигенное заболевание. Возникновение гипертонического состояния может провоцироваться стрессовыми ситуациями [1]. В последнее время активно ведутся поиски генетической составляющей риска развития гипертонической болезни [2, 3].

Эпоксидэйкозатриеновые кислоты (ЕЕТs) – это продукты метаболизма арахидоновой кислоты, обладающие различными функциями. Они оказывают противовоспалительное действие [4], регулируют тонус сосудов, стимулируют пролиферацию клеток и ангиогенез [5]. ЕЕТs являются регуляторами артериального давления и почечной гемодинамики, действуя как эндотелий-зависимый гиперполяризационный фактор в канальцах почки и способствуя вазорелаксации путем активации  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых  $\text{K}^{+}$ -каналов в гладких мышцах сосудов [6, 7].

Ген *Ephx2* кодирует фермент – растворимую эпоксидгидролазу (sEH). В почках высокий уровень ее экспрессии наблюдается в проксимальных и дистальных канальцах [8]. При гидролизе ЕЕТs с помощью sEH образуются неактивные производные – дигидроксидэйкозатриеновые кислоты (DHETs) [9, 10]. Специфические ингибиторы sEH снижают уровень артериального давления (АД) [11], а также уменьшают повреждения органов-мишеней, а именно, почек, сердца и сосудов у мышей и крыс, моделирующих гипертонические состояния [12–16]. У мышей, нокаутированных по гену *Ephx2*, сердечная недостаточность и аритмии не развиваются [17], а у гипертонических крыс, нокаутированных по этому гену, понижается уровень АД, уменьшается интенсивность воспалительного процесса и степень повреждения гломерулярного аппарата почек [7]. Эти данные позволили считать sEH мишенью для фармацевтического воздействия при лечении гипертонии [18, 19].

Линия крыс НИСАГ, характеризующаяся стресс-чувствительной артериальной гипертонией, получена путем селекции в Институте цитологии и генетики СО РАН и используется для изучения механизмов развития артериальной гипертонии, которая провоцируется эмоциональным стрессом [20, 21]. Крысы линии НИСАГ характеризуются умеренным повышением АД в покое, с последующим значительным его увеличением (до 200 мм рт. ст.) в условиях мягкого эмоционального стресса, вызванного, например, ограничением движения животного в тесной клетке. Ранее показана взаимосвязь между стресс-зависимой артериальной гипертонией у крыс линии НИСАГ и функцией симпатoadrenalовой и гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной систем [20–23]. Хорошо известно, что в развитие стойкой артериальной гипертонии вовлекается почка, как важнейшее звено в системе

регуляции АД и водно-солевого гомеостаза [24]. У крыс линии НИСАГ вес почек значительно увеличен по сравнению с нормотензивными крысами линии WAG [25], наблюдаются специфические для гипертонической болезни морфологические изменения органов, в том числе, почек [26].

Цель настоящей работы – исследовать, участвует ли ген *Ephx2* в процессе развития стресс-зависимой гипертонии. Для этого сравнивали уровень экспрессии мРНК гена *Ephx2* в почках гипертонических крыс линии НИСАГ, характеризующихся чувствительной к стрессу артериальной гипертонией, и нормотензивных крыс линии WAG (контроль) в покое и при действии эмоционального стресса.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Животные.** В работе использовали крыс гипертонической линии НИСАГ (с наследуемой индуцируемой стрессом артериальной гипертонией; на английском – ISIAH, от Inherited Stress Induced Arterial Hypertension) и нормотензивной линии WAG (Wistar Albino Glaxo). АД измеряли непрямым методом на хвосте (“tail cuff method”) с использованием стандартного оборудования (“BioPac”, США). Базальное АД (уровень “покоя”) измеряли у наркотизированных эфиром крыс (“рауш-наркоз”), для того чтобы избежать влияния на показатели АД психологического стресса, связанного с процедурой измерения. Исследовали самцов в возрасте 6–7 мес., находящихся в покое и после воздействия эмоционального стресса, который провоцировали путем помещения крысы в тесный проволочный домик на 2.5 ч. Крыс содержали в стандартных условиях вивария ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск), вода и сбалансированный корм – без ограничения. Работа выполнена в соответствии с Международными правилами исследований на экспериментальных животных.

