ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ПУШКАРЁВ БОРИС СЕРГЕЕВИЧ

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА КАЛЬЦИЕВЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Заслуженный работник высшей школы РФ,

д.м.н., профессор Ю.А. Витковский

ЧИТА – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

ВВЕДЕНИЕ…… 5

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……..... 12

1.1. Кальциевые каналы и их классификация……..……..... 12

1.2. Общие сведения о строении кальциевых ионных каналов..... 24

1.2.1. Строение потенциал-управляемых Ca^{2+}-каналов……...…..... 24

1.2.2. Строение других Ca^{2+}-каналов (лиганд-управляемых и других внутриклеточных)……... 27

1.2.2.1. Строение Ca^{2+}-транспортных АТФаз……..... 27

1.2.2.2. Строение рианодиновых каналов выхода Ca^{2+}……..... 29

1.2.2.3. Строение рецепторов к инозитол-1,4,5-трифосфату (IP_3R)…….. 32

1.2.3. Строение Ca^{2+}сенсоров……..... 37

1.3. Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в мышечном сокращении……..... 41

1.3.1 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в сокращении гладкой мускулатуры сосудов……...……...……... 41

1.3.2 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в сокращении кардиомиоцитов…… 44

1.4. Общие сведения о физиологической функции белковых субъединиц кальциевых потенциал-управляемых каналов и их генетическом полиморфизме у здоровых и больных людей..... 48

1.4.1 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в патологии сердечно-сосудистой системы…… 48

1.4.2 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в неврологической и психиатрической патологии……. 50

1.4.3 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в онкологической патологии…… 51

1.4.4 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в других группах патологии..... 51

1.5. Заключение……... 52

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ……... 53

2.1. Общая характеристика обследованных групп…….. 53

2.1.1. Характеристика пациентов с первичной артериальной гипертензией без гипертрофии миокарда (Эссенциальная (первичная) гипертензия)…… 55
2.1.2. Характеристика пациентов с первичной артериальной гипертензией с гипертрофией миокарда (ИММЛЖ >115 г/м^2 – для мужчин, >95 г/м^2– для женщин)…..……..... 57
2.1.3. Сравнительная характеристика групп здоровых и больных артериальной гипертензией этнических русских и китайцев-ханьцев.……. 59
2.2. Лабораторные методы исследований…… 63
2.2.1. Определение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} лимфоцитов……... 63
2.2.2. Определение генетического полиморфизма…….. 65
2.2.2.1. Полимеразная цепная реакция…….. 65
2.3. Инструментальные методы..……..... 70
2.3.1. Трансторакальная эхокардиография с допплерографией……. 70
2.3.2. Суточное мониторирование артериального давления…….. 71
2.3.3. Ультразвуковое дуплексное сканирование сонных артерий с определением толщины комплекса интима-медиа……. 72
2.4. Методы статистической обработки полученных результатов…… 73
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ..... 78
3.1.1. Полиморфизм генов кальциевых каналов *CACNA1C* rs1006737, *CACNA1C* rs112532048, *CACNA1H* rs11865472, *CACNA1G* rs11079919, *CACNB2* rs143326262, *RYR2* rs2490389 у резидентов Забайкальского края.... 78
3.1.2. Заключение…… 80
3.2.1. Встречаемость SNP кальциевых каналов у здоровых и больных эссенциальной артериальной гипертензией……. 81
3.2.2. Заключение…… 86
3.3.1. Встречаемость полиморфизма генов кальциевых каналов у больных артериальной гипертензией с гипертрофией миокарда левого желудочка….. 86
3.3.2. Заключение…… 89

3.4.1. Связь полиморфизма rs1006737 *G*2236129*A* гена *CACNA1C* с эссенциальной гипертензией у этнических русских и китайцев-ханьцев в северо-восточной Азии……..... 90
3.4.2. Заключение…… 110
3.5.1. Влияние генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов *A*50615794*G* (rs11079919) в гене *CACNA1G* на внутриклеточную концентрацию ионов кальция у здоровых и больных артериальной гипертензией…..……. 111
3.5.2. Заключение…… 117
3.6.1. Модель прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов……...…….. 118
3.6.2. Заключение…… 121
3.7.1. Модель прогнозирования артериальной гипертензии у здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов пациентов с артериальной гипертензией, осложнённой гипертрофией миокарда левого желудочка….…….. 122
3.7.2. Заключение…… 127
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ…….. 129
ЗАКЛЮЧЕНИЕ……..... 140
ВЫВОДЫ……..... 141
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…… 143
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ……..... 145
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…….…….. 149

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время не вызывает сомнений, что изменения ионных механизмов биоэлектрических процессов миоцитов сердца и сосудов лежат в основе формирования преходящего или устойчивого повышения кровяного давления [67, 68, 82]. Они принимают участие непосредственно в мышечном сокращении, внутриклеточной сигнализации, высвобождении медиаторов, регуляторных молекул общего и местного назначения. Управление этими механизмами послужило фундаментом современной стратегии и тактики патогенетического лечения гипертензии [61, 85, 154].

Центральное место в регуляции тонуса сосудов и сердечной деятельности занимают кальциевые каналы [104, 143]. Их молекулярная структура отличается разнообразием, связанным с комбинаторикой субъединиц и их генетическим полиморфизмом, обуславливающим особенности активации-инактивации каналов, временные характеристики их работы, чувствительность к лекарственным препаратам [46, 48, 137, 150]. Уже известно строение многих кальциевых каналов, приведены классификации кальциевых каналов, которые требуют постоянного уточнения [48, 137, 150]. Расширение поиска разнообразия вариантов генов кальциевых каналов, выяснение структурных особенностей транслируемых белков субъединиц, изучение их функций, может стать ключом в решении проблем прогнозирования заболеваний, а также позволит использовать выявленные фармакологические мишени для коррекции патологических состояний, в том числе и гипертензии [137].

Вопрос о патогенетическом влиянии полиморфизма генов кальциевых каналов в развитии эссенциальной гипертензии до сих пор остаётся открытым. Однако к настоящему времени существуют примеры того, как полиморфизм меняет физиологические свойства кальциевых каналов и приводит к нарушениям

со стороны нервной системы, психическим отклонениям, играет роль в развитии новообразований, мультисистемных расстройств, аритмий сердца, синдромов Тимоти и Бругада, мышечной дистрофии и др. [16, 17, 24, 27, 29, 37, 64, 65, 77, 89, 142].

Молекулярно-генетические исследования кальциевых каналов позволили бы с новых позиций описать патогенез, оценить риск развития заболевания, его осложнений, а также обосновать новые подходы к разработке методов персонифицированной терапии гипертонической болезни [13, 47, 153].

Таким образом, исследование SNP генов кальциевых каналов является перспективным направлением изучения патогенеза ЭГ, особенностей течения заболевания, разработки новой стратегии его лечения и профилактики в свете новой парадигмы медицины XXI века.

Степень разработанности темы исследования

К настоящему времени изучены многие звенья патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии, среди них – увеличение тонуса симпатического отдела вегетативной нервной системы [69, 133]; активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [20, 33, 42]; эндотелиальная дисфункция, связанная с продукцией местных регуляторов сосудистого тонуса (эндотелина, монооксида азота) [9, 52, 53, 125]; стимуляция хеморецепторов, адаптация барорецепторов [113, 139]; нарушение обмена Na^{+}, избыточное потребление соли [61]; влияние генетических факторов [22, 90, 101, 119]; стресс [145]; ожирение [121, 122].

Изучена роль генетического полиморфизма некоторых молекул-участников механизма развития гипертензий, включая ионные натриевые каналы [21, 45]. Однако до сих пор не рассматривалось участие генетического полиморфизма кальциевых каналов в патогенезе гипертензий. Исследование молекулярно-генетических вариантов кальциевых каналов позволило бы выяснить вклад Ca^{2+}-каналопатии в патогенез эссенциальной гипертензии и обосновать персонифицированный подход к разработке методов диагностики, профилактики, прогнозирования течения и лечения эссенциальной артериальной гипертензии.

Цель исследования

Целью исследования явилось изучение роли генетического полиморфизма кальциевых каналов *CACNA1C*, *CACNA1H*, *CACNA1G*, *CACNB2*, *RYR2* в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии.

Задачи исследования

1. Исследовать частоту генотипов и аллельных вариантов полиморфизма генов *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) среди резидентов Забайкальского края.
2. Определить носительство SNP генов кальциевых каналов *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) среди здоровых и больных артериальной гипертензией.
3. Определить связь между генетическим полиморфизмом *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737) и первичной артериальной гипертензией у этнических русских и китайцев-ханьцев – жителей региона Северо-Восточной Азии.
4. Выявить влияние носительства SNP генов *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) на развитие гипертрофии миокарда левого желудочка сердца среди больных артериальной гипертензией.
5. Создать модели прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых людей на основе полиморфизма генов кальциевых каналов *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389).

6. Определить влияние генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919) на внутриклеточную концентрацию ионов кальция у здоровых и больных артериальной гипертензией.

Научная новизна

Впервые определена частота генотипов и аллельных вариантов полиморфизма генов потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1C G*2236129*A*, *CACNA1C G*2585485*A*, *CACNA1H G*1134967*A*, *CACNA1G A*50615794*G*, *CACNB2 C*18539252*T*, *RYR2 G*237115840*T* у здоровых лиц (резидентов Забайкальского края).

Впервые установлено, что к развитию эссенциальной артериальной гипертензии предрасполагает носительство аллели *A* и генотипа *AA* SNP *CACNA1C* (rs1006737). Присутствие аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G* (rs11079919) повышает риск развития артериальной гипертензии более чем в 5 раз.

Впервые доказано, что у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией к риску развития гипертрофии миокарда левого желудочка сердца предрасполагает носительство аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G*. Впервые выявлено, что носительство аллели *A* rs1006737 является рисковым для развития ЭГ у этнических русских людей и китайцев ханьского происхождения. Впервые определено, что среди этнических русских – носительство генотипа *AA* rs1006737 связано с повышенным риском развития гипертонии, а среди китайцев-ханьцев носительство генотипа *GA* rs1006737.

Впервые установлено, что носительство генотипа *GG* SNP *A*50615794*G CACNA1G* обуславливает повышение уровня внутриклеточного Ca^{2+} лимфоцитов у больных первичной артериальной гипертензией.

Впервые описана патогенетическая ось артериальной гипертензии, включающая SNP гена α_{1G}-субъединицы кальциевых каналов *CACNA1G* (*A*50615794*G*) – кальциевую каналопатию – повышение внутриклеточного кальция – гипертонус сосудов.

Теоретическая и практическая значимость

В ходе исследования получены сведения о распространённости различных аллельных вариантов *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) среди здоровых резидентов Забайкальского края и у больных артериальной гипертензией, установлена роль отдельных SNP в патогенезе артериальной гипертензии и гипертрофии миокарда.

Разработанные статистические модели прогнозирования развития артериальной гипертензии могут послужить основой для разработки новых методов предиктивной медицины. Полученные данные о наличии полиморфизма *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) могут использоваться для оценки риска развития артериальной гипертензии.

Предложен “Способ прогнозирования риска развития эссенциальной артериальной гипертензии” (Патент № 2703559 Российская Федерация) [4].

Положения, выносимые на защиту

1. Полиморфизм генов потенциал-управляемых кальциевых каналов принимает участие в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии и определяет риск развития заболевания. Генетические варианты *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919) вызывают Ca^{2+}-каналопатию, обуславливающую повышение внутриклеточного Ca^{2+} и способствующую гипертонусу сосудов.
2. Статистические модели, разработанные на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов, позволяют прогнозировать возникновение артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц.

Внедрение результатов в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» и входят в материалы лекций и практических занятий на кафедрах патологической

физиологии, поликлинической терапии с курсом медицинской реабилитации, факультетской терапии.

Методология и методы исследования

По теме исследования выполнен анализ данных отечественной и зарубежной литературы. Для решения поставленных задач проведены клинические, инструментальные и лабораторные исследования. На основании полученных результатов, обработанных статистическими методами, сделаны выводы.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность результатов диссертационного исследования обеспечена глубоким системным изучением вопроса, достаточным объёмом выборки исследуемых, использованием современных лабораторных и инструментальных методов диагностики, а также адекватного поставленным задачам статистического анализа.

Апробация результатов

Результаты работы были доложены на заседании Читинского отделения Физиологического общества им. Акад. И.П. Павлова (2016); на заседании кафедры нормальной физиологи ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» (2017); в Цицикарском медицинском университете (КНР, 2017); на XVI научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2017); на IV Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Наука и Медицина: современный взгляд молодёжи» (Алматы, 2017); на международной научно-практической конференции, посвящённой 65-летию образования Читинской государственной медицинской академии «Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины» (Чита, 2018).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 Патент РФ, 3 тезиса в сборниках международных, российских, краевых научных конференций.

Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 170 страницах и состоит из введения, обзора литературы, характеристики методов исследования, 4 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и указателя литературы, включающего 155 источников, из них 13 отечественных и 142 – зарубежных авторов; иллюстрирована 38 таблицами, 29 рисунками.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Кальциевые каналы и их классификация

Существующая классификация кальциевых ионных каналов основана на фармакологических мишенях и механизмах активации [6, 150].

Молекулярная классификация разработана E.A. Ertel и соавторами [76, 106]. Согласно данной классификации кальциевые каналы подразделены следующим образом:

1.Потенциал-управляемые Ca^{2+}-каналы;

2.Другие Ca^{2+}-каналы (лиганд-управляемые и другие внутриклеточные);

3.Ca^{2+}-сенсоры [106].

В различных тканях представлены Ca^{2+}-каналы, обладающие пептидной специфичностью [48, 123].

По данным A.C. Dolphin потенциал-управляемые Ca^{2+}-каналы содержат 4–5 субъединиц относящихся к группе протеинов. Среди α-субъединиц выделяют 10 подтипов, масса субъединиц от 160 до 273 kD [48, 123]. На основании этого предложена следующая классификация (таблица 1).

Таблица 1

Классификация потенциал-управляемых Ca^{2+} -каналов по разнообразию α_1-субъединицы

Подтип α_1	Кодирующий ген	Тип канала		Функция
α_{1A}	*CACNA1A*	P/Q	$Ca_v2.1$	синаптическая передача в ЦНС
α_{1B}	*CACNA1B*	N	$Ca_v2.2$	синаптическая передача в ПНС
α_{1C}	*CACNA1C*	L	$Ca_v1.2$	работа сердца и гладкой мускулатуры
α_{1D}	*CACNA1D*	L	$Ca_v1.3$	слух, функция синусового узла
α_{1E}	*CACNA1E*	R	$Ca_v2.3$	работа нейронов, синаптическая передача
α_{1F}	*CACNA1F*	-	$Ca_v1.4$	нейротрансмиссия сетчатки
α_{1G}	*CACNA1G*	T	$Ca_v3.1$	возбудимость нейронов, пейсмейкерная активность, подпороговые осцилляции
α_{1H}	*CACNA1H*	T	$Ca_v3.2$	
α_{1I}	*CACNA1I*	T	$Ca_v3.3$	
α_{1S}	*CACNA1S*	L	$Ca_v1.1$	сенсоры биопотенциала скелетных мышц

Специфичность строения субъединиц потенциал-управляемых Ca^{2+}-каналов генетически обусловлена [123, 137]. К лиганд-управляемым Ca^{2+}-каналам группы других Ca^{2+}-каналов относят Ca^{2+}-транспортную АТФ-азу, обеспечивающие выход Ca^{2+} – рианодиновые рецепторы (RyR), а также прочие интрацеллюлярные Ca^{2+}-каналы. Среди Ca^{2+}-транспортных АТФ-аз выделяют 4 вида. Они являются гомотетрамерными комплексами, которые содержат 6 трансмембранных сегментов. ATP2A1 обнаружены в эндоплазматическом или саркоплазматическом ретикулуме и принимают участие в быстрой констрикции поперечнополосатой мускулатуры, а ATP2A2 – в медленной констрикции. Они имеют две изоформы: SERCA2a, локализованная в кардиомиоцитах и поперечнополосатой мускулатуре; SERCA2b расположенная в немышечных тканях и гладких мышцах. Иные виды ATP2B1, ATP2B2 и ATP2B4 выявлены в плазмолемме и активируют каналы мембран, расположенных внутри клетки.

Лиганд-управляемые каналы выходящего кальциевого тока, связанные с рианодиновым рецептором (RyR), срабатывают после активации дигидропиридин-чувствительных соматических каналов для Ca^{2+}, что

обеспечивает усиление сигнала. Активаторы: рианодин, кофеин, Ca^{2+}; первичный посредник – циклическая АДФ-рибоза (цАДФР), а вторичный – цАДФР – Ca^{2+}-кальмодулин. Рианодиновые рецепторы имеют подтипы. Подтип RyR1 – расположен в саркоплазматическом ретикулуме и обеспечивает приток ионов Ca^{2+}, требующихся в процессах возбуждения и сокращения скелетных мышц. Регулятором их работы является протеинкиназа А (PKA). Рецепторы RyR2 обнаруживаются в сердце, их дисфункция может стать причиной стресс-индуцированной полиморфной вентрикулярной тахикардии. RyR3-рецепторы выявлены в мозге. Другой тип лиганд-управляемых каналов – рецептор к инозитол-1,4,5-трифосфату (IP3), подобный по строению рианодиновым рецепторам. IP3-рецептор приходит в состояние активации под влиянием увеличенной внутриклеточной концентрации инозитол-1,4,5-трифосфата, что приводит к высвобождению Ca^{2+} из его внутриклеточных запасов после стимуляции рецепторов на поверхности клетки. Эти рецепторы располагаются в мембранах эндоплазматического ретикулума клеток мозга, имеющих функцию осцилляции сигнала. К другим внутриклеточным Ca^{2+}-каналам относятся никотинамидаденин-динуклеотидфосфатные рецепторы (НАДФР) и сфинголипидные рецепторы (EDG1). НАДФ-рецепторы являются сигнальным триггером, блокируются высоким содержанием НАДФ, а низким – активируются, при этом из тапсигаргин-нечувствительных запасов высвобождается Ca^{2+}. Сигнальной молекулой для них является циклическая АДФ-рибоза. Сфинголипидный рецептор чувствителен к продуктам сфинголипидного пути преобразования липидов, вторичным посредником является, вероятно, сфингозин-1-фосфат или сфингозилфосфорилхолин-5.

Молекулярная классификация кальциевых каналов также включает группу Ca^{2+}-сенсоров, объединяющую в себе сенсоры типа А, экспрессирующиеся в фоторецепторных клетках, модулирующиеся визинином, рековерином, и S-модулином и типа – В, встречающиеся в нейронах. К В-типу относится нейрональный кальциевый сенсор-1 (NCS1), ассоциированный с секреторными гранулами.

Выявлено, что α_1-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов могут кодироваться десятью различными генами. Каждый из этих генов может кодировать, по крайней мере, 18 различных каналов, которые и были обнаружены в нервной системе [36, 48, 123]. Установлено, что β-субъединица закодирована четырьмя генами 1, 2, 3, и 4. Каждый из генов может экспрессировать восемь различных видов субъединиц, которые также были выявлены в мозге [36, 48, 123]. Субъединицы в различных комбинациях могут сформировать сотни вариаций каналов для Ca^{2+}. Кальциевые каналы имеют разнообразную локализацию в различных тканях, а также в мембранах отдельных частей клеток. Обнаруживаемые комбинации тех или иных типов Ca^{2+}-каналов, вероятно, определяются физиологическим предназначением. Например, в сетчатке крыс и в некоторых эндокринных клетках [106, 123] L-тип образует каналы контроля экзоцитоза везикул [51], а на терминалиях двигательных нервов, иннервирующих скелетные и гладкие мышцы, в основном, описаны кальциевые каналы N-типа, управляющие процессами нейротрансмиссии, однако, существует информация, позволяющая предполагать наличие там каналов P/Q-типа [102, 105]. В ЦНС, в коре мозга, среднем мозге, мозжечке, нейрогипофизе, гиппокампе, стволе мозга, спинном мозге выявлено несколько типов Ca^{2+}-каналов. Чувствительные нейроны спинного мозга содержат, в основном, N-тип, но также в них расположены L- и P-тип кальциевых каналов [47]. В нейрогипофизе присутствуют L, N или N-подобные и P/Q-каналы [98]. В мозжечке доминирует P-тип каналов, вклад N-типа менее выражен, а каналы L-типа отсутствуют [41]. В высвобождение нейромедиаторов в различных типах нейронов включены многие Ca^{2+}-каналы [44, 95, 102, 128]. При высвобождении GABA преобладает вклад N-типа каналов, при небольшом участии L-типа, дофамина – равен вклад N, L, и P/Q [49, 124]. В модуляции соответствующих рецепторов АТФ и аденозином участвуют N- и L-каналы [97]. Модуляция Ca^{2+}-каналов в нервных терминалиях значима, как механизм регуляции высвобождения медиатора. Установлено большое количество механизмов модуляции Ca^{2+}-каналов [96, 126]. Она может осуществляться нейромедиаторами, высвобожденными тем же самым нервным

окончанием через обратное действие на ауторецепторы продуктов разложения выделенного медиатора; медиаторами, высвобожденными из других нервных терминалий; гормонами, выделяемыми в интерстициальную жидкость; антителами, фармакологическими препаратами и воздействием различных физических факторов среды. Большинство регулирующих воздействий на Ca^{2+}-каналы пресинаптических мембран изменяет вероятность открытия этих каналов и обеспечивает частотную модуляцию синаптической передачи [34, 116]. Многочисленные болезни и патофизиологические состояния в организме могут быть ассоциированы с генетическими нарушениями и экспрессией неполноценных соответствующих субъединиц тех или иных типов Ca^{2+}-каналов [137]. Заболевания могут быть обусловлены как физиологическими нарушениями в работе каналов, так и патогенными внешними воздействиями. На современном этапе существуют некоторые способы фармакологической коррекции патологии ионных каналов, но пока разнообразие высокоспецифичных средств ограничено [47, 137].

A.C. Dolphin приводит следующие классификации кальциевых каналов [47]:
1) по потенциал-управляемости

1. Низкопороговые каналы (low voltage-activated (LVA))
2. Высокопороговые каналы (high voltage-activated HVA).

2) фармакологическую классификацию (таблица 2).

1.Каналы P/Q типа
2.Каналы N типа (от «neither long nor transient» - ни L, ни T)
3.Каналы L типа (long lasting)
4.Каналы R типа
5.Каналы T типа (от «transient» - преходящий, транзиторный)

Фармакологическая классификация основана на токах ионов Ca^{2+}. Ca^{2+}-каналы были обнаружены во многих клетках организма человека. Ca^{2+}-токи, зарегистрированные в различных типах клеток, имеют определённые фармакологические и физиологические свойства. Буквенная номенклатура,

предложенная изначально, была создана исходя из кинетики Ca^{2+}-токов. L-тип (от «long-lasting» – долго длящийся) Ca^{2+}-тока требует сильной деполяризации для активации, является долго длящимся и блокируется органическими антагонистами L-типа Ca^{2+}-каналов. Ca^{2+}-токи L-типа являются основными в эндокринных клетках и миоцитах, где они инициируют констрикцию и секрецию. N-тип (от «neither long nor transient» – ни L, ни T), P/Q-тип и R-тип кальциевых токов также требуют сильной деполяризации для активации. Они относительно нечувствительны к антагонистам L-типа Ca^{2+}-каналов, но блокируются специфическими веществами из токсинов паука или улитки, являющимися полипептидами. Такие токи преобладают в нервных клетках, где они инициируют нейротрансмиссию в большинстве быстрых синапсов и также опосредуют вход Ca^{2+} в сому клеток и дендриты. T-тип (от «transient» – преходящий) Ca^{2+}-токов активируется слабой деполяризацией – эти токи мимолётные (преходящие). Они нечувствительны к органическим антагонистам и ядам пауков и змей, которые используются для определения N- и P/Q Ca^{2+}-токов. Ca^{2+}-токи T-типа выражены в большом спектре клеточных типов, где они вовлечены в развитие потенциала действия и важны в клетках и тканях, обладающих ритмической активностью (таблица 2) [92, 137].

С точки зрения молекулярного строения, фармакологические типы потенциал-управляемых Ca^{2+} каналов определяются, прежде всего, типом формирующих их α_1 субъединиц [7]. L-тип (Long lasting) Ca^{2+} каналов формируется субъединицами: α_{1C}, α_{1D}, α_{1F}, α_{1S}, $\alpha_{2\gamma}$, и β_{3A}. Эти каналы блокируются бензодиазепинами, дигидропиридинами, фенилалкиламинами, а также кальцизептином [137]. Активация каналов происходит при сильной деполяризации, инактивация при слабой деполяризации. Расположение каналов различно: α_{1S} — в скелетных мышцах; α_{1D} — в мозге (тело нервной клетки и проксимальные дендриты); α_{1C} — в сердечной мышце; α_{1D} — в нейроэндокринных клетках и α_{1F} — в сетчатке. Сопряжение возбуждения и сокращения является общей функцией L-каналов мышц. Каналы $Ca_v1.1$ (A1S), локализующиеся в скелетных мышцах, функционируют так же, как сенсор

напряжения, а $Ca_v1.2$ (A1C) выявлены в гладких мышцах и сердце. N тип Ca^{2+} каналов сформирован α_{1B}, $\alpha_{2\delta}$ и β_{1b} субъединицами, активируется при сильной деполяризации, имеет медленную инактивацию. Каналы N-тип сильно и необратимо блокируются ω-конотоксинами MVIIA и GVIA, но нечувствительны к DHP. Эти каналы обнаружены в пресинаптических терминалиях нейронов. Их структура лишена γ-субъединицы. Модуляция канала осуществляется неизвестным гомологом протеинкиназосвязывающего белка, взаимодействующего с протеинкиназой C (PKC). P-тип Ca^{2+}-каналов образован из α_{1A}, $\alpha_{2\delta}$ и β_{4a} субъединиц, активируется при сильной деполяризации, инактивируется медленно. Блокируется ядом паука (Funnel web spider), ω-конотоксином MVIIC и ω-агатоксином IVA. Каналы нечувствительны к ω-конотоксину GVIA и дигидропиридину. Они локализуются в пресинаптической мембране, высокая концентрация α_{1A} субъединицы наблюдается в мозжечке, клетках Пуркинье, в нервно-мышечных синапсах, и участвуют в высвобождении трансмиттера [41]. Q тип Ca^{2+}-каналов формируется α_{1A}, $\alpha_{2\delta}$ и β_{4a} субъединицами. Субъединица α_{1A} каналов Q-типа — вариант изменённой α_{1A} в P-типе каналов. Активируются каналы при выраженной деполяризации, инактивируются медленно. Q-каналы чувствительны к блокированию ω-конотоксином MVIIC, более чем каналы P типа. Располагаются в пирамидных клетках гиппокампа и зернистых клетках мозжечка. Основная функция — высвобождение нейротрансмиттера. R-тип Ca^{2+}-каналов состоит из: α_{1E} ($Ca_v2.3$), $\alpha_{2\delta}$ и β_{1b} субъединиц, обладает высоким порогом активации, быстро инактивируется изменением биопотенциала, блокируется пептидом из африканского тарантула Hysterocrates gigas — токсином SNX 482. Основная функция каналов — высвобождение трансмиттера и инсулина. Такие каналы локализуются в дендритах пирамидных клеток гиппокампа, зернистых нейронах мозжечка, клетках эндокринной системы. T-тип Ca^{2+} каналов (транзиторный) так же, как и другие типы каналов, может быть сформирован различными вариантами α_1-субъединиц. Содержащий в своей структуре α_{1G}-субъединицу ($Ca_v3.1$), он имеет наиболее короткий период восстановления после инактивации, обнаружен в

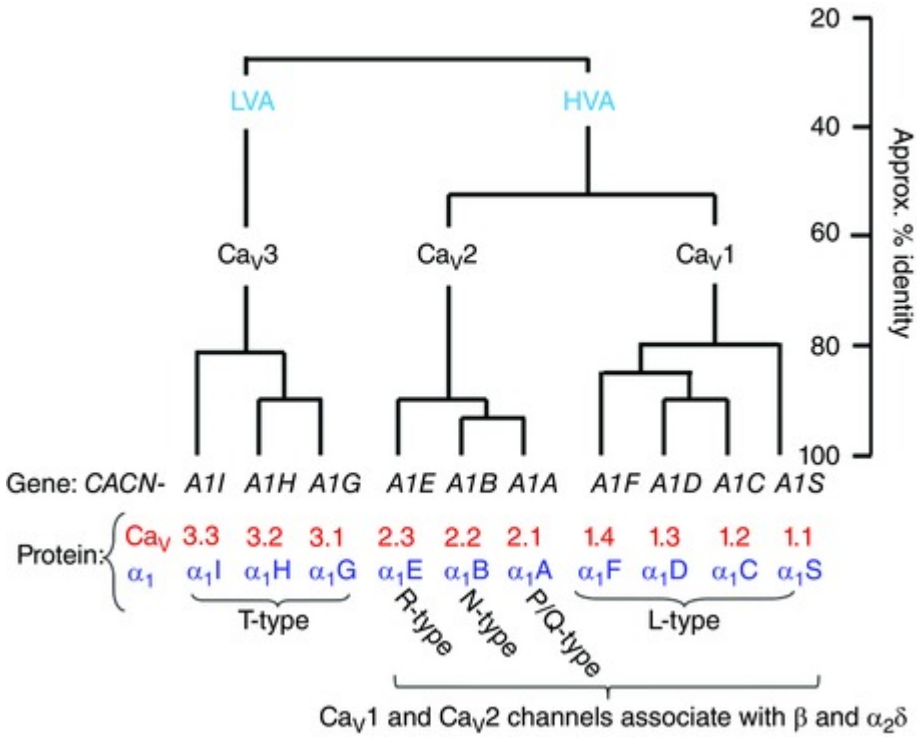
мозге, при этом участвует в генерации в таламокортикальных нейронах остроконечных волнообразных разрядов и пачек импульсов, опосредованных ГАМК-В рецепторами (GABABR). Канал, сформированный α_{1H} субъединицей ($Ca_v3.2$), имеет самое медленное восстановление после инактивации, широко распространён в печени и почках, а также в нервной, эндокринной системе и сердце. Участвует в генерации коротких пачек импульсов, подавление канала опосредовано β_2 и γ_2 субъединицами G-белка. Канал, сформированный α_{1I} субъединицей ($Ca_v3.3$), генерирует LVA токи, способствующие поддержанию электрической активности нейронов, поскольку активируются при слабой деполяризации, близкой к величине потенциала покоя. Локализуются в нейронах мозга. Такие каналы активируются и инактивируются медленнее, чем типичные каналы Т-типа. Характеризуются маленькой проводимостью (~8 пСм), что эквивалентно проводимости одиночного канала для ионов Ba^{2+} и Ca^{2+}. Активность канала регулируется с помощью рецепторов, связанных с G-белком, блокируются мибефрадилом, ионами никеля (особенно $Ca_v3.2$), куртоксином – пептидом яда южноафриканского скорпиона Parabuthus transvaalicus. Каналы Т-типа не чувствительны к дигидропиридинам [137].

Таблица 2

Фармакологическая классификация и физиологические функции потенциал-управляемых Ca^{2+}-каналов

Канал	Ток	Локализация	Специфические антагонисты	Клеточные функции
$Ca_v1.1$	L	Скелетная мышца, поперечные трубочки	Дигидропиридины, фенилалкиламины, бензодиазепины	Возбуждение-сокращение, связь
$Ca_v1.2$	L	Кардиомиоциты, эндокринные клетки, нейроны	Дигидропиридины, фенилалкиламины, бензодиазепины	Возбуждение-сокращение, связь, выделение гормонов, регуляция транскрипции, синаптическая интеграция
$Ca_v1.3$	L	Эндокринные клетки, нейроны, дендриты ретины	Дигидропиридины, фенилалкиламины, бензодиазепины	Выделение гормонов, регуляция транскрипции, синаптическая интеграция
$Ca_v1.4$	L	-	-	Нейротрансмиссия
$Ca_v2.1$	P/Q	Нервные терминалии, дендриты	ω-агатоксин IVA	Нейротрансмиссия
$Ca_v2.2$	N	Нервные терминалии, дендриты	ω-GTx-GVIA	Нейротрансмиссия
$Ca_v2.3$	R	Нейроны и дендриты	STX-482	Нейротрансмиссия

Senatore, A. и соавторы в своей работе публикуют филогенетическую классификацию (в её основе лежат первичные (генетические) последовательности Ca^{2+}-каналов), которую можно представить в виде филогенетического древа (рисунок 1) [47].



Примечание: Взаимосвязь между десятью α_1 субъединицами потенциал-управляемых кальциевых каналов, названия их генов и номенклатура белков.

Рисунок 1. Филогенетическая классификация потенциал-управляемых Ca^{2+}-каналов

Обобщённая классификация кальциевых Ca^{2+} каналов:

1)Потенциал-управляемые Ca^{2+}-каналы

Ca_v1.1 L-тип HVA (скелетные мышцы, поперечные трубочки)

Ca_v1.2 L-тип HVA (кардиомиоциты, эндокринные клетки, нейроны)

Ca_v1.3 L-тип HVA (эндокринные клетки, нейроны, дендриты ретины)

Ca_v1.4 L-тип HVA (сетчатка)

Ca_v2.1 P/Q-тип HVA (нервные терминалии, дендриты)

Ca_v2.2 N-тип HVA (нервные терминалии, дендриты)

Ca_v2.3 R-тип HVA (нейроны и дендриты)

$Ca_v3.1$ Т-тип LVA (нервные терминалии, дендриты, кардиомиоциты)

$Ca_v3.2$ Т-тип LVA (нервные терминалии, дендриты, кардиомиоциты)

$Ca_v3.3$ Т-тип LVA (нейроны и дендриты)

2)Другие Ca^{2+}-каналы (лиганд-управляемые и другие внутриклеточные)

А) Ca^{2+}-транспортные АТФазы

ATP2A1 (саркоплазматический и эндоплазматический ретикулум скелетных мышц, участвуют в быстром сокращении скелетных мышц).

ATP2A2 (саркоплазматический и эндоплазматический ретикулум скелетных мышц, участвуют в медленном сокращении мышц).

Изоформы: SERCA2a (сердце, скелетные мышцы)

SERCA2b (гладкомышечная ткань, не мышечные ткани)

ATP2B1
ATP2B2 } участвуют в активации каналов внутриклеточных мембран

ATP2B4

Б) Рианодиновые каналы выхода Ca^{2+} (RyR) (усиливают сигнал от соматических дигидропиридин-чувствительных кальциевых каналов)

RyR1 (саркоплазматический ретикулум, участвуют в возбуждении и сокращении скелетных мышц)

RyR2 (кардиомиоциты)

RyR3 (головной мозг)

В) Инозитол-1,4,5-трифосфатные (IP3) рецепторы (эндоплазматический ретикулум клеток мозга с функцией осцилляции сигнала)

Г) НАДФ рецепторы (регулируют высвобождение Ca^{2+} из тапсигаргин-нечувствительных запасов)

3) Ca^{2+}-сенсоры

А) Тип А (экспрессируются в фоторецепторных клетках)

В) Тип В (экспрессируются в нейронах)

NCS1 (нейрональный кальциевый сенсор-1) (ассоциирован с секреторными гранулами)

1.2. Общие сведения о строении кальциевых ионных каналов

1.2.1. Строение потенциал-управляемых Ca^{2+}-каналов

Потенциал-управляемые Ca^{2+}-каналы обладают сложной, неоднородной структурой, в основе которой лежит несколько белковых субъединиц (4–5). Субъединицы канала обладают структурно-функциональной специфичностью. Одна из них – α_1-субъединица является трансмембранной, образует проводящую пору канала и считается основной. Остальные – α_2-, δ-, β- и γ-субъединицы – осуществляют вспомогательные функции (рисунок 2) [2].