**Анализ микрочипов.** Экспрессию мРНК гена *Ephx2* определяли отдельно в корковом и мозговом отделах почки. Крыс декапитировали, быстро извлекали почку, делали поперечный срез и выделяли корковое и мозговое вещество. Образцы тканей (50 мг) сразу после выделения гомогенизировали в 1 мл тризола (TRIzol reagent, “Invitrogen”, США) и хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$  до выделения РНК. В каждой группе было по 3 крысы.

Сравнительный анализ транскрипционной активности 22 тыс. генов проводили на микрочипах RatRef-12 Expression BeadChip (“Illumina”, США). Выделение РНК, гибридизацию и компьютерную обработку первичных результатов выполняли в фирме ЗАО “Геноаналитика” (Россия). Гибридизацию каждой ткани проводили на одном стекле, содержащем 12 образцов: линии НИСАГ в

покое и при стрессе, линии WAG в покое и при стрессе (по 3 образца в каждом). Результаты гибридизации дифференциально экспрессирующихся генов в почках крыс обеих линий анализировали, применяя программу BeadStudio, с использованием следующих условий: gene expression module и rank invariant normalization, при уровне достоверности  $p = 0.01$ . Межлинейные различия определяли по отношению величин экспрессии (НИСАГ в покое)/(WAG в покое) и (НИСАГ после стресса)/(WAG после стресса).

**Анализ экспрессии мРНК гена *Ephx2* методом ПЦР в реальном времени** в корковом и мозговом отделах почки проводили отдельно. В каждой группе было по 5 крыс. Для получения образцов тканей крыс декапитировали, быстро извлекали почку, делали поперечный срез и выделяли корковое и мозговое вещество. Образцы замораживали в жидком азоте и хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Суммарную РНК выделяли и обрабатывали ДНКазой при помощи набора SV Total RNA Isolation system (“Promega”, США) согласно рекомендациям производителя. В качестве гена сравнения выбран ген циклофилина, *Ppia* (peptidylprolyl isomerase A), экспрессия которого, при использовании метода микрочипов, между линиями в покое и при стрессе, как в корковом, так и в мозговом веществе почек не различается (табл. 1). Праймеры, использованные в работе, приведены в табл. 2.

Реакцию обратной транскрипции проводили, используя смесь специфических обратных праймеров, по 75 нг каждого, и транскриптазу M-MLV (“Promega”) согласно рекомендациям производителя. Реакцию ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) проводили, как описано ранее [27], на ампли-

фикаторе ABI PRISM 7000 Sequence Detector System (“Applied Biosystems”, США), использовали набор реагентов для ПЦР-РВ с Taq-ДНК-полимеразой и ингибирующими активностью фермента антителами, содержащий краситель SYBR GreenI и референтный краситель ROX (“Синтол”, Москва). Анализ проводили на 96-луночных планшетах (“Ахуген”, США) в объеме 25 мкл с использованием буфера ПЦР, по 250 мкМ каждого из четырех dNTP, 200 нМ каждого праймера и 1.2 ед. активности фермента Taq-ДНК-полимеразы. Разведение кДНК подбирали в предварительном опыте. Амплификация – по стандартной схеме, при температуре отжига  $62^{\circ}\text{C}$ , сигнал детектировали при  $81^{\circ}\text{C}$  в течение 40 с. В каждом опыте на один планшет помещали образцы исследуемых кДНК с праймерами на целевой ген (по четыре повтора каждого образца кДНК) и аналогичные образцы с праймерами на ген сравнения (также по четыре повтора). Каждый образец кДНК анализировали на двух планшетах. Относительный уровень экспрессии генов определяли методом  $\Delta\Delta\text{Ct}$  [28]. В качестве образца-калибратора рассматривали результаты измерения, полученные на крысах нормативной линии WAG в покое. Для контроля специфичности реакции снимали кривые плавления. Данные РВ-ПЦР в реальном времени обрабатывали с помощью программы 7000 System SDS Software RQ Study Application (“Applied Biosystems”) в автоматическом режиме. Достоверность различий в экспрессии мРНК исследуемых генов оценивали с помощью непараметрического парного критерия Вилкоксона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Значения АД в покое и при стрессе у крыс двух линий – НИСАГ и WAG – приведены в табл. 3. У крыс линии НИСАГ величина систолического АД как в покое, так и после воздействия стресса существенно больше, чем у крыс линии WAG. Прирост уровня АД при стрессе у крыс линии НИСАГ значительно больше прироста у крыс WAG (32 и 10 мм рт. ст. соответственно).

Данные по микрочипам хорошо совпадают с данными ПЦР-РВ. Результаты анализа экспрессии мРНК гена *Ephx2* на микрочипах Illumina (табл. 4) и уровня экспрессии мРНК гена *Ephx2*

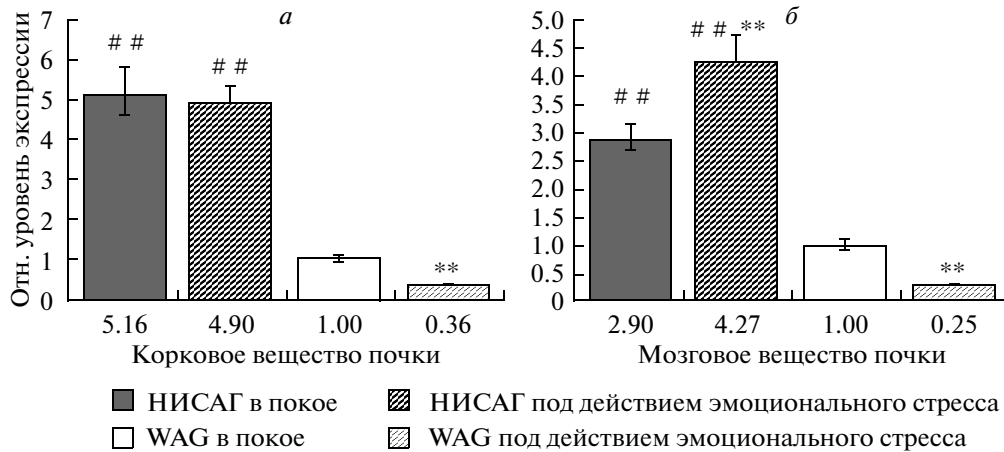
**Таблица 1.** Соотношение уровня экспрессии мРНК гена *Ppia* у крыс разных линий в покое и при стрессе

Соотношение уровня экспрессии мРНК гена <i>Ppia</i>	Корковое вещество почки	Мозговое вещество почки
НИСАГ в покое/WAG в покое	0.995	0.946
НИСАГ при стрессе/WAG в покое	0.883	1.037
WAG при стрессе/WAG в покое	1.019	1.027

**Таблица 2.** Праймеры для амплификации генов, использованные в работе

Ген	Праймеры		Длина ПЦР фрагмента, пар оснований
	прямой	обратный	
<i>Ephx2</i>	5'-TATGTGACAGTGAAG↓CCAGG-3'	5'-GAAGATGAGTCTCCATAGCC-3'	192
<i>Ppia</i>	5'-ACCGTGTCTTCGACATCAC-3'	5'-GAACCCTTATAGCCAAATCCT-3'	140

Вертикальной стрелкой (↓) обозначено положение интрона в геномной ДНК.



Относительный уровень экспрессии мРНК гена *Ephx2* в корковом (а) и мозговом (б) веществе почки крыс линий НИСАГ и WAG в покое и при действии эмоционального стресса (среднее значение ± доверительный интервал). ##  $p < 0.01$  – межлинейные различия; \*\*  $p < 0.01$  – реакция на стресс.

методом ПЦР-РВ (рисунок) показывают, что и в корковом, и в мозговом веществе почек крыс линий НИСАГ и WAG проявляются достоверные межлинейные различия в уровне экспрессии мРНК гена *Ephx2* в покое и после воздействия эмоционального стресса. У крыс линии НИСАГ уровень транскрипции гена *Ephx2* значительно превосходит уровень, наблюдаемый у крыс линии WAG и в покое, и после воздействия стресса.