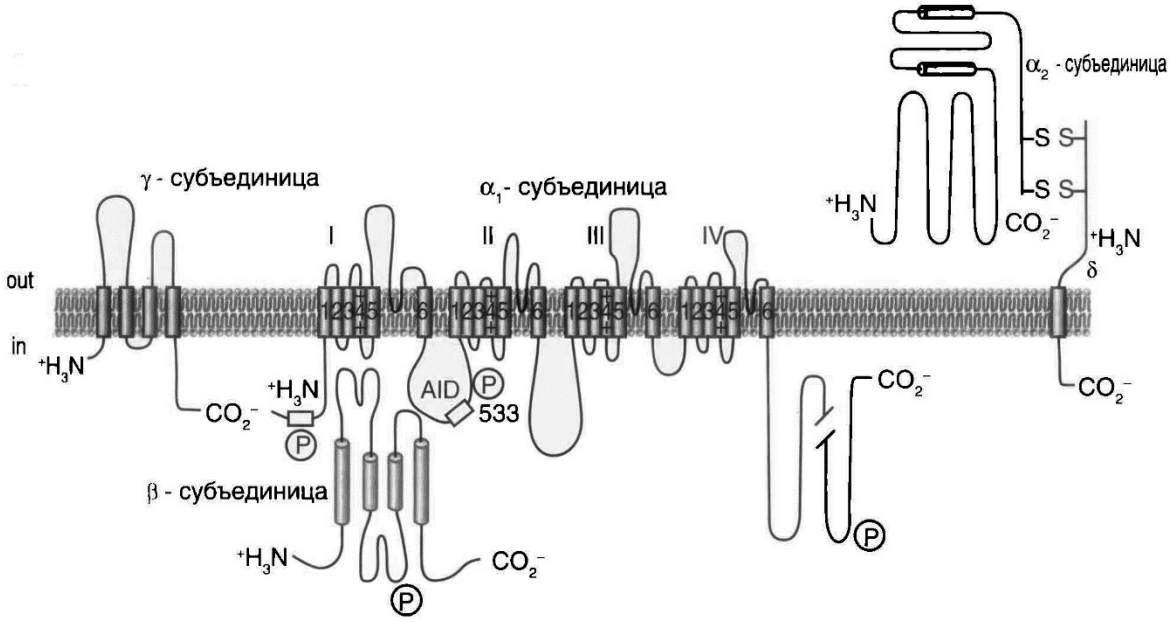
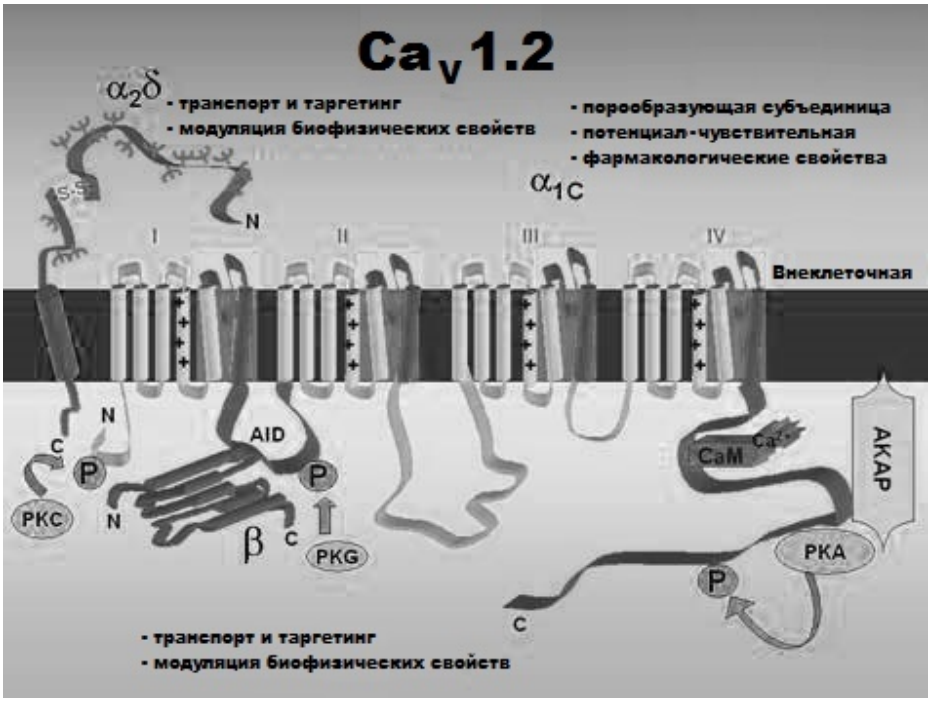


Рисунок 2. Планиметрическая модель потенциал-управляемого кальциевого канала [2].

A_2-субъединица расположена на внешней стороне мембраны, β-субъединица на внутренней, δ- и γ-субъединицы — трансмембранные. A_2- и δ-субъединицы за счёт дисульфидных связей образуют комплекс $\alpha_2\delta$. Структура потенциал-управляемых Ca^{2+}-каналов сердечных и гладких мышц состоит из 4 субъединиц (рисунок 3) [28].



Примечание: A1-субъединица образована четырьмя доменами (I–IV), каждый из которых состоит из 6 сегментов (S1–S6). Между сегментами S5 и S6 в каждом домене располагается петля, обеспечивающая проводимость и селективность канала. Посредством этого механизма канал способен отбирать Ca^{2+}, хотя содержание Na^{+} приблизительно в 100 раз больше, а диаметр этих ионов близок (Ca^{2+} 1,74Å; Na^{+} 2,04Å), соотношение поступления ионов Ca^{2+} и Na^{+} через канал – 1000:1. A_1-субъединица образует сенсор напряжения и ворота канала.

Рисунок 3. Планиметрическая модель потенциал-управляемого кальциевого канала кардиомиоцита ($Ca_v1.2$) [28].

Вспомогательные субъединицы $\alpha_2\delta$ и β-регулируют транспорт ионов Ca^{2+} через пору, образованную α_1-субъединицей, модулируют биофизические свойства канала. В-субъединица также играет роль в электромеханическом сопряжении в мышечных волокнах скелетных мышц. Г-субъединица выявлена в нейронах головного мозга, кардиомиоцитах и скелетных мышцах. Г-субъединица модулирует физиологические и фармакологические свойства канала, но её функции, в основном, связаны с существованием α_1-субъединицы.

А.Г. Камкин, И.С. Киселёва представили объёмную модель взаимодействий субъединиц потенциал-управляемого Ca^{2+}-канала (рисунок 4.) [2].

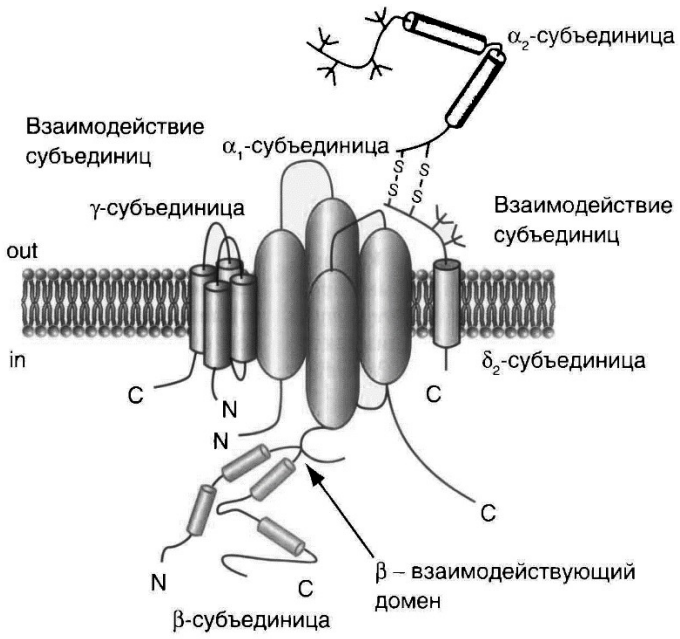


Рисунок 4. Объёмная модель взаимодействия субъединиц потенциал-управляемого Ca^{2+}-канала [2].

1.2.2. Строение других Ca^{2+}-каналов (лиганд-управляемых и других внутриклеточных)

1.2.2.1. Строение Ca^{2+}-транспортных АТФаз

Ca^{2+}-АТФазы являются одним из типов ионных насосов класса P. Как большинство представителей этого класса ионных насосов, они имеют простую структуру и состоят из четырёх трансмембранных полипептидных субъединиц – 2α и 2β (рисунок 5) [2].

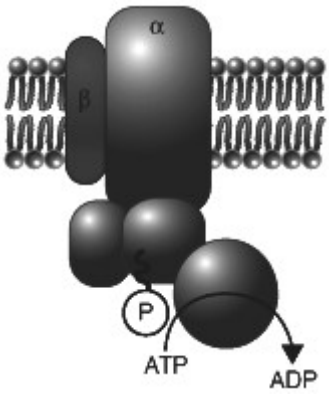
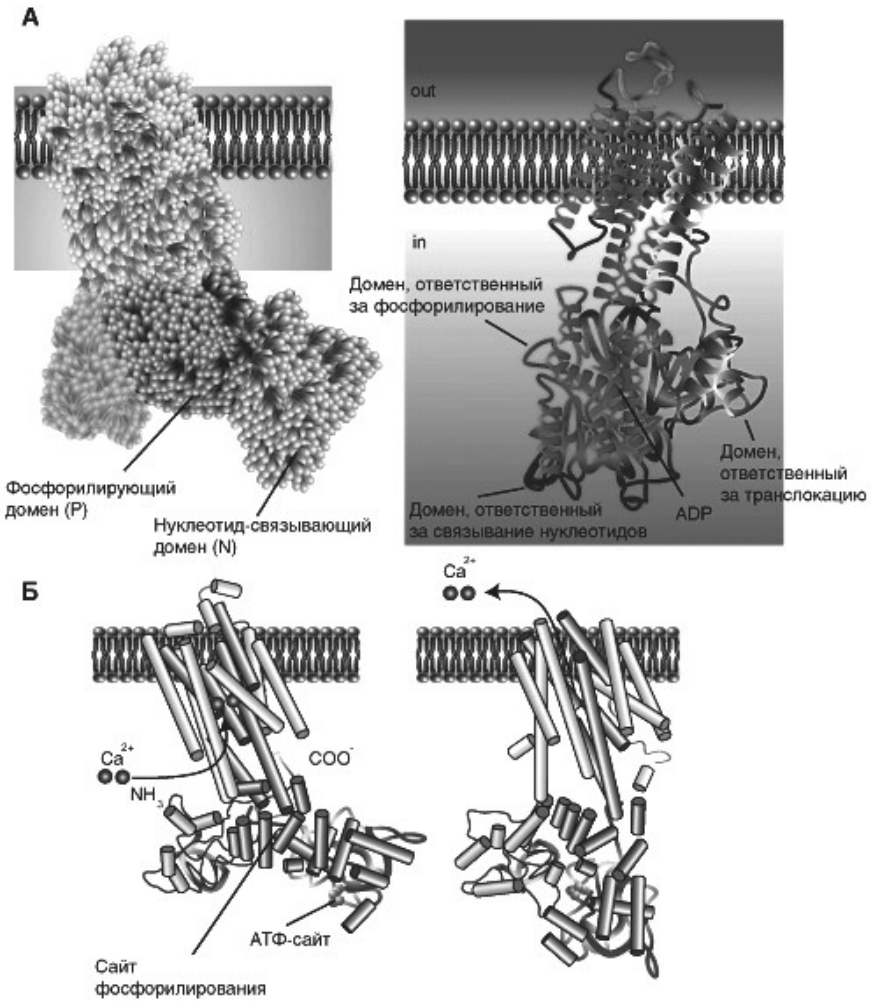


Рисунок 5. Схема строения АТФ-энергетических ионных насосов P-класса.

Бóльшая – α-субъединица фосфорилируется в течение процесса транспорта, сквозь неё перемещаются транспортируемые ионы (рисунок 6) [2].

Структурное разнообразие белков Ca^{2+}-АТФаз кодируется различными генами: *ATP2A1, ATP2A2, ATP2A3, ATP2B1, ATP2B2, ATP2B3, ATP2B4, ATP2C1*. Например, ген *ATP2A1* кодирует структуру белка Ca^{2+}-АТФазы сарко-/эндоплазматического ретикулума – SERCA1. Гены *ATP2A2* и *ATP2A3* – SERCA2 и SERCA3 соответственно. Белки Ca^{2+}-АТФаз плазматической мембраны кодируются генами *ATP2B1, ATP2B2, ATP2B3, ATP2B4* (PMCA1, PMCA2, PMCA3, PMCA4). *ATP2C1* кодирует белки Ca^{2+}-АТФазы, специфичной для мембраны аппарата Гольджи.



Примечание: А – молекулярная организация. Б – проведение ионов Ca^{2+} через молекулу Ca^{2+}-АТФазы

Рисунок 6. Молекулярная организация Ca^{2+}-АТФазы [2].

Кальциевая/кальмодулиновая АТФаза плазматической мембраны (PMCA – plasma membrane Ca^{2+}-ATPase) обеспечивает удаление ионов Ca^{2+} из клетки во внеклеточную среду, регулируя концентрацию внутриклеточного кальция. Высвобождение Ca^{2+} посредством данного механизма происходит медленнее, чем при работе Na^{+}/Ca^{2+}-обменных каналов, а её сродство к кальцию выше, что позволяет работать в условиях низких концентраций внутриклеточного кальция. (Высокие концентрации внутриклеточного кальция быстро выводятся из клетки благодаря работе Na^{+}/Ca^{2+}- обменных каналов плазмолеммы). Кальмодулин ингибирует фосфорилирование [88].

Кальциевая-АТФаза сарко-/эндоплазматического ретикулума – (SERCA — sarco-/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase) локализована в мембране саркоплазматического ретикулума мышечных клеток, обеспечивает перемещение Ca^{2+} из цитозоля внутрь саркоплазматического ретикулума при мышечной релаксации. В некоторых адипоцитах SERCA1 участвует в теплопродукции [120].

Кальциевая-АТФаза мембраны аппарата Гольджи (SPCA – Secretory Pathway Ca^{2+-}ATPase). Аппарат Гольджи динамически сохраняет свободные ионы Ca^{2+}, при помощи SPCA, перенося их из цитозоля в свой просвет, при необходимости ионы могут быть выведены обратно в цитозоль. SPCA также способна к транспорту Mn^{2+} [134]. Правильное функционирование SPCA1 оказывает значительное влияние на вклад аппарата Гольджи в гомеостаз клетки [138].

Благодаря работе Ca^{2+}-АТФаз концентрация ионов Ca^{2+} в цитоплазме поддерживается на гораздо меньшем уровне, чем во внеклеточной среде [39].

1.2.2.2. Строение рианодиновых каналов выхода Ca^{2+}

Рианодиновые каналы выхода Ca^{2+} (RyRs – Ryanodine receptors) являются внутриклеточными кальциевыми каналами возбудимых тканей, таких как мышечная и нервная. Рианодиновые каналы млекопитающих (Mammalia) имеют 3 основные изоформы, которые локализованы в разных тканях и участвуют в разных путях, связанных с высвобождением кальция из разных внутриклеточных органелл. Изоформа RyR1, в основном, экспрессируется в скелетных мышцах. Изоформа RyR2 в миокарде и является основным внутриклеточным регулятором кальций-зависимого высвобождения кальция (CICR – calcium-induced calcium release) в клетках животных и человека. RyR3 имеет более широкое распространение, но, в основном, экспрессируется в клетках головного мозга (рисунок 7) [99].

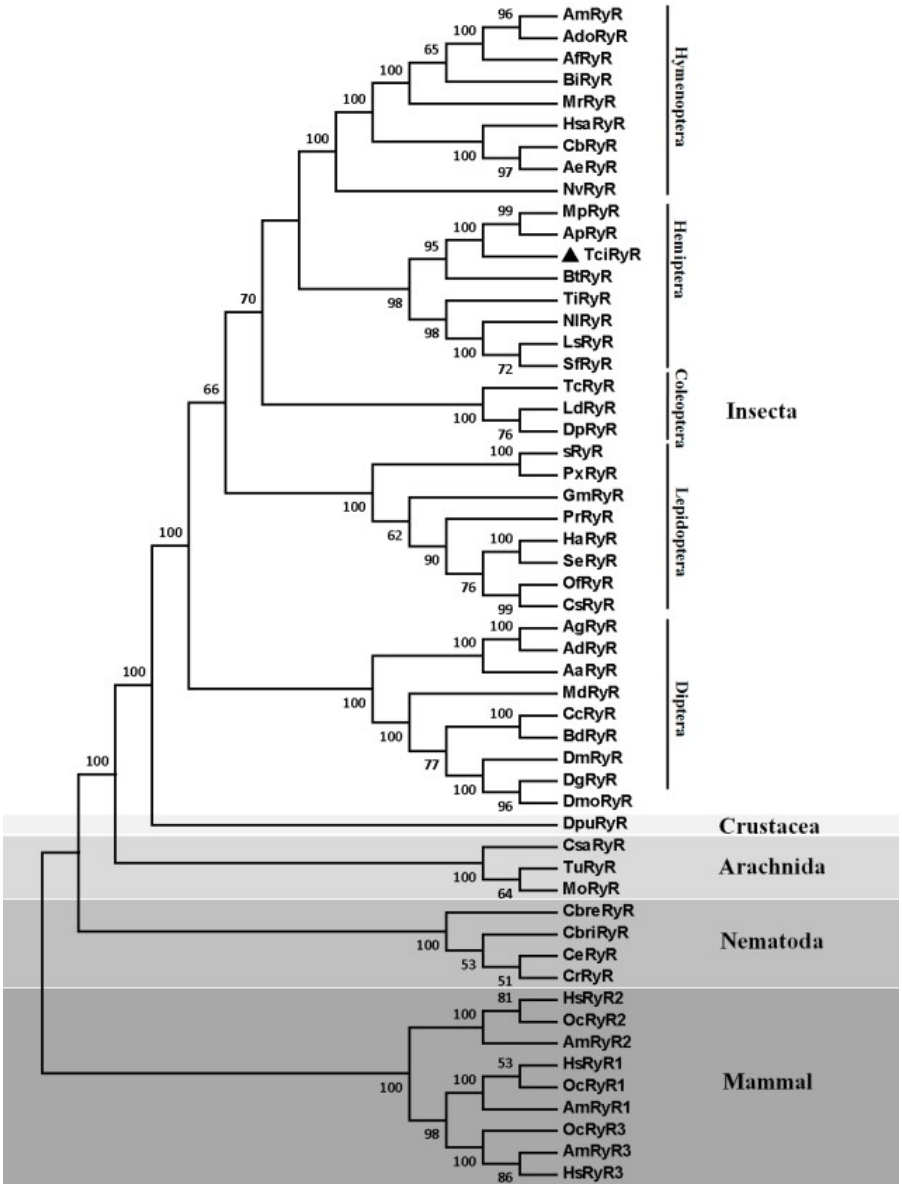
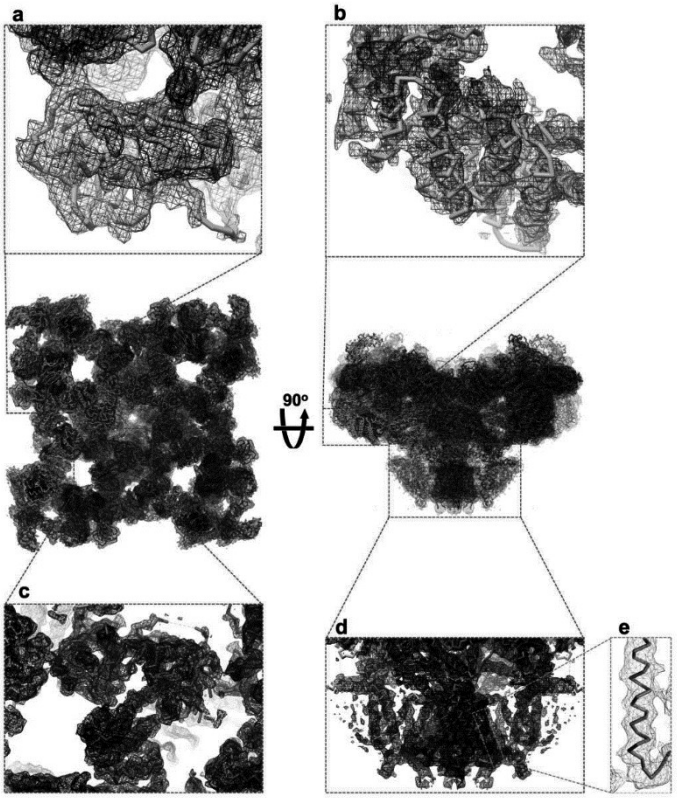


Рисунок 7. Филогенетическое древо семейства рианодиновых каналов [99].

Архитектуру RyR1 слагают 4 протомера, окружающих центральную трансмембранную пору, совпадающую с осью симметрии канала четвёртого порядка. Каждый протомер выстраивается вокруг вытянутой петли из повторяющихся α-соленоидов. Эта петля имеет специфическое строение, её образуют три повторяющихся смежных сегмента, общим количеством 2217 аминокислотных остатков, что составляет 56% от их общего количества в полипептиде. А-соленоид с N-конца покрыт двумя β-трефойл доменами NTD-A и NTD-B, которые формируют центральное цитозольное преддверие; С-конец

образует складку в трансмембранной поре. Петля α-соленоида содержит 5 основных доменов: три SPRY (SPRY 1–3) и две пары повторяющихся RyR (RY12 и RY34, последний содержит регуляторный участок PKA-фосфорилирования (PKA-протеинкиназа A) S2843). Имеются и участки меньших размеров, в том числе EF-hand pair [15] в котором предположительно находится кальций-связывающий домен (CBD – Ca^{2+} binding domain) рианодиновых рецепторов (RyRs) [131].

RyR имеют грибовидную четырёхчленную структуру (4 протомера), при этом 80% всей массы находится в цитозоле, как шляпка гриба, «ножка» которого располагается в мембране сарко-/эндоплазматического ретикулума (рисунок 8) [131].



Примечание: a,b – кальстабин 2; c – мост соленоида; d – N-концевой домен; e – область поры [131].

Рисунок 8. Строение RyR на примере RyR1

1.2.2.3. Строение рецепторов к инозитол-1,4,5-трифосфату (IP_3R)

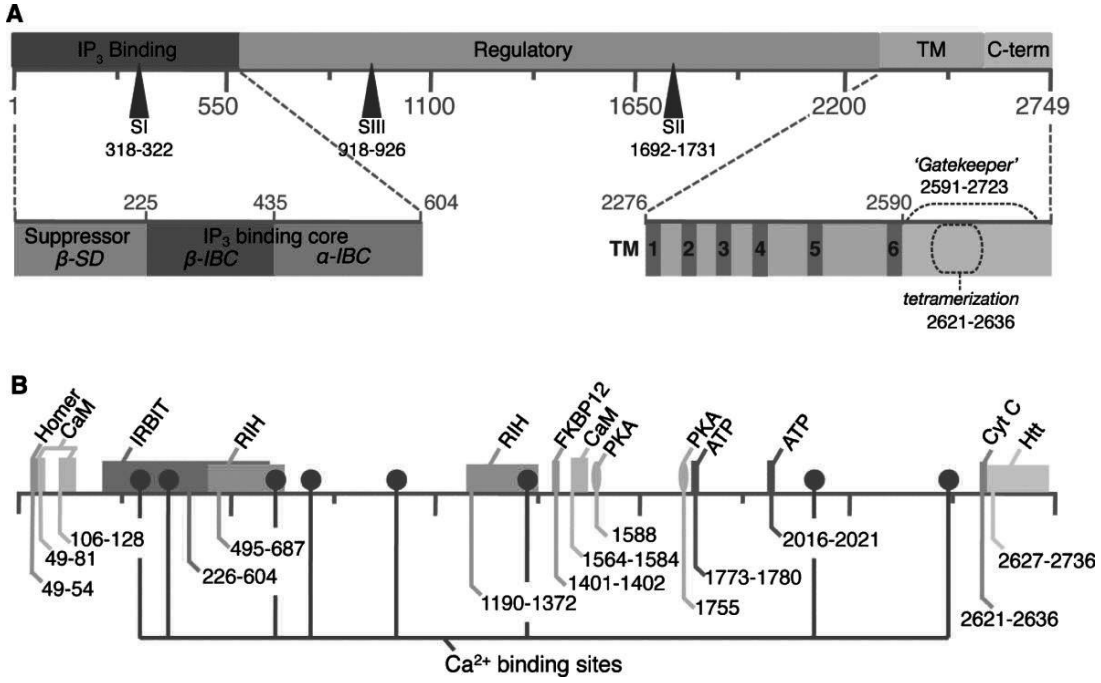
В отличие от RyR, являющихся каналами высвобождения Ca^{2+} в основном в поперечно полосатой мускулатуре, IP_3R обнаруживаются в эндоплазматическом ретикулуме всех типов клеток, но экспрессируются с самой высокой плотностью в клетках Пуркинье мозжечка. Эти разновидности каналов (RyR и IP_3R) идентичны между собой своей С-концевой областью на 30–40% [112, 115]. Это структурное соответствие обеспечивает много общих функциональных черт между IP_3R и каналами RyR, создаёт общую молекулярную архитектуру пути проведения иона. Как RyRs, так и IP_3R каналы высвобождения кальция сформированы большими тетрамерными структурами с молекулярной массой ~1,3 MDa для IP_3Rs и ~2,3 MDa для RyRs. В основе структуры IP_3R – необычно крупный мембранный белок, включающий четыре субъединицы ~2700 аминокислотных остатка каждая. Обнаружены гены млекопитающих, кодирующие три изоформы IP_3R (типы 1-3), идентичные на ~70%, идентичность которых увеличивается в трансмембранной области до ~90%. Каждый тип отличается по модуляции экзогенными и эндогенными лигандами и распределением в тканях. Разнообразие IP_3R, в первую очередь, обеспечено альтернативным сплайсингом гена, отвечающего за цитоплазматический регион, а также, благодаря гомо- и гетеро- тетрамерным ассоциациям субъединиц IP_3R, образующим функционирующий канал.

Эти генные подсемейства соответствуют подтипам каналов высвобождения Ca^{2+}, которые, прежде всего, основаны на функциональных и фармакологических критериях, а не строгом анализе отношений структуры и функции [75, 79].

Белок IP_3R условно возможно подразделить на четыре функциональные области (рисунок 9): IP_3-связывающий регион (IP_3-binding region) – представляет собой 600 аминокислот N-конца рецепторного белка; центральный регуляторный регион (modulatory region), содержащий участок для связывания с регуляторными молекулами; С-конец, являющийся канал-образующим (2276–2589 аминокислотных остатков), содержит шесть предполагаемых трансмембранных

доменов, оставшаяся часть С-конца содержит 160 аминокислотных остатков [100, 130]. Предсказанная мембранная топология IP_3R предполагает, что и N-и С-концы являются внутриклеточными и формируют большую цитоплазматическую часть канала IP_3R, составляют ~90 % массы белка.

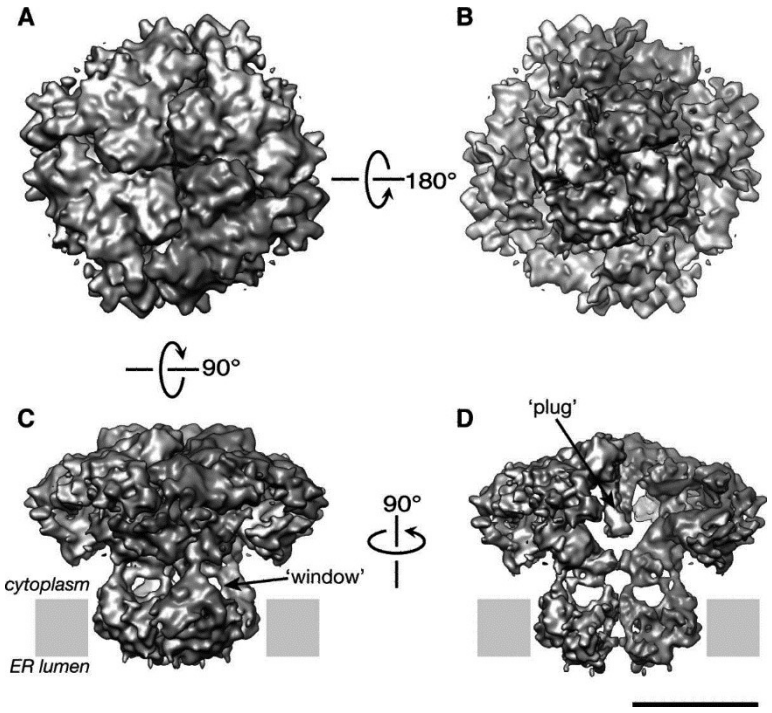
У IP_3R существует всего один участок связывания IP_3 (на одной субъединице) и множество участков для связывания Ca^{2+} (рисунок 9). Поэтому влияние регуляторных белков и разнообразие изоформ IP_3R имеет большое значение для сигнальных механизмов клетки с участием Ca^{2+}.



Примечание: А – Четыре ключевых области в первичной последовательности IP_3R, выделены: лиганд-связывающий участок на N-конце; модуляторная область (большая центральная); порообразующий участок; С-конец, формирующий ворота канала; SI, SII и SIII являются соединительными участками. В – Предполагаемые связывающие участки для нескольких модуляторных молекул IP_3R в основной последовательности белка рецептора: CaM - кальмодулин; IRBIT – IP_3R связывающий белок, высвобождающийся с IP_3; FKBP12 – 12-kDa FK506-связывающий белком; PKA – протеинкиназа А, зависимая от цАМФс Cyt C – цитохром С; Htt – хантингтин; RIH – области соответствия RyR/IP_3R. [112].

Рисунок 9. Топология структурно-функциональных доменов первичной последовательности IP_3R [112].

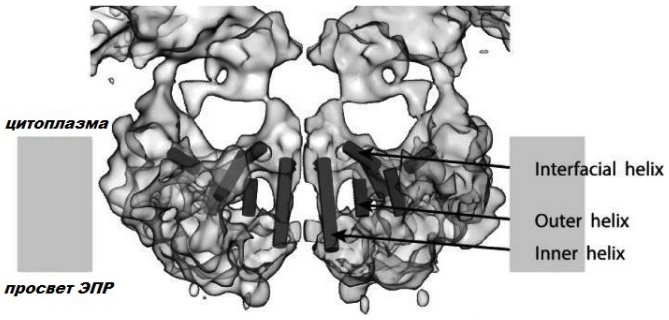
Трёхмерное строение каналов IP_3R напоминает форму гриба – большой цитоплазматический участок, связанный с маленьким трансмембранным участком через стеблеподобное уплотнение (рисунок 10). Трансмембранный участок RyR1 и IP_3R1 схожи, однако цитоплазматический участок имеет отличия не только в размерах, но и в строении центральных ворот (central plug) (видимых даже на двухмерных изображениях). Это подтверждает идею того, что всё разнообразие каналов выхода Ca^{2+} и их способность отвечать на различные клеточные стимулы закодировано в области цитоплазматического участка белка канала. Так же данный участок является мишенью для регуляторных молекул (рисунок 9) [40, 75, 79].



Примечание: Воспроизведение поверхности cryo-EM по картам плотности IP_3R1 с использованием промежуточного разрешения (EMD-5278) IP_3R1 белок визуализируется в условиях закрытого состояния канала, а также в отсутствие первичных лигандов IP_3 и Ca^{2+}. Воспроизведена структура поверхности в трёх ортогональных проекциях: со стороны цитоплазмы (A), со стороны просвета (B) вид сбоку в толще мембраны (C, D). Одна из субъединиц выделена тёмным; (D) две противостоящие субъединицы, позволяют визуализировать внутренние особенности в структуре канала. Масштаб - 100 Å [59, 146].

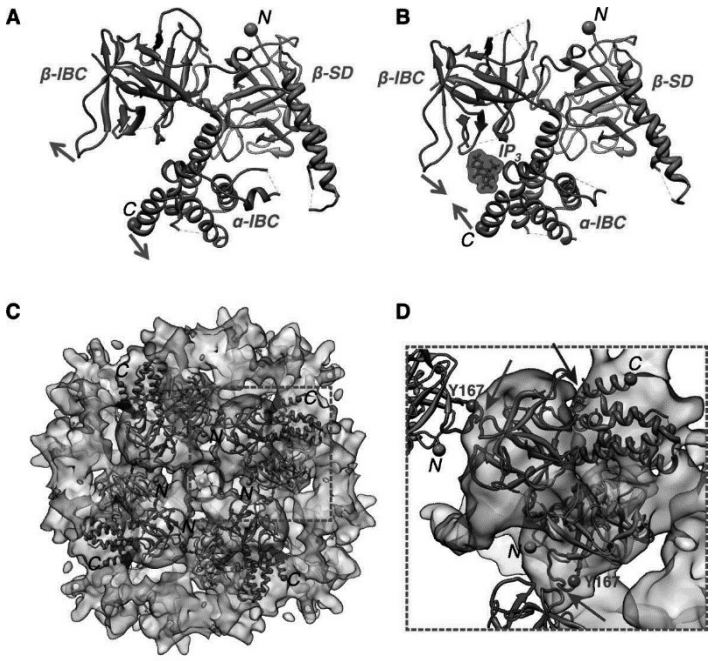
Рисунок 10. Трёхмерная структура тетрамерного IP_3R1 канала (Cryo-EM – технология).

Трансмембранный участок канала включает 6 спиралей (рисунок 11). Четыре спирали (одна от каждой субъединицы) формируют спиральный пучок вокруг центральной оси. Данная структура напоминает вигвам, направленный вершиной на цитоплазматический регион. Одна из спиралей соединяет трансмембранный и цитоплазматический участки и расположена почти параллельно плоскости мембраны (рисунок 12).



Примечание: Технология CRYO-EM, две противостоящие субъединицы IP_3R1 (вид сбоку). α-спирали изображены цилиндрами. Масштаб – 50 Å. Interfacial helix – поверхностная спираль, Outer helix – внешняя спираль, Inner helix – внутренняя спираль.

Рисунок 11. Трансмембранный участок IP_3R1 крупным планом.



Примечание: (A – B) представлена кристаллическая структура Apo-и IP_3-связывающих доменов лиганд-связывающей области канала IP_3R1 (ID PDB: 3T8S): β-SD - супрессор IP_3-связывающего домена (структура в виде трилистника); α-IBC и β-IBC – повторяющиеся области, образующие ядро IP_3-связывающего домена; N- и C-концевые-остатки показаны в виде сфер и промаркированы. Участок между областями α-IBC и β-IBC претерпевает конформационные изменения после связывания с IP_3 (обозначено стрелками в B) [84, 129]. (C – E) проекция твёрдой кристаллической структуры лиганда на N-концевую область в Apo конформации (ID PDB: 3TBS) CRYO-EM карта плотности тетрамерного IP_3R1 канала (EMD-5278) [59, 146]. (C) Структура цитоплазматической области тетрамера, вид из цитоплазмы. (D) Увеличенное изображение области выделенной пунктирной линией в (C). Контакт петель между соседними субъединицами (левая и нижняя стрелки). Положение остатка «горячей точки» Y167 обозначено сферой в пределах петли SD. IP_3-связывающий карман (отмечен верхней стрелкой).

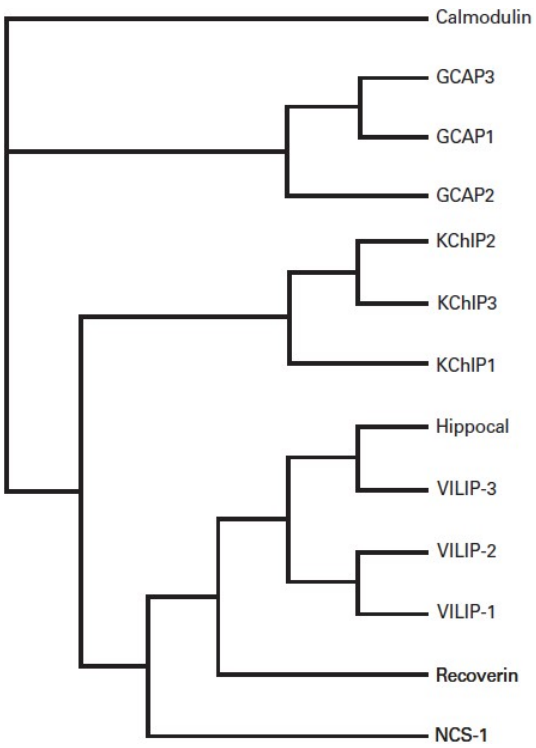
Рисунок 12. Структура лиганд-связывающего N-конца IP_3R1

1.2.3. Строение Ca^{2+}сенсоров

Кальциевые сенсоры – внутриклеточные белки малых размеров (Пример: Кальмодулин – 17 kDa), содержащие в своей структуре EF-hand механизм, позволяющий захватывать ионы Ca^{2+} [56]. В основе их родства (схожести аминокислотной последовательности) важную роль играет последовательность аминокислот самих EF-hand доменов. Кальциевые сенсоры, благодаря этим доменам, способны улавливать малейшие изменения в концентрации цитозольного Ca^{2+} [26]. Присоединение Ca^{2+} к большинству таких белков вызывает их конформационные изменения, что играет важную роль во многих процессах клеточного функционирования [26]. Одним из семейств Ca^{2+}-сенсоров является NCS-семейство (нейрональных Ca^{2+}-сенсоров).