Изменения в уровне экспрессии мРНК гена *Ephx2* в результате воздействия эмоционального стресса у крыс НИСАГ были зарегистрированы только в мозговом веществе почки, где уровень транскрипции достоверно увеличивается. В отличие от гипертензивных крыс линии НИСАГ, у крыс линии WAG при воздействии стресса экспрессия мРНК гена *Ephx2* достоверно снижается и в корковом, и в мозговом веществе почки.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работах по изучению действия специфических ингибиторов sEH показано, что они способствуют понижению АД [11] и уменьшают повреждения органов-мишеней – почек, сердца и сосудов. Это показано на примерах мышей и крыс при гипертонии, индуцированной ангиотензином II [12–14, 29], а также у крыс, страдающих ожирением [15], у крыс со спонтанной гипертонией и склонностью к инсультам (линия SHRSP), с гипертонией, индуцированной повышенным потреблением соли [16] и с гипертонией и диабетом 2-ого типа [30].

Данные по изучению нокаутированных по гену *Ephx2* мышей свидетельствуют о том, что выключение данного гена приводит к снижению АД, к уменьшению интенсивности воспалительных процессов и повреждений гломеру-

лярного аппарата почек, а также к улучшению работы сердечно-сосудистой системы [7, 17].

Тем не менее, наши результаты по измерению уровня мРНК гена *Ephx2* лишь частично согласуются с результатами, полученными при изучении других линий крыс, моделирующих гипертонию. Так, в почках крыс линии SHR со спонтанной гипертонией разными авторами наблюдалось как увеличение, так и уменьшение экспрессии мРНК гена *Ephx2* [31–33]. Разные варианты полиморфизма гена *Ephx2* связаны с различиями в уровне активности белка, но не ассоциируются с АД при анализе крыс гибридов F<sub>2</sub> (SHR × WKY) [31]. Поскольку ген *Ephx2* не был обнаружен в известных локусах количественных признаков (QTL), свя-

Таблица 3. Уровень артериального давления у крыс линий НИСАГ и WAG в покое и при стрессе

Признак	НИСАГ, N = 10	WAG, n = 10
АД в покое	175.2 ± 1.64***	123.3 ± 1.88
АД при стрессе	207.0 ± 2.93*** ##	133.0 ± 1.53##

Различия оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

\*\*\* $p < 0.001$  – межлинейные различия; ## $p < 0.01$ ; ### $p < 0.001$  – реакция на стресс.

Таблица 4. Результаты анализа экспрессии мРНК гена *Ephx2* на микрочипах “Illumina”

Соотношение уровня экспрессии мРНК гена <i>Ephx2</i>	Корковое вещество почки	Мозговое вещество почки
НИСАГ в покое/WAG в покое	16.68	20.63
НИСАГ при стрессе/WAG при стрессе	14.62	14.40

занных с АД у крыс линии SHR, некоторые авторы уже не рассматривают его как ген-кандидат гипертонии [34], хотя ген *Ephx2* аннотирован в базе данных Rat Genome Database (RGD, <http://rgd.mcw.edu/>) как ген, контролирующий развитие артериальной гипертензии, а sEH считается перспективной мишенью для фармацевтического воздействия при лечении гипертонии [18, 19].

Ген *Ephx2* расположен на хромосоме 15 крысы (45.5 Mb). Согласно результатам проведенного нами ранее QTL-анализа на самцах гибридах F<sub>2</sub> (НИСАГ×WAG), данный ген также не ассоциирован с уровнем АД [35], однако было показано, что тесно сцепленный с геном *Ephx2* маркер D15Rat112 (49.9 Mb) ассоциирован с уровнем основного гормона стресса кортикостерона (LOD score 2.18) [36]. Следовательно, ген *Ephx2* можно рассматривать как ген-кандидат для дальнейшего изучения ассоциации уровня его экспрессии с уровнем кортикостерона у крыс линии НИСАГ.

Известно, что EETs синтезируются в почках и участвуют в контроле почечного кровотока. Предполагается, что их вазодилатирующий эффект, направленный на мелкие артерии почек, осуществляется через активацию кальций-зависимых K<sup>+</sup>-каналов [37, 38]. У крыс линии НИСАГ (по сравнению с крысами линии WAG) наблюдается повышение секреции кортикостерона и содержания альдостерона в надпочечниках при стрессе [39, 40], а также увеличение концентрации натрия в соединительной ткани и в плазме крови [41]. В почках крыс НИСАГ обнаружены некоторые ультраструктурные особенности почечных телец, которые свидетельствуют о нарушении гемодинамики в клубочках капилляров и о повышении функционального напряжения подоцитов, компенсирующих эти микроциркуляторные нарушения [26]. Тот факт, что уровень экспрессии мРНК гена *Ephx2* у крыс линии НИСАГ — по сравнению с крысами линии WAG — повышен, позволяет предположить, что данный ген участвует в процессе регуляции почечного кровотока, и это предположение коррелирует с описанными выше особенностями морфофункциональных характеристик почек крыс линии НИСАГ.

После воздействия эмоционального стресса различия в уровне мРНК гена *Ephx2* в почках крыс линий НИСАГ и WAG остаются высокодостоверными. Согласно результатам ПЦР-РВ, транскрипционная активность гена *Ephx2* у крыс линии НИСАГ сохраняется на высоком уровне в корковом веществе почек, а в мозговом веществе даже увеличивается. У крыс линии WAG, напротив, уровень экспрессии мРНК гена *Ephx2* при воздействии стресса снижается, что можно рассматривать как реакцию, направленную на удержание АД от чрезмерного повышения. У крыс линии НИСАГ такой реакции при стрессе не наблюдается.

Известно, что активация PPAR $\gamma$  (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma) оказывает протективное воздействие при индуцированной ангиотензином гипертрофии сердца, что, частично, осуществляется путем подавления синтеза sEH [42]. Ген *Ephx2* является одним из генов, входящих в схему регуляции другим геном — *HNF4 alpha* (Cell-specific transcription factor Hepatocyte Nuclear Factor 4 alpha) — пролиферации клеток при развитии рака почек [43]. По данным, полученным нами на микрочипах, экспрессия генов PPAR $\gamma$  и *HNF4 alpha* у крыс линии НИСАГ не нарушается. У нас пока нет предположений о том, какие из генов, дифференциально экспрессирующихся в почках крыс линий НИСАГ и WAG, могли бы быть вовлечены в регуляцию уровня транскрипции гена *Ephx2*.

Различная реакция на экспрессию гена *Ephx2* при стрессе у гипертензивных и нормотензивных крыс, вероятно, отражает различия в изначальном функциональном состоянии физиологических систем почки, участвующих в ответе на стрессорные воздействия. Показано, что активность белка sEH тесно связана также с состоянием ренин-ангиотензиновой системы. Ангиотензин II (АТ-II) может увеличивать экспрессию мРНК гена *Ephx2* [44], количество sEH и уровень его активности в корковом веществе почек крыс [12]. В условиях эмоционального стресса может активироваться внутрипочечная ренин-ангиотензиновая система [45]. Образующийся при этом АТ-II, возможно, повышает уровень транскрипции мРНК гена *Ephx2*, что могло бы приводить к повышению уровня АД у гипертензивных крыс линии НИСАГ. У нормотензивных крыс WAG ответ на эмоциональный стресс ориентирован противоположно, что можно считать адекватной реакцией организма, направленной на снижение АД в процессе адаптации к условиям предложенного эмоционального стресса.