Открыто и секвенировано большое количество NCS-белков, для их обозначения используется различная терминология. К сожалению, универсальной терминологии и базы данных нет, что, иногда, приводит к повторному открытию одного и того же белка и появлению нового названия [26].

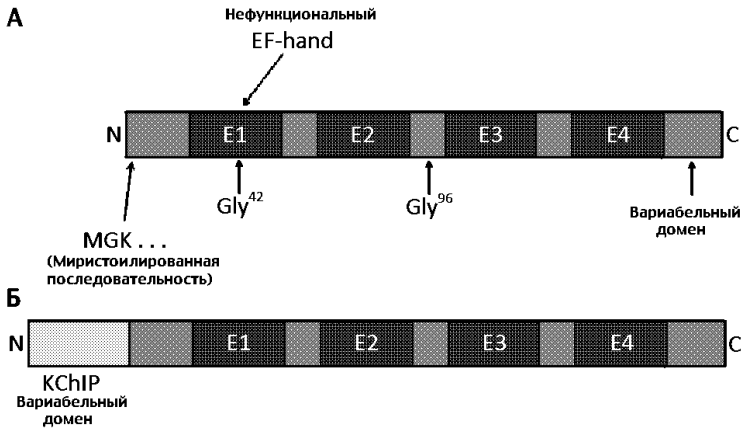
Благодаря секвенированию, NCS-белки возможно подразделить на несколько подсемейств: Фриквенин (NCS-1), визинино-подобные белки (VILIPS), Рековерины, белки, активирующие гуанилат-циклазу (GCAPs), белки, взаимодействующие с K_V-каналами (KChlPs). На основе подобия аминокислотных последовательностей учёные университета Висконсина создали филогенетическое древо членов NCS-семейства (рисунок 13) [7]. Белки NCS-семейства имеют 25–35% сходство с общеизвестным кальмодулином. Таким образом, установлено, что исконным членом семейства NCS является Фриквенин [26].



Примечание: Общепризнанное, краткое эволюционное древо членов NCS-семейства [15].

Рисунок 13. Эволюционная связь NCS-белков человека.

Все члены семейства обладают четырьмя EF-hand доменами (рисунок 14) [26]. Эти домены состоят из 12 аминокислотных петель, внутри которых Ca^{2+} взаимодействует с α-спиралями с обеих сторон. У различных NCS-белков только 2 или 3 из них способны связывать Ca^{2+}, что зависит от конкретного члена семейства [54].



Примечание: Все члены обладают четырьмя EF-hand (чёрный), из которых EF-1 является нерабочим. В KChIPs 2 и 3 (б) имеют переменное N-концевое удлинение (светлый), в то время как другие члены семейства имеют N-концевую миристоилированную последовательность (а). Аминокислотные остатки Gly42 и Gly96 сохраняются у всех членов семейства, являются сайтами вращения, возникающего вследствие связывания Ca^{2+} рековерином.

Рисунок 14. Принципиальная схема доменной организации NCS-белков [26].

Исследование белка Рековерина привело к созданию концепции «Ca^{2+}-миристоильного выключателя», ключевой аспект активации которого – транслокация миристоильной группы в липидный бислой плазматической мембраны в результате присоединения Ca^{2+} (рисунок 15) [26]. Подобная модель актуальна и для других NCS, например, VILIP-3 (нейрокальцин-δ) и гиппокальцина. Однако, есть и члены семейства, не подчиняющиеся этой модели – миристоилированный NCS-1 способен соединяться с мембраной в условиях отсутствия Ca^{2+}. Роль миристоильной группы в NCS-белках до конца не известна [26].

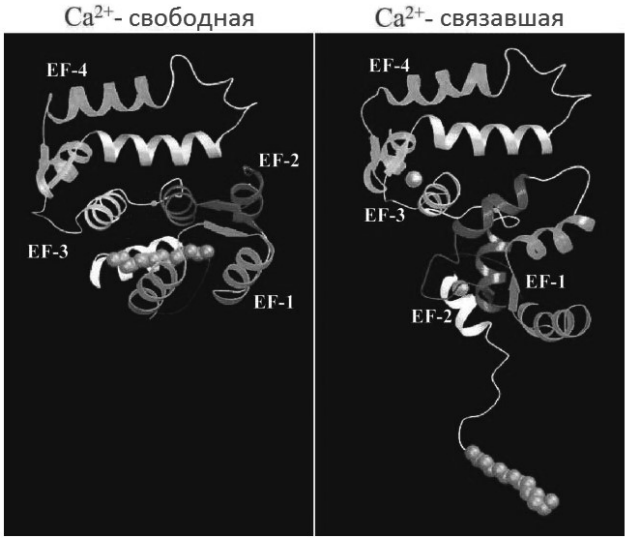


Рисунок 15. Структура миристоилированного рековерина в Ca^{2+}-свободной и Ca^{2+}-связавшей форме.

При соединении с Ca^{2+} миристоильная группа «выскакивает» из белкового кармана, основные конформационные изменения в N-конце рековерина видны при сравнении двух структур.

1.3. Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в мышечном сокращении

1.3.1 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в сокращении гладкой мускулатуры сосудов

Гладкая мускулатура играет важную роль в функционировании сосудов. Известно, что Ca^{2+} является основным регулятором сокращения гладкой мускулатуры, выявлены его источники, определены цитозольные уровни, гомеостатические механизмы и субклеточное распределение. Установлено, что стимуляция Gq-белок-ассоциированных мембранных рецепторов активирует фосфолипазу С и способствует гидролизу мембранных фосфолипидов до инозитол 1,4,5-трифосфата (IP3) и диацилглицерола (DAG). IP3 стимулирует первоначальное высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума, что, также поддерживается притоком Ca^{2+} через потенциал-управляемые, лиганд-зависимые каналы Ca^{2+}, каналы транзиторного рецепторного потенциала и обеспечивается посредством работы кальциевых сенсоров (store-operated channels) [86].

Каналы Ca^{2+} L-типа широко экспрессируются в артериальных клетках гладкой мускулатуры, и их зависящие от биопотенциала свойства оказывают значимое влияние на тонус. Недавние исследования отметили, что не только Ca^{2+}-каналы L-типа экспрессируются на мембранах гладкомышечных клеток, выявлены и другие подтипы. При помощи анализа mRNA удалось доказать, что α_1-субъединица каналов L-типа ($Ca_v1,2$) и T-типа ($Ca_v3.1$, $Ca_v3.2$) Ca^{2+} присутствует на гладкомышечных клетках сосудов. Также установлено, что эти структуры имеют электрические характеристики, соответствующие свойствам каналов Ca^{2+} L- и T-типа. Используя блокаторы Ca^{2+}-каналов показано, что их свойства отличаются и их активация зависит от величины гидростатического давления. Это подтверждает то, что каналы Ca^{2+} L- и T-типа экспрессируются в гладких мышцах сосудов головного мозга и могут быть функционально

независимы друг от друга. Ионные токи через эти каналы способствуют повышению миогенного тонуса, хотя вклад каждого типа неравный [71].

Защита от чрезмерного повышения цитозольной концентрации Ca^{2+} осуществляется такими механизмами удаления, как кальциевый насос и Na^{+}/ Ca^{2+}-обменник плазмолеммы, которые стимулируются ионами Ca^{2+}. Поглощение цитозольного Ca^{2+}, помимо этих механизмов, также происходит в саркоплазматическом ретикулуме и митохондриях. Координированная работа этих структур помогает создавать необходимую концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме.

Увеличение цитозольной концентрации Ca^{2+} способствует образованию комплекса Ca^{2+}-кальмодулин в том числе каналами Т-типа [31]. Кальмодулин активирует киназу легких цепей миозина (MLC) и вызывает её фосфорилирование, после чего взаимодействие актина и миозина обеспечивает сокращение гладкой мускулатуры сосудов.

Предполагают, что диссоциации в отношениях между цитозольной концентрацией Ca^{2+}, фосфорилированием MLC и силой сокращения обеспечиваются дополнительными механизмами сенсибилизации к Ca^{2+}. Образовавшийся DAG активирует изоформы протеин-киназы С (PKC). Они, прямо или опосредованно через митоген-активированную протеинкиназу, фосфорилируют актин-связывающие белки кальпонин и кальдесмон, тем самым, повышая чувствительность миофиламентов к Ca^{2+}. В свою очередь, PKC-опосредованное фосфорилирование PKC-потенцированного ингибитора фосфатазы-17 (CPI-17) и RhoA-опосредованная активация Rho-киназы (ROCK) ингибируют фосфатазу MLC, усиливают фосфорилирование MLC и сокращение гладкой мускулатуры [86].

Обнаружено, что нарушения в механизмах обработки Ca^{2+} и активности PKC и ROCK были связаны с сосудистой дисфункцией при многих сосудистых нарушениях. Считают, что модуляторы концентрации цитозольного Ca^{2+}, активности PKC и ROCK могут быть полезны для коррекции повышенной вазоконстрикции, при сосудистых заболеваниях (рисунок 16) [86].

Рисунок 16. Схема механизма сокращения гладкой мускулатуры сосудов

В клетках эндотелия лёгочной артерии каналы Ca^{2+} и внутриклеточная концентрация Ca^{2+} контролируют высвобождение вазорелаксантных факторов, таких как оксид азота, и участвуют в регуляции артериального давления в лёгочной артерии. Изучено влияние потенциал-управляемых Ca^{2+} -каналов Т-типа (T-VGCCs, $Ca_v3.1$ канал) на эндотелий-зависимую релаксацию внутрилёгочных артерий. Установлено, что ацетилхолин (Ach) индуцирует NO- и эндотелий-зависимую релаксацию гладкой мускулатуры лёгочных артерий. Ацетилхолин также увеличивает в эндотелиальных клетках концентрацию Ca^{2+} и NO. Каналы $Ca_v3.1$ были обнаружены в эндотелиальных клетках. Выявлено, что T-VGCC (в основном каналы $Ca_v3.1$) принимают участие в регуляции тонуса сосудов лёгких, посредством изменения концентрации Ca^{2+} и Ацетилхолин эндотелия [143].

Показано, что альдостерон через свои рецепторы модулирует экспрессию и функцию $Ca_v1.2$ в сосудистой стенке. Его эффекты реализуются на уровне генома, за счёт альтернативных промоторов, обеспечивающих транскрипцию и последующую трансляцию функционально значимых белков Ca^{2+}-каналов, обладающих разной экспрессией. Участие альдостерона в регуляции гена $Ca_v1.2$ с участием длинного сердечного промотора $Ca_v1.2$-LNT подтверждается снижением чувствительности сосудов к блокатору Ca^{2+}-каналов – нифедипину [127].

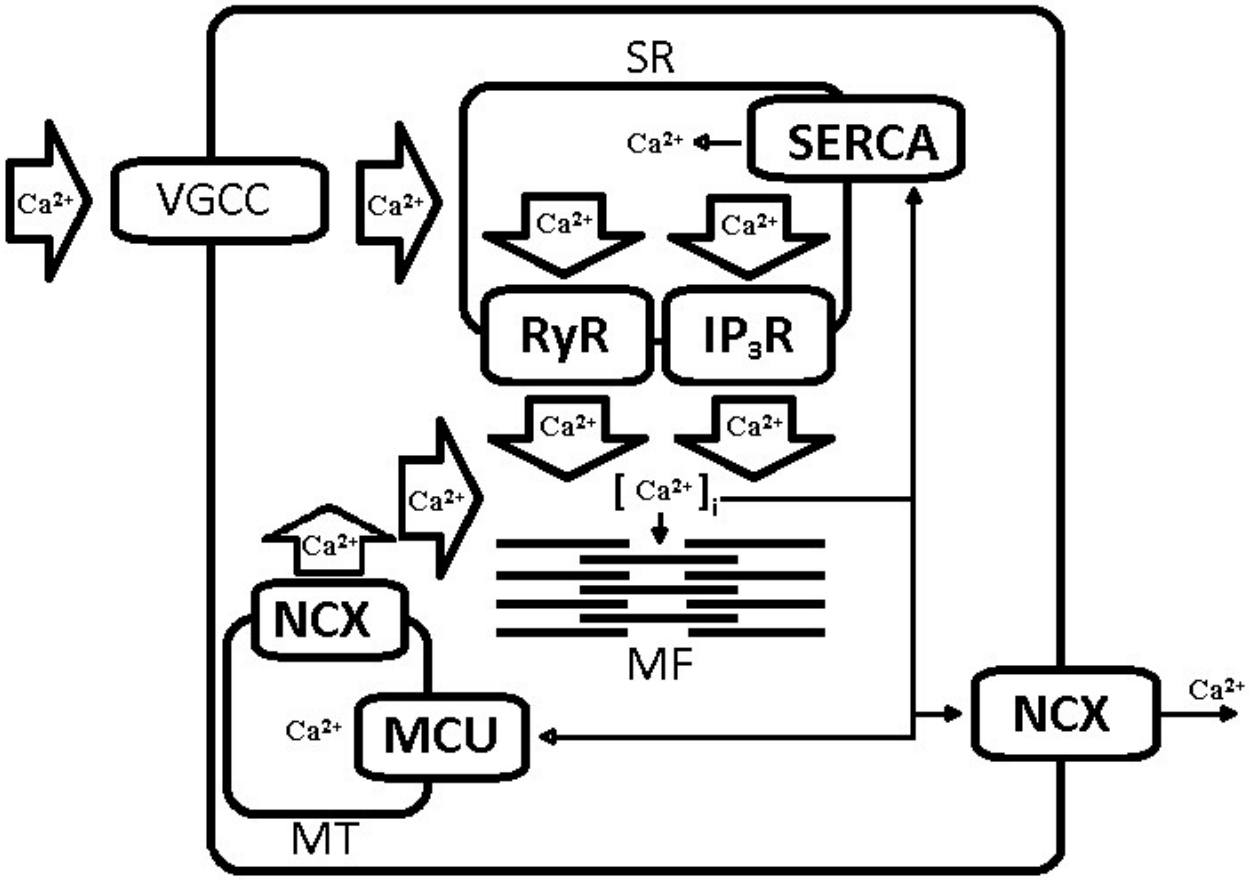
1.3.2 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в сокращении кардиомиоцитов

Известно, что Ca^{2+} играет ключевую роль в функциях сердца. В их реализации принимает участие ряд каналов клеточной мембраны, внутриклеточных кальциевых каналов и транспортёров (рисунок 17). В сердечной мышце приток кальция при деполяризации потенциала действия инициирует последовательность событий, которые приводят к сокращению [23, 104]. Для начала сокращения требуется увеличение внутриклеточного кальция выше концентрации покоя приблизительно от 100 нМ до 1 мкМ [62, 136]. При нормальной функции, для ответа необходим приток кальция через каналы Ca^{2+} L-типа ($Ca_v1.2$, LTCC), однако, при определённых патологических состояниях, когда саркоплазматический ретикулум перегружен, триггером может послужить и саркоплазматический ретикулум [117, 155]. Увеличение внутриклеточного кальция затем вызывает дальнейшее высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулума через рианодиновые рецепторы (RyR). Выделение кальция может быть дополнительно усилено активацией инозитолтрифосфатных рецепторов (IP_3R) [78, 94]. Этот процесс амплификации, называемый «кальций-зависимым высвобождением кальция», обеспечивает быстрое и значительное увеличение внутриклеточного кальция, которое необходимо для сокращения (рисунок 17).

Сокращение происходит в результате сложного взаимодействия между сократительными белками. Волокна сердечной мышцы формируются из ряда

параллельных фибрилл. Эти фибриллы состоят из перекрывающихся толстых нитей, преимущественно из миозина, и тонких нитей, состоящих в основном из актина и тропомиозина. Кальций, высвобождаемый из саркоплазматического ретикулума, связывается с тропонином С, присутствующим на тонких нитях. Это приводит к аллостерической модуляции тонкопленочного тропомиозина, который разблокирует ряд участков связывания миозина с толстыми нитями, позволяющему миозину, приводимому в действие гидролизом АТФ, перемещаться по этим сайтам связывания и вызывать сокращение мышц [147].

Удаление цитозольного кальция вызывает релаксацию мышечных волокон. Поглощение кальция в хранилища саркоплазматического ретикулума происходит преимущественно с помощью кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума Ca^{2+}-ATPase 2a (SERCA 2a). Оставшийся кальций удаляется через Na^{+}/Ca^{2+}-обменник (NCX) или попадает в митохондрии с помощью митохондриального кальциевого унипортера (MCU) (рисунок 17) [135, 136]. «Выделение кальция, вызванное кальцием» считается базовым триггером сокращения в сердце, приток кальция является основой сокращения.



Примечание: VGCC – потенциал-управляемые кальциевые каналы; SR – саркоплазматический ретикулум; SERCA – Кальциевая АТФаза саркоплазматического ретикулума; RyR – рианодиновые каналы выхода Ca^{2+}; IP_3R – инозитолтрифосфатные рецепторы; NCX – Na^+/Ca^{2+}-обменник; MCU –митохондриальный кальциевый унипортер; MT – митохондрии; MF – Миофибриллы.

Рисунок 17. Механизм сокращения кардиомиоцитов

Выявлено, что каналы Ca^{2+} Т-типа играют роль в онтогенезе сердца.

Установлено, что $Ca_v3.2$ каналы Ca^{2+} Т-типа лежит в основе функционирования эмбриональной сердечной мышцы. Выяснили, что экспрессия $Ca_v3.2$ преобладает по сравнению с $Ca_v3.1$ в эмбриональном периоде, а в зрелом возрасте, напротив, $Ca_v3.1$ больше чем $Ca_v3.2$. Переключение же субтипов транскриптов с $Ca_v3.2$ на $Ca_v3.1$ происходит в перинатальный период [38].

Установлено, что кальциевые каналы L-типа (LTCC) регулируют введение кальция в кардиомиоциты. В свою очередь CACNB2 (β_2) вспомогательные субъединицы LTCC взаимодействуют с порообразующей субъединицей CACNA и модулируют кинетику канала. β_2 имеет связь с мембранной гуанилат-киназой (MAGUK). Основная роль белков MAGUK заключается в создании каркасных клеточных соединений и мультипротеиновых комплексов.

Доказано, что отсутствие $\beta_{2.1}$-субъединицы LTCC компрометирует сердечную функцию и ведёт к гибели эмбрионов. Морфологические исследования показали, что $\beta_{2.1}$ вносит вклад в размер сердца, регулируя скорость пролиферации желудочков, а также модулируя переход наружных клеток кривизны в удлинённую форму клеток в период баллонной камеры. Кроме того, $\beta_{2.1}$-истощенные кардиомиоциты не могут накопить N-кадгерин на мембране и легко диссоциируют от соседних интактных миоцитов при стрессовых воздействиях.

Предполагают, что $\beta_{2.1}$-субъединица может функционировать в сердце в качестве мембранной гуанилат-киназы для поддержания связей на основе N-кадгерина, обеспечивающих целостность сердечной трубки [149].

В исследованиях с использованием блокаторов потенциал-управляемых кальциевых каналов (VGCC) Ca^{2+} L-типа и T-типа установлено, что они индуцируют стресс эндоплазматического ретикулума, который в последствие способен провоцировать как индукцию, так и ингибирование макроавтофагии, в зависимости от жизнеспособности клеток. Таким образом, установлено, что VGCC являются регуляторами аутофагии в сердечной мышце, обнаружены влияния блокаторов VGCC на гомеостаз кардиомиоцитов, которые могут лежать в основе как вредных, так и кардиозащитных эффектов [148].

1.4. Общие сведения о физиологической функции белковых субъединиц кальциевых потенциал-управляемых каналов и их генетическом полиморфизме у здоровых и больных людей

1.4.1 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в патологии сердечно-сосудистой системы

Обнаружено, что мутация de novo кальциевых каналов L-типа $Ca_v1.2$ *G406R* приводит к возникновению синдрома Тимоти, характеризующегося мультиорганной дисфункцией, включающей летальные аритмии, врождённые заболевания сердца, перепонки пальцев рук и ног, иммунную недостаточность, перемежающуюся гипогликемию, аутизм и когнитивные нарушения. У таких потенциал-управляемых кальциевых каналов $Ca_v1.2$ наблюдается почти полное отсутствие фазы инактивации. Предполагают, что это сопровождается внутриклеточной перегрузкой Ca^{2+} в нескольких типах клеток. В сердце длительный ток Ca^{2+} задерживает реполяризацию кардиомиоцитов и увеличивает риск развития аритмии, что является основной причиной смерти при этом расстройстве [37].

Выявлено, что мутация в гене *CACNA1C A39V*, в области кодирующей α_1-субъединицу кальциевых каналов L-типа, вызывает нарушение функции кальциевых потенциал-управляемых каналов $Ca_v1.2$ *A39V*, что проявляется синдромом Бругада. Этот синдром отражает изменения в ЭКГ в виде подъёма сегмента ST и сокращения интервала QT, что обуславливает высокую вероятность внезапной сердечной смерти [77].

Обнаружено, что снижение экспрессии кальциевых потенциал-управляемых каналов L-типа *CACNA1C* наблюдается при мышечных дистрофиях Лимба-Пояса (Limb-Girdle), которые являются группой наследственных генетически обусловленных нарушений с первичным вовлечением мускулатуры таза или плечевого пояса и кардиальными проявлениями, такими, как дилатационная кардиомиопатия и угрожающая жизни тахиаритмия. Установлено, что для этой

группы заболеваний свойственно снижение кальциевого тока по каналам L-типа, а также значительное снижение систолической и диастолической концентрации Ca^{2+} в кардиомиоцитах [86].

Доказано, что мутации в генах α_1-субъединицы кальциевых потенциал-управляемых каналов L-типа (*CACNA1C*) (gi: 193788541, NM_001129843), c.1786*G>A* (p.V596M) и c.5344*G>A* (p.*A*1782*T*) вызывают синдром слабости синусового узла и выраженную синусовую брадикардию. Синдром слабости синусового узла приводит к недостаточному кровоснабжению мозга, сердца, почек и других органов и связан с повышенным риском внезапной сердечной смерти. Генетическая предрасположенность к брадиаритмиям проявляется при отсутствии каких-либо морфологических изменений в сердце [64].

Установлено, что эффективность терапии блокаторами кальциевых каналов эссенциальной гипертензии у пациентов при носительстве дикого генотипа rs2299661 и rs216008 в гене *CACNA1C* выше [73].

Выявлено, что мутации генов кальциевых каналов *RYR2*, *CACNA1B*, *CACNA1C*, *CACNA1D* вызывают склонность к «Электрическому шторму» (2 и более эпизода желудочковой тахикардии/фибрилляции в сутки) у пациентов в постинфарктном периоде. Определение этих полиморфных вариантов позволяет выявлять пациентов после ИМ предрасположенных к развитию «Электрического шторма» и провести стратификацию риска [77].

Предполагают, что при гипертонии и инфаркте миокарда кальциевые каналы L-типа участвуют в механизмах индукции гипертрофии путём регуляции поступления кальция в клетку [89].

Установлено, что у больных с идиопатической лёгочной гипертензией кальциевые ионные каналы T-типа принимают участие в формировании патологического фенотипа гладкой мускулатуры лёгочной артерии [64].

Получены предварительные данные о том, что имеющиеся разновидности потенциал-управляемых кальциевых каналов $Ca_v3.1$ отличаются порогом деполяризации и выполняют различную функцию в патогенезе гипертрофии миокарда [65].

Выявлено, что генный нокаут *CACNA1G* вызывает гипертрофию миокарда при перегрузке давлением [19].

Обнаружено, что снижение экспрессии RyR2 и SERCA2a при гипотиреозе вызывает патологические изменения со стороны сердца, способствующие уменьшению артериального давления и частоты сердечных сокращений [27].

Выявлено, что мутация *RYR2* c.7580*T>G* ассоциирована с потенциально смертельной наследственной аритмией у пациентов с нормальной базовой ЭКГ – катехоламинергической полиморфной желудочковой тахикардией, индуцируемой адренергическим эмоциональным стрессом и/или стрессом физической нагрузки [142].

Доказано, что Ca^{2+}-ток принимает участие в ремоделировании кардиомиоцитов правого желудочка сердца в патогенезе тяжёлой лёгочной гипертензии [24].

1.4.2 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в неврологической и психиатрической патологии

Предполагают, что ген *CACNA1C* определяет предрасположенность к биполярному расстройству [108].

Обнаружено, что мутация в гене α_1-субъединицы *CACNA1C* потенциал-управляемых кальциевых каналов $Ca_v1.2$ rs2239063 связана с ответом на терапию шизофрении препаратом оланзапин [58].

Выявлено, что генный локус *CACNA1C* связан как с шизофренией, так и с биполярным аффективным расстройством [118].

Доказано, что *CACNA1C* является геном, оказывающим влияние на эффективность лечения резистентной к терапии депрессии (Treatment-resistant depression) [111].

Предполагают, что ген *CACNA1H* принимает участие в патогенезе генетически-обусловленной генерализованной эпилепсии [60].

Установлено, что ген *CACNA1G* оказывает влияние на течение эпилепсии и играет роль в развитии синдрома Драве (ранняя эпилептическая энцефалопатия), предполагают, что каналы $Ca_v3.1$ могут быть потенциальной мишенью для терапии этого синдрома при эпилепсии [30].

Обнаружено, что мутация p.*Arg*1715*His* гена *CACNA1G* нарушает свойства кодируемых им кальциевых потенциал-управляемых каналов, вызывая спиноцеребеллярную атаксию [17].

Установлено, что гены рианодиновых каналов *RYR1*, *RYR2*, *RYR3* ассоциированы с развитием West-синдрома, который является классической формой ранней инфантильной эпилептической энцефалопатии [107].

1.4.3 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в онкологической патологии

Установлено, что ген *CACNA1G-AS1* является онкогеном и вносит вклад в развитие немелкоклеточного рака лёгких [87].

Выявлено, что ген *CACNA1G* Т-типа Ca^{2+}-каналов является маркёром гиперплазии клеток, индуцированной тромбоцитарным фактором роста-α [140].

Обнаружено, что большинство представителей семейства кальциевых каналов имеет низкую экспрессию в опухолевых клетках [151].

Доказано, что экспрессия кальциевых каналов Т-типа более выражена на мембранах клеток метастазов меланомы, по сравнению с первичной опухолью [72].

1.4.4 Роль Ca^{2+} и кальциевых каналов в других группах патологии

Определено, что ген *CACNB2* имеет сильную связь с женской фертильностью [66].

Установлено, что экспрессия гена *CACNB2* на мембранах клеток островков Лангерганса поджелудочной железы является самой высокой по сравнению с

клетками других тканей организма. Доказано, что повышенная экспрессия $Ca_v\beta2a$ ведёт β-клетки поджелудочной железы к апоптозу [109].

Выявлено, что экспрессия RyR2 снижается при прогрессировании прионных инфекций [43].

1.5. Заключение

Таким образом, к настоящему времени накоплены разнообразные сведения о кальциевых каналах, которые сводятся к следующему:

1. Структуру кальциевых каналов формируют белковые молекулы, представляющие собой отдельные субъединицы.
2. Присутствие субъединиц определяет особенности активации-инактивации каналов, их функции, чувствительности к лекарственным препаратам.
3. Разнообразие видов белковых субъединиц и их структуры оказывает влияние на особенности временных характеристик работы ионных кальциевых каналов.
4. Экспрессия молекул кальциевых каналов зависит от функциональной нагрузки на клетки и является объектом регуляции.
5. Существующая фармакологическая классификация кальциевых каналов не учитывает генетические варианты белковых субъединиц.
6. Субъединицы кальциевых каналов подвержены структурной вариации, в основе которой лежит полиморфизм генов транслируемых белков.

Проведённый анализ литературы позволяет заключить, что современные исследования зависимости функции кальциевых каналов от их структуры, определяемой генами, не отличаются большим количеством и в должной мере не касаются эссенциальной гипертензии. Молекулярно-генетические исследования в этом направлении позволили бы с новых позиций описать патогенез, а также обосновать новые подходы к разработке методов персонифицированной терапии гипертонической болезни.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика обследованных групп

Все исследования проведены с информированного согласия испытуемых. При выполнении работ с обследуемыми людьми соблюдались этические принципы согласно Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2000 ред.) и Правилам клинической практики в Российской Федерации, утверждённым Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г.№ 266.

Все больные подписывали формы добровольного информированного согласия.

Настоящая работа является результатом обследования 500 резидентов Забайкальского края (Российская Федерация) (средний возраст – 43±5 года): 249 мужчин (средний возраст 42±5 года) и 251 женщина (средний возраст– 44±4 года) здоровых лиц (всего 250 (средний возраст 42±4 года); 123 мужчин, 127 женщин), больных эссенциальной гипертензией осложнённой и неосложнённой гипертрофией миокарда (всего 250 (средний возраст 44±5 года); 126 мужчин (средний возраст 43±5 года), 124 женщины (средний возраст 45±4 года)). И 3202 резидента провинции Хэйлунцзян (Китайская Народная Республика) (средний возраст – 53±8 года): 1534 мужчины (средний возраст – 53±7 года) и 1668 женщин (средний возраст – 53±8 года) здоровых лиц (всего 1690 (средний возраст – 53±7 года); 790 мужчин, 900 женщин), больных эссенциальной гипертензией осложнённой и неосложнённой гипертрофией миокарда (всего 1512 (средний возраст – 53±8 года); 744 мужчины (средний возраст – 53±8 года), 768 женщин (средний возраст – 53±8 года)).

Пациенты с установленным диагнозом ГБ и группы контроля находились на стационарном лечении в отделении кардиологии и отделении неврологии

дорожной клинической больницы на станции Чита-2, в отделении кардиологии городской клинической больницы №1 период 2010–2019 гг. (Российская Федерация) и больнице №2 Цицикарского Медицинского университета 2012–2015 гг. (Китайская Народная Республика).

Все больные проходили физикальное обследования, лабораторные исследования в клинико-диагностической лаборатории и лаборатории молекулярной генетики, обследование в отделениях функциональной диагностики и рентгенологической диагностики. Комплекс лабораторных тестов включал гематологические, биохимические, молекулярно-генетические и цитологические показатели.

Все лабораторные исследования были выполнены в клинико-диагностических лабораториях ГУЗ «Городская клиническая больница № 1», НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Чита-2 ОАО "РЖД"», в Больнице №2 Цицикарского медицинского университета и на базе лабораторий молекулярной генетики, экспериментальной и клинической биохимии НИИ молекулярной медицины ЧГМА и лаборатории генетики Цицикарского медицинского университета.

Все исследуемые были разделены на шесть групп:

-первая группа – контрольная, здоровые лица в количестве 250 человек;

-вторая – 124 пациента с первичной (эссенциальной) артериальной гипертензией без гипертрофии миокарда (ИММЛЖ <115 г/м^2 – для мужчин, <95 г/м^2– для женщин);

-третья – 126 пациентов с первичной артериальной гипертензией с гипертрофией миокарда (ИММЛЖ >115 г/м^2 – для мужчин, >95 г/м^2– для женщин);

-четвёртая – 250 пациентов с Гипертонической болезнью, совокупность второй и третьей групп;

-пятая – контрольная, здоровые 1690 китайцев-ханьцев;

-шестая – 1512 неродственных китайских ханьских пациентов с первичной (эссенциальной) артериальной гипертензией.

Клинически и анамнестически у всех обследованных лиц были исключены инфекционные заболевания, выраженная аутоиммунная патология, обострение хронических воспалительных процессов, ревматизм, врождённые и приобретённые пороки развития, воспалительные заболевания сердца (перикардиты, эндокардиты, миокардиты и др.), почек, надпочечников, сахарный диабет и другие эндокринные заболевания, наследственные и психические болезни, у женщин – беременность и ранний послеродовый период.

Обследованные – по национальной принадлежности – русские, представители европеоидной расы, родившиеся и проживающие на территории Забайкальского края (Россия) и китайцы-ханьцы – представители монголоидной расы, родившиеся и проживающие на территории провинции Хэйлунцзян (КНР).

Контрольную группу составили 250 практически здоровых русских и 1690 китайцев с аналогичными исследуемой группе характеристиками по полу и возрасту, не имеющие хронических инфекционных заболеваний, аллергических и аутоиммунных реакций, острых вирусных и бактериальных инфекций.

2.1.1. Характеристика пациентов с первичной артериальной гипертензией без гипертрофии миокарда (Эссенциальная (первичная) гипертензия)

В исследование включены пациенты с гипертонической болезнью I стадии, 1–3 степени, риск 1–3 (по МКБ-10 – I10).

Верификацию диагноза проводили на основании клинико-анамнестических данных, на базе классификаций: уровня АД (таблица 3); определения АГ; установления общего сердечно-сосудистого риска по SCORE – согласно версии совместных рекомендаций по ведению артериальной гипертонии (АГ) Европейского общества кардиологов и Европейского общества по АГ (таблица 4) [14].

Таблица 3

Классификация клинического АД

Категория	САД, мм рт.ст.		ДАД, мм рт.ст.
Оптимальное	<120	и	<80
Нормальное	120–129	и/или	80–84
Высокое нормальное	130–139	и/или	85–89
АГ 1 степени	140–159	и/или	90–99
АГ 2 степени	160–179	и/или	100–109
АГ 3 степени	≥180	и/или	≥110
Изолированная систолическая АГ	≥140	и	<90

Примечание: АД – артериальное давление; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; АГ – артериальная гипертония.

Таблица 4

Клиническая классификация АГ по стадиям заболевания с учётом уровня АД, наличия факторов риска, влияющих на прогноз, поражения органов-мишеней, ассоциированного с АГ и коморбидных состояний.

Стадия ГБ	Другие ФР, ПОМ и заболевания	Высокое нормальное АД	АГ 1 степени	АГ 2 степени	АГ 3 степени
Стадия 1 (неосложнённая)	Других ФР нет	Низкий риск	Низкий риск	Умеренный риск	Высокий риск
	1-2 ФР	Низкий риск	Умеренный риск	Умеренный - высокий риск	Высокий риск
	3 и более ФР	Низкий-умеренный риск	Умеренный - высокий риск	Высокий риск	Высокий риск
Стадия 2 (бессимптомная)	АГ-ПОМ, ХБП 3 стадии или СД без ПОМ	Умеренный - высокий риск	Высокий риск	Высокий риск	Высокий-очень высокий риск
Стадия 3 (осложнённая)	Симптомные ССЗ, ХБП ≥ 4 стадии или СД с ПОМ	Очень высокий риск	Очень высокий риск	Очень высокий риск	Очень высокий риск

Примечание: ПОМ – поражение органов-мишеней, АГ-ПОМ – поражение органов-мишеней, связанное с АГ, ФР – факторы риска, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, СД – сахарный диабет, ХБП – хроническая болезнь почек

Данную группу составили 124 пациента (средний возраст 43±3 года).

Критерии исключения:

- Гипертоническая болезнь II–III стадии;
- Вторичная гипертензия (по МКБ-10 – I15, в том числе: реноваскулярная гипертензия – I15.0; гипертензия вторичная по отношению к другим поражениям почек – I15.1; гипертензия вторичная по отношению к эндокринным нарушениям – I15.2; другая вторичная гипертензия – I15.8; вторичная гипертензия неуточнённая – I15.9);
- хронические инфекционные заболевания;
- выраженная соматическая патология;
- беременность у женщин;
- наличие сахарного диабета;
- онкологические заболевания.

2.1.2. Характеристика пациентов с первичной артериальной гипертензией с гипертрофией миокарда (ИММЛЖ >115 г/м^2 – для мужчин, >95 г/м^2– для женщин)

Исходя из задач, в программу исследования вошли 126 пациентов с гипертонической болезнью II–III стадии, 1–3 степени, риск 2–4 (по МКБ-10 – I11), средний возраст 45±4 лет.

Верификацию диагноза проводили на основании клинико-анамнестических данных, на базе классификаций: уровня АД (таблица 3); определения АГ; установления общего сердечно-сосудистого риска по SCORE – согласно версии совместных рекомендаций по ведению артериальной гипертонии (АГ) Европейского общества кардиологов и Европейского общества по АГ (таблица 4) [14].

Критерии исключения:

- Гипертоническая болезнь I стадии;

- Вторичная гипертензия (по МКБ-10 – I15, в том числе: реноваскулярная гипертензия – I15.0; гипертензия вторичная по отношению к другим поражениям почек – I15.1; гипертензия вторичная по отношению к эндокринным нарушениям – I15.2; другая вторичная гипертензия – I15.8; вторичная гипертензия неуточнённая – I15.9);
- хронические инфекционные заболевания;
- выраженная соматическая патология;
- беременность у женщин;
- наличие сахарного диабета;
- онкологические заболевания.