Ранее мы определяли более высокий уровень экспрессии мРНК в почках крыс линии НИСАГ (по сравнению с линией WAG) и при изучении гена рецептора эпидермального фактора роста (*Egfr*) [27], участвуя в регуляции которого EETs стимулируют клеточную пролиферацию [46]. Так же, как и в случае с геном *Ephx2*, при воздействии стресса транскрипционная активность гена *Egfr* у крыс линии НИСАГ не изменяется, но достоверно увеличивается в мозговом веществе почки у крыс линии WAG. Опираясь на полученные нами данные, можно предположить, что у гипертензивных крыс линии НИСАГ некоторые системы, связанные, вероятно, с их гипертензивным статусом, находятся в состоянии хронического напряжения. Они либо не реагируют вследствие повышенного исходного напряжения на предложенный им дополнительный стимул — эмоциональный стресс, либо их реакция качественно отличается от

реакции на стресс нормотензивных животных. На основании наших исследований можно предположить, что у крыс линии НИСАГ к таким системам относится система контроля и модулирования тонуса почечных сосудов.

Работа получила финансовую поддержку Российского фонда фундаментальных исследований (110400210) и программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шляхто Е.В., Конради А.О. 2003. Причины и последствия активации симпатической нервной системы при артериальной гипертензии. *Артериальная гипертензия*. **9**, 81–88.
2. Freedman B.I. 2003. Susceptibility genes for hypertension and renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* **14**, 192–194.
3. Плотов А.С., Ивашенко Т.Э., Образцова Г.И., Наседкина Т.З., Баранов В.С. 2007. Зависимость между возникновением стабильной артериальной гипертензией у детей и полиморфизмом генов ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем. *Молекуляр. биология*. **41**, 18–25.
4. Node K., Huo Y., Ruan X., Yang B., Spiecker M., Ley K., Zeldin D.C., Liao J.K. 1999. Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxygenase-derived eicosanoids. *Science*. **285**, 1276–1279.
5. Panigrahy D., Greene E.R., Pozzi A., Wang D.W., Zeldin D.C. 2011. EET signaling in cancer. *Cancer Metastasis Rev.* **30**, 525–540.
6. Sinal C.J., Miyata M., Tohkin M., Nagata K., Bend J.R., Gonzalez F.J. 2000. Targeted disruption of soluble epoxide hydrolase reveals a role in blood pressure regulation. *J. Biol. Chem.* **275**, 40504–40510.
7. Manhiani M., Jeffrey E., Quigley S.F., Tasoobshirazi S., Moore T., Brands M.W., Hammock B.D., Imig J.D. 2009. Soluble epoxide hydrolase gene deletion attenuates renal injury and inflammation with DOCA-salt hypertension. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **297**, 740–748.
8. Enayetallah A.E., French R.A., Thibodeau M.S., Grant D.F. 2004. Distribution of soluble epoxide hydrolase and of cytochrome P450 2C8, 2C9, and 2J2 in human tissues. *J. Histochem. Cytochem.* **52**, 447–454.
9. Yu Z., Xu F., Huse L.M., et al. 2000. Soluble epoxide hydrolase regulates hydrolysis of vasoactive epoxyeicosatrienoic acids. *Circ. Res.* **87**, 992–998.
10. Spector A.A., Fang X., Snyder G.D., Weintraub N.L. 2004. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): metabolism and biochemical function. *Prog. Lipid Res.* **43**, 55–90.
11. Loch D., Hoey A., Morisseau C., Hammock B.O., Brown L. 2007. Prevention of hypertension in DOCA-salt rats by an inhibitor of soluble epoxide hydrolase. *Cell Biochem. Biophys.* **47**, 87–98.