2.1.3. Сравнительная характеристика групп здоровых и больных артериальной гипертензией этнических русских и китайцев-ханьцев

В этом исследовании российская выборка состояла из 250 пациентов (126 мужчин и 124 женщины) и 250 здоровых людей (123 мужчины и 127 женщин). В исследование было включено в общей сложности 1512 неродственных китайских ханьских пациентов (744 мужчины и 768 женщин) с эссенциальной гипертензией и 1690 китайских ханьских нормотензивных субъектов (790 мужчин и 900 женщин) соответствующих критериям включения.

Субъекты, у которых постоянно было САД> 140 мм рт. ст. и/или ДАД> 90 мм рт. ст. или гипертония в анамнезе, расценивались как гипертоники. Контрольная группа состояла из практически здоровых лиц с САД <130 мм рт.ст. и ДАД <80 мм рт.ст., без гипертонической болезни в анамнезе, а также пациентов без гипертонии, гиперлипидемии, сахарного диабета, опухолей, семейной гипертонии в анамнезе. Пациенты со вторичной гипертензией и беременностью были исключены из исследования.

Всего в двухэтническом исследовании «случай-контроль» приняли участие 500 этнических русских (250 пациентов с ЭГ и 250 контрольных) и 3202 китайца-ханьца (1512 пациентов с ЭГ и 1690 контрольных). В таблице 5 приведены основные характеристики групп контроля и пациентов с артериальной гипертензией этнически русского населения и китайской народности Хань.

Существовали значительные различия в росте, весе, ИМТ, САД, ДАД между двумя группами у китайцев ханьского происхождения ($p<0,05$). По сравнению с китайцами ханьского происхождения русские имеют схожие результаты по росту, ИМТ, САД, ДАД ($p<0,01$) (таблица 5).

Таблица 5

Основные показатели группы контроля и пациентов с гипертензией

Показатели	русские			ханьцы		
	гипертензия (n=250)	контроль (n=250)	p	Гипертензия (n=1512)	Контроль (n=1690)	p
Возраст/годы	44 (5,37)	42 (4,18)	<0,001	53 (8,22)	53 (7,04)	0,728
Пол (Муж./Жен.)	126/124	123/127	0,788	744/768	790/900	0,325
Рост/см	170,67 (8,74)	174,52 (6,87)	0,022	162,42 (8,84)	163,42 (9,32)	0,04
Вес/кг	86,52 (17,42)	80,97 (12,65)	0,091	68,19 (13,46)	63,17 (10,07)	<0,001
ИМТ	29,74 (5,92)	26,52 (3,54)	<0,001	25,72 (3,78)	23,63 (3,14)	<0,001
САД	150,27 (7,74)	121,45 (4,20)	<0,001	146,50 (16,47)	109,40 (8,30)	<0,001
ДАД	94,21 (5,54)	71,74 (3,12)	<0,001	92,70 (9,51)	73,17 (5,73)	<0,001
Пульсовое давление	56,07 (8,66)	49,71 (4,83)	<0,001	53,79 (14,60)	36,24 (6,60)	<0,001

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, ИМТ – индекс массы тела, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – Диастолическое артериальное давление.

Тем не менее, не было обнаружено статистически значимых различий по полу, весу (p>0,05) среди этнических русских. Основные показатели групп контроля китайского ханьского и этнического русского в возрасте 40–50 лет приведены в таблице 6.

Таблица 6

Основные показатели групп контроля китайцев-ханьцев и русских в возрасте 40–50 лет

Показатели	Общая			Мужчины			Женщины		
	Русские (n=181)	**Ханьцы (n=780)**	**p**	**Русские (n=84)**	**Ханьцы (n=350)**	**p**	**Русские (n=97)**	**Ханьцы (n=430)**	**p**
Возраст, среднее (SD), годы	44 (2,92)	47 (2,61)	<0,001	44 (2,90)	46 (3,18)	<0,001	44 (2,95)	48 (1,86)	<0,001
Пол (жен./муж.)	84/97	350/430	-	-			-		
Рост, mean (SD),см	173,45 (6,32)	165,14 (8,95)	<0,001	174,73 (5,16)	172,67 (6,48)	0,115	162,33 (4,51)	159,01 (5,24)	0,274
Вес, mean (SD), кг	79,28 (12,14)	65,53 (9,98)	<0,001	81,04 (11,25)	69,53 (8,83)	<0,001	64,00 (9,54)	62,28 (9,69)	0,760
ИМТ, mean (SD)	26,30 (3,51)	24,01 (3,03)	<0,001	26,51 (3,38)	23,29 (2,43)	<0,001	24,43 (4,88)	24,59 (3,33)	0,936
САД, mean (SD)	121,24 (4,14)	107,84 (8,58)	<0,001	124,36 (2,61)	108,15 (8,68)	<0,001	118,54 (3,22)	107,58 (8,50)	<0,001
ДАД, mean (SD)	71,73 (3,16)	73,15 (5,71)	<0,001	72,70 (3,17)	73,52 (5,70)	0,076	70,89 (2,91)	72,85 (5,71)	<0,001
Пульсовое АД, среднее (SD)	49,51 (4,61)	34,68 (6,37)	<0,001	51,66 (4,16)	34,63 (7,09)	<0,001	47,65 (4,16)	34,73 (5,73)	<0,001
MAF of rs1006737	0,3287	0,0192	-	0,3512	0,0143	-	0,3093	0,0233	-

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, ИМТ – индекс массы тела, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – Диастолическое артериальное давление, mean – среднее, SD – стандартное отклонение, MAF – Частота минорной аллели.

Частота минорной аллели (MAF) rs1006737 составила 0,3287 (этнические русские) и 0,0192 (китайские ханьцы) соответственно.

2.2. Лабораторные методы исследований

2.2.1. Определение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} лимфоцитов

Оценку содержания внутриклеточного кальция осуществляли методом спектрофлюориметрии, предложенным R.Y. Tsien et al. в нашей модификации [141]. Для этого лимфоциты крови выделяли на градиенте плотности с использованием раствора фиколл-урографин (ρ=1,077) центрифугированием при 400g в течение 20 минут. Выделенные лимфоциты трёхкратно отмывались забуференным раствором NaCl 0,9%, pH – 7,4, не содержащем Ca^{2+} и Mg^{2+}. Подсчёт количества выделенных лимфоцитов производили на гематологическом анализаторе COULTER ACT diff производства компании Beckman Coulter Inc. (США). Количество клеток доводили до 10^3/мкл с помощью забуференного раствора NaCl 0,9%, pH – 7,4. После подсчёта лимфоциты лизировали путём 60 минутной заморозки при температуре −40°C и последующей разморозки. Лизат лимфоцитов разделяли на 2 равные части: часть №1 – контроль базовой флюоресценции лизата лимфоцитов без экспозиции с Quin-2; часть №2 – лизат лимфоцитов после экспозиции с Quin-2. Индикатор Ca^{2+} – Quin-2 соединялся с Ca^{2+} в процессе инкубации в течение 30 минут при 37°C. Для калибровки спектрофлюориметра использовали раствор хлорида кальция с конечным содержанием Ca^{2+} 10, 50, 100 и 150 мкмоль.

Для приготовления растворов использовалась вода, очищенная до значений сопротивления более 15 мОм-см с помощью системы MilliQ (Millipore Corp., США). В качестве растворителя для базового раствора Quin-2 применялся диметилсульфоксид (ДМСО). Для получения базового раствора, 1 мг Quin-2 добавляли в 1 мл ДМСО. Рабочий раствор приготовлен из базового, методом разведения раствором NaCl 0,9% до конечной концентрации 50 мкмоль. Рабочий раствор Quin-2 вносили в лизат клеток в соотношении 1:1.

После инкубации каждый образец, а также калибровочные растворы вводили при помощи шприца в кювету спектрофлюориметра Shimadzu RF-10Axl, производства Shimadzu Corporation (Япония) для измерения их флюоресценции. Стандартными настройками системы спектрофлюориметра служили следующие: 339 нм, возбуждение с 4-нм щелями; эмиссия на 492 нм, щели на 10 уровне. Длина волны возбуждения 339 нм выбрана, потому что при ней Quin-2 и его комплексы адсорбируют Ca^{2+} и Mg^{2+} в равной степени; тогда как более длинные волны уменьшают чувствительность к связыванию Ca^{2+}, а более короткие волны больше возбуждают фоновую клеточную аутофлюоресценцию. Расчёт концентрации внутриклеточного кальция в лимфоцитах ($[Ca^{2+}]_i$) основывался на флюоресценции контрольной (ФЛБ), опытной пробы (ФЛ), количестве лимфоцитов (КЛ) и проводился по формуле:

$[Ca^{2+}]i=(ФЛ-ФЛБ)/КЛ$ (клеток/мкл) (1)

2.2.2. Определение генетического полиморфизма

2.2.2.1. Полимеразная цепная реакция

В качестве биологического материала для исследования полиморфных маркёров использовали цельную кровь.

Определение генетического полиморфизма осуществляли при помощи наборов реагентов: *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени производства компании «Синтол» (г. Москва). Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови или буккального эпителия с помощью реагента «Проба Рапид» производства ООО «ДНК-Технология» (г. Москва), затем проводилась реакция амплификации с детекцией в режиме реального времени.

1 этап: Маркировалось необходимое количество пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл с защёлкой в соответствии с количеством анализируемых проб и одна пробирка для отрицательного контрольного образца «ОКО». Вносили 600 мкл лизирующего раствора в каждую промаркированную пробирку. Добавляли 100 мкл периферической крови, перемешанной переворачиванием пробирки, в соответствующую пробирку с лизирующим раствором. В пробирку, промаркированную «ОКО», вносили 100 мкл физиологического раствора стерильного. Закрывали крышки пробирок. Встряхивали пробирки на микроцентрифуге/вортексе в течение 3–5 сек. Центрифугировали пробирки при 13000 об/мин в течение 1 мин. Удаляли надосадочную жидкость. Добавляли к осадку 300 мкл реактива «ПРОБА-РАПИД», закрывали крышки пробирок и встряхивали пробирки на микроцентрифуге/вортексе в течение 5–10 сек.

Термостатировали пробирки при 98°С в течение 10 мин. Центрифугировали пробирки при 13000 об/мин в течение 3 мин. Полученный супернатант использовали в качестве образца ДНК.

2 этап: Выполняли расчёты необходимых объёмов компонентов, исходя из количества исследуемых образцов плюс 4 (три положительных контрольных и один отрицательный контрольный образец), согласно следующим объёмам на 1 реакцию: №1 «2.5× Реакционная смесь» – 10 мкл, №2 «2.5× Разбавитель» – 10 мкл, №3 «ДНК-полимераза 5 ED/мкл» – 0,5 мкл. Компоненты разморозили, перемешали и центрифугировали. Приготовили смесь компонентов, добавляя их в порядке, указанном выше, перемешали, центрифугировали. Промаркировали ПЦР пробирки в соответствии с протоколом исследования. Внесли в ПЦР пробирки по 20 мкл смеси компонентов. В каждую ПЦР пробирку внесли по 5 мкл контрольных и исследуемых образцов в соответствии с маркировкой, плотно закрыли крышку. Кратковременно центрифугировали. Поместили пробирки в прибор в соответствии с протоколом исследования. Выполнили амплификацию с детекцией в режиме реального времени по следующей программе:

Блок 1 число циклов 1: 95 °С – 3 минуты 0 секунд;

Блок 2 число циклов 40 с детекцией по каналам FAM и HEX:

95 °С – 15 секунд;

63 °С – 40 секунд.

3 этап: Провели анализ результатов ПЦР исследования. Открыли обрабатываемый файл. Задали тип анализа: «Анализ полиморфизмов, 2 краски», метод «Пороговый Ct». Нажали кнопку «Параметры анализа». Задали «Критерий положительного результата ПЦР» – 90%. Корректировали положение пороговой линии. Для этого выбирали канал FAM. На графике выделили положительные контроли и корректировали положение пороговой линии примерно на 20–30% от

сигнала ПКО2 (гетерозиготы) (рисунок 18), те же действия повторяли для канала HEX (рисунок 19). Результаты анализа интерпретировали по таблице, согласно инструкции производителя (таблица 7).

Таблица 7

Интерпретация результатов ПЦР

Результат	**Канал**	**Интерпретация результатов ПЦР**
Аллель 1	FAM	нормальная гомозигота
Аллель 1 + Аллель 2	FAM+HEX	гетерозигота
Аллель 2	HEX	мутантная гомозигота

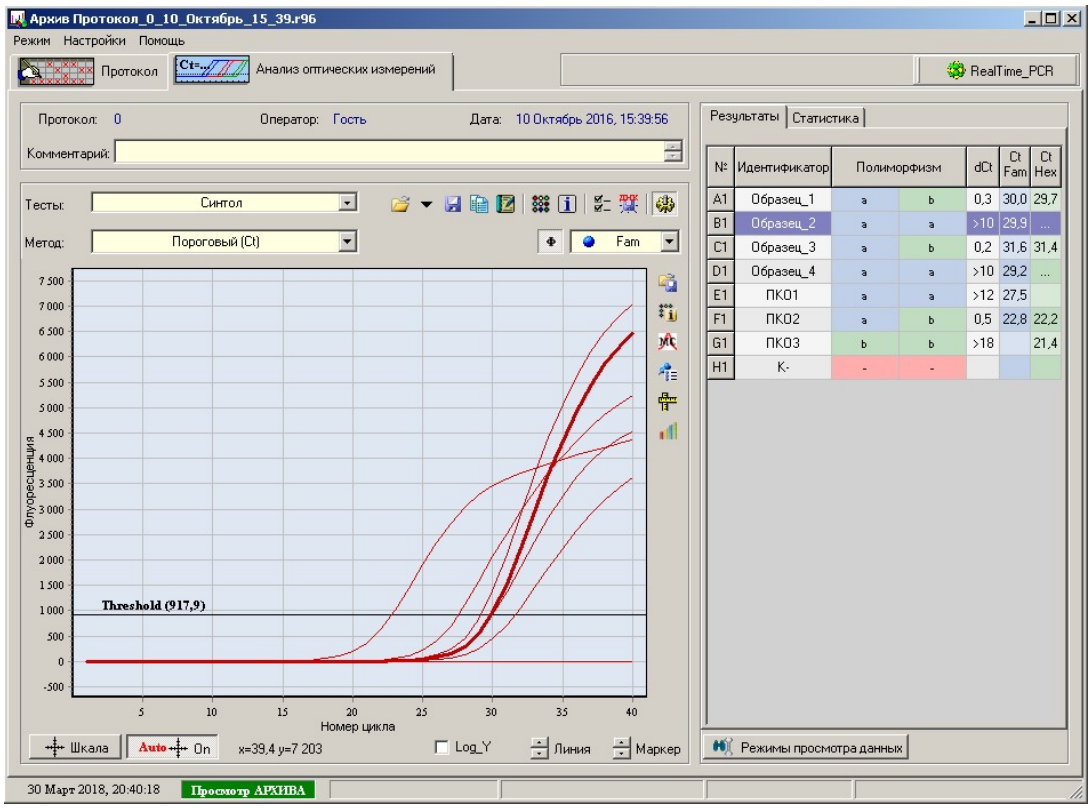


Рисунок 18. Мутация участка *G*2236129*A* (rs1006737) гена *CACNA1C* канал FAM.

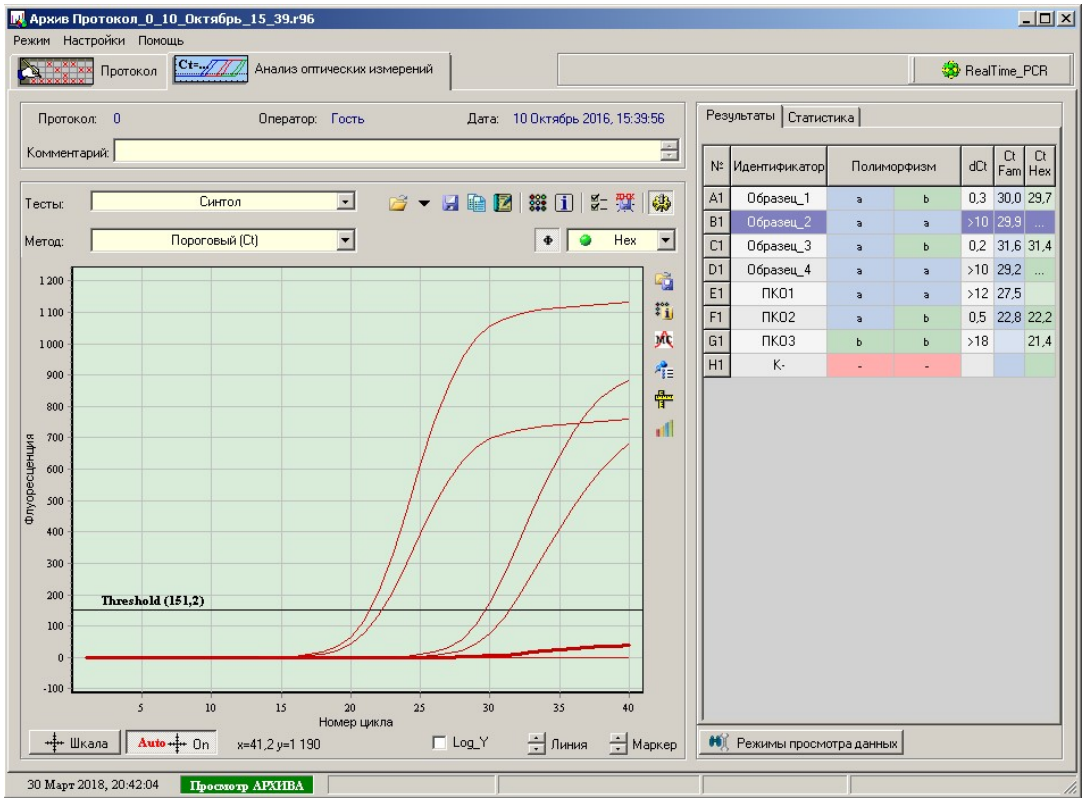


Рисунок 19. Мутация участка *G*2236129*A* (rs1006737) гена *CACNA1C* канал HEX.

2.3. Инструментальные методы

2.3.1. Трансторакальная эхокардиография с допплерографией

Оценка наличия и степени гипертрофии миокарда левого желудочка сердца проводилась на основе исследований, выполненных с помощью ультразвуковой системы ARTIDA (компания «Toshiba Medical Systems», Япония) в положении исследуемого лёжа на левом боку. Получены следующие эхокардиографические показатели: толщина межжелудочковой перегородки, конечно-диастолический размер левого желудочка, конечно-диастолический объём левого желудочка, индекс конечного диастолического объёма левого желудочка, толщина задней стенки миокарда левого желудочка, масса миокарда левого желудочка, индекс массы миокарда левого желудочка, относительная толщина задней стенки левого желудочка.

Степень и наличие гипертрофии миокарда левого желудочка определялась с использованием индекса массы миокарда левого желудочка (для стандартизации показателя массы миокарда левого желудочка с учётом индивидуальных антропометрических показателей исследуемого) рассчитанного по формуле [83]:

$$ИММЛЖ=ММЛЖ/рост^{2,7}, \quad (2)$$

где ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка сердца, рассчитанная по формуле принятой Американским обществом Эхокардиографии [50]:

$$ММЛЖ= 0,8\times(1,04\times((КДР+МЖП+ЗСЛЖ)^3-КДР^3))+0,6, \quad (3)$$

где КДР – конечно-диастолический размер левого желудочка;

МЖП – толщина межжелудочковой перегородки в конец диастолы;

ЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка в конец диастолы.

За эхокардиографические критерии гипертрофии миокарда левого желудочка приняты данные Европейского общества кардиологов и Европейского общества по АГ, 2018 г. – ИММЛЖ >115 (для мужчин) и >95 (для женщин) [14]:

ИММЛЖ: ММЛЖ/ППТ г/м^2, (4)

где ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка сердца;

ППТ – площадь поверхности тела.

2.3.2. Суточное мониторирование артериального давления

Мониторинг АД в течение суток (СМАД) проводился с помощью системы суточного мониторирования артериального давления BPlab (Россия, Москва, ООО «Петр Телегин»). С этой целью выполнялось контрольное измерение АД пациента и настройка прибора, затем манжета системы для СМАД фиксировалась на плече не ведущей руки обследуемого.

Получены стандартные показатели СМАД: средние значения систолического (САД), диастолического (ДАД); среднее и пульсовое (ПАД) АД; средняя ЧСС за сутки, день и ночь; почасовые средние значения АД и ЧСС; максимальные и минимальные значения АД и ЧСС за различные периоды суток; суточный индекс (степень снижения систолического и диастолического АД в ночные часы); показатели «нагрузки давлением»: индекс времени гипертензии (ИВ), индекс измерений, индекс площади гипертензии (ИП); вариабельность систолического, диастолического, среднего и пульсового АД и ЧСС [14].

2.3.3. Ультразвуковое дуплексное сканирование сонных артерий с определением толщины комплекса интима-медиа

Исследуемым выполнялось сканирование сонных артерий с определением толщины комплекса интима-медиа общих сонных артерий ультразвуковой системой ARTIDA (компания «Toshiba Medical Systems», Япония), по стандартному протоколу – измерения на трёх уровнях сосудистого русла, билатерально: в проксимальной, медиальной и дистальной точках на протяжении 1 см от бифуркации по задней стенке общих сонных артерий. Рассчитывалась средняя толщина комплекса интима-медиа из всех шести измерений.

2.4. Методы статистической обработки полученных результатов

Статистическая обработка осуществлялась при помощи компьютерных программ Microsoft Excel 2007, MDR 3,0, STATISTICA 10,0 (StatSoft Inc., США), SPSS Statistics 17,0 (IBM Inc., США) с определением статистической значимости различий при $p<0,05$ (доверительный интервал (CI) 95%).

При нормальном распределении признака использовали параметрические методы статистики. Результаты представлены как среднее значение ± стандартное отклонение (M±SD), либо медиана (Me) с интерквартильным интервалом ([P25; P75] – 25 и 75 перцентили).

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 [110].

Для сравнения групп по качественному бинарному признаку применялся критерий χ^2 (Пирсона) [110].

Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом выполняли расчёт отношения шансов (OR) по формуле:

$$OR= a*d/b*c, \quad (5)$$

где a – частота анализируемой аллели у больных;

b – частота анализируемых аллелей в контрольной выборке;

c и d – суммарная частота остальных аллелей у больных и в контроле соответственно.

Величина OR=1 означает, что ассоциации отсутствуют, OR>1 – выявляется при положительной (предрасполагающей) ассоциации «фактора риска» и OR<1 – отрицательная (протективная) ассоциация аллели с заболеванием [110].

Для проверки равенства медиан концентрации внутриклеточного кальция исследуемых групп использовался дисперсионный анализ Краскела — Уоллиса (H-критерий Краскела — Уоллиса). Тест Краскела — Уоллиса — это

непараметрическая альтернатива одномерному (межгрупповому) дисперсионному анализу. Он используется для сравнения трёх или более выборок и проверяет нулевые гипотезы, согласно которым различные выборки были взяты из одного и того же распределения, или из распределений с одинаковыми медианами.

Таким образом, интерпретация критерия Краскела — Уоллиса в основном сходна с параметрическим одномерным дисперсионным анализом, за исключением того, что этот критерий основан на рангах [80].

Для создания статистической модели прогнозирования заболевания использовали метод логистической регрессии. Логистическая регрессия или логит-регрессия (англ. logit model) — это статистическая модель, используемая для прогнозирования исхода некоторого события путём подгонки данных к логистической кривой.

Множественный логистический регрессионный анализ применяется, когда имеется один дихотомический исход (для настоящего исследования исход – одно из взаимоисключающих состояний – отсутствие и наличие ЭГ) и более одной независимой переменной (факторы-кандидаты). Результат в логистическом регрессионном анализе часто кодируется как 0 или 1, где 1 указывает, что интересующий результат присутствует, а 0 указывает, что интересующий результат отсутствует. Если мы определим $\hat{p}$ как вероятность того, что результат равен 1, модель множественной логистической регрессии можно записать следующим образом:

$$\hat{p}= \frac{\exp(b_0+ b_1X_1+ b_2X_2+\ldots+b_pX_p)}{1+\exp(b_0+ b_1X_1+ b_2X_2+\ldots+b_pX_p)} \qquad (6)$$

где $\hat{p}$- ожидаемая вероятность того, что результат будет представлен;

X_1 - X_p - различные независимые переменные;

b_0 - b_p - коэффициенты регрессии.

Модель множественной логистической регрессии может иметь следующий вид:

$$\ln\left(\frac{\hat{p}}{(1-\hat{p})}\right) \tag{7}$$

$$\ln\left(\frac{\hat{p}}{(1-\hat{p})}\right) = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \ldots + b_pX_p \tag{8}$$

Путём расчёта антилогарифма оценочного коэффициента регрессии exp (b_i) получено отношение шансов (OR) для каждой независимой переменной [55, 93].

Для создания статистической модели прогнозирования патологического фенотипа использовали метод Multifactor Dimensionality Reduction (MDR). Метод MDR позволяет определить роль межгенных взаимодействий в развитии мультифакториальных заболеваний, в том числе и артериальной гипертензии. В основе метода лежит анализ данных для обнаружения и характеристики комбинаций атрибутов или независимых переменных, которые взаимодействуют, оказывая влияние на зависимую переменную или переменную класса [18]. Метод MDR был разработан специально для выявления неаддитивных взаимодействий между дискретными переменными, которые влияют на двоичный результат, и рассматривается как непараметрическая альтернатива традиционным статистическим методам, таким как логистическая регрессия. Основой MDR является конструктивный алгоритм обучения индукции или функции, который преобразует две или более переменных, или атрибутов в один атрибут [57]. Этот процесс создания нового атрибута изменяет пространство представления данных. Конечной целью является создание или обнаружение представления, которое облегчает выявление нелинейных или неаддитивных взаимодействий между такими атрибутами, при котором прогнозирование переменной класса улучшается по сравнению с исходным представлением данных. Моделирование генетических взаимодействий высокого порядка данным методом позволило оценить вклад каждого из исследуемых генотипов, учитывая, как снижающие, так и усиливающие влияния отдельных маркёров на возникновение заболевания. Вклад каждого гена и/или их взаимодействия оценивается величиной энтропии H

(величиной информации, снятой неопределённости в терминах теории информации), выраженной в %, где 100% – генотип и/или их комбинация однозначно определяет к какому классу (больных или здоровых) относится индивид, соответственно, 0% – генотип и/или их комбинация не играет никакой роли в предрасположенности к заболеванию. Путём многократного перекрёстного пересчёта вводимых первичных данных метод MDR дал возможность выбрать оптимальную модель ген-генного взаимодействия, позволяющую с высокой точностью предсказать человеку наличие или отсутствие предрасположенности к патологическому фенотипу. Для каждой из этих моделей определена сбалансированная точность (Balanced Accuracy, Bal. Acc.), исходя из специфичности (Specificity, Sp) и чувствительности (Sensitivity, Se), отражающая способность предсказания того или иного события (в частности, наличия или отсутствия заболевания).

Выявление ассоциации сочетания генетических вариантов, связанных с развитием патологического фенотипа выполнялось методом MDR.

Для оценки вероятности развития события рассчитывался показатель отношения шансов (odds ratio – OR) с определением для него 95% доверительного интервала (CI).

В анализе ассоциаций выявляли лучшие модели комбинаций генотипов для изучаемых SNP со значимыми показателями отношения шансов по критерию χ^2 при тестировании ($p<0,05$). Из возможных моделей выбиралась одна с максимальной сбалансированной точностью (Bal.Acc.), чувствительностью (Se) (отражает долю положительных результатов, которые правильно идентифицированы как таковые), специфичностью (Sp) (отражает долю отрицательных результатов, которые правильно идентифицированы как таковые), воспроизводимостью результата кросс-проверки 10/10 (данные, содержащиеся в модели, разбивались на n частей, на n−1 частях данных производилось обучение модели, а оставшаяся часть данных использовалась для тестирования),

представляющая комбинацию полиморфных вариантов, увеличивающую риск развития патологического фенотипа.

Для построения модели влияния ген-генных взаимодействий на риск развития количественных проявлений патологического фенотипа использовался метод QMDR (Quantitative Multifactor Dimensionality Reduction), который является модификацией метода MDR, позволяющей прогнозировать исход, представленный количественным показателем. При помощи метода QMDR созданы возможные модели. Для каждой из этих моделей определены результаты тренировочной Т-статистики (Training T-statistic), Т-статистики тестирования (Testing T-statistic) и согласованности перекрёстной проверки данных (Cross-validation Consistency), отражающей не только возможность предсказания того или иного события (в частности, наличия или отсутствия патологического фенотипа), вероятность (точность) развития данного события, а также степень выраженности его проявлений [103]. Выбрана оптимальная модель ген-генного взаимодействия, позволяющая с высокой точностью предсказать человеку наличие или отсутствие предрасположенности к определённому заболеванию или осложнению.

В анализе ассоциаций выбрана лучшая модель комбинаций генотипов для изучаемых SNP со значимыми показателями отношения шансов по критерию χ^2 при тестировании ($p<0,05$). Модель имеет максимальное значение Т-статистики тестирования (Testing T-statistic), воспроизводимость результата 10/10 и представляет комбинацию исследуемых полиморфных вариантов генов ($p<0,05$).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1.1. Полиморфизм генов кальциевых каналов *CACNA1C* rs1006737, *CACNA1C* rs112532048, *CACNA1H* rs11865472, *CACNA1G* rs11079919, *CACNB2* rs143326262, *RYR2* rs2490389 у резидентов Забайкальского края

Нами проведено исследование встречаемости SNP отдельных субъединиц кальциевых потенциал-управляемых и рианодиновых каналов у жителей Забайкалья.

Установлено, что среди резидентов Забайкальского края аллель *C* полиморфизма β_2-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов встречался с частотой 0,999, а аллель *T* – 0,001. Генотипы SNP β_2-субъединицы распределялись следующим образом: гомозиготный вариант *CC* выявлялся с частотой 0,997, гетерозиготный *CT* – 0,003, а гомозиготный *TT* – не обнаружен. При этом аллели и генотипы подчиняются закону равновесия Харди-Вайнберга (χ^2=0, p=0,98).

Обнаружено, что SNP α_{1C}-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов rs1006737 у жителей Забайкальского края в составе носители аллели *G* встречались с частотой 0,644, а аллели *A* – 0,356. Частота гомозиготного генотипа *GG* полиморфизма гена α_{1C}-субъединицы составила 0,406, гетерозиготного *GA* – 0,475, гомозиготного *AA* – 0,119. И в этом случае частоты аллелей и генотипов подчинялись закону Харди-Вайнберга (χ^2=0,48, p=0,49).

Изучая распределение SNP полиморфизма *CACNA1C G*2585485*A* у резидентов Забайкальского края, мы обнаружили носительство только «дикой» аллели *G* и, соответственно, только генотипов *GG*. Это согласуется с исследованиями в других популяциях, где аллель *A* выявлялась с очень низкой

частотой [63]. Отсутствие этой минорной аллели в исследованиях в Забайкалье объясняется недостаточной выборкой. Мы считаем, что формально частоты аллелей и генотипов в этом случае подчинялись закону Харди-Вайнберга (χ^2=0, p=1).

В случае распределения SNP в гене α_{1G}-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов у резидентов Забайкальского края выявлено носительство аллели *A* с частотой 0,580, аллели *G* – 0,420. Среди них обнаружены все генотипы. Гомозиготный вариант *AA* полиморфизма *A*50615794*G* гена *CACNA1G* встречался с частотой 0,434, гетерозиготный *GA* – 0,292, гомозиготный *GG* – 0,274. Установлено, что для этого SNP равновесие Харди-Вайнберга нарушено (χ^2=60,90, p=0). Мы считаем, что несоответствие эквилибриуму встречаемости генотипов связано с рядом неустановленных внешних причин, действующих на изучаемую выборку.

Установлено, что частоты аллелей полиморфизма *G*1134967*A* гена α_{1H}-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов у резидентов Забайкальского края представлены следующим образом: для *G* – 0,514, *A* –0,486. При этом генотип *GG* встречался с частотой 0,282, *GA* – 0,466, *AA* – 0,253. Их распределение полностью соответствует закону Харди-Вайнберга (χ^2=1,74, p=0,19).

Обнаружено, что для SNP полиморфизма *G*237115840*T* рианодиновых RyR2-каналов, локализованных преимущественно в кардиомиоцитах, у резидентов Забайкальского края частота *G*-аллели составила 0,442, а *T*- аллели – 0,558. При этом встречаемость гомозиготного варианта генотипа *GG* соответствовала 0,200, гетерозиготного *GT* – 0,484, гомозиготного *TT* – 0,316. Эти показатели распределения генотипов согласуются с законом Харди-Вайнберга (χ^2=0,13, p=0,72).

3.1.2. Заключение

У резидентов Забайкальского края среди генетических маркёров потенциал-управляемых кальциевых каналов превалирует встречаемость аллели *C* и генотипа *CC* полиморфизма *C*18539252*T* гена *CACNB2*, аллели *G* и генотипов *GG* и *GA* полиморфизма *G*2236129*A* гена *CACNA1C*, аллели *G* и генотипа *GG* SNP *G*2585485*A* гена *CACNA1C*, аллели *A* и генотипа *AA* SNP *A*50615794*G* гена *CACNA1G*. У них примерно с равной частотой встречаются аллели *G* и *A* с преобладанием генотипа *GA* SNP *G*1134967*A* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1H*, а также аллели *G* и *T* с превалированием генотипа *GT* SNP *G*237115840*T* гена рианодиновых кальциевых каналов *RYR2*.

3.2.1. Встречаемость SNP кальциевых каналов у здоровых и больных эссенциальной артериальной гипертензией

Проведена сравнительная оценка встречаемости полиморфизма кальциевых каналов среди здоровых и больных эссенциальной гипертензией – резидентов Забайкальского края.

Установлено, что частота аллелей полиморфизма *C*18539252*T* β_2-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов у пациентов с артериальной гипертензией составила для *C*-аллели 0,996, а для *T*-аллели – 0,004. В контрольной группе выявлена лишь *C*-аллель. В связи с этим не обнаружена разница встречаемости рассматриваемых SNP в обеих группах (χ^2=1,26, p=0,26). Аналогично этому не установлены различия встречаемости генотипов изучаемого SNP (χ^2=1,26, p=0,53). При этом частотные соотношения генотипов как у пациентов (χ^2=0, p=0,96), так и в контрольной группе (χ^2=0, p=1) находятся в равновесии Харди-Вайнберга.

Частота аллелей полиморфизма *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737) у пациентов *G* – 0,571, *A* – 0,429, при этом в контрольной группе *G* – 0,688, *A* – 0,312 (χ^2=4,10, p<0,05). Встречаемость генотипов *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737) у пациентов *GG* – 0,349, *GA* – 0,469, *AA* – 0,182, в контрольной группе *GG* – 0,446, *GA* – 0,465, *AA* – 0,089 (χ^2=6,28, p<0,05). Частотное соотношение генотипов как у пациентов (χ^2=0,12, p=0,94), так и в контрольной группе (χ^2=0,35, p=0,84) находится в равновесии Харди-Вайнберга.

Для полиморфизма *CACNA1C G*2236129*A* получены все искомые генотипы и аллели в подчинении эквилибриуму Харди-Вайнберга (p>0,05) (таблица 10, 11). Установлено, что аллель *G* полиморфизма *G*2236129*A* гена *CACNA1C* у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией встречалась в 1,2 раза реже, чем в группе контроля и её частота составила 0,571 против *G* – 0,688 соответственно (χ^2=4,10, p<0,05). У больных артериальной гипертензией аллель *A* выявлялась

чаще в 1,37 раза с частотой 0,429, а у здоровых – 0,312 (χ^2=4,10, p<0,05) (таблица 8).

В группе пациентов с артериальной гипертензией гетерозиготный вариант *GA* SNP гена молекулы *CACNA1C* выявлен с частотой 0,469, а гомозиготный *GG* – 0,349 и *AA* – 0,182, что подчинялось закону Харди-Вайнберга (χ^2=0,12, p=0,94).

Распределение частот генотипов среди здоровых лиц оказалось следующим: *GG* – 0,446, *GA* – 0,465, *AA* – 0,089 (χ^2=0,35, p=0,84) (таблица 9).

Установлено, что генотип *GG* в группе пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией встречался в 1,27 раза реже, а генотип *AA* – в 2 раза чаще, чем у здоровых лиц (χ^2=6,28, p<0,05).

Исходя из полученных данных, шанс развития эссенциальной артериальной гипертензии оказался выше у носителей аллели *A* (OR=1,65 [95% CI: 1,01 – 2,69], p<0,05) и генотипа *AA* (OR=2,61 [95% CI: 1,22 – 5,61], p<0,05) SNP гена *CACNA1C* (rs1006737) молекулы α_{1C}-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов L-типа.

Таблица 8

Встречаемость аллелей полиморфизма *CACNA1C G*2236129*A* у здоровых и больных артериальной гипертензией (тест χ^2)

Аллели	**Артериальная гипертензия**	**Контроль**	**χ^2**	**p**	**OR**	
	n = 126	n = 157	4,10 df=1	<0,05	знач.	95% CI
Аллель *G*	0,571	0,688			0,61	0,37 – 0,99
Аллель *A*	0,429	0,312			1,65	1,01 – 2,69

Таблица 9

Встречаемость генотипов полиморфизма *CACNA1C G*2236129*A* у здоровых и больных артериальной гипертензией (тест χ^2)

Генотипы	Артериальная гипертензия	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 126	n = 157	6,28 df=2	<0,05	знач.	95% CI
Генотип *GG*	0,349	0,446			0,38	0,18 – 0,82
Генотип *GA*	0,469	0,465			0,49	0,23 – 1,04
Генотип *AA*	0,182	0,089			2,61	1,22 – 5,61

Таблица 10

Соответствие частот генотипов SNP *CACNA1C G*2236129*A* здоровых лиц равновесию Харди-Вайнберга (тест χ^2)

Генотипы	Контроль	HWE	χ^2	p
	n = 157			
Генотип *GG*	0,446	0,452	0,35 df=2	0,84
Генотип *GA*	0,465	0,441		
Генотип *AA*	0,089	0,108		

Таблица 11

Соответствие частот генотипов SNP *CACNA1C G*2236129*A* больных артериальной гипертензией равновесию Харди-Вайнберга (тест χ^2)

Генотипы	Артериальная гипертензия	HWE	χ^2	p
	n = 126			
Генотип *GG*	0,349	0,350	0,12 df=2	0,94
Генотип *GA*	0,469	0,483		
Генотип *AA*	0,182	0,167		

Таким образом, факторы носительства аллели *A* и генотипа *AA* SNP *CACNA1C* (rs1006737) являются предрасполагающими к развитию гипертонической болезни. Носительство аллели *G* и генотипа *GG CACNA1C* (rs1006737) снижает вероятность развития гипертонической болезни.

У пациентов с артериальной гипертензией и здоровых лиц в Забайкальском крае обнаружено носительство только аллели *G* полиморфизма *G*2585485*A* гена

потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1C* (χ^2=0, p=1). Соответственно этому не выявлено частотных различий встречаемости генотипов (χ^2=0, p=1).

Обнаружено, что у пациентов с артериальной гипертензией аллели *A* и *G* полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* встречались с равной частотой 0,500, тогда как в контрольной группе аллель *A* выявлялась с частотой 0,742, а *G* аллель – 0,258 (χ^2=35,03, p<0,001) (таблица 12). Генотипы полиморфизма *A*50615794*G* гена кальциевых потенциал-управляемых каналов *CACNA1G* определялись с частотами: *AA* – 0,363; *GA* – 0,274; *GG* – 0,363, тогда как в контрольной группе: *AA* – 0,573; *GA* – 0,338; *GG* – 0,089 (χ^2=32,00, p<0,001) (таблица 13). Частотное соотношение генотипов в контрольной группе находится в равновесии Харди-Вайнберга (χ^2=2,19, p=0,14) (таблица 14).

Таблица 12

Встречаемость аллелей полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых и больных артериальной гипертензией (тест χ^2)

Аллели	**Артериальная гипертензия**	**Контроль**	**χ^2**	**p**<0,001	**OR**	
	n = 124	n = 157	35,03 df=1		знач.	95% CI
Аллель *A*	0,500	0,742			0,35	0,24 – 0,50
Аллель *G*	0,500	0,258			2,88	2,02 – 4,10

Таблица 13

Встречаемость генотипов полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых и больных артериальной гипертензией (тест χ^2)

Генотипы	Артериальная гипертензия	Контроль	χ^2	p<0,001	OR	
	n = 124	n = 157	32,00 df=2		знач.	95% CI
Генотип *AA*	0,363	0,573			0,42	0,26 – 0,69
Генотип *GA*	0,274	0,338			0,74	0,44 – 1,24
Генотип *GG*	0,363	0,089			5,82	3,01 – 11,25

Таблица 14

Соответствие частот генотипов SNP *CACNA1G A*50615794*G* здоровых лиц равновесию Харди-Вайнберга (тест χ^2)

Генотипы	Контроль	HWE	χ^2	p
	n = 157		2,19 df=2	0,14
Генотип *AA*	0,573	0,551		
Генотип *GA*	0,338	0,383		
Генотип *GG*	0,089	0,067		

Не обнаружено значимых различий встречаемости аллелей полиморфизма *G*1134967*A* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1H* у пациентов (*G* – 0,520, *A* – 0,480), и в контрольной группе (*G* – 0,541, *A* – 0,459) (χ^2=0, p=1). В соответствии с этим частоты генотипов полиморфизма *G*1134967*A* гена *CACNA1H* у пациентов и в контрольной группе не отличались между собой (χ^2=0,38, p=0,83).

Установлено, что для полиморфных вариантов генов рианодиновых кальциевых каналов *RYR2* частоты аллелей среди больных эссенциальной артериальной гипертензией не отличались от группы здоровых лиц. Так встречаемость аллели *G* полиморфизма *G*237115840*T* гена *RYR2* у пациентов составляла 0,472, аллели *T* – 0,528, а в контрольной группе: аллели *G* – 0,436, аллели *T* – 0,564 (χ^2=0,74, p=0,39). При этом не обнаружено различий частот генотипов полиморфизма *G*237115840*T* гена рианодиновых кальциевых каналов

RYR2 в группах пациентов (*GG* – 0,230, *GT* – 0,484, *TT* – 0,286) и контроля (*GG* – 0,192, *GT* – 0,487, *TT* – 0,321) (χ^2=0,76, p=0,69). Частотное соотношение генотипов как у пациентов (χ^2=0,10, p=0,75), так и в контрольной группе (χ^2=0,01, p=0,91) находились в равновесии Харди-Вайнберга.

3.2.2. Заключение

Факторы наличия аллели *A* и генотипа *AA* SNP *CACNA1C* (rs1006737) являются предрасполагающими к развитию гипертонической болезни. Носительство аллели *G* и генотипа *GG* *CACNA1C* (rs1006737) снижает вероятность развития гипертонической болезни. Присутствие аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G* (rs11079919) повышает риск развития артериальной гипертензии более чем в 5 раз.

3.3.1. Встречаемость полиморфизма генов кальциевых каналов у больных артериальной гипертензией с гипертрофией миокарда левого желудочка

Известно, что кардинальным признаком артериальной гипертензии является повышение периферического сопротивления току крови, что создаёт нагрузку на левый желудочек. В этих условиях напряжение механизмов гомеометрической регуляции работы сердца и их инотропные эффекты приводят к рабочей (компенсаторной) гипертрофии миокарда уже на начальных стадиях развития заболевания. В связи с этим мы проследили встречаемость отдельных SNP генов кальциевых каналов у больных артериальной гипертензией, сопровождающейся гипертрофией левого желудочка.

Установлено, что частота аллели *C* полиморфизма *C*18539252*T* гена B_2-субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов у пациентов с

артериальной гипертензией, гипертрофией левого желудочка составляла 0,994, а для аллели *T* – 0,006, и не отличалась от контрольной группы (χ^2=1,91, p=0,17). Не наблюдалось различий распределения генотипов у пациентов и здоровых лиц (χ^2=1,91, p=0,38). Частотное соотношение генотипов как у пациентов (χ^2=0, p=0,96), так и в контрольной группе (χ^2=0, p=1) соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Обнаружено, что частоты аллелей и генотипов полиморфизма *G*2236129*A* гена кальциевых потенциал-управляемых каналов *CACNA1C* у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией и гипертрофией левого желудочка и у здоровых лиц также не отличались между собой (χ^2=2,3, p=0,13; χ^2=2,97, p=0,13). Частотное соотношение генотипов как у пациентов (χ^2=2,05, p=0,15), так и в контрольной группе (χ^2=0,47, p=0,49) находилось в равновесии Харди-Вайнберга.

У пациентов с артериальной гипертензией и гипертрофией миокарда, а также у здоровых лиц в Забайкалье встречалась только одна аллель *G* полиморфизма *G*2585485*A* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1C* (χ^2=0, p=1). Частота генотипов при этом не отличались в обеих группах (χ^2=0, p=1). Частотное соотношение генотипов у пациентов и в контрольной группе (χ^2=0, p=1) соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Установлено, что полиморфизм *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G* у пациентов с артериальной гипертензией и гипертрофией миокарда представлен аллелью *A* с частотой 0,440 и аллелью *G* с частотой 0,560, при этом в контрольной группе аллель *A* выявлялась с частотой 0,744, аллель *G* – 0,256 (χ^2=50,29, p=0) (таблица 15). Соответственно генотип *AA* у пациентов обнаруживался с частотой 0,250, *GA* – 0,380, *GG* – 0,370, а в контрольной группе *AA* – 0,576; *GA* – 0,335, *GG* – 0,089 (χ^2=40,24, p<0,001) (таблица 16). Частотное соотношение генотипов в контрольной группе соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (χ^2=2,28, p=0,13) (таблица 17).

Таблица 15

Встречаемость аллелей полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых и больных артериальной гипертензией и гипертрофией левого желудочка (тест χ^2)

Аллели	**Артериальная гипертензия с гипертрофией ЛЖ**	**Контроль**	**χ^2** 50,29 df=1	**p** 0	**OR**	
	n = 108	n = 158			знач.	95% CI
Аллель *A*	0,440	0,744			0,27	0,19 – 0,39
Аллель *G*	0,560	0,256			3,70	2,56 – 5,34

Таблица 16

Встречаемость генотипов полиморфизма *A*50615794*G* гена *CACNA1G* у здоровых и больных артериальной гипертензией и гипертрофией левого желудочка (тест χ^2)

Генотипы	**Артериальная гипертензия с гипертрофией ЛЖ**	**Контроль**	**χ^2** 40,24 df=2	**p**<0,001	**OR**	
	n = 108	n = 158			знач.	95% CI
Генотип *AA*	0,250	0,576			0,25	0,14 – 0,42
Генотип *GA*	0,380	0,335			1,21	0,73 – 2,02
Генотип *GG*	0,370	0,089			6,05	3,09 – 11,87

Таблица 17

Соответствие частот генотипов SNP *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых лиц равновесию Харди-Вайнберга (тест χ^2)

Генотипы	Контроль	HWE	χ^2	p
	n = 158			
Генотип *AA*	0,576	0,553	2,28	0,13
Генотип *GA*	0,335	0,381	df=2	
Генотип *GG*	0,089	0,066		

Нами также не обнаружено различий частоты аллелей и распределения генотипов полиморфизма *G*1134967*A* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1H* у пациентов с артериальной гипертензией и гипертрофией левого желудочка и группой здоровых лиц (χ^2=1,53, p=0,22; χ^2=3,87, p=0,14). Равновесие Харди-Вайнберга в контрольной группе сохранялось (χ^2=0,06, p=0,81).

Сравнительный анализ встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма *G*237115840*T* гена рианодиновых каналов *RYR2* не установил их различий в группе пациентов, страдающих артериальной гипертензией и группе здоровых лиц (χ^2=1,78, p=0,18; χ^2=1,79, p=0,41). При этом частотное соотношение генотипов у больных (χ^2=0,01, p=0,92) и в контрольной группе (χ^2=0,06, p=0,81) соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

3.3.2. Заключение

К развитию гипертрофии миокарда левого желудочка сердца среди больных артериальной гипертензией предрасполагает носительство аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G*. При этом риск гипертрофии миокарда повышается более чем в 6 раз.

3.4.1. Связь полиморфизма rs1006737 *G*2236129*A* гена *CACNA1C* с эссенциальной гипертензией у этнических русских и китайцев-ханьцев в Северо-Восточной Азии

Исследовано 500 русских (250 пациентов с ЭГ и 250 представителей группы контроля) и 3202 китайца-ханьца (1512 пациентов с ЭГ и 1690 представителей группы контроля). При сопоставлении показателей русских и китайцев выявлены различия в росте, ИМТ, САД, ДАД ($p<0,01$) (таблица 18).

Различий групп по весу и половому составу среди русских не выявлено ($p>0,05$). Обнаружено различие в росте, весе, ИМТ, САД, ДАД в группах ханьцев ($p<0,05$). Не выявлено статистически значимых различий ХЛ, ГЛ ($p>0,05$) у русских. Показатели ХЛ, ТГ, ГЛ различаются в группах китайцев ($p<0,05$) (таблица 18).

Таблица 18

Основные показатели группы контроля и пациентов с гипертензией

Показатели	русские			ханьцы		
	гипертензия (n=250)	контроль (n=250)	p	гипертензия (n=1512)	контроль (n=1690)	p
Возраст/годы	44 (5,37)	42 (4,18)	<0,001	53 (8,22)	53 (7,04)	0,728
Пол (Муж./Жен.)	126/124	123/127	0,788	744/768	790/900	0,325
Рост/см	170,67 (8,74)	174,52 (6,87)	0,022	162,42 (8,84)	163,42 (9,32)	0,04
Вес/кг	86,52 (17,42)	80,97 (12,65)	0,091	68,19 (13,46)	63,17 (10,07)	<0,001
ИМТ	29,74 (5,92)	26,52 (3,54)	<0,001	25,72 (3,78)	23,63 (3,14)	<0,001
САД	150,27 (7,74)	121,45 (4,20)	<0,001	146,50 (16,47)	109,40 (8,30)	<0,001
ДАД	94,21 (5,54)	71,74 (3,12)	<0,001	92,70 (9,51)	73,17 (5,73)	<0,001
Пульсовое давление	56,07 (8,66)	49,71 (4,83)	<0,001	53,79 (14,60)	36,24 (6,60)	<0,001

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, ИМТ – индекс массы тела, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – Диастолическое артериальное давление.

Показатели: возраст, пол, рост, вес, ИМТ, САД, ДАД, пульсовое АД, частота минорной аллели (MAF), русских и китайцев в возрасте 40–50 лет, послужившие основой для модели множественной логистической регрессии, представлены в виде таблицы. Частоты минорной аллели (MAFs) SNP rs1006737 были 0,3287 (русские) и 0,0192 (китайцы) соответственно (таблица 19).

Таблица 19

Основные показатели русских и китайцев-ханьцев возрастной группы 40–50 лет

Показатели	Общая			Мужчины			Женщины		
	Русские (n=181)	**Ханьцы (n=780)**	**p**	**Русские (n=84)**	**Ханьцы (n=350)**	**p**	**Русские (n=97)**	**Ханьцы (n=430)**	**p**
Возраст, среднее (SD), годы	44 (2,92)	47 (2,61)	<0,001	44 (2,90)	46 (3,18)	<0,001	44 (2,95)	48 (1,86)	<0,001
Пол (жен./муж.)	84/97	350/430		-			-		
Рост, mean (SD),см	173,45 (6,32)	165,14 (8,95)	<0,001	174,73 (5,16)	172,67 (6,48)	0,115	162,33 (4,51)	159,01 (5,24)	0,274
Вес, mean (SD), кг	79,28 (12,14)	65,53 (9,98)	<0,001	81,04 (11,25)	69,53 (8,83)	<0,001	64,00 (9,54)	62,28 (9,69)	0,760
ИМТ, mean (SD)	26,30 (3,51)	24,01 (3,03)	<0,001	26,51 (3,38)	23,29 (2,43)	<0,001	24,43 (4,88)	24,59 (3,33)	0,936
САД, mean (SD)	121,24 (4,14)	107,84 (8,58)	<0,001	124,36 (2,61)	108,15 (8,68)	<0,001	118,54 (3,22)	107,58 (8,50)	<0,001
ДАД, mean (SD)	71,73 (3,16)	73,15 (5,71)	<0,001	72,70 (3,17)	73,52 (5,70)	0,076	70,89 (2,91)	72,85 (5,71)	<0,001
Пульсовое АД, среднее (SD)	49,51 (4,61)	34,68 (6,37)	<0,001	51,66 (4,16)	34,63 (7,09)	<0,001	47,65 (4,16)	34,73 (5,73)	<0,001
MAF of rs1006737	0,3287	0,0192	-	0,3512	0,0143	-	0,3093	0,0233	-

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, ИМТ – индекс массы тела, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – Диастолическое артериальное давление, mean – среднее, SD – стандартное отклонение, MAF – Частота минорной аллели

При помощи модели множественной логистической регрессии доказано, что rs1006737 (OR=1,386; 95% CI: 1,059–1,813) и ТГ (OR=1,612; 95% CI: 1,123–2,313) – независимые факторы риска ЭГ среди русских. При этом rs1006737 (OR=1,600; 95% CI: 1,228–2,084), ИМТ (OR=2,467; 95% CI: 2,136–2,850), ХЛ (OR=3,071; 95% CI: 2,577–3,659), ТГ (OR=1,543; 95% CI: 1,313–1,814) и ГЛ (OR=1,571; 95% CI: 1,327–1,860) значимо коррелируют с ЭГ среди представителей китайской популяции.

При анализе SNP гена *CACNA1C* rs1006737, распределение генотипов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга (HWE) с p=0,304 (контрольная группа русских) и p=0,299 (контрольная группа китайцев) соответственно.

Выявлена одинаковая тенденция, проявляющаяся высокой частотой минорной аллели (MAF) SNP гена *CACNA1C* rs1006737 в группе с ЭГ по сравнению с контролем, как у русских, так и у китайцев-ханьцев всех исследуемых возрастных групп (рисунок 20, 21). Обнаружено, что среди русских с ЭГ MAF принимала диапазон значений от 0,390 (возрастная группа <40) до 0,4387 (возрастная группа 40-50 лет). Среди представителей русской популяции контрольной группы определена MAF от 0,295 (возрастная группа >50) до 0,342 (возрастная группа 40-50 лет) (рисунок 20). Среди ханьцев с гипертензией диапазон MAF от 0,0294 (возраст <50 лет) до 0,0795 (возраст >60 лет) и от 0,0242 (возраст <50 лет) до 0,0571 (возраст >60 лет) в контрольной группе (рисунок 21).

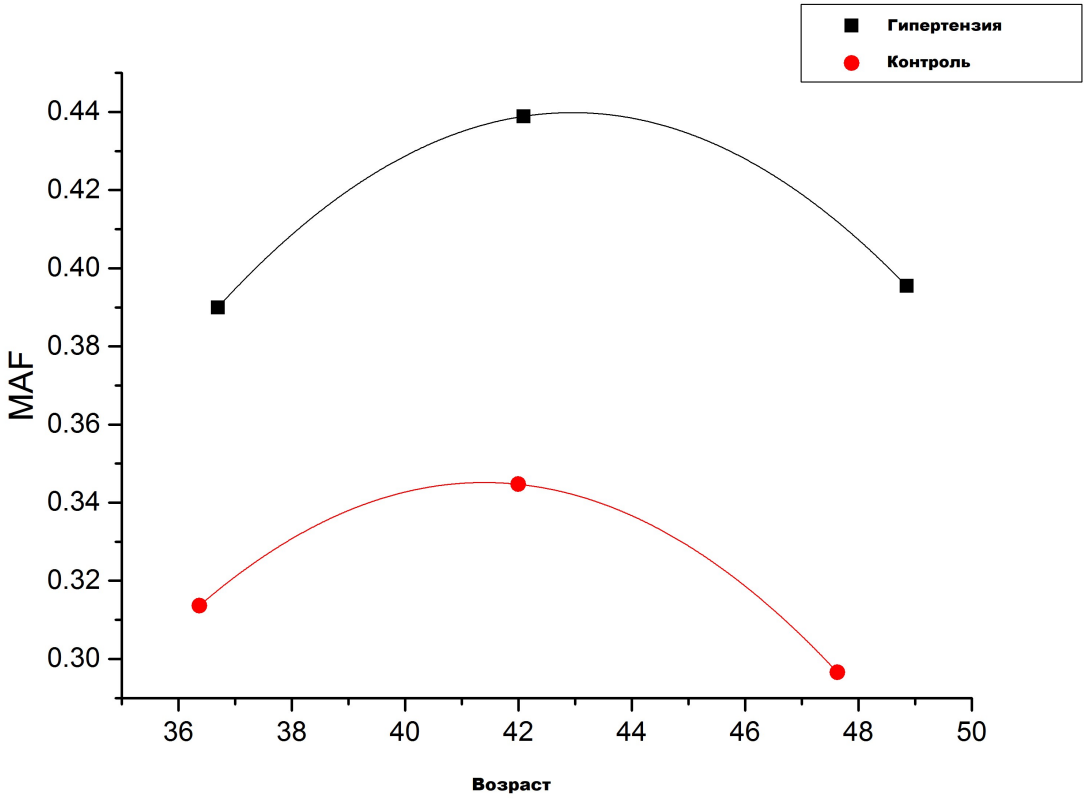


Рисунок 20. Частота минорной аллели (MAF) в исследуемых группах русских

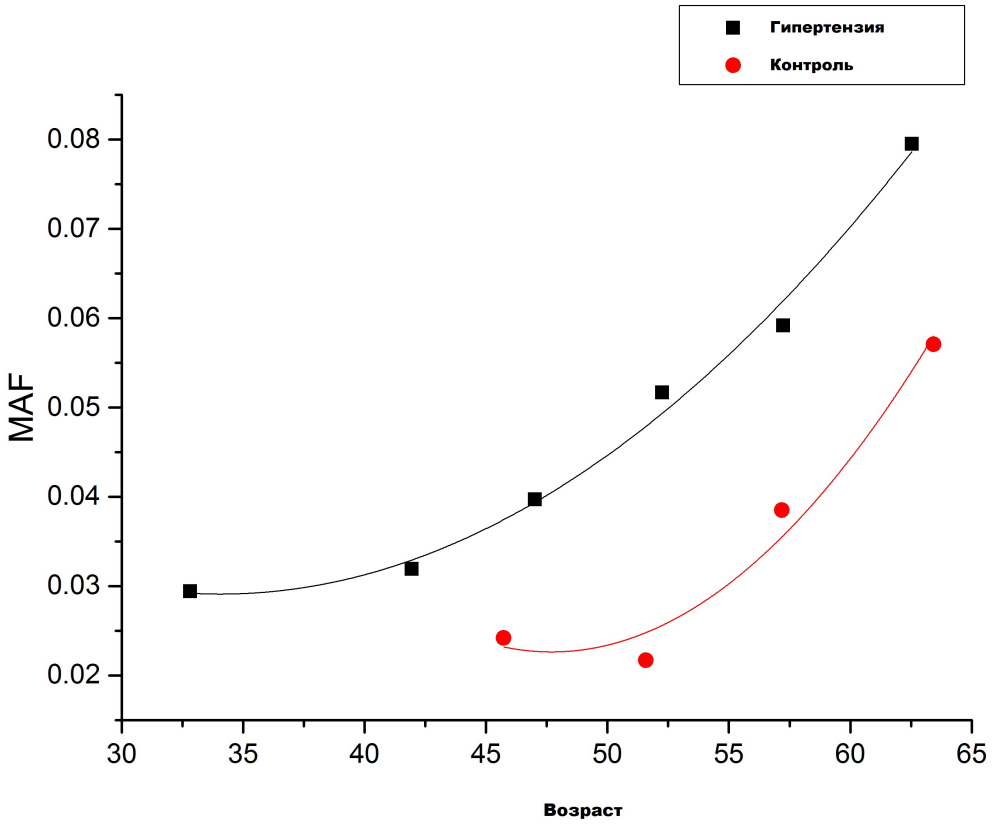


Рисунок 21. Частота минорной аллели (MAF) в исследуемых группах китайцев-ханьцев

Однолокусный анализ распределения генотипов и аллелей у нормотоников и пациентов с ЭГ для SNP гена *CACNA1C* rs1006737 сведён в таблицы 21–22. Выявлено, что носительство аллели *A* rs1006737 повышает риск ЭГ среди русских (OR=1,437; 95% CI: 1,110–1,860; p=0,006) и среди китайцев (OR=1,705; 95% CI: 1,332–2,182; p <0,001).

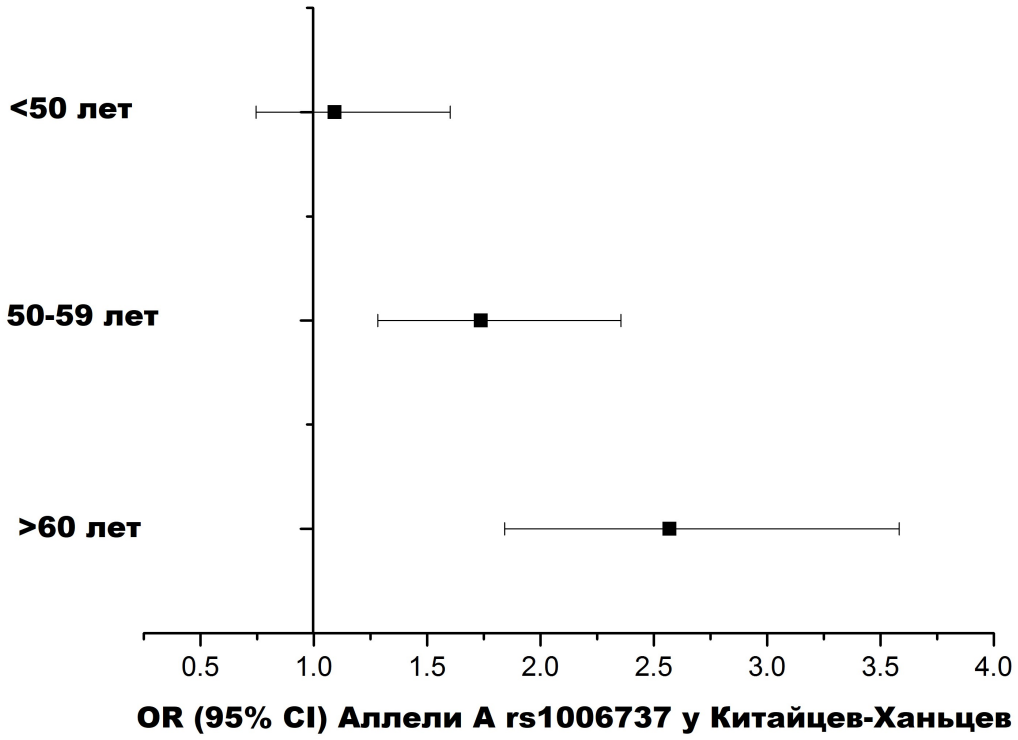


Рисунок 22. Риск ЭГ носителей аллели *A* rs1006737 у китайцев-ханьцев по возрастным группам

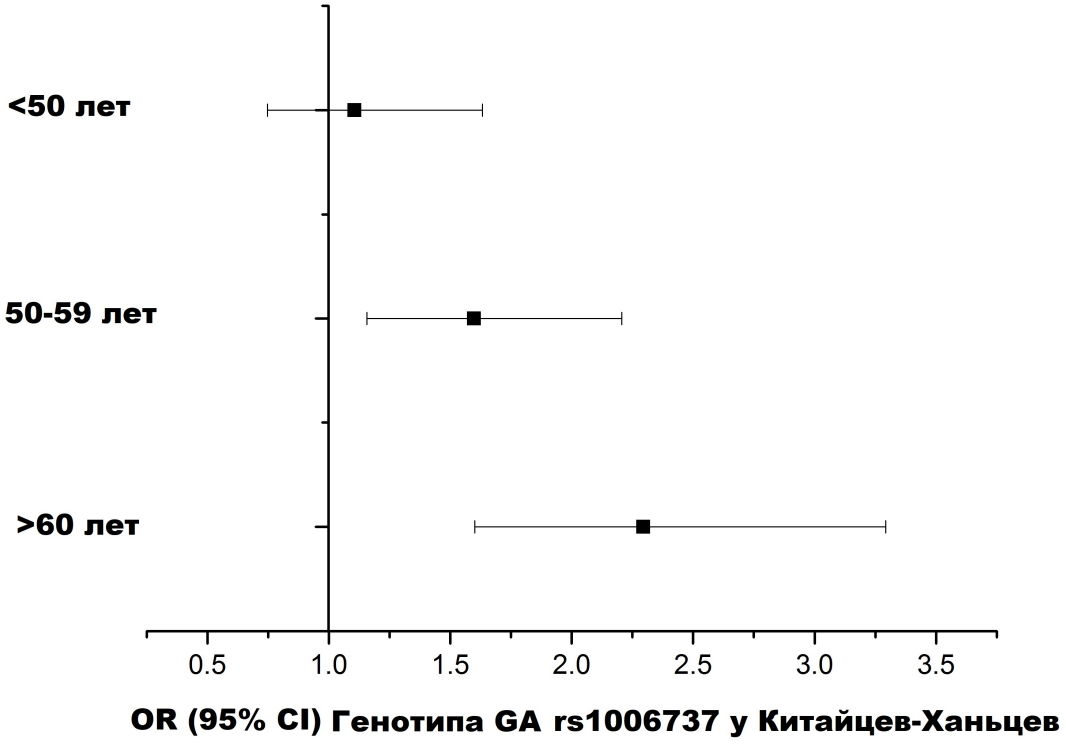


Рисунок 23. Риск ЭГ носителей генотипа *GA* rs1006737 у китайцев-ханьцев по возрастным группам

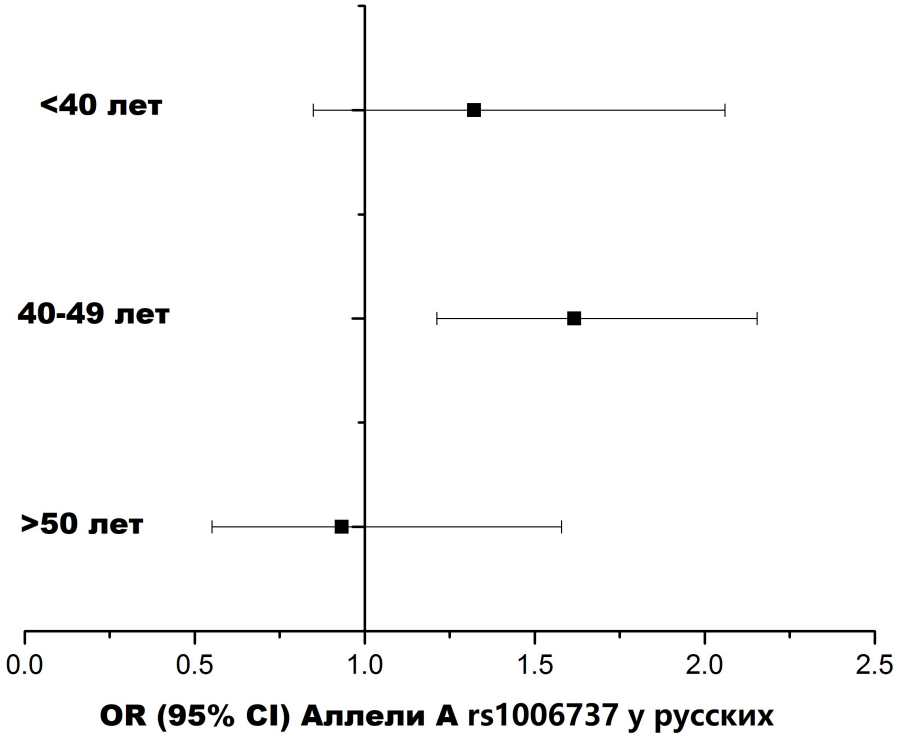


Рисунок 24. Риск ЭГ носителей аллели *A* rs1006737 у русских по возрастным группам

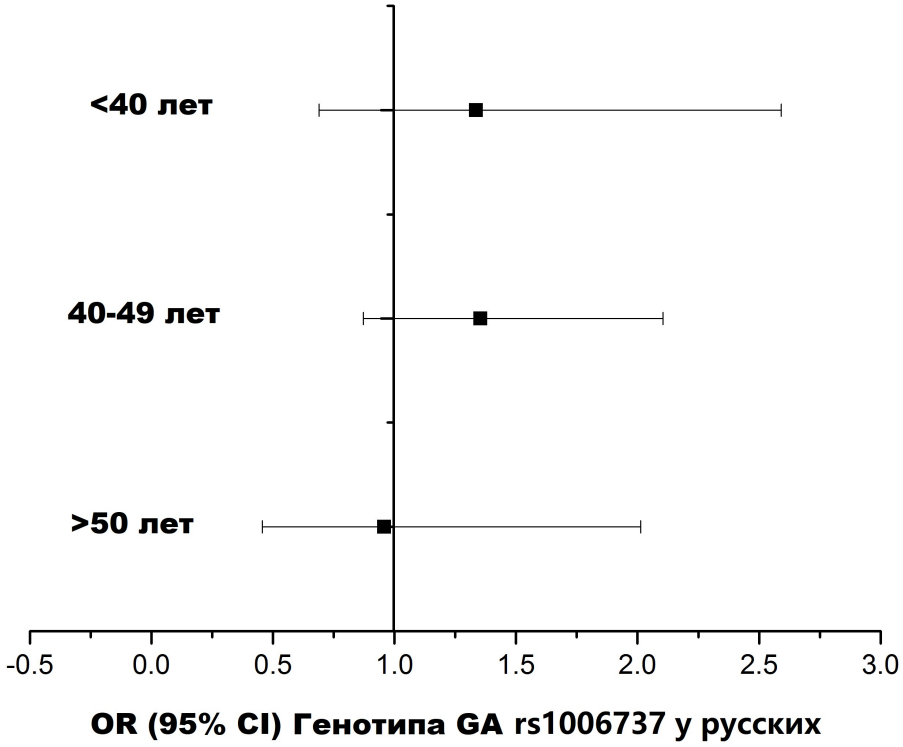


Рисунок 25. Риск ЭГ носителей генотипа *GA* rs1006737 у русских по возрастным группам

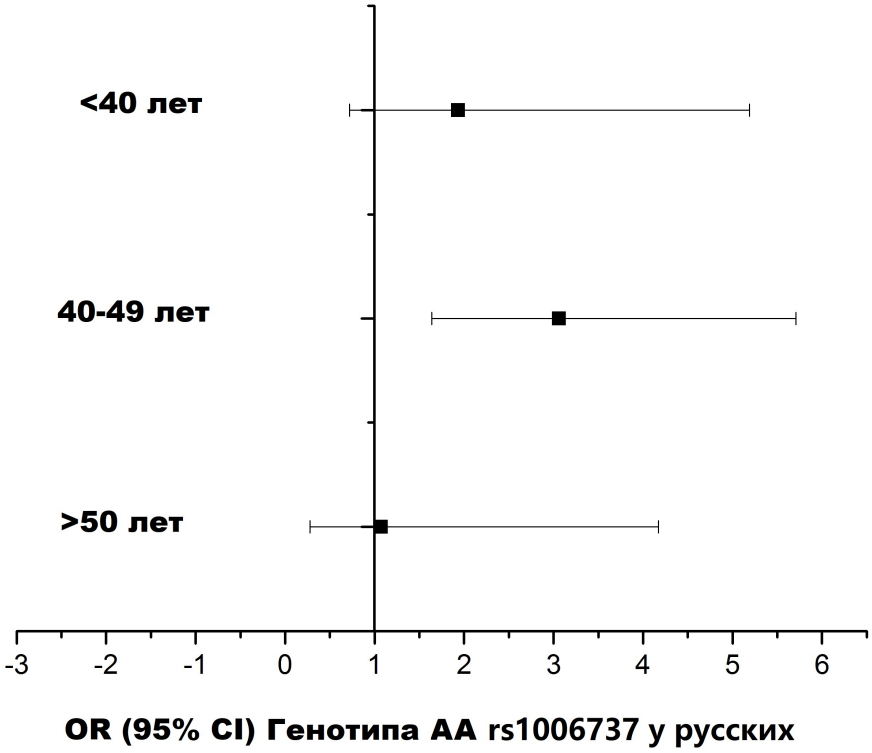


Рисунок 26. Риск ЭГ носителей генотипа *AA* rs1006737 у русских по возрастным группам

Носительство генотипа *AA* rs1006737 ассоциировано с повышенным риском гипертензии (OR=2,412; 95% CI: 1,348–4,318; p=0,003) среди русских. Наличие генотипа GA rs1006737 ассоциировано с повышенным риском гипертензии (OR=1,538; 95% CI: 1,188–1,991; p=0,001) среди ханьцев. В доминантной модели, *GA+AA* генотипы способствовали повышенному на 49,6% риску ЭГ (95% CI: 1,036–2,162; p=0,032) по сравнению с носителями GG генотипа среди представителей русской популяции и на 61,8% повышенному риску (95% CI: 1,253–2,089; p<0,001) среди представителей китайской популяции. В рецессивной модели, носители *AA* генотипа имели на 108,4% повышенный риск ЭГ по сравнению с носителями *GG+GA* генотипов (95% CI: 1,213–3,582; p=0,008) у русских (Таблица 20). С увеличением возраста, *GA* генотип давал больший

показатель OR в группе китайцев с ЭГ: OR=1,105 (возраст <50 лет), OR=1,597 (возраст 50–59 лет), OR=2,295 (возраст >60 лет) (Таблица 24–27). Такая же тенденция выявлена для генотипа *AA* среди русских: OR=1,932 (возраст <40 лет), OR=3,060 (возраст 40–49 лет), OR=1,072 (возраст >50 лет) (рисунок 22-26) (Таблица 21–23).