12. Imig J.D., Zhao X., Capdevila J.H., Morisseau C., Hammock B.D. 2002. Soluble epoxide hydrolase inhibition lowers arterial blood pressure in angiotensin II hypertension. *Hypertension*. **39**, 690–694.
13. Jung O., Brandes R.P., Kim I.H., Schweda F., Schmidt R., Hammock B.D., Busse R., Fleming I. 2005. Soluble epoxide hydrolase is a main effector of angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*. **45**, 759–765.
14. Honetschlagerova Z., Huskova Z., Vanourkova Z., et al. 2011. Renal mechanisms contributing to the antihypertensive action of soluble epoxide hydrolase inhibition in Ren-2 transgenic rats with inducible hypertension. *J. Physiol.* **589**, 207–219.
15. Huang H., Morisseau C., Wang J., Yang T., Falck J.R., Hammock B.D., Wang M.H. 2007. Increasing or stabilizing renal epoxyeicosatrienoic acid production attenuates abnormal renal function and hypertension in obese rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **293**, F342–349.
16. Li J., Carroll M.A., Chander P.N., Falck J.R., Sangras B., Stier C.T. 2008. Soluble epoxide hydrolase inhibitor, AUDA, prevents early salt-sensitive hypertension. *Front. Biosci.* **13**, 3480–3487.
17. Monti J., Fischer J., Paskas S., et al. 2008. Soluble epoxide hydrolase is a susceptibility factor for heart failure in a rat model of human disease. *Nat. Genet.* **40**, 529–537.
18. Fang X. 2006. Soluble epoxide hydrolase: a novel target for the treatment of hypertension. *Recent Pat. Cardiovasc. Drug Discov.* **1**, 67–72.
19. Chiamvimonvat N., Ho C.M., Tsai H.J., Hammock B.D. 2007. The soluble epoxide hydrolase as a pharmaceutical target for hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **50**, 225–237.
20. Markel A.L. 1992. Development of a new strain of rats with inherited stress-induced arterial hypertension. In: *Genetic hypertension*, vol. 218. Ed. J. Sassard. London: Colloque INSERM, pp. 405–407.
21. Markel A.L., Maslova L.N., Shishkina G.T., Mahanova N.A., Jacobson G.S. 1999. Developmental influences on blood pressure regulation in ISIAH rats. In: *Development of the Hypertensive Phenotype: Basic and Clinical Studies*. Amsterdam: Elsevier Science Publ. BV. 439–450.
22. Markel A.L., Redina O.E., Gilinsky M.A., Dymshits G.M., Kalashnikova E.V., Khvorostova Y.V., Fedoseeva L.A., Jacobson G.S. 2007. Neuroendocrine profiling in inherited stress-induced arterial hypertension rat strain with stress-sensitive arterial hypertension. *J. Endocrinol.* **195**, 439–450.
23. Федосеева Л.А., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. 2008. Секвенирование 5-области гена *LNGFR*, ассоциированного с повышением артериального давления при стрессе у крыс линии НИСАГ. *Молекуляр. биология*. **42**, 184–186.
24. Костюкевич О.И. 2010. Артериальная гипертензия и почки: вместе навеки? Можно ли разорвать порочный круг? *Русский медицинский журнал*. **18**, 1332–1337.
25. Redina O.E., Machanova N.A., Efimov V.M., Markel A.L. 2006. Rats with inherited stress-induced arterial hypertension (ISIAH strain) display specific quantitative trait loci for blood pressure and for body and kidney weight on chromosome 1. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **33**, 456–464.
26. Шмерлинг М.Д., Филюшина Е.Е., Лазарев В.А., Бузуева И.И., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. 2001. Ультроструктурные особенности почечных телец у крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией. *Морфология*. **120**, 70–74.

27. Пыльник Т.О., Редина О.Е., Смоленская С.Э., Иванова Л.Н., Маркель А.Л. 2012. Особенности экспрессии генов *EGF* и *EGFR* в ткани почки гипертензивных крыс линии НИСАГ (ISIAH). *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. **98**, 69–76.
28. Nolan T., Hands R.E., Bustin S.A. 2006. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nat. Protoc.* **1**, 1559–1582.
29. Zhao X., Yamamoto T., Newman J.W., Kim I.H., Watanabe T., Hammock B.D., Stewart J., Pollock J.S., Pollock D.M., Imig J.D. 2004. Soluble epoxide hydrolase inhibition protects the kidney from hypertension-induced damage. *J. Am. Soc. Nephrol.* **15**, 1244–1253.
30. Olearczyk J.J., Quigley J.E., Mitchell B.C., Yamamoto T., Kim I., Newman J.W., Luria A., Hammock B.D., Imig J.D. 2009. Administration of a substituted adamantyl urea inhibitor of soluble epoxide hydrolase protects the kidney from damage in hypertensive Goto-Kakizaki rats. *Clin. Sci. (Lond)*. **116**, 61–70.
31. Fornage M., Hinojos C.A., Nurowska B.W., Boerwinkle E., Hammock B.D., Morisseau C.H., Doris P.A. 2002. Polymorphism in soluble epoxide hydrolase and blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. **40**, 485–490.
32. Okuda T., Sumiya T., Mizutani K., et al. 2002. Analyses of differential gene expression in genetic hypertensive rats by microarray. *Hypertens. Res*. **25**, 249–255.
33. Koeners M.P., Wesseling S., Ulu A., Sepalveda R.L., Morisseau C., Braam B., Hammock B.D., Jaap A., Joles J.P. 2011. Soluble epoxide hydrolase in the generation and maintenance of high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **300**, 691–698.
34. Hinojos C.A., Boerwinkle E., Fornage M., Doris P.A. 2005. Combined genealogical, mapping, and expression approaches to identify spontaneously hypertensive rat hypertension candidate genes. *Hypertension*. **45**, 698–704.
35. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Maslova L.N., Markel A.L. 2013. The genetic control of blood pressure and body composition in rats with stress-sensitive hypertension. *Clin. Exp. Hypertens. Jan 9*. [Epub ahead of print].
36. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Maslova L.N., Markel A.L. 2010. Genetic Control of the corticosterone level at rest and under emotional stress in ISIAH rats with inherited stress-induced arterial hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* **32**, 364–371.
37. Imig J.D., Navar L.G., Roman R.J., Reddy K.K., Falck J.R. 1996. Actions of epoxygenase metabolites on the preglomerular vasculature. *J. Am. Soc. Nephrol.* **7**, 2364–2370.
38. Zou A.P., Fleming J.T., Falck J.R., Jacobs E.R., Gebremedhin D., Harder D.R., Roman R.J. 1996. Stereospecific effects of epoxyeicosatrienoic acids on renal vascular tone and K(+)-channel activity. *Am. J. Physiol.* **270**, F822–832.
39. Антонов Е.В., Морева Т.А., Черкасова О.П., Гиллинский М.А., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. 2010. Изучение секреторной активности коры надпочечника у гипертензивных крыс линии НИСАГ. *Бюллетень СО РАМН*. **30**, 68–75.
40. Amstislavsky S., Welker P., Fru J.H., Maslova L., Ivanova L., Jensen B., Markel A.L., Bachmann S. 2006. Renal and endocrine changes in rats with inherited stress-induced arterial hypertension (ISIAH). *Histochem. Cell Biol.* **125**, 651–659.
41. Федосеева Л.А., Рязанова М.А., Антонов Е.В., Дымшиц Г.М., Маркель А.Л. 2011. Экспрессия генов рениновой системы почки и сердца у гипертензивных крыс линии НИСАГ. *Биомедицинская химия*. **57**, 410–419.
42. Pang W., Li N., Ai D., Niu X.L., Guan Y.F., Zhu Y. 2011. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma downregulates soluble epoxide hydrolase in cardiomyocytes. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **38**, 358–364.
43. Grigo K., Wirsing A., Lucas B., Klein-Hitpass L., Ryffel G.U. 2008. HNF4 alpha orchestrates a set of 14 genes to down-regulate cell proliferation in kidney cells. *Biol. Chem.* **389**, 179–187.
44. Ai D., Fu Y., Guo D., Tanaka H., Wang N., Tang C., Hammock B.D., Shyy J.Y., Zhu Y. 2007. Angiotensin II up-regulates soluble epoxide hydrolase in vascular endothelium *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **104**, 9018–9023.
45. Prieto-Carrasquero M.C., Botros F.T., Kobori H., Navar L.G. 2009. Collecting duct renin: a major player in angiotensin II-dependent hypertension. *J. Am. Soc. Hypertens.* **3**, 96–104.
46. Zhang Z., Hu D., Zhou M., Liu H., Wu J., Huang S., Wang D., Cai L. 2011. 14,15-Epoxyeicosatrienoic acid induces the proliferation and anti-apoptosis of human carcinoma cell. *Daru*. **19**, 462–468.