Таблица 20

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у русских

Генотип	**Контроль (n=250)**	**Гипертензия (n=250)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**
MAF	0,326	0,410				
Частота аллелей *G*:*A*	0,674: 0,326	0,590: 0,410	1,437 (1,110–1,860)	0,006 (7,58)		
GG	110 (44,0)	89(35,6)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	117 (46,8)	117 (46,8)	1,236 (0,846 –1,806)	0,273	1,308 (0,887 –1,927)	0,175
AA	23 (9,2)	44 (17,6)	2,364 (1,328 –4,208)	0,003	2,412 (1,348 –4,318)	0,003
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			1,421 (0,992 –2,037)	0,055	1,496 (1,036 –2,162)	0,032
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			2,108 (1,230 –3,612)	0,007	2,084 (1,213 –3,582)	0,008

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, SNP-полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF – частота минорной аллели.

Таблица 21

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у русских младше 40 лет

Генотип	**Контроль (n=250)**	**Гипертензия (n=50)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**
MAF	0,3260	0,3900				
Частота аллелей *G*:*A*	0,674: 0,326	0,610: 0,390	1,322 (0,849–2,059)	0,216 (1,53)		
GG	110 (44,0)	18 (36,0)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	117 (46,8)	25 (50,0)	1,306 (0,675 –2,525)	0,428	1,336 (0,689 –2,591)	0,391
AA	23 (9,2)	7 (14,0)	1,860 (0,697 –4,965)	0,215	1,932 (0,720 –5,189)	0,191
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			1,397 (0,745 –2,620)	0,298	1,433 (0,761 –2,696)	0,265
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			1,607 (0,649 –3,978)	0,305	1,648 (0,662 –4,100)	0,283

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, SNP-полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF – частота минорной аллели.

Таблица 22

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у русских в возрасте 40–50 лет

Генотип	**Контроль (n=250)**	**Гипертензия (n=163)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**
MAF	0,3260	0,4387				
Частота аллелей *G*:*A*	0,674: 0,326	0,561: 0,439	1,616 (1,212–2,154)	0,001 (10,74)		
GG	110 (44,0)	54(33,1)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	117 (46,8)	75 (46,0)	1,306 (0,844 –2,019)	0,230	1,354 (0,872 –2,104)	0,177
AA	23 (9,2)	34 (20,9)	3,011 (1,618 –5,605)	0,001	3,060 (1,640 –5,708)	<0,001
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			1,586 (1,052 –2,392)	0,028	1,642 (1,085 –2,486)	0,019
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			2,601 (1,469 –4,607)	0,001	2,591 (1,461 –4,595)	0,001

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, SNP – полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF – частота минорной аллели.

Таблица 23

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у русских в возрасте старше 50 лет

Генотип	**Контроль (n=1690)**	**Гипертензия (n=352)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**
MAF	0,0325	0,0795				
Частота аллелей *G*:*A*	0,967: 0,033	0,920: 0,080	2,569(1,842–3,583)	<0,001 (33,01)		
GG	1580 (93,5)	300 (85,2)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	110 (6,5)	48 (13,6)	2,298 (1,602 – 3,297)	<0,001	2,295 (1,600 –3,292)	<0,001
AA	0 (0,0)	4 (1,1)	-	-	-	-
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			2,490 (1,751 – 3,541)	<0,001	2,489 (1,750 –3,540)	<0,001
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			-	-	-	-

Примечание: n-количество исследуемых, p-уровень значимости, SNP-полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF- частота минорной аллели.

Таблица 24

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у китайцев-ханьцев

Генотип	**Контроль (n=1690)**	**Гипертензия (n=1512)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**
MAF	0,0325	0,0542				
Частота аллелей *G*:*A*	0,967: 0,033	0,946: 0,054	1,705 (1,332–2,182)	<0,001 (18,33)		
GG	1580 (93,5)	1356 (89,7)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	110 (6,5)	148 (9,8)	1,568 (1,212 –2,027)	0,001	1,538 (1,188 –1,991)	0,001
AA	0 (0,0)	8 (0,5)	-	-	-	-
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			1,652 (1,281 –2,132)	<0,001	1,618 (1,253 –2,089)	<0,001
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			-	-	-	-

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, SNP-полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF – частота минорной аллели.

Таблица 25

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у китайцев-ханьцев младше 50 лет

Генотип	**Контроль (n=1690)**	**Гипертензия (n=508)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**
MAF	0,0325	0,0354				
Частота аллелей *G*:*A*	0,967: 0,033	0,965: 0,035	1,092(0,745–1,602)	0,652 (0,20)		
GG	1580 (93,5)	472 (92,9)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	110(6,5)	36 (7,1)	1,096 (0,742 – 1,618)	0,647	1,105 (0,747 –1,632)	0,618
AA	0 (0,0)	0 (0,0)	-	-	-	-
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			-	-	-	-
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			-	-	-	-

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, SNP – полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF – частота минорной аллели.

Таблица 26

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у китайцев-ханьцев в возрасте 50–59 лет

Генотип	**Контроль (n=1690)**	**Гипертензия (n=652)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**p (χ^2)**
MAF	0,0325	0,0552				
Частота аллелей *G*:*A*	0,967: 0,033	0,945: 0,055	1,737(1,282–2,355)	<0,001 (12,95)		
GG	1580 (93,5)	584 (89,6)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	110 (6,5)	64 (9,8)	1,574 (1,140 – 2,173)	0,006	1,597 (1,156 –2,206)	0,005
AA	0 (0,0)	4 (0,6)	-	-	-	-
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			1,672 (1,218 – 2,296)	0,001	1,698 (1,236 –2,333)	0,001
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			-	-	-	-

Примечание: n – количество исследуемых, p – уровень значимости, SNP – полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF – частота минорной аллели.

Таблица 27

Генотипы rs1006737 в *CACNA1C* гене и риск ЭГ у китайцев-ханьцев в возрасте старше 60 лет

Генотип	**Контроль (n=1690)**	**Гипертензия (n=352)**	**OR (95%CI)**	**P (χ^2)**	**OR (95%CI)**	**P (χ^2)**
MAF	0,0325	0,0795				
Частота аллелей *G*:*A*	0,967: 0,033	0,920: 0,080	2,569(1,842–3,583)	<0,001 (33,01)		
GG	1580 (93,5)	300 (85,2)	1,000 (референс)		1,000 (референс)	
GA	110 (6,5)	48 (13,6)	2,298 (1,602 – 3,297)	<0,001	2,295 (1,600 –3,292)	<0,001
AA	0 (0,0)	4 (1,1)	-	-	-	-
Доминантная (*GG* vs. *GA*+*AA*)			2,490 (1,751 – 3,541)	<0,001	2,489 (1,750 –3,540)	<0,001
Рецессивная (*GG*+*GA* vs. *AA*)			-	-	-	-

Примечание: n-количество исследуемых, p-уровень значимости, SNP-полиморфизм единичных нуклеотидов, MAF- частота минорной аллели.

Основываясь на полученных фактах, возможно сделать выводы о том, что представители русской популяции – жители Северо-Восточной Азии страдают ЭГ с более молодого возраста, по сравнению с представителями китайской популяции того же географического региона, что связано с комбинированным влиянием средовых и генетических факторов. Частоты минорной аллели (MAFs) *CACNA1C* гена существенно различаются между русским и китайским ханьским населением. Однако, настоящее исследование популяций с высокочастотной (у русских) и низкочастотной (у ханьцев) минорной аллелью позволило более полно подтвердить наличие возможности для использования SNP гена кальциевых каналов *CACNA1C* rs1006737 с целью прогнозирования риска ЭГ.

Используя подход, основанный на подборе гена-кандидата, мы впервые выявили, что аллель *A* полиморфизма rs1006737 гена *CACNA1C* связана с

повышенным риском ЭГ у русских и китайцев – жителей региона Северо-Восточной Азии. Выяснено, что значение OR аллели *A* повышенное, как среди русских, так и среди китайцев.

Носительство генотипа *AA* гена CACNA1C связано с предрасположенностью к ЭГ у русских, а генотипа *GA* у ханьцев. Следовательно, полиморфизм rs1006737 в гене *CACNA1C* может быть полезным генетическим маркёром для прогнозирования ЭГ.

Согласно результатам настоящего исследования – rs1006737 в гене *CACNA1C* является генетическим полиморфизмом, который способствует склонности людей в русской и китайской ханьской популяции к ЭГ. Тем не менее, ассоциативные исследования не всегда воспроизводимы по причинам особенностей критериев включения. Таким образом, требуются дальнейшие исследования для подтверждения связи полиморфизма в гене кальциевых каналов rs1006737 и ЭГ с бо̀льшим количеством исследуемых и включением представителей других популяций. Этот полиморфизм может быть полезен для выбора наиболее эффективной антигипертензивной терапии у пациентов с ЭГ на основе различий их генетического фона.

3.4.2. Заключение

Аллель *A* полиморфизма rs1006737 в гене *CACNA1C* является полезным генетическим маркёром для прогнозирования первичной артериальной гипертензии у жителей региона Северо-Восточной Азии – как этнически русских, так и китайцев ханьской народности.

3.5.1. Влияние генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов *A*50615794*G* (rs11079919) в гене *CACNA1G* на внутриклеточную концентрацию ионов кальция у здоровых и больных артериальной гипертензией

Для полиморфизма *A*50615794*G* (rs11079919) в гене *CACNA1G* получены все искомые генотипы и аллели.

Обнаружено, что у пациентов с гипертонической болезнью I стадии аллели *A* и *G* полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* встречались с частотой, равной около 0,500, тогда как в контрольной группе аллель *A* выявлялась с частотой 0,742, а аллель *G* – 0,258 (χ^2=27,11, p<0,01) (таблица 28). Генотипы полиморфизма *A*50615794*G* гена кальциевых потенциал-управляемых каналов *CACNA1G* определялись с частотами: *AA* – 0,356, *AG* – 0,311, *GG* – 0,333, тогда как в контрольной группе: *AA* – 0,573; *AG* – 0,338; *GG* – 0,089 (χ^2=32,00, p<0,001) (таблица 29). Частотное соотношение генотипов в контрольной группе подчинялось эквилибриуму Харди-Вайнберга (HWE) (χ^2=2,19, p>0,05) (таблица 30).

Таблица 28

Встречаемость аллелей полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых и больных гипертонической болезнью I стадии (тест χ^2)

Аллели	Артериальная гипертензия	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 90	n = 157	27,11 df=1	<0,001	знач.	95% CI
Аллель *A*	0,511	0,742			0,36	0,25 – 0,53
Аллель *G*	0,489	0,258			2,75	1,87 – 4,05

Таблица 29

Встречаемость генотипов полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых и больных гипертонической болезнью I стадии (тест χ^2)

Генотипы	Артериальная гипертензия	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 90	n = 157	24,76 df=2	<0,001	знач.	95% CI
Генотип *AA*	0,356	0,573			0,41	0,24 – 0,70
Генотип *AG*	0,311	0,338			0,89	0,51 – 1,54
Генотип *GG*	0,333	0,089			5,11	2,5 – 10,3

Таблица 30

Соответствие частот генотипов SNP *CACNA1G A*50615794*G* здоровых лиц равновесию Харди-Вайнберга (тест χ^2)

Генотипы	**Контроль**	**HWE**	χ^2	**p**
	n = 157			
Генотип *AA*	0,573	0,551	2,19	>0,05
Генотип *AG*	0,338	0,383	df=2	
Генотип *GG*	0,089	0,067		

Выявлено, что у пациентов, страдающих гипертонической болезнью II–III стадии, аллели *A* и *G* полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* встречалась с частотами 0,429 и 0,571, что достоверно отличалось от соответствующих результатов контрольной группы (χ^2=57,36, p<0,01) (таблица 31). Генотипы полиморфизма *A*50615794*G* гена кальциевых потенциал-управляемых каналов *CACNA1G* определялись с частотами: *AA* – 0,325, *AG* – 0,206, *GG* – 0,468, что также отличалось от аналогичных показателей контрольной группы (χ^2=52,53, p<0,01) (таблица 32).

Таблица 31

Встречаемость аллелей полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых и больных гипертонической болезнью II–III стадии (тест χ^2)

Аллели	Артериальная гипертензия	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 126	n = 157	57,36 df=1	<0,001	знач.	95% CI
Аллель *A*	0,429	0,742			0,26	0,18 – 0,37
Аллель *G*	0,571	0,258			3,84	2,69 – 5,47

Таблица 32

Встречаемость генотипов полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* у здоровых и больных гипертонической болезнью II–III стадии (тест χ^2)

Генотипы	Артериальная гипертензия	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 126	n = 157	52,53 df=2	<0,001	знач.	95% CI
Генотип *AA*	0,325	0,573			0,36	0,22 – 0,59
Генотип *AG*	0,206	0,338			0,51	0,30 – 0,88
Генотип *GG*	0,468	0,089			8,99	4,7 – 17,3

При сравнении групп пациентов с гипертонической болезнью I стадии и II–III стадии, выявлены различия в распределении частот генотипов при построении рецессивной модели наследования (генотипы *AA*+*AG* с генотипом *GG*). В группе с I стадией гипертонической болезни частота генотипов *AA*+*AG* – 0,667, а генотипа *GG* составила 0,333, при этом в группе со II–III стадией её значения находились на уровне 0,532 и 0,468 соответственно (таблица 33).

Таблица 33

Рецессивная модель соответствия частот генотипов полиморфизма *CACNA1G A*50615794*G* групп пациентов с гипертонической болезнью I стадии и II–III стадии (тест χ^2)

Генотипы	гипертоническая болезнь I стадии	гипертоническая болезнь II–III стадии	χ^2		OR	
	n = 90	n = 126	3,94 df=1	**p**<0,05	знач.	95% CI
AA+AG	0,667	0,532			0,57	0,3 –0,9
GG	0,333	0,468			1,76	1,0 – 3,1

Нами изучено содержание внутриклеточного Ca^{2+} у здоровых и больных ГБ в зависимости от генотипов *CACNA1G A*50615794*G.* Установлено, что в группах больных, носителей генотипа *GG* – концентрация внутриклеточного Ca^{2+} значительно выше при внутригрупповом сравнении с носителями *AA*, а также *AG* и составляла 110 [107;119] нмоль/кл в группе с гипертонической болезнью I стадии (H=6,22; p<0,05) и 118 [116;123] нмоль/кл в группе пациентов с II–III стадией ГБ (H=13,12; p<0,01), тогда как значимых различий концентрации внутриклеточного Ca^{2+} внутри контрольной группы не выявлено (H=3,96; p>0,05). В межгрупповом сравнении установлено, что с прогрессированием заболевания концентрация внутриклеточного Ca^{2+} возрастает, при этом разница медиан концентрации Ca^{2+} в группах здоровых и больных гипертонической болезнью II–III значительно выше у носителей генотипа *GG* и составляет 18 нмоль/кл (Таблица 34).

Таблица 34

Концентрация внутриклеточного Ca^{2+} в исследуемых группах у носителей различных генотипов SNP *A*50615794*G* (rs11079919) в гене *CACNA1G*

<table>
<tr><th rowspan="2">Генотип</th><th colspan="3">$[Ca^{2+}]_i$
Me [25%;75%]</th><th colspan="2" rowspan="2">H; p</th></tr>
<tr><th>Зд</th><th>ГБ I</th><th>ГБ II–III</th></tr>
<tr><td>AA</td><td>99 [97;101]</td><td>109 [97;112]</td><td>112 [111;117]</td><td>H=33,43;
p<0,01</td><td rowspan="3">H=65,49
p<0,01</td></tr>
<tr><td>AG</td><td>100 [94;107]</td><td>111 [99;113]</td><td>113 [106;120]</td><td>H=21,17;
p<0,01</td></tr>
<tr><td>GG</td><td>100 [99;105]</td><td>110 [107;119]</td><td>118 [116;123]</td><td>H=35,51;
p<0,01</td></tr>
<tr><td rowspan="2">H; p</td><td>H=3,96;
p>0,05</td><td>H=6,22;
p<0,05</td><td>H=13,12;
p<0,01</td><td colspan="2" rowspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="3">H=127,46;
p<0,01</td></tr>
</table>

Примечание: $[Ca^{2+}]_i$ – концентрация внутриклеточного Ca^{2+}(нмоль/кл.); Зд – группа здоровых; ГБ I – группа с гипертонической болезнью I стадии; ГБ II–III – группа с гипертонической болезнью II–III стадии; Me – медиана; H – H критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень значимости.

3.5.2. Заключение

1. Встречаемость генотипов *GG* SNP *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919) у пациентов с гипертонической болезнью чаще, чем у здоровых лиц.
2. Носительство генотипа *GG* SNP *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919) предрасполагает к развитию артериальной гипертензии и гипертрофии миокарда, увеличивая риск их развития более чем в 2 раза.
3. У больных гипертонической болезнью, независимо от её стадии, внутриклеточная концентрация ионов кальция внутри лимфоцитов выше, чем у здоровых волонтёров. Содержание ионов кальция в группе пациентов-носителей генотипа *GG* выше, чем у пациентов генотипов *AA* и *AG* SNP *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919).

3.6.1. Модель прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов

Для полиморфизма генов кальциевых каналов получены все искомые генотипы и аллели. В результате анализа Multifactor Dimensionality Reduction определены лучшие модели комбинаций генотипов для изучаемых SNP *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737) (далее по тексту C10), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472) (далее по тексту H11), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919) (далее по тексту G11), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) (далее по тексту R24), со значимыми показателями отношения шансов по критерию χ^2 при тестировании (Testing χ^2) ($p<0,05$) (таблица 35).

Таблица 35

Лучшие модели Multifactor Dimensionality Reduction для прогнозирования артериальной гипертензии

Model	Bal. Acc. CV Training	Bal. Acc. CV Testing	CV Consistency
G11	0,6717	0,6717	7/7
G11, C10	0,6955	0,6735	7/7
G11, H11, R24	0,7285	0,6739	7/7
G11, C10, H11, R24	0,7852	0,6528	7/7

Определено, что модель с максимальным балансом точности тестирования кросс-валидацией (Bal. Acc. CV Testing) (0,6739) – это комбинация генотипов G11, H11, R24 (χ^2=4,33, p=0,0374, OR=4,58), увеличивающая риск развития артериальной гипертензии, в среднем, в 4,58 раза.

Установлено, что наиболее рисковыми являются следующие комбинации генотипов: 1) *CACNA1G A*50615794*G–G/G*, *CACNA1H G*1134967*A–G/A*, *RYR2 G*237115840*T–G/G*; 2) *CACNA1G A*50615794*G–G/G*, *CACNA1H G*1134967*A–A/A*, *RYR2 G*237115840*T–G/T*; 3) *CACNA1G A*50615794*G–G/G*, *CACNA1H G*1134967*A–G/G*, *RYR2 G*237115840*T–G/T*. Вышеперечисленные комбинации генотипов повышают риск развития артериальной гипертензии в 5 раз (χ^2=4,33, p=0,0374, OR=5,0) (таблица 36). Это означает, что пациенты с данными генотипами будут иметь высокий риск развития артериальной гипертензии.

Однако обнаружено, что имеются и протективные комбинации генов, максимально снижающие риск возникновения гипертонии. При комбинации *CACNA1G A*50615794*G–A/A*, *CACNA1H G*1134967*A–G/A*, *RYR2 G*237115840*T–G/T* (χ^2=4,33, p=0,0374, OR=0,0833) предрасположенность к развитию артериальной гипертензии будет минимальная (таблица 36).

Таблица 36

Отношение шансов (OR) генетической предрасположенности к артериальной гипертензии (АГ) для модели G11, H11, R24

Комбинация генотипов SNP G11 (*G>A*), H11 (*G>A*), R24 (*G>T*).	**OR**	**Предрасположенность к АГ (0–нет; 1–есть)**
G/A, G/A, G/T	0,5	0
G/A, G/A, T/T	0,1429	0
G/A, G/A, G/G	0,3333	0
*G/A, A/A, G/T**	1,5	1
*G/A, A/A, T/T**	1,0	1
G/A, A/A, G/G	0,0	0
G/A, G/G, G/T	0,4444	0
*G/A, G/G, T/T**	1,0	1
G/A, G/G, G/G	0,1429	0
A/A, G/A, G/T	0,0833	0
*A/A, G/A, T/T**	0,8	1
A/A, G/A, G/G	0,3333	0
A/A, A/A, G/T	0,4286	0
A/A, A/A, T/T	0,4	0
*A/A, A/A, G/G**	3,0	1
A/A, G/G, G/T	0,4286	0
A/A, G/G, T/T	0,25	0
*A/A, G/G, G/G**	1,5	1
*G/G, G/A, G/T**	3,0	1
*G/G, G/A, T/T**	4,0	1
*G/G, G/A, G/G**	5,0	1
*G/G, A/A, G/T**	5,0	1
*G/G, A/A, T/T**	2,0	1
G/G, A/A, G/G	0,0	0
*G/G, G/G, G/T**	5,0	1
*G/G, G/G, T/T**	∞	1
*G/G, G/G, G/G**	∞	1

Примечание: G11 – генетический полиморфизм *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919); H11 – генетический полиморфизм *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472); R24 – генетический полиморфизм *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389); * – комбинации с высоким риском ЭГ

3.6.2. Заключение

Создана статистическая модель прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов, позволившая выделить рисковые по артериальной гипертензии комбинации генотипов: 1) *CACNA1G(*rs11079919*)–GG, CACNA1H(*rs11865472*)–GA, RYR2(*rs2490389*)–GG*; 2) *CACNA1G(*rs11079919*)–GG, CACNA1H(*rs11865472*)–AA, RYR2(*rs2490389*)–GT*; 3) *CACNA1G(*rs11079919*)–GG, CACNA1H(*rs11865472*)–GG, RYR2(*rs2490389*)–GT*. Комбинацией, снижающей риск развития артериальной гипертензии, является сочетание генотипов *CACNA1G(*rs11079919*)–AA, CACNA1H(*rs11865472*)–GA, RYR2(*rs2490389*)–GT*.

3.7.1. Модель прогнозирования артериальной гипертензии у здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов пациентов с артериальной гипертензией, осложнённой гипертрофией миокарда левого желудочка

Нами созданы модели прогнозирования выраженности гипертрофии миокарда левого желудочка сердца у больных артериальной гипертензией на основе SNP генов кальциевых каналов *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737) (далее C10), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262) (далее B14), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048) (далее C12), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472) (далее H11), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919) (далее G11), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) (далее R24).

Из них наиболее показательной является модель, основанная на полиморфизме кальциевых ионных каналов в виде комбинации генотипов SNP B14, G11, C12, C10, H11, R24 (T=2,6371, df=6, p=0,0193) (таблица 37).

Таблица 37

Статистические модели прогнозирования развития гипертрофии миокарда левого желудочка у больных с артериальной гипертензией

Модель	**Т-статистика кросс-валидации подготовки**	**Т-статистика кросс-валидации подготовки тестирования**	**Взаимосогласованность кросс-валидации**
C10	2,3252	1,1547	7/10
C10, R24	3,4421	−0,6725	7/10
G11, C10, H11	4,6028	1,0638	8/10
G11, C10, H11, R24	5,7746	2,3792	10/10
B14, G11, C10, H11, R24	5,966	2,6371	10/10
B14, G11, C12, C10, H11, R24	5,966	2,6371	10/10

Результат моделирования взаимодействий исследуемых генов представлен в таблице 38. Выявленные комбинации генотипов отражают прогнозируемое значение индекса массы миокарда левого желудочка (исход).

Таблица 38

Модель прогнозирования предрасположенности к развитию эссенциальной артериальной гипертензии на основе SNP *CACNA1C* rs1006737, *CACNA1C* rs112532048, *CACNA1H* rs11865472, *CACNA1G* rs11079919, *CACNB2* rs143326262, *RYR2* rs2490389

Комбинация B14(C>T),G11(G>A),C12(G>A), C10(G>A),H11(G>A),R24(G>T)	**Исход**	**Разница с глобальной средней *103,3964***	**Прогнозируемый исход предрасположенности к эссенциальной артериальной гипертензии 0–нет; 1–есть**
CC,AA,GG,GG,GA,TT	84,5	−18,8964	0
CC,AA,GG,GG,GA,GG	97,0	−6,3964	0
CC,AA,GG,GG,GA,GT	84,0	−19,3964	0
CC,AA,GG,GG,GG,TT*	110,0	6,6036	1
CC,AA,GG,GG,GG,GG	87,5	−15,8964	0
CC,AA,GG,GG,AA,TT	101,0	−2,3964	0
CC,AA,GG,GG,AA,GG	72,5	−30,8964	0
CC,AA,GG,GA,GA,TT	83,0	−20,3964	0
CC,AA,GG,GA,GA,GG	77,5	−25,8964	0
CC,AA,GG,GA,GG,TT*	107,0	3,6036	1
CC,AA,GG,GA,GG,GG	89,0	−14,3964	0
CC,AA,GG,GA,GG,GT*	124,0	20,6036	1
CC,AA,GG,GA,AA,TT*	130,7	27,2703	1
CC,AA,GG,GA,AA,GG*	123,0	19,6036	1
CC,AA,GG,GA,AA,GT	95,0	−8,3964	0
CC,AA,GG,AA,GA,TT	83,5	−19,8964	0
CC,AA,GG,AA,GG,GT*	108,0	4,6036	1
CC,AA,GG,AA,AA,GT*	106,5	3,1036	1
CC,GA,GG,GG,GA,GT	84,0	−19,3964	0
CC,GA,GG,GG,GG,TT*	109,0	5,6036	1
CC,GA,GG,GG,GG,GG	95,0	−8,3964	0
CC,GA,GG,GG,GG,GT	102,0	−1,3964	0
CC,GA,GG,GG,AA,GT	80,5	−22,8964	0
CC,GA,GG,GA,GA,TT	96,0	−7,3964	0
CC,GA,GG,GA,GA,GG	69,5	−33,8964	0
CC,GA,GG,GA,GA,GT	90,3	−13,0631	0
CC,GA,GG,GA,GG,TT*	120,0	16,6036	1
CC,GA,GG,GA,GG,GG*	275,0	171,6036	1
CC,GA,GG,GA,GG,GT	82,5	−20,8964	0
CC,GA,GG,GA,AA,TT*	117,0	13,6036	1
CC,GA,GG,GA,AA,GT*	116,5	13,1036	1

Комбинация B14(C>T),G11(G>A),C12(G>A), C10(G>A),H11(G>A),R24(G>T)	**Исход**	**Разница с глобальной средней *103,3964***	**Прогнозируемый исход предрасположенности к эссенциальной артериальной гипертензии 0–нет; 1–есть**
CC,GA,GG,AA,GA,GG	103,0	−0,3964	0
CC,GA,GG,AA,GA,GT	97,0	−6,3964	0
CC,GA,GG,AA,GG,TT	92,0	−11,3964	0
CC,GA,GG,AA,GG,GT	81,0	−22,3964	0
CC,GA,GG,AA,AA,TT*	139,0	35,6036	1
CC,GA,GG,AA,AA,GT	93,3	−10,0631	0
CC,GG,GG,GG,GA,TT*	105,0	1,6036	1
CC,GG,GG,GG,GA,GG	89,0	−14,3964	0
CC,GG,GG,GG,GA,GT	63,0	−40,3964	0
CC,GG,GG,GG,GG,TT*	194,5	91,1036	1
CC,GG,GG,GG,GG,GG	74,0	−29,3964	0
CC,GG,GG,GG,AA,TT	102,0	−1,3964	0
CC,GG,GG,GG,AA,GT*	104,25	0,8536	1
CC,GG,GG,GA,GA,TT	95,0	−8,3964	0
CC,GG,GG,GA,GA,GG*	140,0	36,6036	1
CC,GG,GG,GA,GA,GT*	121,6	18,2036	1
CC,GG,GG,GA,GG,GG	83,0	−20,3964	0
CC,GG,GG,GA,GG,GT*	115,3	11,9369	1
CC,GG,GG,GA,AA,TT*	135,0	31,6036	1
CC,GG,GG,AA,GA,GG	88,0	−15,3964	0
CC,GG,GG,AA,GA,GT	95,3	−8,0631	0
CC,GG,GG,AA,AA,TT	71,5	−31,8964	0
CC,GG,GG,AA,AA,GT*	119,0	15,6036	1
CT,GA,GG,GA,GA,GT*	122,0	18,6036	1

Примечание: B14 – генетический полиморфизм *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262); G11 – генетический полиморфизм *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919); C12 – генетический полиморфизм *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048); C10 – генетический полиморфизм *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737); H11 – генетический полиморфизм *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472); R24 – генетический полиморфизм *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389); * – комбинации с высоким риском ЭГ и гипертрофии миокарда

С развитием эссенциальной артериальной гипертензии ассоциированы следующие сочетания полиморфных вариантов:

- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – AA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – GT;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – AA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A-AA/ RYR2 G*237115840*T – TT;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – AA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – AA/ RYR2 G*237115840*T – GG;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – TT;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – GG;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – AA/ CACNA1H G*1134967*A – AA/ RYR2 G*237115840*T – TT;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GG/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – TT;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GA/ RYR2 G*237115840*T – GG;*

- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GA/ RYR2 G*237115840*T – GT;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – AA/ RYR2 G*237115840*T – TT;*
- *CACNB2 C*18539252*T – CT/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GA/ RYR2 G*237115840*T – GT*

Установлено, что комбинацией с наименьшим риском развития гипертрофии миокарда левого желудочка является B14– *CC*, G11 – *GG*, C12 – *GG*, C10 – *GG*, H11 – *GA*, R24 – *GT.* У обладателей этой комбинации генотипов индекс массы миокарда снижается на 40,3964 по сравнению с глобальным средним (103,3964). При этом у пациентов с комбинацией B14– *CC*, G11 – *GA*, C12 – *GG*, C10 – *GA*, H11 – *GG*, R24 – *GG* наблюдается наиболее выраженная гипертрофия, превышающая глобальное среднее индекса массы миокарда на 171,6036.

3.7.2. Заключение

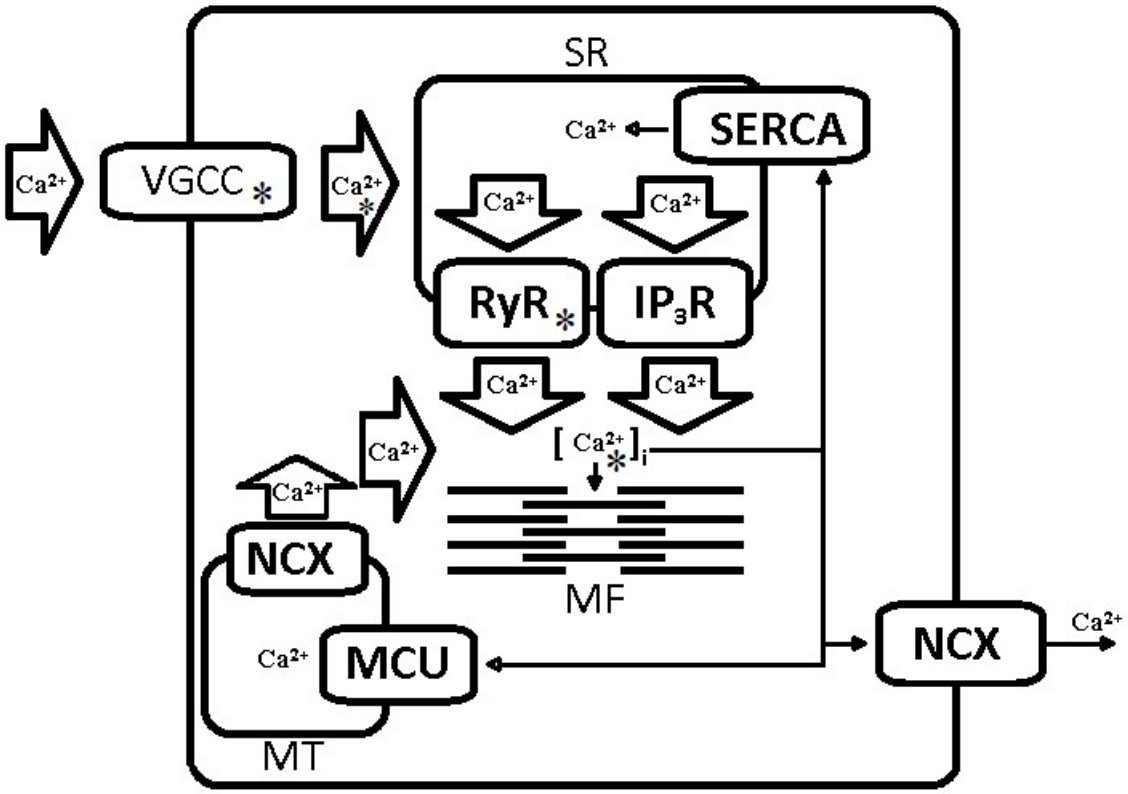
Разработана статистическая модель прогнозирования артериальной гипертензии, основанная на полиморфизме кальциевых ионных каналов в виде комбинации генотипов SNP генов *CACNB2* (*C*18539252*T*), *CACNA1G* (*A*50615794*G*), *CACNA1C* (*G*2585485*A*), *CACNA1C* (*G*2236129*A*), *CACNA1H* (*G*1134967*A*), *RYR2* (*G*237115840*T*). Комбинацией генотипов с наименьшим риском развития артериальной гипертензии левого желудочка является *CACNB2* (*C*18539252*T*) – *CC*, *CACNA1G* (*A*50615794*G*) – *GG*, *CACNA1C* (*G*2585485*A*) – *GG*, *CACNA1C* (*G*2236129*A*) – *GG*, *CACNA1H* (*G*1134967*A*) – *GA*, *RYR2* (*G*237115840*T*)

– *GT*. Сочетание генотипов *CACNB2* (*C*18539252*T*) – *CC*, *CACNA1G* (*A*50615794*G*) – *GA*, *CACNA1C* (*G*2585485*A*) – *GG*, *CACNA1C* (*G*2236129*A*) – *GA*, *CACNA1H* (*G*1134967*A*) – *GG*, *RYR2* (*G*237115840*T*) – *GG* способствует артериальной гипертензии.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Общеизвестно, что гипертоническая болезнь является мультифакториальным заболеванием с грозными осложнениями, ведущими к инвалидизации и смерти [14]. Генетические факторы вносят в развитие артериальной гипертензии значительный вклад [12, 152]. Однако роль полиморфизма кальциевых ионных каналов в патогенезе артериальной гипертензии не описана в литературе.

Мы описали встречаемость полиморфизма генов, которые определяют аминокислотную последовательность транслируемых белков потенциал-управляемых кальциевых каналов и рианодиновых каналов выхода кальция [5, 10, 11, 12, 114]. Провели сравнительное исследование случай-контроль генетического полиморфизма *CACNA1C* (rs1006737) у здоровых и больных ЭГ жителей Северо-Восточной Азии: русских и китайцев-ханьцев. Такой выбор для исследования полиморфизма кальциевых каналов осуществлялся с целью исключения климатогеографических различий. Известно, что изучаемая группа китайцев-Хань проживает на той же географической широте и высоте над уровнем моря, как и жители Забайкальского края. Мы определили концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} у носителей различных генотипов и аллелей полиморфизма rs11079919 (*A*50615794*G*) в гене *CACNA1G*. Кальциевые каналы играют важную роль в механизме сокращения гладкой мускулатуры сосудов и кардиомиоцитов (рисунок 27).



Примечание: * – области настоящего исследования; VGCC – потенциал-управляемые кальциевые каналы; SR – саркоплазматический ретикулум; SERCA – кальциевая АТФаза саркоплазматического ретикулума; RyR – рианодиновые каналы выхода Ca^{2+}; IP_3R – инозитолтрифосфатные рецепторы; NCX – Na^+/Ca^{2+}-обменник; MCU – митохондриальный кальциевый унипортер; MT – митохондрии; MF – Миофибриллы.

Рисунок 27. Принципиальная схема механизма сокращения гладкой мускулатуры сосудов и кардиомиоцитов с отметками.

В настоящем исследовании выявлена патогенетическая роль генетического полиморфизма кальциевых каналов в развитии ЭГ и гипертрофии миокарда ЛЖ (рисунок 28).

Рисунок 28. Концептуальная схема патогенеза артериальной гипертензии с участием генетического полиморфизма кальциевых каналов.

CACNA1G является геном, кодирующим последовательность порообразующей α_{1G}-субъединицы каналов $Ca_v3.1$ транзиторного тока (Т-типа). Каналы $Ca_v3.1$ экспрессируются как на мембранах гладких миоцитов сосудов, так и кардиомиоцитов. Исследуемый тип каналов $Ca_v3.1$ имеется также на мембранах лимфоцитов [91]. Выявлено, что у больных гипертонической болезнью, независимо от её стадии, внутриклеточная концентрация ионов кальция лимфоцитов оказалась выше, чем у здоровых волонтёров. Обнаружено, что в группе пациентов-носителей генотипа *GG* внутриклеточных ионов Ca^{2+} содержалось больше, чем у пациентов генотипов *AA* и *AG* SNP *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919). Таким образом, выявленное в исследовании влияние SNP *A*50615794*G* (rs11079919) *CACNA1G* на концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} лимфоцитов возможно экстраполировать на клетки гладкомышечной ткани сосудов. Установлено, что носительство генотипа *GG* в локусе rs11079919

полиморфизма гена *CACNA1G A*50615794*G* способствует сниженной регуляции потока Ca^{2+} – каналопатии, которая сопровождается повышенной проницаемостью для ионов Ca^{2+} потенциал-управляемых кальциевых каналов с изменённой порообразующей субъединицей каналов – α_1, что ведёт к повышению уровня внутриклеточного Ca^{2+} гладкомышечной ткани сосудов [5].

В исследованиях ранее доказано, что генный нокаут *CACNA1G* вызывает увеличение внутриклеточного Ca^{2+} [19]. Данный факт согласуется с результатами настоящих исследований и подтверждает, что изменения α_{1G}-субъединицы, вследствие такой точечной замены нуклеотидов ДНК rs11079919 *CACNA1G*, как и генный нокаут, вызывает грубую дисфункцию каналов $Ca_v3.1$. Причиной таких серьёзных нарушений кальциевого транспорта при носительстве генотипа *GG* в локусе rs11079919, возможно, является интронная локализация SNP. Исследованиями доказано, что интронные участки генов обладают высокой значимостью в сплайсинге mRNA [1].

Переход к физиологическому состоянию расслабления мышц обеспечивают: кальциевый насос саркоплазматического ретикулума (SERCA), Na^+/Ca^{2+}-обменник плазмолеммы (NCX) и митохондриальный кальциевый унипортер (MCU) [8]. Наличие Ca^{2+}-каналопатии сопровождается повышением уровня внутриклеточного Ca^{2+}, и перечисленные механизмы не обеспечивают должный возврат Ca^{2+} в компартменты. Повышенная остаточная внутриклеточная концентрация Ca^{2+} в патогенезе является триггером пролонгированного тонического сокращения. Хорошо известно, что длительная гипертензия вызывает гипертрофию стенок артериол и прекапилляров [74]. Увеличение цитозольной концентрации Ca^{2+} способствует образованию комплекса Ca^{2+}-кальмодулин, в том числе каналами Т-типа [31]. Кальмодулин активирует киназу лёгких цепей миозина (MLC) и вызывает её фосфорилирование, после чего взаимодействие актина и миозина обеспечивает сокращение гладкой мускулатуры сосудов, для которого требуется выведение Ca^{2+} в бóльших количествах, чем физиологические.

Эта своеобразная каналопатия снижает образование сильного естественного вазодилататора – оксида азота (NO) и претендует на роль одного из важных звеньев патогенеза артериальной гипертензии, т.к. преобладание вазоконстрикторных влияний, возникшее в результате дефицита NO, приводит к повышению гладкомышечного тонуса артериол и прекапилляров. Посредством кальциевой сигнализации и ацетилхолина эндотелия, это звено патогенеза также находится под регуляторным влиянием потенциал-управляемых Ca^{2+}-каналов Т-типа (T-VGCCs, $Ca_v3.1$ канал) [143].

Такие изменения приводят к гипертонусу артериол, влекущему за собой повышение общего периферического сопротивления сосудов, и, следовательно, артериального давления, вызывая артериальную гипертензию, повышая постнагрузку на сердце и способствуя напряжению гомеометрических механизмов сердечной регуляции, ведя к гипертрофии миокарда левого желудочка сердца [144].

Таким образом, полученные новые данные отражают взаимосвязь генетического полиморфизма *A*50615794*G* (rs11079919) *CACNA1G*, артериальной гипертензии и гипертрофии миокарда. Присутствие аллели G и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G* (rs11079919) повышает риск развития артериальной гипертензии более чем в 5 раз, при этом риск гипертрофии миокарда повышается более чем в 6 раз.

Установлено, что противоположный эффект вызывает носительство генотипа *AA* в локусе rs11079919 полиморфизма гена *CACNA1G A*50615794*G*, которое способствует поддержанию физиологических значений уровня внутриклеточного Ca^{2+}, сохраняя норморегуляцию потока этого иона потенциал-управляемыми кальциевыми каналами, что связано с неизменённой порообразующей субъединицей каналов – α_1. Так физиологическое поступление Ca^{2+} внутрь гладкомышечных клеток артериол способствует поддержанию их нормотонуса, сохраняя ОПСС, а следовательно и артериальное давление, а также,

постнагрузку на сердце в физиологическом диапазоне значений, не вызывая гипертрофии миокарда левого желудочка сердца. Таким образом, подтверждается, что SNP rs11079919 и rs1006737 генов *CACNA1G* и *CACNA1C* снижает риск развития гипертрофии миокарда. Своё предположение мы базируем на результатах, полученных в работе Nakayama H. и соавторов [19].

В настоящих исследованиях доказано, что аллели *A* и генотип *AA* SNP *CACNA1C* (rs1006737) являются предрасполагающими факторами к развитию гипертонической болезни. В других исследованиях выявлена связь полиморфизма гена *CACNA1C* с рядом психических расстройств, мышечной дистрофией, нарушениями сердечного ритма и мультисистемными нарушениями, такими как синдромы Тимоти и Бругада [16, 24, 25, 27, 29, 37, 64, 65, 77, 89, 142]. Ранее в исследованиях пациентов с синдромом Тимоти доказано, что полиморфизм гена *CACNA1C* вызывает внутриклеточную перегрузку Ca^{2+} в нескольких типах клеток [37]. Такое влияние полиморфизма гена *CACNA1C*, способствующее Ca^{2+}-перегрузке, имеет высокое патогенетическое значение и в развитии ЭГ. Так как, наличие генотипа *AA* полиморфизма *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), аналогично вышеизложенному влиянию носительства генотипа *GG* полиморфизма rs11079919 *A*50615794*G* гена *CACNA1G* характеризуется ослабленной регуляцией потока ионов кальция внутрь гладкомышечных клеток сосудов, сохраняя его триггерную концентрацию и провоцируя его выход из запасов саркоплазматического ретикулума, что через совокупность механизмов, способствует сильному и длительному тоническому сокращению гладкой мускулатуры сосудов и влечёт длительное стойкое увеличение ОПСС, повышение АД – ЭГ, повышенную постнагрузку на сердце и гипертрофию ГМК и миокарда ЛЖ. Это вызывает утолщение стенки коронарных сосудов и приводит к сужению их просвета, что обедняет кровоснабжение сердца и впоследствии может привести к ишемии и инфаркту миокарда.

На основе обнаруженных фактов, мы создали статистические модели прогнозирования АГ [3, 4]. Мы описали встречаемость полиморфизма генов, которые определяют аминокислотную последовательность потенциал-управляемых кальциевых каналов и рианодиновых каналов выхода кальция. Анализ частот генов, проведённый с помощью Multifactor Dimensionality Reduction, позволил выбрать лучшие модели прогнозирования артериальной гипертензии на основе комбинации генотипов, изучаемых SNP, имеющие максимальное отношение шансов развития артериальной гипертензии. В настоящем исследований метод MDR позволил статистически определить роль полиморфизма кальциевых каналов в развитии артериальной гипертензии.

Таким образом, предлагаемая статистическая модель *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472) (H11)/*CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919) (G11)/*RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) (R24) – позволяет из массива полиморфизма генов кальциевых каналов выделить генотипы и их комбинации, которые могут быть включены в патогенез артериальной гипертензии. Углубление знаний о влиянии полиморфизма генов, кодирующих молекулы ионных каналов, расширит возможности заблаговременного выявления предрасположенности к артериальной гипертензии, что послужит ещё одним шагом к современной концепции персонализованной медицины.

В результате оценки межгенного взаимодействия, которое, по сравнению с моногенными способами прогнозирования, является более точным, т.к. основано на учёте сложного взаимного влияния SNP, был разработан способ прогнозирования АГ, который позволяет провести стратификацию риска АГ у клинически здоровых людей, выявить среди них группу риска АГ, и провести профилактические мероприятия в ней, предотвратив заболевание и его тяжёлые осложнения, такие, как инсульт и ИМ (рисунок 29).

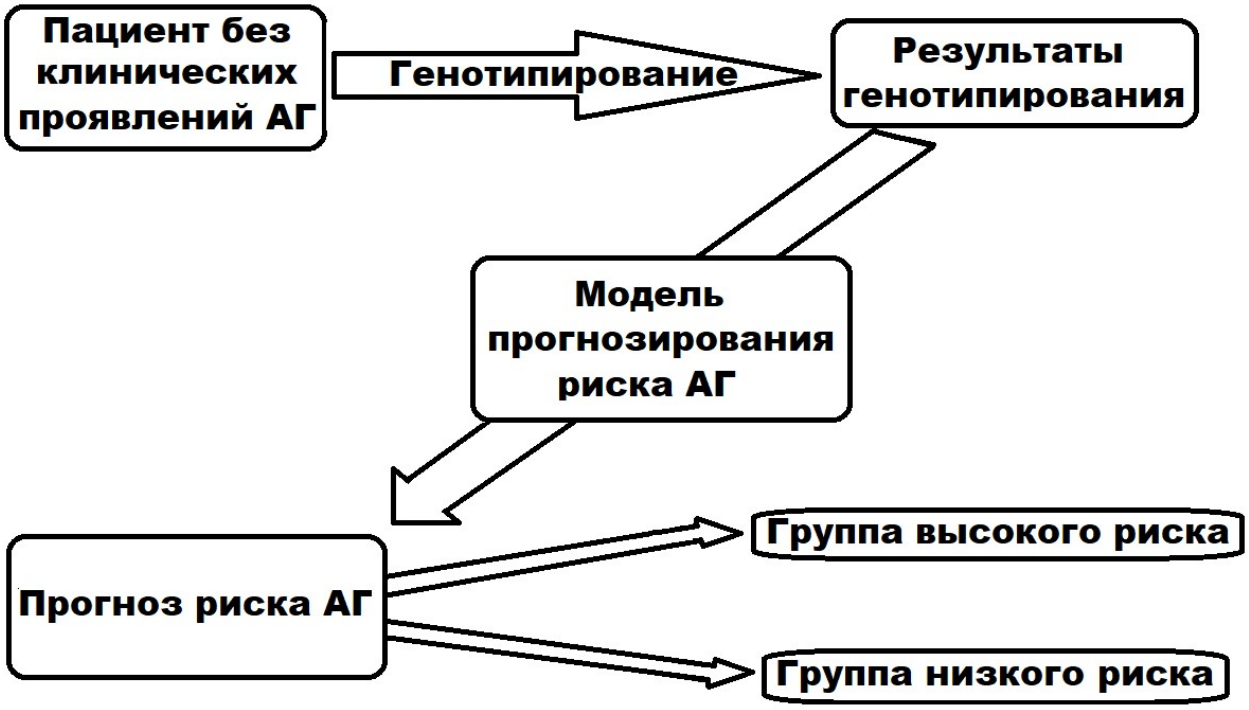


Рисунок 29. Схема практического применения модели прогнозирования артериальной гипертензии на основе генетического полиморфизма кальциевых каналов.

Согласно созданной модели, содержащей комбинации генотипов SNP генов *CACNB2* (*C*18539252*T*), *CACNA1G* (*A*50615794*G*), *CACNA1C* (*G*2585485*A*), *CACNA1C* (*G*2236129*A*), *CACNA1H* (*G*1134967*A*), *RYR2* (*G*237115840*T*). Люди с определёнными комбинациями генотипов попадают в группу пациентов с высоким риском развития артериальной гипертензии. То есть, осуществив генотипирование по этим SNP для конкретного пациента, возможно установить персональный риск АГ. Выявление рисковой комбинации у обследуемого, которой, например, является комбинация *CACNB2* (*C*18539252*T*) – *CC*, *CACNA1G* (*A*50615794*G*) – *GA*, *CACNA1C* (*G*2585485*A*) – *GG*, *CACNA1C* (*G*2236129*A*) – *GA*, *CACNA1H* (*G*1134967*A*) – *GG*, *RYR2* (*G*237115840*T*) – *GG* определяет его в группу риска АГ, согласно модели, отмечается склонность к выраженной гипертрофии миокарда. Такие результаты генотипирования – основа целенаправленной усиленной первичной профилактики АГ у пациентов группы риска. А

превентивные меры по профилактике АГ сохранят здоровье и трудоспособность пациента, требуя на своё осуществление меньше материальных и временных ресурсов по сравнению с лечением самого заболевания и его осложнений.

Установлено, что у резидентов Забайкальского края среди генетических маркёров потенциал-управляемых кальциевых каналов превалирует встречаемость аллели *C* и генотипа *CC* полиморфизма *C*18539252*T* гена *CACNB2*, выявленные генотипы в этой выборке отличается однообразием, которое может быть связано с летальными последствиями носительства генотипа *TT*, ранее уже доказана высокая значимость этого гена в формировании сердечной трубки [149].

Среди резидентов Забайкальского края преобладали аллели *G* и генотип *GG* полиморфизма rs1006737 (*G*2236129*A)* гена *CACNA1C*, нами доказано, что носительство аллели *G* и генотипа *GG CACNA1C* (rs1006737) снижает вероятность развития гипертонической болезни, таким образом, преобладающая часть резидентов Забайкальского края – носители протективной аллели этого SNP, а также, менее предрасположены к ЭГ и вследствие преобладания у них аллели *A* и генотипа *AA* SNP *A*50615794*G* гена *CACNA1G*.

Изучая распределение SNP полиморфизма *CACNA1C G*2585485*A* rs112532048 у резидентов Забайкальского края, мы обнаружили носительство только «дикой» аллели *G* и соответственно только генотипов *GG*. Это согласуется с исследованиями в других популяциях, где аллель *A* выявлялась с очень низкой частотой [63]. Отсутствие этой минорной аллели в изучаемой популяции объясняется недостаточной выборкой.

Среди жителей Забайкальского края с равной частотой встречаются аллели *G* и *A* с преобладанием генотипа *GA* SNP *G*1134967*A* (rs11865472) гена *CACNA1H* потенциал-управляемых кальциевых каналов $Ca_v3.2$. В настоящем исследовании установлено, что rs11865472 SNP-кандидатом, предрасполагающим к АГ, не является, но принимает участие в межгенном взаимодействии, т.к. эти каналы

экспрессируются на мембранах мускулатуры сердца и гладкомышечных клетках сосудов [70].

Среди резидентов преобладали носители аллелей *G* и *T,* генотипа *GT* SNP *G*237115840*T* гена рианодиновых кальциевых каналов *RYR2,* выявлено, что этот SNP не ассоциирован с АГ, но несёт информацию о каналах, локализованных в эндоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов [132]. Нуклеотидные замены в этом гене приводят к нарушению функций сердца и аритмиям [35]. Такие данные подчёркивают его значение в межгенном взаимодействии, даже в отсутствии прямой ассоциации с АГ и гипертрофией ЛЖ, что также подтверждается результатами проведённого MDR-анализа.

Представители русской популяции – жители Северо-Восточной Азии страдают ЭГ в более молодом возрасте, по сравнению с представителями китайской популяции того же географического региона, что связано с комбинированным влиянием средовых и генетических факторов. Частота минорной аллели *CACNA1C* гена существенно отличается у русского населения и китайцев-ханьцев, при этом, даже при различных частотах минорной аллели, получены одинаковые результаты, а вариант этого низкочастотного SNP среди ханьцев подтверждает, что его возможно успешно использовать для прогнозирования риска ЭГ, независимо от расовой принадлежности.

Используя подход, основанный на подборе гена-кандидата, мы впервые выявили, что аллель *A* полиморфизма rs1006737 гена *CACNA1C* связана с повышенным риском ЭГ как у русских, так и у китайцев – жителей региона Северо-Восточной Азии.

Носительство генотипа *AA* гена *CACNA1C* связано с предрасположенностью к ЭГ у русских, а генотипа *GA* у ханьцев. Это подтверждает, что полиморфизм rs1006737 в гене *CACNA1C* является полезным генетическим маркёром для прогнозирования ЭГ.

Тем не менее, ассоциативные исследования не всегда воспроизводимы из-за различий критериев включения. Таким образом, требуются дальнейшие исследования для подтверждения связи полиморфизма rs1006737 и восприимчивости к ЭГ с увеличенным количеством исследуемых лиц и расширением на другие популяции. Этот полиморфизм может быть полезен для прогнозирования восприимчивости пациентов с ЭГ к антигипертензивной терапии, а также для подбора индивидуального лечения ЭГ на основе генетического фона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные объясняют роль SNP *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737), *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048), *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472), *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919), *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262), *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389) в патогенезе ЭГ.

ВЫВОДЫ

1. У резидентов Забайкальского края среди генетических маркёров потенциал-управляемых кальциевых каналов превалирует встречаемость аллели *C* и генотипа *CC* полиморфизма *C*18539252*T* гена *CACNB2*, аллели *G* и генотипов *GG* и *GA* полиморфизма *G*2236129*A* гена *CACNA1C*, аллели *G* и генотипа *GG* SNP *G*2585485*A* гена *CACNA1C*, аллели *A* и генотипа *AA* SNP *A*50615794*G* гена *CACNA1G*. У них примерно с равной частотой встречаются аллели *G* и *A* с преобладанием генотипа *GA* SNP *G*1134967*A* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1H*, а также аллели *G* и *T* с превалированием генотипа *GT* SNP *G*237115840*T* гена рианодиновых кальциевых каналов *RYR2*.
2. Наличие аллели *A* и генотипа *AA* SNP *CACNA1C* (rs1006737) является предрасполагающим фактором к развитию гипертонической болезни. Присутствие аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G* (rs11079919) повышает риск развития артериальной гипертензии более чем в 5 раз.
3. Аллель *A* полиморфизма rs1006737 в гене *CACNA1C* является полезным генетическим маркёром для прогнозирования первичной артериальной гипертензии у жителей региона Северо-Восточной Азии – как этнических русских, так и китайцев ханьской народности.
4. К развитию гипертрофии миокарда левого желудочка сердца среди больных артериальной гипертензией предрасполагает носительство аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G*. При этом риск гипертрофии миокарда повышается более чем в 6 раз.

5. Создана статистическая модель прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов, позволившая выделить рисковые по артериальной гипертензии комбинации генотипов: 1) *CACNA1G – GG*, *CACNA1H – GA*, *RYR2 – GG*; 2) *CACNA1G – GG*, *CACNA1H – AA*, *RYR2 – GT*; 3) *CACNA1G – GG*, *CACNA1H – GG*, *RYR2 – GT*. Комбинацией, снижающей риск развития артериальной гипертензии, является сочетание генотипов *CACNA1G – AA*, *CACNA1H – GA*, *RYR2 – GT*.
6. Разработана статистическая модель прогнозирования гипертрофии миокарда левого желудочка сердца у больных артериальной гипертензией, основанная на полиморфизме кальциевых ионных каналов в виде комбинации генотипов SNP генов *CACNB2* (*C*18539252*T*), *CACNA1G* (*A*50615794*G*), *CACNA1C* (*G*2585485*A*), *CACNA1C* (*G*2236129*A*), *CACNA1H* (*G*1134967*A*), *RYR2* (*G*237115840*T*). Комбинацией генотипов с наименьшим риском развития гипертрофии миокарда левого желудочка является *CACNB2* (*C*18539252*T*) – *CC*, *CACNA1G* (*A*50615794*G*) – *GG*, *CACNA1C* (*G*2585485*A*) – *GG*, *CACNA1C* (*G*2236129*A*) – *GG*, *CACNA1H* (*G*1134967*A*) – *GA*, *RYR2* (*G*237115840*T*) – *GT*. Сочетание генотипов *CACNB2* (*C*18539252*T*) – *CC*, *CACNA1G* (*A*50615794*G*) – *GA*, *CACNA1C* (*G*2585485*A*) – *GG*, *CACNA1C* (*G*2236129*A*) – *GA*, *CACNA1H* (*G*1134967*A*) – *GG*, *RYR2* (*G*237115840*T*) – *GG* способствует гипертрофии миокарда.
7. У больных гипертонической болезнью, независимо от её стадии, внутриклеточная концентрация ионов кальция внутри лимфоцитов выше, чем у здоровых волонтёров. Содержание ионов кальция в группе пациентов-носителей генотипа *GG* выше, чем у пациентов генотипов *AA* и *AG* SNP *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Носительство аллели *A* SNP *CACNA1C* (rs1006737) свидетельствует о склонности к гипертонической болезни. Носительство аллели *G* и генотипа *GG CACNA1C* (rs1006737) снижает вероятность развития гипертонической болезни.
2. Присутствие аллели *G* и генотипа *GG* SNP *A*50615794*G* гена потенциал-управляемых кальциевых каналов *CACNA1G (*rs11079919*)* повышает риск развития артериальной гипертензии.
3. С развитием эссенциальной артериальной гипертензии ассоциированы следующие сочетания полиморфных вариантов генов кальциевых ионных каналов (Патент № 2703559 Российская Федерация) [4]:

- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – AA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – GT*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – AA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A-AA/ RYR2 G*237115840*T – TT*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – AA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – AA/ RYR2 G*237115840*T – GG*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – TT*;

- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – GG*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – AA/ CACNA1H G*1134967*A – AA/ RYR2 G*237115840*T – TT*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GG/ CACNA1H G*1134967*A – GG/ RYR2 G*237115840*T – TT*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GA/ RYR2 G*237115840*T – GG*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GA/ RYR2 G*237115840*T – GT*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CC/ CACNA1G A*50615794*G – GG/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – AA/ RYR2 G*237115840*T – TT*;
- *CACNB2 C*18539252*T – CT/ CACNA1G A*50615794*G – GA/ CACNA1C G*2585485*A – GG/ CACNA1C G*2236129*A – GA/ CACNA1H G*1134967*A – GA/ RYR2 G*237115840*T – GT*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

АДФ-рибоза – аденозиндифосфат-рибоза

АТФ – аденозинтрифосфат

АТФ-аза – аденозинтрифосфатаза

ВАК – высшая аттестационная комиссия

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГБ – гипертоническая болезнь

ГЛ – концентрация глюкозы венозной крови натощак (ммоль/л)

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМ – инфаркт миокарда

ИМТ – индекс массы тела

НАДФ – никотинамидаденин-динуклеотидфосфат

НАДФР – никотинамидаденин-динуклеотидфосфатный рецептор

НПК – научно-производственная компания

ООО – общество с ограниченной ответственностью

пСм – пикосименс

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РФ – Российская Федерация

САД – систолическое артериальное давление

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТГ – содержание триглицеридов венозной крови натощак (ммоль/л)

ФР – фактор риска

ХЛ – концентрация общего холестерина венозной крови натощак (ммоль/л)

цАДФР – циклическая аденозиндифосфат-рибоза

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

ЦНС – центральная нервная система

ЭГ – эссенциальная гипертензия

B14 – генетический полиморфизм *CACNB2 C*18539252*T* (rs143326262)

C10 – генетический полиморфизм *CACNA1C G*2236129*A* (rs1006737)

C12 – генетический полиморфизм *CACNA1C G*2585485*A* (rs112532048)

Ca^{2+} – ион кальция с зарядом 2+

CI – доверительный интервал

CPI-17 – потенцированный ингибитор фосфатазы-17

cryo-EM – криоэлектронная микроскопия

Cyt C – цитохром C

DAG – диацилглицерол

df – число степеней свободы

DHP(s) – дигидропиридин(-ы)

EDG – сфинголипидный рецептор

EF-hand – E и F-петли, захватывающие Ca^{2+}, подобно руке

FK506 – такролимус (фуджимицин)

FKBP12 – белок, связывающий такролимус (FK506)

G11 – генетический полиморфизм *CACNA1G A*50615794*G* (rs11079919)

GABA – гамма-аминомасляная кислота (aminobutyric acid)

GCAPs – гуанилат-циклаза

GVIA – ω-агатоксин VIA

H – критерий Краскела — Уоллиса

H11 – генетический полиморфизм *CACNA1H G*1134967*A* (rs11865472)

Htt – хантингтин

HVA – высокопороговые каналы

HWE – равновесие Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg Equilibrium)

IP3 –инозитол-1,4,5-трифосфат

IRBIT-IP_3R – белок, связывающий инозитол-1,4,5-трифосфат

IVA – ω-агатоксин

KChlPs – белки, взаимодействующие с KV-каналами

KV-каналы – калиевые потенциал-управляемые каналы

LTCC – кальциевые каналы L-типа

LVA – низкопороговые каналы

MAF – частота минорной аллели

MAGUK – мембранная гуанилат-киназа

MCU – митохондриальный кальциевый унипортер

MDR – Multifactor Dimensionality Reduction

MF – Миофибриллы

MLC – киназа лёгких цепей миозина

mRNA – матричная РНК (синоним — информационная РНК)

MVIIA – ω-конотоксин MVIIA

n – количество исследуемых

NCS – нейрональный(-е) кальциевый(-е) сенсор(-ы)

NCS1 – нейрональный кальциевый сенсор-1

NCX – Na^+/Ca^{2+}-обменник

NO – оксид азота(II) (монооксид азота)

NTD-A – N-терминальный домен-A

NTD-B – N-терминальный домен-B

OR – отношение шансов

p – уровень значимости

PKA – протеинкиназа A

PKC – протеинкиназа C

R24 – генетический полиморфизм *RYR2 G*237115840*T* (rs2490389)

RIH – области соответствия RyR/IP_3R

ROCK – Rho-киназа

RYR – рианодиновые рецепторы

SD – стандартное отклонение

SERCA – кальциевый насос саркоплазматического ретикулума (Ca^{2+}ATPase 2a)

SNP – single-nucleotide polymorphism - полиморфизм единичных нуклеотидов

SNX 482 – пептид африканского тарантула Hysterocrates gigas

SPCA – кальциевая АТФаза секреторного пути (Secretory Pathway Ca^{2+}-ATPase)

SPRY– SPRY-домены рианодиновых каналов

VGCC – потенциал-управляемые кальциевые каналы

α-IBC – α-инозитол-1,4,5-трифосфат связывающее ядро

β-IBC – β-инозитол-1,4,5-трифосфат связывающее ядро

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дымшиц Г.М. «Разорванные» гены и сплайсинг / Г.М. Дымшиц, О.В. Саблина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 18, № 1. – С. 71–80.
2. Камкин А.Г. Атлас по физиологии : учебное пособие : в 2 т. Т. 1. / А.Г. Камкин, И.С. Киселева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 408 с. : ил. – ISBN 978-5-9704-2418-6.
3. Модель прогнозирования артериальной гипертензии у клинически здоровых лиц на основе анализа генетического полиморфизма кальциевых каналов / Б.С. Пушкарёв, О.В. Большакова, В.П. Голомазова [и др.] // Врач-аспирант. – 2017. – Т. 82, № 3.1. – С. 165–170. – URL: http://www.sbook.ru/vrasp/contents/va17821sd.pdf (дата обращения: 23.09.2019).
4. Патент № 2703559 Российская Федерация, МПК G01N 33/50 (2006.01). Способ прогнозирования риска развития эссенциальной артериальной гипертензии : № 2019118828 : заявл.17.06.2019 : опубл. 21.10.2019 / Пушкарёв Б.С., Пушкарев С.А., Сибирякова Т.В. [и др.]. – 14 с. : ил.
5. Пушкарёв Б.С. Влияние генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов на внутриклеточную концентрацию ионов кальция у здоровых и больных артериальной гипертензией / Б.С. Пушкарёв, П.П. Терешков, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский журнал. – 2019. – № 3. – С. 158–168. – URL: http://zabmedvestnik.ru/journal/2019/3/8.pdf (дата обращения: 20.11.2019).
6. Пушкарёв Б.С. Кальциевые ионные каналы. Часть I. / Б.С. Пушкарёв, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский журнал. – 2015. – № 4. – С. 175–

182. – URL: http://zabmedvestnik.ru/journal/2015/4/31.pdf (дата обращения: 15.04.2019).

7. Пушкарёв Б.С. Кальциевые ионные каналы. Часть II / Б.С. Пушкарёв, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский журнал. – 2016. – № 1. – С. 93–104. – URL: http://zabmedvestnik.ru/journal/2016/1/15.pdf (дата обращения: 20.03.2019).
8. Пушкарёв Б.С. Кальциевые ионные каналы. Часть III. Роль в работе сердца и сосудов / Б.С. Пушкарёв, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский журнал. – 2019. – № 2. – С. 158–168. – URL: http://zabmedvestnik.ru/journal/2019/2/20.pdf (дата обращения: 20.11.2019).
9. Самолюк М.О. Оценка эндотелиальной дисфункции и возможности её коррекции на современном этапе у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями / М.О. Самолюк, Н.Ю. Григорьева. – DOI 10.18087/cardio.2524 // Кардиология. – 2019. – Т. 59, № 3S. – С. 4–9. – URL: https://lib.ossn.ru/jour/article/download/571/389 (дата обращения: 15.02.2020).
10. Частота генетического полиморфизма CACNA1H (rs11865472) в Забайкальском крае / О.В. Большакова, Б.С. Пушкарёв, А.С. Емельянов [и др.] // Медицина завтрашнего дня : материалы XVI межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, 18-21 апреля 2017 г. – Чита, 2017. – С. 281.
11. Частота полиморфизма гена кальциевых ионных каналов CACNA1C rs1006737 у здоровых и больных эссенциальной гипертензией / Б.С. Пушкарёв, А.С. Емельянов, О.В. Большакова [и др.] // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию образования Читинской государственной медицинской академии, 26 октября 2018 г. – Чита, 2018. – С. 92–93.

12. Частота полиморфизма гена кальциевых каналов CACNA1C у здоровых и пациентов с гипертонической болезнью / Б.С. Пушкарёв, О.В. Большакова, Т.В. Сибирякова [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т. 98, № 3. – С. 359–362. – URL: https://kazanmedjournal.ru/kazanmedj/article/download/6483/5135 (дата обращения: 23.10.2019).
13. Чирин А.С. Артериальная гипертензия как социально-значимая проблема современной России // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2016. – Т. 6, № 1. – С. 85.
14. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension / B. Williams, G. Mancia, W. Spiering [et al.]. – DOI 10.5603/KP.2019.0018 // European Heart Journal. – 2018. – Vol. 39 (33). – P. 3021–3104.
15. A Ca2+-binding domain in RyR1 that interacts with the calmodulin binding site and modulates channel activity / L. Xiong, J.Z. Zhang, R. He, S.L. Hamilton. – DOI 10.1529/biophysj.105.066092 // Biophysical journal. – 2006. – Vol. 90. – P. 173–182.
16. A delayed diagnosis of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with a mutant of RYR2 at c.7580T>G for 6 years in a 9-year-old child / H. Duan, Y. Lu, S. Yan [et al.]. – DOI 10.1097/MD.0000000000010368 // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97 (16). – 5 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5916663/pdf/medi-97-e0368.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
17. A mutation in the low voltage-gated calcium channel CACNA1G alters the physiological properties of the channel, causing spinocerebellar ataxia / H. Morino, Y. Matsuda, K. Muguruma [et al.]. – DOI 10.1186/s13041-015-0180-4 // Mol Brain. – 2015. – Vol. 8. – 9 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4693440/pdf/13041_2015_Article_180.pdf (дата обращения: 15.02.2020).

18. A roadmap to multifactor dimensionality reduction methods / D. Gola, J.M. Mahachie John, K. van Steen, I.R. König. – DOI 10.1093/bib/bbv038 // Brief Bioinform. – 2016. – Vol. 17 (2). – P. 293–308.
19. Alpha1G-dependent T-type Ca2+ current antagonizes cardiac hypertrophy through a NOS3-dependent mechanism in mice / H. Nakayama, I. Bodi, R.N. Correll [et al.]. – DOI 10.1172/JCI39724 // J Clin Invest. – 2009. – Vol. 119 (12). – P. 3787–3796.
20. Are genetic polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system associated with essential hypertension? Evidence from genome-wide association studies / L.D. Ji, J.Y. Li, B.B. Yao [et al.]. – DOI 10.1038/jhh.2017.29 // J Hum Hypertens. – 2017. – Vol. 31 (11). – P. 695–698.
21. Association of ECE1 gene polymorphisms and essential hypertension risk in the Northern Han Chinese: A case-control study / H. Wang, J. Liu, K. Liu [et al.]. – DOI 10.1002/mgg3.1188 // Mol Genet Genomic Med. – 2020. – Vol. 27. – 13 p. – URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/mgg3.1188 (дата обращения: 15.02.2020).
22. Associations between single nucleotide polymorphisms in miR-221, self-reported essential hypertension, and interactions between genetic and environmental factors: a multiethnic study in China / F. An, J. Zhang, C. Zhao [et al.] // Am J Transl Res. – 2019. – Vol. 11 (9). – P. 6132–6144.
23. Bers D.M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes / D.M. Bers. – DOI 10.1146/annurev.physiol.70.113006.100455 // Annu Rev Physiol. – 2008. – Vol. 70. – P. 23–49.
24. Bodi I. Tetrodotoxin-sensitive Ca2+ Currents, but No T-type Currents in Normal, Hypertrophied, and Failing Mouse Cardiomyocytes / I. Bodi, H. Nakayama, A. Schwartz. – DOI 10.1097/FJC.0000000000000432 // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2016. – Vol. 68 (6). – P. 452–464.

25. Brugada syndrome / R. Brugada, O. Campuzano, G. Sarquella-Brugada [et al.]. – DOI 10.14797/mdcj-10-1-25 // Methodist Debakey Cardiovasc J. – 2014. – Vol. 10 (1). – P. 25–28.
26. Burgoyne R.D. The neuronal calcium sensor family of Ca2+-binding proteins / R.D. Burgoyne, J.L. Weiss // Biochemical journal. – 2001. – Vol. 353. – P. 1–12.
27. Ca(2+) influx through L-type Ca(2+) channels and transient receptor potential channels activates pathological hypertrophy signaling / H. Gao, F. Wang, W. Wang [et al.]. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2012.08.005 // J Mol Cell Cardiol. – 2012. – Vol. 53 (5). – P. 657–667.
28. Ca2+ currents in cardiac myocytes: old story, new insights / F. Brette, J. Leroy, J.Y. Le Guennec, L. Sallé. – DOI 10.1016/j.pbiomolbio.2005.01.001 // Progress in Biophysics and Molecular Biology. – 2006. – Vol. 1. – P. 1–82.
29. Ca2+ handling remodeling and STIM1L/Orai1/TRPC1/TRPC4 upregulation in monocrotaline-induced right ventricular hypertrophy / S. Jessica, B. Angèle, R.M. Catherine [et al.]. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2018.04.003 // J. Mol. Cell Cardiol. – 2018. – Vol. 118. – P. 208–224.
30. Cacna1g is a genetic modifier of epilepsy in a mouse model of Dravet syndrome / J.D. Calhoun, N.A. Hawkins, N.J. Zachwieja, J.A. Kearney. – DOI 10.1111/epi.13811 // Epilepsia. – 2015. – Vol. 58 (8). – P. 111–115.
31. Calmodulin regulates Cav3 T-type channels at their gating brake / J.Chemin, V. Taiakina, A. Monteil [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M117.807925 // J. Biol. Chem. – 2017. – Vol. 292 (49). – P. 20010–20031.
32. Carafoli E. Why Calcium? How Calcium Became the Best Communicator / E. Carafoli, J. Krebs. – DOI 10.1074/jbc.R116.735894 // J Biol Chem. – 2016. –Vol. 291 (40). – P. 20849–20857.
33. Cardiovascular events and target organ damage in primary aldosteronism compared with essential hypertension: a systematic review and meta-analysis / S.

Monticone, F. D'Ascenzo, C. Moretti [et al.]. – DOI 10.1016/S2213-8587(17)30319-4 // Lancet Diabetes Endocrinol. – 2018. – Vol. 6 (1). – P. 41–50.

34. Castellano-Muñoz M. Calcium-induced calcium release supports recruitment of synaptic vesicles in auditory hair cells / M. Castellano-Muñoz, M.E. Schnee, A.J. Ricci. – DOI 10.1152/jn.00559.2015 // J Neurophysiol. – 2016. – Vol. 115 (1). – P. 226–239.
35. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT) associated with ryanodine receptor (RYR2) gene mutations- long-term prognosis after initiation of medical treatment / H. Kawata, S. Ohno, T. Aiba [et al.]. – DOI 10.1253/circj.CJ-16-0250 // Circ J. – 2016. – Vol. 80 (9). – P. 1907–1915.
36. Catterall W.A. Ion channel voltage sensors: structure, function, and pathophysiology. – DOI 10.1016/j.neuron.2010.08.021 // Neuron. – 2010. – Vol. 67 (6). – P. 915–928.
37. CaV1.2 Calcium Channel Dysfunction Causes a Multisystem Disorder Including Arrhythmia and Autism / I. Splawski, K.W. Timothy, L.M. Sharpe [et al.]. – DOI 10.1016/j.cell.2004.09.011 // Cell. – 2004. – Vol. 119. – P. 19–31.
38. Cav3.2 subunit underlies the functional T-type Ca2+ channel in murine hearts during the embryonic period / N. Niwa, K. Yasui, T. Opthof [et al.]. – DOI 10.1152/ajpheart.01043.2003 // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2004. – Vol. 286 (6). – P. 2257–2263.
39. Chemaly E.R. SERCA control of cell death and survival / E.R. Chemaly, L. Troncone, D. Lebeche. – DOI 10.1016/j.ceca.2017.07.001 // Cell Calcium. – 2018. – Vol. 69. – P. 46–61.
40. Choe C.U. The inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (IP3R) and its regulators: sometimes good and sometimes bad teamwork / C.U. Choe, B.E. Ehrlich. – DOI 10.1126/stke.3632006re15 // Sci STKE. – 2006. – Vol. 2006 (363). – 13 p. – URL: https://stke.sciencemag.org/content/2006/363/re15.long (дата обращения: 15.02.2020).

41. Contribution of postsynaptic T-type calcium channels to parallel fibre-Purkinje cell synaptic responses / R. Ly, G. Bouvier, G. Szapiro [et al.]. – DOI 10.1113/JP271623 // J Physiol. – 2016. – Vol. 594 (4). – P. 915–936.
42. Davogustto G. Untangling Essential Hypertension: The Potential Roles of Aldosterone and Atrial Natriuretic Peptide / G. Davogustto, T.J. Wang, D.K. Gupta. – DOI 10.1016/j.mayocp.2018.06.012 // Mayo Clin Proc. – 2018. – Vol. 93 (8). – P. 965–967.
43. Decrease of RyR2 in the prion infected cell line and in the brains of the scrapie infected mice models and the patients of human prion diseases / Q.Shi, J.L. Li, Y. Ma [et al.]. – DOI 10.1080/19336896.2018.1465162 // Prion. – 2018. – Vol. 20. – P. 1–30.
44. Dendritic release of neurotransmitters / M. Ludwig, D. Apps, J. Menzies [et al.]. – DOI 10.1002/cphy.c160007 // Compr Physiol. – 2016. – Vol. 7 (1). – P. 235–252.
45. DNA Methylation of Candidate Genes (ACE II, IFN-γ, AGTR 1, CKG, ADD1, SCNN1B and TLR2) in Essential Hypertension: A Systematic Review and Quantitative Evidence Synthesis / L. Jr. Holmes, A. Lim, C.R. Comeaux [et al.]. – DOI 10.3390/ijerph16234829 // Int J Environ Res Public Health. – 2019. – Vol. 16 (23). – 13 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6926644/pdf/ijerph-16-04829.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
46. Dolphin A.C. Voltage-gated calcium channel α2δ subunits: an assessment of proposed novel roles. – DOI 10.12688/f1000research.16104.1 // F1000Res. – 2018. – Vol. 7. – 14 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6249638/pdf/f1000research-7-17585.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
47. Dolphin A.C. Voltage ‑ gated calcium channels and their auxiliary subunits: physiology and pathophysiology and pharmacology / A.C. Dolphin. ‑ DOI 10.1113/JP272262 // J Physiol. ‑ 2016. ‑ Vol. 594 (19). ‑ P. 5369 ‑ 5390.

48. Dolphin A.C. Voltage-gated calcium channels: their discovery, function and importance as drug targets / A.C. Dolphin. – DOI 10.1177/2398212818794805 // Brain Neurosci Adv. – 2018. – Vol. 2. – 20 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6179141/pdf/emss-79523.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
49. Dopamine secretion is mediated by sparse active zone-like release sites / C. Liu, L. Kershberg, J. Wang [et al.]. – DOI 10.1016/j.cell.2018.01.008 // Cell. – 2018. – Vol. 172 (4). – P. 706–718.
50. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings / R.B. Devereux, D.R. Alonso, E.M. Lutas [et al.]. – DOI 10.1016/0002-9149(86)90771-x // The American Journal of Cardiology. – 1986. – Vol. 57 (6). – P. 450–458
51. Efficient stimulus-secretion coupling at ribbon synapses requires RIM-binding protein tethering of L-type Ca2+ channels / F. Luo, X. Liu, T.C. Südhof, C. Acuna. – DOI 10.1073/pnas.1702991114 // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2017. – Vol. 114 (38). – P. 8081–8090.
52. Endothelial dysfunction in human essential hypertension / I. Mordi, N. Mordi, C. Delles, N. Tzemos. – DOI 10.1097/HJH.0000000000000965 // J Hypertens. – 2016. – Vol. 34 (8). – P. 1464–1472.
53. Endothelin-1 in hypertensive patients with ischemic heart disease / C. Moroni, S. Tolone, F. Bondanini [et al.]. – DOI 10.1007/s11739-019-02095-3 // Intern Emerg Med. – 2019. – Vol. 14 (7). – P. 1119–1124.
54. Evolution of EF-hand calcium-modulated proteins. I. Relationships based on amino-acid sequences / N.D. Moncreif, R.H. Kretsinger, M. Goodman [et al.]. – DOI 10.1007/bf02101108 // J Mol Evol. – 1990. – Vol. 30 (6). – P. 522–562.
55. Factors associated with preventable infant death: a multiple logistic regression / E. Vidal, S.M. Silva, R.A. Tuon [et al.]. – DOI 10.11606/s1518-8787.2018052000252 // Rev Saude Publica. – 2018. – Vol. 52. – 11 p. – URL:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5933942/pdf/0034-8910-rsp-S1518-52-87872018052000252.pdf (дата обращения: 15.02.2020).

56. Facts and conjectures on calmodulin and its cousin proteins, parvalbumin and troponin C / J. Haiech, M. Moreau, C. Leclerc, M.C. Kilhoffer. – DOI 10.1016/j.bbamcr.2019.01.014 // Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. – 2019. – Vol. 1866 (7). – P. 1046–1053.
57. Fischer D. The R-package GenomicTools for multifactor dimensionality reduction and the analysis of (exploratory) Quantitative Trait Loci / D. Fischer. – DOI 10.1016/j.cmpb.2017.08.012 // Comput Methods Programs Biomed. – 2017. – Vol. 151. – P. 171–177.
58. Five novel loci associated with antipsychotic treatment response in patients with schizophrenia: a genome-wide association study / H.Yu, H. Yan, L. Wang [et al.]. – DOI 10.1016/S2215-0366(18)30049-X // Lancet Psychiatry. – 2018. – Vol. 5 (4). – P. 327–338.
59. Flexible architecture of IP3R1 by Cryo-EM / S.J. Ludtke, T.P. Tran, Q.T. Ngo [et al.]. – DOI 10.1016/j.str.2011.05.003 // Structure. – 2011. – Vol. 19 (8). – P. 1192–1199.
60. Functional variants in HCN4 and CACNA1H may contribute to genetic generalized epilepsy / F. Becker, C.A. Reid, K. Hallmann [et al.]. – DOI 10.1002/epi4.12068 // Epilepsia Open. – 2017. – Vol. 2 (3). – P. 334–342.
61. Garfinkle M.A. Salt and essential hypertension: pathophysiology and implications for treatment. – DOI 10.1016/j.jash.2017.04.006 // J Am Soc Hypertens. – 2017. – Vol. 11 (6). – P. 385–391.
62. Generation, control, and processing of cellular calcium signals / E. Carafoli, L. Santella, D. Branca, M. Brini. – DOI 10.1080/20014091074183 // Crit Rev Biochem Mol Biol. – 2001. – Vol. 36 (2). – P. 107–260.
63. Genetic Analysis of Arrhythmogenic Diseases in the Era of NGS: The Complexity of Clinical Decision-Making in Brugada Syndrome / C. Allegue, M. Coll, J. Mates

[et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0133037 // PLoS One. – 2015. – Vol. 10 (7). – 21 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4521779/pdf/pone.0133037.pdf (дата обращения: 15.02.2020).

64. Genetic analysis of sick sinus syndrome in a family harboring compound CACNA1C and TTN mutations / Y.B. Zhu, J.W. Luo, F. Jiang, G. Liu. – DOI 10.3892/mmr.2018.8773 // Mol Med Rep. – 2018. – Vol. 17 (5). – P. 7073–7080.
65. Genetic variants in post myocardial infarction patients presenting with electrical storm of unstable ventricular tachycardia / A. Rangaraju, S. Krishnan, G. Aparna [et al.]. – DOI 10.1016/j.ipej.2018.01.003 // Indian Pacing Electrophysiol J. – 2018. – Vol. 18 (3). – P. 91–94.
66. Genome-wide Association Studies for Female Fertility Traits in Chinese and Nordic Holsteins / A. Liu, Y. Wang, G. Sahana [et al.]. – DOI 10.1038/s41598-017-09170-9 // Sci Rep. – 2017. – Vol. 7 (1). – 12 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5559619/pdf/41598_2017_Article_9170.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
67. Geraldes V. Hypothalamic Ion Channels in Hypertension / V. Geraldes, S. Laranjo, I. Rocha. – DOI 10.1007/s11906-018-0814-x // Curr Hypertens Rep. – 2018. – Vol. 20 (2). – 11 p. – URL: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11906-018-0814-x (дата обращения: 15.02.2020).
68. Goto K. Endothelium-Dependent Hyperpolarization (EDH) in Hypertension: The Role of Endothelial Ion Channels / K. Goto, T. Ohtsubo, T. Kitazono. – DOI 10.3390/ijms19010315 // Int J Mol Sci. – 2018. – Vol. 19 (1). – 20 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5796258/pdf/ijms-19-00315.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
69. Grassi G. Evidence for a critical role of the sympathetic nervous system in hypertension / G. Grassi, V.S. Ram. – DOI 10.1016/j.jash.2016.02.015 // J Am Soc Hypertens. – 2016. – Vol. 10 (5). – P. 457–466.

70. Hansen P.B. Functional importance of T-type voltage-gated calcium channels in the cardiovascular and renal system: news from the world of knockout mice. – DOI 10.1152/ajpregu.00276.2014 // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2015. – Vol. 308 (4). – P. 227–237.
71. Identification of L- and T-type Ca2+ channels in rat cerebral arteries: role in myogenic tone development / R.R. Abd El-Rahman, O.F. Harraz, S.E. Brett [et al.]. – DOI 10.1152/ajpheart.00476.2012 // Biochem. Pharmacol. – 2013. – Vol. 304 (1). – P. 58–71.
72. Immunohistochemical analysis of T-type calcium channels in acquired melanocytic naevi and melanoma / O. Maiques, A. Macià, S. Moreno [et al.]. – DOI 10.1111/bjd.15121 // Br J Dermatol. – 2017. – Vol. 176 (5). – P. 1247–1258.
73. Impact of CACNA1C polymorphisms on antihypertensive efficacy of calcium channel blocker / Q. Sun, Q.X. Li, X.F. Song [et al.] // Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi. – 2012. – Vol. 40 (1). – P. 3–7.
74. Influence of the arterial blood pressure and nonhaemodynamic factors on regional arterial wall properties in moderate essential hypertension / D.A. Duprez, M.L. De Buyzere, H.H. Verloove [et al.] // J. Hum. Hypertension. – 1996. – Vol. 10 (4). – P. 251–256.
75. Inositol trisphosphate receptor Ca2+ release channels / J.K. Foskett, C. White, K.H. Cheung, D.O. Mak. – DOI 10.1152/physrev.00035.2006 // Physiological Reviews. – 2007. – Vol. 87. – P. 593–658.
76. International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels / W.A. Catterall, E. Perez-Reyes, T.P. Snutch, J. Striessnig. – DOI 10.1124/pr.57.4.5 // Pharmacol Rev. – 2005. – Vol. 57 (4). – P. 411–425.
77. Ion Channel Dysfunctions in Dilated Cardiomyopathy in Limb-Girdle Muscular Dystrophy / I. El-Battrawy, Z. Zhao, H. Lan [et al.]. – DOI 10.1161/CIRCGEN.117.001893 // Circ. Genom. Precis. Med. – 2018. – Vol. 11

(3). – 30 p. – URL: https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCGEN.117.001893?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed (дата обращения: 15.02.2020).

78. IP3 receptor-dependent Ca2+ release modulates excitation-contraction coupling in rabbit ventricular myocytes / T.L. Domeier, A.V. Zima, J.T. Maxwell [et al.]. – DOI 10.1152/ajpheart.01155.2007 // Am. J. Physiol. – 2008. – Vol. 294 (2). – P. 596–604.
79. Itracellular calcium channels: Inositol-1,4,5-trisphosphate receptors / O.A. Fedorenko, E. Popugaeva, M. Enomoto [et al.]. – DOI 10.1016/j.ejphar.2013.10.074 // European Journal of Pharmacology. – 2014. – Vol. 739. – P. 39–48.
80. Kruskal W.H. Use of ranks in one-criterion variance analysis. / W.H. Kruskal, W.A. Wallis. – DOI 10.2307/2280779 // Journal of the American Statistical Association. – 1952. – Vol. 47 (260). – P. 583–621.
81. Lee A. G. What the structure of a calcium pump tells us about its mechanism / A.G. Lee, J.M. East. – DOI 10.1042/0264-6021:3560665 // Biochemical Journal. – 2001. – Vol. 356. – P. 665–683.
82. Leenen F.H. Sodium pumps, ouabain and aldosterone in the brain: A neuromodulatory pathway underlying salt-sensitive hypertension and heart failure / F.H. Leenen, H.W. Wang, J.M. Hamlyn. – DOI 10.1016/j.ceca.2019.102151 // Cell Calcium. – 2019. – Vol. 86. – 38 p. – URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143416019302209?via%3Dihub (дата обращения: 15.02.2020).
83. Left ventricular mass and body size in normotensive children and adults: assessment of allometric relations and impact of overweight / G. de Simone, S.R. Daniels, R.B. Devereux [et al.]. – DOI 10.1016/0735-1097(92)90385-z // J Am Coll Cardiol. – 1992. – Vol. 20 (5). – P. 1251–1260.

84. Lin C.C. Apo and InsP-bound crystal structures of the ligand-binding domain of an InsP receptor / C.C. Lin, K. Baek, Z. Lu. – DOI 10.1038/nsmb.2112 // Nat Struct Mol Biol. – 2011. – Vol. 18 (10). – P. 1172–1174.
85. Liu W. Clinical effect and safety of nifedipine controlled-release tablets combined with valsartan in the treatment of primary hypertension / W. Liu, Y. Liu, J. Fu // Pak J Pharm Sci. – 2019. – Vol. 32 (5). – P. 2419–2422.
86. Liu Z. Evolving mechanisms of vascular smooth muscle contraction highlight key targets in vascular disease / Z. Liu, R.A. Khalil. – DOI 10.1016/j.bcp.2018.02.012 // Biochem. Pharmacol. – 2018. – Vol. 153. – P. 91–122.
87. Long non-coding RNA CACNA1G-AS1 promotes cell migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition by HNRNPA2B1 in non-small cell lung cancer / P.F. Yu, A.R. Kang, L.J. Jing, Y.M. Wang. – DOI 10.26355/eurrev_201802_14381 // Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2018. – Vol. 22 (4). – P. 993–1002.
88. Lopreiato R. The plasma membrane calcium pump: new ways to look at an old enzyme / R. Lopreiato, M. Giacomello, E. Carafoli. – DOI 10.1074/jbc.O114.555565 // J Biol Chem. – 2014. – Vol. 289 (15). – P. 10261–10268.
89. Loss-of-Function Mutations in the Cardiac Calcium Channel Underlie a New Clinical Entity Characterized by ST-Segment Elevation, Short QT Intervals, and Sudden Cardiac Death / C.Antzelevitch, G.D. Pollevick, J.M. Cordeiro [et al.]. – DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.668392 // Circulation. – 2007. – Vol. 115. – P. 442–449.
90. Louca P. Genomic determinants of hypertension with a focus on metabolomics and the gut microbiome / P. Louca, C. Menni, S. Padmanabhan. – DOI 10.1093/ajh/hpaa022 // Am J Hypertens. – 2020. – 64 p. – URL: https://academic.oup.com/ajh/advance-article-

abstract/doi/10.1093/ajh/hpaa022/5736356?redirectedFrom=fulltext (дата обращения: 15.02.2020).

91. Low-Voltage-Activated CaV3.1 Calcium Channels Shape T Helper Cell Cytokine Profiles / H. Wang, X. Zhang, L. Xue [et al.]. – DOI 10.1016/j.immuni.2016.01.015 // Immunity. – 2016. – Vol. 44 (4). – P. 782–794.
92. L-type Cav1.2 calcium channels: from in vitro findings to in vivo function / F. Hofmann, V. Flockerzi, S. Kahl, J.W. Wegener. – DOI 10.1152/physrev.00016.2013 // Physiol Rev. – 2014. – Vol. 94 (1). – P. 303–326.
93. Meurer W.J. Logistic Regression Diagnostics: Understanding How Well a Model Predicts Outcomes / W.J. Meurer, J. Tolles. – DOI 10.1001/jama.2016.20441 // JAMA. – 2017. – Vol. 317 (10). – P. 1068–1069.
94. Mikoshiba K. Role of IP3 receptor signaling in cell functions and diseases / K. Mikoshiba. – DOI 10.1016/j.jbior.2014.10.001 // Adv Biol Regul. – 2015. – Vol. 57. – P. 217–227.
95. Mochida S. Presynaptic calcium channels / S. Mochida. – DOI 10.1016/j.neures.2017.09.012 // Neurosci Res. – 2018. – Vol. 127. – P. 33–44.
96. Modulation of Cav3.2 T-type calcium channel permeability by asparagine-linked glycosylation / K. Ondacova, M. Karmazinova, J. Lazniewska [et al.]. – DOI 10.1080/19336950.2016.1138189 // Channels (Austin). – 2016. – Vol. 10 (3). – P. 175–184.
97. Modulation of the neuronal network activity by P2X receptors and their involvement in neurological disorders / F. Sáez-Orellana, P.A. Godoy, T. Silva-Grecchi [et al.]. – DOI 10.1016/j.phrs.2015.06.009 // Pharmacol Res. – 2015. – Vol. 101. – P. 109–115.
98. Modulation/physiology of calcium channel sub-types in neurosecretory terminals / J.R. Lemos, S.I. Ortiz-Miranda, A.E. Cuadra [et al.]. – DOI 10.1016/j.ceca.2012.01.008 // Cell Calcium. – 2012. – Vol. 51 (3). – P. 284–292.

99. Molecular Characterization, mRNA Expression and Alternative Splicing of Ryanodine Receptor Gene in the Brown Citrus Aphid, Toxoptera citricida (Kirkaldy) / W. Ke-Yi, X.Z. Jiang, G.R. Yuan [et al.]. – DOI 10.3390/ijms160715220 // International journal of molecular sciences. – 2015. – Vol. 16. – P. 15220–15234.
100. Molecular cloning and characterization of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in Drosophila melanogaster / S. Yoshikawa, T. Tanimura, A. Miyawaki [et al.] // Jornal of Biological Chemistry. – 1992. – Vol. 267. – P. 16613–16623.
101. Molecular genetics of essential hypertension / M. Singh, A.K. Singh, P. Pandey [et al.]. – DOI 10.3109/10641963.2015.1116543 // Clin Exp Hypertens. – 2016. – Vol. 38 (3). – P. 268–277.
102. Molina-Campos E. Age-dependent contribution of P/Q- and R-type Ca2+ channels to neuromuscular transmission in lethargic mice / E. Molina-Campos, Y. Xu, W.D. Atchison. – DOI 10.1124/jpet.114.216143 // J Pharmacol Exp Ther. – 2015. – Vol. 352 (2). – P. 395–404.
103. Multivariate Quantitative Multifactor Dimensionality Reduction for Detecting Gene-Gene Interactions / W. Yu, M.S. Kwon, T. Park [et al.]. – DOI 10.1159/000377723 // Hum. Hered. – 2015. – Vol. 79 (3-4). – P. 168–181.
104. Myofilament Calcium Sensitivity: Role in Regulation of In vivo Cardiac Contraction and Relaxation / J.H. Chung, B.J. Biesiadecki, M.T. Ziolo [et al.]. – DOI 10.3389/fphys.2016.00562 // Front Physiol. – 2016. – Vol. 7. – P. 562.
105. Naranjo D. Zebrafish CaV2.1 calcium channels are tailored for fast synchronous neuromuscular transmission / D. Naranjo, H. Wen, P. Brehm. – DOI 10.1016/j.bpj.2014.11.3484 // Biophys J. – 2015. – Vol. 108 (3). – P. 578–584.
106. Nomenclature of voltage-gated calcium channels / E.A. Ertel, K.P. Campbell, M.M. Harpold [et al.]. – DOI 10.1016/s0896-6273(00)81057-0 // Neuron. – 2000. – Vol. 25 (3). – P. 533–535.

107. Novel West syndrome candidate genes in a Chinese cohort / J. Peng, Y. Wang, F. He [et al.]. – DOI 10.1111/cns.12860 // CNS Neurosci Ther. – 2018. – Vol. 24 (12). – P. 1196–1206.
108. Orrù G. Design of FRET Probes for SNP RS1006737, Related to Mood Disorder / G. Orrù, M.G. Carta, A. Bramanti. – DOI 10.2174/1745017901814010053 // Clin Pract Epidemiol Ment Health. – 2018. – Vol. 14. – P. 53–62.
109. Palmitoylation of Ca2+ channel subunit CaVβ2a induces pancreatic beta-cell toxicity via Ca2+ overload / A.S. Kazim, P. Storm, E. Zhang [et al.]. – DOI 10.1016/j.bbrc.2017.07.117 // Biochem Biophys Res Commun. – 2017. – Vol. 491 (3). – P. 740–746.
110. Panoutsopoulou K. Key Concepts in Genetic Epidemiology Methods / K. Panoutsopoulou, E. Wheeler. – DOI 10.1007/978-1-4939-7868-7_2 // Mol Biol. – 2018. – Vol. 1793. – P. 7–24.
111. Pleiotropic genes in psychiatry: Calcium channels and the stress-related FKBP5 gene in antidepressant resistance. Prog. Neuropsychopharmacol / C. Fabbri, F. Corponi, D. Albani [et al.]. – DOI 10.1016/j.pnpbp.2017.10.005 // Biol Psychiatry. – 2018. – Vol. 81. – P. 203–210.
112. Primary structure and functional expression of the inositol 1,4,5- trisphosphate-binding protein P400 / T. Furuichi, S. Yoshikawa, A. Miyawaki [et al.]. – DOI 10.1038/342032a0 // Nature. – 1989. – Vol. 342 (6245). – P. 32–38.
113. Purinergic receptors in the carotid body as a new drug target for controlling hypertension / W. Pijacka, D.J. Moraes, L.E. Ratcliffe [et al.]. – DOI 10.1038/nm.4173 // Nat Med. – 2016. – Vol. 22 (10). – P. 1151–1159.
114. Pushkarev B.S. Genetic polymorphism of CACN1C in patients with essential hypertension / B.S. Pushkarev, A.S. Emelianov // Science and medicine: a modern view of youth : IV international scientific-practical conference of students and young scientists, 20-21 April 2017. – Almaty, 2017. – P. 498–499.

115. Putative receptor for inositol 1,4,5-trisphosphate similar to ryanodine receptor / G.A. Mignery T.C. Südhof, K. Takei, P. De Camilli. – DOI 10.1038/342192a0 // Nature. – 1989. – Vol. 342. – P. 192–195.
116. Rama S. Modulation of spike-evoked synaptic transmission: The role of presynaptic calcium and potassium channels / S. Rama, M. Zbili, D. Debanne. – DOI 10.1016/j.bbamcr.2014.11.024 // Biochim Biophys Acta. – 2015. – Vol. 1853 (9). – P. 1933–1939.
117. Reduced expression of cardiac ryanodine receptor protects against stress-induced ventricular tachyarrhythmia, but increases the susceptibility to cardiac alternans / X. Zhong, A. Vallmitjana, B. Sun [et al.]. – DOI 10.1042/BCJ20170631 // Biochem. J. – 2018. – Vol. 475 (1). – P. 169–183.
118. Regulatory characterisation of the schizophrenia-associated CACNA1C proximal promoter and the potential role for the transcription factor EZH2 in schizophrenia aetiology / K.J. Billingsley, M. Manca, O. Gianfrancesco [et al.]. – DOI 10.1016/j.schres.2018.02.036 // Schizophr. Res. – 2018. – Vol. 199. – P. 168–175.
119. Risk-Predicting Model for Incident of Essential Hypertension Based on Environmental and Genetic Factors with Support Vector Machine / Z. Pei, J. Liu, M. Liu [et al.]. – DOI 10.1007/s12539-017-0271-2 // Interdiscip Sci. – 2018. – Vol. 10 (1). – P. 126–130.
120. Role of SERCA Pump in Muscle Thermogenesis and Metabolism / M. Periasamy, S.K. Maurya, S.K. Sahoo [et al.]. – DOI 10.1002/cphy.c160030 // Compr Physiol. – 2017. – Vol. 7 (3). – P. 879–890.
121. Saxena T. Pathophysiology of essential hypertension: an update / T. Saxena, A.O. Ali, M. Saxena. – DOI 10.1080/14779072.2018.1540301 // Expert Rev Cardiovasc Ther. – 2018. – Vol. 16 (12). – P. 879–887.
122. Sensory signals mediating high blood pressure via sympathetic activation: role of adipose afferent reflex / C. Dalmasso, J.R. Leachman, J.L. Osborn, A.S. Loria. –

DOI 10.1152/ajpregu.00079.2019 // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2020. – Vol. 318 (2). – P. 379–389.

123. Simms B.A. Neuronal Voltage-Gated Calcium Channels: Structure, Function, and Dysfunction / B.A. Simms, G.W. Zamponi. – DOI 10.1016/j.neuron.2014.03.016 // Neuron. – 2014. – Vol. 82 (1). – P. 24–45.
124. Simulated γ-aminobutyric acid (GABA) synaptic input and L-type calcium channels form functional microdomains in hypothalamic gonadotropin releasing-hormone (GnRH) neurons / P.J. Hemond, M.P. O'Boyle, C.B. Roberts [et al.]. – DOI 10.1523/JNEUROSCI.4188-11.2012 // J Neurosci. – 2012. – Vol. 32 (26). – P. 8756–8766.
125. Single nucleotide polymorphisms in genes of endothelin-1 and receptor A associated to cardiovascular in essential hypertension / S.R. Tamiozzo, O.C. Lassen, J. Herrera [et al.]. – DOI 10.1016/j.hipert.2016.10.003 // Hipertens Riesgo Vasc. – 2017. – Vol. 34 (2). – P. 78–84.
126. Soto G. A model for a G-protein-mediated mechanism for synaptic channel modulation / G. Soto, H.G. Othmer. – DOI 10.1016/j.mbs.2006.01.005 // Math Biosci. – 2006. – Vol. 200 (2). – P. 188–213.
127. Specific Activation of the Alternative Cardiac Promoter of Cacna1c by the Mineralocorticoid Receptor / T.R. Mesquita, G. Auguste, D. Falcón [et al.]. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.117.312451 // Circ. Res. – 2018. – Vol. 122 (7). – P. 49–61.
128. Stanley E.F. Single calcium channel domain gating of synaptic vesicle fusion at fast synapses; analysis by graphic modeling / E.F. Stanley. – DOI 10.1080/19336950.2015.1098793 // Channels (Austin). – 2015. – Vol. 9 (5). – P. 324–333.
129. Structural and functional conservation of key domains in InsP3 and ryanodine receptors / M.D. Seo, S. Velamakanni, N. Ishiyama [et al.]. – DOI 10.1038/nature10751 // Nature. – 2012. – Vol. 483 (7387). – P. 108–112. – URL:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3378505/pdf/ukmss-40158.pdf (дата обращения: 15.02.2020).

130. Structure and expression of the rat inositol 1,4,5-trisphosphate receptor / G.A. Mignery, C.L. Newton, B.T. Archer [et al.] // Jornal of Biological Chemistry. – 1990. – Vol. 265 (21). – P. 12679–12685.
131. Structure of a mammalian ryanodine receptor / R. Zalk, O.B. Clarke, A. des Georges [et al.]. – DOI 10.1038/nature13950 // Nature. – 2015. – Vol. 517. – P. 44–49.
132. Superresolution modeling of calcium release in the heart mark / A.Walker, G.S. Williams, T. Kohl [et al.]. – DOI 10.1016/j.bpj.2014.11.003 // Biophys J. – 2014. – Vol. 107 (12). – P. 3018–3029.
133. The "Neurocentric" Approach to Essential Hypertension: How Reliable is the Paradigm of Hyperkinetic Hypertension? A Focus on the Sympathetic Nervous System Dysregulation in Essential Hypertensive Patients with Elevated Resting Heart Rate / D. Di Raimondo, G. Musiari, M. Grova [et al.]. – DOI 10.2174/1381612823666170911102711 // Curr Pharm Des. – 2017. – Vol. 23 (31). – P. 4635–4649.
134. The Ca2+/Mn2+ pumps in the golgi apparatus / K. Van Baelen, L. Dode, J. Vanoevelen [et al.]. – DOI 10.1016/j.bbamcr.2004.08.018 // Biochimica et Biophysica Acta. – 2004. – Vol. 1742 (1-3). – P. 103–112.
135. The In Vivo Biology of the Mitochondrial Calcium Uniporter / J.C Liu, R.J. Parks, J. Liu [et al.]. – DOI 10.1007/978-3-319-55330-6_3 // Adv Exp Med Biol. – 2017. – Vol. 982. – P. 49–63.
136. The L-type calcium channel in the heart: the beat goes on / I. Bodi, G. Mikala, S.E. Koch [et al.]. – DOI 10.1172/JCI27167 // J Clin Invest. – 2005. – Vol. 115 (12). – P. 3306–3317.
137. The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential / G.W. Zamponi, J. Striessnig, A.

Koschak, A.C. Dolphin. – DOI 10.1124/pr.114.009654 // Pharmacol Rev. – 2015. – Vol. 67 (4). – P. 821–870.

138. The SPCA1 Ca2+ pump and intracellular membrane trafficking / M. Micaroni, G. Perinetti, C.P. Berrie, A.A. Mironov. – DOI 10.1111/j.1600-0854.2010.01096.x // Traffic. – 2010. – Vol. 10. – P. 1315–1333.
139. The volume of the carotid bodies and blood pressure variability and pulse pressure in patients with essential hypertension / P. Jaźwiec, P. Gać, M. Poręba [et al.]. – DOI 10.1016/j.crad.2016.02.022 // Clin Radiol. – 2016. – Vol. 71 (6). – 7 p. – URL: https://www.clinicalradiologyonline.net/article/S0009-9260(16)00106-9/pdf (дата обращения: 15.02.2020).
140. Transcriptome analysis of PDGFRα+ cells identifies T-type Ca2+ channel CACNA1G as a new pathological marker for PDGFRα+ cell hyperplasia / S.E. Ha, M.Y. Lee, M. Kurahashi [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0182265 // PLoS One. – 2017. – Vol. 12 (8). – 26 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5555714/pdf/pone.0182265.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
141. Tsien R.Y. Calcium homeostasis in intact lymphocytes: cytoplasmic free calcium monitored with a new, intracellularly trapped fluorescent indicator / R.Y. Tsien, T. Pozzan, T.J. Rink. – DOI 10.1083/jcb.94.2.325 // J Cell Biol. – 1982. – Vol. 94 (2). – P. 325–334.
142. T-type Ca2+ channels elicit pro-proliferative and anti-apoptotic responses through impaired PP2A/Akt1 signaling in PASMCs from patients with pulmonary arterial hypertension / S. Sankhe, S. Manousakidi, F. Antigny [et al.]. – DOI 10.1016/j.bbamcr.2017.06.018 // Biochim Biophys Acta. – 2017. – Vol. 1864 (10). – P. 1631–1641.
143. T-type voltage gated calcium channels are involved in endothelium-dependent relaxation of mice pulmonary artery / G. Gilbert, A. Courtois, M. Dubois [et al.]. –

DOI 10.1016/j.bcp.2017.04.021 // Biochem. Pharmacol. – 2017. – Vol. 138. – P. 61–72.

144. Tykocki N.R. Smooth Muscle Ion Channels and Regulation of Vascular Tone in Resistance Arteries and Arterioles / N.R. Tykocki, E.M. Boerman, W.F. Jackson. – DOI 10.1002/cphy.c160011 // Compr Physiol. – 2017. – Vol. 7 (2). – P. 485–581.
145. Ushakov A.V. Psychological Stress in Pathogenesis of Essential Hypertension / A.V. Ushakov, V.S. Ivanchenko, A.A. Gagarina. – DOI 10.2174/1573402112666161230121622 // Curr Hypertens Rev. – 2016. – Vol. 12 (3). – P. 203–214.
146. Validation of cryo-EM structure of IP(3)R1 channel / S.C. Murray, J. Flanagan, O.B. Popova [et al.]. – DOI 10.1016/j.str.2013.04.016 // Structure. – 2013. – Vol. 21 (6). – P. 900–909.
147. Viola H.M. The L-type Ca2+ channel: A mediator of hypertrophic cardiomyopathy / H.M. Viola, L.C. Hool. – DOI 10.1080/19336950.2016.1213053 // Channels (Austin). – 2017. – Vol. 11 (1). – P. 5–7.
148. Voltage-gated calcium channel blockers deregulate macroautophagy in cardiomyocytes / C. Pushparaj, A. Das, R. Purroy [et al.]. – DOI 10.1016/j.biocel.2015.09.010 // Int J Biochem Cell Biol. – 2015. – Vol. 68. – P. 166–175.
149. Voltage-gated calcium channel CACNB2 (β2.1) protein is required in the heart for control of cell proliferation and heart tube integrity / Y. Chernyavskaya, A.M. Ebert, E. Milligan, D.M. Garrity. – DOI 10.1002/dvdy.23746 // Dev Dyn. – 2012. – Vol. 241 (4). – P. 648–662.
150. Voltage-gated calcium channels: classification and pharmacological properties (Part I) / O. Iegorova, O. Maximyuk, A. Fisyunov, O. Krishtal. – DOI 10.15407/fz62.04.084 // Fiziol Zh. – 2016. – Vol. 62 (4). – P. 84–94.

151. Voltage-gated calcium channels: Novel targets for cancer therapy / N.N.Phan, C.Y. Wang, C.F. Chen [et al.]. – DOI 10.3892/ol.2017.6457 // Oncol. Lett. –2017. – Vol. 14 (2). – P. 2059–2074.
152. Waken R.J. A Review of the Genetics of Hypertension with a Focus on Gene-Environment Interactions / R.J. Waken, L. de Las Fuentes, D.C. Rao. – DOI 10.1007/s11906-017-0718-1 // Curr Hypertens Rep. – 2017. – Vol. 19 (3). – 20 p. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5647656/pdf/nihms875140.pdf (дата обращения: 15.02.2020).
153. Wermelt J.A. Management of arterial hypertension / J.A. Wermelt, H. Schunkert. – DOI 10.1007/s00059-017-4574-1 // Herz. – 2017. – Vol. 42 (5). – P. 515–526.
154. What is the Real Efficacy of Beta-Blockers for the Treatment of Essential Hypertension? / C. Hocht, F.M. Bertera, J.S. Del Mauro [et al.]. – DOI 10.2174/1381612823666170608085109 // Curr Pharm Des. – 2017. – Vol. 23 (31). – P. 4658–4677.
155. What role does modulation of the ryanodine receptor play in cardiac inotropy and arrhythmogenesis / D.A. Eisner, T. Kashimura, S.C. O'Neill [et al.]. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2008.12.005 // J Mol Cell Cardiol. – 2009. – Vol. 46 (4). – P. 474–481.